

CorYeabio 核酸染料 (10000X)

货号: KS216

规格: 500ul

保存条件: 常温避光 2 年

核酸染料特点

1. 适用范围广: 可选择电泳前染色(胶染法)或电泳后染色(泡染法); 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。
2. 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, 即可直接用紫外凝胶透射仪观察。
3. 信噪比好: 样品荧光信号强, 背景信号低, 荧光亮度是 EB 的十倍以上, 肉眼可观测到亮度明显比 EB 强, EB 会导致胶的整体背景稍微高些, 经常出现阴阳背景。
4. 灵敏度高: 适用于各种大小片段的电泳染色。
5. 带形清晰整齐。
6. 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, 即可直接用紫外凝胶透射仪观察。
7. 完美兼容: 与 EB 有相同的光谱特性, 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, 使用与观察 EB 相同的普通紫外凝胶透射仪观察即可, 在 300nm 紫外光附近可得到最佳激发。
8. 安全无毒。

操作步骤

一. 胶染法(推荐方法, 用法类似 EB) 制胶时加入 CorYeabio 核酸染料(染料灵敏, 每 100mL 琼脂糖溶液中加入 10 μ L CorYeabio 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 (尽管国产的 DNA marker 浓度较高, 可正常量使用, 一般 5 μ L。)

(2) 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。

(3) 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。

(4) 溴酚蓝指示剂, 1%的西班牙琼脂糖凝胶

(5) 仪器: 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 TAE 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℃左右 加入 5ul 的 CorYeabio 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 5ul 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。

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，尽管我们大分子的 CorYeabio 与 DNA 是通过静电吸引非共价结合的，我们也完全克服了国外同类产品对大分子量 DNA 条弥散的问题！

1. 尽管多数国产的 DNA marker 浓度较高，经测试我们的 CorYeabio 仍然适用，不需要像国外同类产品稀释 Marker 一倍后使用！
2. 更换电泳缓冲液，新配置的电泳液效果好！ TBE 缓冲液比 TAE 效果好，因为含硼酸盐的试剂导电性能更好。
3. 电泳时电压不宜过高，一般不要超过 130V。
4. 对 DNA 的迁移率和条带分离效果 CorYeabio 与 EB 相比，完全一样！但是 EB 会导致胶的整体背景稍微高些，经常出现阴 阳背景（胶的背景一部分亮一部分暗），这个方法可以区分染料是否是 EB 配置的。
5. CorYeabio 染料和样品混合后，点样到琼脂糖凝胶中，不推荐这种点样法。
6. 由于 CorYeabio 具有良好的热稳定性，可以在热的琼脂糖溶液中直接添加，而不需要等待溶液冷却。摇晃，振荡或者翻转以保证 染料充分混匀。也可以选择将 CorYeabio 储液加到琼脂糖粉末和电泳缓冲液中，然后用微波炉或其他常用方式加热以制备琼脂糖 凝胶。CorYeabio 兼容所有常用的电泳缓冲液。
7. 如果总是看到条带弥散或分离不理想，为了避免染料可能对 DNA 迁移的干扰，建议使用电泳后染胶。使用泡染法染色以确认问 题是否与染料有关。如果染色后问题依旧存在，则说明问题与染料无关！

*此方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。

二. 泡染法（1）按照常规方法进行电泳。用于胶回收等高浓度 DNA 样品强烈推荐泡染法！

（3）用H₂O 将 CorYeabio 10,000× 储液稀释约 3,300 倍到 0.1M NaCl 溶液中，制成 3× 染色液。（例如将 15 μL CorYeabio10,000× 储液加入到 50mL 0.1M NaCl 溶液中）。

（4）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 3.5~10% 丙烯酰胺的凝胶，染色时间通常介于 30min 到 1h， 并随丙烯酰胺含量增加而延长。

（5）用 302nm 激发的 UV 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。单次使用的染色液可重复使用3 次左右；3× CorYeabio 染色液可以大量制备，在室温下 避光保存直至用完。

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 CorYeabio 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：与琼脂糖凝胶不同，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。