

## SYBR Green I 使用手册（电泳用）

### 一、简介

SYBR Green I 是高灵敏的 DNA 荧光染料，适用于适合于多种凝胶电泳方法：琼脂糖凝胶，聚丙烯酰胺凝胶电泳，脉冲电场凝胶电泳，和毛细管电泳等。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 dsDNA 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。

SYBR Green I 与双链 DNA 的亲合力非常高，因此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。

### 二、SYBR Green I 预染色方法

该方法适用于琼脂糖凝胶电泳和 PAGE 凝胶电泳

#### 操作步骤

1. 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。
2. 制胶：按常规方法制胶，不含任何染料。
3. 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 DNA 充分结合。SYBR Green I 工作液加入量为总上样量的 1/10。
4. DNA Marker 染色：将 5μL DNA Marker 和 1μLSYBR Green I 工作液混匀，室温放置 5 分钟，使 SYBR Green I 与 DNA 充分结合。
5. 上样、电泳：按常规操作。

#### 使用说明

1. 该方法的灵敏度比 SYBR Green I 后染法低，灵敏度与 EB 染色并配合紫外观测相当。
2. SYBR Green I 与染色会影响 Marker 及样品的相对迁移率，如进行酶切分析等需要准确分子量大小的实验，可以用 SYBR Green I 电泳后染色。
3. 该方法适用于 PCR 产物分析等多数分子生物学实验，由于整个实验过程不会对核酸样



# BIOLUMINOR

品产生呢过任何损害，该方法适用于凝胶中核酸的回收。

4. 在预染色方法中，电泳时间不要超过 2 小时，否则 SYBR Green I 会从 DNA 上分离出来，会产生弥散状条带。

## 三、SYBR Green I 后染方法

### 操作步骤

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 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。室温振荡染色 10-30 分钟，染色时间因凝胶浓度和厚度而定。聚丙烯酰胺凝胶直接在玻璃平皿上染色，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）。将配好的工作溶液轻轻地倒在胶板上，让工作液均匀地覆盖整个胶板，并染色 30 分钟。

### 使用说明

1. 染色溶液避光储存，可以在一个星期内至少重复使用 4 次。
2. SYBR Green I 后染方法适用于各种凝胶分析，检测灵敏度高，至少可以达到 20pg 的 DNA 条带。

## 四、SYBR Green I 使用注意事项

1. 在常规用酒精沉淀核酸的过程中，SYBR Green I 可以全部从双链核酸上去掉。
2. 如果想对用 SYBR Green I 染过的胶进行 Southern blots，建议在预杂化和杂化溶液中加入 0.1%-0.3% 的 SDS。
3. 在紫外照射透视下，与双链 DNA 接合的 SYBR Green I 呈现绿色荧光。如果胶中含有单链 DNA 则颜色为橘黄而不是绿色。
4. SYBR Green 对玻璃和非聚丙烯材料具有一定亲合力。建议在稀释、贮存、染色等使用过程中用聚丙烯类容器。

