

# 10bp DNA ladder 10-100bp 说明书

货号:ZP970012

规格:50T(250ul)

储存条件: 4℃ 储存 6 个月(-20℃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 25bp 条带为加亮带，含量为 100ng/5ul，其余条带浓度为 50ng/5ul。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 5ul 计算，该产品可以使用 50 次。

## 使用说明:

### 一、制胶:

- 1、参照凝胶模具说明书，装配好凝胶模具。
- 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 |
| 70-450bp | 6%  | 3ml    | 1ml    | 1ml   | 50ul   | 5ul   |
| 60-400bp | 8%  | 2.66ml | 1.34ml | 1ml   | 50ul   | 5ul   |
| 50-300bp | 10% | 2.33ml | 1.67ml | 1ml   | 50ul   | 5ul   |
| 40-200bp | 12% | 2ml    | 2ml    | 1ml   | 50ul   | 5ul   |
| 25-150bp | 15% | 1.5ml  | 2.5ml  | 1ml   | 50ul   | 5ul   |
| 6-100bp  | 20% | 0.66ml | 3.34ml | 1ml   | 50ul   | 5ul   |

- 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。
- 3、在凝胶模具中灌入适量分离胶溶液(对于 8x10cm 凝胶，凝胶液加至约距前玻璃板顶端 1.5cm 即可)，然后在分离胶溶液上轻轻覆盖一层 1-2cm 的水层，使凝胶表面保持平整。
  - 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。
  - 5、去除覆盖在分离胶上的水层,用滤纸吸干水分。
  - 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 | 水   | 组份体积   |       |        |       |
|-----|-----|--------|-------|--------|-------|
|     |     | 30%PAA | 5×TBE | 10%APS | TEME  |
| 4%  | 1ml | 0.2ml  | 0.3ml | 15ul   | 1.5ul |

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。

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：

1、1xTBE 电泳液配制：取 100ml 5xTBE，加蒸馏水 400ml，即配成 500 ml 1xTBE。将凝胶板固定在电泳装置上，往上槽和下槽中加入足够 1xTBE 电泳液。用 1ml 吸头冲洗加样孔 1-2 次。

2、样品处理：取待测样品，加入相应体积 6xNative PAGE DNA 上样缓冲液，如 10ul 样品加 2ul 上样缓冲液，取 5-10ul 上样。10 bp DNA ladder 1 mm 厚 10 齿梳子上样 5ul，其余梳齿和厚度凝胶适量调整上样量。

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

|      |            |
|------|------------|
| 恒电压  | 200V       |
| 起始电流 | 20-25mA/板胶 |
| 终止电流 | 10-15mA/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（配置量：100ml）    |         |
|------------------------|---------|
| 即用型 RealSafe Red 核酸染色液 |         |
| 1×TBE                  | 100ml   |
| RealSafe Red 核酸染料      | 10-20ul |

3.3、染色：

凝胶浸泡于即用型染色液中，常温避光摇床 40-60rpm 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<br>(w/v)C3.3 | DNA 有效分离范围 |          | 二甲苯菁       | 溴酚蓝 | 二甲苯菁        | 溴酚蓝 |
|----------------------|------------|----------|------------|-----|-------------|-----|
|                      | 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