

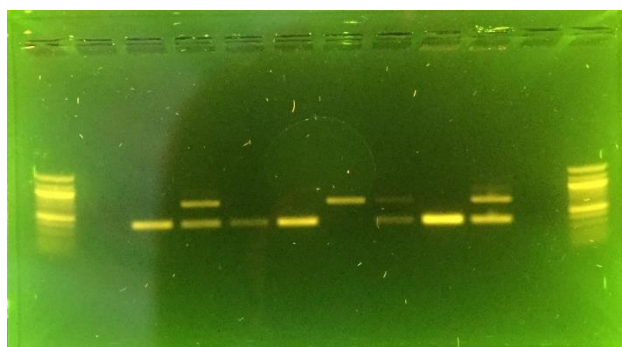
Gelelektroforese

Gelelektroforese er en adskillesesteknik, der kan bruges til at separere DNA i varierende længde i en gel. Det gør det blandt andet muligt at måle antallet af basepar i en DNA-prøve (Se figur 1).

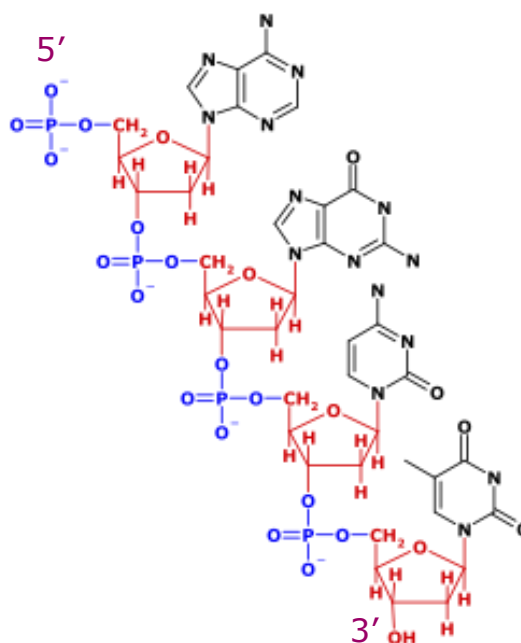
Adskillelse af forskellige DNA-fragmenter er også nyttigt til oprensning fra en prøve. Man kan f.eks. mindske risikoen for at bruge fejdannet DNA til gensplejsning. Det fremstillede DNA fragment kan adskilles fra andre uønskede fragmenter med en anden længde. Det ønskede fragment kan, så skæres direkte ud af gelen og oprenses herfra. Gelelektroforese bruges derfor ofte på flere forskellige stadier i udviklingen af en ny genmodificeret organisme.

I gelelektroforese udnyttes den negative ladning, som DNA har, til at adskille DNA af forskellig længde i en prøve. Den negative ladning skyldes fosfatgrupperne i DNA'ets rygrad (Se figur 2).

Hver enkelt DNA-prøve tilsættes en brønd (fordybning) i gelen. De geler, der bruges, er faste og gennemsigtige. De støbes ud fra en opløsning af nogle særlige molekyler f.eks. agarose. Der tilsluttes derefter en elektrisk spændingsforskel. Denne spænding skabes en negativ pol ved DNA-prøven og en positiv pol i den anden ende af gelen, som DNA tiltrækkes af (Se figur 3). DNA'et vil så blive trukket mod den positive pol gennem mikroskopiske huller i agarose gelen. Dette gør bevægelsen sværere for længere DNA fragmenter, da de sidder fast i disse huller, mens korte DNA-fragmenter nemmere og hurtigere bevæger sig igennem.



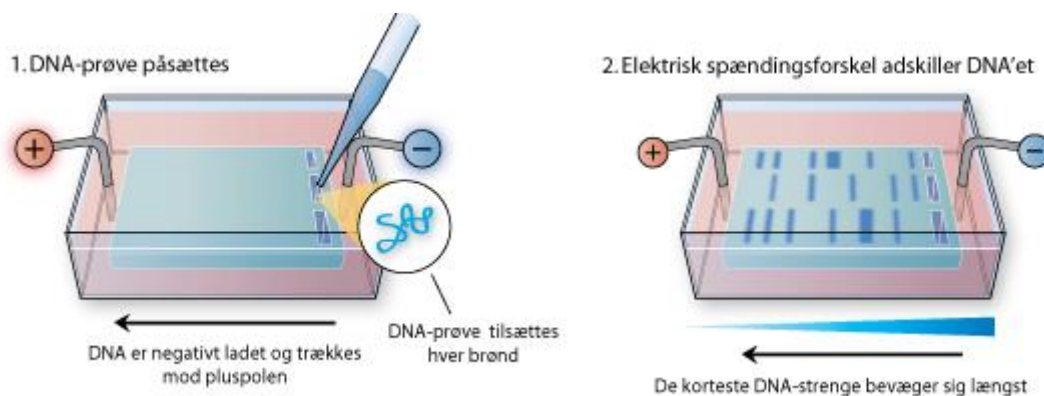
Figur 1. Resultat af gelelektroforese med DNA. Hver lodrette bane er en DNA-prøve, der er løbet fra toppen mod bunden. DNA'et er adskilt i de forskellige længder i lysende bånd, så de korteste er løbet længst ned gennem gelen.



Figur 2. Strukturen af enkelt strengt DNA molekyle. Det blå markerer det negativt ladede fosfat grupper, der røde markerer deoxyribose og det sorte markerer nucleosidet. 5' og 3' markerer enderne på molekylet

Efter en gelelektroforese vil DNA'et derfor ligge sorteret i forskellige bånd efter antal basepar. DNA-fragmenter med forskellige sekvenser, men i samme størrelse vil dog komme til at ligge samme sted i gelen, da metoden udelukkende sortere fragmenterne efter størrelse.

Flere forskellige stoffer kan gøre DNA'et synligt for fotografering. I Eduforce bruger vi stoffet SYBR-Safe, som binder sig til DNA'et og gør det synligt under blåt og ultraviolet lys. På den måde kan man visualisere DNA båndene i den færdige gel. Da prøverne kun bevæger sig i en retning, så kan man køre flere prøver ved siden af hinanden i samme gel. Til gelen tilføjes også en markør (Også kaldet en ladder), der indeholder nogle DNA-fragmenter med allerede kendte længder, så man kan sammenligne med de fragmenter man undersøger i prøverne.



Figur 3. Princippet i DNA gelelektroforese, hvor de forskellige størrelser DNA adskilles i en gel. Gelen ligger i et kar med en buffer-væske.