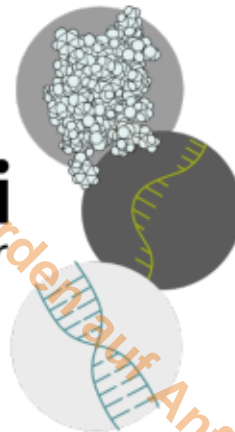


**LaboraTri**  
Lehr-Lern-Labor



# DAS FARBRENNEN – WIE FUNKTIONIERT EINE GELELEKTROPHORESE?



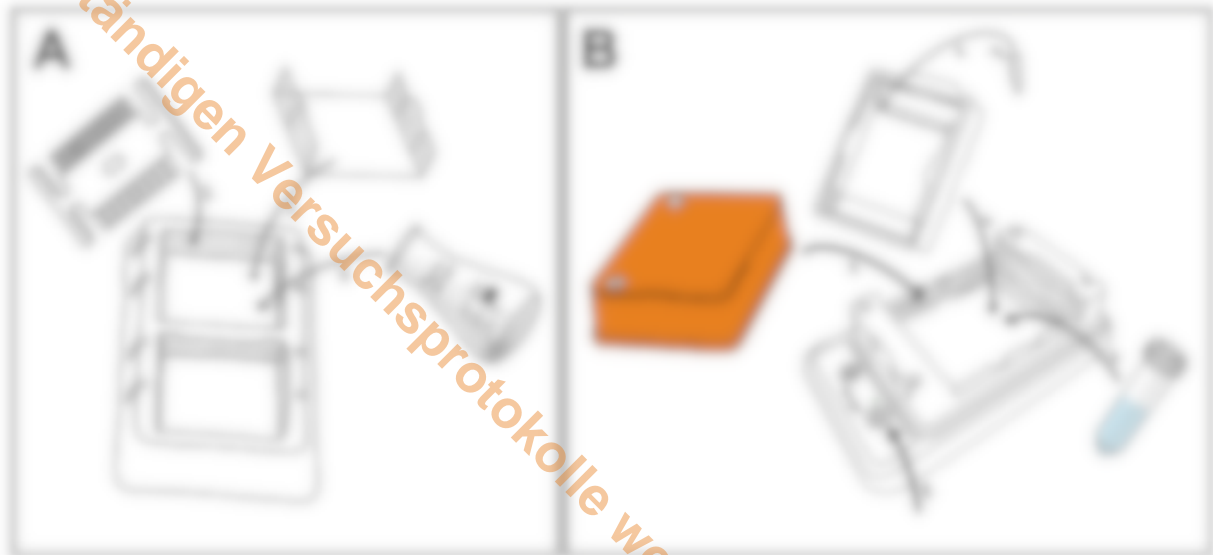


Abbildung 1. Schematisch dargestellte Durchführung einer Gel-Elektrophorese unter Verwendung der Mueller™-Apparatur.

(A) Herstellung eines Agarosegels. (B) Laden der Kammern und Start der Elektrophorese.

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

### VORBEREITUNG DER GELKAMMERN

1. Den Gel-Kammern von der Unterseite der weißen Gießschale entnehmen.
2. Den transparenten Gelschichten in die weiße Gießschale positionieren (Abb. 1A.1).
3. Den Kammern in der Mitte des Gelschichtträgers positionieren, da 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. 1A.2).

### HERSTELLUNG DER AGAROSE-LÖSUNG

1. 20 ml TAE-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 TAE-Puffer geben.

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

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

### WEITERE OPTIONEN

#### Option 1: Heizrührer

Dem Erlenmeyerkolben einen Rührfisch beifügen.

Erlenmeyerkolben auf dem Heizrührer positionieren und diesen einschalten.

Rotationsgeschwindigkeit so einstellen, dass das Gemisch ordentlich verrührt wird.

Gemisch auf ca. 90°C erhitzen, bis sich das Agarosepulver aufgelöst hat und die Lösung klar wird.

#### Option 2: Mikrowelle

Die Öffnung des Erlenmeyerkolbens mit einem Papierstreifen versehen (um das Verdampfen des Gemisches zu verhindern).

Erlenmeyerkolben in die Mikrowelle positionieren und Mikrowelle einschalten.

Mikrowelle stoppen, sobald das Gemisch anfängt zu kochen.

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



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

### ENDEN 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. Aggregat-Lösung vorsichtig und langsam in die vorbereitete Gelkammer mit Gel und Kamm gefüllt (Abb. 16.2).

## 8. Durchführung der Gelelektrophorese

1. Den Kamm entfernen, wenn das Gel vollständig abgekühlt ist.
2. Das Gel mit der Gelkassette in die Elektrophoresekammer legen (Abb. 16.4).
3. Das Gel mit circa 20 ml 1x TBE-Puffer überdecken (Abb. 16.5).
4. Sicherstellen, dass das Gel vollständig aufpuffer 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, kann man zwischen der Elektrophorese passieren und diese überprüfen.

5. Die Ansätze für Mutter, Tochter und Vater in die Gelkassette einsetzen (2 µl Ansatz pro Tasche, Abb. 16.6).

### 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 Kontrollleuchte 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!

C. Ergebnisse

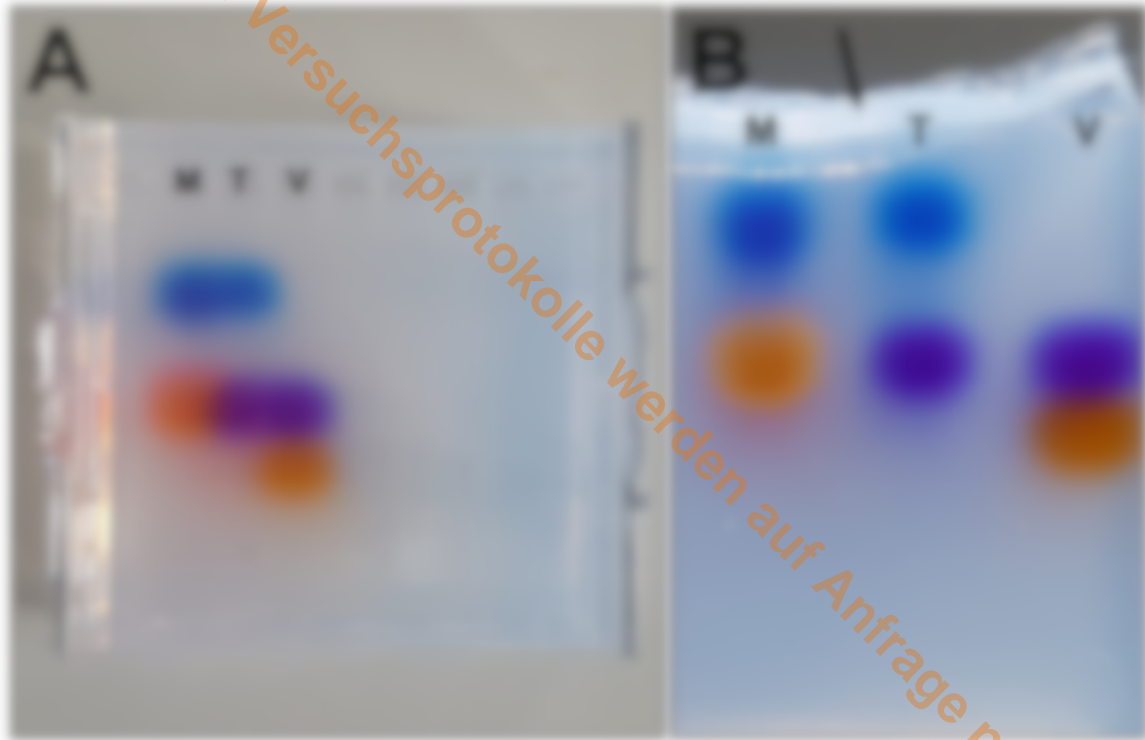


Abbildung 2: Ergebnisse des Fingerprinting-Experiments mittels BlueGel.  
 (A-B) Gel-elektrophoretische Auftrennung der Ansätze M, T und V. Das  
 Fröhhalten einer Gelfläsche zwischen den Ansätzen (B) liefert ein schöneres  
 Ergebnis als in (A). Der schwarze Pfeil in (B) zeigt auf das geschmolzene Gel.  
 Darauf achten, dass ausreichend TBE-Puffer in der Kammer enthalten ist.  
 M-Mutter, T-Tochter, V-Vater

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

## D. Abbildungsverzeichnis

Abbildung	Copyright
<a href="#">Abbildung 1: Schematisch dargestellte Durchführung einer Gelelektrophorese unter Verwendung der blueGel™ - Apparatur.</a>	Zeichnung Valentina Trivigno, Universität Hohenheim verändert nach „blueGel™ Electrophoresis System User's guide“
<a href="#">Abbildung 2: Ergebnisse des Fingerprinting-Experiments mittels blueGel™.</a>	Valentina Trivigno, Universität Hohenheim

Protokoll: Valentina Trivigno und Philipp Vick

Editierung: Maximilian Haberbosch und Steffen Schaal

Der vorliegende Inhalt unterliegt **CC-BY-NC-SA 4.0 DE**.

Sie dürfen das Material vervielfältigen, weiterverarbeiten und teilen. Sie müssen allerdings angemessene Urheber- und Rechteangaben machen, einen Link zur Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Eine Nutzung für kommerzielle Zwecke ist untersagt. Einer Weitergabe wird lediglich unter gleichbleibenden Bedingungen zugestimmt.

