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@vip.163.com

单链 DNA Marker（15-120 nt）预混型

Ver761058-1.0

货号	名称	规格
RTM506S	单链 DNA Marker（15-120 nt）	10 次

● 产品组成：

货号	名称	规格
RTM506S-01	单链 DNA Marker（15-120 nt）	50 μL
DL080-01	2×TBE 尿素上样缓冲液	1 mL

● 产品简介：

单链 DNA Marker（15–120 nt）预混型由 6 种不同长度的单链 DNA（ssDNA）片段混合而成，片段长度分别为 15、40、60、80、100 和 120 nt，适用于 TBE-尿素变性 PAGE 电泳，可用于单链 DNA 片段的长度估算。电泳结束后，使用适用于单链 DNA 的染色方法进行染色，可获得清晰的 DNA 条带。

样品保存在 1×TBE 尿素上样缓冲液中，上样方便。以每次上样 5 μL 计算，该单链 DNA Marker 可以使用大约 10 次。由于单链 DNA 可能形成不同程度的二级结构，在非变性条件下，其迁移率不一定与片段长度严格对应，该产品不推荐用于非变性核酸 PAGE 电泳。

● 贮存、效期及运输：

-20℃贮存；有效期 2 年；湿冰运输。

● 使用方法：

注：以下使用方法均以 8×10 cm 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：RTH5102P），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	凝胶浓度	尿素（克）	40%PAA（29:1）	5×TBE	水补足到总体积	10%APS	TEMED
200-1000 nt	5%	2.1 克	0.625 mL	1 mL	5 mL	50 μL	5 μL
50-400 nt	8%	2.1 克	1 mL	1 mL	5 mL	50 μL	5 μL
30-300 nt	10%	2.1 克	1.25 mL	1 mL	5 mL	50 μL	5 μL
10-150 nt	15%	2.1 克	1.875 mL	1 mL	5 mL	50 μL	5 μL

注 1：先称取尿素，再加入其他组分并用去离子水补足至规定体积。最后加入 10% APS 和 TEMED，混匀后立即灌胶。

Real-Times 400-699-0631

注 2：对于本产品，推荐使用 15% TBE-尿素凝胶，以获得较好的 15–120 nt 条带分离效果。

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覆盖液（水或乙醇），使凝胶表面保持平整。

1.3 静置 10-20 分钟，待分离胶和覆盖液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覆盖液；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)

	各组份体积（mL）					
凝胶浓度	**尿素**	**40%PAA（29:1）**	**5×TBE**	**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：

取适量单链 DNA Marker，70℃加热 5 分钟，立即置于冰上冷却，随后上样。注：本产品已含上样缓冲液，可直接进行热变性处理，无需另外添加上样缓冲液。待测样品与等体积 2×TBE-尿素上样缓冲液混匀后，按相同条件处理并上样。

三. 电泳：

3.1. 电泳槽内外加入适量 1×TBE 电泳缓冲液。上样前用 1×TBE 缓冲液轻轻冲洗加样孔 2–3 次，去除孔内析出的尿素及其他残留物。

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. 推荐采用恒电压模式电泳。对于 8 × 10 cm、厚度 1.0 mm 的 15% TBE-尿素 PAGE 凝胶，可参考 150 V 电泳约 40 分钟。实际电泳时间应根据凝胶规格、缓冲液温度及染料前沿位置适当调整。

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 1：上述数值为染料在不同浓度 TBE-尿素 PAGE 凝胶中的参考迁移位置，并非严格的 DNA 长度对应关系。实际迁移位置受凝胶配方、电泳温度和运行条件等因素影响。

注 2：单链 DNA Marker（15-120 nt）只含有溴酚蓝指示前沿，不含二甲苯菁，可以有效降低二

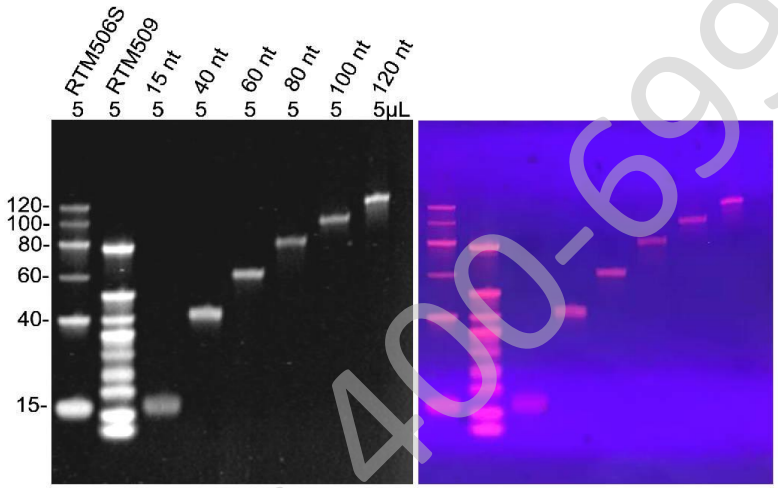
Real-Times 400-699-0631

甲苯菁对条带的遮挡。

四．染色：

电泳结束后，可使用核酸染料或核酸 PAGE 染色试剂盒（RTS5102 或 RTS5103）进行染色。由于不同核酸染料对单链 DNA 的染色灵敏度存在差异，推荐使用 RealSafe Red（GR002）、RealSafe Gold（GR003）或 RealSafe All（GR004）。具体染色条件请参照相应试剂说明书。

● 电泳示例：



RTM506S 单链 DNA Marker 在 15% TBE-尿素 PAGE 凝胶中的电泳结果
凝胶：15% RealPAGE TBE-尿素 PAGE 核酸变性电泳预制胶（RTH5102P-0015）
RTM506S 上样 5μL；单条 DNA 片段长度：15、40、60、80、100 和 120 nt；各片段浓度 10 ng/μL，上样体积 10 μL；电泳缓冲液为 1×TBE，150 V 恒电压电泳 40 分钟；RealSafe Red（GR002）染色 20 分钟，紫外激发成像。

Real-Times 400-699-0631