



**2004-2006 m. Bendrojo programavimo dokumento 2 prioriteto „Žmogiškųjų išteklių plėtra“
4 priemonė „Mokymosi visą gyvenimą sąlygų plėtra“**

Projekto sutarties numeris: ESF/2004/2.4.0-K01-160/SUT-261

Projekto pavadinimas: **Inovatyvūs mokymo(si) metodai ir naujausios technologijos gamtos mokslų bakalauro rengimui**

Elektroforezės bloko HE99X NAUDOJIMO INSTRUKCIJA



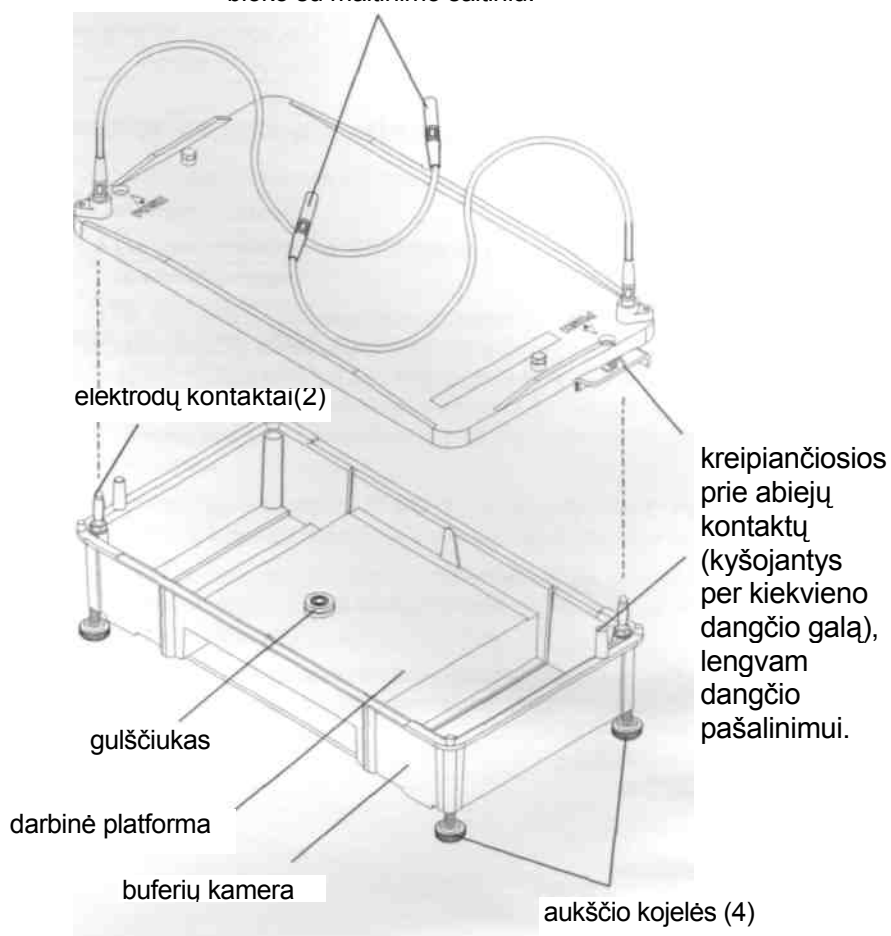
Turinys

Elektroforezes bloko funkcija ir aprašymas	2
Specifikacijos.....	4
Svarbi informacija.....	5
Operavimo instrukcijos.....	6
Priežiūra ir aptarnavimas	10
Gedimai.....	12
Buferiai, apimtys, ir pastabos.....	13

Elektroforezės bloko funkcija ir aprašymas

HE99X elektroforezės blokas atskiria nukleino rūgšties fragmentus vandeniniame gelyje. Gelis iš pradžių įdedamas į liejimo aparatą, pasirinktinai galima trijų ilgių. (Ilgesni 15 ir 20 cm padėklai gali laikyti vienerias ar dvejas šukas.) Kai gelis pagamintas, jis į pernešamas elektroforezės bloką ir užpilamas buferiu.

spalva-pažymėti elektrodų antgaliai jungia bloko su maitinimo šaltiniu.



Pav 1. Horizontalaus bloko pagrindiniai komponentai

Garantijos deklaracija gaminiui galioja tik jeigu:

- gaminys naudojamas laboratorijoje,
- gaminys naudojamas toks koks buvo pristatytas Amrsham Biosciences, išskyrus pakitimų atvejus aprašytus Vartotojo vadove ir

•
kartu su kitu CE paženklinytu instrumentu arba gaminiu rekomenduotu arba patvirtintu Amersham Biosciences.

Išpakavimas

Atsargiai išvyniokite visus paketus ir palyginkite jų turinį su pakuotės dalių sąrašu. Jei pastebėjote, kad nėra visų sąraše nurodytų dalių, susisiekite su vietine atstovybe. Patikrinkite ar komponentai nenukentėjo pervežimo metu. Jei yra apgadintų dalių nedelsiant susisiekite su transportavimo įmone. Neišmeskite pakavimo medžiagos, jeigu dėl gedimų atsiradusiu transportuojant gaminį reikėtų vėl supakuoti u: gražinti.

Specifikacijos

Maks. įtampa	–	200 V™
Maks. galia		20 W
Maks srovė		100 mA
Maks. darbinė temperatūra		45 °C
Maks buferio talpa		1.2 litrai
Gelio dydis		15 cm plotis x 10, 15, or 20 cm ilgis
Išorinės darbo sąlygos		Kamb.temp: 4^10 °C Drėgmė > 80% aukštis 2000 m
Diegimo kategorija		II
Taršos laipsnis		2
Išmatavimai (w x l x d) (includes electrode posts)		18.2 x 36 x 14 cm (7.2 x 14.2 x 5.5 in.)
Svoris (tik pagrindas, dangtelis ir laidai)		0.82 kg (1.8 lb)
Gaminio atestacijos		EN61010-1, UL61010A-1, CSAC22.2 1010.1, CE Certified

Papildoma informacija apie saugumą

Apsauginis dangtelis turi būti uždėtas prieš prijungiant elektros laidus prie elektros srovės.

Prieš nuimdami apsauginį dangtelį išjunkite visus elektros tiekimo jungiklius ir atjunkite elektros laidus.

- Neleiskite darbinei temperatūrai viršyti 45 °C. Visos plastmasinės dalys yra atsparios tik iki 45 °C . Ilgesniems darbams jūs galite kontroliuoti šildymą , atšaldykite buferį prieš naudojimą, dirbkite šaltame kambaryje. Perkaitinimas gali sukelti nepataisomą prietaiso pakenkimą!
- Atšaldykite agarozę 50 °C prieš liejimą ar horizontalų bloką, kad neleistų plastikui deformuotis.

Jei įranga naudojama ne pagal gamintojo numatytą paskirtį, įrangos apsauga gali susilpnėti.

Darbui su šiuo gaminiu arba jo aptarnavimui galima naudoti tik Amersham Biosciences tiekiamus arba rekomenduotus priedus ir dalis.

Operavimo instrukcijos

Pradžioje, naudojant gelio perdėjimo įrankius paruošiamas agaroso gelis. Tuomet mėginiai pakraunami į vietas ir atskiriami elektroforeziškai. Fluorescentinės spalvos etido bromidą galima įdėti į gelį arba elektroforezės buferį, arba į abu, norint matyti atskyrimo progresą. Po elektroforezės geli galima nudažyti ir nufotografuoti, nusausinti arba išdžiovinti autoradiografijai.

Prieš pradėdant...

1

Išplaukite visus komponentus su atskiesta laboratorijos valymo priemone ir kruopščiai išskalaukite prietaisą.

2

Išlyginkite bloką, dėdami gulsčiuoką ant darbinės platformos ir reguliuodami bloko kojas.

3-mm storio geliams

dydis (cm)	agarozė (ml)
15 x 10	45
15 x 15	68
15x20	90

Dėmesio! Etidžio bromide yra mutagenas. Visada naudokite pirštines.

Gelio liejimas

Tirpalų paruošimas

1

Paruoškite apytiksliai 1.3 litrus darbinio buferio. Iki 100 ml buferio yra reikalingas geliui ir 1.2 litrai buferio kamerai. Žr p. 13 receptai elektroforezės darbiniams buferiams.

2

Paruoškite tipinį buferį. žr 13 puslapį receptai ir lentelę 14 puslapyje, apimties geba kiekvienam šukų dydžiui.

3

Paruoškite agarozės tirpalą. Ištirpinkite agarozę darbiniam buferiui, temperatūroje pagal instrukcijas, lydinčias agarozę, ir leiskite tirpalui atvėsti iki 50 °C prieš perpylimą darbinį padėklą.

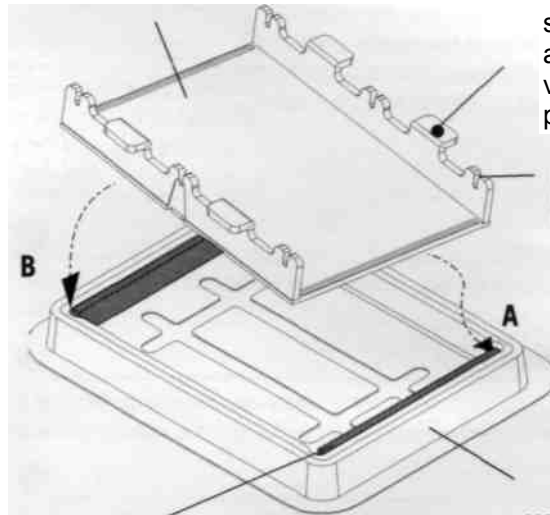
Priedas: Pridėkite 0.5 ug/ml etido bromido į gelio tirpalą, kad palengvintumėte atskyrimo progreso stebėjimą per elektroforezę.

Pastaba: Grioveliai turi ketras abiejuose gelio galuose, kad neleistų jam slysti ar plaukioti. Jei šitos keteros nėra pageidaujamos, pašalinkite su mentele jas po liejimo.

Gelio liejimo pasiruošimas

Įdiekite putų minkštą įklotą kiekviename padėklo gale. Šukų nugarėlė užkabinama ant liejimo padėklo krašto patalpina šukas į gelį. Nustatykite, kad atstumas tarp veikimo padėklo ir šukų apačios liktų apie 1mm

UV pralaidus veikimo padėklas(15x20 cm)



spalva koduoti taškai (2)
ant rankenų orientuoja
veikimo padėklą į veikimo
plė

Plyšys šukom įdėti

Gelio įdėjimo
padėklas

Putų lentelės

Pav.2. Veikimo padėklo diegimas.

Viena ranka tvirtai suimkite įdėjimo padėklą. Kita ranka vieną veikimo padėklo galą padėkite prie putų lentelės, tada leiskite žemyn iki galo dedami jį ant liejimo padėklo dugno ir įstatydami kitą galą prie kitos putų lentelės.

Pav 3. Šukos.



Šukų paruošimas

1 _____

Išlyginkite plyšius šukose su atleistais varžtais. Susukite varžtus..

2 _____

Padėkite šukas ant darbinio padėklo plyšių ,liejimo įrenginyje. Sureguliuokite šukas, kad dantų pagrindas būtų =1.0 mm nuo darbinio padėklo. Užsukite varžtus, kad gautumėte šukas. Kad dirbti su dukart daugiau pavyzdžių ant 15 ir 20 cm padėklų, paruoškite dvi šukas ir padėkite vienas arčiau katodo galo, pažymėto juodu tašku, ir vienas centre.

Galinė liejimo stadija

1 _____

Išpilkite agarose tirplą (atvėsintą iki 50 °C) ant darbinio padėklo, esančio liejimo įrenginyje. Orientuokite šukas, kad jos būtų padėklo pabaigoje (tipiškai katodo [-] galas pažymėtas juodu tašku ant rankenos). Įstatykite šukas į plyšius.

2 _____

Leiskite minimum 30 minučių geliui nusistovėti, paskui atsargiai perneškite šukas: truputį pakreipkite šukas viename gale ir lėtai keliat jas aukšty iš gelio. (Šukos traukiamos tiesiai viršun sukuria vakuumą šulinyje, kuris gali pakelti gelį iš padėklo.)

3 _____

Pakelkite darbinį padėklą iš liejimo padėklo ir perneškite jį su geliu į horizontalų bloką. Orientuokite darbinę platformą, kad pavyzdys "bėgtų į raudoną." Tai yra, dėti tipinį šulinį prie katodo (-) galo, kuris yra pažymėtas juodu tašku.

Elektroforezės procesas

Daugiau informacijos žr. į skyrius Pastabos, Buferiai ir Apimtys.

Atsargiai

Etido bromidas yra mutagenas. Dirbdami būtinai mūvėkite pirštines.

Naudodami UV lempa užsidėkite apsauginius akinius ar apsaugokite odą.

1. Prieš naudojant pagrindą atšaldykite, ypatingai dirbant nustačius aukštesnę įtampą arba kai atskyrimo procesas užtruks ilgiau nei 30 min.

Pastaba: Norėdami stebėti atskyrimo procesą įdėkite į takųjį buferį 0,5 µg/ml (galutinė kone.) etido bromido arba 50 µg/ml (galutinė konc.) etido bromido į mėginio buferį. Kad procesas taptų matomu išjunkite elektros tiekimą, nuimkite sumontuotą dangtelį ir apšvieskite gelį atskira UV lempa.

Įdėjus etido bromido į takųjį arba mėginio buferį migracija truputį sulėtėja. Detekcija dirbant šiuo būdu nėra tokia jautri, (žr. DNR detekcija, p. 15)

2. Pripildykite abi buferio ertmes takuoju buferiu kol gelį apsems apie 1 mm tirpalo. (Prireiks apie 220 ml.)

3. Pakraukite mėginius. Įdėkite mėginį į 5X mėginio pakrovimo buferį ir sumaišykite (1/5 galutinės apimties yra pakrovimo buferis, žr. psl.14). Mikro pipete kraudami kiekvieną mėginį venkite liesti mėginio vietos dugną ir palikti oro burbuliukų.

Pastaba Jei į aušiklį nebuvo įdėta dažų, norėdami aiškiau matyti mėginių vietas pastatykite pagrindą ant tamsaus fono.

4. Uždėkite dangtį, kaip kad katodas (-, juodas laidas) būtų arčiausiai mėginio vietos. (Nukeino rūgštis mėginys migruoja prie anodo, +, raudonas laidas.) Prijunkite spalvotus laidas į jiems numatytas ir spalvomis pažymėtas (patvirtintas EPS 2A200) elektros tiekimo vietas. Priklausomai nuo pasiektos rezoliucijos laipsnio nustatykite įtampos lygį ir laikrodį (jei yra). Su agarozės gelis dirbama paprastai prie nuolatinės įtampos, kurios gradientas yra 2-5 V/cm. Kadangi atstumas tarp elektrodų yra 26 cm, tai įtampa 130 V atitiks atitinkamai įtampos gradientą 5 V/cm

Po atskyrimo

1. Išjunkite elektros tiekimą, atjunkite laidas ir nuimkite dangtelį.
2. Jei į gelį ar mėginį prieš pradėdami dirbti nebuvo įdėta etido bromido, nuspalvinkite gelį 0,5 – 1,0 mg/ml etido bromido tirpale vandenyje arba buferyje.
3. Išvalykite kamerą kaip aprašyt sekančiame skyriuje

Priežiūra ir aptarnavimas

Valymas

- Niekada ne autoklavuokite ar kitaip kaitinkite komponentų virš 45 °C.
- Nenaudokite abrazyvinių valiklių.

Kameros valymui nenaudokite tirpalų arba garų kuriuose yra aromatinių, halogeninių angliavandenių, ketonų, esterių, alkoholio (stipresnio nei 30%) arba koncentruotų rūgščių (stipresnių kaip 25 %).

Blokas yra atsparus visiems bendriems elektroforezės buferiams, bet mes rekomenduojame nuodugną plovimą su švelniomis valymo priemonėmis po kiekvieno panaudojimo, kaip skalavimas su distiliuotu vandeniu ir džiovinimas sausu oru.

Norint sumažinti DN ir RN dalelių užkrėtimo, pamerkite buferio kamerą arba liejimo rinkinį 3% vandenilio peroksido tirpalą (H_2O^2), gerai praskalaukite DEPC, autoklavu apdorotu, dejonizuotu vandeniu. (Sambrook, *et ai*, 1:7:40)

Pastaba: Platininis laidas tampa trapus pakartotinam lenkimui. Elkitės su platina kad išvengtumėt jos lūžimo. Kad išvengtumėte pažeisti laidą, nevyniokite jo aplink banano formos kaištį; patalpinkite jį tarp metalo ir nailono.

Elektrodų keitimas

Jei elektrodas sugenda, pakeiskite jį 25 cm (10") ilgio 0.25 mm (0.01") diametro platinine vielą:

1

Atpalaiduokite vieną platininio elektrodo galą, atleidžiant banano formos kištuką. (Pastebėkite, kad laidas randasi tarp nailono ir metalinio kištuko.)

2

Rūpestingai atlaisvinkite abu nailono mygtukus ant elektrodo skydo su buku įrankiu tokiu kaip atsuktuvus. Kai tik mygtukai nuimti, nuimat Teflono vamzdžius nuo elektrodo ir ištraukite elektrodą nuo tolumo skydo galo. (Saugokite mygtukus ir Teflono vamzdžius.)

3

Suformuokite kilpą (=6 mm diam.) viename naujos platinos vielos gale prijunkite bei pritvirtinkite laisvą galą, apsuksdami jį aplink laidą. (Pieštuko galas gali padėti kilpos formavime.) Uždedat, kilpą ant mygtuko stabdžio ir spaudžiate mygtuką toliau nuo bananinio kaiščio.

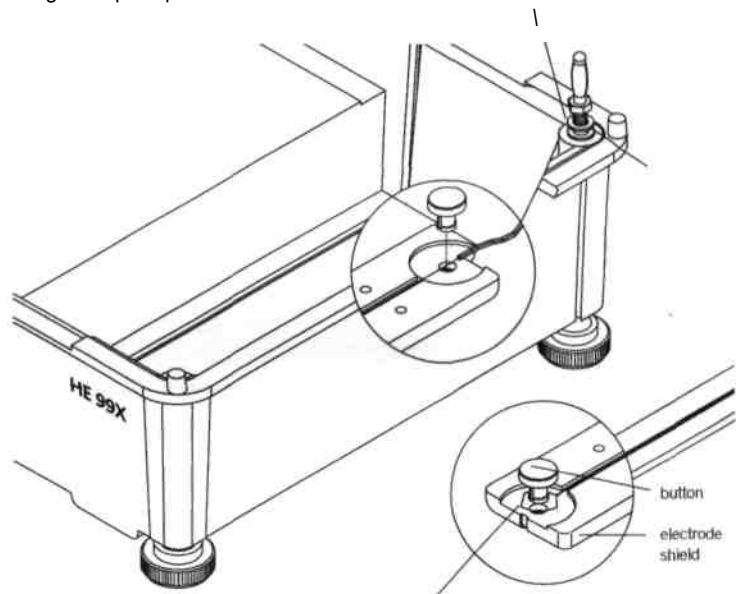
4

Veskite laidą palei griovelį skyde ir spauskite mygtuką, apimančį laidą arčiau banano formos kontakto.

5

Įkiškite Tefloną vamzdį per laidą ir išveskite vielą viršun į banano formos kontakto. Švelniai nutempkite laidą, kad jis būtų tik įtemptas ir paskui uždėkite laidą tarp nailono ir metalinių kontaktų. Užspauskite laidą, suspausdami banano formos kaištį ne daugiau kaip 1/8 pasukimo.

Pav.4 Elektrodo pakeitimas. Ištraukite viršuje abu elektrodo skydo mygtukus, išimkite sugadintą elektrodą, ir įdėkite naują platininį laidą



Išplėstas galo vaizdas, neparodytas diagramoje: Pritvirtinkite vieną laido galą, formuodami gautą kilpą, ir laikydami jį vietoje su mygtuku.

Gedimai

problema

sprendimas

Deformuota mėginio vieta

-Leiskite geliui nusistovėti 30 min. ir prieš nuimdami šukas įsitikinkite, kad jis atvėso iki kambario temperatūros.
-Nuimdami šukas truputi jas palenkite ir lėtai pakelkite, kad gelis nelūžtų.
-Talpidami mėginį į jo vietą pipete nepažeiskite mėginio vietos dugno. Taikykite į angelės centrą, nepaliesdami dugno pipetės galu.

Neveikia viena mėginių eilė

- Jei šukos arba veikimo padėklas užsiritę - pakeiskite.
- Sumažinkite įtampą.
- Pasirinkite buferį su tinkančių joniniu kiekiu ir atitinkančia slopinimo galia, (pvz. TBE slopinimo galia, yra aukštesnė už TAE.) Jei buferis išseikvotas, sustabdykite veikimą, nuimkite dangtį, pipete ištraukite buferį iš kiekvienos buferio kameros ir perkeltkite jį į priešingą, pasipildyti.
-Jeigu gelis grublėtas, atidžiau nustatykite liejimo padėklo lygį prieš įdedant į jį gelį.

Dvigubo surišimo pavyzdys

-Šukos turi būti įdėtos vertikaliai, norint išvengti mėginių vietų persisukimo.

-Sumažinkite buferio lygį iki 1 mm virš gelio, norint sumažinti vertikalios temperatūros gradientą.

Prasto surišimo rezoliucija

- Įdėkite Fikolio, glicerolio arba sacharozės į mėginių pakrovimo buferį, norėdami įsitikinti, kad mėginiai nugrims į vietos dugną, (geriausia naudoti Fikolį)

- Įsitikinkite, kad mėginys visiškai praskiestas. S Sumažinkite įtampą. s Sumažinkite mėginio koncentraciją. S Norint išvengti mėginių sunkimosi mėginių vietų apačioje, šukų apačioje turi būti ne mažiau kaip 1 mm gelio.

- Sumažinkite druskos koncentraciją mėginyje. •y Patikrinkite enzimų aktyvumą; Gali būti, kad mėginiui reikia ilgesnio apdorojimo laiko arba kitokio ribojimo buferio.

-Paruoškite naują mėginį, jei įtariate branduolinį užteršimą.

-Pasirinkite žemos endosmosinės vertės agarosę.

Putų lentelių nutūpimas

- Įdėkite veikimo padėklą, kaip nurodyta psl.4; nespauskite žemyn, padėklui esant tiesioje padėtyje.

Buferiai , tūriai ir pastabos

Tokie buferiai skirti DNR agaroso geliuose

Žemiau rasite dviejų labiausiai paplitusių taktųjų buferių DNR elektroforėzei receptus. Šie buferiai savo jonine galia tinka šiam pritaikymui; Pagal receptą paruošę šiuos buferius daugiau nereguliuokite jų pH lygio!

Dėmesio!

Pagal receptą paruošę šiuos buferius daugiau nereguliuokite jų pH

1. 10X Tris-borate-EDTA (TBE) buferis*

(0,89 M tris, 0,89 M boro rūgšt, 20 mM EDTA, pH =8,2, 1000 ml)

Tris-bazė (FW 121,1)	0,89 M	108,0 g
Boro rūgštis (FW 61,8)	0,89 M	55,0 g
EDTA tirpalas (0,5M, pH 8,0, soln.3)	0,02 M	40,0 ml
Bejonizuotas H ₂ O		Iki 1000,0 ml

Išmaišykite. PH nereguliuokite.

Prieš naudojimą praskieskite:

0,5X iki 45 mM Tri-bazis, 45 mM boro rūgštimi ir 1 mM EDTA. Toks skiedimas dažnai naudojamas esant lėtai srovei, sukeliančiai mažiau karščio. — **arba** —

1X iki 89mM Tri-bazis, 89 mM boro rūgštimi ir 2mM EDTA.

2. 10X Tris-acetate-EDTA (TAE) buferis*

(0,4 M Tris, 0,2 M acto rūgšt, 10 mM EDTA, pH 8,4, 1000ml)

Tris-bazė (FW 121,1)	0,40 M	48,4 g
Acto rūgštis (FW 99,5%)	0,20 M	11,4 ml
EDTA tirpalas (0,5M, pH 8,0, soln.3)	0,01 M	20,0 ml
Dejonizuotas H ₂ O		Iki 1000,0 ml

Išmaišykite. PH nereguliuokite. Prieš naudodami praskieskite nuo 1X iki 40mM Tri-bazis, 20mM acto rūgštimi ir **1mM** EDTA.

3. EDTA tirpalas (ethylenediamine tetraacetic rūgštis)[†]

(0,5 M, pH8,0, 100ml)

Na ₂ EDTA 2H ₂ O, (FW 372,2)	0,5 M	18,6 g
Bejonizuotas H ₂ O		Iki 70,0 ml
NaOH (10 M) iki 8,0 pH		- 5,0 ml
Bejonizuotas H ₂ O		Iki 100,0 ml

[†]Modifikuota Sambrook, J., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, p. B.23 (1989). Taip pat žr. Current Protocols in Molecular Biology, p. A.2.1.(1993).

Mėginių pakrovimo buferis

Pakrovimo buferis (5x, 25% Fikolio 400, 0,25% bromfenolio)

Bejonizuotas H ₂ O	Iki 7,0 ml
Fikolis 400	2,5 g
Bromfenolis mėlyno (FW 691,9)	25,0 mg
Bejonizuotas H ₂ O	Iki 10,0 ml

Įdėkite į mėginį tokia proporcija, kad galutinis pakrovimo buferio kiekis būtų 1/5. (Pakrovimo buferis padidina tirpalo tankį)

1 pastaba Vietoj Fikolio 400 galima naudoti sacharozę arba glicerolį.

2 pastaba Ksyleno cianolis (0,25%) migruoja lėčiau nei bromofenolis mėlynas ir jo galima dėti papildomai. Agaroso koncentracija nustato dažytų ruožų santykio poziciją polinukleotidui.

* Dažų sekimas gali būti praleistas, norint pašalinti neaiškumą ir tempimo efektus, atsiradusius dėl komigracijos su mažesnėmis nukleido rūgštimis.

Mėginio vietos apimtis

Šukų kodo Mėginio Tankis Mėg.vietos Mėg.
specifikacija vietos nr. (mm) plotis (mm) tūris 1mm gyliui (μL)

80-6051-88	1 paruoš/2stand	1,0	44/6	44/6*
80-6052-07	1paruoš/2stand	1,5	44/6	66/9*
80-6051-50	8	1,0	6,5	6,5
80-6051-69	8	1,5	6,5	9,7
80-6050-74	12	1,0	3,9	3,9
80-6050-93	12	1,5	3,9	5,8
80-6051-12	16	1,0	2,6	2,6
80-6051-31	16	1,5	2,6	3,9

*Paruošiamosios šukos dviejų standartų mėginių vietoms (MW standartams), Po vieną kiekvienoje paruošiamosios mėginio vietos pusėje. Pirmasis skaičius, -mėginio apimtis/mm paruošiamojoje mėginio vietoje; antrasis,- apimtis standartinėje mėginio vietoje.

Agaroso gelis elektroforėzei: pastabos

Agaroso gelis elektroforėzei gali bŪti naudojamas 0,1kb arba mažesniŪ DNR fragmentŪ atskyrimui. Poliakrilamido geliai įprastai naudojami mežesniŪ nei 1kb fragmentŪ atskyrimui.

DNR mobilumas

SiŪloma agaroso koncentracija įvairaus dydžio fragmentŪ atskyrimui pateikta 2 lentelėje. Kiti atskyrimą įtakojantys faktoriai, - takusis buferis, įtampos nustatymai, temperatūra, konfirmacija ir etido bromido kiekiai. Galimi specialūs agaroso geliai galintys išplėsti rezoliucijos diapazoną.

Agarosas concentrations for separating DNA fragments of various sizes

agarosas (%)	Efektyvus rezoliucijos diapazonas Linijiniems DNR fragmentams* (kb)
0.5	1 - 30
0.7.....	0.8 - 12
1.0	0.5 - 10
1.2	0.4 - 7
.....1.5	0.2 - 3

* Dabartiniai molekulinės biologijos protokolai p 2.5.2 (1993).

Įprastai yra naudojamas Liardos phage Hind III įsisavinimo, kuris duoda aštuoniŪ fragmentŪ nuo 0,1 iki 23 kb porŪ diapazoną. Norėdami gauti gerą rezoliuciją, 45 minutes dirbkite su 10 cm ilgio, 1% agaroso geliu 0,5X TBE gelyje prie 150V.

RNR mobilumas

RNR taip pat galima atskirti dydžio pagrindu. Norint išvengti nukrypimų nuo normos antrinės struktūros metu, RNR denatūruojamas, prieš arba elektroforėzės metu. Pavyzdžiui, glioksalu arba dimetilsulfoksidu anksčiau denatūruoti RNR fragmentai gali bŪti atskirti naudojant neutralų agaroso gelį, arba RNR galima suskirstyti naudojant agaroso gelį kuriame yra metilmerkurio hidroksido arba formaldehido.

Įprastai RNR reikalauja ilgesnio apdoravimo laiko arba lengviau išseikvojamo buferio, o taip pat ir cirkuliacijos. Šiam darbui siŪloma horizontalioji HE 100 kamera.

DNR detekcija

DNR galima atskleisti dviem būdais: surišto etido bromido fluorescencija arba radijo sužymėtų DNR autoradiografija.

Atsargiai!

Etido bromidas yra mutagenas. Dirbdami būtinai mūvėkite pirštines.

(0.5ug/ml) etido bromido galima įdėti į takųjį buferį, norint stebėti mėginio progresą, dėl dažų fluorescencijos pasišviečiant UV lempa. (Kad procesas taptų matomu išjunkite elektros tiekimą, nuimkite sumontuotą dangtelį ir apšvieskite gelį atskira UV lempa. Norėdami grįžti prie elektroforėzes uždėkite dangtį ir įjunkite elektros tiekimą). Pastaba: Etido bromidas parodo apie 15% DNR migracijos.

Naudodamiesi UV lempa Užsidėkite Apsauginius Akinius

Arba kitaip, po elektroforėzes nudažykite gelį palikdami jį etido bromide (0,5μg/ml] H₂O) tirpale 15-60 minučių, tuomet žiūrėkite arba fotografuokite mėginį UV transiliuminatoriuje. Pastaba: Sumažinkite dažymo laiką norėdami apsaugoti dažus nukleino rūgšties fragmentus nuo išsklaidymo iš gelio.

Norėdami nufotografuoti geli, padėkite veikimo padėklą ant transiliumonatoriaus arba išstumkite geli į paviršių maksimaliam atidengimui. (Veikimo padėklo permatomumas 302-nm šviesai, - 95%, o 254 nm šviesai, - 40%). Pažvelkite į mėginį apšviesdami jį 366-nm UV šviesa arba sumažinkite intensyvumą iki 302nm norėdami sumažinti foto smūgį.

Norint sumažinti nesurišto etido bromido fono fluorescenciją, gelio spalvą galima nuimti penkioms minutėms pamerkiant jį į 0,01 M MgCl₂ arba 1 valandai į 0,001 M MgSO₄. Dažų nuėmimas palengviną mažų (mažiau nei 10ng) DNR kiekių susekimą. (Sambrook, 6.15 skyrius)

Literatūra

Ausubel, *etat.*, (eds). *Current Protocols in Molecular Biology*. Greene Publishing and Wiley-Interscience. Niujorkas (1993).

Sambrook, J., Fritsch, E.F., ir Maniatis, T., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989).