



CelStain 10000*核酸染料

货号：CS001

存储条件：常温保存，2年有效

产品特点：

带形美观：第四代核酸染料 CelStain 克服了国外同类染料分不开大片段 DNA 的缺点，电泳条带清晰整齐美观。

方便观测：用手持紫外灯或者手持蓝光仪都可以随时观察电泳情况。

相对安全：独特油性大分子(分子量>1000)使其不能穿透细胞膜进入细胞，Ames-test 实验表明，在凝胶染色浓度下该染料的没有 EB 类似的诱变性，使用安全，可以代替致癌物溴化乙锭 EB 作为各种核酸电泳的染色剂。

完美兼容：兼容 Red 和 Green--CelStain 同时适用于紫外成像仪/激光成像仪和蓝光仪！同时拥有 EB 和 Sybr Green 类似的光谱，无需改变滤光片及观察装置，标准 EB 滤光片或 SYBR 滤光片都适用。

Page 胶肉眼可观测条带(不需要激发光,包括紫外和蓝光)。

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，大分子 CelStain 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，整片胶的背景一样。EB 会导致胶的整体背景不同，经常出现阴阳背景（胶的背景部分亮，另一部分暗）；EB 长时间、长距离的电泳，EB 信号强度会相应下降，大分子 CelStain 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，肉眼可观测到亮度明显比 EB 强，EB 会导致胶的整体背景稍微高些，经常出现阴阳背景。

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。

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。

操作步骤：

一. 胶染法（推荐方法，用法类似 EB）

制胶时加入 SafeStain 核酸染料(染料灵敏，每 100mL 琼脂糖溶液中加入 10 μ L SafeStain 原装液即可)。按常规方法电泳。

1. 实验室材料和试剂：

(1) 实验样品：质粒 DNA，DNA marker（国产的 DNA marker 浓度高，至少稀释 2~3 倍后使用!）

(2) TBE 缓冲液配置：10X TBE 电泳缓冲液[Tris 107.8146g (890mM), 硼酸 55.0287g(890mM), EDTA 5.845g(20mM), 加 NaOH 约 4g 调节 pH=8.3; 定容 1000mL; 用 ddH₂O 稀释 10 倍配制 1X TBE 电泳缓冲液。

(3) TAE 缓冲液配置：50X TAE 电泳缓冲液[Tris 242g (2M), EDTA 37.2g(100mM), 加醋酸约 57ml 调节 pH=8.5; 定容 1000mL]; 用 ddH₂O 稀释 50 倍配制 1X TAE 电泳缓冲液。

(4) 溴酚蓝指示剂，1%的西班牙琼脂糖凝胶

(5) 仪器：电泳仪（130v），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 50mL 1X TBE 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 50°C 左右加入 5ul 的 SafeStain 凝胶电泳染料, 摇匀。

(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 30 分钟左右胶体充分凝固后, 缓慢垂直向上拔起点样梳子, 切勿用力过猛。(夏季适当延长凝胶时间)

(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 120~130v 之间, 一般可选择 130V)。

(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 302nm 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。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:

1) 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 GelStain 与 DNA 是通过静电吸引非共价结合的, 在 DNA 外面偶尔出现条带迁移, 特别是大片段 DNA!

2) 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! 国产的 marker 是基于 EB 染料开发的酶切的混合片段, 浓度偏高; 另外, EB 显示不出来酶切的混合片段的杂带, SafeStain 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。

3) 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。推荐上样量为 50~200ng/泳道(8 泳道小胶孔)

4) 与 EB 相比, GelStain 电泳电压要低一些, 电泳时电压不宜过高, 一般不要超过 130V。跑胶的时间 40~60min。

5) SafeStain 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。

6) 由于 SafeStain 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。摇晃振荡以保证染料充分混匀。可以将 SafeStain 原液加到琼脂糖粉末和电泳缓冲液中, 用微波炉加热以制备琼脂糖凝胶。SafeStain 兼容所有常用的电泳缓冲溶液。

7) 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, 建议使用电泳后染法。使用后染法(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!

*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。(用于胶回收等 DNA 高浓度的样品实验强烈推荐泡染的方法!)

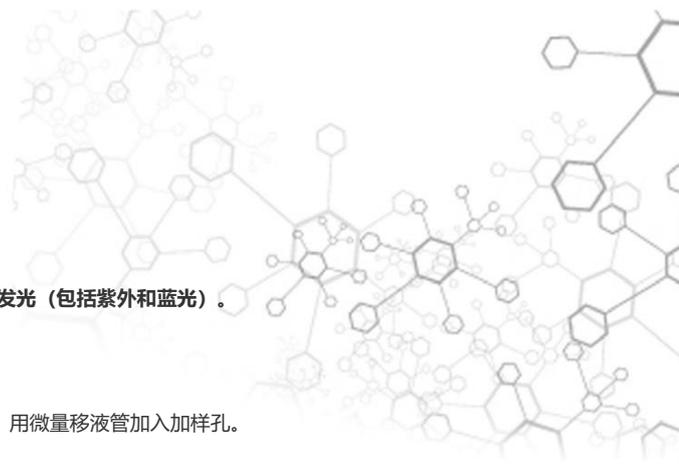
(2) 将 SafeStain 10,000× 储液稀释约 1 万倍到 0.1M NaCl 溶液中, 制成 1× 染色液。(例如将 5μL SafeStain 10,000× 原液加入到 50mL 0.1M NaCl 溶液中)。

(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 1× 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 302nm 激发的 UV 凝胶成像系统或者蓝光仪下观察结果。

*注意: 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; 1× SafeStain®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: Page 胶实验室灯光下, 肉眼可观测条带, 不需要外源激发光 (包括紫外和蓝光)。

- 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×凝胶上样缓冲液混合, 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 1X SafeStain 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: 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。

