

## 6%尿素-PAGE 制胶液使用说明书

产品编号: SL23002

储存条件: 制胶液和上样液短期 4℃ 保存, 长期-20℃ 保存, 有效期 1 年。

产品组成:

Components	SL23002	保存条件
6%尿素-PAGE 制胶液	500 mL	2-8℃
APS (过硫酸铵)	3×0.1 g	RT
TEMED	1 mL	RT/避光
2×尿素-PAGE 上样液	1mL	2-8℃
10×TBE 电泳缓冲液	250 mL	RT
说明书	1 份	

**注意:** 过硫酸铵 (APS) 为固体粉末, 使用前配制成 10% APS 溶液 (0.1 g 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。

操作步骤:

### 一、胶制备尿素-PAGE 胶

1. 计算灌胶所需制胶液体积。
2. 按照每 100 mL 的 6%尿素-PAGE 制胶液中加入 10%的 APS 溶液 0.5 mL, TEMED 0.1 mL (冬季可以将 APS 和 TEMED 各增加 50%-100%, 以加速凝胶) 的比例配置 PAGE 胶灌胶液。
3. 将配置好的灌胶液倒入胶板, 在胶的液面距离达到顶部时停止灌胶, 插入梳子。
4. 室温聚合 30-60 分钟 (低温抑制聚合反应, 故最好室温)。
5. 待胶凝固后拔出梳子, 用 0.5×TBE 液冲洗加样孔。

### 三、样品处理

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; 对 TGGE 样品: 可以直接上样。

### 四、电泳

1. 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。
2. 预电泳 5-30 分钟后, 将冰上放置的样品上样。
3. 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。

4. 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洗出尿素, 否则残留尿素会干扰后面的银染。

#### 注意事项:

1. APS 溶液不稳定, 每次取用后立即放回冰箱, 以防失效; 若发现凝胶聚合时间延长, 应考虑更换 10% APS。
2. PAGE 凝胶的凝聚速度与温度以及 APS、TEMED 的用量密切相关; 可通过改变 APS 及 TEMED 的用量, 控制 PAGE 凝胶的聚合速度, 凝胶聚合过快不利于操作。
3. 在凝胶配制过程中, 尤其是液体混匀步骤, 应尽量避免气泡的产生。
4. 丙烯酰胺具有神经毒性, 操作时请穿戴实验服和一次性手套。

附表: (单位: 尿素 g, 其余为 mL)

胶浓度	胶体积	40%Acr-Bis (29:1)	10×TBE	尿素	10%APS	TEMED	双蒸水
5%	100mL	12.5	5-10	42	0.5	0.1	73.4-68.4
6%	100mL	15.0	5-10	42	0.5	0.1	70.0-65.0
7%	100mL	17.5	5-10	42	0.5	0.1	66.7-61.7
8%	100mL	20.0	5-10	42	0.5	0.1	63.3-58.3
9%	100mL	22.5	5-10	42	0.5	0.1	60.0-55.0
10%	100mL	25.0	5-10	42	0.5	0.1	56.7-51.7
11%	100mL	27.5	5-10	42	0.5	0.1	53.3-48.3
12%	100mL	30.0	5-10	42	0.5	0.1	50.0-45.0

6% 的尿素-PAGE 胶成分:

1L 包含 (420g 尿素, 40% 19:1 的丙烯酰胺 150mL, 10×TBE 50mL, 补水到 1000mL)