

天  
净  
沙  
系  
列

CAT#:220117-1.5  
常温运输、4℃保存

**BINGENE**

**核酸电泳染料（紫外光型）**

**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](http://www.bingene.com); 电话: 400-6005850; 电邮: [order@bingene.com](mailto:order@bingene.com)

## 产品及特点

目前最常见的替代 EB 的核酸染料 SYBR Green I (属于花氰类染料) 虽然毒性比 EB 低、灵敏度比 EB 高, 但由于其化学稳定性差 (怕光、怕水、怕热), 实验结果的重复性差; 此外, SYBR Green I 在电泳过程中能在 DNA 分子间移位, 使 DNA 条带模糊和扭曲, 使得电泳清晰度和分辨率不如 EB。所以在实际应用中依然不能有效替代 EB。本产品是同时具有 EB 稳定性和 SYBR Green I 低毒性的新性核酸染料, 其特点如下:

1. 低毒。其主要成分未发现对人体有致癌性、未被列入有毒有害品, 有利于保护使用者的健康和保护日益恶化的环境。
2. 灵敏。检测灵敏度跟 EB 相当, 能满足常规核酸电泳实验要求。
3. 稳定。对光、水和热的稳定性跟 EB 相当, 可加入琼脂糖凝胶中反复熔化。
4. 无分子间位移现象。不会出现 SYBR 染料常见的条带模糊和扭曲现象。
5. 使用方法多样。既可以加入熔化的胶中, 也可以电泳后染色, 还可用于 PAGE。
6. 跟各种常用的核酸电泳缓冲液 (如 TBE、TAE) 兼容, 但在 TBE 中背景最低。
7. 观察时可以使用现成的观察 EB 的 300nm UV 紫外仪。
8. 既可用于 DNA 电泳染色, 也可用于 RNA 电泳染色。
9. DNA 或 RNA 浓度较高时还可以直接在日光下观察 (需要将胶放在黑色背景下)。由于避免了 UV 对 DNA 的伤害, 尤其适用于胶回收实验。

## 规格及成分

成份	编号	规格	包装材料
核酸电泳染料 (紫外线型)	220117	1.5 mL	1.5mL 棕色管
使用手册	220117sc	1 份	无

## 运输及保存

常温运输, 4℃ 保存, 有效期一年。

## 自备试剂

电泳缓冲液和琼脂糖凝胶

## 使用方法

**注意:**虽然本产品的主要成分未发现对人体有致癌性、未被列入有毒有害品, 但操作时最好还是戴上塑料手套。

**使用方法之一: 电泳中染色 DNA (RNA 的染色跟 DNA 完全一样)。**

本方法是将本产品直接加入溶化的凝胶中使用, 只适用于琼脂糖凝胶电泳, 不适用于 PAGE。

1. 将本产品直接加入到融化的琼脂糖凝胶中, 每 100mL 凝胶加 5 uL 本产品 (如果用 TBE 缓冲液) 或电泳染色, 混合均匀后倒胶。琼脂糖凝胶中不能含任何其他染料 (如 EB 和 SYBR Green I, 否则会相互干扰)。注意: 一定要保证琼脂糖彻底熔化, 尤其是在第一次熔化胶的时候, 否则未熔化的小颗粒将产生跟染料相同的荧光。

2. 将 DNA 样品与 DNA 上样液按比例混合后上样。注意：一定要使用不含 SDS 等去污剂的上样液，否则 SDS 会跟染料结合，极大地降低灵敏度。
3. 上样后电泳，电泳参数同常规的电泳。
4. 电泳结束后在 300 nm 左右的 UV 下观察。注意：不要使用波长为 260 nm 或 360 nm 的 UV，否则检测灵敏度会降低。如果 DNA 或 RNA 浓度较高，还可以直接在日光下直接观察（需要将胶放在黑色背景下），避免 UV 对 DNA 的伤害，尤其适用于胶回收实验。

注：显色结果：在紫外下，DNA 浓度非常高的时候是白色，浓度低的时候是绿色的，单链核酸有时是红色的。

#### 使用方法之二：电泳后染色 DNA

本方法是在电泳后对 DNA 进行染色，适用于琼脂糖凝胶电泳和 PAGE。但该方法需要单独的染色处理，染料用量较大，不推荐用于琼脂糖凝胶的染色。

1. 按照常规方法进行电泳。
2. 用去离子水将本产品稀释 500 倍后（100 mL 水需要加 0.2 mL 本产品），将凝胶放入，室温下摇晃染色 30 分钟（对琼脂糖凝胶）或 15 分钟（对 PAGE）。
3. 用水脱色 10-30 分钟，具体时间需根据背景强弱决定，其余同方法一。

**注意：**电泳后染色液可以反复使用次数。

#### 疑难解答

Q：本产品可否用于 RNA 染色？

A：可以，不论 RNA 是在甲醛变性胶中电泳，还是在普通的 TBE 或 TAE 胶中电泳，RNA 染色后在 300nm 下都跟 DNA 一样呈绿色，

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凝胶中进行染色或电泳后再染色。

Q：为何前端（靠近正极）的 DNA 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）进入没有本产品的区域时，已经结合的染料分子会逐渐从 DNA 分子上脱落，所以条带会变淡或根本看不见。解决办法之一是缩短电泳时间或电泳后再染色；之二是在每 100 mL 电泳缓冲液中补加 3-5uL 染料。

Q：本产品在哪种缓冲液中效果最好？

A：在 TBE 中效果最好。如果使用 TAE 100mL 胶中加 3-5 uL 本产品就可以。

Q：为何电泳后前面部分（靠近正极）的胶呈白色，后面的胶呈黑色？

A：本产品带正电，电泳时往上走，胶的黑色部分是染料上移后留下的无染料胶。本产品 TAE 中背景最强，可参考上个问题答案更换电泳液以降低背景值。

Q: 用 SYBR 染色的 DNA 在电泳时为何容易发生条带模糊和扭曲现象?

A: SYBR 染料一般与 DNA 的小沟结合,但在常规电泳条件下该结合并不牢固,染料分子可以在标记的和未标记的 DNA 分子之间转移,使 DNA 分子的泳动速度时快(无染料结合时)时慢(有染料结合时),发生条带模糊和扭曲现象。嵌入型染料(如 EB 和本产品)与 DNA 结合牢固,则无此现象。

Q: 核酸染料是否都有毒性?

A: 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,因为染色体中的 DNA 已经紧密地与各种组蛋白结合。五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**

核酸电泳染料(可见光型)