



单链 DNA Marker (15-120 nt)

Ver760676-2.0

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
RTM506-01	单链 DNA Marker (15-120 nt)	50 μ l
DL080-01	2 \times TBE 尿素上样缓冲液	1 ml

● 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) 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。该产品不适用于非变性核酸 PAGE 电泳。

● 贮存、效期及运输:

-20 $^{\circ}$ C 贮存; 有效期 2 年; 湿冰运输。

● 使用方法:

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

一. 凝胶制备:

1.1 可以选择 RealPAGE TBE-尿素-PAGE 核酸变性电泳预制胶 (Cat: RTH5102), 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无水乙醇, 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%PA (29:1)	5×TBE	灭菌水	10%APS	TEMED
4%	0.84 克	0.2 ml	0.4 ml	补水至 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，70°C 处理 5 分钟，冰浴制冷后待上样；待测样品与等体积 2×TBE 尿素上样缓冲液混合后 70°C 处理 5 分钟，冰浴制冷后待上样。

三. 电泳：

- 3.1. 电泳槽内外加入适量 1×TBE 缓冲液，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
推荐电压	200 V	15-20 mA/板胶	10-15 mA/板胶	60+ min

注：稳压电泳时，电流是变化的，不可调节，记录初始和终止电流。

- 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%	~8 nt	~42 nt

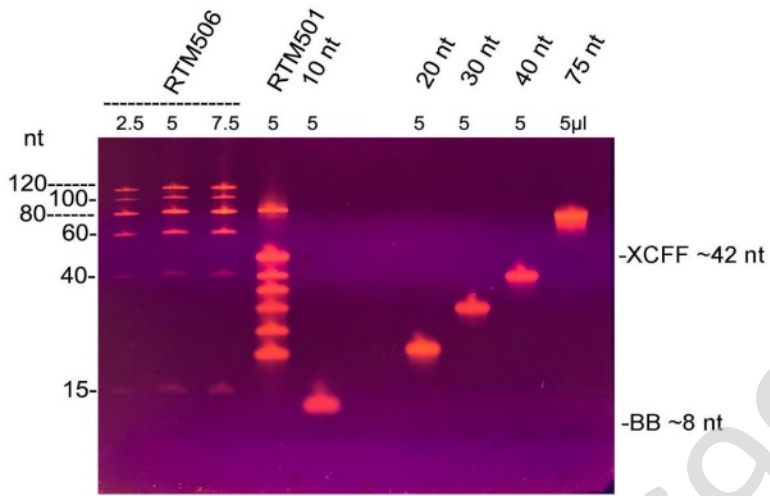
注：条带位置指溴酚蓝和二甲苯菁在相应 PAGE 浓度下大概对应条带大小位置。

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。

● 电泳示例：



15% TBE-Urea PAGE
电泳条件：1×TBE 200V 17-9mA 65min
染色：ReaSafe Red后染20min