

核酸显影剂 Gel Green 和 Gel Red

产品	英文描述	包装	储存
凝胶绿核酸显影试剂, 10000x 水溶液	Gel Green, 10000x water solution	0.1 mL, 1 mL, 5 mL	常温避光保存。有效期至少 2 年。
凝胶红核酸显影试剂, 10000x 水溶液	Gel Red, 10000x water solution	0.1 mL, 1 mL, 5 mL	常温避光保存。有效期至少 2 年。

产品简介

凝胶绿和凝胶红, 即 Gel Green 和 Gel Red, 主要用于显示凝胶 (包括 Agarose 和 PAGE 胶) 中的核酸条带。它们是目前最广泛使用的新一代核酸显影染料, 具有高灵敏、低毒性和超稳定性等诸多优点。Gel Green 和 Gel Red 主要用于替代 EB (溴化乙锭)。溴化乙锭是一种上世纪 60 年代就开始使用的核酸荧光染色剂, 价格便宜, 但是为强致癌诱变剂, 在很多发达国家被管制使用 (沾有 EB 的枪头和废胶需回收处理); 另外作为一种古董级别的核酸染料试剂, EB 的灵敏度在很多场合下无法满足现代实验需求。

Gel Green 和 Gel Red 既可以显影双链 DNA, 也可以显影单链的 DNA 和 RNA, 并且对核酸片段的大小没有限制, 小到 20bp 的引物片段, 大到几十 kb 的基因都可以用它们显影, 另外也可以显影 siRNA, mRNA, 以及一些化学修饰过的非天然核酸。从化学结构上看, Gel Green 和 Gel Red 这两个染料属核酸嵌合剂, 对核酸有很高的亲和力。通过与核酸嵌合, 染料形成可发出绿色或者红色荧光的复合物来显影核酸踪迹, 由于这两个化合物本身没有荧光 (或者很弱), 仅仅遇到核酸后才发射强荧光, 因此显影时几乎没有背景荧光, 成像灵敏度非常高, 可显影低至 1 ng 的双链 DNA。

除了灵敏度高以外, Gel Green 和 Gel Red 最大卖点是安全性。Gel Green 和 Gel Red 都是分子量比较大的极性分子, 极易溶于水, 很难透过细胞膜, 因此不会透过皮肤对使用者产生伤害。另外, Gel Green 在远高于其工作浓度范围时也没有诱变性, 艾姆斯氏试验结果表明, 当 Gel Green 浓度高达约 20 微克/毫升时, 也没有检测到致突变性, 安全性远远高于 EB。尽管 Gel Red 的安全性不如 Gel Green, 但是也处在非常安全的范围内, 其水溶液通过美国环保局安全认定, 废弃物可直接倒入下水道, 而不会造成任何环境污染。

Gel Green 和 Gel Red 的化学稳定性也很高。Gel Green 和 Gel Red 水溶液可在室温长期保持。在弱酸或弱碱缓冲液中也极其稳定, 兼容所有常用的电泳缓冲溶液。而像 SYBR green, SYBR safe, SYBR gold 等 SYBR 系列染料, 据称在微碱性电泳缓冲溶液或热胶液中会降解, 稳定性差导致染色效果不稳定。Gel Green 和 Gel Red 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。核酸染料也可以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直接制备琼脂糖凝胶。

Gel Green 和 Gel Red 兼容大部分实验室凝胶成像系统。Gel Green 的荧光属性与 SYBR Safe 类似, 可以使用 480 nm 激光凝胶扫描仪或者蓝光透射仪成像, 也可以用 254nm 激发的紫外凝胶观察装置。Gel Red 与 EB 的凝胶观察装置完美兼容, 一般使用 312nm 激发的 UV 凝胶成像系统观察, 可以完美的替代 EB。

重要产品信息

- 核酸显影既可以采用预染法 (预制凝胶时在热胶液中直接加入核酸染料), 也可以采用泡染

法(凝胶电泳后染色)。一般琼脂糖凝胶(Agarose)多采用预染法,而聚丙烯酰胺凝胶(PAGE)请使用泡染法。预染法使用的染料终浓度一般都是 1x(即母液稀释 10000 倍),而泡染法使用 3x 的染料终浓度。另外,适当情况下可以提高终浓度以提高显影灵敏度。

- Gel Green 适用于约 480nm 或 254nm 激发的成像系统,一般常用 480nm 的蓝光透射仪,灵敏度较高。
- Gel Green 和 Gel Red 对双链 DNA 和双链 RNA(dsRNA)最灵敏,但是也可染色单链 DNA 和 RNA。Gel Red 对单链核酸的染色灵敏度约为对双链 DNA 染色灵敏度的一半。Gel Red 对单链核酸的染色灵敏度约为 Gel Green 的 5 倍。
- Gel Green 和 Gel Red 可以兼容胶回收步骤。在胶回收步骤中,沉淀液洗涤液中富含有机溶剂(乙醇异丙醇等),能将染料从核酸分子中萃取出来,因此胶回收所得核酸样品不残留任何染料,不会干扰下游生物实验。
- 分子克隆实验建议使用 Gel Green。Gel Green 的核酸显影采用蓝光透射仪,而 Gel Red 的显影采用紫外透射仪。紫外光的能量比蓝光强非常多,更容易引起 DNA 磷酸键断裂(DNA nick),从而让实验失败。

使用方法

Gel Green 和 Gel Red 显影核酸可以采用预染法(预制凝胶中加入染料)和泡染法(凝胶电泳后染色)。使用预染法,核酸在电泳过程中与染料结合在一起,随着电流在胶块中向正极移动中,实现了电泳和染色的同步,因此使用方便,是最常用方法。泡染法采用先电泳后染色的方式,染料耗费较多,并且步骤复杂耗时,一般仅限于聚丙烯酰胺凝胶(PAGE)。

预染法操作步骤(主流方法):

- 1) 配置琼脂糖胶溶液,微波炉加热融化琼脂糖粉末,直到粉末完全融化,不见明显颗粒后取出。
- 2) 用 10 微升移液枪,吸出适量染料母液(10000x),加入热胶液中,趁热摇晃,将染料混匀到胶液中。比如,取 5 μ L 染料水溶液加入到 50mL 热胶液中,混匀。由于染料不惧怕高温,所以可以在胶液从微波炉中取出后就立即加入染料,在高温时,胶溶液不黏稠,容易让染料混合均匀。
- 3) 将胶液倒入胶槽中,比插入样品梳,等待凝胶冷却成型。可将胶槽移入冰箱或者冷库加速凝胶成型。
- 4) 将胶移入电泳槽,加入核酸样品,并加载电压电泳。每个样品槽推荐上样 50-200ng 的 DNA,或者 2-5 μ L 的 PCR 反应液。如果上样过多,可能会让核酸条带变形。Gel Green 和 Gel Red 显影灵敏,一般仅仅需要 EB 法 1/2-1/3 用量的 DNA 就足够了。如果电泳的样品是单链 DNA 或者 RNA,则需要多上样一些核酸。
- 5) 在凝胶成像装置上观测结果。Gel Red 使用紫外透射仪, Gel Green 一般使用蓝光透射仪。

泡染法操作步骤:

- 1) 在不加染料的前提下配置凝胶,并电泳。
- 2) 将染料母液用 PBS、电泳液或者纯水稀释至 3x。将胶泡入染料溶液中,务必使染料溶液没过胶顶面,缓慢摇晃 30 分钟。一般 5 分钟后就可以见到核酸条带出现。如果是显影非常短的核酸片段,建议不要染色过久,因为小片段分子量比较小,会在胶中缓慢扩散,从可能让核酸条带变得模糊。
- 3) 用清水简单冲洗一下胶表面后,在凝胶成像装置上观测结果。

注意事项：

- 采用预染法时，DNA 是和核酸染料结合在一起电泳的。由于 DNA 负载着染料分子，因此它们在胶中的运动速度和普通 DNA（比如泡染法中电泳 DNA）是有所不同的，所幸的是电泳实验一般以 DNA Ladder 作为参照，因为 DNA Ladder 在预染胶中也是负载着染料分子的，所以预染法一般都可以准确的显示核酸大小。
- 含有染料的凝胶可以在 4 度冰箱保存几天使用。不建议将胶泡在电泳仪中保存，因为胶中的染料是小分子，会从胶中缓慢扩散出来，降低显影灵敏度。
- 泡染法中使用过的染料溶液可以回收后继续使用几次，但是建议 4 度避光保存。

常见问题

- Q. 如何选择 Gel Green 和 Gel Red? 它们有什么不同?
- A. Gel Green 和 Gel Red 的主要区别是核酸显色时荧光不一样，Gel Green 遇核酸显绿色荧光，与 SYBR Safe, SYBR Green 类似；Gel Red 则显红色荧光，与 EB 类似。Gel Green 和 Gel Red 对核酸的亲合力都很高，显影都很灵敏，但是由于红色荧光低背景效应和肉眼敏感性，Gel Red 的显影灵敏度稍微高一些。另一个区别是所用的成像仪器，Gel Red 一般用 312 纳米左右紫外光照射显影，而 Gel Green 一般多用 480 纳米左右的蓝光透射，由于紫外光对皮肤和眼睛有伤害，所以 Gel Green 更安全一些，同时，蓝光能量低，对 DNA 核酸样品的破坏性较小，采用 Gel Green 进行胶回收的 DNA 更完整，有助于提高克隆实验效率。
- Q. 核酸染料在白光下暴露了几天，它们坏了吗?
- A. Gel Green 和 Gel Red 可以在常温保存很长时间。它们的光稳定性也比较强，很大概率这些染料还是可以用的。最好的方式是取一些染料试一试。本公司所有荧光染料都应该避光保存，如果 Gel Green 溶液由深黄色变为砖红色，则可能预示着染料被强光破坏了。
- Q. 为什么我用 Gel Green 和 Gel Red 染色后核酸条带不明显，或者背景比较高?
- A. 核酸显影后条带不明显的原因很多。比较常见的原因之一是预制凝胶时染料没有和胶液混合均匀，导致成胶后有的位置染料浓度过低；另外一个原因可能是染料保存的温度过低，比如 4 度或者 -20 度冻存，在低温下，染料在溶液中的溶解度下降，导致部分染料析出，从而让母液中有效浓度下降，导致核酸显影能力不足。Gel Green 和 Gel Red 的 10000x 母液在常温下是澄清液体，在 4 度时，管壁会有固体或油状染料析出，所以推荐将染料保存在常温下。
- Q. 在凝胶中显影核酸时，Gel Green 和 Gel Red 的对双链 DNA 的检测限是多少?
- A. Gel Green 和 Gel Red 是超灵敏的 DNA 染料，有些学者报道，它们可以检测低至 0.1ng 的 DNA 条带，但是检测灵敏度与所使用的仪器性能和所设置的曝光时间都有关系。我们一般推荐上样 50-200ng 的 DNA，肉眼可见清晰条带；上样 10ng 的 DNA，可以相机成像；如果更低量的 DNA，则需要优化曝光和成像参数。
- Q. 采用预染法配置的凝胶，如果还没有使用，能不能在冰箱保存?
- A. 预染法配置的凝胶含有 1x 的核酸染料，可以用锡箔纸包裹后在 4 度冰箱保存几天。在保存过程中，应该保证凝胶的湿润，避免水分挥发凝胶萎缩；不能将凝胶泡在液体中保存，防止染料扩散。由于预制凝胶中仅有 1x 的染料含量，建议避光，同时推荐尽快使用。