

## 红色核酸凝胶染色液(10000× in water)

### BiosRed nucleic acid gel stain (10000×,in water)

货号：C6027

规格：0.5ml (10000X)

保存条件：2-8℃避光干燥可保存 12 个月。

#### BiosRed 核酸染料特点

1. 安全无毒：独特油性大分子使其不能穿透细胞膜进入细胞内，艾姆斯氏实验表明，该染料的诱变性远远小于 EB。
2. 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 Bios Green I。
3. 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极其稳定，耐光性强。
4. 信噪比高：样品荧光信号强，背景信号低。
5. 操作简单：与 EB 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。
6. 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。
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。

#### 操作步骤：

##### 一 . 胶染法（推荐方法，用法类似 EB）

制胶时加入 10000X BiosRed 核酸染料(染料灵敏，每 100mL 琼脂糖溶液中加入 3~5μL 10000X BiosRed 原装液即可)。按照常规方法电泳。

##### 1. 实验室材料和试剂：

- (1) 实验样品：质粒 DNA，DNA marker
- (2) 试剂：TAE 电泳缓冲液（Tris 24.2g,冰乙酸 5.71ml，EDTA 2.92g,NaOH 1.6g,PH8.0 定容 5000ml），溴酚蓝指示剂，1%的西班牙琼脂糖凝胶，10000X BiosRed 核酸染料
- (3) 仪器：电泳仪（100v），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 50mLTAE 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 40~50℃左右时加入 1~2ul 的 10000X BiosRed 凝胶电泳染料，混匀。

(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 20 分钟左右胶体凝固后，缓慢垂直向上拔起点样梳子，切勿用力过猛。

(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 100~120v 之间，一般是 5V/cm)。

(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 312nm 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。500 μL 染料大约可以做 200~500 块 50mL 的胶。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。**

#### 优化电泳条件参考事项：

要得到漂亮胶图与多种因素有关，需要在 EB 的基础上优化电泳条件，请尝试：marker 浓度和样品浓度稀释一倍；降低琼脂糖浓度；选用更长的凝胶；降低电压延长凝胶时间以保证边缘清晰；改进上样技巧或选择泡染法染色。10000X BiosRed 染料由于染料分子偏大，会对 marker 的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。推荐的泳道和已知浓度的样品的上样量为 50-200ng/泳道。对于未知浓度的样品，尝试 1/2 或 1/3 的常用上样量；减少 DulRed 在凝胶中的总量，比如用 0.5X 的浓度来代替 1X 的浓度。配制百分比浓度小的琼脂糖凝胶。高分子量的 DNA 在低百分比的琼脂糖凝胶分离效果比较好。

- 更换电泳缓冲液。新配置的电泳液效果好！TBE 缓冲液比 TAE 缓冲液的效果更好。
- 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！目前的 marker 是基于 EB 开发的，浓度对于 10000X BiosRed 一般是偏高的。
- 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。
- 与 EB 相比，10000X BiosRed 电泳电压要低一些(一般是 5V/cm 但是不绝对)，跑胶的时间长一些。
- 10000X BiosRed 染料和样品混合后，点样到琼脂糖凝胶中，有时效果非常好，有时效果不好。
- 由于 10000X BiosRed 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 10000X BiosRed 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。10000X BiosRed 兼容所有常用的电泳缓冲溶液。
- 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！

**\*注：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。

(2) 用 H<sub>2</sub>O 将 10000X BiosRed 储液稀释约 3,300 倍到 0.1M NaCl 中，制成 3×染色液。  
(例如将 15μL 10000X BiosRed 储液和 5mL 1M NaCl 加到 45mL H<sub>2</sub>O 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 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。

(4) 用 312nm 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× BiosRed 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×凝胶栽样缓冲液混合，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 GeRed 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。**

### 特别提醒：

如果您使用的是紫外成像仪，请选择 10000X BiosRed；如果您使用激光成像仪或希望在可见光下观测，请选择 BiosGreen。

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，建议尝试两种染色方法决定哪种方法更合适。