|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **天净沙系列** | | **CAT#:220108-10**  **常温运输和保存** | | ***e13946acdbc5c1a1176b84696beed66*** |
| **核酸染料(可见光型)**  **DNAgreen（Visible Light）** | | |
| **使用手册V1.0** | | |
| **江苏天净沙基因诊断技术有限公司**  **网址：www.bingene.com；电话：400-6005850；电邮：order@bingene.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。 3. 由于避免了UV对DNA的伤害，胶回收片段的克隆效率比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。 5. 灵敏。检测灵敏度比EB低一倍，能满足常规核酸电泳实验要求。 6. 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。 | |
| **规格及成分** | | |  |  |  | | --- | --- | --- | | **成 份** | **编 号** | **数量** | | 核酸染料(可见光型) | 220108 | 10 mL（棕色瓶） | | 使用手册 | 220108sc | 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DNA上样液混合后上样，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。强烈建议使用本公司的6×A型DNAon（产品编号3690A），它只含相当于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光片用的白色灯箱，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白色灯箱发光面的上面观察效果更佳。典型电泳结果如下：  |  | | --- | | 未命名 |  1. 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）**   1. 按照常规方法进行PAGE电泳或琼脂糖电泳。 2. 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。 3. 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？   |  | | --- | | 未命名 |   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) | |

20180730dx