

SYBR Green I (10000×) 使用说明书

货号：SL2170

规格：50ul

保存：-20 度保存。

产品描述：

SYBR Green I 是高灵敏的 DNA 荧光染料，适用于各种电泳分析，操作简单，无须脱色或冲洗：至少可检出 20pg DNA，高于 EB 染色法 25-100 倍。SYBR Green I 与 ds DNA 结合荧光信号会增强 800-1000 倍，用 SYBR Green I 染色的凝胶样品荧光信号强，背景信号低，可用于多种电泳分析

SYBR Green I 适用于多种凝胶电泳法：琼脂糖凝胶，丙烯酰胺凝胶电泳，脉冲电场凝胶电泳和毛细管电泳等

SYBR Green I 与双链 DNA 亲和力非常高，可以用做电泳前染色，对分子生物学中常用的酶（如：Taq 酶，逆转录酶，内切酶，T4 连接酶等）没有抑制作用：另外，SYBR Green I 与 EB 相比，诱变能力大大降低

电泳用 SYBR Green I 使用方法简介：

SYBR Green I 预染色方法

- 1、该方法适用于琼脂糖凝胶电泳和 PAGE 凝胶电泳
- 2、工作液的配制：用电泳缓冲液将 10000×的 SYBR Green I 稀释 100 倍，即为 SYBR Green I 工作液。SYBR Green I 工作液可以置 2-8℃冷藏一个月以上
- 3、制胶：按常规方法制胶，不含任何染料
- 4、样品染色：向分析样品中加入 SYBR Green I 工作液和载样缓冲液，室温放置 10 分钟，使 SYBR Green I 与样品中的 DNA 充分结合。SYBR Green I 工作液加入量应为总上样量的 1/10
- 5、DNA marker 染色：5ul DNA marker 和 5ul DNA marker 稀释液和 1ul SYBR Green I 工作液混匀，室温放置 5 分钟，使 SYBR Green I 与 DNA 充分结合
- 6、上样，电泳：按常规操作

SYBR Green I 后染方法

- 1、按照常规方法进行电泳
- 2、用 PH 7.0-8.5 的缓冲液（如 TAE, TBE 或者 TE），按照 10000: 1 的比例稀释 SYBR Green I 浓缩液，混匀，制成染色溶液
- 3、将染色溶液倒入合适的聚丙烯容器中，放入凝胶，用铝箔等盖住容器使染料避光。室温 震荡染色 10-30 分钟，染色时间因凝胶浓度和厚度而定。聚丙烯酰胺胶直接在玻璃平皿上染色，将配好的工作溶液轻轻倒在胶板上，让工作液均匀的覆盖整个胶板，并染色 30 分钟。玻璃平皿必须预先经过硅烷化溶液处理（避免染料吸附在玻璃表面上）

荧光定量 PCR 用 SYBR Green I 使用方法简介

SYBR Green I 与 dsDNA 结合荧光信号可增强 800-1000 倍。在 PCR 反应体系中，加入过量的 SYBR Green I 荧光染料，SYBR 荧光染料特异性的掺入 DNA 双链后，荧光信号增强，而不掺入链中的 SYBR Green I 染料分子荧光不变，从而保证荧光信号的增强与 PCR 产物增加完全同步。荧光可以在退火阶段或者延伸阶段测定

使用浓度对荧光 PCR 结果的影响

SYBR Green I 荧光定量 PCR 试验成功有很多因素，但是 SYBR Green I 得使用浓度是非常关键的因素，如果 SYBR Green I 浓度过低会使荧光信号的变化降低。这就意味着低拷贝的样品可能无法检出；而在高浓度时，将会抑制 PCR 反应。降低 PCR 反应效率。所以一般在使用 SYBR Green I 时应根据实际情况优化使用浓度，反应终浓度为 $1\times-0.2\times$ 之间。

镁离子浓度的影响

提高镁离子浓度可以降低 SYBR Green I 对 PCR 反应的抑制作用。建议在用 SYBR Green I 进行荧光 PCR 反应时，镁离子浓度要比 SYBR Green I 的普通 PCR 反应要高出 0.5-3Mm