



# 中科瑞泰

Ver. 731178

## DNA尿素PAGE电泳试剂盒 DNA Urea PAGE Electrophoresis Kit

### 产品编号及规格:

RTE4102 60次 (1mm厚10%胶)

### 产品组成:

货号	名称	规格	贮存
AC2914-01	40%PAA(29:1)	100 ml	4℃
TB002	10×TBE	500 ml	RT
RU5080	尿素 (电泳级)	220 g	RT
AP020P	10% APS (干粉)	5 ml	RT (配制后-20℃贮存)
TA0761-01	TEMED	0.5 ml	4℃, 避光
DL080-01	2×TBE尿素上样缓冲液 (尿素变性胶)	1 ml	4℃

本产品常温运输, 按照标签温度贮存; 有效期一年。

### 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。

本试剂盒配胶具体数量与凝胶浓度和凝胶厚度有关。按照每次制备10%凝胶 (大小10×8cm, 1mm厚度) 计算, 试剂盒可使用至少60次。

### 使用说明:

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应尽量减少常温存放时间, 以防失效。

10% APS在4℃有效期为一周, -20℃有效期12个月。

若发现凝胶聚合时间延长, 应考虑更换使用-20℃保存的10% APS。

### 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。

表一 TBE-Urea-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	nt 胶浓度	组份体积					
		尿素	40% PAA	10×TBE	水至总体积	10% APS	TEMED
200-1000	5%	2.1克	0.625 ml	0.5 ml	5 ml	50 μl	5 μl
50-400	8%	2.1克	1 ml	0.5 ml	5 ml	50 μl	5 μl
40-350	10%	2.1克	1.25 ml	0.5 ml	5 ml	50 μl	5 μl
30-300	12%	2.1克	1.5 ml	0.5 ml	5 ml	50 μl	5 μl
10-150	15%	2.1克	1.875 ml	0.5 ml	5 ml	50 μl	5 μl
8-120	20%	2.1克	2.5 ml	0.5 ml	5 ml	50 μl	5 μl

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APS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% APS和TEMED, 轻轻搅拌使其混匀, 避免产生气泡。

表二 TBE-Urea-PAGE浓缩胶配方表  
(总体积2 ml, 适用于厚度1.0 mm小板胶)

胶浓度	组份体积					
	尿素	40% PAA	10×TBE	补水至	10% APS	TEMED
4%	0.84克	0.2 ml	0.2 ml	2 ml	20 μl	2 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APS的加入量。

### 二. 电泳:

2.1 1×TBE电泳液配制:

取50 ml 10×TBE, 加蒸馏水450 ml, 即配成500 ml 1×TBE。将凝胶板固定在电泳装置上, 向内槽和外槽中加入足够1×TBE电泳液。用1ml吸头冲洗加样孔1-2次。  
注: 试剂盒配套的10×TBE缓冲液仅够配制凝胶用, 电泳用1×TBE电泳缓冲液请自己制备。

## 2.2 样品处理:

取待测样品, 加入等体积2×TBE尿素上样缓冲液, 如5 μl样品加5 μl 上样缓冲液, 短暂离心后70℃处理5分钟后立即冰浴, 取5-10 μl上样。

TBE-Urea-PAGE中判断单链DNA大小可以选择单链DNA Marker (20-75 nt) (货号:RTM501) 作为分子量标准。

2.3 200 V稳压电泳。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。

恒电压	200 V
起始电流	15-20 mA/板胶
终止电流	10-15 mA/板胶
电泳时间	60+ min

### 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	
	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

## 二.染色:

3.1 漂洗: 拆下凝胶后, 适量蒸馏水漂洗3-5分钟。

3.2 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) 或核酸快速高灵敏度染色试剂盒 (货号:RTS5101) 进行染色, 也可以选择使用核酸染料进行染色。

3.3 使用核酸染料染色方法:

TBE-Urea-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。

3.3.1 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	20 μl

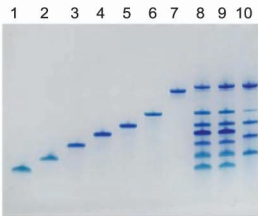
3.3.2 染色:

凝胶浸泡于即用型染色液中, 常温避光摇床 40-60 rpm震荡染色30分钟。

3.3.3 观察:

紫外灯或蓝光仪上观察条带。

## 实验示例:

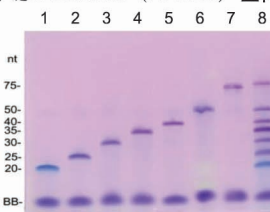


15% TBE-Urea-PAGE 1×TBE

染色: RTS5103 单链DNA PAGE电泳染色试剂盒

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

lane 8,9 单链DNA Marker (20-75 nt) 上样量5 μl

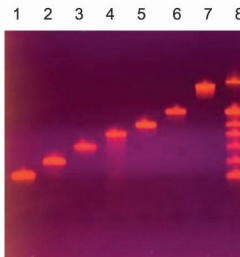


15% TBE-Urea-PAGE 1×TBE

染色: RTS5102 核酸PAGE电泳染色试剂盒

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

lane 8 单链DNA Marker (20-75 nt) 上样量5 μl



15% TBE-Urea-PAGE Gel

1×TBE 200V 45 min

染色: RealSafe Red (Cat:GR002),

稀释5000倍, 后染30 min

lane 1-7 为20, 25, 30, 35, 40, 50, 75nt ssDNA

上样量为1 μg

lane 8 单链DNA Marker (20-75 nt)

上样量5 μl