

SYBR 14 Nucleic Acid Stain (5mM) 绿色荧光核酸染料

产品编号	产品名称	包装规格
NBS5989-50ul	SYBR 14 Nucleic Acid Stain (5mM) 绿色荧光核酸染料	50ul
NBS5989-100ul	SYBR 14 Nucleic Acid Stain (5mM) 绿色荧光核酸染料	100ul

产品简介:

SYBR 14 核酸染料 (SYBR 14 Nucleic Acid Stain) 通常用来监测精子活力, 通过联合 SYBR 14 和碘化丙啶 (PI) 的双染方式能评估精液中的活精子占比。SYBR 14 是一种核酸染料, 与 DNA 结合后的最大吸收波长是 488nm, 发射波长是 518nm。SYBR 14 将活精子的核染成明亮绿色, 反之, PI 仅将丧失膜完整性的无运动精子染成红色。活/死精子的占比通过先用 SYBR/PI 染色, 之后再用流式分析染料摄取的方法进行判断。

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, 适用于哺乳动物精液样本。

保存条件:

-20°C避光干燥保存, 至少 1 年有效。

产品使用:

1. 工作液的准备

1.1 初次使用, 将低温保存的 SYBR 14 (5mM) 从冰箱取出, 置于室温或 25°C 温育至少 30min, 使其充分融化。按照单次用量分装后, 置于 $\leq -20^{\circ}\text{C}$ 避光干燥保存。

1.2 于正式使用前, 用合适的生理缓冲液稀释 SYBR 14 (5mM) 到 10-20 μM 的工作液。

2. 染色流程

以下染色流程仅用作基本参考。试剂浓度必须根据精液来源、精子密度以及样本内的其他材料来进行优化调整。

2.1 用含 10% BSA 的 HEPES 缓冲盐溶液 (10mM HEPES, 150mM NaCl, 10% BSA, pH 7.4) 稀释样本 (比如: 精液样本)

2.2 取 5 μl 步骤 1.2 新鲜制备的 SYBR 14 工作液, 加入 1ml 稀释样本中。

2.3 37°C 孵育 5-10min。

2.4 用荧光显微镜 (FITC 滤片) 或流式细胞仪 (488nm 激发器, 530/30nm 滤片) 进行样本分析。

染色示例: (来自文献, 仅作参考)

实验目的: 精子活力 (Sperm Motility)

实验步骤: 用 SYBR-14 和碘化丙啶 (PI) 评估活力 (质膜完整性)。稀释精子样本 (200 μ l) 加入 2 μ l SYBR-14 (1mM) 和 2 μ l PI (2.4 μ M in Tyrode' s salt solution), 37 $^{\circ}$ C 避光孵育 10min。分别观察带绿头的精子 (SYBR-14+/PI-, 具完整膜结构的活精子) 和带红头的精子 (死精子)。

实验步骤: 为了评估质膜完整性, 精子用 SYBR-14 和碘化丙啶 (PI) 染色。稀释样本 (500 μ l) 用 3 μ l SYBR-14 (1mM) 和 3 μ l PI (2.4 μ M in Tyrode' s salt solution) 染色。带绿色荧光的 SYBR-14 阳性精子和 PI 阴性精子被分类为具完整膜结构的活精子细胞。

染色图片 (流式):

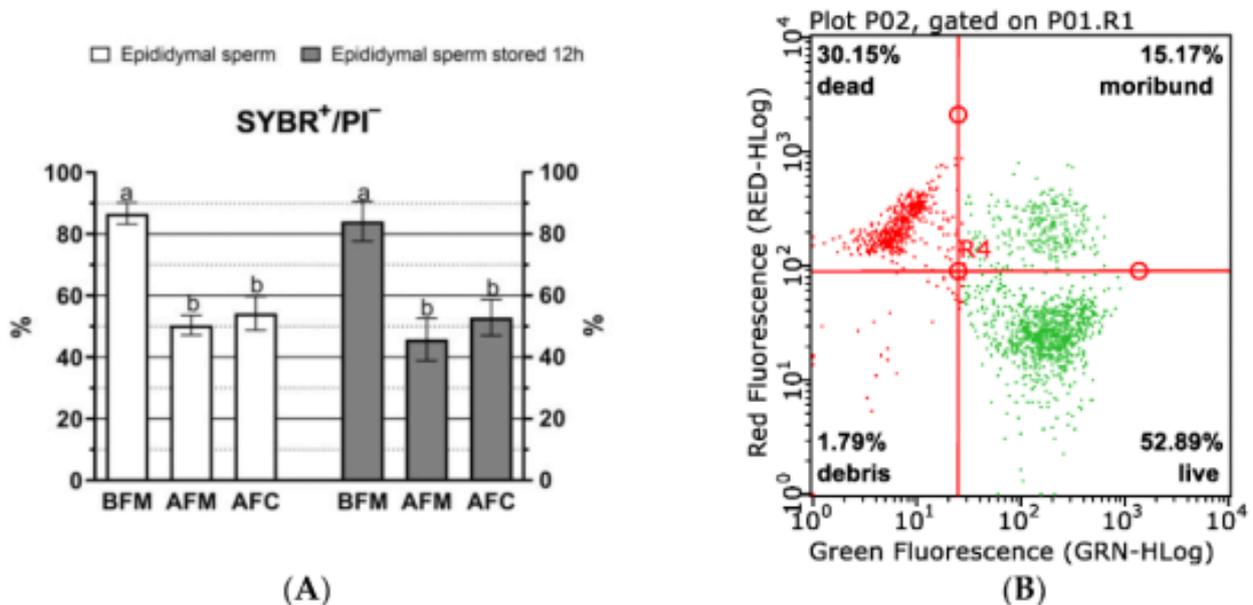


Fig: (A) Sperm viability (SYBR⁺/PI⁻). (B) Cytogram of a SYBR-14/PI stain.

注意事项:

1. 再次冻存本品前务必拧紧盖子, 管子建议直立保存。
2. 目前没数据表明该探针具致畸性或毒性。由于该探针与核酸结合, 可能被当作一种潜在的突变剂, 需做适当的防护措施。由于 DMSO 能促进有机分子进入组织, 此储存液在使用的过程中务必妥善操作。根据当地的政策来处理使用本品后的废液。
3. 荧光染料均存在淬灭问题, 请尽量注意避光, 以减缓荧光淬灭。
4. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。