
DNA 전기영동 (Agarose gel eletrophoresis)

(주)다인바이오 연구소

1. 전기영동의 원리

- DNA 전기영동 방법은 DNA를 크기에 따라서 분리하는 방법으로, DNA가 backbone의 phosphate group 때문에 전기영동에 사용되는 buffer 속에서 음전하를 띠고 있으며 전기장(electric field)에 놓이게 되면 양의 전극 쪽으로 서로 다른 속도로 이동할 수 있다는 것에 근거를 두고 있다.
- DNA 분자의 이동속도는 분자량이 작을수록 빨라지고 gel의 밀도가 낮을수록 빨라진다. 또한 전류가 약할수록 빨라지며, DNA의 분자량이 같더라도 형태에 따라 움직이는 속도가 다르다. 예를 들면, supercoiled DNA는 linear DNA보다 빠르게 움직인다.

2. Agarose gel의 제작 (1% gel, 100ml)

- ① 100ml의 1X TAE(또는 TBE 또는 SB) buffer를 삼각 플라스크에 준비한다.
* 50X TAE stock solution 제조: Tris base 242g, Glacial acetic acid 57.1ml, 0.5M EDTA 100ml 용액에 증류수를 첨가하여 최종 1L를 만든다. (1X로 희석하여 사용)
- ② 1g의 agarose powder를 넣은 후 전자레인지에서 완전히 용해될 때까지 끓여준다.
- ③ 50~60°C까지 식힌 후, (pre-staining의 경우 StainingSTAR, EtBr 등의 staining dye를 mix한 후) gel tray에 용액을 기포가 생기지 않도록 천천히 붓고 comb을 꽂은 후 굳힌다.
- ④ Gel이 굳으면(약 30~40분 후) comb을 제거한 후 전기영동조로 옮긴다.

3. 준비전기영동을 위한 DNA sample

- ① 분석하려는 DNA sample 5ul(300~500ng)에 1ul의 6X loading dye(e.g. LoadingSTAR)를 첨가하여 잘 혼합한다. DNA 분자량 marker(1kb 또는 100bp DNA ladder) 역시 동일하게 준비한다.
- ② Gel의 well에 sample 용액을 loading한다.

4. 전기영동

- ① 전기영동장치에 전극을 맞추어 연결한다. (gel의 well 방향이 음극(-), 하류측이 양극(+))으로 세팅한다.)
- ② (50~150V)전기영동을 실시하여 적당히 분리된 시점에서(loading dye가 gel의 약 3/4 지점을 지날 때) 전기영동을 멈춘다.

5. Agarose gel 농도 선택

분리 범위	Gel 농도
5,000bp 이상	0.7% 이하
100 ~ 5,000bp	1 ~ 2%
100bp 이하	3% 이상

6. References

- 생물학연구정보센터
- 화학공학연구정보센터
- <http://takara.co.kr/web01/info/lsnb.asp?menu=B>