

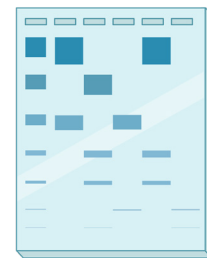
Gelelektroforesapparat. Proverna laddas i brunnar på gelen. Därefter sätts en spänning över gelen så att DNA-fragmenten börjar vandra.

DNA-analys med gelelektrofores

Gelelektrofores är en metod som används för att separera laddade molekyler av olika storlek, till exempel DNA-fragment (bitar av DNA).

En gel täcks med buffert (pH>7), prover laddas i brunnar ("gropar") i gelen och en spänningskälla kopplas på så att gelen får en plus- och minuspol. DNA-fragment är negativt laddade och rör sig mot pluspolen. Små molekyler vandrar snabbare än större.

Gelen har samma konsistens som en fast gelé och är gjord av agar och buffert. Bufferten är bikarbonat löst i vatten. Brunnarna i gelen har gjorts genom att en "kam" med breda "tänder" har tryckts ned i agarlösningen innan den stelnade. När kammen sedan plockas bort finns det små brunnar i gelen där proverna kan tillsättas. Gelen måste täckas med buffertlösning innan proverna tillsätts.

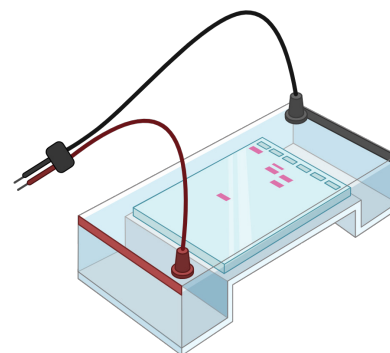


Created with BioRender.com

Gel med brunnar överst på bilden.

Material

- Elektroforesapparat med lock och sladdar
- Spänningsaggregat
- Flaska med buffert (ca 250 ml)
- Mikropipett (25 μ l) med tillhörande pipettspetsar
- Övningsgel och eppendorfrör med färglösningar för att öva pipettering
- Gel som ska användas i gelelektroforesapparat
- Eppendorfrör med prover som ska laddas på gelen
- Provrörsställ
- Slaskbägare



Created with BioRender.com

Gelelektroforesapparat

Länktips

Youtubefilm om hur man använder en mikropipett: Proper Pipetting Technique
youtu.be/nPjt1ZUNkFQ?si=WUnYDKGRVICcyqIW

Metod – övningspipettering

Alla i gruppen övar på pipettering innan ni tillsätter prover på den riktiga gelen. Övningsgelerna ligger i plastburkar med vatten som täcker dem. Det finns två olika ”stopp” för tryckknappen på pipetten.

Gör så här:

- Sätt på en ny pipettspets på mikropipetten. Ställ in volymen på 25 μ l.
- Tryck ned knappen till det första ”stoppet” (luft töms ut).
- Sänk ned pipettspetsen i färglösningen.
- Släpp upp knappen försiktigt. 25 μ l färglösning sugas in i pipettspetsen.
- Sänk ned pipettspetsen genom vätskeytan till kanten av en brunn (inte ned i brunnen, då finns en risk att man sticker hål på gelen).
- Tryck ut färglösningen till det första stoppet långsamt (färglösningen rinner ned i brunnen) och dra upp pipettspetsen utan att släppa knappen. Släpp knappen när pipetten är ovanför vätskeytan.
- Ta av pipettspetsen och byt till en ny. Släng den förbrukade i en slaskbägare.



Mikropipett och pipettspets

Created with BioRender.com

Metod – ladda gelen med proverna

Proverna ska appliceras på en gel som placeras i en elektroforesapparat.

1. Placera en gel med kammen kvar i kärlet, håll på buffert så att det täcker gelen.
2. Ta bort kammen och pipettera sedan proverna (25 μ l). Ta ny pipettspets för varje nytt prov. Notera i vilken ordning ni sätter proverna i bilden av gelen nedan.
3. Kasta de använda pipettspetsarna i slaskbägaren.
4. Notera vilken sida av gelen som är kopplad till vilken pol på spänningskällan. Markera plus- och minuspol i bilden.
5. Sätt på locket på gelelektroforesapparaten. Sätt i sladdarna och starta körlösningsen. Sätt spänningen på 100 V. Titta så att det bubblar vid kanterna av apparaten. Låt elektroforesen pågå i cirka 20 minuter.
6. Stäng av apparaten och plocka upp gelen ur apparaten. Var försiktig. Gelen är skör och går lätt sönder.
7. Rita av gelen i bilden på nästa sida. Ange vilket prov som är i vilken brunn och rita in bandmönstren. Jämför bandmönster genom att titta på hur många olika band som syns för varje prov. Mät med linjal och märk ut avståndet (mm) mellan brunn och de olika nivåer på band som du kan identifiera. Markera avstånden till vänster av bilden på gelen. För in tolkningen av resultatet i protokollet.

Gelen

Anteckna vilket prov som har laddats i vilken brunn.

Ange avstånd mellan
brunn och band (mm)

