

NAVODILO ZA UPORABO APARATA

BIOMETRA Agagel Standard brez hlajenja 020-200



Whatman **Biometra**[®]

Kratka navodila za rokovanje z instrumentom.
Pred uporabo dobro preberi tudi originalna navodila, posebej za uporabo vseh možnih funkcij!
Navodila za uporabo instrumenta naj bodo zmeraj v bližini instrumenta.

KAZALO

1	UPORABA IN SPECIFIKACIJE	3
2	IZVEDBA	3
3	POSODA ZA PUFER IN NOSILEC ZA GEL	3
2.1	PRIPRAVA PUFRA	3
2.2	PRIPRAVA GELA	3
2.3	VLIVANJE GELA	3
2.4	PRIPRAVA IN NANOS VZORCA	4
2.5	PRIKLJUČITEV NA POLNILEC	4
2.6	KONEC ELEKTROFOREZE	4
2.7	SLIKANJE GELA	4
4	ČIŠČENJE	4
5	RAZTOPINE	4
6	SERVIS	6

1 UPORABA IN SPECIFIKACIJE

Biometra Agagel Standard brez hlajenja je primerna za ločevanje DNA in RNA molekul na agaroznem gelu.

Agagel Standard vključuje:

- posoda za pufer
- varnostni pokrov
- 10 x 10 cm UV prepustni nosilec za gel in dve stranski pregradi
- dva glavnička z 18 zobčki (1 mm)

2 IZVEDBA

3 POSODA ZA PUFER IN NOSILEC ZA GEL

Posodo za pufer namestite na prostor, kjer boste izvajali elektroforezo. Nosilec za gel položite v posodo za pufer. Na vsako stran nosilca za gel namestite stransko pregrado.

2.1 PRIPRAVA PUFRA

Pripravite pufer. Za barvanje DNA lahko etidijev bromid dodate v pufer. Etidijev bromid se tekom izvedbe elektroforeze vgradi v DNA. Ločevanje DNA lahko opazujete med potekom elektroforeze s prenosom nosilca za gel na transiluminator. V tem primeru se elektroforetska mobilnost DNA zmanjša za 15%.

2.2 PRIPRAVA GELA

Iz tabele 1 izberite ustrezno koncentracijo agaroze, ki je potrebna za optimizirano ločevanje DNA.

Tabela št. 1: Priprava gela

AGAROZA (%)	VELIKOST FRAGMENTOV, KI JIH LOČUJETE (kb)
0,5	1 do 30
0,7	0,8 do 12
1,0	0,5 do 10
1,2	0,4 do 3
1,5	0,2 do 3
2,0	0,01 do 1

2.3 VLIVANJE GELA

Vlijte raztopljeno agarozno mešanico na nosilec za gel do višine približno 4 mm. V raztopino položite enega ali dva glavnička pod kotom 90°. Pustite, da se raztopina agarozne mešanice popolnoma shladi in strdi (30 – 45 min). Previdno odstranite glavnička s potegom naravnost navzgor. Previdno odstranite stranski pregradi z obeh strani nosilca za gel. Počasi napolnite posodo za pufer s pufrom dokler ni zgornji del gela potopljen za približno 1 mm.

2.4 PRIPRAVA IN NANOS VZORCA

Združite DNA ali RNA vzorec z nanašalnim pufrom, na primer 5 delov raztopine vzorca (100 – 500 ng DNA) in 1 del 6x nanašalnega pufra, končni volumen 15 mikrol. Nato raztopino vzorca in nanašalnega pufra previdno nanosite v vdolbinice v gelu. Nato nežno povlecite nosilec za gel ob eno stranico posode za pufer in se prepričajte, da sta obe stranici gela vzporedni z elektrodama.

2.5 PRIKLJUČITEV NA POLNILEC

Posodo za pufer pokrijte z varnostnim pokrovom. Priključite posodo za pufer s polnilcem (Biometra power pack P20 ali P25). Prižgite polnilec in nastavite ustrezno napetost: normalno 100 do 150 V, višje napetostjo zahtevajo hlajenje (maksimalni vodni pritisk = 0,5 bar). DNA je negativno nabita in potuje proti rdeče označeni anodi. Elektroforeza naj teče dokler bromofenol modri bendi ne dosežejo konca gela.

2.6 KONEC ELEKTROFOREZE

Predno odstranite varnostni pokrov izključite polnilec in izvlecite kable.

2.7 SLIKANJE GELA

Z etidijevim bromidom označene gele lahko slikate skozi nosilec za gel, ko jih postavite na transiluminator. Prepustnost nosilca za gel je 95% zato so potrebne ustrezne nastavitve.

4 ČIŠČENJE

Uporabljajte le blage neagresivne detergente. NE uporabljajte alkoholnih in organskih raztopin.

Za odstranitev RNaz pomočite posodo za pufer, nosilec za gel in ostalo v 0,1% raztopino dietil pirokarbamata (DEPC) za 12 ur pri 37°C, sperite s sterilno destilirano vodo brez RNaz in posušite. PAZITE, da je DEPC pred uporabo popolnoma raztopljen.

Posodo za pufer in glavničke lahko namočite tudi v 10M NaOH za 30 min in nato sperete z vodo, ki je brez RNaz in obdelana z DEPC.

5 RAZTOPINE

5X TBE PUFER: (0.45 M Tris, 0.45 M Boric Acid, 10 mM EDTA)

Tris (Base) 109 g

Boric Acid 55.6 g

EDTA (Free Acid) 5.8 g

Bidestilirana voda do 2000 ml

Uporabite bazo Tris in kislinsko obliko EDTA.

Ni potrebno uravnati pH.

1X TBE DELOVNA RAZTOPINA (»Running Buffer«)

Tris 90 mM
Boric Acid 90 mM
EDTA 2 Mm

50X TAE PUFER:

Tris (Base) 242 g
Glacial Acetic Acid 57.1 ml
EDTA, Disodium Salt, Dihydrate 37.2 g
pH 8.5
bidestilirana voda do 1000 ml

1X TAE DELOVNA RAZTOPINA (»Running Buffer«):

Tris 40 mM
Acetate 40 mM
EDTA 2 Mm

6X GLICEROL GEL NANAŠALNI PUFER

Glycerol 40%
Bromophenol Blue (1% in water) 0.25%
Xylene Cyanol (1% in water) (optional) 0.25 %
Shranite na 4°C.

6X SUCROSE GEL NANAŠALNO BARVILO

Sucrose 50 mM EDTA 40%
Bromophenol Blue (1% in water) 0.25%
Xylene Cyanol (1% in water) (optional) 0.25 %
Shranite na 4°C.

STOCK RAZTOPINA ETIDIJEVEGA BROMIDA (1 mg/ml)

Ethidium Bromide 100 mg
Bidestilirana voda do 2000 ml
Shranite v temni steklenički na 4°C.

OPOZORILO: Ethidijev bromid je potencialno kancerogen! Previdno delajte z njim. Vedno uporabljajte rokavice. Oči zaščitite s posebnimi očali. Raztopine in gele zavržite v skladu z navodili.

1% agarozni gel v 1X Delovni raztopini (1 gel)

agaroz 0.5 g
1X delovna raztopina 50 ml

6 SERVIS



Kolektiv servisa Mikro+Polo sestavljamo posamezniki s širokim obsegom znanj s področij strojništva, elektrotehnike, elektronike in računalništva. Imamo dolgoletne izkušnje s področij tehnične podpore za medicinsko, laboratorijsko, Hi-Tech, industrijsko in merilno opremo.

Naš osnovni namen je **REŠEVATI VAŠE TEŽAVE** in s tem skrbeti za nemoten potek dela v vaših organizacijah. To počnemo s ponosom in veseljem.

DEJAVNOSTI SERVISA:

inštalacije | redno in izredno vzdrževanje | deinštalacije odsluženih aparatov in opreme
demonstracije delovanja opreme | nastavitve parametrov in modifikacije | kalibracija

Servisiramo tudi opremo, ki je niste kupili pri nas!

Prilagajamo se potrebam strank in po njihovih željah izvajamo projekte povezane z laboratoriji, industrijo in spremljajočo opremo.

V sklopu servisnega oddelka vam ponujamo tudi storitve našega akreditiranega kalibracijskega laboratorija.

V primeru težav pokličite naš **SERVISNI CENTER** na telefonsko številko: **+386 (0)2 614 33 57** ali nam pišite na e-pošto: **service@mikro-polo.si**