

Quick Guide

Beyond the PCR technology,
BIOFACT promises the progress for your research.

EcoDye™

Nucleic Acid Staining Solution

[Cat. No. ES301-1000]

Cat. No.	Product	Size
ES301-1000	EcoDye™ Nucleic Acid Staining Solution	0.5 ml x 2 ea

Description

EcoDye™ Nucleic Acid Staining Solution은 fluorescent dye로써 안정적이고 민감한 DNA 염색 dye입니다. Agarose gel 전기 영동 시 toxic한 Ethidium Bromide(EtBr)를 대체하여 사용할 수 있는 제품으로 Non-mutagenic, Non-cytotoxic 하며 agarose gel 제작 시 소량을 섞어 사용합니다.

EcoDye™ Nucleic Acid Staining Solution은 DNA/RNA와 강하게 결합하여 complex를 이루며, UV imaging 또는 LED system을 통해 검출 가능합니다.

Feature

- EtBr(Ethidium Bromide)을 대체하여 사용 가능한 제품
- High sensitivity
- Non-toxic, Non-mutagenic, Non-carcinogenic
- dsDNA, ssDNA, RNA 모두 확인 가능
- 각종 안정성 test완료
(Ames test, Micronucleus test, In vitro mammalian cell chromosomal aberration test)

Protocol

- 100 ml의 1.0X TAE buffer에 agarose powder (0.8 ~ 3%)를 넣고 전자레인지로 이용하여 완전히 녹입니다.
- EcoDye™ Nucleic Acid Staining Solution을 10 µl 넣고 공기방울이 생기지 않도록 잘 혼합하여 gel tray에 붓습니다.
 >> 실험조건이나 gene에 따라 EcoDye™ 사용량을 5 ~ 10 µl로 조절하여 사용하세요.
- Agarose gel이 완전히 굳을 때까지 기다립니다.
- Agarose gel에 시료 DNA와 loading dye를 섞어 loading 합니다.
 >> 이 때, Electrophoresis buffer는 1.0X TAE buffer를 사용해 주세요.
- 전기 영동이 끝난 후, UV 또는 LED illuminator에서 band를 확인 합니다.
 >> Excitation wavelength of EcoDye™ is 268 nm, 294 nm, and 491nm,
 Emission wavelength is 530nm.



DNA/RNA Sample loading

주의사항.

EcoDye™ Nucleic Acid Staining Solution은 toxic하지 않으나 피부와 안구에 자극적일 수 있으니 취급 시, glove와 보안경을 착용해주세요.

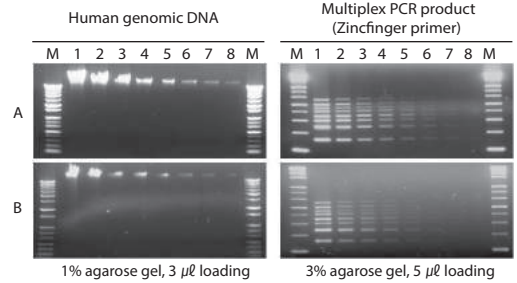
50X TAE buffer 제조

Component and Final concentration	Amount to add per 1 liter
2 M Tris base	242 g
1 M Acetate	57.1 ml of Glacial acetic acid (17.4 M)
100 mM EDTA	200 ml of 0.5 M (pH 8.0)
H ₂ O	To make 1 liter

Application

- 권장 사용량보다 EcoDye™ Nucleic Acid Staining Solution의 비율이 낮을 경우 DNA fragment 이동에 영향을 줄 수 있습니다.
- gel의 두께가 0.5 cm보다 두꺼울 경우 EcoDye™ Nucleic Acid Staining Solution의 sensitivity가 감소할 수 있습니다.
- %가 높은 agarose gel 제조 시 사용하는 EcoDye™ Nucleic Acid Staining Solution의 양을 조절하시는 것이 좋습니다. (%가 높을수록 EcoDye™의 volume을 늘려서 사용)
- EcoDye™ Nucleic Acid Staining Solution이 포함된 agarose gel을 다시 녹여 사용하면 sensitivity가 감소할 수 있습니다.
- 장시간 UV light에 노출 시 DNA가 손상을 입을 수 있으므로 UV에서 확인을 하실 때에는 최소한의 시간 내에 확인하시길 권장합니다.
- 빛에 의해 형광 dye가 분해될 수 있으므로 빛이 투과되지 않는 amber tube에 보관하시길 권장합니다.
- Agarose gel을 제작하여 보관시 빛이 투과되지 않는 용기에 보관하고, 빠른 시일 (2주 이내) 내에 사용하시길 권장합니다.

Comparison with Ethidium Bromide in Gel staining

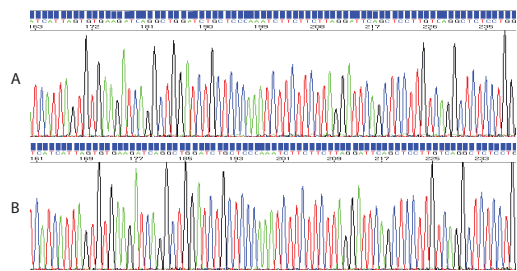


A : EtBr staining
B : EcoDye™ Nucleic Acid Staining Solution
(3% Agarose Gel + EcoDye™ Nucleic Acid Staining Solution 5 µl, Total 100 ml 제조)

UV imaging 장치로 detection

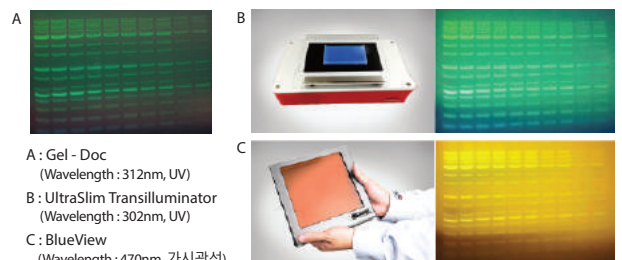
M : DNA Ladder
Human gDNA
1 : 200 ng 2 : 100 ng 3 : 50 ng 4 : 25 ng
5 : 12.5 ng 6 : 6.25 ng 7 : 3.125 ng 8 : 1.5625 ng

Comparison with Ethidium Bromide in Gel staining - Gel Extraction 후 Sequencing



A : EtBr staining한 gel에 DNA fragment loading → 정제 → Sequencing
B : EcoDye™ Nucleic Acid Staining Solution으로 제조한 agarose gel에 DNA fragment loading → 정제 → Sequencing
(3% Agarose Gel + EcoDye™ Nucleic Acid Staining Solution 5 µl, Total 100 ml 제조)

사진 촬영에 따른 활성비교



A : Gel - Doc (Wavelength : 312nm, UV)
B : UltraSlim Transilluminator (Wavelength : 302nm, UV)
C : BlueView (Wavelength : 470nm, 가시광선)

Expiration Date : 4 ± 5 °C 보관 시 2년

Quick Guide

Beyond the PCR technology,
BIOFACT promises the progress for your research.



EcoDye™

Nucleic Acid Staining Solution [Cat. No. ES301-1000]

Trouble	Check 사항
전기영동시 band가 약하게 보여짐	<p>01. gel의 두께가 0.5 cm 이하인지 check 너무 두꺼운 agarose gel을 이용하면 전기영동 시 sensitivity가 감소할 수 있습니다.</p> <p>02. EcoDye™ Nucleic Acid Staining Solution의 사용량 check. %가 높은 agarose gel을 사용할 경우에는 EcoDye™ Nucleic Acid Staining Solution의 volume을 늘려 사용하시길 권장합니다. 권장사용량 보다 EcoDye™ Nucleic Acid Staining Solution의 비율이 낮을 경우, DNA fragment 이동에 영향을 줄 수 있으므로 agarose gel solution 100 ml당 EcoDye™ 10 µl 정량을 준수하세요.</p> <div style="text-align: center;"> <p>UV imaging 장치로 detection Rice multiplex product 1: 12 µl 2: 10 µl 3: 8 µl 4: 6 µl 5: 4 µl 6: 2 µl</p> </div>
	<p>03. EcoDye™ Nucleic Acid Staining Solution이 빛에 노출되지 않았는지 check EcoDye™ Nucleic Acid Staining Solution은 fluorescent dye이므로 빛에 노출시 dye가 분해될 수 있기 때문에 빛이 투과되지 않는 amber tube에 보관하시길 권장합니다.</p>
	<p>04. EcoDye™ gel의 재사용여부 check EcoDye™ Nucleic Acid Staining Solution이 포함된 agarose gel을 다시 녹여 사용하면 sensitivity가 감소할 수 있습니다.</p>
	<p>05. EcoDye™ gel 사용 기간 check EcoDye™ gel 제작 후 너무 오랜 시간이 경과한 후 사용 시 sensitivity가 감소할 수 있습니다. ※2주 이내 사용하시기를 권장하며 보관 buffer의 quality나 주위 환경에 따라 기간이 달라질 수 있습니다.</p>
	<p>06. 유통기한 check EcoDye™ Nucleic Acid Staining Solution의 유통기한은 4°C 보관 시 2년입니다. 제품 출고 후 2년이 지나지 않았는지 확인해 주세요. 4°C 이상의 온도에서 보관 시에는 제품의 분해 속도가 빨라져 유통기한이 짧아지거나 sensitivity가 감소할 수 있으니 4°C 보관을 권장합니다.</p>
	<p>07. 6X loading dye를 사용하여 loading하였는지 check 전기영동 시 6X loading dye는 DNA의 이동 정도를 육안으로 확인할 수 있을뿐 아니라 DNA가 agarose gel 홈 밖쪽으로 쓰지 않도록 glycerol등과 같은 침강제가 들어있어 gel에서 fragment가 이동할 수 있도록 합니다. 때문에 EcoDye™ Nucleic Acid Staining Solution을 이용하여 전기영동을 하실때에도 6X loading dye등과 같은 침강물질을 함께 사용하시어 loading 하셔야 합니다.</p>
	<p>08. Power supply, 전기영동 Tank check - Power supply 전원이 들어오는지 확인합니다. - Power supply의 fuse가 끊어지지 않았는지 확인합니다. - 전기영동 tank의 백금선이 끊어지지 않았는지 확인합니다. - Power supply 작동 시 전기영동장치의 백금선 부분에서 공기방울이 발생하는지 확인합니다.</p>
	<p>09. 전기영동 running시간 check 너무 장시간 running을 할 경우, fragment가 agarose gel에서 빠져 DNA 확인이 불가능하므로 DNA ladder나 loading dye 등으로 fragment 이동 정도를 확인하여야 합니다.</p>
	<p>10. UV lamp가 정상적으로 작동하는지 check UV lamp의 수명이 다 되었을 경우, band가 약하게 보여지므로 UV lamp 교환 후 확인하여 주시기 바랍니다.</p>
	<p>11. Agarose gel의 grade check Agarose의 grade에 따라 DNA의 단편 분리 size나 이동 속도, gel 강도 등에 차이가 있으므로 실험 목적에 맞는 grade의 agarose powder를 선택하는 것이 중요합니다.</p>
	<p>12. TAE buffer check Electrophoresis buffer (TAE or TBE)의 final 농도가 적정한지, buffer의 종류가 전기 영동에 적합한지 확인합니다.</p>
	전기 영동 시 band가 명확히 분리되지 않고 gel상에서 끌리는 양상이 보여짐
<p>02. Agarose gel의 제조 % check 비슷한 size의 fragment가 여러 개인 multi-band PCR product의 경우 %가 낮은 agarose gel에서는 band 분리가 잘 되지 않으므로 2~3% 이상의 고농도의 agarose gel을 이용하여 전기영동을 하여야 합니다. ※Tip. fragment의 size가 큰 경우에는 1% 이하 저농도의 agarose gel을, fragment의 size가 작거나 multi-band인 경우에는 2~3% 이상 고농도의 agarose gel에 loading 하면 fragment 확인이 더 용이합니다.</p>	
<p>03. 전기 영동 running voltage check 비슷한 size의 fragment가 여러 개인 multi-band PCR product의 경우 높은 voltage에서 running을 하면 band 분리가 잘 되지 않으므로 적정 voltage에서 running 하시길 권장합니다.</p>	
Running중 band가 휘는 양상이 보여짐	<p>01. Agarose gel 제조 시 comb를 꽂고 빼는 과정에서 well이 평평한지 확인합니다. gel의 홈이 일정하지 않을 경우 running 시 fragment의 이동 속도에 영향을 미쳐 band가 휘거나 size의 차이가 나타날 수 있습니다.</p>