

### 6.3. Návrh úlohy pro laboratorní cvičení

Díky relativně nízkým pořizovacím nákladům na aparaturu pro gelovou elektroforézu i na používané chemikálie by bylo možné zakomponovat laboratorní úlohu z gelové elektroforézy mezi stávající laboratorní úlohy v předmětu CH2BP\_5P7L Laboratorní cvičení z analytické chemie. Studenti by tak byli seznámeni s hojně používanou moderní metodou a zároveň by získali dobrou možnost si prakticky vyzkoušet metodu, s níž se seznámí v teoretickém výkladu. Zařazení úlohy s tematikou elektroforézy by znamenalo značný posun ve studiu chemie i v povědomí studentů o instrumentálních analytických metodách. Úloha by také mohla přinést zajímavé srovnání s již existující úlohou Chromatografie na tenké vrstvě – Separace směsí potravinářských barviv

Laboratorní cvičení z analytické chemie	
Jméno a příjmení	
Ročník	
Datum	
Studijní kombinace	
Název úlohy	Gelová elektroforéza – příprava gelu

Úkoly:

1. Vypočítejte hmotnost agarózy, která je nutná pro přípravu gelu o hmotnostní procentuální koncentraci  $w\% = 1\%$ .
2. Dle návodu připravte gel.
3. Sestavte aparaturu s již vyrobeným a dobře zatumnutým gelem.
4. Proveďte elektroforézu.
5. Vyhodnoťte elektroforeogram a zpracujte protokol.

Pomůcky:

Analytické váhy, navažovací lodička, agaróza, tlumivý roztok, odměrný válec, kádinka, mikropipety, magnetická míchačka s topným zařízením, aparatura pro elektroforézu, zdroj napětí, bílý papír pro sensorické vyhodnocení, deionizovaná nebo destilovaná voda.

Návod pro přípravu gelu:

Vypočítejte hmotnost agarózy pro přípravu gelu o hmotnostní procentuální koncentraci  $w\% = 1\%$ . Na navažovací lodičce navažte na analytických vahách (předem vyvážených!!) vypočtené množství agarózy. Navážené množství převedte kvantitativně do kádinky s odměřeným objemem tlumivého roztoku (např. TRIS). Vložte důkladně omyté míchadélko a nechte směs agarózy a tlumivého roztoku míchat na magnetické míchače s topným zařízením alespoň 20 minut. Mezitím si sestavte aparaturu a formu na gel opatřete gumovými zábranami. Aparaturu i formu zkontroluje vyučující. Po ukončení zahřívání nechte směs velmi krátce zchladnout a přelijte obsah kádinky do formy na gel. Gel musí dobře zatuhnout a zchladnout, proto jej ponechte opět alespoň 20 – 30 minut stát. Po přelití do formy umístěte asi doprostřed formy hřebínek pro vytvoření jamek, do kterých bude nanášen mikropipetou vzorek.

Sestavení aparatury:

Před sestavením aparatury zkontrolujte, zda předchozí pracovník neponechal aparaturu znečištěnou, případně ji umyjte destilovanou vodou (není-li k dispozici deionizovaná voda) a nechte uschnout. Vložte do vaničky formu se zchladnutým gelem, zbavenou gumových zábran. Naplňte aparaturu tlumivým roztokem tak, aby hladina tlumivého roztoku dosahovala maximálně 0,5 – 1 cm nad úroveň gelu. Připojte svorkami zdroj napětí k platinovým elektrodám. Používané napětí je obvykle 100 V. Zapněte zdroj napětí a nechte půl hodiny elektroforézu probíhat.

Dávkování vzorku:

Přesnou hodnotu pipetovaného objemu standardů a neznámého vzorku určí vyučující. V závislosti na počtu vytvořených jamek a počtu standardů si rozvrhněte obsazenost jamek jednotlivými standardy a neznámým vzorkem.

Ukončení průběhu elektroforézy:

Po ukončení průběhu elektroforézy vyjměte formu s gelem a nechte okapat od zbytků tlumivého roztoku, pracujte opatrně, gel (elektroforeogram) ještě budete vyhodnocovat. Umyjte po sobě vaničku a nakonec ji opláchněte deionizovanou/destilovanou vodou. Na konec nechte volně aparaturu oschnout.

Vyhodnocení elektroforeogramu:

Protože zřejmě není k dispozici skenovací zařízení, jakým disponují vědecky zaměřené instituce (např. CEITEC nebo Akademie věd), bude nutné elektroforeogram vyhodnotit pouze senzoricky proti bílému papíru. Přesto byste měli být schopni určit neznámý vzorek ve srovnání se standardy.

Zpracování protokolu:

- Hlavička
- Chemikálie
- Pomůcky
- Stručný postup (svými slovy)
- Odpovědi na kontrolní otázky
- Vyhodnocení elektroforeogramu (případně fotografie)
- Závěr s konstatováním, zda se povedlo správně určit neznámý vzorek, případně vysvětlení příčin nezdaru.