

Gebrauchsanweisung



SYBR® Green DNA-Farbstoff

für die Elektrophorese, 11x konz., ready-to-use

I. Einleitung

SYBR®* Green DNA-Farbstoff ist ein DNA-Färbereagens, das den gängigen Farbstoff Ethidiumbromid ersetzt. SYBR® Green DNA-Farbstoff ist weniger mutagen als Ethidiumbromid¹. Er detektiert bis zu 0,01 ng pro Bande und ist damit 20x so sensitiv wie Ethidiumbromid.

SYBR® Green DNA-Farbstoff dient zum Nachweis von doppelsträngiger Nukleinsäure in Agarose- und Polyacrylamidgelen. Das Reagenz wird direkt zum Gelladepuffer gegeben und färbt die Nukleinsäure während des Gellaufs.

II. Zusammensetzung

11x SYBR® Green DNA-Farbstoff setzt sich wie folgt zusammen:

SYBR® Green I	0,11 mM
TRIS/HCl pH 8,5	20 mM
EDTA	0,1 mM
weitere Zusatzstoffe	≤ 0,01 %

Die Farbstofflösung ist orangefarben.

III. Mechanismus

Das Reagenz enthält den Fluoreszenzfarbstoff SYBR® Green I. Er wurde speziell für die schonende DNA-Analyse entwickelt. Die DNA-Integrität wird durch SYBR® Green I nicht beeinträchtigt, so dass geleuierte DNA ohne störende Effekte in üblichen *down-stream* Applikationen wie Ligationen, PCR, Transformation, Transfektion etc. eingesetzt werden kann.

SYBR® Green I bindet an die *minor groove* der DNA und interkaliert in die DNA^{2,3}. Durch die spezifische Bindung bleiben die Gelmatrix ungefärbt und die Hintergrundsignale niedrig.

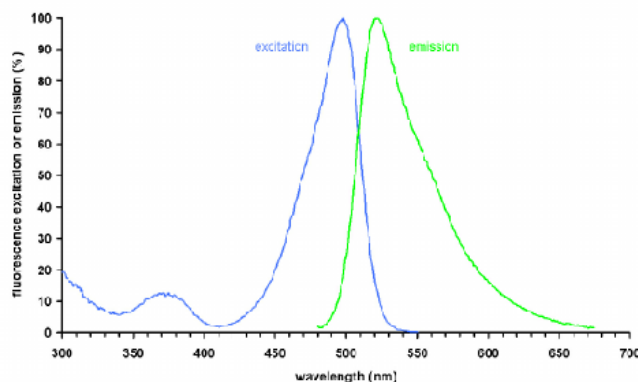
SYBR® Green I kann durch UV-Licht und Blaulicht angeregt werden, und ist somit vollständig kompatibel mit gängigen UV-Transilluminatoren und moderner Blaulicht-Illumination. Ebenso ist es bestens geeignet für die *real-time* Elektrophorese (s. auch ROTIPHORESE®PROfessional runVIEW, Best.-Nr. 4849.1).

Anregungsmaxima (DNA-gebunden, blaue Kurve):

ca. 254 nm (UV-Licht) und 495 nm (Blaulich)

Emissionsmaximum (DNA-gebunden, grüne

Kurve): 521 nm



Nukleinsäure-gebundenes SYBR® Green I emittiert nach Anregung eine strahlend grüne Fluoreszenz, die mittels der üblichen Ethidiumbromid-Breitbandfilter oder SYBR® Green-Fotofilter dokumentiert werden kann.

IV. Anwendung

- Lösen Sie Ihre DNA-Probe wie üblich in einem Gelladepuffer, z.B. ROTI®Load DNA 1x (Best.-Nr. 0100.1).
- Mischen Sie SYBR® Green DNA-Farbstoff durch kurzes Vortexen und geben Sie das Reagenz entsprechend der Tabelle unten zur DNA-Probe.
- Beladen Sie Ihr Gel und starten Sie die Elektrophorese wie üblich.

Volumen DNA-Lösung		Volumen Färbereagens		Gesamt-volumen
5 µl	+	0,5 µl	=	5,5 µl
10 µl	+	1,0 µl	=	11,0 µl
15 µl	+	1,5 µl	=	16,5 µl
20 µl	+	2,0 µl	=	22,0 µl
25 µl	+	2,5 µl	=	27,5 µl

OPTIONAL:

Um Laufartefakte zu vermeiden, kann es in manchen Fällen (z.B. bei *EcoRI*/*Hind* III-verdauter Lambda-DNA) angeraten sein, die Probe vor dem Lauf zu denaturieren. Inkubieren Sie sie 5 min bei 65 °C und kühlen Sie sie auf Eis ab.

V. Lagerung

SYBR® Green DNA-Farbstoff sollte bei -20 °C gelagert werden. Bei Bedarf empfehlen wir, die Lösung zu aliquotieren. Lichtgeschützt lagern.

Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5 • 76185 Karlsruhe
Postfach 100121 • 76231 Karlsruhe
Telefon: +49 (0) 721/ 5606-0
Fax: +49 (0) 721/ 5606-149
info@carlroth.de • www.carlroth.de

ed 06.2021

Die Firma ist eine Kommanditgesellschaft mit Sitz in Karlsruhe, Reg. Gericht Mannheim HRA 100055. Persönlich haftende Gesellschafterin ist die Roth Chemie GmbH mit Sitz in Karlsruhe, Reg. Gericht Mannheim HRB 100428.
Geschäftsführer: André Houdelet

VI. Sicherheit

SYBR® Green DNA-Farbstoff ist als nicht gefährlich und nicht umweltschädlich eingestuft. Trotzdem ist es gute Laborpraxis, bei der Arbeit mit dem Produkt immer Handschuhe zu tragen und die Farbstofflösung nicht über den Abfluss zu entsorgen (s. Sicherheitsdatenblatt).

VII. Qualitätssicherung

Der Farbstoff ist frei von DNAsen und RNAsen. Die Produktion erfolgt unter sterilen Bedingungen.

VIII. Frequently Asked Questions

F: Sind Proben von SYBR® Green DNA-Farbstoff erhältlich?

A: Nein, leider nicht. Durch Evaporation im Behältnis sinkt die Qualität von Proben mit einem Inhalt von weniger als 50 µl sehr rasch. Allerdings sind interessante Testrabatte verfügbar.

F: Wie sollten die Gele nach dem Färben mit SYBR® Green DNA-Farbstoff visualisiert werden?

A: Die Gele können auf einem UV- oder Blaulicht-Transilluminator visualisiert werden.

F: Auf dem UV-Tisch sind die mit SYBR® Green DNA-Farbstoff gefärbten Banden sehr hell, aber auf Fotos ist praktisch keine Bande sichtbar. Woran liegt das?

A: Manche Ethidiumbromid-Fotofilter sind sehr schmalbandig, so dass sie andere Wellenlängen, wie beispielsweise den in diesem Fall erforderlichen Grünbereich, praktisch ausschließen. Verwenden Sie Breitband-Fotofilter oder Filter für SYBR® Green.

F: Ist SYBR® Green DNA-Farbstoff für Färbung nach dem Lauf einsetzbar?

A: Prinzipiell ist es möglich. Sie benötigen allerdings sehr große Mengen an Farbstoff, weshalb wir diese Methode nicht empfehlen.

F: Wie lange ist SYBR® Green DNA-Farbstoff haltbar?

A: Er ist gekühlt mindestens ein Jahr lang haltbar.

F: Wie ist SYBR® Green DNA-Farbstoff zu entsorgen?

A: Befolgen Sie bestehende abteilungs- oder unternehmensspezifische Richtlinien bezüglich der Entsorgung von Reagenzien, wie im Sicherheitsdatenblatt zu SYBR® Green DNA-Farbstoff angegeben. SYBR® Green DNA-Farbstoff darf nicht über den Abfluss entsorgt werden.

F: Interkaliert SYBR® Green DNA-Farbstoff zwischen die Basenpaarstapel?

A: Ja, der enthaltene Farbstoff SYBR® Green I interkaliert zwischen die Basenpaarstapel^{2,3}.

F: Ist SYBR® Green DNA-Farbstoff mutagen?

A: Der enthaltene Farbstoff SYBR® Green I hat das Potential mutagen zu sein, wenn er in hoher Konzentration vorliegt. SYBR® Green DNA-Farbstoff enthält jedoch nur eine sehr geringe Menge an SYBR® Green I und ist daher unbedenklich und sicher.

F: Ist SYBR® Green DNA-Farbstoff membrangängig?

A: Der enthaltene Farbstoff SYBR® Green I kann die Zellmembran durchdringen^{4,5}. Diese Eigenschaft ist besonders ausgeprägt in Gegenwart von DMSO, da DMSO die Permeabilität des Gewebes erhöht⁶. Beim SYBR® Green DNA-Farbstoff handelt es sich jedoch um eine wässrige Lösung ohne DMSO, so dass es nicht zu einem Verstärkungseffekt durch DMSO kommt.

F: Kann ich SYBR® Green DNA-Farbstoff auch zum Färben von PAGE-Gelen verwenden?

A: Ja, die Färbung ist nach demselben Protokoll möglich wie die Färbung der DNA in Agarosegelen.

F: Kann ich mit SYBR® Green DNA-Farbstoff auch supercoiled Plasmide effizient färben?

A: Ja, die Färbefizienz für supercoiled Plasmide ist so gut wie diejenige von Ethidiumbromid.

F: Was ist zu tun, wenn die Banden auf dem Gel zu schwach sind?

A: Erhöhen Sie das zugefügte Volumen SYBR® Green DNA-Farbstoff auf bis zur 2fachen Menge.

F: Kann man mit SYBR® Green DNA-Farbstoff auch effizient RNA färben?

A: Der Farbstoff bindet am besten an doppelsträngige Nukleinsäure. RNA mit langen Haarnadel- oder anderen doppelsträngigen Strukturen wird gefärbt, RNA mit langen Einzelstrang-Strukturen wird weniger effizient gefärbt.

F: Können Gele, die mittels SYBR® Green DNA-Farbstoff gefärbt wurden, für Southern-Blotting und Detektionen verwendet werden?

A: Ja, ohne Einschränkung. Während Blotten und Denaturierung diffundiert der Farbstoff von der DNA ab.

*SYBR® ist ein eingetragenes Warenzeichen der Molecular Probes, Inc., jetzt Invitrogen Corporation, Carlsbad, California, USA

Nur für Laborzwecke. Nicht freigegeben für human- oder veterinärmedizinische Zwecke, für die Anwendung an Mensch oder Tier, oder für die Anwendung in klinischer oder *in vitro*-Diagnostik.

Publikationen:

1. Mutat Res, Singer *et al.*, 439, 37 (1999)
2. Nucleic Acids Research, Zipper *et al.* 32, 12 (2004).
3. J. Fluorescence, Dragan *et al.* 22, 1189 (2012).
4. Acta Histochemica, Briggs & Jones, 107, 301 (2005)
5. J. Micro. Methods, Kirchoff & Cypionka, 142, 79 (2017)
6. Molecular Probes, Useful Tips (2003)

SYBR® Green DNA-Farbstoff

1CN2.1

1,8 ml

Instructions for use



SYBR® Green DNA Dye

for electrophoresis, 11x conc., ready-to-use

I. Introduction

SYBR®* Green DNA dye is a DNA staining reagent that replaces the common dye ethidium bromide. SYBR® Green DNA dye is less mutagenic than ethidium bromide¹. It detects up to 0.01 ng per band and is thus 20x as sensitive as ethidium bromide.

SYBR® Green DNA dye is used for the detection of double-stranded nucleic acid in agarose and polyacrylamide gels. The reagent is added directly to the gel loading buffer and stains the nucleic acid during the gel run.

II. Composition

11x SYBR® Green DNA dye is composed as follows:

SYBR® Green I	0.11 mM
TRIS/HCl pH 8.5	20 mM
EDTA	0.1 mM
Further additives	≤ 0.01 %

The dye solution is orange.

III. Mechanism

This reagent contains the dye SYBR® Green I, which has been developed specifically for DNA analysis. DNA integrity is not influenced by SYBR® Green I; hence, gel eluted DNA may directly be applied to standard down-stream applications, like, e.g., ligations, PCR, transformation, transfection etc. without interfering effects.

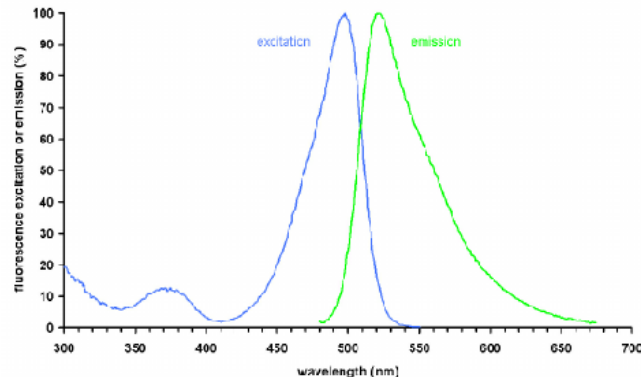
SYBR® Green I binds to the minor groove of the DNA and intercalates into the DNA^{2,3}. The specific binding keeps the gel matrix uncoloured and the background signals low.

SYBR® Green I can be excited by UV- and blue light, making it fully compatible with standard UV-transilluminators and modern blue-light illumination. It is also ideally suited for real-time electrophoresis (see also ROTIPHORESE®-PROfessional runVIEW, Art. No. 4849.1).

When excited, nucleic acid-bound SYBR® Green I emits a brightly coloured fluorescence that may be documented by standard ethidium bromide- or SYBR® Green photo filters.

Excitation maxima (bound to DNA, blue curve):
ca. 254 nm (UV-light) and 495 nm (blue light)

Emission maximum (bound to DNA, green curve):
521 nm



IV. Application

- Dissolve the DNA sample as usual in a gel loading buffer, e.g. ROTI®Load DNA 1x (Art. No. 0100.1).
- Mix SYBR® Green DNA dye by vortexing briefly and add the reagent to the DNA sample according to the table below.
- Load the sample onto the gel and run the electrophoresis as usual.

Volume DNA solution		Volume DNA dye		Total volume
5 µl	+	0,5 µl	=	5,5 µl
10 µl	+	1,0 µl	=	11,0 µl
15 µl	+	1,5 µl	=	16,5 µl
20 µl	+	2,0 µl	=	22,0 µl
25 µl	+	2,5 µl	=	27,5 µl

OPTIONAL:

In order to avoid run artefacts, in some cases (e.g. *EcoR I/Hind III*-digested Lambda-DNA) denaturing the sample prior to the run may be recommended. Incubate for 5 mins. at 65 °C and then cool on ice.

V. Storage

SYBR® Green DNA dye should be stored at - 20 °C. If necessary, store in aliquots. Keep protected from light.

IV. Safety

SYBR® Green DNA dye is classified as non-hazardous and not harmful to the environment. Nevertheless, it is good laboratory practice to always wear gloves when working with the product and not to dispose of the dye solution down the sink (s. security data sheet).

Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5 • 76185 Karlsruhe
P.O. Box 100121 • 76231 Karlsruhe
Phone: +49 (0) 721/ 5606-0
Fax: +49 (0) 721/ 5606-149
info@carlroth.com • www.carlroth.com

ed 06.2021

The company is a limited partnership with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRA 100055. Roth Chemie GmbH, with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRB 100428, is the personally liable partner. Managing Director: André Houdelet. Sales tax identification number: DE 143621073.

VII. Quality assurance

The dye is free of DNAses and RNAses. The production is carried out under sterile conditions.

VIII. Frequently Asked Questions

Q: Are there any samples of SYBR® Green DNA dye?

A: No, sorry. By tube-internal evaporation, the quality of samples of less than 50 µl decreases rapidly. You may get some interesting test discount, however.

Q: How should I visualise the gels after staining with SYBR® Green DNA dye?

A: Gels can be visualised under UV-light or on a blue-light transilluminator.

Q: On UV-table, the SYBR® Green DNA dye stained bands are very bright, but on photos, there is virtually no band visible. What is wrong?

A: Some ethidium bromide photo filters are very narrow banded, efficiently excluding other wavelengths as the green range needed here. Use broadband photo-filters or filters for SYBR® Green.

Q: Can SYBR® Green DNA dye be used for post-run staining?

A: In principle, it is possible. However, for you need a large amount of dye, we do not recommend this application.

Q: What is the shelf life of SYBR® Green DNA dye?

A: SYBR® Green DNA dye can be kept for 1 year minimum under cooling.

Q: How should I dispose of SYBR® Green DNA dye?

A: You should follow any existing departmental or company guidance on the disposal of reagents as indicated in the MSDS of SYBR® Green DNA dye.

SYBR® Green DNA dye should not be disposed of down the sink.

Q: Does SYBR® Green DNA dye intercalate between base pair stacks?

A: Yes, the contained dye SYBR® Green I intercalates between base pair stacks^{2,3}.

Q: Is SYBR® Green DNA dye mutagenic?

A: The contained dye SYBR® Green I has the potential to be mutagenic when present in high concentrations. However, SYBR® Green DNA dye contains only a very small amount of SYBR® Green I and is therefore harmless and safe.

Q: Is SYBR® Green DNA dye membrane permeable?

A: The contained dye SYBR® Green I can penetrate the cell membrane^{4,5}. In the presence of DMSO, this property is particularly pronounced, as DMSO increases the permeability of tissue⁶. However, SYBR® Green DNA dye is an aqueous solution without DMSO, so there is no amplification effect from DMSO.

Q: May I also use SYBR® Green DNA dye for staining of PAGE gels?

A: Yes, the staining can be carried out according to the same protocol as used for staining of DNA in agarose gels.

Q: Does SYBR® Green DNA dye also efficiently stain supercoiled plasmids?

A: Yes, the staining efficiency for supercoiled plasmids is as good as that of ethidium bromide.

Q: What to do if the bands on the gel are too faint?

A: Increase the added volume of SYBR® Green DNA dye up to 2times.

Q: Does SYBR® Green DNA dye also efficiently stain RNA?

A: You need double strands of nucleic acid for binding of the dye. RNA with long hairpins or other double strands is stained; RNA with long single stranded structure may be stained less efficiently.

Q: May gels stained with SYBR® Green DNA dye be used for Southern blotting and detection?

A: Yes, without reservation. During blotting and denaturation, the dye simply diffuses from the DNA.

*SYBR® is a registered trademark of Molecular Probes, Inc., now Invitrogen Corporation, Carlsbad, California, USA

For research use only. Not approved for human or veterinary use, for application to humans or animals, or for use in clinical or in vitro diagnostics.

Literature:

1. Mutat Res, Singer *et al.*, 439, 37 (1999)
2. Nucleic Acids Research, Zipper *et al.* 32, 12 (2004).
3. J. Fluorescence, Dragan *et al.* 22, 1189 (2012).
4. Acta Histochemica, Briggs & Jones, 107, 301 (2005)
5. J. Micro. Methods, Kirchoff & Cypionka, 142, 79 (2017)
6. Molecular Probes, Useful Tips (2003)

SYBR® Green DNA Dye

1CN2.1

1.8 ml