

일반화학실험 II

2주차 전기영동

Purpose

전기영동의 원리를 이해하고 이를 이용하여 DNA의 크기를 확인해 본다.

Theory

- 전기영동 (Electrophoresis)
- Agarose Gel
- DNA
- DNA 의 이동속도에 영향을 주는 요인
- TAE (Tris-acetate-EDTA) buffer
- EtBr, Red safeTM
- Micropipette

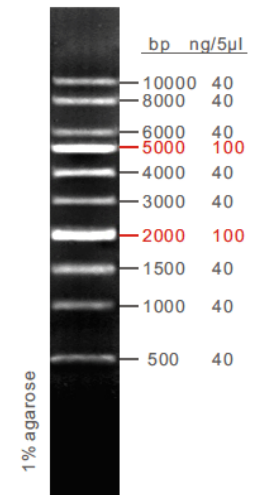
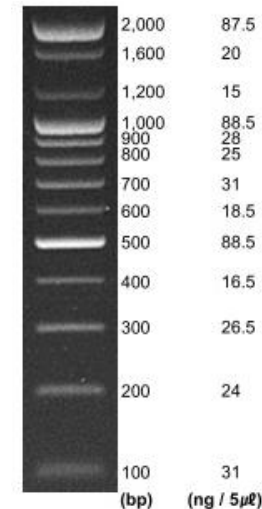
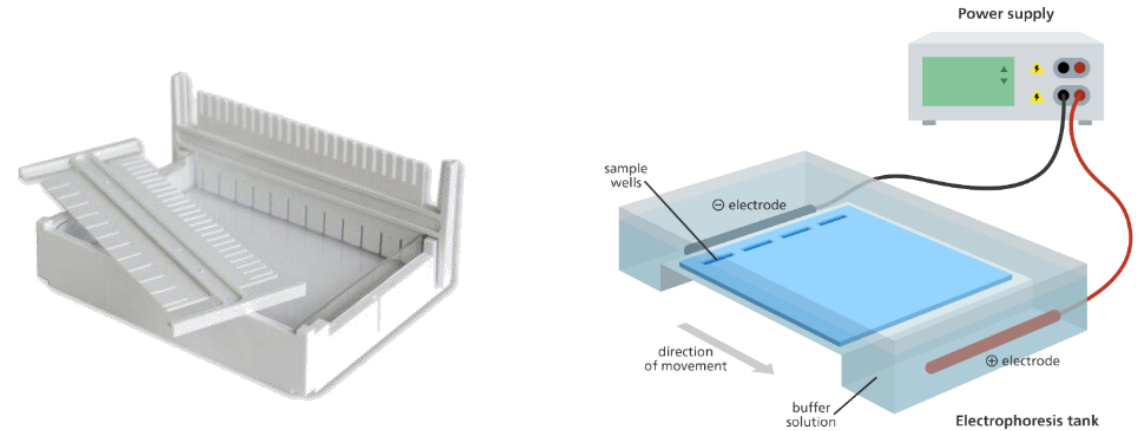
Apparatus & Chemicals

Apparatus

Gel electrophoresis tank, 직류공급장치, casting tray, gel comb, micropipette, microwave range, UV transilluminator, Erlenmeyer flask, Eppendorf tube

Chemicals

Agarose, 50X TAE Buffer, 10X loading buffer
(Takara, 9157), 100bp DNA ladder (Bioneer, D-1030),
1 kb DNA ladder (Komabitech, K0170315),
Redsafe™, DW



Procedure

A. 1X TAE 100 mL 만들기

1. 삼각플라스크에 50X TAE 2mL를 넣는다.
2. 증류수 98 mL를 넣고 섞는다.

B. Agarose Gel 만들기

1x TAE	50 mL
Agarose	0.5 g

1. 표의 조성도와 같이 100 mL 삼각플라스크에 혼합한 후 Microwave range 3 분 정도 가열한다.
2. 혼합 용액에 RedSafe™ 2.50 µL를 넣는다.
3. Gel 틀에 기포가 생기지 않게 천천히 용액을 붓고, gel comb을 끼우고 20 분간 굳힌다.

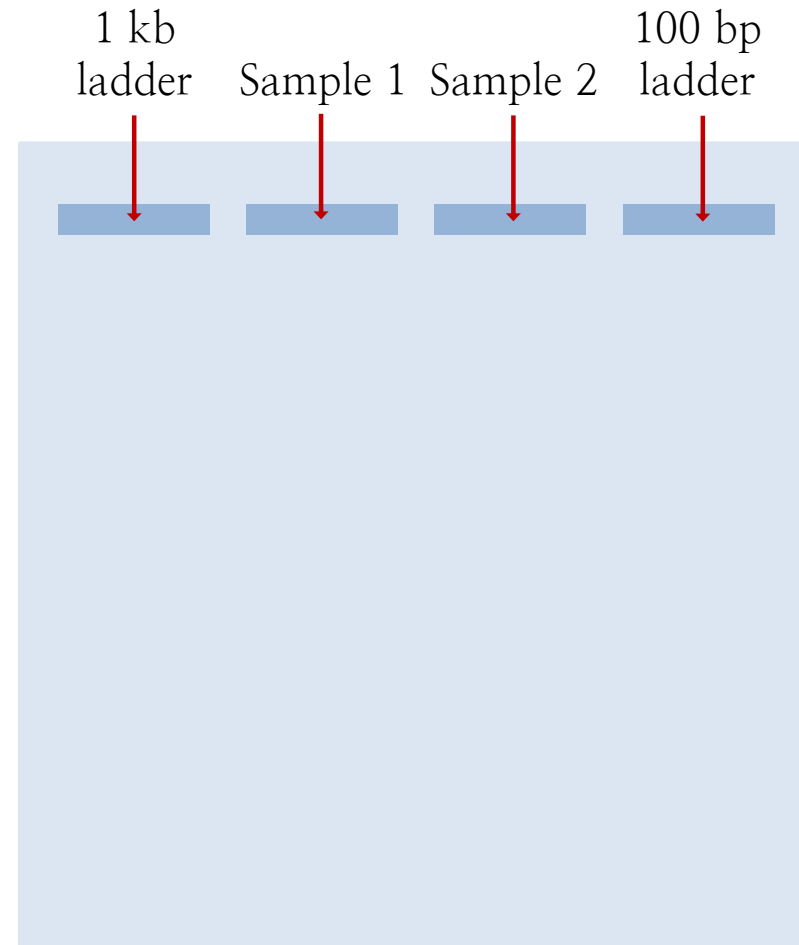
Procedure

C. Agarose Gel Electrophoresis

1. 굳힌 agarose gel의 well이 (-) 극을 향하도록 gel 틀을 전기영동기구에 넣는다.
2. 1X TAE 용액을 젤이 잠길 정도로 붓는다.
3. Eppendorf tube에 준비된 DNA sample 27 μL 과 10x Loading Dye 3 μL 를 넣고 섞는다.
4. 3번에서 준비한 sample 30 μL 를 well에 차례대로 loading한다.
5. Well에 100 bp ladder와 1 kb ladder를 각각 5 μL 씩 loading한다.
6. Full Voltage로 25분간 전압을 걸어준다.
7. UV transilluminator로 DNA의 크기를 확인한다.

Procedure

오른쪽 그림과 같이 loading



주의사항

- ✓ Loading 할 때, pipette tip을 홈 높이의 절반 정도 위치에 놓은 후 버튼을 천천히 눌러 용액을 내보낸다.
- ✓ 전기영동 중에는 buffer에 손을 집어넣지 않는다.



감사합니다.