

上海生物样本库
最佳实践规范及标准操作流程
文件汇编
(第二版)

2010年5月

上海生物样本库				
质量管理体系文件				
文件名称	琼脂糖凝胶电泳 RNA 检测操作规程	编号	SOP-TQ-015-01	
批准人		批准日期	实施日期	

琼脂糖凝胶电泳 DNA 检测操作规程

1. 目的

规定了琼脂糖凝胶电泳 DNA 检测的操作。

2. 适用范围

适用于从人体体液、细胞、组织等样本中提取和纯化的 DNA 样本的使用变性琼脂糖凝胶电泳的检测。

3. 定义和术语

3.1 DNA Deoxyribonucleic Acid

即脱氧核糖核苷酸, 是遗传信息储存及传递者。

4. 职责

4.1 样本库实验人员负责琼脂糖凝胶电泳的DNA检测工作。

5. 设备和器材

5.1 微波炉、水平电泳仪

5.2 50xTAE 缓冲液

242g Tris, 57.1ml 冰乙酸, 100ml 0.5mol/L EDTA (pH8.0)。

5.3 6x 上样缓冲液

0.25%溴酚蓝, 0.25%二甲苯氰 FF, 40% (m/V) 蔗糖水溶液, 4℃保存。

5.4 溴化乙锭

6. 正文

6.1 检测原理

6.1.1 荧光染料溴化乙锭可嵌入 DNA 分子的碱基平面之间, 在紫外线照射下发出荧光, 其光强度与 DNA 含量成正比。比较同一凝胶中待测 DNA 样品与系列标

准 DNA 的荧光强度，确定 DNA 含量；通过与标准 DNA 分子量 Marker 比较，可知所提取的 DNA 是否发生降解。

6.2 检测步骤

6.2.1 配制 0.5-0.8%琼脂糖凝胶

- A. 在 1xTAE 中加入琼脂糖后微波加热 1-2 分钟，使溶解；
- B. 冷却至室温，凝胶形成前加入溴乙锭至终浓度 0.5ug/ml。
- C. 将凝胶倒入灌胶槽，等待约 1 小时凝固胶。

6.2.3 在电泳槽中加入 1×TAE 至恰好浸没凝胶约 2-3mm 左右，每个孔加入 10~20ul 混合 0.2 倍体积的 6x 上样缓冲液的样品，5V 电泳 20-30 分钟。

6.2.4 紫外光灯下观察 DNA，并进行照相和分析。

7. 相关文件

无

8. 参考标准与文献

分子克隆实验指南 第三版