

## Agaróz gélelektroforézis

DNS minták ellenőrzésére használjuk. A gél agaróz koncentrációja (m/v %) mindig a futatott DNS nagyságától függ. 700 bp felett használjunk 1% os gél 700 bp alatt 2%-osat.

Maniatis szerint:

agaróz mennyisége a gélben (% w/v)	lineáris DNS molekulák hatékony elválasztásának tartománya (kb)
0,3	5,000-60,000
0,6	1,000-20,000
0,7	800-1,000
0,9	500-700
1,2	400-600
1,5	200-300
2,0	100-200

Ethidium bromide: *E7637 Sigma*

100 bp DNA ladder: *G2101 Promega többi a honlapon [www.promega.com](http://www.promega.com)*

### **Szükséges oldatok:**

#### 50x TAE:

- 242 g TrisHCl
- 57,1 ml ecetsav
- 37,2 g EDTA

1L pH: 8,5

#### Standard:

- 6 µl steril dH<sub>2</sub>O
- 14 µl DNA ladder
- 4 µl 6x loading dye

- kimérem az agarózt, feloldom 1x TAE-ban

- mikróba tenni, addig melegíteni, míg teljesen fel nem olvad.

Az edény száját papírvattával, vagy egy kis Erlenmeyer üveggel kell fedni, hogy ne fusson ki a gél és hogy ne robbanjon fel az üveg, az agarózt hosszabb ideig ne forraljuk, csak addig míg teljesen víztiszta lesz az oldat.

- csapvíz alatt hűteni,

- bemérni az ethidium bromidot (0,1 ul-t tesztek 50-100 ml gélhez, 0,2-0,5 ml-t tesztek 400 ml gélhez. )

- kádba önteni, szilárdulni hagyni, a buborékokat egy pipettacsúccsal kikergetni a gélből.

- a futtatást 1x TAE pufferben kell csinálni

- 90 V-os feszültség mellett

**!!! az etídiium bromid veszélyes anyag, rákkeltő. Ezért a gélt meg a pipettacsúcsot asztalra letenni TILOS, csak a veszélyes hulladékgyűjtőbe dobjuk. Ha a gélt fotózni szeretnénk ügyeljünk rá, hogy azzal a kézzel amelyikkel a gélt fogtuk semmihez ne nyúljunk. Ez nem csak a magunk hanem mások védelme is!!!**

**Description** The 100bp DNA Ladder is ideal for determining the size of double-stranded DNA from 100 to 1,500 base pairs. The ladder consists of eleven fragments that range in size from 100–1,000bp in 100bp increments, plus an additional fragment at 1,500bp. The 500bp fragment is present at increased intensity to allow easy identification. The 100bp DNA Ladder is ready for 5' end-labeling with radioisotopes using T4 Polynucleotide Kinase, allowing visualization by autoradiography. A Blue/Orange Loading Dye, 6X, is provided.

**Features**

- **Concentration:** 0.13µg/µl.
- **Recommended Loading:** 5µl.
- **Typical Number of Lanes:** 50.
- **Range (bp):** 100–1,500.
- **Number of Bands:** 11.

**Storage Conditions** Store at –20°C.  
**Storage Buffer** 10mM Tris-HCl (pH 7.4), 1mM EDTA.

**Description** The 1kb DNA Ladder consists of 13 double-stranded, blunt-ended fragments with sizes ranging from 250 to 10,000 base pairs. The 1,000 and 3,000bp fragments have increased intensity relative to the other bands on ethidium bromide-stained agarose gels and serve as reference indicators. All other fragments appear with equal intensity on the gel. All fragments are dephosphorylated by CIAP treatment and can be directly labeled with radioisotopes using T4 Polynucleotide Kinase. The ladder is not intended for use in quantitative analysis. A Blue/Orange Loading Dye, 6X, is provided.

**Features**

- **Concentration:** 0.1µg/µl.
- **Recommended Loading:** 5µl.
- **Typical Number of Lanes:** 100.
- **Range (bp):** 250–10,000.
- **Number of Bands:** 13.

**Storage Conditions** Store at –20°C.  
**Storage Buffer** 10mM Tris-HCl (pH 7.4), 1mM EDTA.

