



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

DNA 尿素 PAGE 电泳试剂盒 (货号 RTE4102)

Ver.710572

DNA Urea PAGE Electrophoresis Kit

● 产品组成:

货号	名称	规格	保存条件
AC2914	40%PAA(29:1)	100 ml	4℃
TB001	5×TBE	500 ml	RT
RU5080	尿素 (电泳级)	220 g	RT
AP020P	APS (干粉)	5 ml	RT (配制后-20℃贮存)
TA0761	TEMED	0.5 ml	4℃, 避光
DL080	2×TBE 尿素上样缓冲液 (尿素变性胶)	1 ml	4℃

● 产品简介:

DNA 尿素 PAGE 电泳是研究寡核苷酸电泳的重要研究手段。可以检测 2-500 碱基的寡核苷酸片段,理论上可以分辨出相差一个核苷酸的片段。

本公司提供的 DNA 尿素 PAGE 电泳试剂盒包含凝胶制备及电泳所需的全部试剂,用户只需自备制胶器具和蒸馏水,即可配制各种浓度的 PAGE 胶,使用方便。

按照每次制备 7 ml 8%凝胶 (大小 10×8cm, 1mm 厚度) 计算,试剂盒可使用至少 60 次。

● 贮存和运输:

试剂盒按照标签温度贮存,有效期一年。试剂盒常温运输。

● 使用说明:

一、制备凝胶:

10% APS 配制-5 ml:

将 0.5 g APS 干粉溶于 5 ml 灭菌水中,彻底溶解后分装,1 ml/支,-20℃ 备存,每次取一管使用。10% APS 应尽量减少室温存放时间,以防失效。10%APS 在 4℃ 有效期为一周,-20℃ 有效期 6 个月。若发现凝胶聚合时间延长,应考虑更换使用-20 度保存的 10% APS。

1.1. 参照凝胶模具说明书,装配好凝胶模具。

1.2. 分离胶配制:根据表格一,将不同体积的成分混合,漩涡搅拌至尿素彻底溶解。

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	最佳凝胶浓度	尿素 (克)	40%PAA (29:1)	5×TBE	补水到总体积	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

1.3 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 1-5 cm 的水层，使凝胶表面保持平整。

1.4 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。

1.5 去除覆盖在分离胶上的水层；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, 适用于 1.0mm 厚度胶)

凝胶浓度	各组份体积 (ml)					
	尿素	40%PAA (29:1)	5×TBE	灭菌水	10%APS	TEMED
4%	0.84 克	0.2 ml	0.4 ml	补水至体积 2 ml	20 μl	2 μl

1.6 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。

1.7 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、电泳：

2.1. 预电泳：拔出梳子，用 1×TBE 缓冲液彻底冲洗加样孔 2-3 次，去除残余的尿素。电泳槽内外加入适量 1×TBE 缓冲液稳压 200 V 预电泳 30 分钟。

注：试剂盒配套的 5×TBE 缓冲液仅够配制凝胶用，1×TBE 电泳缓冲液请自己制备，配方如下：

终浓度	顺序	原料	1 升	5 升
89 mM	1	Tris 碱 [MW121.14]	10.8 克	54 克
2 mM	2	EDTA 2Na · 2H ₂ O [MW372.24]	0.744 克	3.72 克
89 MM	3	硼酸 [MW61.83]	5.5 克	27.5 克
	4	超纯水最后定容至	1 升	5 升
最后 pH 在 8.2-8.3 之间，可以不用调节 pH，记录每批 pH				

2.2. 取 3-5 μl 样品，加入等体积 2×TBE 尿素上样缓冲液，70℃处理 5 分钟后立即冰浴，上样。

2.3. 连接电源线，打开电源开关，按照以下条件电泳。

	恒电压	起始电流	结束电流	电泳时间	适用条件
推荐电压	200V	15-20 mA/板胶	10-15 mA/板胶	60+ min	最佳电压，最优的分辨率

2.4. 等待上样缓冲液的溴酚蓝指示前沿到凝胶底部时终止电泳，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%	10 nt	52 nt

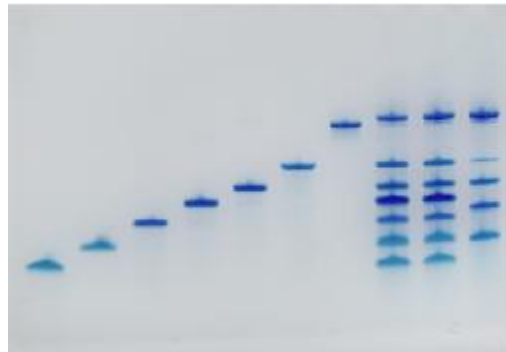
三、染色：

3.1 单链 DNA 可以用单链 DNA PAGE 电泳染色试剂盒（货号：RTS5103），核酸 PAGE 电泳染色试剂盒（货号：RTS5102）或核酸快速银染试剂盒（货号：RTS5101）进行染色。

● 实验示例：

1. 使用单链 DNA PAGE 电泳染色试剂盒（货号：RTS5103）染色：

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10



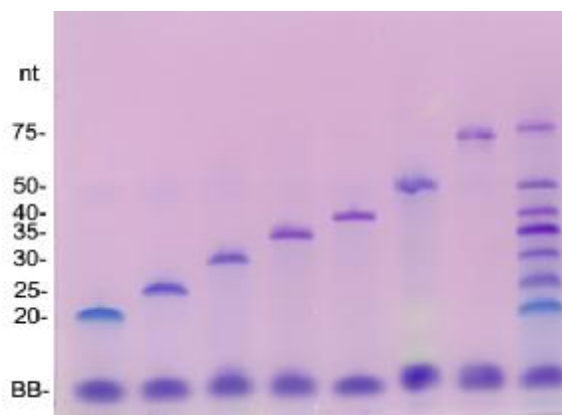
15% Urea-PAGE 1×TBE 200V 55min

lane 1-7 为 20, 25, 30, 35, 40, 50, 75nt ssDNA 上样量为 1 μ g

lane 8, 9, 10 ssDNA Marker 上样量 5 μ l

2. 使用核酸 PAGE 电泳染色试剂盒（货号：RTS5102）染色：

5 6 7 8



1 2 3 4

15%尿素变性胶分离单链 DNA

lane 1-7 为 20, 25, 30, 35, 40, 50, 75nt ssDNA 上样量为 1 μ g

lane 8 ssDNA Marker 上样量 5 μ l