



# 中科瑞泰

Ver. 740161

## 10bp DNA ladder (10-100 bp)

### 产品编号及规格:

RTM443

50 T(250 µl)

### 产品组成:

货号	名称	规格
RTM443-01	10bp DNA ladder	250 µl
DL070-01	6×Native-PAGE DNA上样缓冲液	1 ml

4°C 贮存6个月(-20°C有效期3年); 湿冰运输。

### 产品简介:

本产品是由8条带状双链DNA条带组成的精准定量Marker, 8条带的大小分别为10, 15, 20, **25**, 30, 40, 50, 100bp。其中25 bp条带为加亮带, 含量为100 ng/5 µl, 其余条带浓度为50ng/5µl。本产品为双链DNA Marker, 适用于非变性的PAGE电泳, 不适用于尿素PAGE电泳。由于片段长度很短, 不建议用琼脂糖凝胶电泳分离。

按照每次上样5µl计算, 该产品可以使用50次。

### 使用说明:

#### 一. 制胶:

- 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: 10 bp DNA ladder 适用于配制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×TBE	10% APS	TEMED
70-450 bp	6%	3 ml	1 ml	1 ml	50 µl	5 µl
60-400 bp	8%	2.66 ml	1.34 ml	1 ml	50 µl	5 µl
50-300 bp	10%	2.33 ml	1.67 ml	1 ml	50 µl	5 µl
40-200 bp	12%	2 ml	2 ml	1 ml	50 µl	5 µl
25-150 bp	15%	1.5 ml	2.5 ml	1 ml	50 µl	5 µl
<b>6-100 bp</b>	<b>20%</b>	<b>0.66 ml</b>	<b>3.34 ml</b>	<b>1 ml</b>	<b>50 µl</b>	<b>5 µl</b>

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催化剂的加入量。

- 1.3 在凝胶模具中灌入适量分离胶溶液(对于8×10cm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。

- 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×TBE	10% APS	TEMED
4%	1 ml	0.2 ml	0.3 ml	15 µl	1.5 µl

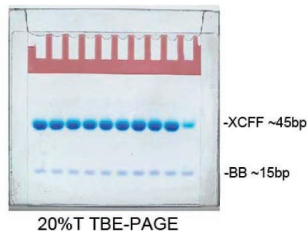
- 1.7 将浓缩胶溶液加至分离胶的上面, 直至凝胶溶液到达前玻璃板的顶端; 将梳子插入凝胶内, 避免产生气泡。
- 1.8 静置30-60分钟, 等待浓缩胶聚合。  
注: 凝胶的聚合时间与环境温度有关。夏天温度较高时, 聚合较快; 冬天气温低时, 聚合时间会延长。可以根据环境温度的不同调节催化剂的加入量。

#### 二. 电泳:

- 2.1 1×TBE电泳液配制: 取100ml 5×TBE, 加蒸馏水400 ml, 即配成500 ml 1×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×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×Native PAGE DNA上样缓冲液, 如10 µl样品加2 µl上样缓冲液, 取5-10 µl上样。**10 bp DNA ladder 1 mm厚10齿梳子上样5 µl, 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



### 三. 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, 以下程序用RealSafe Red核酸染料(Cat:GR002)进行染色。

即用型染色液配制 (配制量: 100 ml)

即用型RealSafe Red核酸染色液	
1×TBE	100 ml
RealSafe Red核酸染料	10-20 μl

### 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。

参考资料: DNA在PAGE中的有效分离范围

PAGE浓度 (w/v)	DNA有效分离范围		二甲苯菁	溴酚蓝	二甲苯菁	溴酚蓝	
	C3.3	双链 bp	单链 nt	染料迁移率(bp)*	染料迁移率(nt)**		
3.5%		1000-2000	750-2000	460	100	150	45
5%		80-500	200-1000	260	65	130	35
8%		60-400	50-400	160	45	75	19
10%		50-300	40-350	100	25	60	18
12%		40-200	30-300	70	20	55	17
15%		25-150	10-150	60	18	40	15
20%		6-100	8-120	45	15	30	8

\* 染料迁移率相当于双链DNA片段粗略大小

\*\*染料迁移率相当于单链DNA片段粗略大小

发表文章:

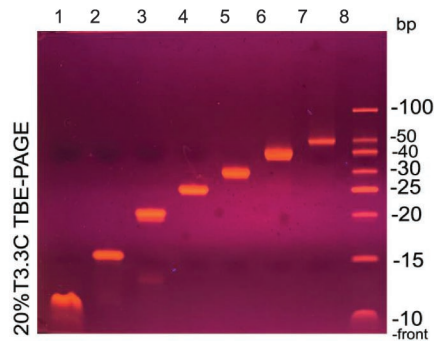
1. [2022 IF=8.2] A method for high-concentration agarose gel preparation and its application in high-resolution separation of low-molecular-weight nucleic acids and proteins.

Author: Lili Chang, Dan Wang, Cunzhi Peng, Qi Wang, Bingqiang Xu, Zheng Tong

Journal: *International Journal of Biological Macromolecules* 231 (2023) 123358

Institution: Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences

Paper link: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123358>



20% TBE-PAGE Gel

左1-7: 10,15,20,25,30,40,50 bp

左8: 10 bp DNA ladder

凝胶长度8 cm

电压200 V 起始电流25 mA, 终止电流13 mA

电泳缓冲液: 1×TBE

电泳时间: 50分钟

染色: RealSafe Red核酸染料后染30分钟