



REALSAFE NUCLEIC ACID STAINING SOLUTION

Ref. RBMSAFE 1ml (20.000x)

1. INTRODUCCIÓN

REALSAFE Nucleic Acid Staining Solution (20,000x) es una nueva tinción segura para ácidos nucleicos, una alternativa al tradicional Bromuro de etidio para la detección de ácidos nucleicos en geles de agarosa.

Emite fluorescencia verde cuando se une al ADN o ARN. Presenta dos máximos de excitación fluorescente cuando se une a los ácidos nucleicos, uno a 309 nm y el otro a 419 nm. Además, tiene un pico de excitación en el visible a 514 nm. La emisión de fluorescencia presenta un pico a 537 nm.

REALSAFE Nucleic Acid Staining Solution (20,000x) tiene la misma sensibilidad que el Bromuro de etidio.

El protocolo de tinción del REALSAFE es similar al del Bromuro de etidio. Comparado con el Bromuro de etidio, conocido como un potente mutágeno, REALSAFE produce muchas menos mutaciones en el Test de Ames, presentando un resultado negativo en test de "mouse marrow chromophilous erythrocyte micronucleus" y en el test de aberraciones cromosómicas de espermatozoides primario de ratón.

1. INTRODUCTION

REALSAFE Nucleic Acid Staining Solution (20,000x) is a new and safe nucleic acid stain, an alternative to the traditional ethidium bromide (EtBr) stain for detecting nucleic acid in agarose gels.

It emits green fluorescence when bound to DNA or RNA. This new stain has two fluorescence excitation maxima when bound to nucleic acid, one at 309 nm and another at 419 nm. In addition, it has one visible excitation at 514 nm. The fluorescence emission of REALSAFE bound to DNA is centered at 537 nm.

REALSAFE Nucleic Acid Staining Solution (20,000x) is as sensitive as EtBr.

The staining protocol for REALSAFE Nucleic Acid Staining Solution (20,000x) is similar to that for EtBr. Compared to EtBr, known as a strong mutagen, REALSAFE Nucleic Acid Staining Solution (20,000x) causes much fewer mutations in the Ames test. In addition, REALSAFE Nucleic Acid Staining Solution (20,000x) has a negative result in mouse marrow chromophilous erythrocyte micronucleus test and mouse spermary spermatocyte chromosomal aberration test.



2. COMPONENTES DEL KIT

KIT COMPONENTS

1 ml de REALSAFE Nucleic Acid Staining Solution (20,000x)	Conservar a 4°C y en la oscuridad.
<i>1 ml of REALSAFE Nucleic Acid Staining Solution (20,000x)</i>	<i>Store at 4°C and in the dark.</i>

3. PROTOCOLO GENERAL

GENERAL PROCEDURE

3.1 Características y Aplicaciones

- Utilizado para detectar tanto ADN como ARN.
- Alternativa a la tinción con bromuro de etidio.
- Igual o más sensible que el bromuro de etidio.
- NO Tóxico, NO mutagénico y NO carcinogéno.
- NO genera residuos peligrosos.
- Puede utilizarse tanto en tampones de electroforesis TAE o TBE.
- Visualización de bandas de ADN y ARN cuando se separan durante electroforesis de agarosa.
- Extracción de fragmentos de ADN para subclonaje sin la introducción de mutaciones normalmente causadas por el Bromuro de etidio.

3.2 Preparaciones preliminares

- Resuspender el REALSAFE Nucleic Acid Staining Solution con una breve agitación con vortex antes de su uso. Es posible que contenga precipitado, dado que los componentes de este producto están a altas concentraciones.
- REALSAFE Nucleic Acid Staining Solution (20,000x) no es carcinogénico pero puede producir irritaciones en la piel y en ojos. Por favor, utilizar guantes y gafas al utilizar este producto.
- REALSAFE no genera residuos tóxicos.

3.1 Features and Applications

- *Used for detecting DNA and RNA.*
- *Alternative to the ethidium bromide staining.*
- *As sensitive as EtBr or more sensitive than that.*
- *NON--toxic, NON-mutagenic and NON-carcinogenic.*
- *NO hazard waste .*
- *Visualization of DNA and RNA bands as they separate during agarose gel electrophoresis*
- *Isolation of DNA fragments for subcloning without introducing mutations normally caused by EtBr*

3.2 Preliminary Preparations

- *Resuspend the REALSAFE Nucleic Acid Staining Solution with vortex mixing briefly before use. It is possible to precipitate that the components of this product is high concentrate.*
- *REALSAFE Nucleic Acid Staining Solution (20,000x) is non-carcinogenic but may cause skin and eye irritations. Please wear gloves when working with the product.*
- *REALSAFE does not create toxic waste.*



3.3 Protocolo de trabajo

1. Preparar 100 ml de solución de gel de agarosa (concentración 0.8-3%) en un envase de 250 ml y mezclar completamente. Poner el frasco en el microondas, y calentar hasta que la solución esté completamente clara.
NOTA: El espesor de gel debe ser menos de 0.5 cm ya que se puede disminuir la sensibilidad.
2. Dejar enfriar aprox. a 60°C. Añadir 5 µl de REALSAFE Nucleic Acid Staining Solution (20,000x) a la solución de agarosa. Agitar para mezclar suavemente la solución evitando la formación de burbujas.
3. Verter la solución de agarosa, en la cubeta “gel tray” hasta que los dientes del peine se sumerjan alrededor de 1/4 -1/2 en la agarosa.
NOTA: Repetir el fundido de geles que contienen REALSAFE puede producir una baja sensibilidad.
4. Dejar enfriar el gel de agarosa hasta que solidifique.
Colocar el gel en la cubeta de electroforesis con el tampón correspondiente, cargar las muestras y llevar a cabo la electroforesis.
5. Detectar las bandas bajo una iluminación UV.

NOTA: REALSAFE Nucleic Acid Staining Solution (20,000x) permite la visualización de ADN (>50 ng) en un gel de agarosa bajo luz visible. Esto elimina la necesidad de exponer a la luz UV, lo cual puede producir un daño en el ADN. Los fragmentos intactos purificados del gel de agarosa pueden incrementar la eficiencia de las siguientes manipulaciones de biología molecular como subclonaje, transformación y transcripción

NOTA: EL REALSAFE también puede usarse como post-tinción. Si la banda no es luminosa, es posible volver a teñir el gel añadiendo 5 µl a 100 ml del tampón de electroforesis y sumergiendo el gel durante unos 10-20 minutos más:

6. REALSAFE puede trabajar con concentraciones bajas de ADN, no obstante, en estos casos los fragmentos más pequeños de 300 pb no pueden ser tan brillantes como los grandes.
7. No se recomienda su uso en “pulse field electrophoresis”.

3.3 Working protocol

1. *Prepare a 100 ml of agarose gel solution (concentration from 0.8 to 3%) in a 250 ml flask and mix thoroughly. Place the flask in the microwave, heat until the solution is completely clear.*
NOTE: *The thickness of gel should be less than 0.5 cm since thick gels may decrease sensitivity.*
2. *Cool it by about 60°C. Add 5 µl of REALSAFE Nucleic Acid Staining Solution (20,000x) to the agarose solution. Swirl the flask gently to mix the solution and avoid forming bubbles.*
3. *While the agarose solution cools, pour into the gel tray until the comb teeth are immersed about 1/4-1/2 into the agarose.*
NOTE: *Repeated melting of gels containing REALSAFE may result in low sensitivity.*
4. *Allow the agarose gel to cool until solidified. Load the samples on the gel and perform electrophoresis.*
5. *Detect the bands under UV illumination.*

NOTE: REALSAFE Nucleic Acid Staining Solution (20,000x) allows the visualization of DNA (>50 ng) in the agarose gel under visible light. This eliminates the need for exposure to UV light, which may nick and damage DNA. The intact DNA fragments purified from agarose gel can increase the efficiency of subsequent molecular biology manipulations such as cloning, transformation and transcription.

NOTE: REALSAFE can be used as a post-staining. If the band is not bright, you may re-stain the gel about 10-20 minutes more. You can add 5 µl REALSAFE in 100 ml of buffer solution..

6. REALSAFE can perform with low concentration of DNA. However, the smaller fragments of less than 300bp are not as bright as the bigger one.
7. It is not recommended to use for pulse field electrophoresis.

4. GUIA DE PROBLEMAS Y POSIBLES SOLUCIONES *TROUBLESHOOTING*

Recomendamos que no duden en ponerse en contacto con el servicio técnico del laboratorio **REAL** en Durviz s.l. para cualquier consulta adicional respecto a los protocolos de trabajo o problemas que puedan surgir durante el trabajo.

*We recommend contacting **REAL**'s laboratory technical service in Durviz s.l. for any additional question about work protocols or any problem that may appear while you are working.*