



GelGreen 核酸染料 (10000×水溶液)

产品信息:

组成	EL110-01	EL110-02
GelGreen 核酸染料(10000×)	500μl	500μl×5

储存条件: 室温可保存 24 个月。

产品特点:

- 带形清晰整齐:** 完全克服了原装国外相同染料分不开大片段DNA的缺点, 所有电泳条带清晰整齐美观。
- 相对安全:** 油性大分子特点使其不易穿透完整细胞膜进入细胞内, 使用相对安全, AMES实验显示在工作浓度(凝胶染色浓度)下没有发现诱变性, 可以代替致癌物溴化乙锭EB作为各种核酸电泳的染色剂。
- 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, 我们的大分子GelGreen完全克服这一点。
- 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。
- 染色均匀:** 电泳时染色均匀, 靠近负极凝胶和靠近正极端的亮度一样。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); EB长时间、长距离的电泳, EB信号强度会相应下降。我们的大分子GelGreen完全克服这一点。
- 灵敏度高:** 适用于各种大小片段的电泳染色, 对核酸迁移的影响小于SYBR Green I。
- 稳定性高:** 适用于使用微波或其它加热方法制备琼脂糖凝胶; 室温下在酸或碱缓冲液中稳定。
- 耐光性强:** 实验室的日常光线照射环境下可以常温放置24个月。
- 信噪比好:** 样品荧光信号强, 背景信号低。
- 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, 即可直接用紫外或蓝光凝胶透射仪观察。
- 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。
- 完美兼容:** 适用于使用254nm 激发的紫外凝胶成像系统或蓝色可见光激发的凝胶观察装置。它和SYBR Green I的光谱相似。

操作步骤:

一. 胶染法(推荐方法, 用法类似EB)

- 制胶:** 按常规操作, 制备琼脂糖凝胶, 加入浓缩的10,000× SafeGreen, 使其在凝胶中的终浓度为1×(例如: 制备50ml的凝胶, 加入染料5μl), 轻轻摇匀, 倒胶。
- 电泳:** 按常规方法电泳, 观测结果。与EB相比, GelGreen跑胶的时间需要长一些。

二. 泡染法

- 按照常规方法进行电泳。
- 将GelGreen 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15μL GelGreen 10,000× 储液加入到50mL 0.1M NaCl溶液中)。
- 将凝胶小心地放入合适的容器中。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。
- 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× GelGreen染色液可以大量制备, 在室温下避光保存直至用完。

优化电泳条件参考事项:

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，而大分子的GelGreen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 GelGreen 的高灵敏性，建议减少 DNA 的上样量，推荐已知浓度样品的上样量为 50~200ng/泳道(8 泳道小胶孔)。对于未知浓度的样品，尝试 1/3 或 1/5 的常用上样量。国产的 DNA marker 浓度太高，至少稀释一倍后使用！
2. 更换电泳缓冲液，新配置的电泳液效果好！推荐用 1×TBE 缓冲液代替 TAE，因为含硼酸盐的试剂导电性能更好。
3. 染料无需低温冷冻，室温或 4℃ 下储存即可，以避免沉淀，若发现沉淀，请将染料加热至 45~50℃，2min，搅拌溶解，不影响使用效果。
4. GelGreen染料由于染料分子偏大，会对大片段迁移有一定影响，偶尔会造成拖带，微笑条带等情况。减少DNA上样量。污染和微笑条带往往是过量的DNA样本造成的。高分子量的DNA在低百分比的琼脂糖凝胶分离效果比较好。
5. 染料过于灵敏，建议marker浓度稀释一倍，特别是含大片段多的marker！目前国产的marker是基于EB染料开发的酶切的混合片段，浓度对于GelGreen是偏高的；另外，EB显示不出来酶切的混合片段的杂带，GelGreen的高灵敏性会显示出来。少数情况下质粒经某些酶切后的DNA样品会出现拖尾和分辨率降低，请使用后染法。
6. 染料过于灵敏，建议未知浓度的样品的稀释一倍后上样，特别是含大片段多的样品。
7. 与EB相比，GelGreen跑胶的时间长一些。
8. GelGreen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。
9. 由于GelGreen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GelGreen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。GelGreen兼容所有常用的电泳缓冲溶液。
10. 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！

20250108