

# Mikrobiologi - Gelelektroforese

Kenneth Buchwald Johansen

3. september 2008

## 1 DNA agarose-gelelektroforese

- bestemme fragmentstørrelse
- vurdere koncentration

Elektroforese = adskillelse af ladede partikler (her DNA) i et elektrisk felt  
DNA opløses i buffer pH=8, så det er negativt ladet.

Agarose = oprenset agar, fremstillet specielt til DNA gelelektroforese.

Den støbte gel placeres i et elektrisk felt. Bufferen dækker gelen - her er altså tale om "under-vandselektroforese".

Inden påsætning blandes prøven med loadingbuffer, som skal indeholde

1. farvestof: viser vandringsretning og vandringshastighed
2. f.eks. glycerol med høj massefylde - sikrer at prøven bliver nede i brønden

Hos os er der plads til 12 brønde (=huller). Prøverne skal så vandre fra ÷ til + i det elektriske felt.

Vandringshastigheden afhænger af fragmenternes størrelse og konformation.

**Størrelse:** små fragmenter vandrer hurtigst

**Konformation:** de cirkulære fragmenter er langsommest, de supercoilede er hurtigst

Sikkerhed: EtBr er mutagent. Der arbejdes med strøm og vand! UV-lys  $\Rightarrow$  briller

Størrelsesmarkør = molekylvægtsmarkør er en blanding af DNA-fragmenter med kendt størrelse.

Man kan vurdere koncentrationen ved at sammenligne farveintensiteten med markørbåndene.

$$c_{\text{prøve}} = \frac{\overbrace{c_{\text{markør}} \cdot V_{\text{markør}}}^{\text{DNA fra markøren}(\mu\text{g})} \cdot b_{\text{p}_{\text{markør}}}}{V_{\text{prøve}} \cdot \sum b_{\text{p}_{\text{markør}}}}$$