涼 琼脂糖凝胶电泳

琼脂糖凝胶电泳是实验室分离和检测核酸的常规实验 本实验使用核酸染料 GelRed 是致癌物, 使用时需要额外注意!

- 1. 提前准备好底板, 插好梳子
 - 整板胶为 100 mL, 1/2 板胶为 50 mL, 1/4 板胶使用 30 mL
 - 梳子有小孔、中孔(18 孔/排)和大孔三种, 尽可能避免使用小孔梳子
- 2. 通常配制 1% 琼脂糖凝胶 (1 g/100 mL, 对于小片段可以提升浓度至 2%), 称取对应量的琼脂糖溶解于 TAE 中, 微波炉加热至煮沸
 - ! 注意戴外层的 PE 手套, 防止核酸染料的污染
- 3. 用凉水稍冲瓶外壁, 不烫手后按照 1:10000 的比例加入核酸染料(3-10 μL), 倒入制胶模块中, 室温静置约 20 min 即可凝固
 - ! 使用后的三角瓶在倒胶后及时用自来水润洗, 防止残留
- 4. 凝胶后使用 DNA Loading buffer (核酸上样缓冲液)与样品相混 (在封口膜上按照稀释比例混合), 每个样品上样 500 ng 即可观察到清晰的条带, Marker 为 50 ng/μL, 上样 5 μL 即可
- 5. 160V 恒压跑胶 20 分钟左右, 观察溴酚蓝的位置移动, 根据需求适当停止或继续
- 6. 完成后戴手套将胶取到扫胶仪中, 打开开关, 调节亮度, 条带清晰后拍照、保存, 选择合适位置打印结果
 - ! 调整紫外光强度时避免曝光过强, 可以参照 Marker 选择合适的强度

50×TAE:

药品名称	使用浓度	50×储液浓度	1 L 储液用量
Trizma base	40 mmol/L	2M	242g
冰醋酸	40 mmol/L	2M	57.1 mL
0.5 M EDTA	1 mmol/L	50 mM	100 mL

Hints:

- 冰醋酸在通风橱中取用
- 配制充分溶解后, 调节溶液 pH 为 8.0
- 使用时取 40 mL 50×储液溶解于 2L 去离子水中

