天净沙系列

CAT#:220117

常温运输、4℃保存

SkyGreen UV 染料

SkyGreen UV Stain

使用手册 V1.11

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

目前最常见的替代 EB 的核酸染料 SYBR Green I（属于花氰类染料）虽然毒性比 EB 低、灵敏度比 EB 高，但由于其化学稳定性差（怕光、怕水、怕热），实验结果的重复性差；此外，SYBR Green I 在电泳过程中能在 DNA 分子间移位，使 DNA 条带模糊和扭曲，使得电泳清晰度和分辨率不如 EB。所以在实际应用中依然不能有效替代 EB。本产品是同时具有 EB 稳定性和 SYBR Green I 低毒性的新性核酸染料，其特点如下:

1. 低毒。其主要成分未发现对人体有致癌性、未被列入有毒有害品，有利于保护使用者的健康和保护日益恶化的环境。
2. 灵敏。检测灵敏度跟 EB 相当，能满足常规核酸电泳实验要求。
3. 稳定。对光、水和热的稳定性跟 EB 相当，可加入琼脂糖凝胶中反复熔化。
4. 无分子间位移现象。不会出现 SYBR 染料常见的条带模糊和扭曲现象。
5. 使用方法多样。既可以加入熔化的胶中，也可以电泳后染色，还可用于 PAGE。
6. 跟各种常用的核酸电泳缓冲液（如 TBE、TAE）兼容，但在 TBE 中背景最低。
7. 观察时可以使用现成的观察 EB 的 300 nm UV 紫外仪。
8. 既可用用于 DNA 电泳染色，也可用于 RNA 电泳染色。
9. DNA 或 RNA 浓度较高时还可以直接在日光下观察（需要将胶放在黑色背景下）。由于避免了 UV 对 DNA 的伤害，尤其适用于胶回收实验。
10. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品采用带 logo 热封袋包装

成份	编号	规格	包装
SkyGreen UV 染料	220117	1.5 mL	1.5 mL 棕色管
使用手册	220117sc	1 份	无

运输及保存

常温运输，4℃保存，有效期一年。

自备试剂

电泳缓冲液和琼脂糖凝胶

使用方法

注意:虽然本产品的主要成分未发现对人体有致癌性、未被列入有毒有害品，但操作时最好还是戴上塑料手套。

使用方法之一：电泳中染色 DNA（RNA 的染色跟 DNA 完全一样）。

本方法是将本产品直接加入溶化的凝胶中使用,只适用于琼脂糖凝胶电泳,不适用于 PAGE。

1. 将本产品直接加入到融化的琼脂糖凝胶中，每 100 mL 凝胶加 3-5 μL 本产品（如果用 TBE 缓冲液）或电泳染色，混合均匀后倒胶。琼脂糖凝胶中不能含任何其他染料（如 EB 和 SYBR Green I，否则会相互干扰）。注意：一定要保证琼脂糖彻底熔化，尤其是在第一次熔化胶的时候，否则未熔化的小颗粒将产生跟染料相同的荧光。

	2. 将 DNA 样品与 DNA 上样液按比例混合后上样。注意: 一定要使用不含 SDS 等去污剂的上样液，否则 SDS 会跟染料结合，极大地降低灵敏度。 3. 上样后电泳，电泳参数同常规的电泳。 4. 电泳结束后在 300 nm 左右的 UV 下观察。注意: 不要使用波长为 260 nm 或 360 nm 的 UV，否则检测灵敏度会降低。如果 DNA 或 RNA 浓度较高，还可以直接在日光下直接观察（需要将胶放在黑色背景下），避免 UV 对 DNA 的伤害，尤其适用于胶回收实验。 注：显色结果：在紫外下，DNA 浓度非常高的时候是白色，浓度低的时候是绿色的，单链核酸有时是红色的。 **使用方法之二：电泳后染色 DNA** 本方法是在电泳后对 DNA 进行染色，适用于琼脂糖凝胶电泳和 PAGE。但该方法需要单独的染色处理，染料用量较大，不推荐用于琼脂糖凝胶的染色。 1. 按照常规方法进行电泳。 2. 用去离子水将本产品稀释 10000 倍后（100 mL 水需要加 10 μL 本产品），将凝胶放入，室温下摇晃染色 30 分钟（对琼脂糖凝胶）或 15 分钟（对 PAGE）。 3. 用水脱色 10-30 分钟，具体时间需根据背景强弱决定，其余同方法一。 **注意：**电泳后染色液可以反复使用次数。
疑难解答	Q：本产品可否用于 RNA 染色? A：可以，不论 RNA 是在甲醛变性胶中电泳，还是在普通的 TBE 或 TAE 胶中电泳，RNA 染色后在 300 nm 下都跟 DNA 一样呈绿色， Q：本产品是否可以加入上样液中进行染色? A：不行，本产品只能直接加入凝胶中进行染色或电泳后再染色。 Q：为何前端（靠近正极）的 DNA 条带很淡或根本看不见? A：跟 EB 一样，电泳时本产品朝负极方向移动，当前端的 DNA（最小片段）进入没有本产品的区域时，已经结合的染料分子会逐渐从 DNA 分子上脱落，所以条带会变淡或根本看不见。解决办法之一是缩短电泳时间或电泳后再染色；之二是在每 100 mL 电泳缓冲液中补加 3-5 μL 染料。 Q：本产品在哪种缓冲液中效果最好? A：在 TBE 中效果最好。如果使用 TAE 100 mL 胶中加 3-5 μL 本产品就可以。 Q：为何电泳后前面部分（靠近正极）的胶呈白色，后面的胶呈黑色? A：本产品带正电，电泳时往上走，胶的黑色部分是染料上移后留下的无染料胶。本产品在 TAE 中背景最强，可参考上个问题答案更换电泳液以降低背景值。

	Q：用 SYBR 染色的 DNA 在电泳时为何容易发生条带模糊和扭曲现象? A：SYBR 染料一般与 DNA 的小沟结合，但在常规电泳条件下该结合并不牢固，染料分子可以在标记的和未标记的 DNA 分子之间转移，使 DNA 分子的泳动速度时快（无染料结合时）时慢（有染料结合时），发生条带模糊和扭曲现象。嵌入型染料（如 EB 和本产品）与 DNA 结合牢固，则无此现象。 Q：核酸染料是否都有毒性? A：核酸染料对动物和人的毒性由多方面决定。一是染料的膜通透性，EB 被归类为强诱变剂是由于其分子量较小,容易进入细胞内。而 EB 二聚体 Ethidium Homodimer(EthD)嵌入 DNA 的能力比 EB 强上千倍，但毒性很小，就是由于其分子比 EB 大，不能透过细胞膜，所以毒性反而更低。SYBR 系列染料虽然低毒，但由于一般都溶于 DMSO（因为容易水解，不能使用水溶液做溶剂）中，所以如果溅到皮肤表面，更容易进入皮肤。二是染料是否容易被人体降解。比如 EB 在体外就很难降解，一旦进入体内能在人体内残留的时间可能比较长，增加了毒性；而 SYBR Green I 等染料（也能以嵌入方式与 DNA 结合）由于不稳定，比较容易自然降解，所以毒性自然较低。三是降解产物是否有毒性，比如用很多方法（如强碱法）降解 EB 得到的产物有的比 EB 毒性更大，而有的染料降解产物毒性却低很多，甚至无毒。四是染料进入细胞核以后是否能跟 DNA 结合，很多实验结果显示即使 EB 染料也很难嵌入型到染色体中,因为染色体中的 DNA 已经紧密地与各种组蛋白结合。五是细胞修复突变的能力，正常人体都有很强的修复突变的能力，如修复日光中 UV 诱导的 DNA 突变。总之，一种 DNA 染料的毒性强弱是多种因素综合的结果。
关联产品	核酸电泳染料（可见光型）