



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

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

E-mail: real-times@vip.163.com

单链 DNA 50nt Marker

Ver720957

● 产品编号及规格:

货号	名称	规格	贮存	运输
RTM502	单链 DNA 50nt Marker	50 μ l	-20 $^{\circ}$ C	湿冰
DL080	2 \times TBE 尿素上样缓冲液	1 ml	4 $^{\circ}$ C或-20 $^{\circ}$ C	湿冰

● 产品简介:

单链 DNA 50nt Marker 是以 50 个碱基为递增单位的单链 DNA 分子量标准,最短条带对应 50 nt,最长条带超过 1000 nt。样品保存在 TE 缓冲液中,单条 DNA 片段浓度约为 20 ng/ μ l。该 Marker 适用于跑变性 PAGE 胶,电泳后染色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)。以每次上样 10 μ l 计算,混合好的单链 DNA Marker 可以使用大约 10 次。

● 保存条件和运输:

-20 $^{\circ}$ C 贮存,有效期 24 个月;湿冰运输。

● 使用方法:

注: 单链 DNA 50nt Marker 使用 8 \times 10cm 凝胶不能有效分离大于 500 nt 片段,如果关注高于 500nt 的片段,请选用更大面积的凝胶进行电泳。

以下使用方法均以 8 \times 10cm 凝胶 厚 1.0mm 示例。

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)	5 \times TBE	补水到 总体积	10%APS	TEMED
200-1000 nt	5%	2.1 克	0.625 ml	1 ml	5 ml	50 μ l	5 μ l
50-400 nt	8%	2.1 克	1 ml	1 ml	5 ml	50 μ l	5 μ l
30-300 nt	10%	2.1 克	1.25 ml	1 ml	5 ml	50 μ l	5 μ l
10-150 nt	15%	2.1 克	1.875 ml	1 ml	5 ml	50 μ l	5 μ l

最后加入 10%APS 和 TEMD 后,立即混匀。

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)	5×TBE	灭菌水	10%APS	TEMED
4%	0.84 克	0.2 ml	0.4 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:

2.1 取 5-10 μl 单链 DNA Marker 样品与等体积的 2×TBE 尿素上样缓冲液 (Cat: DL080) 混合，70℃ 处理 5 分钟，冰浴制冷后待上样。待测样品也需要进行同样处理。

三. 电泳:

3.1. 预电泳 (可选)：电泳槽内外加入适量 1×TBE 缓冲液稳压 200V 预电泳 30 分钟。电泳结束后，**用 1×TBE 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	适用条件
推荐电压	200V	15-20 mA/板胶	10-15 mA/板胶	60+ min	最佳电压，最优的分辨率

3.4. 等待上样缓冲液的溴酚蓝指示前沿到凝胶底部时终止电泳，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

四. 染色:

用单链 DNA PAGE 电泳染色试剂盒 (Cat: RTS5103)，核酸 PAGE 电泳染色试剂盒 (Cat: RTS5102) 或核酸快速银染试剂盒 (Cat: RTS5101) 染色均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。

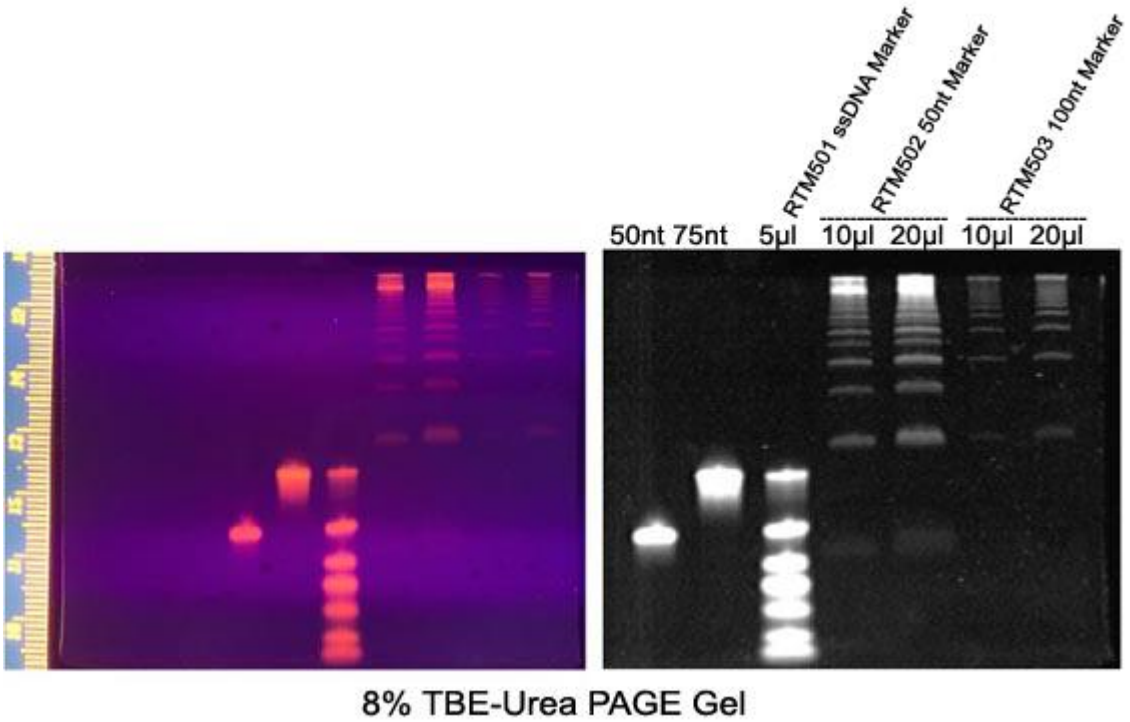
● 注意事项:

1. 单链 DNA Marker 产品适用于变性 PAGE 垂直电泳，不适用于水平琼脂糖凝胶电泳。

2. 建议单链 DNA Marker 现用现配，因为混合有上样缓冲液的单链 DNA 稳定性不好。

● 电泳示例：

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

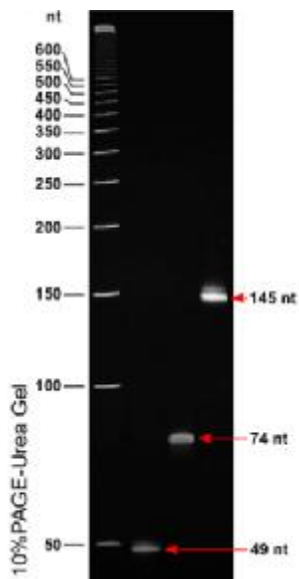


凝胶面积：10×8 cm

电泳条件：1×TBE 恒压 150V 45min

染色：RealSafe Red 染料后染，紫外激发拍照。

2. 大板胶使用 RealSafe All 核酸染料（货号：GR004）染色：



凝胶面积：20×15 cm

电泳条件：1×TBE 恒压 150V 2.5 h

染色：RealSafe Red 染料后染，紫外激发拍照。