

% агарозы	0,3	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,2	1,5	2,0
Размер ДНК [kbp]	5-60	1-30	1-20	0,8-12	0,6-10	0,5-8	0,5-7	0,4-6	0,2-3	0,1-2

[kbp] – 1000 пар оснований ДНК

Нижний предел размеров ДНК определяется в основном диффузией полосы в геле. В гелях с низкой концентрацией агарозы фрагменты ДНК небольших размеров разделяются, но четкость разделения полос невысокая.

Верхний предел размеров ДНК находится в прямой зависимости от напряженности электрического поля, при которой проводится электрофорез. Чем меньше напряженность поля, тем более эффективно можно разделить длинные молекулы ДНК с большей молекулярной массой.

Разделение одноцепочечных ДНК

В процессе разделения в 1% агарозном геле одноцепочечная ДНК в электрическом поле движется быстрее (примерно на 10 %), чем двухцепочечная ДНК того же размера. Однако, одноцепочечная ДНК окрашивается бромистым этидием заметно слабее, чем двухцепочечная (примерно в 4-5 раз). В связи с этим, для получения окраски полос одинаковой интенсивности, необходимо использовать примерно в 5 раз большее количество образца одноцепочечной ДНК.

Для разделения цепей ДНК нужно непосредственно перед электрофорезом прогреть испытуемые образцы около 1 мин при температуре 100 °С или добавить к образцу раствор натрия гидроксида до получения концентрации 0,1 М раствора и выдержать около 5-10 мин при комнатной температуре или при температуре 37 °С.

В качестве маркеров для одноцепочечных ДНК возможно использование фрагментов двухцепочечных ДНК с известными размерами, подвергнутых денатурации при высокой температуре, а также коммерческих одноцепочечных маркеров.