

Окрашивание нуклеиновых кислот в гелях красителем GelRed

GelRed — флуоресцентный краситель для нуклеиновых кислот, который можно использовать вместо бромистого этидия (EtBr), [dsSafe®](#) и т.п. для окрашивания нуклеиновых кислот в агарозных или полиакриламидных гелях. GelRed более стабилен, более чувствителен и менее токсичен, чем EtBr (поскольку не проникает для клеточных мембран), и не требует этапа обесцвечивания. GelRed подходит для использования в Саузерн-блоттинге.

GelRed и EtBr имеют практически одинаковые спектры (поглощение 300 нм, эмиссия 605 нм), поэтому можно напрямую заменять EtBr на GelRed без изменения существующей системы визуализации. GelRed также совместим с последующими манипуляциями с ДНК, такими как рестрикция, секвенирование и клонирование.

Обращение и утилизация

10000× раствор GelRed и разбавленные растворы можно хранить как при комнатной температуре, так и при 4°C в защищенном от света месте.

Хранение раствора при 4°C может приводить к выпадению осадка. Если это произошло, нагрейте раствор до 45–50°C в течение двух минут и перемешайте вортиксированием.

GelRed стабилен в течение как минимум одного года с момента получения.

Окрашивание инкубированием геля в растворе красителя

1. Проведите электрофорез образца(ов) в агарозном или полиакриламидном геле.
2. Отберите в пластиковую емкость необходимый объем 1× TAE или 1× TBE. Для прокраски агарозного геля объемом 20 мл достаточно будет 35–50 мл раствора красителя.
3. Добавьте к буферу концентрат красителя в соотношении 1:10000. Тщательно перемешайте.

(Опционально) Для повышения чувствительности исходный реагент можно разводить в ~3300 раз чтобы получить 3× окрашивающий раствор. Включение 0,1M NaCl в окрашивающий раствор также повышает чувствительность, однако может способствовать выпадению красителя в осадок при повторном использовании геля.

4. Поместите гель в пластиковый лоток (крышку от коробки с наконечниками или контейнер для хранения бытовых продуктов).

Важно! Не используйте стеклянный контейнер, так как краситель может адсорбироваться на стенках контейнера, что приведет к недостаточному окрашиванию геля.

5. Добавьте достаточное количество раствора красителя, чтобы целиком покрыть гель.
6. Накройте гель и окрашивающий раствор алюминиевой фольгой или поместите их в темное место, чтобы защитить от света.

7. Инкубируйте гель в рабочем растворе красителя в течении 30 мин при комнатной температуре.

Для полиакриламидных гелей, содержащих 3,5–10% акриламида, типичное время окрашивания составляет от 30 мин до 1 ч. Гели с более высоким содержанием акриламида требуют более длительного времени

Lumiprobe Corporation

115 Airport Dr Suite 160
Westminster, Maryland 21157
USA
Phone: +1 888 973 6353
Fax: +1 888 973 6354
Email: order@lumiprobe.com

Lumiprobe GmbH

Feodor-Lynen-Strasse 23
30625 Hannover
Germany
Phone: +49 511 16596811
Fax: +49 511 16596815
Email: de@lumiprobe.com

Lumiprobe RUS Ltd

Kotsyubinsky street, 4
121351 Moscow
Russian Federation
Phone: +7 800 775 3271
Email: ru@lumiprobe.com

Lumiprobe Limited

Suite 12, 3/F, Great Eagle Centre
23 Harbour Road, Wan Chai
Hong Kong
Mob.: +852-5929-0488 (from HK)
Phone: +86-147-14316277 (from China)
Email: hk@lumiprobe.com

Lumiprobe LTD

2 Tuvim St.
3223562, Haifa
Israel
Phone: +972-(0)4-374-0377
Email: il@lumiprobe.com

Lumiprobe Co., Ltd.

10H-11, Shenmao Commercial Center
No. 59 Xinwen Rd., Meiling Community
Lianhua Street, Futian District
Shenzhen, China
Phone: +86-1471431-6277
Email: cn@lumiprobe.com

окрашивания.

Важно! Рабочий раствор красителя можно использовать повторно не более 2–3 раз.

Добавление красителя в гель

Этот метод подходит только для агарозных гелей, но не для ПААГ.

Важно! Данный метод окрашивания может иногда приводить к деформации полос ДНК или их диффузии в геле. В этом случае используйте метод инкубирования геля в растворе красителя.

1. Разведите концентрированный краситель в соотношении 1:10 000 в буфере для агарозного геля (например, 1× TBE или 1× TAE). Добавьте к раствору красителя порошок агарозы. Например, если требуется 20 мл расплавленной агарозы, добавьте 2 мкл 10 000× концентрата красителя GelRed в 20 мл 1× буфера, хорошо перемешайте раствор и добавьте к нему агарозу.
2. Нагрейте до кипения агарозу в буфере с красителем и дождитесь ее полного растворения. Для нагрева можно использовать микроволновую печь или другое нагревательное устройство.

(Опционально) В качестве альтернативы, можно добавить краситель непосредственно к расплавленной агарозе в соотношении 1:10 000 (1 мкл концентрата красителя на каждые 10 мл буфера).

3. Залейте получившуюся смесь в форму для геля и дождитесь затвердевания.

Важно! Как и при предварительном окрашивании гелей бромистым этидием, подвижность фрагментов нуклеиновых кислот в геле может быть несколько ниже по сравнению с их подвижностью в геле без окрашивания.

4. Загрузите образцы и проведите электрофорез.

Просмотр и фотографирование геля

Для просмотра окрашенных гелей можно использовать стандартный трансиллюминатор с длиной волны 302 нм или 312 нм.

При документации необходимо использовать фильтр для бромистого этидия.

Lumiprobe Corporation

115 Airport Dr Suite 160
Westminster, Maryland 21157
USA
Phone: +1 888 973 6353
Fax: +1 888 973 6354
Email: order@lumiprobe.com

Lumiprobe GmbH

Feodor-Lynen-Strasse 23
30625 Hannover
Germany
Phone: +49 511 16596811
Fax: +49 511 16596815
Email: de@lumiprobe.com

Lumiprobe RUS Ltd

Kotsyubinsky street, 4
121351 Moscow
Russian Federation
Phone: +7 800 775 3271
Email: ru@lumiprobe.com

Lumiprobe Limited

Suite 12, 3/F, Great Eagle Centre
23 Harbour Road, Wan Chai
Hong Kong
Mob.: +852-5929-0488 (from HK)
Phone: +86-147-14316277 (from China)
Email: hk@lumiprobe.com

Lumiprobe LTD

2 Tuvim St.
3223562, Haifa
Israel
Phone: +972-(0)4-374-0377
Email: il@lumiprobe.com

Lumiprobe Co., Ltd.

10H-11, Shenmao Commercial Center
No. 59 Xinwen Rd., Meiling Community
Lianhua Street, Futian District
Shenzhen, China
Phone: +86-1471431-6277
Email: cn@lumiprobe.com

Возможные проблемы и их решение

Проблема	Решение
Нечеткие полосы в геле	• Размытые или размазанные полосы могут быть вызваны избыточной загрузкой геля. Уменьшите количество вносимой нуклеиновой кислоты • Используйте инкубацию геля в растворе красителя вместо добавления красителя в гель • Используйте агарозный гель с более низким процентным содержанием для лучшего разрешения крупных фрагментов • Смените буфер. Буфер TBE обладает большей буферной способностью, чем TAE
Неравномерная миграция ДНК в предварительно окрашенном геле	• Уменьшите количество загружаемой ДНК • Уменьшите количество используемого красителя, например, используйте 0,5× разведение при добавлении красителя в гель. • Используйте инкубацию геля в растворе красителя вместо добавления красителя в гель
Слабая флуоресценция, снижение эффективности красителя с течением времени.	Возможно, краситель выпал в осадок из раствора • Нагрейте раствор GelRed до 45–50°C в течение двух мин и вортируйте для повторного растворения. • Храните краситель при комнатной температуре, чтобы избежать выпадения красителя в осадок

Lumiprobe Corporation

115 Airport Dr Suite 160
Westminster, Maryland 21157
USA
Phone: +1 888 973 6353
Fax: +1 888 973 6354
Email: order@lumiprobe.com

Lumiprobe GmbH

Feodor-Lynen-Strasse 23
30625 Hannover
Germany
Phone: +49 511 16596811
Fax: +49 511 16596815
Email: de@lumiprobe.com

Lumiprobe RUS Ltd

Kotsyubinsky street, 4
121351 Moscow
Russian Federation
Phone: +7 800 775 3271
Email: ru@lumiprobe.com

Lumiprobe Limited

Suite 12, 3/F, Great Eagle Centre
23 Harbour Road, Wan Chai
Hong Kong
Mob.: +852-5929-0488 (from HK)
Phone: +86-147-14316277 (from China)
Email: hk@lumiprobe.com

Lumiprobe LTD

2 Tuvim St.
3223562, Haifa
Israel
Phone: +972-(0)4-374-0377
Email: il@lumiprobe.com

Lumiprobe Co., Ltd.

10H-11, Shenmao Commercial Center
No. 59 Xinwen Rd., Meiling Community
Lianhua Street, Futian District
Shenzhen, China
Phone: +86-1471431-6277
Email: cn@lumiprobe.com