

SYBR Green II RNA 凝胶染料 10,000×

产品编号	产品名称	包装规格
NBS7017-100ul	SYBR Green II RNA 凝胶染料 10,000×	100μl
NBS7017-500ul	SYBR Green II RNA 凝胶染料 10,000×	500μl

产品简介:

SYBR Green II 是目前已知电泳凝胶中 RNA 检测最灵敏的染料之一，在琼脂糖或聚丙烯酰胺凝胶中最低检测到 100pg RNA 或 ssDNA 的单一条带（使用 254nm 紫外反射光源照射，并用宝丽来 667 黑白胶片和 SYBR 滤光片拍照）。即使用 300nm 透射光也能检测到 500pg RNA 的单一条带。SYBR Green II 的灵敏度明显强于溴化乙啶（EB）。标准琼脂糖迷你胶 EB 最低检出 1.5ng 单链核酸的单一条带（使用 300nm 透射光照射并用橙-红明胶滤光片拍照）。

SYBR Green II 在变性琼脂糖/甲醛凝胶和聚丙烯酰胺/尿素凝胶中的检测灵敏度有点降低，然而仍优于 EB。为了获得最大的检测灵敏度，琼脂糖/甲醛凝胶必须在 EB 染色前清洗数小时。相反，不做任何的清洗或脱色步骤，用 SYBR Green II 染色的琼脂糖/甲醛凝胶或聚丙烯酰胺/尿素凝胶能检测到 1ng RNA 单一条带（254nm 反射照明）和 4ng RNA 单一条带（300nm 透射照明）。SYBR Green II 在 RNA 检测具备这一卓越灵敏度的特性归因于几个因素，包括优越的荧光量子产量、结合能力和荧光增强。

本品为溶于 DMSO 的 10,000× 的 SYBR Green II RNA 核酸染料，可用于：1) Northern Blot、起始位点作图或 cDNA 制备前对 RNA 产物的小量分析；2) 高分辨率变性梯度凝胶电泳（DGGE）后对 5S rRNA 迁移方式的观察；3) 单链构象多态性（SSCP）中的 DNA 染色；4) PCR 扩增前对 DNA 染色。

保存条件:

-20°C 避光干燥保存，1 年有效。

光谱特征:

SYBR Green II RNA 核酸染料可用常见的紫外反射和透射激发光源，以及手持式紫外灯检测。SYBR Green II 的最大激发波长为 497nm，但还有一个二级激发峰集中在 254nm 附近。与 RNA 结合的 SYBR Green II 的荧光发射集中在 520nm。这些光谱特性让 SYBR Green II 适用于多种凝胶检测仪，从紫外反射（上紫外）和透射仪（下紫外）到氩离子激光器和水

银灯激发的凝胶扫描仪。

产品使用：

一、使用前准备工作

使用前将本品取出并回温至室温，使 DMSO 彻底解冻、溶液均一。于离心机上短暂离心确保所有溶液到管底。第一次使用时可将本品分装成多个小份后冻存，小份染料能更快溶解。

二、染色方法

1. 电泳后染色（后染，推荐）

1) 在非变性凝胶或变性聚丙烯酰胺/尿素或琼脂/甲醛凝胶上进行电泳。

【注】：其他凝胶基质未做测试，不确定染色效果如何。

2) 稀释 SYBR Green II 储存液：对于非变性凝胶和变性聚丙烯酰胺/尿素凝胶，建议用 TBE 做 1:10,000 倍

稀释；对于变性琼脂糖/甲醛凝胶，建议用 TBE 做 1:5,000 倍稀释。

【注】：SYBR Green II 染色对 pH 敏感，为获得最佳的灵敏度，应确认在染色温度下染色液的 pH 值在 7.5-8.0 之间（pH8.0 更佳）。

3) 将凝胶小心的放入合适的容器中，比如聚丙烯容器。缓慢加入足量的 SYBR Green II 染色工作液浸没凝胶。用铝箔等盖住容器或将容器置于黑暗处使得染料避光。染色前没有必要洗掉凝胶上的尿素或甲醛。

4) 室温轻摇凝胶。聚丙烯酰胺凝胶的最佳染色时间通常为 10-40min，琼脂糖凝胶的通常为 20-40min。凝胶厚度及琼脂糖或聚丙烯酰胺的比例不同，染色时间将有所不同。不需要脱色。染色液需保存在暗处（最好是冷藏）和重复使用 3-4 次。

【注】：用缓冲液制备的染色液置于 4℃避光能放置 1 周或更久，置于室温避光能放 3-4 天。用水制备的染色液比缓冲液制备的稳定性差很多，建议 24h 内用完保证最大灵敏度。另外，用缓冲液（pH > 8.0 或 pH < 7.5）的缓冲液制备的染色液稳定性差很多，染色效率也会降低。

2. 电泳前染色（预染）

1) 配制成 SYBR Green II 预制凝胶

临灌胶前，按照每 100ml 凝胶中加入 3-5 μ l SYBR Green II 储存液（10,000 \times in DMSO）的比例加量。需注意到 SYBR Green II 热稳定性较差，不能在过热胶溶液中直接添加，需要等溶液冷却至 50℃左右才能加染料。摇晃，震荡或翻转以保证染料充分混匀。

2) 按照常规方法进行电泳。

三、观察和凝胶成像

3.1 使用 300nm 紫外透射光或 254nm 紫外反射光（灵敏度更高）照射染色凝胶。

3.2 为了最佳灵敏度，建议使用黑白胶片，可用专用的 SYBR Green 照相滤光片（Thermo fisher, #S7569）拍照。许多其他的黄色或绿色明胶或玻璃纸滤光片也能用来拍照，但绝大多数可能会减低灵敏度。EB 染色凝胶拍照用的橙-红滤光片不适合于 SYBR Green II 染色凝胶。

3.3 用专用的 SYBR Green 照相滤光片（Thermo fisher, #S-7569）和 Polaroid 667 黑白胶片对凝胶进行拍照。染色凝胶基本无背景荧光，当检测少量 RNA，允许长期胶片曝光。对于 300nm 透射，通常 F-stop 设置 4.5 时曝光 1-2s 足够。对于 254nm 反射（特别是手持灯），大约需要曝光 1-1.5min 以得到最大灵敏度。

注意事项：

1. 必须警告用户注意，目前尚无关于 SYBR Green II 对人体的致突变性或毒性的数据。由于该染料与核酸结合，应当被看作潜在诱变剂，使用时要小心谨慎。在处理 DMSO 储存液时应特别小心，因 DMSO 能促进有机分子进入组织。强烈建议处理 DMSO 储存液需戴双层手套。和所有的核酸染料一样，含 SYBR Green II RNA 核酸染料的溶液需先穿过活性炭再丢弃。活性炭之后必须焚烧来破坏染料。
2. SYBR Green II 可通过乙醇沉淀法从核酸中去除。异丙醇沉淀法去除效果稍差些。正丁醇萃取、氯仿萃取和酚萃取法无法有效去除该染料。
3. 先用 EB 染色的凝胶可接下来用 SYBR Green II 染色，根据电泳后染色（post-staining）的标准步骤操作。与直接用 SYBR Green II 染色相比较可能灵敏度有些降低。
4. 不要在玻璃器皿中稀释 SYBR Green II 储存液，因其会结合到玻璃上。在聚丙烯器皿中稀释储存液。
5. SYBR Green II 不会干扰酶反应。
6. 当用 SYBR Green II 染 Northern 或 Southern Blot 凝胶，建议在预杂交液和杂交液内加入 0.1%-0.3% SDS。
7. 不建议用 254nm 紫外透射仪对凝胶拍照，因紫外光源的轮廓会出现在照片上。需要使用允许 525nm 光透过且排斥其他波长光的滤光片。
8. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其他用途！

相关产品:

产品编号	产品名称	包装规格
<u>NBS1201-1g</u>	<u>Ethidium Bromide (EB)溴化乙锭</u>	1g
<u>NBS1494-500ul</u>	<u>SYBR Gold 核酸凝胶染料(10,000X)</u>	500μl
<u>NBS7016-100ul</u>	<u>SYBR Green I 核酸凝胶染料 10,000×</u>	100μl
<u>NBS7017-100ul</u>	<u>SYBR Green II RNA 凝胶染料 10,000×</u>	100μl
<u>NBS7018-1ml</u>	<u>GoldView Nucleic Acid Gel Stain 核酸染料 10,000×</u>	1ml
<u>NBS7019-100ul</u>	<u>SYBR Green I Nucleic Acid Stain (PCR Grade) 10,000×</u>	100μl
<u>NBS7020-500ul</u>	<u>SYBR Safe DNA 凝胶染料 10,000×</u>	500μl
<u>NBS7021-500ul</u>	<u>NBRed 核酸凝胶染料 10,000×</u>	500μl
<u>NBS7022-500ul</u>	<u>NBGreen 核酸凝胶染料 10,000×</u>	500μl