**琼脂糖凝胶制备操作规程**

**产品目录号：SDMR5-1a**

**储存条件：存放于室温干燥、阴凉、避光处，避免曝露于直接日光下。**

**规格：100g粉末**

**产品简介**

SiDoTek™ 琼脂糖，是一种科研级高纯度PCR高分辨率琼脂糖（High Resolution Agarose）。本产品是经科研中心及各大实验室测试和认证的产品。本品是标准熔点琼脂糖，专为常规分离分析而设计，对小片段 DNA 具 有很高的分辨率，可以和聚丙烯酰胺相媲美，适宜分离 20 bp - 50000 bp DNA 片段。其特点是，具有超强的凝胶结构，凝胶强度>＞1,400 g/cm2。同时，本品属于低熔点和低凝固温度的琼脂糖产品，形成凝胶速度更快，因此推荐用于快速 DNA 凝胶提取方案。

**琼脂糖凝胶制备方法**

**琼脂糖凝胶的配制，是分子生物学实验室基础操作之一。因此正确地制胶操作，决定了后续实验成功完成的关键之一。制胶的大体流程有如下步骤：称量、熔胶、倒胶、拔梳。**

1. 配制适量的制胶专用的缓冲液。该缓冲液是根据后续电泳的需要，配置出合适浓度的缓冲液用于制胶及后续电泳。

**注：如上所述，**用于电泳的缓冲液和用于制胶的缓冲液是同一种缓冲液。

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

3. 放入微波炉中加热溶解琼脂糖，设置**中火**加热至沸腾，保持胶液沸腾约 30 秒钟，戴上防护手套，取出三角锥瓶，小心水平摇动三角锥瓶，重悬未溶解的颗粒，放回微波炉，再次用**中火**加热 约1 分钟，重复上述步骤，直至琼脂糖粉的颗粒完全溶解。操作注意佩戴防护手套！

**注：**必须保证琼脂糖颗粒完全溶解，此时琼脂糖胶液应该清澈均匀。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，应立即停止加热。在微波炉中的加热时间不宜过长。

4. 加热完毕的琼脂糖胶液冷却至 60℃左右，根据使用说明加入适量DNA染料溴化乙锭(EB)或GoldView溶液后备用。（也可将以上两种DNA染料稀释后直接加入样品中使用，电泳成像效果更好）。

**注：**溴化乙锭是一种致癌试剂。使用含有溴化乙锭的凝胶及其制品时，请戴防护手套。

5. 将步骤4的琼脂糖溶液倒入制胶模中，插上梳子。凝胶厚度一般在5mm左右，厚度依据模具调整。

**注：** 在制备比较高浓度的琼脂糖凝胶时，完全溶解后的琼脂糖溶液易形成很多细小的气泡，气泡会严重干扰制胶必须除尽。此时，在倒胶完成后，将制胶模具置桌面，上下轻磕几下，气泡即会被震出，同时，可用200微升的黄枪头尖端吸走剩余气泡。

1. 在室温下静置等待琼脂糖凝胶凝固（大约 30分钟－1小时），然后小心拔出制胶梳子，从模具中取出凝胶，放置于电泳槽中以备后续上样和电泳。

**注：**凝胶若不立即使用时，请用保鲜膜将凝胶包好后置于 4℃保存，通常可保存 2～5 天，建议尽快使用或现用现制备凝胶，避免浪费。

琼脂糖浓度与 DNA 分离范围

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 凝胶百分比 | 0.5 | 0.6 | 0.7 | 0.8 | 0.9 | 1.0 |
| 高效分离的范围 | 2,000-50,000 | 1,000-20,000 | 800-12,000 | 800-10,000 | 600-10,000 | 400-8,000 |
| 凝胶百分比 | 1.2 | 1.5 | 2.0 | 3.0 | 4.0 | 5.0 |
| 高效分离的范围 | 300-7,000 | 200-3,000 | 100-2,000 | 25-1,000 | 10-500 | 10-300 |