

Sunview® Gelred 核酸染料 (10000× 水溶液)

■ 贮藏条件

低温运输, 4°C避光保存两年

■ 产品简介

GelRed 是一种油性大分子,通过荧光共振能量转移 FRET 的独特设计改善了同类产品对大片段 DNA 条带拖尾模糊的现象,带形清晰整齐,迁移率好,定量准确,染色均匀,灵敏度高,稳定性高,分子量>1000。

■ 产品特点

1. 条带美观: 条带清晰整齐美观。
2. 相对安全: 独特油性大分子(分子量>1000)使其不易穿透活细胞膜进入细胞,大分子的染料远超过 DNA 双螺旋间的尺寸,使其难以插入 DNA 双链内从而可能引起突变。
3. 迁移率好: EB 小分子很快跑出胶外,所以 EB 容易导致小 DNA 片段看不清,大分子 Sunview® Gelred 改善了这一缺点。
4. 染色均匀: 整个凝胶负极端和正极端的亮度一样。EB 会导致胶的整体背景高发白,经常出现阴阳背景(胶的背景一部分亮一部分暗);长时间/长距离的电泳,EB 信号强度会相应下降,我们的大分子 Sunview® Gelred 克服这一点。
5. 灵敏度高: 亮度高灵敏度高于各种大小片段的电泳染色,对核酸迁移的影响小于 SYBR Green。
6. 稳定性高: 耐热,可加在缓冲液里,100°C溶解凝胶,防止染色剂没充分混匀。适用于微波或其它加热方法制备琼脂糖凝胶。
7. 耐光性强: 实验室的日常环境下可以常温放置 24 个月以上(不能太阳光照射和紫外灯照射)。
8. 信噪比好: 样品荧光信号强,背景信号低。
9. 操作简单: 与 EB 用法完全一样,在预制胶和电泳过程中染料不降解;而电泳后染色过程也只需 30 分钟且无需脱色或冲洗。
10. 应用范围: 核酸染料、核酸检测: 适用于琼脂糖凝胶或聚丙烯酰胺凝胶电泳;可用于 dsDNA、ssDNA 或 RNA 染色。
11. 兼容性好: Sunview® Gelred 适合紫外凝胶透射仪; SafeGreen 适合蓝光仪和可见光仪器。Sunview® Gelred 与 EB 有相近的光谱特性,无需改变滤光片及观察装置: 标准的 EB 滤光片或 SYBR 滤光片都适用,使用和 EB 相同紫外凝胶透射仪,在 300nm 紫外光附近可得到最佳激发。

■ 使用方法

一. 胶染法(预染法,用法 EB 完全相同)

制胶时加入 Sunview® Gelred 核酸染料(每 100mL 琼脂糖溶液中加入 10μL Sunview® Gelred 原装液即可)。按常规方法电泳。

1. 实验室材料和试剂:

- (1) 实验样品: 质粒 DNA, DNA marker (国产的 DNA marker 浓度太高,至少稀释 2~3 倍后使用)
- (2) TBE 缓冲液配置: 10X TBE 电泳缓冲液[Tris 107.8146g (890mM), 硼酸 55.0287g(890mM), EDTA 5.845g(20mM),加 NaOH 约 4g 调节 pH=8.3; 定容 1000mL]; 用 ddH₂O 稀释 10 倍配制 1X TBE 电泳缓冲液。
- (3) TAE 缓冲液配置: 50X TAE 电泳缓冲液[Tris 242g (2M), EDTA 37.2g(100mM),加醋酸约 57ml 调节 pH=8.5; 定容 1000mL]; 用 ddH₂O 稀释 50 倍配制 1X TAE 电泳缓冲液。
- (4) 溴酚蓝指示剂, 1%的西班牙琼脂糖凝胶, 电泳仪 (130v), 移液器(0.5~10ul), 凝胶成像仪

2. 实验步骤:

- (1) 制胶: 将 0.5g 琼脂糖溶于 50mL 1X TBE 电泳缓冲液中, 加热至琼脂糖完全融化。将融好的琼脂糖溶液室温放置 50°C左右加入 5ul 的 Sunview® Gelred 凝胶电泳染料, 摇匀。
- (2) 倒胶: 将制好的琼脂糖凝胶缓慢倒于制胶托盘内, 避免产生气泡。将点样梳子垂直置于电泳胶膜的一端, 距离托盘底部约 1mm。放置时尽量保持平稳, 切勿晃动。
- (3) 置胶: 待约 30 分钟左右胶体充分凝固后, 缓慢垂直向上拔起点样梳子, 切勿用力过猛。(夏季适当延长凝胶时间)
- (4) 将琼脂糖凝胶放入电泳槽内, 加入电泳缓冲液, 使电泳缓冲液液面高于凝胶面约 1~2mm。

- (5) 将混合溴酚蓝指示剂的 DNA 样本 (1ul 溴酚蓝与 2ul DNA 标本混合) 加入到点样孔内。
- (6) 盖上电泳槽盖, 开启电源, 使 DNA 从负极移向正极恒压电泳(电压恒定在 120~130v 之间, 一般可选择 130V)。
- (7) 当 DNA 条带距离点样孔约 1~2cm 后关闭电源, (约 30~40 分钟)取出凝胶。
- (8) 用 302nm 激发的 UV 凝胶成像系统观察结果。

***注: 此方法染色染料用量相对较少。染料加入胶中可直接使用微波炉加热, 制好的胶溶液可以在室温下保存直至用完。**

优化电泳条件参考事项:

因为EB是插入DNA内部变成一个整体分子, 所以不容易出现迁移/弥散的问题, 而大分子的Sunview® Gelred与DNA是通过静电吸引非共价结合的, 在DNA外面就容易出现条带迁移, 特别是大片段DNA!

- 1) 鉴于 Sunview® Gelred 的高灵敏性, 建议减少 DNA 的上样量。DNA 样品最佳上样量为 ~100ng/泳道(常规 8 泳道小胶孔)。
- 2) 部分国产的 DNA marker 浓度太高, 稀释一倍后使用! 目前国产的部分 marker 是基于 EB 染料开发的酶切的混合片段, 请使用后染法。
- 3) 更换电泳缓冲液, 新配置的电泳液效果好! 用 TBE 缓冲液代替 TAE 效果更好!
- 4) 电泳时电压不宜过高, 一般不要超过 130V。与 EB 相比, Sunview® Gelred 电泳电压要低一些, 跑胶的时间长一些。
- 5) 染料在室温或 4°C 下避光储存即可; 若有沉淀, 将染料加热至 40~50°C 并充分振荡溶解, 不影响使用。
- 6) 由于 Sunview® Gelred 具有良好的热稳定性, 可以在热的琼脂糖溶液中直接添加后充分振荡混匀。Sunview® Gelred 也可以加到琼脂糖粉末和电泳缓冲液中, 然后用微波炉加热以制备琼脂糖凝胶。
- 7) 个别客户用 3X 染料和样品混合后, 点样到琼脂糖凝胶中, 不推荐这种点样方式!
- 8) 如果总是看到条带弥散或分离不理想, 建议使用电泳后泡染法染胶。

***此胶染法(预染法)不适合预制聚丙烯酰胺凝胶, 对于聚丙烯酰胺凝胶请使用泡染法(后染法)。**

二. 泡染法(后染法)

注意: 泡染出现的条带弯曲和拖带的现象与样品的质量和凝胶的浓度有关, 并不是染料的问题! 泡染比预染适当提高琼脂糖凝胶浓度约 0.2%-0.3%。

- (1) 按照以上常规方法进行电泳。 **用于胶回收等高浓度DNA样品强烈推荐泡染法!**
- (2) **将 Sunview® Gelred 10,000× 储液稀释约 10000 倍到 0.1M NaCl 溶液中制成 1× 染色液。(例如将 5μL Sunview® Gelred 核酸染料 (10000× 水溶液) 原装液加入到 50mL 0.1M NaCl 溶液中)。**
- (3) 将凝胶小心地放入合适的容器中 (如聚丙烯容器中) 缓慢加入足量的 1× 染色液浸没凝胶。室温振荡染色 30min 左右, 最佳染色时间根据凝胶厚度以及琼脂糖浓度不同而略有不同。对于含 1% 的凝胶, 染色时间约 30min。
- (4) 用 302nm 激发的紫外凝胶成像系统观察结果。

***注意事项: 用泡染法染色时, 染料用量较多。3× Sunview® Gelred 染色液室温避光保存, 可重复使用 3 次左右。**

三. 核酸电泳的 PAGE 步骤:

- 1) 将 TBE 制备的凝胶放入电泳槽中, 用夹子夹住边缘。
- 2) 用配置凝胶溶液同一批次的 5× TBE 灌满缓冲液槽。用注射器排除凝胶底部的气泡。
- 3) 用注射器吸取 1× TBE 冲洗加样孔。将 DNA 样品和适量的 6× 凝胶上样缓冲液混合, 用微量移液管加入加样孔。
- 4) 将电极与电源相连 (正极接下槽), 打开电源一般 90V; 1~8V/cm。进行电泳 9h。
- 5) 电泳至标准参照染料迁移至所需位置 (一般是电泳到二甲苯完全迁出, 溴酚蓝距底边 2~3cm 停止)。关闭电源, 拔掉插头, 弃去电泳槽中的电泳液。
- 6) 将凝胶取下来放入, 染色皿中, 加 1X Sunview® Gelred 的 1X 缓冲液中的振荡染色 30-60 分, 放置在紫外检测即可。

***注意事项: PAGE 不能用预染或点染的方法; 只能用泡染的方法显色, 由于聚丙烯酰胺比较致密, 染料不容易深入, 显色效果没有琼脂糖凝胶好。**

■ 特别提醒

- 1) 本公司所有产品仅限于专业人员用于生命科学研究, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅。
- 2) 本公司所有产品必须由合格专业技术人员操作同时佩戴口罩/手套/实验服并遵守生物实验室安全操作规程。