

## DNA Marker II

目录号	体积	规格
PM102-01	250 µl	50次
PM102-02	5×250 µl	250次

### ● 储存条件

-20°C长期保存；2-6°C可保存3个月。

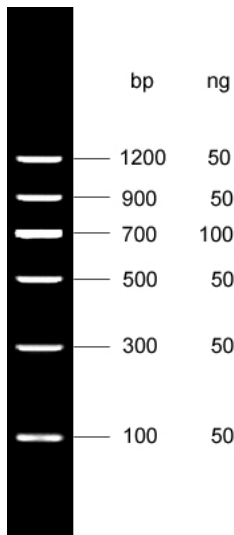
上海莱枫生物科技有限公司

www.lifefeng.com

电话：021-64810180 传真：021-54252754

技术支持：13817902990(上海)

### ● 电泳示例1



2.0%琼脂糖凝胶，凝胶长度6 cm  
加样孔槽6 mm，5 µl DNA Marker II  
1×TAE Buffer，5 V/cm，30 min

### ● 产品简介

DNA Marker II由6种线性双链DNA组成，作为琼脂糖凝胶电泳时DNA相对分子量参照。

本产品已含1×Loading Buffer，可直接电泳；6种条带分别是1200、900、700、500、300和100bp。上样量为5 µl时，700 bp约为100 ng，其他条带各约50 ng。（见●电泳示例）。

本产品使用红色和黄色两种电泳指示染料，两种染料不会在凝胶上留下阴影而影响EB显色，在琼脂糖凝胶电泳时相对线性双链DNA的迁移距离见表1。

表1：琼脂糖凝胶浓度与染料相对迁移距离

凝胶浓度	红色染料	溴酚蓝★	黄色染料
0.8%	2,000 bp	600 bp	约80 bp
1.0%	1,500 bp	400 bp	约40 bp
1.5%	1,000 bp	300 bp	约20 bp
2.0%	500 bp	200 bp	<10 bp
2.5%	350 bp	100 bp	<10 bp
3.0%	200 bp	80 bp	<10 bp

★ 溴酚蓝在EB显色时遮掩所覆盖DNA条带的荧光。

按说明书推荐的浓度制备6 cm凝胶电泳，黄色染料到达凝胶前沿约1 cm，Marker各条带可有效分离，同时保证小分子量DNA EB染色充分(参考●注意事项4)。

### ● 电压与电泳时间

常见的凝胶长度为6 cm(加样孔至前沿5.5 cm)和11 cm(加样孔至前沿10.5 cm)。待检测DNA分子量大于Marker最小分子量，可参考表2决定电泳时间。

表2：黄色染料电泳至凝胶前沿约1 cm所需时间

电场强度#	黄色染料到达凝胶前沿时间	
	6 cm凝胶	11 cm凝胶
3 V/cm	约52 min	约110 min
4 V/cm	约42 min	约80 min
5 V/cm	约32 min	约70 min
6 V/cm	约25 min	约55 min
7.5 V/cm	约18 min	约38 min

# 电压与正负电极之间距离的比例。

通常选择合适浓度的凝胶，使用电压5 V/cm即可将Marker各条带分开，但是分辨率不够。精确测定DNA分子量大小，应降低电压至1 V/cm。

大致估算分子量大小，可根据需要选择合适的电压。比如，>4,000 bp用低电压(例如3 V/cm)电泳，减少拖尾现象；<1,000 bp用相对较高的电压(例如7.5 V/cm)，缩短电泳时间，以免因其在凝胶中的快速扩散导致条带模糊。

### ● 凝胶浓度选择

表3：琼脂糖凝胶浓度与线性双链DNA分离范围

凝胶浓度	线性双链DNA分离范围
0.5%	1,000 bp~30,000 bp
0.8%	800 bp~12,000 bp
1.0%	500 bp~10,000 bp
1.2%	400 bp~7,000 bp
1.5%	200 bp~3,000 bp
2.0%	50 bp~2,000 bp

### ● 注意事项

1. 使用与电泳一致的缓冲液溶液，例如使用1×TAE缓冲液电泳，需使用1×TAE缓冲液溶液。
2. 浓度低于1.0%的凝胶易脱水，中间出现“凹陷”影响电泳，可在凝胶凝固后加缓冲液覆盖凝胶。
3. 多次电泳后缓冲液电导增强，相同电压下电流增大，导致分辨率降低，并且明显产热，严重时会引起凝胶熔化或DNA变性。
4. EB显色。EB可加入琼脂糖凝胶中至终浓度0.5 µg/ml，短时间电泳大部分EB被小分子量DNA携带，可能使大分子量DNA显色较弱；长时间电泳因EB向负极移动可能使小分子量DNA显色较浅。也可以在电泳结束后染色，将胶浸没在含1 µg/ml EB的电泳缓冲液中20~25 min，更长时间浸泡会因DNA分子扩散而使条带弥散，小分子量DNA尤为明显。
5. 紫外照射下EB易分解，使DNA条带荧光变浅。DNA受紫外光照射形成嘧啶二聚体，不利于待回收片段的下游工作；因此尽可能减少紫外照射时间。
6. 蔗糖会结合DNA，降低其电泳迁移率，建议使用含甘油的Loading Buffer。
7. 大部分核酸工具酶会结合DNA，降低其电泳迁移率，大分子量DNA尤为明显。

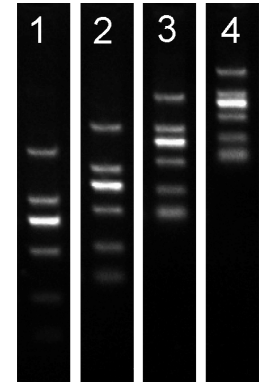
### ● 使用方法

1. 加样孔槽小于6 mm时，每次取5 µl产品电泳；使用更宽的加样孔槽需适当增加产品加样量。
2. 建议使用凝胶浓度1.5~3.0%，长度6 cm，电压5 V/cm，电泳至黄色染料距离凝胶前沿约1 cm。DNA Marker II各条带分子量差异较大，容易电泳分离，适用凝胶的浓度范围广，但浓度<1.5%的凝胶，100 bp和300 bp片段需长距离电泳后才能有效分离。DNA在低浓度凝胶中迁移速度比在高浓度凝胶中快。例如用1%的琼脂糖凝胶电泳至黄色染料距离凝胶前沿约1 cm时，100 bp片段可能EB染色不充分(参考●注意事项4)。

### ● 电泳示例2

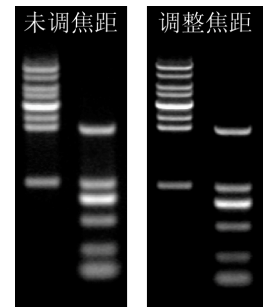
1.5% agarose，加样孔槽6 mm，5 µl DL2000，电压6 V/cm。随着电泳时间延长，EB向负极移动，从小分子量DNA上脱落，使小分子量DNA显色较浅。

1. 电泳25 min
2. 电泳20 min
3. 电泳15 min
4. 电泳10 min



### ● 电泳示例3

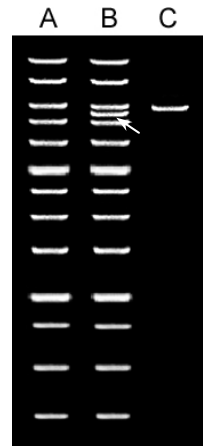
1 kb DNA Ladder和DL2000电泳后拍照，调整焦距后各条带变清晰。



### ● 电泳示例4

0.8%琼脂糖凝胶，1XTAE  
凝胶长度6 cm  
加样孔槽6 mm  
6 V/cm，25 min

A: 2.5 µl 1 kb plus DNA Ladder  
B: A+C  
C: 3 µl 5,500 bp DNA，约25 ng



箭头所示为5,500 bp DNA与Marker混合后电泳所在位置，与其单独电泳(泳道C)位置不一致。大于4kb的DNA片段，建议按图示顺序加样，以精确判断分子量大小。