Exp.20
Agarose Gel Electrophoresis

- 利用瓊脂膠體電泳分析核酸，因核酸本身帶負電（含有磷酸鹽），故在電場裡會向陽極的方向移動。
- 瓊脂膠體電泳是一種常用於分析大分子的核酸（DNA和RNA）的方法。瓊脂（俗稱洋菜）是由石花菜屬（Gelidium）及江蘺屬（Gracilaria）藻類中萃取出來，易溶於沸水，冷卻後會凝固。

- Reagents:

1) Agarose
2) TBE Buffer
3) 6X loading dye buffer(含螢光劑及tracking dye)
4) λ-DNA
5) ECoR1
6) Hind Ⅲ

Procedure

製備0.7% Agarose: 0.140~0.160g in 20ml 0.5X TBE

(微波爐微波，中弱1min)(不要用玻棒攪拌)，不可有氣泡

↓

將0.7% Agarose sol'n小心倒入tray(含comb)中(注意:不可有氣泡)

↓

待凝固，小心拔出comb(可用dd H_2O先rinse comb，再拔出)

↓

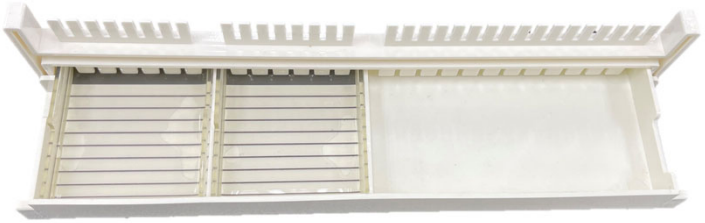
配置0.5X TBE 300ml(取15ml的10X TBE加dd H_2O至300ml)→ 2組其中一組配置即可

↓

將膠(已凝固)及tray一起放入電泳槽，需加入0.5X TBE約300ml至電泳槽，加至蓋過膠面約2~3mm左右)

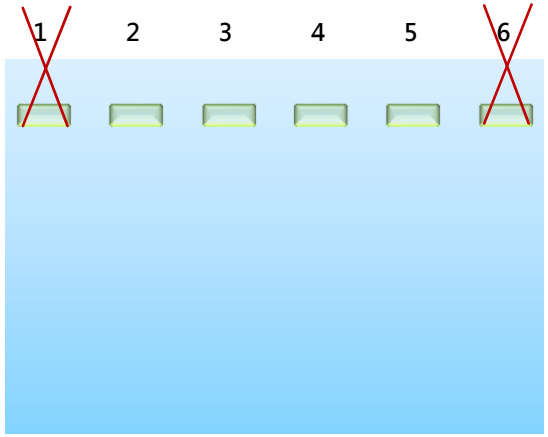
↓

※ 2組共用一個電泳槽



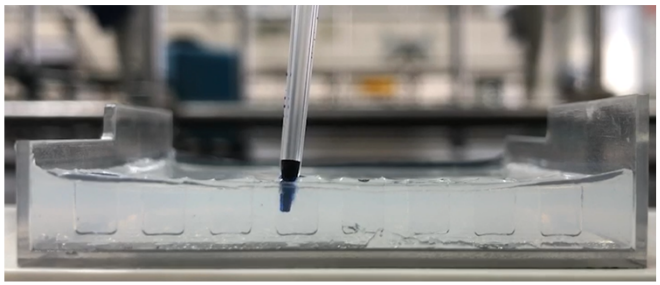
Procedure

1) Loading:



- 1&6 → not loading
- 2 → 5μl λ-DNA + 1μl 6X loading dye buffer
- 3 → 5μl EcoR1 + 1μl 6X loading dye buffer
- 4 → 5μl HindⅢ + 1μl 6X loading dye buffer

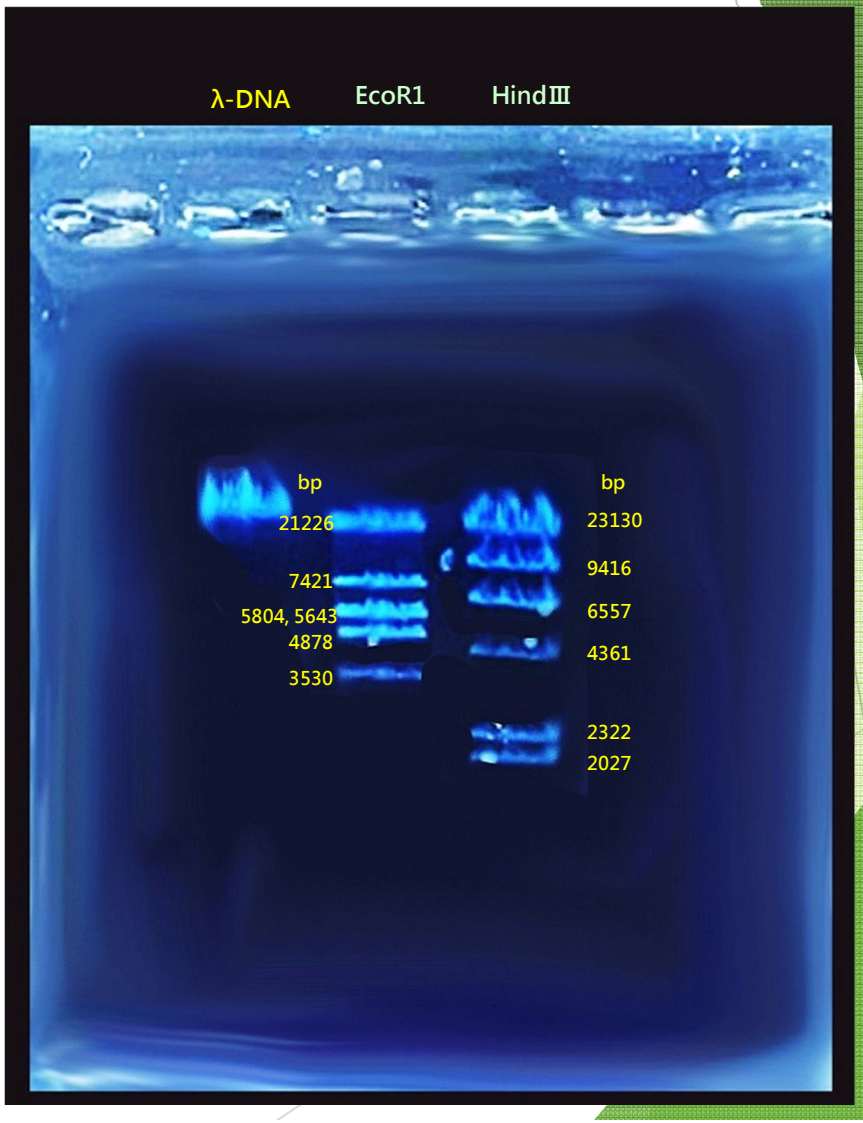
每組分別在蠟紙上mix後
取5μl loading



1. 直上直下
2. 於槽中心點loading
3. 勿排入空氣

2) Run: 100V (- → +) ~35min↑(注意:過程中請勿將手放入液面，須等電源關閉插頭拔起才能取出膠)

3) 照UV : 照相紀錄

Results：

- Record your observations.
- Label the molecular weight of each band.
  - (λ-DNA digested by EcoR1)
  - (λ-DNA digested by HindⅢ)