

实验四、琼脂糖凝胶电泳实验

1. **实验目的：**掌握琼脂糖凝胶电泳的方法并分析核酸图谱。

2. **实验步骤：**

1、制胶

- (1) 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（总液体量不超过锥瓶的 50%容量）。
- (2) 在锥瓶的瓶口上盖上保鲜膜或牛皮纸，并在膜或纸上扎些小孔，然后在微波炉中加热溶解琼脂糖。加热时，当溶液沸腾后，请戴上防热手套，小心摇动锥瓶，使琼脂糖充分均匀溶解。此操作重复数次，直至琼脂糖完全溶解。
- (3) 使溶液冷却至 50°C-60°C 左右，如需要可在此时加入溴化乙锭溶液（终浓度 0.5 $\mu\text{g/ml}$ ），并充分混匀。
- (4) 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 3~5 mm 之间。制胶模如下图所示，小胶倒入 25-30 mL 左右琼脂糖溶液，大胶则 60-70 mL 左右，若需切胶回收，凝胶可适当加厚。
- (5) 在室温下使胶凝固，大约 30 分钟~1 小时。

2、上样

- (1) 取适量样品与 6×上样缓冲液混匀，用微量移液枪小心加入样品槽中。
- (2) 上样量根据样品浓度可适当调整，若 DNA 含量偏低，则可依上述比例增加上样量，但总体积不可超过样品槽容量。
- (3) 每加完一个样品要更换枪头，以防止互相污染，注意上样时要小心操作，避免损坏凝胶或将样品槽底部凝胶刺穿。

3、电泳

- (1) 加完样后，合上电泳槽盖，立即接通电源。控制电压保持在 110 V，电流在 40 mA 以上。
- (2) 当条带移动到距凝胶前沿约 2 cm 时，停止电泳。
- (3) 紫外下拍照并观察。