

尿素-PAGE制胶液（20%,DNA,microRNA）

产品货号：T15806

产品规格：500ml

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
20%尿素-PAGE制胶液	500mL	2-8℃
APS（过硫酸铵）	3×0.1g	室温
TEMED	1mL	室温，避光

注意：过硫酸铵（APS）为固体粉末，使用前配制成10% APS溶液（0.1g APS加1mL双蒸水）。APS溶液最好现配现用。通常4℃可保存一周，-20℃能保存半年。

准备工作：

估计所需要的凝胶溶液的体积，一般配制一块13cm×15cm×0.8mm的胶需要15mL凝胶溶液，配制一块36cm×45cm×0.8mm的胶需要120mL凝胶溶液。

操作步骤：

1. 取适量的制胶液于三角瓶中，边摇晃溶液边加入 TEMED 和 10%过硫酸铵。（建议每 100mL 的加入量：10% APS 500uL，50-100uL 的 TEMED）
2. 再充分摇晃约 30 秒后迅速灌胶，然后插入样品梳，室温放置 30-60 分钟等待胶凝固。
3. 将凝胶板放置在电泳装置上后，在上下层分别加入适当量的 1×TBE 电泳缓冲液。如果不马上使用，需要有湿纸将上样孔端盖住以防凝胶过度干燥。
4. 拔出梳子后用加样枪吸取电泳缓冲液，充分将每个加样空中未聚合的 Acrylamide/Bis、尿素和气泡吹打出来。
5. 在上样前，预电泳 20-30 分钟以使多余的过硫酸铵跑出加样空，同时还可以使凝胶的温度升高（到 50℃ 左右），有利于 RNA 变性状态。
6. 将 miRNA 样品与等体积的 miRNA 上样液混合，70℃ 保温 2-3 分钟后迅速放置在冰上冷却，快速离心半分钟，放冰上待用。
7. 关电泳仪后开始上样。
8. 重开电泳仪，对 13cm×15cm 的胶，以 20-30mA 的电流电泳，直到红色染料移动到凝胶边缘为止；对 36cm×45cm 的胶，则以 50-60mA 的电流电泳，直到红色染料移动到凝胶边缘为止。
9. 染色观察：将凝胶一面的玻璃板揭开，直接用仍然附着在另一玻璃板上的凝胶进行各种染色，包括银染（固定、漂洗、显影和定影等步骤）、EB（每 100mL 1×TBE 中加 20uL 10mg/mL 的 EB 溶液）。UV 下观察并拍照。
10. miRNA 回收：按上法用 EB 等染料染色后，UV 下确定所需要的 miRNA 条带的位置，切胶后进行胶回收处理。
11. Northern 杂交：按上法用 EB 等染料染色后，UV 下确定所需要的 miRNA 条带的位置，切胶后电转移到带正电的尼龙膜上，然后进行杂交处理。
12. 放射自显影：如果 miRNA 样品电泳前经过同位素标记，则将凝胶一面的玻璃板揭开，用滤纸将附着在另一玻璃板上的凝胶吸附过来，然后包上保鲜膜，真空抽干，然后使胶跟 X 光片相对置进行放射自显影。

注：Acrylamide/Bis的终浓度需要根据待分离RNA长度选择（见下表）。

需分离的RNA长度范围	Acrylamide/Bis终浓度
6-100nt	20%



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

25-150nt	15%
40-200nt	12%
60-400nt	8%
80-500nt	5%
1000-2000nt	3.5%

15%/ 20% PAGE 成分: 40% Acr/Bis(19:1) 187.5mL/ 250mL;

Urea 7M (干粉 210 g)

10× TBE 50mL

补足DEPC水至500mL过滤避光保存

储存条件:

4°C保存, 有效期6个月。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司
Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号
免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866
邮箱: zzlybio@126.com