

## 琼脂糖凝胶电泳鉴定游离 DNA

cfDNA 含量甚微, 通常浓度低于常规琼脂糖凝胶电泳检测下限, 使用 Agilent Bioanalyzer 2100 电泳可能会因大量蛋白和细胞 DNA 残留而导致堵塞的情况 ( 基线起跳或锯齿状杂峰 )。

按如下条件改进琼脂糖凝胶电泳方法检测下限约 0.5 ng ( 单一条带, 并非核酸总量 ), 可观察 178 bp 核小体单位 DNA 和可能残留的细胞核染色体 DNA。 通常使用 DK607 处理样品体积为 1 ml, 25  $\mu$ l 洗脱, 2  $\mu$ l 电泳即可观察 178 bp 条带。

### 凝胶浓度 : 1.5%

凝胶浓度偏高会导致背景过大;

凝胶浓度偏低会导致目的条带弥散。

### 核酸染料 EB

通常储液为 10 mg/ml, 用 TAE 稀释至 1 mg/ml; 50 ml 凝胶中加入 1  $\mu$ l。

其他核酸染料 Gel Red 和 Gold view 即使稀释后背景太大, 不利于观察。

### 凝胶预检

电泳前在成像系统中观察凝胶的背景, 曝光度调为 5-8 秒, 荧光分布均一为合格的凝胶; 如存在局部亮斑, 需重新制胶, 或只切取荧光分布均一部分凝胶用于电泳。

### Loading Buffer

用 25-30% 的甘油稀释 100-1000 倍, 以避免指示剂 ( 溴酚蓝等 ) 遮掩目的条带。

1  $\mu$ l Loading Buffer 与 2-5  $\mu$ l 样品混合后电泳。

### Marker

将 DL2,000 (PM201) 或 Marker I (PM101) 稀释 10 倍, 1  $\mu$ l 电泳, 加亮条带约 2 ng, 其余条带约 1 ng。

### 成像系统预检

在上述的凝胶中电泳 1-2  $\mu$ l 10 倍稀释的 Marker, 调整曝光度 ( 通常 5-8 秒 ) 观察 Marker 带型, 如 Marker 条带清晰说明成像系统满足要求。

### 样品加样量

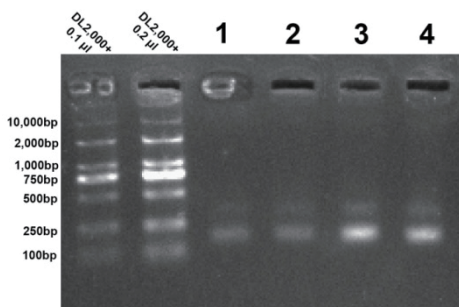
需根据经验调整加样体积, 通常使用 DK607 处理样品体积为 1 ml, 25  $\mu$ l 洗脱, 2  $\mu$ l 电泳即可观察 178 bp 条带。

### 电压与电泳时间

高电压、短时间电泳可避免小片段 DNA 在凝胶中的快速扩散导致条带模糊。

建议电压 6-7 V/cm, 电泳 5 min 即可观察 178 bp 条带, 电泳 10-15 min 可区分 Marker 各条带。

### 实验示例



#### ←电泳鉴定游离 DNA

DL2,000+: DL2,000 与 10 kb DNA 混合

1.5% agarose, 6.7V/cm 10 min

1-4 使用 DK607 提取的 DNA, 电泳体积 3  $\mu$ l

样品浓度 ( ng/ $\mu$ l ) 分别为 0.531, 0.586, 1.12, 1.19

更多电泳图片请参考 DK607 说明书。