

## Gelová elektroforéza

### Reagencie:

AgarGel H/M Biotech Grade Agarose, 20–5000 bp, MERCURY  
Agarose SERVA for DNA electrophoresis research grade, SERVA.  
Hmotnostní standard:100 bp DNA standard ladder. SERVA.  
MetaPhor® Agarose, LONZA.  
TBE pufr 10 x, SERVA.  
PCR produkt

### Spotřební materiál:

Váženky, 20 µl pipeta, špičky, lžička, skleněné kádinky, víka na kádinky

### Laboratorní vybavení:

Elektroforetická vana: Midigel XL. Apelex  
Elektromagnetické míchadlo: Monotherm. Variomag  
Mikrovlnná trouba: mikrovlnná trouba Electrolux 1300W  
Váhy: ACB plus-300. Adam Equipment.  
Zdroj napětí: PS 304 MiniPac II. Apelex

## Ethidium bromid

### Postup:

1. Na 3% agarózový gel odvážíme 2,1 g agarózy, kterou rozmícháme v 80 ml TBE pufru.
2. Směs promícháváme pomocí elektromagnetického míchadla. V momentě, kdy se agaróza rozsuspendovala, vložíme kádinku do mikrovlnné trouby, nastavíme na nejnižší výkon a směs ohříváme, dokud nezačne vřít (bublat). Troubu vypneme, navýšíme výkon a postup opakujeme až do momentu, kdy se po při varu neobjevují drobné bublinky. Poté necháme tekutou agarózu vychladnout.
3. Při cca 60°C přimícháme 20 µl ethidium bromidu. Směs necháme vystydnout na 50 °C a nalijeme ji do elektroforetické vany s hřebenem. Gel tuhne 45 minut, poté vyjmeme hřeben.
4. Zalijeme 1,5 l TBE pufru a do jamek pipetujeme 10 µl alelického žebříku, 10 µl PCR produktu smíšeného s nanášecí barvičkou. Elektrody zapojíme do zdroje napětí a zpustíme reakci. Napětí je nastavováno automaticky. Výsledky elektroforetické separace lze hodnotit v momentě, kdy nanášecí modrá barva doputovala cca do 2/3 gelu.

## SYBR®Green I nucleic acid gel stain (Sigma Aldrich)

### Postup:

1. Připravte barvicí lázeň: 100µl SYBR®Green I nucleic acid gel stain v 1l TBE pufru. Lze uchovávat v temnu a chladu (2 - 8°C)po dobu 3 – 4 dny.
2. Provedte elektroforézu běžným způsobem.
3. Vyjměte gel z elektroforetické vany a ponořte do barvicí lázně tak, aby byl pomořen. Barvení probíhá 20 – 40 minut.
4. Po dokončení elektroforézy vyhodnoťte standartním způsobem

## Nancy – 520 DNA Gel stain (Sigma Aldrich)

### Postup:

1. Připravíme agarózový gel ale standardního postupu (1. – 2.)
2. Místo ethidium bromidu přidáme do chladnoucího gelu 16 µl Nancy – 520 Dna stain solution
3. Smíchejte vzorek s gelovou barvou  
Provedte ELFO dle postupu „Ethidium bromid (4)“
4. Po dokončení elektroforézy vyhodnoťte standartním způsobem.