

SafeRed核酸染料 (10000× 水溶液)

货号：NGG0030S 500ul

NGG0030M 1ml

储存条件： 室温或4°C避光可保存24个月。

产品特点：

1. 带形清晰整齐：SafeRed完全克服了染料分不开大片段DNA的缺点，条带清晰整齐美观。
2. 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，SafeRed完全克服这一点。
3. 定量准确：适用于核酸分子大小的确定和定量，EB对小DNA片段定量不准确。
4. 灵敏度高：适用于各种大小片段的电泳染色，
5. 稳定性高：耐热，可加在缓冲液里，100°C溶解凝胶，
6. 信噪比好：样品荧光信号强，背景信号低，
7. 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。
8. 适用范围广：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。
9. 完美兼容：SafeRed兼容所有的紫外凝胶透射仪；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。

操作步骤：

一. 胶染法 (预染法, 用法EB完全相同)

制胶时加入SafeRed 核酸染料(染料灵敏, 每100mL 琼脂糖溶液中加入10μL SafeRed 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 SafeRed 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： 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SafeRed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 SafeRed 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, SafeRed 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 SafeRed 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。SafeRed 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: 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SafeRed® 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 SafeRed® 10,000×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3×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:** 用泡染法染色时, 染料用量较多。3× SafeRed®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3X SafeRed的1X缓冲液中的振荡染色30-60分, 放置在紫外检测即可。

***注: 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。**