

核酸电泳相关试剂、缓冲液的配制方法

50× TAE Buffer (pH8.5)

■ 组份浓度 2 M Tris-醋酸, 100 mM EDTA

■ 配制量 1 L

■ 配制方法 1. 称量下列试剂, 置于 1 L 烧杯中。

Tris	242 g
Na ₂ EDTA · 2H ₂ O	37.2 g

2. 向烧杯中加入约 800 ml 的去离子水, 充分搅拌溶解。

3. 加入 57.1 ml 的醋酸, 充分搅拌。

4. 加去离子水将溶液定容至 1 L 后, 室温保存。

10× TBE Buffer (pH8.3)

■ 组份浓度 890 mM Tris-硼酸, 20 mM EDTA

■ 配制量 1 L

■ 配制方法 1. 称量下列试剂, 置于 1 L 烧杯中。

Tris	108 g
Na ₂ EDTA · 2H ₂ O	7.44 g
硼酸	55 g

2. 向烧杯中加入约 800 ml 的去离子水, 充分搅拌溶解。

3. 加去离子水将溶液定容至 1 L 后, 室温保存。

10× MOPS Buffer

■ 组份浓度 200 mM MOPS, 20 mM NaOAc, 10 mM EDTA

■ 配制量 1 L

■ 配制方法 1. 称量 41.8 g MOPS, 置于 1 L 烧杯中。

2. 加约 700 ml DEPC 处理水, 搅拌溶解。

3. 使用 2 N NaOH 调节 pH 值至 7.0。

4. 再向溶液中加入下列试剂。

1 M NaOAc (DEPC 处理)	20 ml
0.5 M EDTA (pH8.0) (DEPC 处理)	20 ml

5. 用 DEPC 处理水将溶液定容至 1 L。

6. 用 0.45 μm 滤膜过滤除去杂质。

7. 室温避光保存。

注: 溶液见光或高温灭菌后会变黄。变黄时也可使用, 但变黑时不要使用。

溴乙锭

(10 mg/ml)

- 组份浓度 10 mg/ml 溴乙锭
- 配制量 100 ml
- 配制方法
 1. 称量 1 g 溴乙锭，加入到 100 ml 容器中。
 2. 加入去离子水 100 ml，充分搅拌数小时完全溶解溴乙锭。
 3. 将溶液转移至棕色瓶中，室温避光保存。
 4. 溴乙锭的工作浓度为 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 。

注意：溴乙锭是一种致癌物质，必须小心操作。

Agarose 凝胶

- 配制方法
 1. 配制适量的电泳及制胶用的缓冲液（通常是 0.5 \times TBE 或 1 \times TAE）。
 2. 根据制胶量及凝胶浓度，准确称量琼脂糖粉，加入适当的锥形瓶中。
 3. 加入一定量的电泳缓冲液（总液体量不宜超过锥形瓶的 50%容量）。
注：用于电泳的缓冲液和用于制胶的缓冲液必须统一。
 4. 在锥形瓶的瓶口封上保鲜膜，并在膜上扎些小孔，然后在微波炉中加热融化琼脂糖。加热过程中，当溶液沸腾后，请戴上防热手套，小心摇动锥形瓶，使琼脂糖充分融化。此操作重复数次，直至琼脂糖完全融化。必须注意，在微波炉中加热时间不宜过长，每次当溶液起泡沫沸腾时停止加热，否则会引起溶液过热暴沸，造成琼脂糖凝胶浓度不准，也会损坏微波炉。融化琼脂糖时，必须保证琼脂糖充分完全融化，否则，会造成电泳图像模糊不清。
 5. 使溶液冷却至 60 $^{\circ}\text{C}$ 左右，如需要可在此时溴乙锭溶液（终浓度 0.5 $\mu\text{g/ml}$ ），并充分混匀。
注：溴乙锭是一种致癌物质。使用含有溴乙锭的溶液时，请戴好手套。
 6. 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。
 7. 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 $^{\circ}\text{C}$ 下保存，一般可保存 2~5 天。

■ 琼脂糖凝胶浓度与线形 DNA 的最佳分辨范围

琼脂糖浓度	最佳线形 DNA 分辨范围 (bp)
0.5%	1,000~30,000
0.7%	800~12,000
1.0%	500~10,000
1.2%	400~7,000
1.5%	200~3,000
2.0%	50~2,000

6 × Loading Buffer

(DNA 电泳用)

■ 组份浓度

30 mM	EDTA
36% (V/V)	Glycerol
0.05% (W/V)	Xylene Cyanol FF
0.05% (W/V)	Bromophenol Blue

■ 配制量

500 ml

■ 配制方法

- 称量下列试剂，置于 500 ml 烧杯中。

EDTA	4.4 g
Bromophenol Blue	250 mg
Xylene Cyanol FF	250 mg
- 向烧杯中加入约 200 ml 的去离子水后，加热搅拌充分溶解。
- 加入 180 ml 的甘油 (Glycerol) 后，使用 2 N NaOH 调节 pH 值至 7.0。
- 用去离子水定容至 500 ml 后，室温保存。

10 × Loading Buffer

(RNA 电泳用)

■ 组份浓度

10 mM	EDTA
50% (V/V)	Glycerol
0.25% (W/V)	Xylene Cyanol FF
0.25% (W/V)	Bromophenol Blue

■ 配制量

10 ml

■ 配制方法

- 称量下列试剂，置于 10 ml 离心管中。

0.5 M EDTA (pH8.0)	200 μl
Bromophenol Blue	25 mg
Xylene Cyanol FF	25 mg
- 向离心管中加入约 4 ml 的 DEPC 处理水后，充分搅拌溶解。
- 加入 5 ml 的甘油 (Glycerol) 后，充分混匀。
- 用 DEPC 处理水定容至 10 ml 后，室温保存。