

SYTO 9 绿色荧光核酸染料(5 mM in DMSO)

产品简介

SYTO 9 绿色荧光核酸染料 (SYTO 9 Green Fluorescent Nucleic Acid Stain)，是一款优秀的绿色荧光细胞核和染色体复染剂，能渗透进入原核和真核细胞膜。SYTO 9 高亲和结合 DNA (以及 RNA)，一旦结合后呈现明显增强的荧光信号，最大激发和发射波长分别是 483nm 和 503nm。SYTO9 Green Nucleic Acid Stain 可以对真核细胞（包括活细胞和死细胞）的 DNA 和 RNA 染色，同样适用于细菌（包括革兰氏阳性菌与阴性菌）。SYTO9 极其适合作为细菌实验的核复剂，因其对革兰氏阳性菌和阴性菌的活细胞和死细胞都能染色。SYTO 9 常常与碘化丙（PI）联合使用，用于活/死细菌染色。

本品以 DMSO 储存液形式提供，浓度为 5mM。只需用合适的生理缓冲液稀释到工作浓度进行简单孵育即可。适用于哺乳动物细胞、革兰氏阳性和革兰氏阴性菌。若需做双染，可直接购买我司的 SYTO 9/PI Live/Dead Bacterial Double Stain Kit 活细菌/死细菌双染试剂盒。

试剂盒组份：

编号/组分	规格	规格	保存方法
SYTO 9 绿色荧光核酸染料(5 mM in DMSO)	100 μ L	500 μ L	-20° C 避光
说明说	1 份		

保存与运输方法： -20° C 避光保存，有效期一年。冰袋运输

产品特性：

同义名：SYTO 9 Green dye ;SYTO 9 绿色荧光染料；外观：橙色溶液。

分子式：C₂₈H₂₇IN₂O；分子量：534.44；CAS 号：254098-36-7

荧光特征：EX/Em=485/498nm(与 DNA 结合) ;EX/Em=486/501nm(与 RNA 结合)

1、良好细胞膜通透性，可以穿过几乎所有类型细胞的细胞膜，包括哺乳动物细胞与细菌。

2、摩尔吸光系数高，最大可见吸收光谱的消光系数>60,000 cm⁻¹ M⁻¹。

3、荧光背景信号低，与核酸结合前，染料的量子产率通常<0.01。

4、与核酸结合后，量子产率通常>0.4。

5、SYTO 9 Green Nucleic Acid Stain 可以在不同实验中对活细胞或者经过固定的细胞样品中的核酸进行染色，与激光激发器和常规的宽频照明光源等荧光检测仪器匹配。

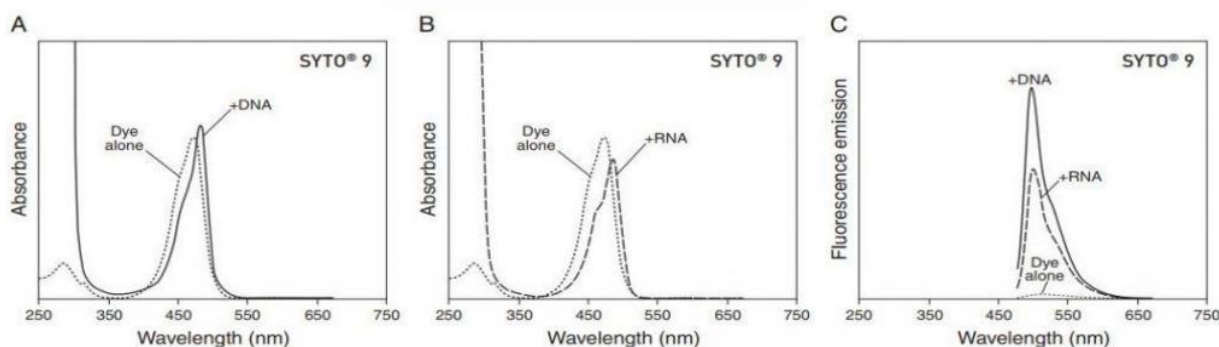


图 1. SYTOX 9 与核酸结合的光谱特征。A) 与 DNA 结合的吸收光谱; B) 与 RNA 结合的吸收光谱; C) 与 DNA 或 RNA 结合后的荧光发射光谱。

使用方法

(以下步骤仅用作示例以指导科研人员开展自身细菌样本的染色) 基于实验室经验和发表方法, 建议使用广谱的染色浓度来开展使用, 并且根据自身的细胞类型和实验体系来优化摸索出最佳的工作浓度(见表 1)。

1. 用塑料试管稀释 **SYTO 9 Green Nucleic Acid Stain** (因为稀释后的染料对玻璃有附着性)。如果希望获得最佳的染色效果, 最好不要使用含有磷酸盐成分的缓冲液。配制实验中其它所需试剂时, 注意用去离子水将塑料管壁或玻璃管壁上残留的去污剂尽量清洗干净, 塑料或玻璃器皿上残留的去污剂也有可能影响许多细胞或有机体的真实染色, 导致在含或不含细胞的溶液中都能看到发明亮荧光的材料。导致即使在没有细胞存在也会引起很强的背景信号与非特异性染色。染料工作浓度请参考附表 1。(请注意: 培养基, 细胞密度, 细胞类型等因素均会对染色效果产生影响。) 确保用温和去污剂来清洗玻璃器皿, 用热自来水完全冲洗干净, 最后用去离子水清洗数次。
2. 离心收集细胞, 用生理盐溶液或水重悬细胞。

对于贴壁细胞可以在铺板时放入玻片, 然后直接在玻片上对细胞样品染色; 贴壁细胞(比如: 哺乳动物细胞)可能在盖个染料浓度, 片上原位染色。使用表 1 内建议的工作浓度进行染色。初次实验, 建议在建议浓度范围内做多, 以确定能得到最佳染色的工作浓度。需要注意: 生长培养基、细胞密度、是否存在其它细胞、和其它因素都可能影响染色。

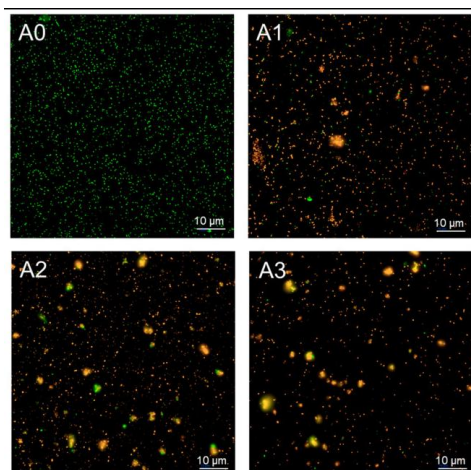
对于悬浮细胞, 需要对细胞悬液离心, 然后用缓冲液将细胞重悬后进行染色。
3. 参考附表 1 的浓度加入 **SYTO 9 Green Nucleic Acid Stain** 染色液, 若要获得最佳染色效果, 请按附表 1 中的推荐浓度进行浓度梯度稀释染色预实验。
4. 在真核细胞中通常可以观察到弥漫性的胞浆和细胞核染色, 经常可以观察到强烈染色核内小体。染色的真核细胞通常显示出弥散的细胞浆染色和细胞核染色, 特别是经常看到明亮的核内小体染色。
5. 由于 **SYTO 9 Green Nucleic Acid Stain** 具有细胞膜透性, 在中性 pH 条件下带一个净正电荷, 因而亦可以对线粒体染色, 活酵母染色主要就是线粒体染色。
6. 已经证实 **SYTO 9 Green Nucleic Acid Stain** 可以用于 DNA 微阵列检测的染色质量控制。

表 1. SYTOX9 染色不同细胞的建议工作浓度

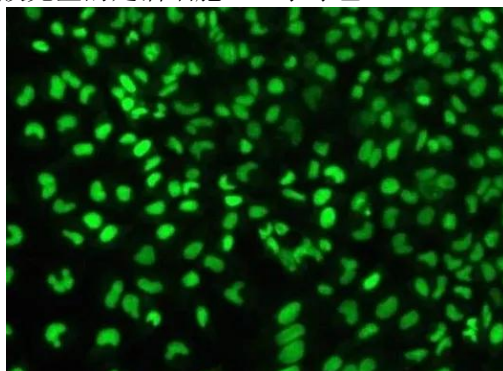
细胞类型	SYTOX 9 浓度	孵育条件
细菌细胞	50 nM-100 μ M	涡旋混匀, 之后孵育 1-30 min
真核细胞	10 nM-20 μ M	孵育 10-120 min
微阵列 (Microarrays)	50~100 nM in TE buffer	孵育 5 min, 清洗之后晾干

注意事项

- 1) 荧光探针均存在淬灭问题, 请尽量注意避光, 以减缓荧光淬灭
- 2) 为了您的安全和健康, 必须是专业人士操作并请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 3) 为避免反复冻融, 建议适当分装。
- 4) 对于微量的液体, 每次使用前先离心数秒钟, 使液体充分沉降到管底。



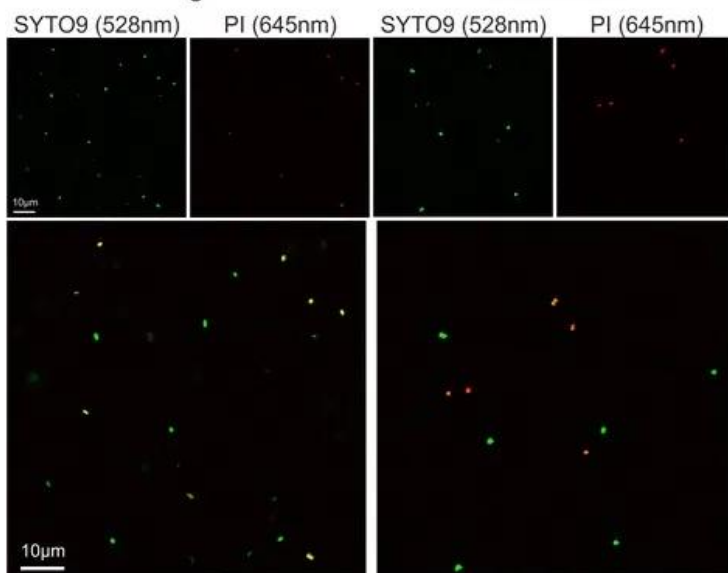
膜受损的是死细胞，显示红色（PI）
 膜完整的是活细胞，显示绿色（SYTO9）



SYTO9 标记的 HeLa 活细胞

P. aeruginosa

S. aureus



利用共聚焦显微镜分析 SYTO9/PI 染色