

Agarose gel 전기영동

Cloning 실험에서 DNA의 검출과 정량은 빼놓을 수 없는 과정이다. 그 중에서도 agarose gel 전기영동에 의한 DNA 검출은 가장 보편적인 방법이다. 본 고에서는 agarose gel 제작을 중심으로 소개하고자 한다.

[실험방법]

1. Agarose gel의 제작 (1% gel, 150 ml 제작)

- ① Agarose 분말을 1.5 g 덜어낸다.
- ② 적절한 크기의 용기에*1 실온 또는 냉각한 buffer*2 150ml을 흔들며 주면서 agarose 분말을 넣는다. (용기 전체의 중량을 기록해 둔다.)
- ③ 랩을 덮은 후 증기가 나갈 구멍을 뚫고, 전자레인지에서 가열한다. 때때로 전자레인지에서 꺼내어 가볍게 흔들어 주기를 반복하면서 완전하게 용해한다*3
- ④ 가열 종료 후 전자레인지에서 꺼내어 천천히 흔들면서 거품을 제거한다(필요에 따라 다시 중량을 재고, 따뜻한 증류수를 더해서 증발한 수분을 보충한다).
- ⑤ 실온에서 50~60℃까지 서서히 식힌 후, gel tray에 용액을 붓고 tip 등으로 거품 제거하고, comb을 꽂은 후 굳힌다.
- ⑥ Comb을 제거한 후 전기영동조로 옮긴다(바로 사용하지 않을 경우 buffer를 채워 냉장고에서 보관한다).

2. 전기영동을 위한 샘플 준비

- 전기영동을 위해 샘플용액의 1/10의 10×Loading Buffer를 첨가한 후 잘 혼합한다. DNA 분자량 마커도 이와 같이 준비한다.
- Gel의 well에 샘플 용액을 loading 한다.

3. 전기영동

전기영동 장치를 이용하여 전기영동을 시작한다. 전류의 방향에 주의한다 (전기영동 상류측(agarose gel well 방향)이 음극(-), 하류측에 양극(+))을 세팅한다. 적당하게 분리한 시점에서 전기영동을 멈춘다.

4. Agarose gel의 염색

전기영동 후 agarose gel을 EtBr, Gelstar solution(Code 50535) SYBR GreenI 등의 형광염색액으로 염색한다.

[관련제품 리스트]

구분	Code	제품명	용량
Agarose	5003	Agarose L03 「TAKARA」	100 g
	50090	NuSieve 3:1 Agarose*1	125 g
	50004	Seakem LE Agarose*1	500 g
전기영동 buffer	50844	AccuGENE 10X TAE (Tris-Acetate-EDTA) Buffer*1	1 L
전기영동 장치	AD110	Mupid-2plus*2	1 set
	3422A	100 bp DNA Ladder(Dye Plus)	500 μl (100 회)
분자량 마커	3426A	1 kb DNA Ladder(Dye Plus)	500 μl (100 회)
	3403	λ-Hind III digest	100 μg

*1: Lonza사의 제품이다. *2: Advance사의 제품이다.



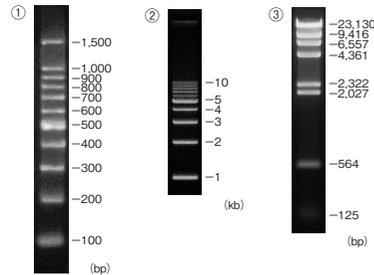
체크 포인트

- *1 유리 삼각 플라스크를 추천하며, 2~5배 큰 용량의 플라스크를 사용하면 끓어 올라 용액이 넘치는 것을 방지할 수 있다. 3% 이상의 고농도 gel을 조제할 때는 한층 더 큰 용기를 사용할 것을 추천한다.
- *2 3% 이상의 고농도 gel을 조제할 때 agarose 입자가 buffer에 퍼지기 어려운 경우가 있다. 이때 미리 buffer를 얼음에서 10분 정도 냉각해 두면 agarose 입자가 분산하기 쉬워진다.
- *3 전자레인지로 가열하면 용기 전체가 과열되어 격렬하게 끓기 때문에 안전을 위해 주의가 필요하다. 또 화상을 막기 위해서 holder나 단열성 장갑을 사용하는 것이 바람직하다.

Agarose의 종류와 농도 선택

분리하고 싶은 범위	Gel 농도	사용하는 agarose
500 bp 미만	3%	NuSieve 3:1 등
500 ~ 5,000 bp	1%	Agarose L03, Seakem LE 등
5,000 bp 이상	0.7%	

<DNA 분자량 마커 전기영동 사진>



- ① 100 bp DNA Ladder (3% NuSieve 3:1)
- ② 1 kb DNA Ladder (1% Agarose L03)
- ③ λ-Hind III digest (1.5% Seakem GTG)