



RTM441

Ver. 740475

## 20bp DNA ladder (20-500 bp)

### 产品编号及规格:

RTM441 50 T

### 产品组成:

货号	名称	规格
RTM441-01	20bp DNA ladder	250 $\mu$ l
DL070-01	6 $\times$ Native-PAGE DNA上样缓冲液	1 ml
DL020-01	6 $\times$ DNA上样缓冲液(双染料)	1 ml

### 贮存、效期和运输:

-20 $^{\circ}$ C 贮存; 有效期3年; 湿冰运输。

### 产品简介:

本产品是由13条带状双链DNA条带组成的精准定量Marker, 大小分别为20, 40, 60, 80, **100**, 120, 140, 160, 180, **200**, 300, 400, 500 bp。其中100 bp和200 bp条带为加亮带, 含量为100 ng/5 $\mu$ l, 其余条带浓度为50 ng/5 $\mu$ l。

本产品为双链DNA Marker, 适用于非变性的PAGE电泳和琼脂糖凝胶电泳, 不适用于尿素PAGE电泳。由于片段较小, 如使用琼脂糖分离, 建议使用高分辨率琼脂糖凝胶电泳分离。

按照每次上样5 $\mu$ l计算, 产品可以使用50次。

### 使用说明:

#### 一. TBE-PAGE凝胶分离:

##### 1. 制备凝胶步骤:

- 1.1 参照凝胶模具说明书, 装配好凝胶模具。
- 1.2 按照表一将不同体积的成分在小烧杯中混匀; 随后加入10%APS和TEMED, 轻轻搅拌使其混匀, 避免产生气泡。

**注: 20 bp DNA ladder 适用20% TBE-PAGE胶。**

表一 TBE-PAGE分离胶配方表  
(总体积5 ml, 适用于厚度1.0 mm小板胶)

分离范围	胶浓度	组份体积				
		水	30% PAA	5 $\times$ TBE	10% APS	TEMED
70-450 bp	6%	3 ml	1 ml	1 ml	50 $\mu$ l	5 $\mu$ l
60-400 bp	8%	2.66 ml	1.34 ml	1 ml	50 $\mu$ l	5 $\mu$ l
50-300 bp	10%	2.33 ml	1.67 ml	1 ml	50 $\mu$ l	5 $\mu$ l
40-200 bp	12%	2 ml	2 ml	1 ml	50 $\mu$ l	5 $\mu$ l
25-150 bp	15%	1.5 ml	2.5 ml	1 ml	50 $\mu$ l	5 $\mu$ l
<b>6-100 bp</b>	<b>20%</b>	<b>0.66 ml</b>	<b>3.34 ml</b>	<b>1 ml</b>	<b>50 <math>\mu</math>l</b>	<b>5 <math>\mu</math>l</b>

- 1.3 在凝胶模具中灌入适量分离胶溶液(对于8 $\times$ 10cm凝胶, 凝胶液加至约距前玻璃板顶端1.5 cm即可), 然后在分离胶溶液上轻轻覆盖一层1-2 cm的水层, 使凝胶表面保持平整。
- 1.4 常温静置10-20分钟, 待分离胶和水层之间出现一个清晰的界面后, 说明分离胶已聚合。  
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; 冬天温度低时, 聚合时间会延长。可以根据环境温度的不同调节催化剂的加入量。25 $^{\circ}$ C时分离胶约15分钟可以凝固。

- 1.5 去除覆盖在分离胶上的水层, 用滤纸吸干水分。
- 1.6 按照表二将不同体积成分在一个小烧杯中混匀; 加入10%过硫酸铵和TEMED, 轻轻搅拌使其混匀, 避免产生气泡。

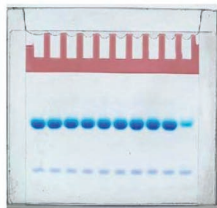
表二 TBE-PAGE浓缩胶配方表  
(总体积1.5 ml, 适用于厚度1.0 mm小板胶)

胶浓度	组份体积				
	水	30% PAA	5 $\times$ TBE	10% APS	TEMED
4%	1 ml	0.2 ml	0.3 ml	15 $\mu$ l	1.5 $\mu$ l

- 1.7 将浓缩胶溶液加至分离胶的上面, 直至凝胶溶液到达短玻璃板的顶端; 将梳子插入凝胶内, 避免产生气泡。
- 1.8 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; 冬天温度低时, 聚合时间会延长。可以根据环境温度的不同调节催化剂的加入量。25 $^{\circ}$ C时浓缩胶约40min可以凝固。
2. 电泳:
  - 2.1 1 $\times$ TBE电泳液配制: 取100ml 5 $\times$ TBE, 加蒸馏水400 ml, 即配成500 ml 1 $\times$ TBE。将凝胶板固定在电泳装置上, 往上槽和下槽中加入足够1 $\times$ TBE电泳液。用1ml吸头冲洗加样孔1-2次。
  - 2.2 样品处理: 取待测样品, 加入相应体积6 $\times$ Native PAGE DNA上样缓冲液, 如10  $\mu$ l样品加2  $\mu$ l上样缓冲液, 取5-10  $\mu$ l上样。**20 bp DNA ladder 1 mm厚10齿梳子上样5  $\mu$ l, 其余梳齿和厚度凝胶适量调整上样量。**

2.3 连接电源线，打开电源开关。200 V稳压电泳，至溴酚蓝指示前沿距离玻璃下沿1 cm时结束电泳（如下图）。

恒电压	200 V
起始电流	20-25 mA/板胶
终止电流	10-15 mA/板胶
电泳时间	50+ min



20%T TBE-PAGE

### 3.染色:

3.1 漂洗: 拆下凝胶后, 适量蒸馏水漂洗3-5分钟。

3.2 染色液配制:

TBE-PAGE胶推荐使用RealSafe类染料后染染色, 10-20  $\mu$ l RealSafe Red核酸染料(Cat:GR002)加入到100 ml 1 $\times$ TBE中配成即用型染色液。

3.3 染色:

凝胶浸泡于即用型染色液中, 常温避光摇床40-60 rpm 染色30分钟。

3.4 观察:

紫外灯或蓝光仪上观察条带。

## 二、琼脂糖凝胶分离:

### 2.1 琼脂糖凝胶制备:

由于片段较小, 建议选用高分辨率琼脂糖 (Cat:AR1036) 制胶。以下步骤以制备50 ml 3%凝胶为例: 称取1.5 g琼脂糖于玻璃三角瓶中, 加入50 ml 1 $\times$ TAE, 5  $\mu$ l RealSafe Red核酸染料, 混匀, 盖好瓶盖, 微波炉中火加热至沸腾, 轻摇混匀, 重复1-2次至琼脂糖完全溶解, 无可见颗粒。倒入制胶容器中, 插好梳子, 常温凝固30-50分钟至凝胶完全凝固。

### 2.2 电泳:

取待测样品, 加入相应体积6 $\times$ DNA上样缓冲液(双染料), 如10  $\mu$ l样品加2  $\mu$ l 上样缓冲液, 短暂离心后取5-10  $\mu$ l上样。20 bp DNA ladder 1 mm厚10齿梳子上样5  $\mu$ l, 其余梳齿和厚度凝胶适量调整上样量。

建议电泳条件: 凝胶浓度为3%, 电泳电压8-10 v/cm

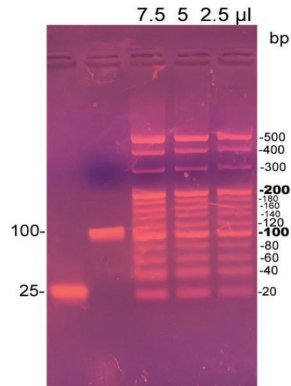
(单位电压指电泳槽阴阳极之间的距离电压, 如阴极阳极之间的距离为20 cm, 可以用160-200 V电压进行稳压电泳), 待溴酚蓝指示前沿距离凝胶末端2 cm时终止电泳, 电泳时间35-40分钟。

注: 3% 琼脂糖TAE电泳中, 溴酚蓝大小约为20bp, 二甲苯菁大小约200bp。

### 2.3 紫外灯下观察条带。

注: 使用EB或Goldview染料时, 由于染料本身带正电荷较多, 随着电泳时间的延长, 染料会向阴极聚集, 导致小片段核酸结合的染料含量降低, 会出现小片段的DNA片段紫外灯下亮度变弱或不可见。此时可以将胶浸泡于含有染料的1 $\times$ TAE缓冲液中染色15-20分钟即可看到小片段。使用RealSafe Red核酸染料不会出现类似情况。

## 实验示例:



### 3%琼脂糖凝胶电泳

左3-5: 20bp DNA ladder

琼脂糖: 高分辨率琼脂糖 (Cat:AR1036)

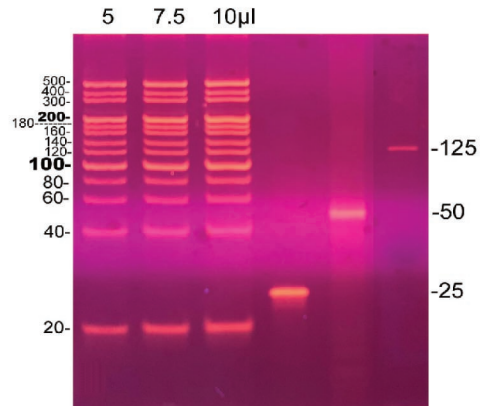
凝胶长度8 cm

电压150 V (单位电压7.5V/cm)

电泳缓冲液: 1 $\times$ TAE

电泳时间: 35分钟

染色: RealSafe Red核酸染料(Cat:GR002)预染



### 20%TBE-PAGE电泳

左1-3: 20bp DNA ladder

凝胶长度8 cm

电压200 V 起始电流25 mA, 终止电流11 mA

电泳缓冲液: 1 $\times$ TBE

电泳时间: 80分钟

染色: RealSafe Red核酸染料后染30分钟