



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 Marker (15-120 nt)

Ver730551

货号	名称	规格
RTM506	单链 DNA Marker (15-120 nt)	10 次

● 产品组成:

货号	名称	规格	贮存
RTM506-01	单链 DNA Marker (15-120 nt)	50 μ l	-20 $^{\circ}$ C
DL080-01	2 \times TBE 尿素上样缓冲液	1 ml	-20 $^{\circ}$ C

● 产品简介:

单链 DNA Marker 由 6 条不同长度的单链 DNA 分子混合而成, 6 条带的大小为 15, 40, 60, 80, 100, 120 nt, 80 nt 浓度为 0.4 μ g/ μ l, 其余条带浓度为 0.2 μ g/ μ l。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), 核酸 PAGE 电泳染色试剂盒 (Cat: RTS5102), 核酸快速银染试剂盒 (Cat: RTS5101) 或 RealSafe 类核酸染料染色均可以得到清晰的条带分离效果。

样品保存在 1 \times TBE 尿素上样缓冲液中, 上样方便。以每次上样 5 μ l 计算, 该单链 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: 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)	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 取适量体积单链 DNA Marker 样品，70℃处理 5 分钟，冰浴制冷后待上样；待测样品序与 2×TBE 尿素上样缓冲液等体积混合后 70℃处理 5 分钟，冰浴制冷后待上样。

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 200 V 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%	8 nt	42 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。

● 电泳示例:

