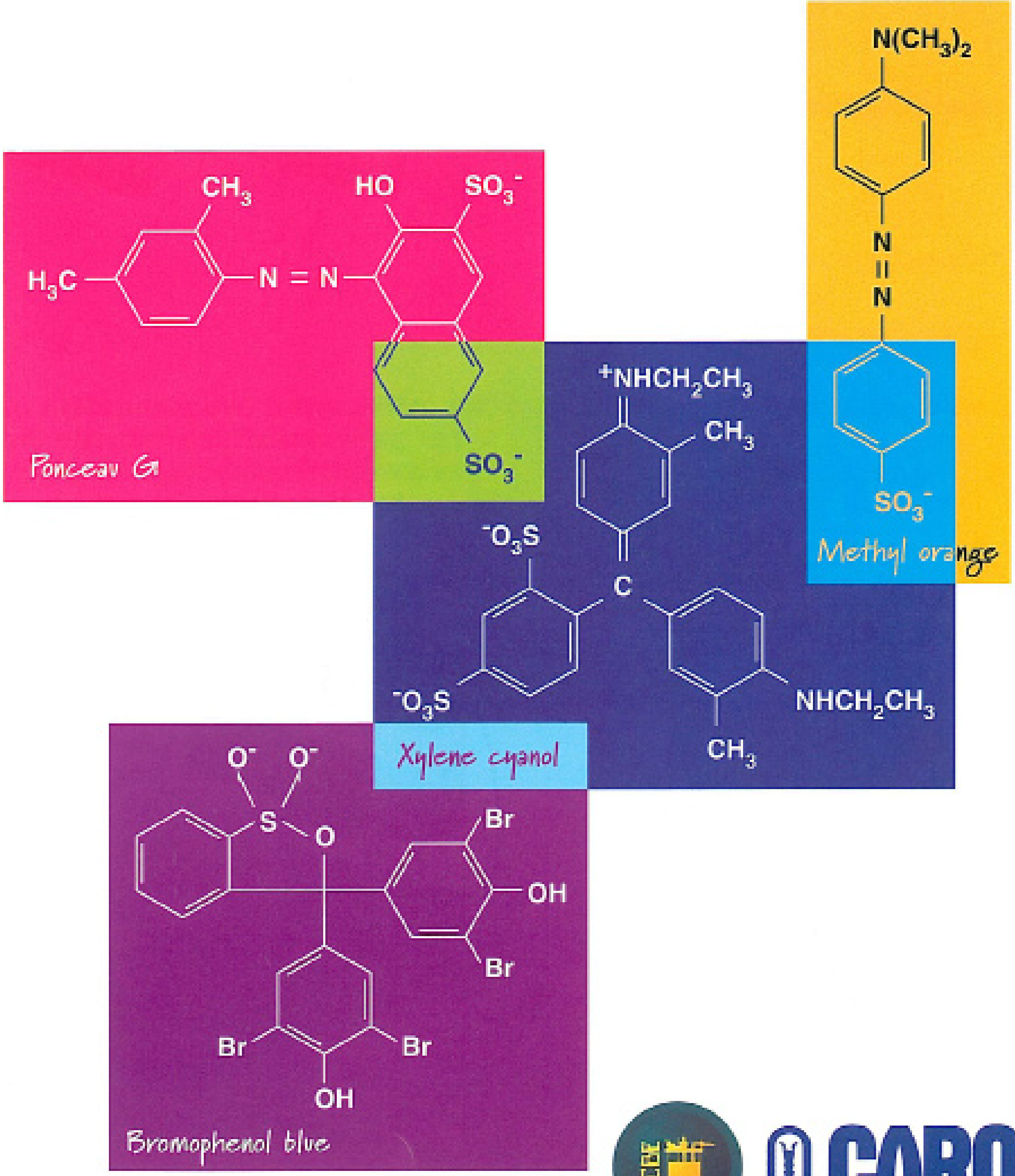
UTFORSK

Elektroforese av fargeprøver

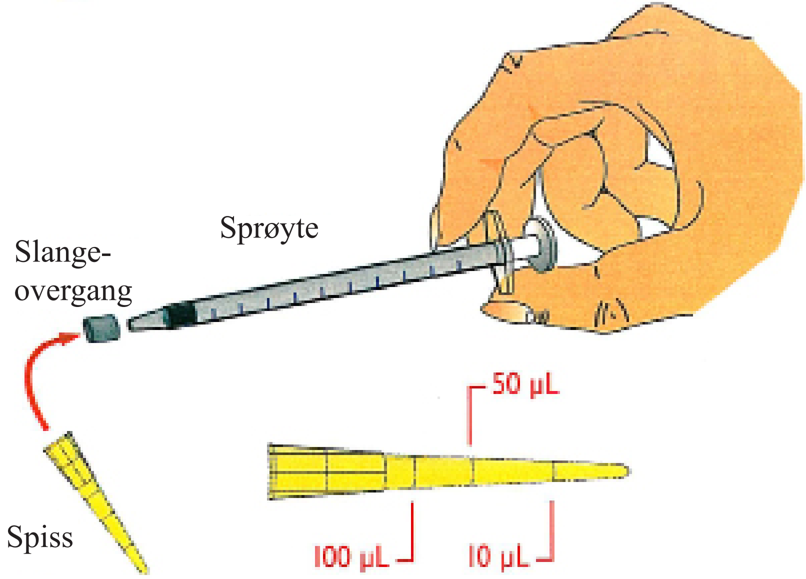
STUDENTVEILEDNING



CAROLINA™
FYBIKON AS

1

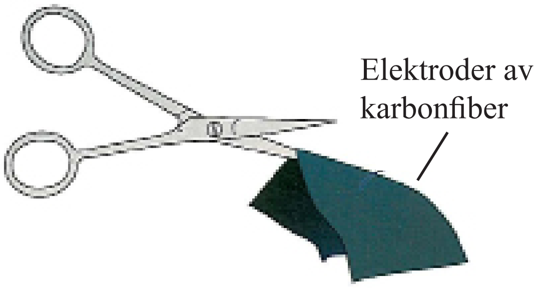
Legg merke til graderingen på pipettespissen. NB! Det er også viktig å feste en slangeovergang mellom spiss og sprøyte.

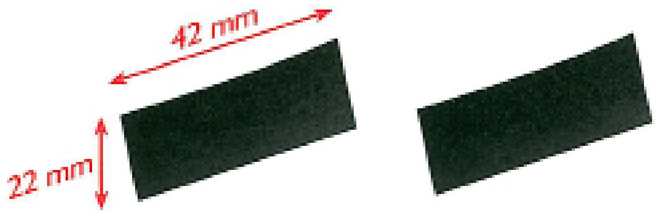


1 mikroliter (µL) = 1 milliondel av en liter

2

Klipp to elektroder som skal passe til elektroforesekaret.

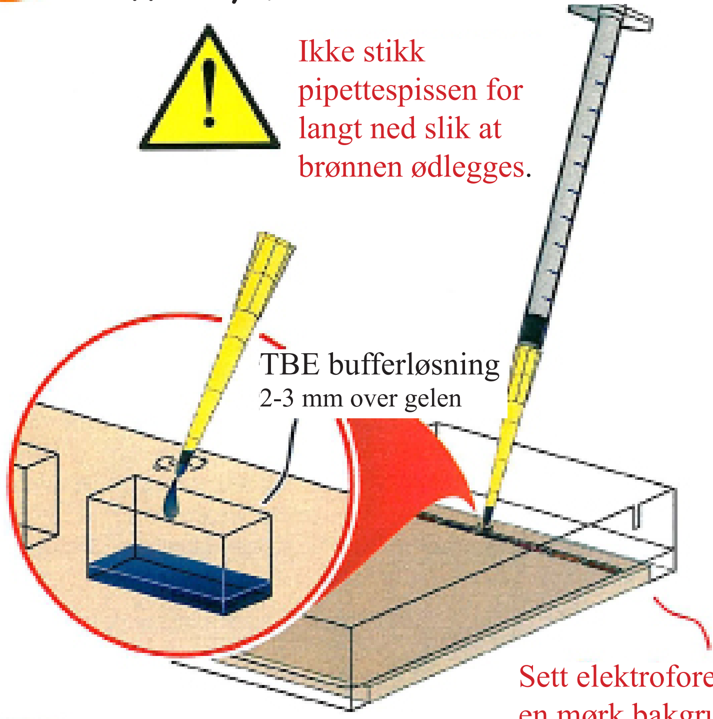




5

Hell bufferløsning over gelen. Ta ut kammen og fyll brønnene med de ulike fargeprøvene. Plasser spissen under bufferen, men over brønnbunnen.

Ikke stikk pipettespissen for langt ned slik at brønnen ødlegges.

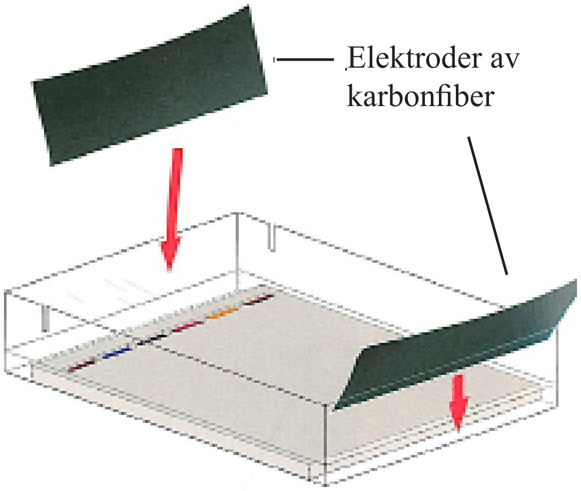


Sett elektroforesekaret over en mørk bakgrunn for lettere å se brønnene.

Dean Madden

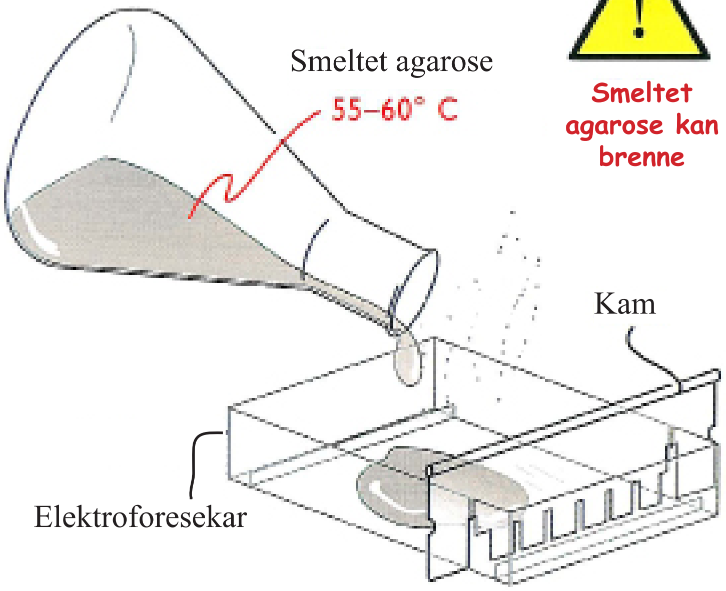
6

Plasser de to elektrodene i hver sin ende av karet. Sørg for at bufferløsningen fremdeles dekker gelen og begge elektrodene.



3

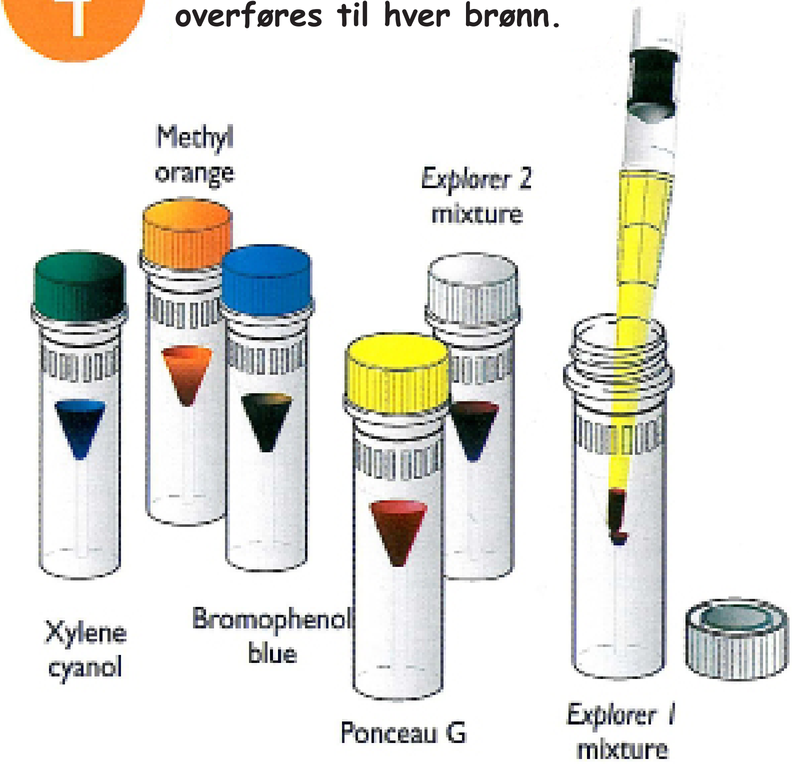
Sett elektroforesekaret på et jevnt underlag. Hell omlag 10 ml smeltet agarose i karet og la det stivne.



Smeltet agarose kan brenne

4

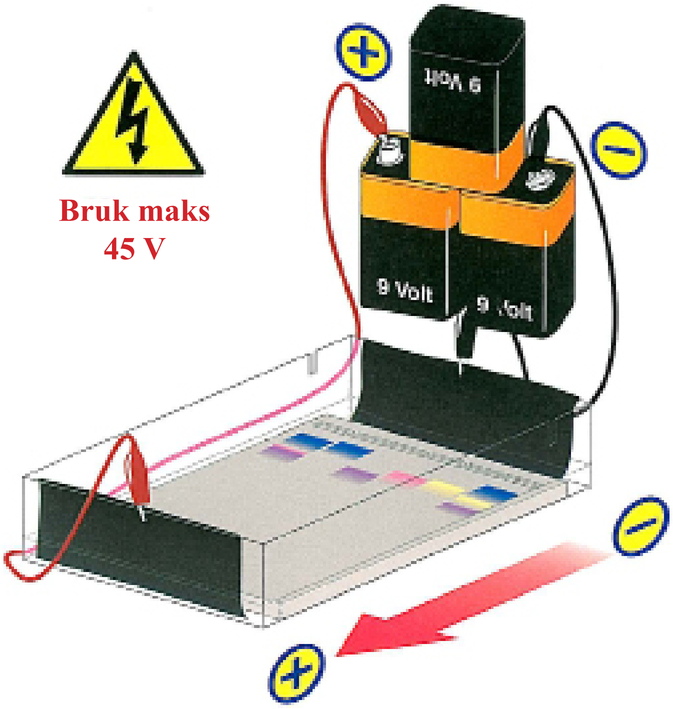
Hvert glass inneholder 30 µL fargeprøve. Kun 10 µL skal overføres til hver brønn.



7

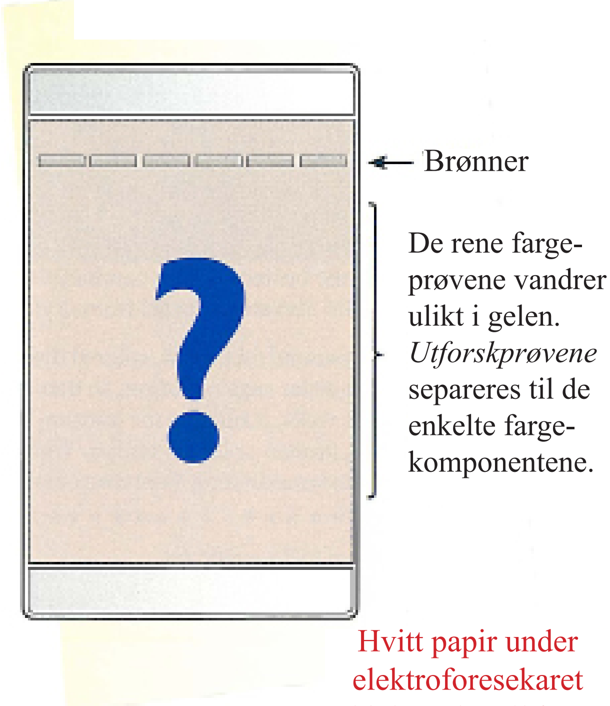
1-5 batterier seriekobles. Fest batteriene til elektrodene. Sørg for at den positive elektroden er lengst unna brønnene.

Bruk maks 45 V



8

Studer den ferdige gelen. Hvordan har de ulike fargeprøvene vandret? Og hvilke fargeprøver er det i Explorer blandingene (Utforsk prøvene)?



De rene farge-prøvene vandrer ulikt i gelen. *Utforskprøvene* separeres til de enkelte farge-komponentene.

Hvitt papir under elektroforesekaret hjelper deg til å se resultatet

SIKKERHETSTILTAK

Agarosegelen

Dersom du benytter en mikrobølgeovn til å smelte agarosen må du passe på at den plasseres i en uforseglet beholder. Dersom en mikrobølgeovn ikke er tilgjengelig kan du bruke vannbad eller varmeplate istedet. Når agarosen smeltes på denne måten må du røre i den underveis for å hindre at den brenner seg fast. NB! Ikke bruk en laboratoriebrenner til å smelte agarosen.

⚠ **Varm, smeltet agarose kan brenne og skolle huden og må derfor behandles med varsomhet.**

Elektroder

Karbonfiberelektrodene kan frigi små fibre som igjen kan gi små hudirritasjoner dersom man tar mye i dem. Dersom man vet at man lett kan reagere bør man benytte beskyttelseshansker. Fibrene er imidlertid for store til å komme inn i lungene, slik at det ikke er nødvendig å benytte ansiktsmaske. I tillegg er fibrene løslige i kroppsvæske og er fullstendig nedbrytbare.

TBE bufferløsning (Tris-Borate-EDTA)

Når løsningen fortynnes og benyttes som breskrevet vil løsningen ikke representere noen sikkerhetsfare. Brukt bufferløsning kan skylles ut i avløp.

Elektrisk tilkobling

Dette elektroforeseutstyret skal kun benyttes med lav spenning (≤ 45V) med tørrcellebatterier. Ikke under noen omstendigheter må denne spenningen overstiges, ettersom de elektriske komponentene ikke er isolert fra brukeren.

⚠ **Dersom man kobler utstyret til en strømkilde kan det resultere i alvolig eller dødelig elektrisk sjokk.**

Tilleggsinformasjon

Annen nyttig informasjon samt instruksjon for å tilpasse utstyret til bruk for studenter med svekket syn kan finnes på NCBE og Carolinas web sider:

www.reading.ac.uk/NCBE
www.carolina.com

PLEASE NOTE

The manufacturers of this product have made every effort to check that recognized hazards have been identified and that suitable precaution are suggested. Where possible, the proposed procedures are in accordance with commonly adopted general risk assessments. If a special risk assessment may be necessary, this has been indicated. However, users should be aware that errors and omissions can been made, and that different employers and educational authorities adopt different standards. Therefore before initiating any activity, users should always carry out their own risk assessment. In particular any rules issued by employers and educational authorities MUST be obayed, whatever else is suggested by the manufacturers.

BAKGRUNNSINFORMASJON

Gelelektroforese

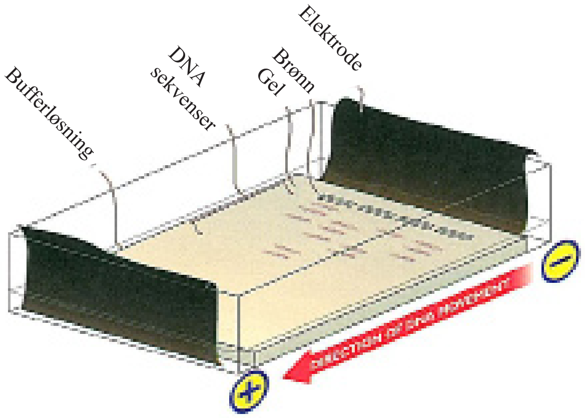
Elektroforese kan benyttes til å separere molekyler av ulik størrelse og elektrisk ladning. Det er en viktig teknikk, som ofte benyttes til å separere protein- eller DNA sekvenser av ulik størrelse. Denne seperasjonen skjer på et tynt lag med stivelsesgel som molekylene vandrer gjennom.

Hvordan utføres elektroforese? Først lages en gel fra agarose som utvinnes fra alger fra havet. I den ene enden av elektroforesekaret er det flere små brønner som er blitt laget av en kam som ble satt ned i gelen mens den er flytende. Når gelen er stivnet og kammen fjernet helles en bufferløsning over gelen slik at den fyller brønnene og sørger for kontakt med elektrodene som er plassert i hver sin ende av karet. Bufferen inneholder oppløste salter, og dermed sørger den for å lede elektrisitet over gelen. Bufferen hjelper også til å hindre gelen i å tørke.

Molekylene som skal separeres (i dette tilfelle fargeprøver) blandes med en konsentrert sukkerløsning, slik at prøvene blir tyngre og synker til bunnen når prøvene avsettes i brønnene. Uten denne sukkeløsningen ville prøvene flyte bort med bufferløsningen.

Deretter blir støm koblet til elektrodene slik at det settes opp et elektrisk felt over gelen. DNA fragmentene (i dette tilfelle fargeprøvene) har en negativ elektrisk ladning. På grunn av dette vil molekylene vandre fra den negative til den positive elektroden i gelen. Videre vil små molekyler bevege seg raskere gjennom porer i gelen, mens større molekyler møter mer motstand og beveger seg langsommere. På denne måten vil DNA sekvenser eller andre elektrisk ladde partikler separere seg etter størrelse.

Etter elektroforesen er ferdig kan du studere hvor langt de ulike fargeprøvene har vandret i gelen. Dersom det hadde vært DNA molekyer eller proteiner du hadde separert er disse fargeløse, og vi måtte har farget dem før vi kunne studert vandringsmønsteret.



National Centre for Biotechnology Education,
The University of Reading, Whiteknights,
Reading. The United Kingdom. Tel: + 44 118 9873743.

Carolina Biological Supply Company
2700 YORK ROAD
BURLINGTON, NORTH CAROLINA 27215-3398
UNITED STATES OF AMERICA
1-800-334-5551

Copyright © The University of Reading, 1997.

CB270249710