

## K5 Gelred Plus 核酸染料（更清晰的 EB 替代品） 使用说明书

产品名称	单位	货号
K5 Gelred Plus 核酸染料(10000X)	500µl	KPMF079-plus-01
K5 Gelred Plus 核酸染料(10000X)	5x500µl	KPMF079-plus-05

### 【储存条件】

2-8. C（避免太阳光直射）。保质期5年

### 【产品组分】

K5 Gelred Plus 核酸染料(10000X) 500µl

### 【产品简介】

K5 Gelred Plus 核酸染料(10000X)是在 Gelred 基础上优化开发的一种具有凝胶染色特性，并被设计为替换高毒性染色剂—溴化乙锭（EB）的红色荧光核酸染色剂，比 Gelred 具有更高的清晰度和灵敏性。因为 Gelred Plus 与 EB 有着相同的光谱特性，可以在不改变任何成像系统的情况下用来替换 EB。如果使用的是 SYBR（如 SYBR Green 1/SYBR Gold）染色剂，并使用紫外透射器(UV transilluminator)来观察凝胶，那可以使用 Gelred Plus 替换 SYBR 染色剂，不需要更换现有的 SYBR 滤光片。然而，在 488 nm 激光或类似可见光下 Plus 不能被充分地激发，如果需要，建议您使用 GelGreen 染色剂（KP147-plus），其灵敏度与 SYBR Green I 一样，但其稳定性和可靠性远胜于后者。K5 Gelred Plus 既可用于前染（precast gel staining），也可用于后染（post gel staining）。通常 后染比前染能够获得更灵敏的特性，并能排除染色剂在电泳过程中对核酸条带分离造成任何影响的可能性。然而，前染较后染更为简

单、经济，因为前染不需要额外的着色过程，并且染料用量更少。另外，与 GelGreen、EvaGreen 一样，相对 EB 或 SYBR，Plus 诱导突变的能力极低。 **K5 Gelred Plus 核酸染料，10,000X in water 为浓缩的 Gelred Plus 溶液。**用于前染时，可稀释 10,000 倍后使用；用于后染时，建议您稀释 3,300 倍后使用，见具体操作步骤。

### 【产品特点】

1. 安全无毒：独特的油性大分子特点使其不能穿透细胞膜进入细胞内，艾姆斯氏试验结果也表明该染料的诱变性远小于 EB。
2. 灵敏度高：适用于各种大小片段的电泳染色，对核酸迁移的影响较小。样品荧光信号强，背景信号低。
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。**而且不挥发！**
4. 操作简单：在预制胶和电泳过程中不降解，可直接用可见光凝胶透射仪观察。
5. 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（前染法）（用法同 EB）

1. 按常规操作，制备琼脂糖凝胶，加入浓缩的 10000X Gelred Plus，使其在凝胶中的终浓度为 1X Gelred（比如，制备 100ml 凝胶，加入染料 10µl，可根据实际情况调整用量），轻轻摇匀，倒胶。

**2. 因为非常灵敏，电泳过程中 DNA marker /pcr产物，上样量只需 1-2ul，而不是 EB 电泳中的 5ul，请严控 DNAmarker 上样量。**

3. 按常规方法电泳，观测结果。

## 二、泡染法（后染法，具体方法见背面）

1. 按照常规方法进行电泳。
2. 用 dH<sub>2</sub>O 将 10000X Gelred Plus 浓缩液稀释约 3300 倍到 0.1M 的 NaCl 中，制成 3X 染色液。（比如，将 15 $\mu$ l 10000X Gelred Plus 浓缩液和 5ml 1M NaCl 加到 45ml dH<sub>2</sub>O 中）。
3. 将凝胶小心放入合适的容器中，缓慢加入足量的 3X 染色液浸没胶。室温振荡染色约 10-30min，最佳染色时间根据凝胶厚度及琼脂糖浓度不同而略有不同。对于 3.5-10%丙烯酰胺胶，染色时间通常介于 30min 到 1 小时。然后观测结果。

### 【附录：后染胶标准操作流程】

核酸电泳后染胶因为污染区域小，污染操作可控，越来越得到实验室的接受和采用。标准操作步骤（以配 100ml 1%的琼脂糖为例）：

- 1、称 1g 琼脂糖，量取 100ml 1xTAE（或 1x TBE）电泳缓冲液，依次倒入一个三角瓶中。
- 2、在微波炉中化胶煮沸致琼脂糖完全融化。
- 3、取出静置 5 分钟，待胶液温度降至 50 度，将胶液倒入制胶模上。
- 4、20 分钟后待胶完全成型，取出放入电泳槽。
- 5、将 PCR 产物或者其他 DNA 样品和上样缓冲液混合，逐一上样。
- 6、电泳 20-30 分钟，根据溴酚蓝位置判断电泳到合适时间，停止电泳。
- 7、将跑完电泳的胶放入含有染料的液体中，染胶 10 分钟（如果胶厚适度延长时间）。
- 8、取出胶，放入扫胶仪中观察结果。

染胶液的配置：180ml dH<sub>2</sub>O 中加入 20ml 1M NaCl，再加入 10000x Gelred 浓缩液 60 $\mu$ l，也可以向科尔普购买即用型 1x 染胶液（货号：KP834-01，500ml）

染胶液的使用：配置好的染胶液可以重复使用很多次，直至染胶强度很低再重新配置。