

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

精准定量 D500 DNA ladder

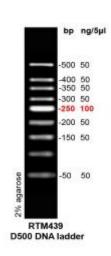
● 产品编号及规格:

RTM439-02 100

100 T($2 \times 250 \mu l$)

● 产品简介:

本产品是由 9 条精准定量的带状双链 DNA 条带组成,适用于琼脂糖凝胶电泳中 DNA 条带的定量分析。产品中已含有 1×1000 buffer,可根据实验需要,直接取 $2-5 \mu 1$ 电泳,使用方便,电泳图像清晰。如取 $5 \mu 1$ 上样,9 条带的大小和含量分别为 50 bp (50 ng),100 bp (50 ng),150 bp (50 ng),200 bp (50 ng),250 bp (100 ng),300 bp (50 ng),350 bp (50 ng),400 bp (50 ng),500 bp (50 ng),其中 250 bp 条带加亮显示。



● 储存及运输:

4℃贮存3个月, -20℃长期贮存: 常温运输。

● 使用方法:

- 1. 取 2-5 μl 本产品加入到琼脂糖凝胶的加样孔中(每 1mm×1mm 加样孔加 1μl, 如果加样孔宽于 5mm, 可以适当增加上样量)进行电泳。
- 2. 建议电泳条件: 凝胶浓度为 2%, 凝胶长度 7-10 cm, 电泳电压~7 v/cm, 电泳时间 35+分钟。
- 3. 通过核酸染料染色后紫外灯或蓝光仪下观察条带。

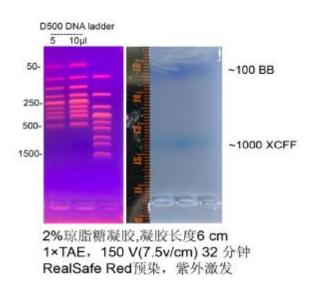
● 注意事项:

- 1. 琼脂糖的质量对 DNA 的电泳有很大影响,电泳时请尽量使用质量优等的琼脂糖。由于 PAGE 电泳的特殊性,该产品不建议用于 PAGE 电泳。
- 2. 使用与电泳缓冲液一致的缓冲液融化琼脂糖,例如使用 1×TAE 缓冲液电泳,需使用 1×TAE 缓冲液溶胶。
- 3. 尽量每次使用新鲜配制的电泳缓冲液。多次电泳后缓冲液电导增强,相同电压下电流增大,导致分辨率 降低,并且明显产热,严重时会引起凝胶熔化或 DNA 变性。
- 4. 推荐使用 RealSafe 系列染料(货号: GR002, GR003, GR004)染色。如果使用 Goldview 或 EB 等染料进行染色,由于此类染料带更多的正电荷(染料移动方向与核酸泳动方向相反),随着电泳时间延长,染料向大片段聚集,凝胶会出现阴阳胶现象(染料含量高的凝胶紫外下较亮,含量低的凝胶紫外下发暗),导致小分子量 DNA 显色很弱或不可见。阴阳胶可以在电泳结束后浸泡染色,将胶浸没在含 1 μg /ml EB 或 Goldview 的电泳缓冲液中 20-25 min,小分子量 DNA 会显色清楚。

更长时间浸泡会因 DNA 分子扩散而使条带弥散,小分子量 DNA 更易弥散。

- 5. 紫外照射下 EB 易分解,使 DNA 条带荧光变浅。DNA 受紫外光照射形成嘧啶二聚体,不利于待回 收片段的下游工作,因此尽可能减少紫外照射时间。
- 6. 蔗糖会结合 DNA,降低其电泳迁移率,建议 DNA 样品上样使用含甘油的 Loading Buffer。
- 7. 大部分核酸工具酶会结合 DNA,降低其电泳迁移率,大分子量 DNA 尤为明显。

● 实验示例:



● 附录:

DNA 在琼脂糖凝胶中的有效分离范围

琼脂糖浓度% (w/v)	双链 DNA 有效分 离范围(bp)	优选电泳缓冲液	示踪染料相当于双链 DNA 片段粗略大小			
			(bp)			
			溴酚蓝		二甲苯普	
			TBE	TAE	TBE	TAE
0.5	2000-50000	1×TAE	750	1150	13000	16700
0.8	800-10000	1×TAE	320	530	4830	6500
1.0	400-8000	1×TAE	220	370	3030	4160
1.2	300-7000	$1 \times \text{TAE}/0.5 \times \text{TBE}$	160	275	2070	2890
1.5	200-3000	$1 \times \text{TAE}/0.5 \times \text{TBE}$	110	190	1300	1840
2.0	100-2000	$0.5 \times TBE$	65	120	710	1040
3.0	25-1000	$0.5 \times TBE$	30	60	300	460