

琼脂糖操作规程

1. 凝胶制备方法

1. 配制适量的电泳及制胶用的缓冲液。根据电泳需要，配置合适浓度的电泳及制胶缓冲液。

注：用于电泳的缓冲液和用于制胶的缓冲液必须是相同的。

2. 根据制胶量及凝胶浓度，在加有一定量的电泳缓冲液的三角锥瓶中，加入准确称量的琼脂糖粉（总液体量不宜超过三角锥瓶的 50%容量）。

3. 在微波炉中加热溶解琼脂糖，设置高火加热至沸腾，保持胶液沸腾约 30 秒钟，戴上防热手套，移开三角锥瓶，小心摇动三角锥瓶，重悬未溶解颗粒，再次用高火加热 1-2 分钟，或直至琼脂糖完全溶解。请戴上防热手套，小心摇动三角锥瓶，使琼脂糖胶液充分均匀。

注：必须保证琼脂糖充分完全溶解，此时琼脂糖胶液清澈，否则，会造成电泳图像模糊不清。

加热时如胶液剧烈沸腾发泡，停止加热。微波炉中加热时间不宜过长。

4. 使溶液冷却至 60℃左右，如需要可在此时加入溴化乙锭 (EB) 溶液使其终浓度为 0.5ug/ml，并充分混匀。

注：溴化乙锭是一种致癌物质。使用含有溴化乙锭的溶液时，请戴用手套。

5. 将琼脂糖溶液倒入制胶模中，然后在适当位置处插上梳子。凝胶厚度一般在 3—5mm 之间。

6. 在室温下使胶凝固（大约 30 分钟—1 小时），然后放置于电泳槽中进行电泳。

注：凝胶不立即使用时，请用保鲜膜将凝胶包好后在 4℃下保存，一般可保存 2~5 天。

琼脂糖浓度与 DNA 分离范围

琼脂糖浓度 (%)	0.3	0.6	0.7	0.9	1.2	1.5	2.0
线状 DNA 大小 (kb)	60-5	20-1	10-0.8	7-0.5	6-0.4	4-0.2	3-0.1

