

## Super Green I (10000X) 核酸染料

本品用 DMSO 溶解，因为 DMSO 溶点是 18.3℃，使用前请放置到室温充分溶解。

### Super Green I 核酸染料特点：

1. 相对安全：花菁染料，富百科AMES实验显示在凝胶染色浓度下无致突变性，可以代替致癌物溴化乙锭EB作为各种核酸电泳的染色剂。
2. 高灵敏：紫外凝胶透射仪下灵敏度高 EB 染色法 5-10 倍，可见光透射仪下的灵敏度比 EB 染色法高20~30 倍。
3. 信噪比高：样品荧光信号强，无背景信号。
4. 操作简单：无须脱色或冲洗，即可用紫外凝胶透射仪观察或可见光透射仪观察。
5. 适用范围广：可适用于多种电泳分析，如琼脂糖凝胶电泳和 PAGE 凝胶电泳。
6. 使用方便：不影响其它修饰酶作用(如：Taq 酶、内切酶、T4 连接酶、反转录酶等)。

### Super Green I 核酸染料使用方法：

#### 1. 胶染法(用法同EB)(推荐方法，见图1)

- 1) 制胶时加入Super Green I核酸染料。冷却胶到50℃左右，每100ml胶中加入1-3μl Super Green I核酸染料（见图1）。
- 2) 按照常规方法进行电泳即可。
- 3) 用紫外凝胶透射仪或可见光透射仪观测。蓝光可透过玻璃，观测聚丙烯酰胺凝胶时，可直接将托有凝胶的玻璃平皿放入可见光透射仪内观测。

\*注：此方法染色能准确确定片段分子量且用量较少。1ml染料可以做1000块10ml胶，每块胶点50个样，可做50000次。

#### 2. 点染法(见图3)

- 1) 该方法适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Super Green I 稀释100倍，即为Super Green I工作液。Super Green I工作液可以置2~8℃保存一个月以上，浓缩液在-20℃保存半年。
- 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Super Green I工作液和载样缓冲液，室温放置10分钟，使Super Green I与样品中DNA充分结合。Super Green I工作液加入量为总上样量的1/5~1/10。
- 5) DNA Marker染色：将5 μL DNA Marker、5 μL DNA Marker稀释液和1 μL Super Green I 工作液混匀，室温放置5分钟，使Super Green I与DNA充分结合。
- 6) 上样、电泳：按常规操作。用紫外凝胶透射仪或可见光透射仪观测。蓝光可透过玻璃，观测聚丙烯酰胺凝胶时，可直接将托有凝胶的玻璃平皿放入可见光透射仪内观测。

\*注：用点染法染色时，灵敏度最高，染料用量最少。通常点一个样加入 1μL 即可，可以使用 10000 次，但大片段稍有滞后现象，如果需要更准确确定分子量(与 Marker 对比)，建议使用胶染法。

### 3. 泡染法

- 1) 按照常规方法进行制胶，其中不含任何染料。
- 2) 用pH 7.0 - 8.5的缓冲液(如：TAE, TBE)，按照 1 : 1000 的比例稀释 Super Green I
- 3) 核酸染料，混匀，制成染色溶液。
- 4) 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，将配好的稀释溶液轻轻地倒在胶板上，让稀释液均匀地覆盖整个胶板，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）。
- 5) 用紫外凝胶透射仪或可见光透射仪观测。蓝光可透过玻璃，观测聚丙烯酰胺凝胶时，可直接将托有凝胶的玻璃平皿放入可见光透射仪内观测。

\*注：用泡染方法染色时，可以精确确定核酸片段分子量。但染料用量是三种方法中用量最大的。

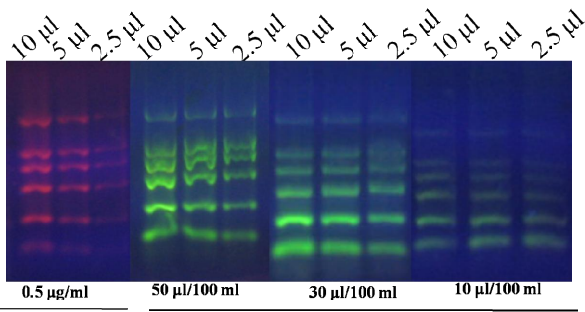
#### 几种染色方法特点比较：

染色方法	特 点	灵敏度	染料用量	确定片段分子量精确度
胶染法		较高	较少	较高
点染法		很高	最少	大片段稍有滞后
泡染法		较高	最多	最高
点染+胶染法		最高	较多	大片段稍有滞后

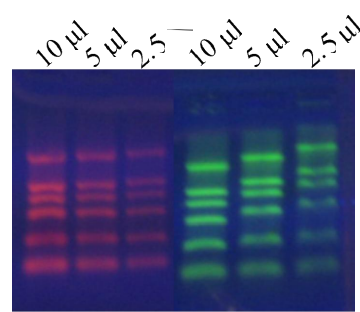
#### Super Green I 核酸染料使用注意事项：

1. Super Green核酸染料样品点染方法中，电泳不要超过 2 小时，以免核酸染料从 DNA/RNA 上分离出来，产生弥散状条带。
2. 用点染方法染色时，条带稍有滞后现象，如果需要确定片段精确分子量（和 Marker 对比），建议用胶染法和泡染法。
3. 常规用酒精沉淀核酸过程中，Super Green I 核酸染料可以全部从核酸上去掉。
4. DNA电泳请选择 Super Green I 染料，RNA 电泳请选择 Super Green II染料，两种染料不通用。
5. Super Green I 核酸染料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。
6. 可以加Orange Red 作为标记。pH值在7.5-8.3之间,不要微波加热,加入热胶的温度低于50度

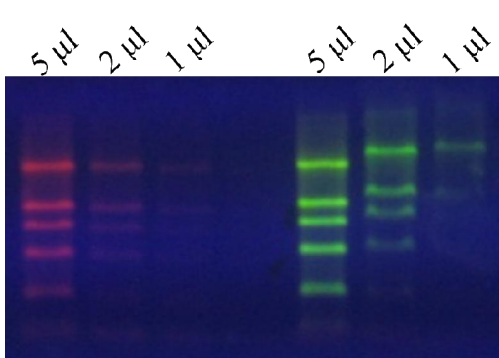
#### Super Green I 核酸染料不同使用方法电泳图谱：



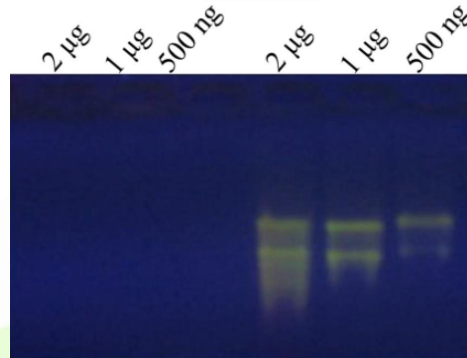
EB Super Green I DNA Stain  
Fig.1 胶染法 Fig.1 DNA marker 2000 10, 5, 2.5 per lane



EB Super Green I  
Fig.2 胶染+点染 Fig.2 DNA Marker 2000 incubate at RT for 3~5min



EB Super Green I DNA Stain  
Fig.3 点染法 Fig.3 Volume ration of Dye/DNA marker 2000=1:10 incubate at RT for 3~5min then load 5,2,1uL per lane.



EB Super Green II RNA Stain  
Fig.4 Incubate at RT for 3~5min then load 0.5,1,1ug per lane  
Fig.4. Super Green II 点染(RNA)