

中科瑞泰 (北京) 生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// <u>www.real-tims.com.cn</u> E-mail: <u>real-times@vip.163.com</u>

RealPAGE TBE-尿素-PAGE 核酸变性电泳预制胶 ver.750165

名称	规格
RealPAGE TBE-尿素-PAGE 核酸变性电泳预制胶(12 孔)	10 板/盒

● 产品介绍:

RealPAGE TBE-尿素-PAGE 核酸变性电泳预制胶适用于 10-1000 个碱基长度的单链 DNA 或 RNA 的分析和纯化,可用于合成寡核苷酸分析和纯化、RNA 酶保护实验、体外转录研究和 RNA 印迹实验等。是一款安全、快捷、高性能的预制凝胶,即开即用无需自行配置各种试剂及灌胶操作。核酸条带均一性好,分辨率高。兼容市场上主流的 mini 电泳槽, 如 Bio-Rad, 天能, 六一和君意东方等。

产品参数:

预制胶板尺寸: 长 10 cm, 宽 8.2 cm, 厚度为 4 mm 预制胶尺寸: 长 8.2 cm, 宽 7.2 cm, 厚度为 1.1 mm

梳孔: 12 孔

包装规格: 10 板/盒

最大上样量: 30 µl (12 孔)

● 产品货号及选择:

货号	分离胶	孔数	最大上样量	电泳缓冲液	最佳分离	溴酚蓝	二甲苯菁
Д 7	浓度	103X			范围	位置	位置
RTH5102-0005	5%	12	30 µl	1×TBE	200-1000 nt	~35 nt	~130 nt
RTH5102-0010	10%	12	30 µl	1×TBE	25-350 nt	~15 nt	~55 nt
RTH5102-0015	15%	12	30 µl	1×TBE	10-150 nt	~10 nt	~62 nt

● 贮存、效期及运输:

预制胶 4-8℃贮存, 切勿置于 0°C 以下冷冻; 有效期 30 天; 常温运输。

- 使用说明:
- 一. 样品准备:
- 1.1 单链 DNA 样品加入等体积的 2×TBE 尿素上样缓冲液 (用于尿素变性胶) (货号: DL080); RNA 样品加入等体积的 2×RNA 上样缓冲液 (尿素变性胶, RNase-free) (货号: RTE4103-05); 70℃孵育 5 分钟以充分变性核酸以打开核酸的二级结构,立即置于冰水浴中。 建议每孔上样 0.2-0.5 μg 左右即可。
- 1.2 TBE-尿素-PAGE 电泳可以选择单链 DNA Marker(25-75 nt)(货号: RTM501)或单链 DNA Marker(15-120 nt)(货号: RTM506)或单链 DNA Marker(10-75 nt)预混型(货号: RTM 508)作为分子量标准。

二. 电泳液的准备:

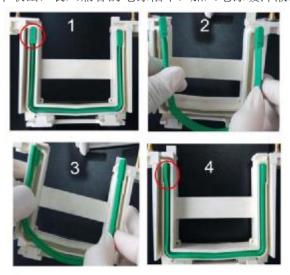
取 5×TBE(货号: TB001),加入去离子水稀释为 1×,制备成 1×TBE buffer。对于RNA 样品电泳,取 5×TBE(RNase-free)(货号: TB001F),加入 RNase-free 水/DEPC水(货号: RF001-02)稀释为 1×,制备成 1×TBE buffer。

1×TBE 电泳缓冲液配制	方法	訓.	电泳缓冲液配	TBE	1×
---------------	----	----	--------	-----	----

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		

三. 电泳:

3.1 将预制胶从包装袋中取出,装入兼容的电泳槽中,加入电泳缓冲液,再缓慢地将梳子拔出。



注: 伯乐 Mini III 或 Mini-PROTEAN Tetra Cell,天能 VE-180,六一 24K 系列电泳槽请确保密封条的安装方向(如图)。六一其他系列,君意东方 JY-SCZ2/4,百晶 BG-verMINI,Hoefer Mighty Small (SE 250/ SE 260/ SE 280)等电泳槽可以直接使用预制胶。不兼容Thermol 系列电泳槽。

- 3.2 内槽加满电泳液,外槽加入电泳液没过电泳槽底部的阳极即可,用 1×TBE 缓冲液彻底冲洗 加样孔 2-3 次,去除残余的尿素。
- 3.3 上样: 在梳孔内加入适当浓度和体积的样品。

注: 最佳上样量须通过实验来确定,样品过量较易导致条带拖尾。

3.4 将电泳槽盖子盖好,并将电源线插头插入电泳仪电源插孔(红对红,黑对黑)。一般在 150 V 电压,电泳 50-90 分钟,根据溴酚蓝的位置大体判断条带大小位置,停止电泳。

	恒电压	起始电流	结束电流	电泳时间	适用条件
推荐电压	150 V	15-20 mA/板胶	5-10 mA/板胶	60+ min	最佳电压,最 优的分辨率

3.5 取出玻璃胶板,稍加用力慢慢扳开或用刮板轻轻撬开玻璃胶板,将凝胶取出。

四. 染色:

单链 DNA 或 RNA 样品可以用单链 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)染色均可以得到清晰的条带分离效果。注: 如果使用核酸染料染色,RealSafe Red(货号: GR002)或 RealSafe All(货号: GR004)核酸染料结合单链核酸效果最佳,强烈建议使用以便获得最佳效果的胶图。其余染料如 GelRed,Goldview,EB 等染色效果不好。

以下程序用 RealSafe Red 核酸染料(货号:GR002)进行染色。

- 4.1 漂洗: 拆下凝胶后,适量蒸馏水漂洗 3-5 分钟。
- 4.2 染色液配制:

即用型 RealSafe Red 核酸染色液配制			
1×TBE			
RealSafe Red 核酸染料	10-20 μl		

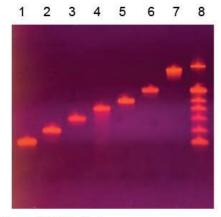
4.3 染色:

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

4.4 观察:

紫外灯或蓝光仪上观察条带。

● 实验示例:



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