归去来系列

CAT#:121002-10 常温运输和保存



绿如兰核酸染料(可见光型)

DNAgreen (Visible Light)

使用手册 V1.0

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区学院南路 12 号北师大留学生创业园 57 号楼 301 室

QQ:944823743, 449730601 (销售), 948393554 (技术), www.tiandz.com

电话: 010-80638853, 010-62200278 (销售), 15811350851 (技术), order@tiandz.com

产品及特点

本产品是国内首款可见光核酸染料,用于电泳时替代 EB,在可见光下观察 DNA 或 RNA 的电泳。本产品具有下列特点:

- 1. 无毒。对人体和环境没有任何毒害,有利于保护使用者的健康和保护日益 恶化的环境。
- 2. 实时染色。可以在电泳过程中实时观察 DNA 和 RNA 的泳动,不需要任何 额外的仪器设备或光源。注:本产品在紫外条件下不发光。
- 3. 由于避免了 UV 对 DNA 的伤害, 胶回收片段的克降效率比 UV 下回收的片 段高 2-10 倍, 非常适用于 PCR 或酶切回收。
- 4. 稳定。对光、水和热的稳定性很好,可加入琼脂糖凝胶中反复熔化。
- 灵敏。检测灵敏度跟 EB 相当,能满足常规核酸电泳实验要求。
- 6. 使用方法多样。既可以电泳中染色,也可以电泳后染色;既可用于琼脂糖 胶,还可用于 PAGE。
- 7. 跟各种常用的核酸电泳缓冲液(如超快核酸电泳液、TBE、TAE)兼容, 但在超快核酸电泳液中背景最低。

规格	及	成	分
ノツԱTH	\mathcal{L}	\mathcal{M}	/1

	成份	编号	数量
绿如兰	核酸染料(可见光型)	121002	10 mL (棕色瓶)
6	×A 型 DNAon	3690A	1 mL
	使用手册		1 份

运输及保存 │ 常温运输和保存(长期保存最好放 4℃),保存期限一年。

自备试剂

电泳相关缓冲液和凝胶。

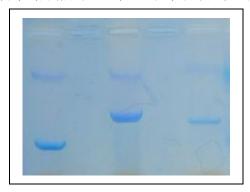
使用方法

使用方法之一: 电泳中染色 (琼脂糖电泳时使用)

- 1. 在 100mL 融化的琼脂糖凝胶加入 100 uL 本产品, 充分混合均匀后倒胶, 凝固后凝胶将呈淡紫色。本产品不能跟其他任何核酸染料同时使用(如 EB 和 SYBR Green I), 否则会相互干扰,不会出现任何条带。使用时请严格 按照此比例加入染料,否则将出现糊带现象。
- 2. 将凝固的琼脂糖凝胶放在 5 分钟超快核酸电泳液、TEB 或 TAE 中。为节 约染料,不推荐将染料加到电泳缓冲液中。
- 3. 将 DNA 样品与 6×A 型 DNAon 按 5:1 的比例混合后上样, 由于本染料比 EB 灵敏度稍低, 所以 DNA 的上样量和 DNA Marker 的上样量最好比使 用 EB 染料时多 1 倍。注意: 不推荐使用常规的含溴酚蓝和二甲苯蓝的上 样液,因为这些染料的颜色跟 DNA 和 RNA 的颜色都将呈蓝色,将严重干

扰条带的观察和解读。本产品提供的 6×A 型 DNAon 只含相当于 50bp 大小的红色染料,不会干扰蓝色 DNA 和 RNA 条带的观察。

- 4. 电泳,电泳参数同常规的电泳。跑在前面的是红色的电泳示踪染料(来于上样液),其泳动速度相当于 50bp 的 DNA。
- 5. 直接在光线明亮的位置直接观察电泳的进行, DNA 和 RNA 将呈现蓝色条带。如果有观察 X 光片用的灯箱,可以将电泳中的电泳槽或电泳后的凝胶平放在铺有塑料布的灯箱发光面的上面观察效果更佳。典型电泳结果如下:



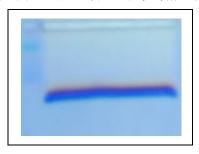
6. 如果要回收 DNA,则关闭电泳后直接切下所需条带,其余回收过程同常规方法。

使用方法之二: 电泳后染色 (PAGE 胶染色必须使用电泳后染色法, 琼脂糖电泳也可以选择本方法。不论是 PAGE 胶还是琼脂糖胶, 本方法所需染料的用量比电泳中染色大 2-10 倍)

- 7. 按照常规方法进行 PAGE 电泳或琼脂糖电泳。
- 8. 用电泳液将本产品稀释 100-500 倍 (100 mL 水需要加 0.2-1 mL 本产品),将胶放入,室温下摇晃染色 1-10 分钟即可看见蓝紫色的 DNA 和 RNA 条带。具体染色多长时间取决于 DNA 和 RNA 的浓度。
- 9. 染色液可以避光放 4℃保存,能反复使用数次。

疑难解答

Q: 为何电泳的前沿出现下图这种只出现一条带的情况呢?



A: 这是由于样品中有大量 RNA 小片段污染(基因组 DNA 提取时没有 RNase 处理的话常常会有大量 RNA 污染),这些小片段裹走了凝胶中的染料,使其后面的凝胶区域没有染料,因此后面的大片段没法染色。建议电泳后再染色观察大片段。

Q: 本产品可否用于 RNA 染色?

A: 可以, 也呈蓝紫色条带。

Q: 本产品是否可以加入上样液中进行染色?

A: 不行,本产品只能直接加入琼脂糖凝胶中进行染色或 PAGE 电泳后再染色。

Q: 为何电泳时间长的话前端的 DNA 和 RNA 条带很淡或根本看不见?

A: 跟 EB 一样, 电泳时本产品朝负极方向移动, 当前端的 DNA (最小片段) 进入没有染料的区域时,已经跟 DNA 或 RNA 结合的染料分子会逐渐脱落, 所以条带会变淡或看不见。解决办法之一是缩短电泳时间或电泳后再染色。

Q: 本产品在哪种缓冲液中效果最好?

A: 本产品跟各种电泳缓冲液兼容,但背景最浅的是中超快核酸电泳液。

技术资料

是否所有核酸染料都有毒性?

核酸染料对动物和人的毒性由多方面决定。一是染料的膜通透性。EB 被归类为强诱变剂是由于其分子量较小,容易进入细胞内。而 EB 二聚体 Ethidium Homodimer (EthD) 嵌入 DNA 的能力比 EB 强上千倍,但毒性很小,就是由于其分子比 EB 大,不能透过细胞膜,所以毒性反而更低。SYBR 系列染料虽然低毒,但由于一般都溶于 DMSO (因为容易水解,不能使用水溶液做溶剂)中,所以如果溅到皮肤表面,更容易进入皮肤。

二是染料是否容易被人体降解。比如 EB 在体外就很难降解,一旦进入体内能在人体内残留的时间可能比较长,增加了毒性;而 SYBR Green I 等染料(也能以嵌入方式与 DNA 结合)由于不稳定,比较容易自然降解,所以毒性自然较低。

三是降解产物是否有毒性。比如用很多方法(如强碱法)降解 EB 得到的产物有的比 EB 毒性更大,而有的染料降解产物毒性却低很多,甚至无毒。

四是染料进入细胞核以后是否能跟 DNA 结合。很多实验结果显示即使 EB 染料也很难嵌入型到染色体中,因为染色体的 DNA 已紧密地与组蛋白结合。

五是染料与 DNA 的结合方式。如果是嵌入式结合(如 EB 染料),则容易在 DNA 复制时引起突变;如果是附着式结合(本产品),则不容易引起突变。

六是细胞修复突变的能力。正常人体都有很强的修复突变的能力,如修复日 光中 UV 诱导的 DNA 突变。总之,一种 DNA 染料的毒性强弱是多种因素综合 的结果。

关联产品

绿如蓝核酸染料 (UV 型, CAT#:70303), PCR 级 DNAGREEN (CAT#:70909)