



Abbildung 1. Schematisch dargestellte Durchführung einer Gel-Elektrophorese unter Verwendung der Mini-Sub™-Apparatur.

(A) Herstellung eines 1%igen Gels. (B) Laden der Proben und Start der Elektrophorese.

## A. Herstellung eines 1%igen Agarose-Gels

### VORBEREITUNG DER GELKAMMER

1. Den Gel-Kammern von der Unterseite der weißen Gelkammer abheben.
2. Den transparenten Gelkammern in die weiße Gelkammer positionieren (Abb. 1A).
3. Den Kammern in der Mitte des Gelkammern positionieren, die abhängig von der Ladung des Farbstoffes, dieser nach oben (zum negativen) oder nach unten (zum positiven) Pol hinwandern kann. Dabei soll die Kammerseite mit den breiteren Zähnen nach unten schauen, so dass breite Taschen entstehen (Abb. 1B).

### HERSTELLUNG DER AGAROSE-LÖSUNG

1. 20 ml TBE-Puffer (befindet sich im 50 ml Falcon-Tube) per Augenmaß in einen Erlenmeyerkolben überführen (es verbleiben 30 ml im Falcon-Tube).
2. 0,2 g Agarosepulver (im Eppendorf Tube bereits vorgeportioniert) in den Erlenmeyerkolben mit dem TBE-Puffer geben.

Die vollständigen Versuchsprotokolle werden auf Anfrage per E-Mail versandt!

- Das Agarosepulver im Erlenmeyerkolben unter der Verwendung von Hitze auflösen. Hierfür einen Heizrührer oder eine Mikrowelle verwenden.

### WEITERE OPTIONEN

#### Option 1: Heizrührer

Dem Erlenmeyerkolben einen Rührfisch beifügen.

Erlenmeyerkolben auf den Heizrührer positionieren und dessen Leistung einstellen.

Reaktionschwindigkeit so einstellen, dass das Gemisch ordentlich verrührt wird.

Gemisch auf 100°C erhitzen, bis sich Agarosepulver aufgelöst hat und die Lösung klar ist.

#### Option 2: Mikrowelle

Die Öffnung des Erlenmeyerkolbens mit einem Papierfuch versehen (um das Verdampfen des Gemischs zu verhindern).

Erlenmeyerkolben in die Mikrowelle positionieren und Mikrowelle einschalten.

Mikrowelle stoppen, sobald das Gemisch beginnt zu kochen.

Erlenmeyerkolben mit einem hitzebeständigen Handschuh herausheben und leicht schwenken. Diese Schritte wiederholen, bis sich das Agarosepulver aufgelöst hat und die Lösung klar ist.



Gemisch und Erlenmeyerkolben werden heiß. Die Lösung nicht überkochen (Siedeverzug). Mit einem hitzebeständigen Handschuh den Erlenmeyerkolben vom Heizrührer/ von der Mikrowelle entfernen, wenn die Lösung zu kochen beginnt.

### GIBEN DES GELS

- Erlenmeyerkolben mit einem hitzebeständigen Handschuh vom Heizrührer oder aus der Mikrowelle entnehmen.
- Die Lösung abkühlen lassen, bis der Erlenmeyerkolben ohne Handschuh angefasst werden kann.

Die vollständigen Versuchsprotokolle werden auf Anfrage per E-Mail versandt!

3. Agarose-Lösung vorsichtig und langsam in die vorbereitete Gießapparatur mit Gießschale und Kamm gießen (Abb. 16.2).

## 8. Durchführung der Gelelektrophorese

1. Den Kamm entfernen, sobald das Gel vollständig abgekühlt ist.
2. Das Gel mit der Gießschale in die Elektrophoresekammer legen (Abb. 16.4).
3. Das Gel mit circa 20 ml 1x TBE-Puffer abdecken (Abb. 16.5).
4. Sicherstellen, dass das Gel vollständig in Laufpuffer eingetaucht ist.



Das Gel kann schmelzen, wenn es nicht ausreichend mit TBE-Puffer bedeckt ist. Um sicherzustellen, dass genügend TBE-Puffer in der Elektrophoresekammer vorhanden ist, sollte man zwischendurch die Elektrophorese pausieren und diese überprüfen.

5. Die Ansätze für Mutter, Tochter und Vater in die Gießschalen pipettieren (2 µl Ansatz pro Tasche; Abb. 16.4).

### Tipp

Um ein klareres Ergebnis zu erzielen, kann man zwischen den Ansätzen eine leere Tasche lassen.

6. Den orangefarbenen Deckel auf die Elektrophoresekammer setzen (Abb. 16.7).
7. Den Power-Knopf drücken, um die Elektrophorese zu starten. Die LED-Leuchte sollte dann grün aufleuchten (Abb. 16.8).
8. Die Elektrophorese etwa für 20 Minuten laufen lassen.

Die vollständigen Versuchsprotokolle werden auf Anfrage per E-Mail versandt!