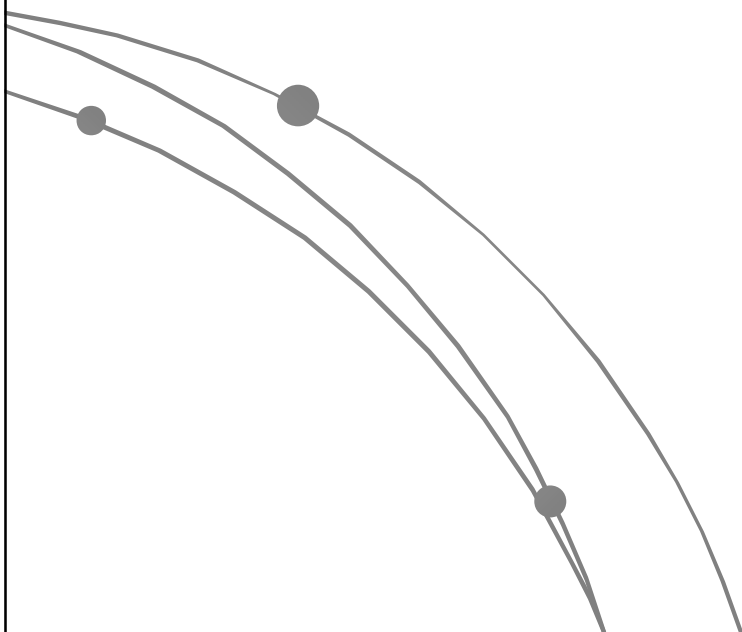


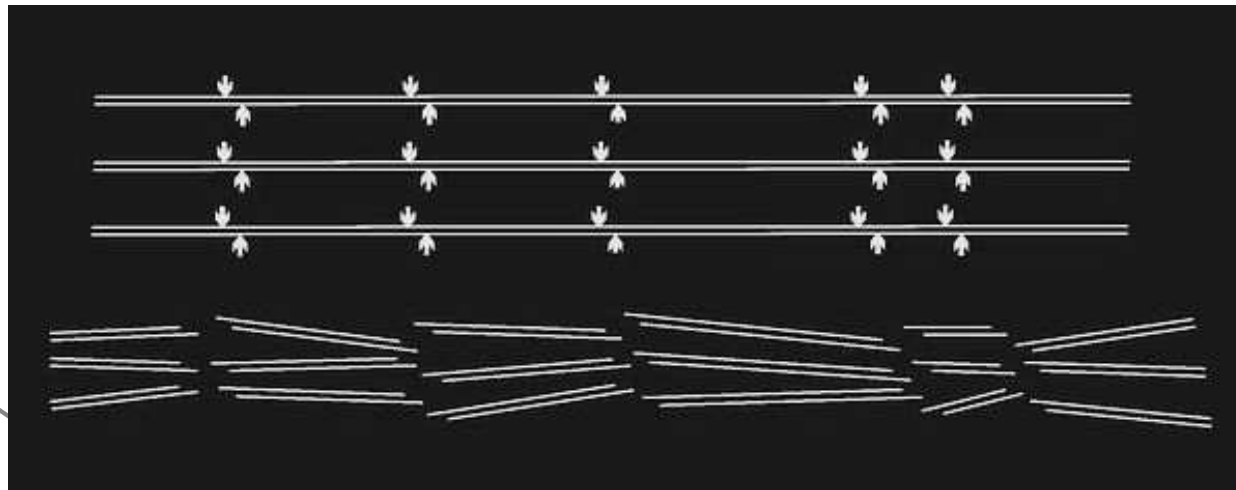
Gelová elektroforéza



Matúš Mihalčín
Ayoub Amleh
Khaled M. Alhibeedi

Gelová elektroforéza se používá k třídění molekul nukleových kyselin – např. DNA

DNA je však nutno rozštěpit.



Jaký je princip třídění molekul nukleových kyselin?

□ Třídění je založeno na těchto rozdílech :

➤ náboj fragmentů

- čím delší fragment, tím má více fosfátových zbytků
 - čím více fosfátových zbytků, tím má fragment větší celkový záporný náboj
 - čím větší náboj, tím větší elektrostatická síla mezi fragmentem a A

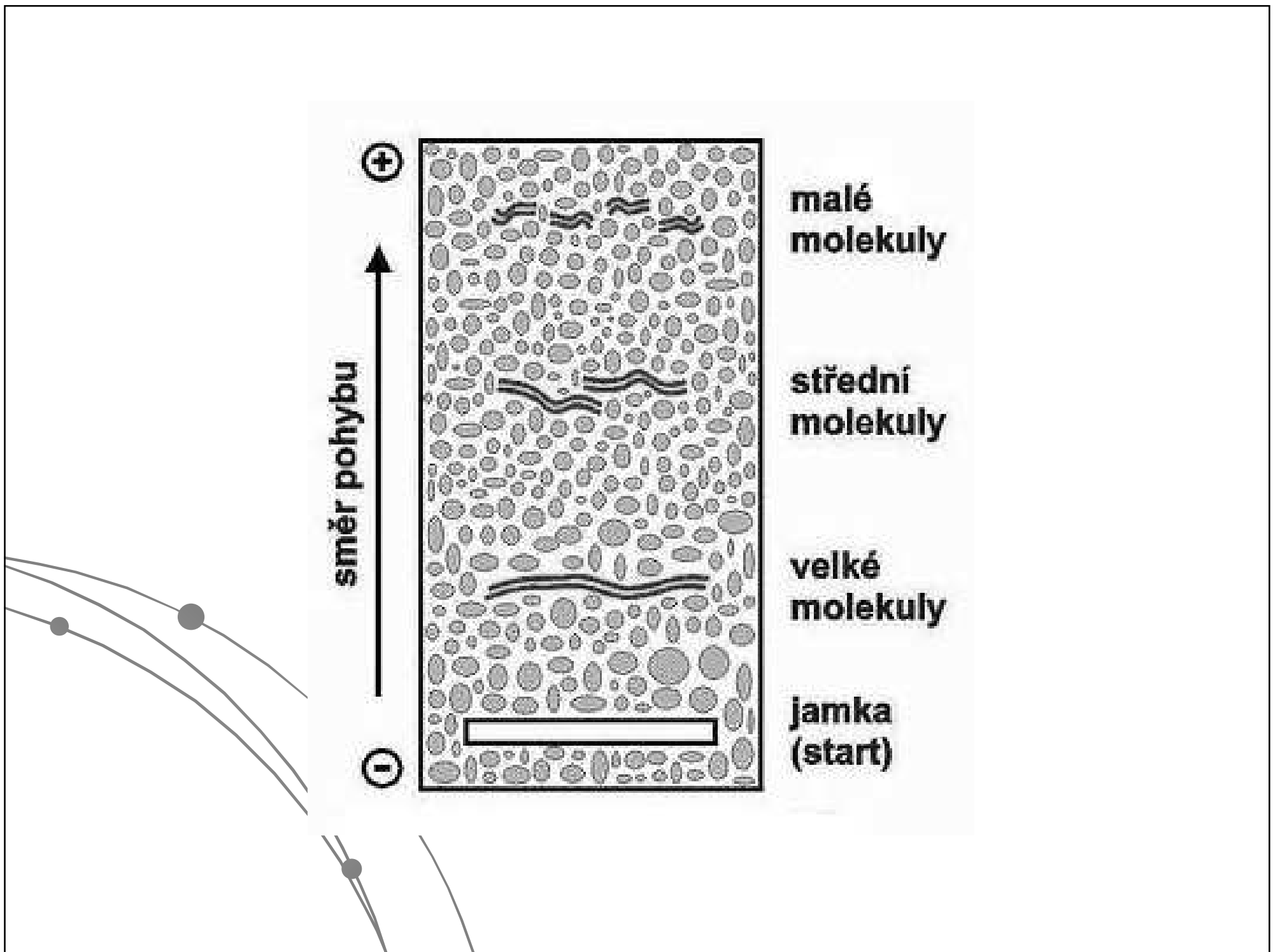
➤ při GEF se neuplatňuje velikost náboje, jen se ho využívá pro pohyb fragmentu k anodě

➤ délka jednotlivých fragmentů

- čím větší (delší) fragment, tím bude hůře (pomaleji) procházet gelem, který má stálý hustotní gradient
 - menší fragment se rychleji „prodere“ gelem směrem k anodě

viz. následující obrázek





Třídění molekul nukleových kyselin v gelu - postup:

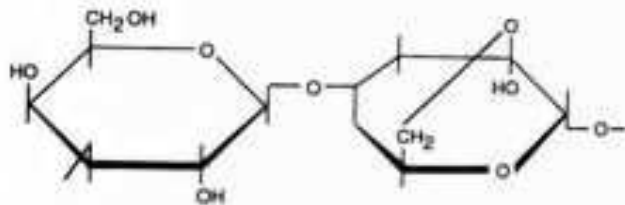
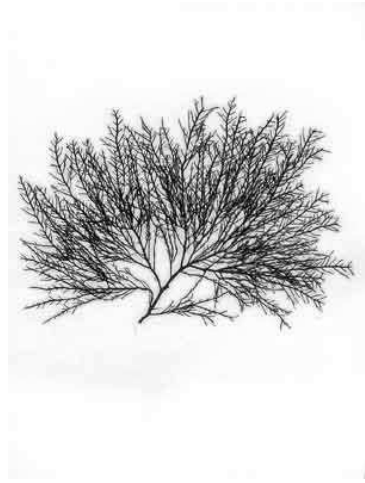
1. výroba gelu
2. vzorek obsahující fragmenty DNA nanesen do jamky/jamek ve vrstvě gelu
3. gel umístěn do elektrického pole (do elektroforetické vany)
4. posun fragmentů směrem k anodě
5. obarvení fragmentů fluorescenčním barvivem
6. gel vložen do UV-transiluminátoru vybaveného kamerou, monitorem a počítačem se speciálním softwarem
7. získání fragmentů o určité délce

1. Agarózový gel + výroba:

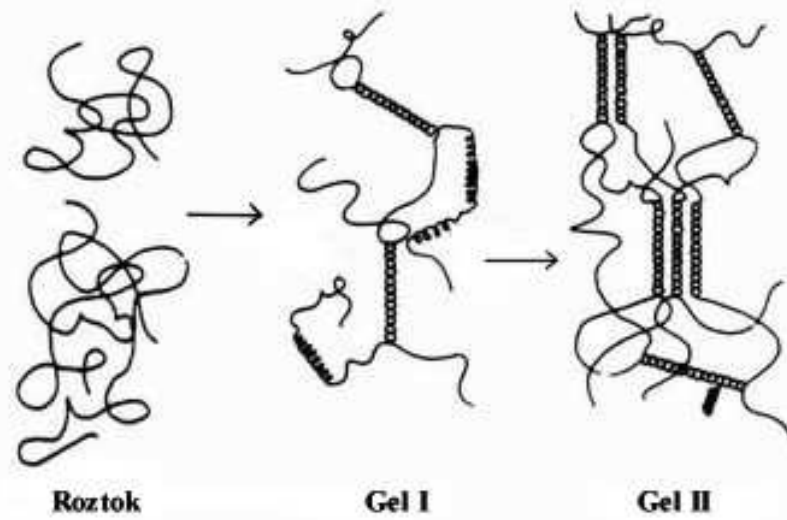
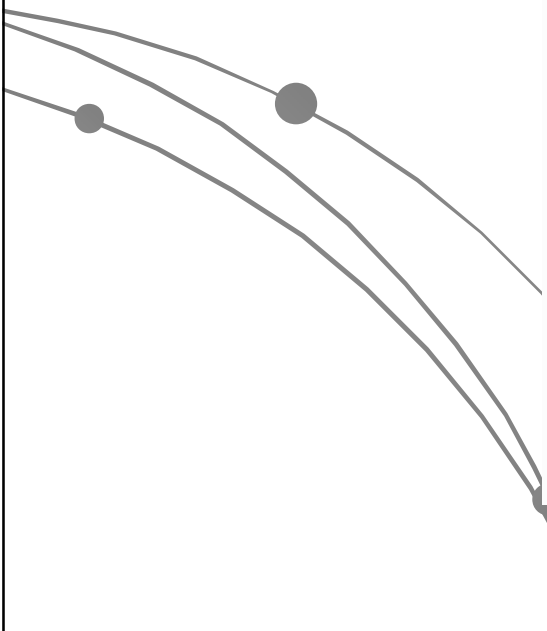
- příprava z agarózy = přečištěný polysacharid z mořských řas rodů *Gracilaria* nebo *Gelidium*
- agarózový gel vzniká při ochlazení předtím povařeného roztoku agarózy.
- rozpuštění agarózového prášku v pufru povařením roztoku buď na topné ploténce kombinované s magnetickým míchadlem nebo nově v mikrovlnné troubě
- následné vylití roztoku do formy s hřebínkem (vytvářející jamky)
- ochlazení roztoku → gel, (proces je nazýván gelifikace), vyjmutí hřebínku z gelu, vyjmutí gelu z formy → **gel**

(viz. násl. obr.).

- *Gelidium*



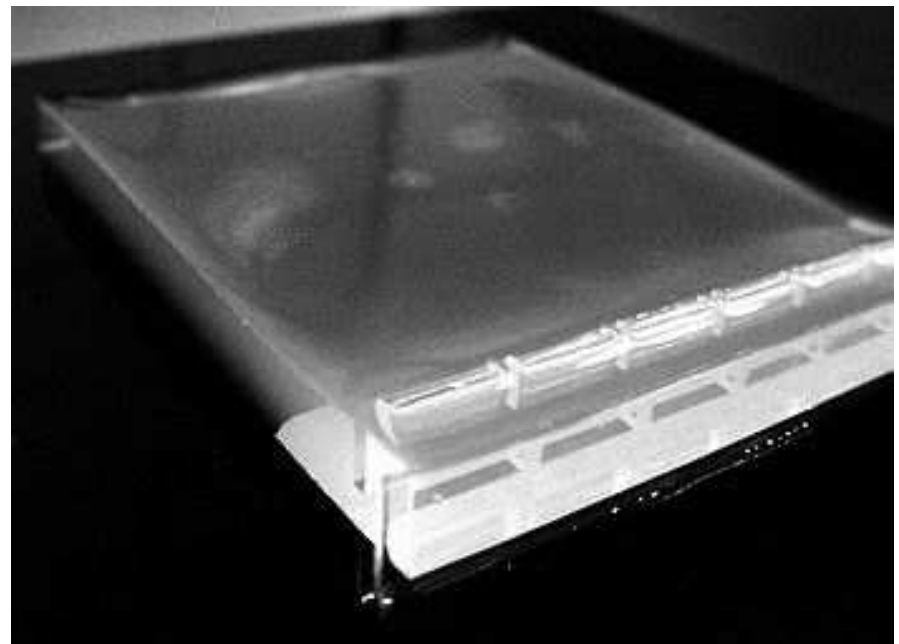
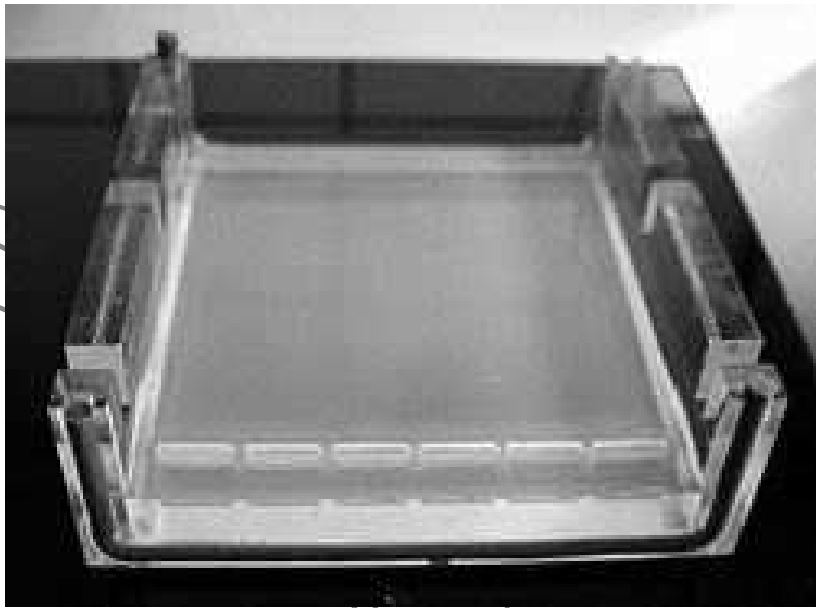
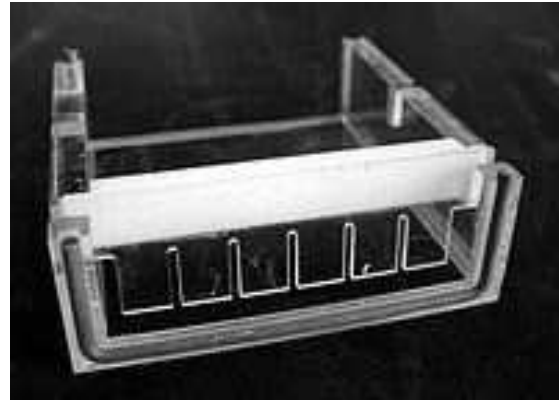
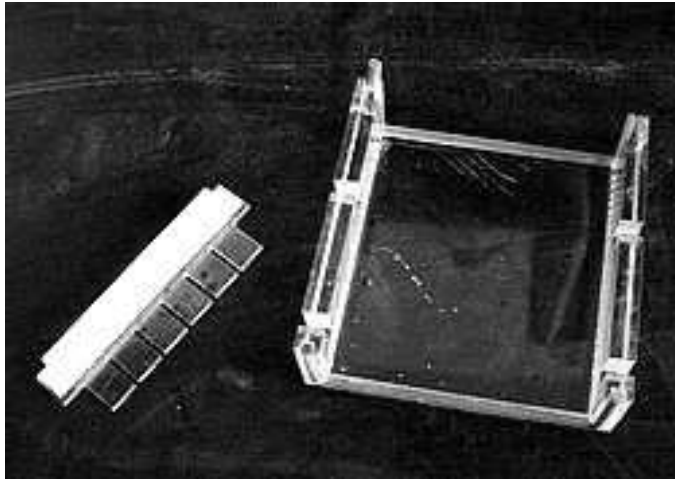
- *Agarobioside*



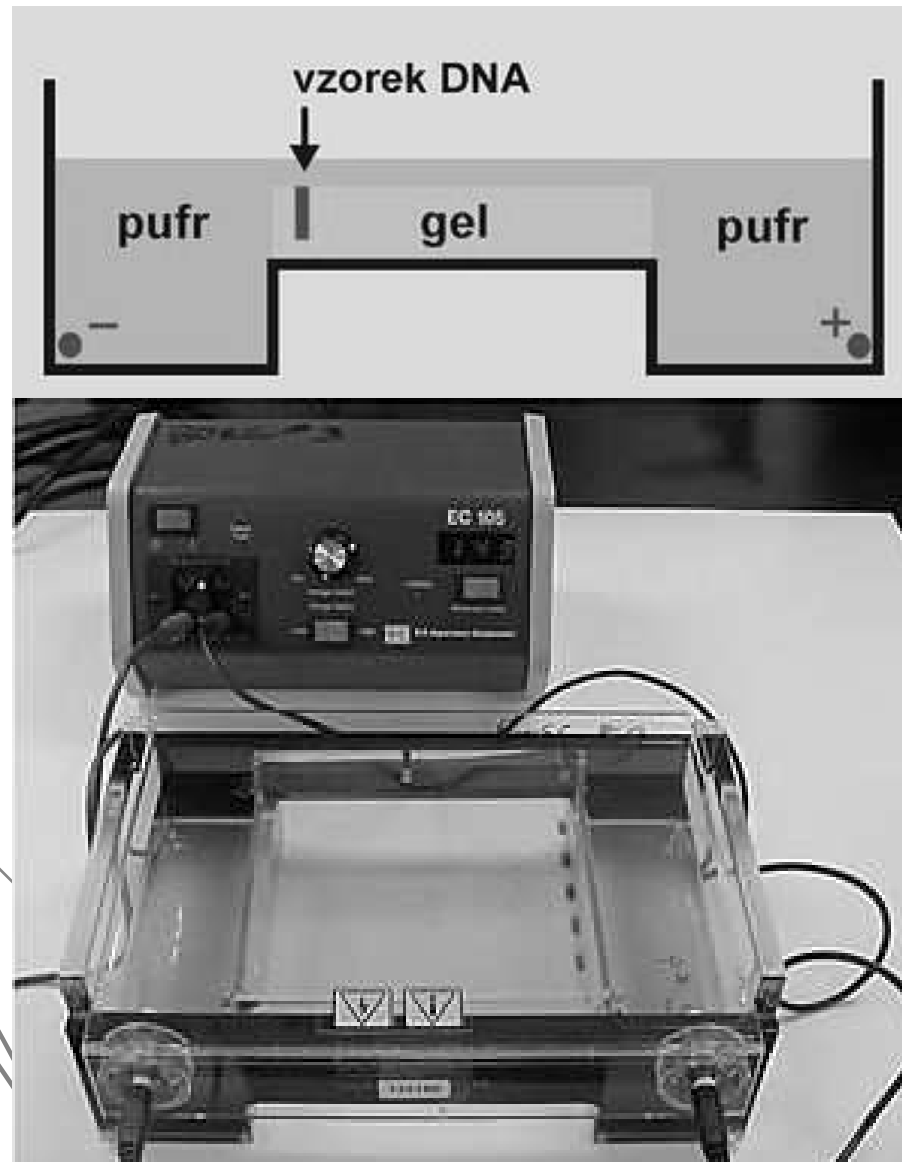
Roztok

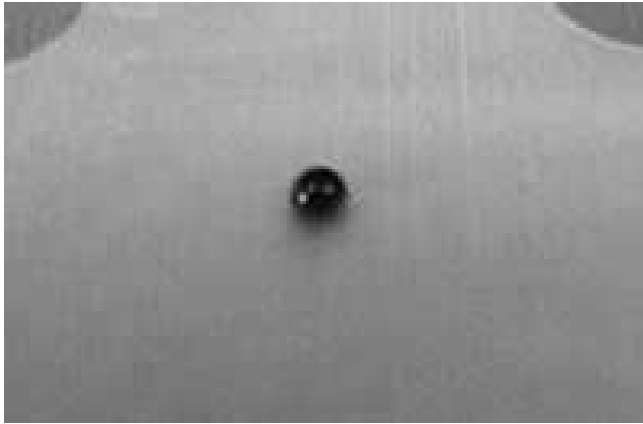
Gel I

Gel II

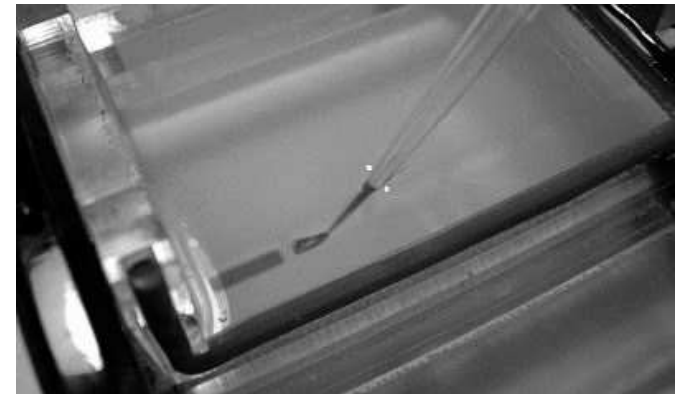
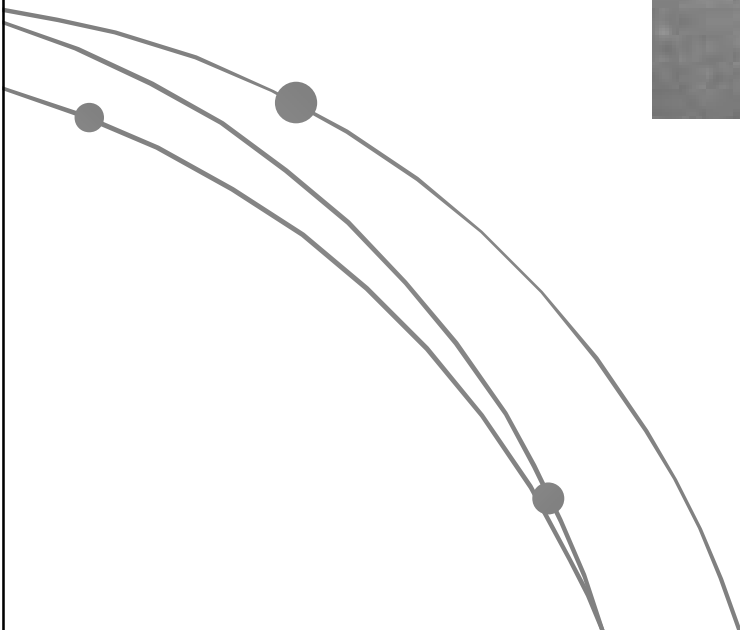


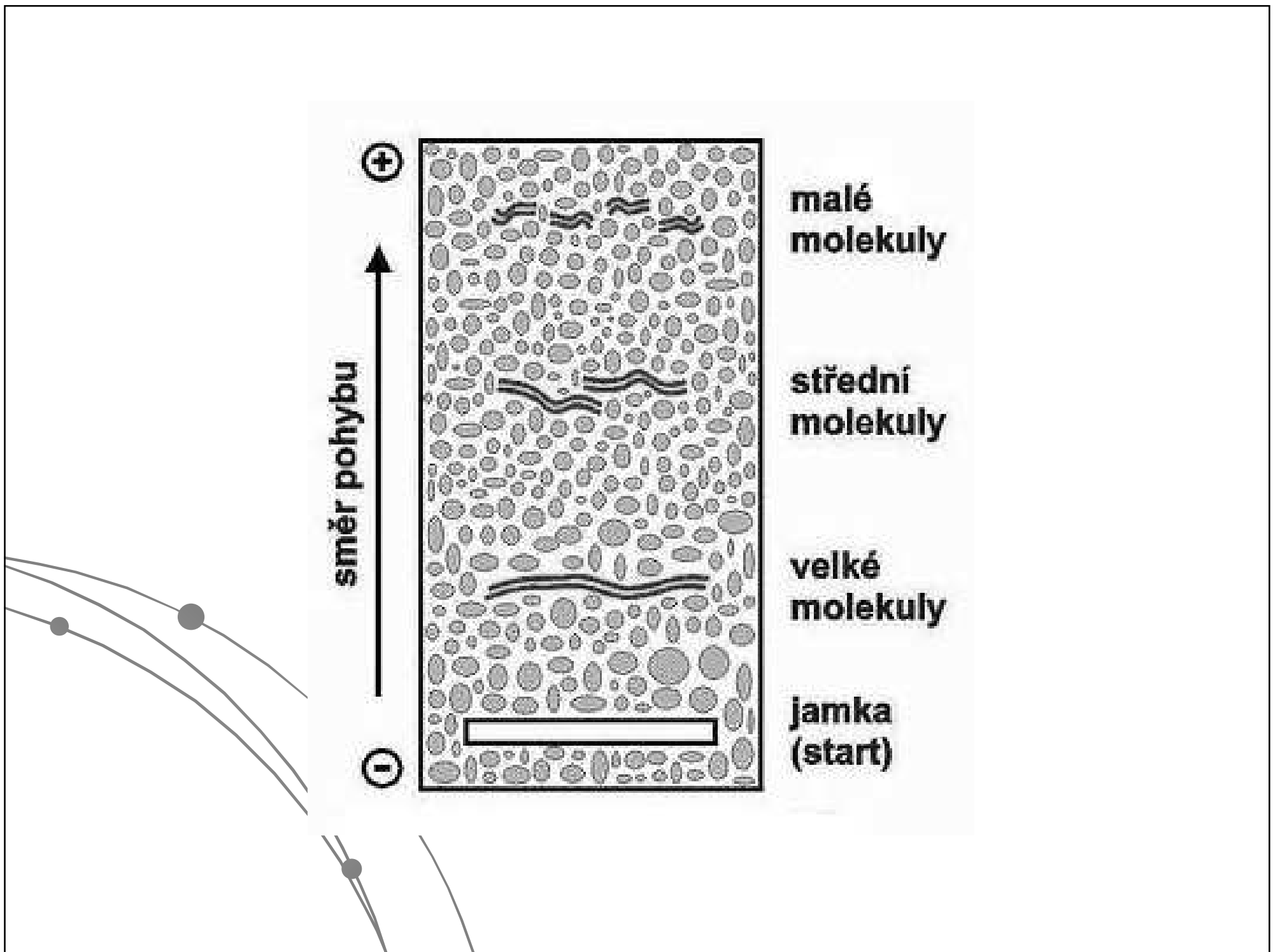
2. gel umístěn do elektrického pole (do elektroforetické vany)



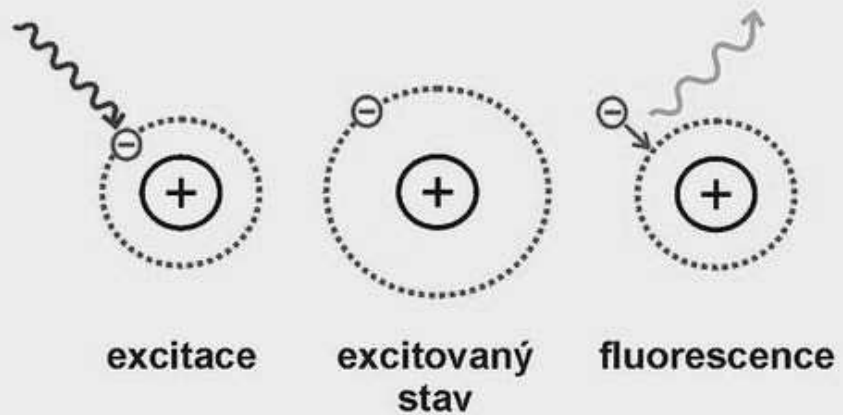
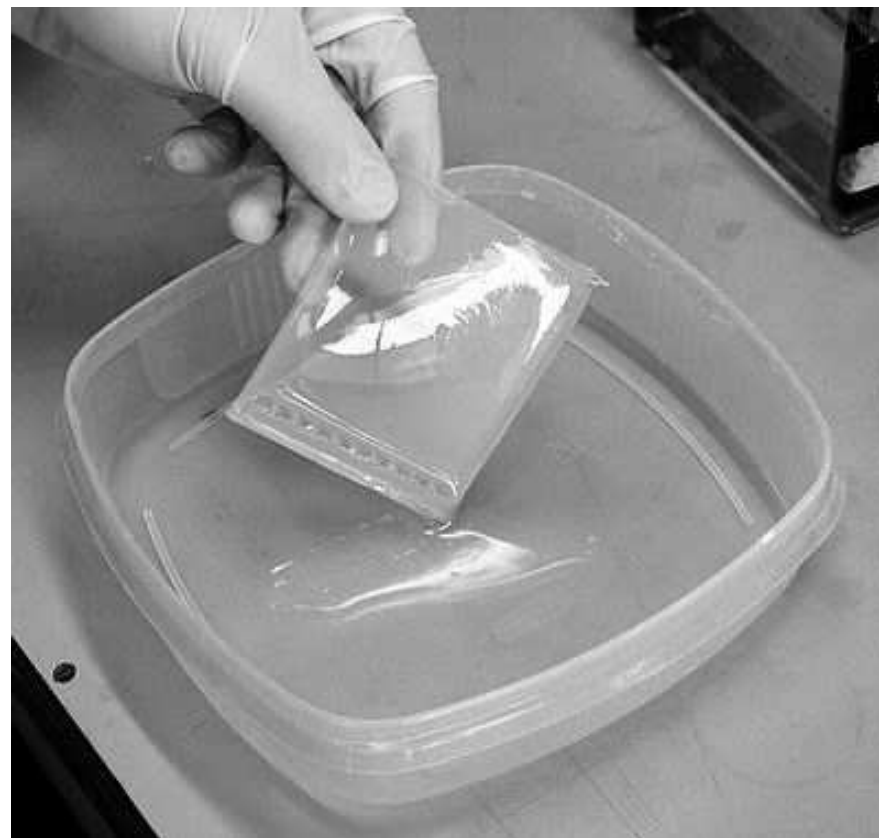
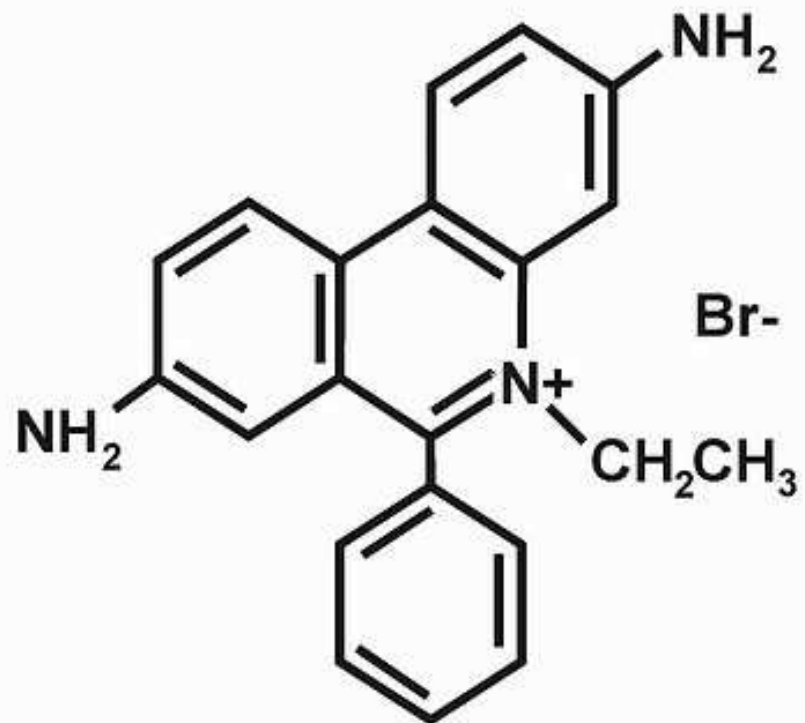


3. vzorek obsahující fragmenty DNA
nanesen do jamky/jamek ve vrstvě gelu
4. posun fragmentů směrem k anodě

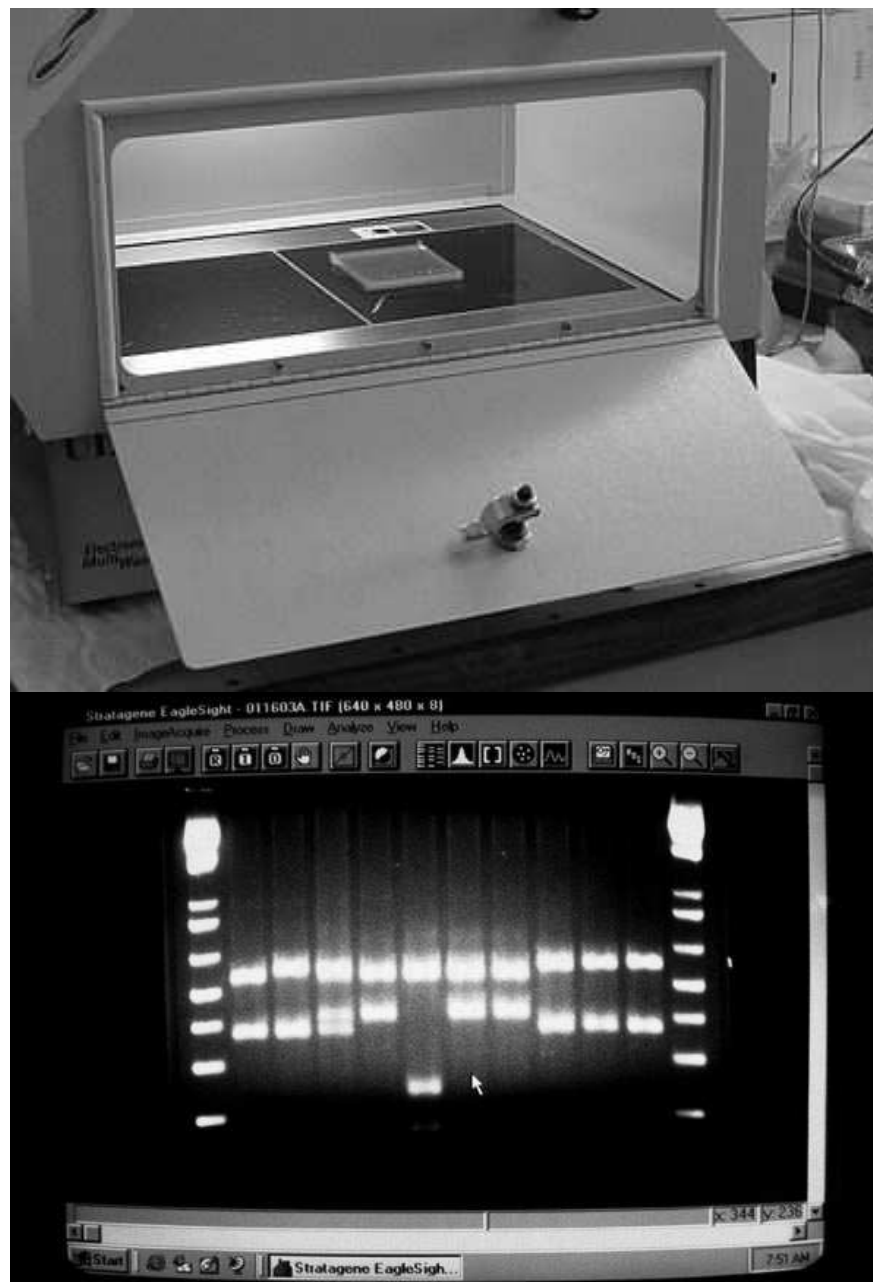




5. obarvení fragmentů fluorescenčním barvivem



6. gel vložen do UV-transiluminátoru vybaveného kamerou, monitorem a počítačem se speciálním softwerem



7. získání fragmentů o určité délce

