

天
净
沙
系
列

CAT#:90317-30

常温运输

TIANDZ

一站式 DNA 尿素-PAGE 电泳套装

One-Stop DNA Urea-PAGE Pack

使用手册 V1.3

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

产品及特点	本产品是专门用于 DNA 尿素-PAGE 电泳的一站式试剂盒，它具有下列特点： 1. 一站式，即开即用，用户不需单独准备各种成分，十分方便。用户不需要单独准备各种成分。 2. 可用于 DNA 测序、AFLP、DDRT、TGGE 和 RNase 保护实验等。 3. 安全，免去了实验人员接触粉末状的剧毒物品丙烯酰胺。 4. 电泳后可直接用于银染、EB 染色等实验。			
规格及成分	成 份	编 号	大纸盒包装	保存条件
	电泳级尿素	100873	210g（红盖瓶）	常温
	电泳级丙烯酰胺	100876	60g（250mL 棕色瓶）	常温
	电泳级甲叉双丙烯酰胺	100877	3g（橘黄盖）	常温
	10×TBE 电泳液	90313	250 mL	常温
	电泳级 TEMED	100880	1.5 mL（棕色管）	常温
	电泳级过硫酸铵	100879	1 g（蓝盖）	常温
	2×尿素-PAGE 上样液	100874	1 mL（棕色管）	4℃
	使用手册	90317sc	1 分	RT
运输及保存	常温运输，保存条件见上表，有效期一年。			
自备试剂	去离子水			
使用方法	一、PAGE 浓度和交联度的选择指南			
	尿素-PAGE 一般推荐用 29：1（丙烯酰胺：甲叉双丙烯酰胺）的交联度，在此条件下，DNA 片段和最适 PAGE 浓度对应关系如下：			
	单链 DNA 长度	最佳 PAGE 浓度	二甲苯青 FF 迁移率对应的长度	溴酚蓝的迁移率对应的长度
	50-400 nt	8%	160 nt	45 nt
	200-1000 nt	5%	260 nt	65 nt
	750-2000 nt	3.5%	460 nt	100 nt
二、制备尿素-PAGE 胶				
1. 配制尿素-PAGE 胶（这是配制 100 mL 胶的用量，配制更大体积的胶则需以此用量为基础按比例增加）				
A：新鲜配制 10%的 APS（过硫酸铵）：按每 0.1 克过硫酸铵干粉加 1mL 超纯水的比例将水加到装有硫酸铵干粉的 1.5 mL EP 管中，摇晃到粉末全部溶解。配制好的 10%的 APS 溶液可以在 4℃存放一周。				

B: 新鲜交联度为 29: 1 的 40%的丙烯酰胺-甲叉双丙烯酰胺溶液 (AB 溶液, 下同): 在装有丙烯酰胺干粉的 250mL 棕色塑料瓶中加入 120 mL 自备的去离子水, 然后将全部甲叉双丙烯酰胺加入到同一塑料瓶中 (可以加少量丙烯酰胺溶液冲洗出来以避免粉末有毒粉末飘出。甲叉双丙烯酰胺溶解度低, 不会溶解在这少量溶液中)。充分摇晃混匀后所得溶液即 40%的 AB 溶液。配制 40%而非 30%的原因是这样可以在下步留出足够空间加尿素。

B: 配尿素-PAGE 胶: 在一个 250 mL 的三角瓶中, 先按下表的用量加入去离子水、40%AB 溶液和 10×TBE 缓冲液。丙烯酰胺单体溶液具有神经毒性, 一定要戴手套操作。

PAGE 胶浓度	各成分用量 (尿素为克, 其余单位是 mL)			补水到 (mL)
	尿素	40%AB 溶液	10×TBE 缓冲液	
5%	42	12.5	5.0	100
6%	42	15.0	5.0	100
7%	42	17.5	5.0	100
8%	42	20.0	5.0	100
9%	42	22.5	5.0	100
10%	42	25.0	5.0	100
11%	42	27.5	5.0	100
12%	42	30.0	5.0	100

C: 搅拌溶解, 然后用滤纸过滤。最好能抽真空 10-15 分钟以去除溶液中的氧气 (氧气能抑制丙烯酰胺聚合反应), 无条件也可以不脱氧。

D: 加入 500uL 10%APS 和 100uL TEMED, 迅速摇匀后倒胶。

E: 在胶的液面距离达到顶部时停止灌胶, 插入梳子。

F: 室温聚合 30-60 分钟 (低温抑制聚合反应)。

G: 拔出梳子, 用 0.5×TEB 液冲洗加样孔。

三、样品准备

- 2. 对一般样品、测序样品、微卫星 DNA、AFLP 样品、DDRT 样品、RPA 样品: 将样品跟上样液 1:1 混合, 95℃ 3 分钟变性, 然后放冰上待用。
- 3. 对 TGGE 样品: 可以直接上样。

四: 电泳

- 4. 将凝胶板固定在电泳装置上, 往上槽和下槽中加入足够 0.5×TEB 电泳液。

	5. 预电泳 5-30 分钟将冰上放置的样品上样。 6. 连接电源线，打开电源开关。根据胶的大小选择功率（固定功率可以固定产热，这样不容易发生过热而使胶板破裂的现象。如果固定电流或电压，产热都将随电泳时间而变化，不好控制）。 对小胶一般用 5-6W 固定功率，大胶用 15-25W 固定功率。 7. 终止电泳，取出凝胶进行后续的处理（如银染）。注意：如果银染，必须延长固定时间以便让洗出尿素，否则残留尿素会干扰后面的银染。
--	---