



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// www.real-times.com.cn

E-mail: real-times@163.com

单链 DNA Marker (10-75 nt) 预混型

Ver760664-2.0

货号	名称	规格
RTM508	单链 DNA Marker (10-75 nt) 预混型	25 次

● 产品编号及规格:

货号	名称	规格	贮存
RTM508-01	单链 DNA Marker (10-75 nt) 预混型	25 次 (125 μ l)	-20 $^{\circ}$ C
DL080-01	2 \times TBE 尿素上样缓冲液	1 ml	4 $^{\circ}$ C

● 产品简介:

单链 DNA Marker 由不同长度的单链 DNA 分子混合而成，9 条带的大小为 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 75 nt。35 nt 浓度约为 100 ng/ μ l，其余条带浓度约为 50 ng/ μ l。该产品已经含有上样缓冲液，使用前 70 度处理 5 分钟后可以直接上样。该 Marker 适用于跑尿素变性胶，电泳后使用单链 DNA PAGE 电泳染色试剂盒 (Cat: RTS5103) 或核酸染料如 RealSafe Red (货号: GR002) 或 RealSafe All (货号: GR004) 均可以得到清晰的条带分离效果。

产品内附带 2 \times TBE 尿素上样缓冲液 (Cat: DL080-01)，方便待检样品的上样。以每次上样 5 μ l 计算，该产品可以使用大约 25 次。

● 贮存、运输及效期:

按照标签温度贮存；湿冰运输，有效期 2 年。

● 使用方法:

注：以下使用方法均以 8 \times 10cm 凝胶 厚 1.0mm 示例，其他规格凝胶请适当调整。

一. 凝胶制备:

1.1 可以选择 DNA 尿素 PAGE 电泳试剂盒 (Cat: RTE4102) 或按照以下程序制胶:

表一 TBE-尿素 PAGE 分离胶配方表 (总体积 5 ml, 适用于厚度 1.0 mm 小板胶)

单链 DNA 长度	最佳凝胶浓度	尿素 (克)	40%PAA (29:1)	10 \times TBE	补水到总体积	10%APS	TEMED
200-1000 nt	5%	2.1 克	0.625 ml	0.5 ml	5 ml	50 μ l	5 μ l
50-400 nt	8%	2.1 克	1 ml	0.5 ml	5 ml	50 μ l	5 μ l
30-300 nt	10%	2.1 克	1.25 ml	0.5 ml	5 ml	50 μ l	5 μ l
10-150 nt	15%	2.1 克	1.875 ml	0.5 ml	5 ml	50 μ l	5 μ l
5-120 nt	20%	2.1 克	2.5 ml	0.5 ml	5 ml	50 μ l	5 μ l

1.2 在凝胶模具中灌入适量分离胶溶液（对于 mini-gel，凝胶液加至约距前玻璃板顶端 1.5 cm 或距梳齿约 0.5 cm 即可），然后在分离胶溶液上轻轻覆盖一层 1-5 cm 的水层，使凝胶表面保持平整。

1.3 静置 10-20 分钟，待分离胶和水层之间出现一个清晰的界面后，说明凝胶已聚合。

注：凝胶的聚合时间与环境温度有关。夏天温度较高时，聚合较快；冬天气温低时，聚合时间会延长。可以根据环境温度的不同调节 APS 的加入量。

1.4 去除覆盖在分离胶上的水层；按照表二将不同体积成分在一个小烧杯中混合；最后加入 10% 过硫酸铵和 TEMED，轻轻搅拌使其混匀，避免产生气泡。

表二 TBE-尿素 PAGE 4%浓缩配方表 (总体积 2 ml, 适用于 1.0mm 厚度胶)

凝胶浓度	各组份体积 (ml)					
	尿素	40%PAA (29:1)	10×TBE	灭菌水	10%APS	TEMED
4%	0.84 克	0.2 ml	0.2 ml	补水至体积 2 ml	20 μl	2 μl

1.5 将浓缩胶溶液加至分离胶的上面，直至凝胶溶液到达前玻璃板的顶端；将梳子插入凝胶内，避免产生气泡。

1.6 静置 30-60 分钟，等待浓缩胶聚合。

注：凝胶的聚合时间与环境温度有关。夏天温度较高时，聚合较快；冬天气温低时，聚合时间会延长。可以根据环境温度的不同调节 APS 的加入量。

二. 样品制备:

取适量体积单链 DNA Marker 样品（不用添加上样缓冲液）；待测样品与等体积的 2×TBE 尿素上样缓冲液（Cat: DL080-01）混合，70°C 处理 5 分钟，冰浴制冷后待上样。

三. 电泳:

3.1 电泳槽内外槽加入 1×TBE 缓冲液，用缓冲液彻底冲洗加样孔 2-3 次，去除残余的尿素。

3.2 上样：根据梳齿确定 Marker 上样量，一般是 10 齿 1mm 厚梳子上样 5 μl，15 齿 1mm 厚梳子上样 3 μl。

3.3 连接电源线，打开电源开关，按照以下条件电泳。

	恒电压	起始电流	结束电流	电泳时间
推荐电压	150-200 V	15-20 mA/板胶	10-15 mA/板胶	60+ min

3.4. 根据上样缓冲液的溴酚蓝指示前沿位置大体判断条带分离位置，终止电泳后取出凝胶进行后续实验。

变性胶浓度	溴酚蓝	二甲苯菁
5%	~35 nt	~130 nt
8%	~19 nt	~75 nt
10%	~15 nt	~55 nt
15%	~10 nt	~52 nt
20%	~8 nt	~35 nt

四. 染色:

用单链 DNA PAGE 电泳染色试剂盒 (Cat: RTS5103) 染色可以得到清晰的条带分离效果。

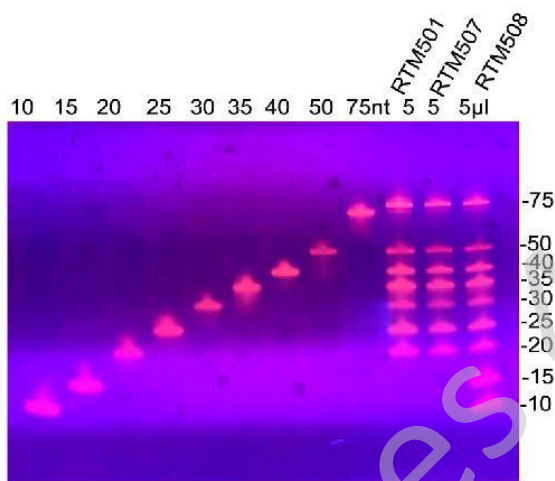
注: 如果使用核酸染料染色, RealSafe Red (货号: GR002) 或 RealSafe All (货号: GR004) 核酸染料结合单链核酸效果最佳, 强烈建议使用以便获得最佳效果的胶图。其余染料如 GelRed, Goldview, EB 等染色效果不好。

● 注意事项:

单链 DNA Marker 产品适用于变性 PAGE 垂直电泳, 不适用于 TBE 非变性电泳和水平琼脂糖凝胶电泳。

● 电泳示例:

1. 使用 RealSafe Red 核酸染料 (货号: GR002) 染色:



15%尿素变性胶分离单链 DNA

lane 1-9 为 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 75 nt ssDNA 上样量为 0.5 μ g

lane 10: RTM501, 单链 DNA Marker (20-75 nt) 预混型, 上样量 5 μ l

lane 11: RTM507, 单链 DNA Marker (20-75 nt) 非预混型, 配制后上样量 5 μ l

lane 12: RTM508, 单链 DNA Marker (10-75 nt) 预混型, 上样量 5 μ l

电泳条件: 1 \times TBE, 恒压 200 V 50 min

染色: RealSafe Red 后染 20min, 紫外激发