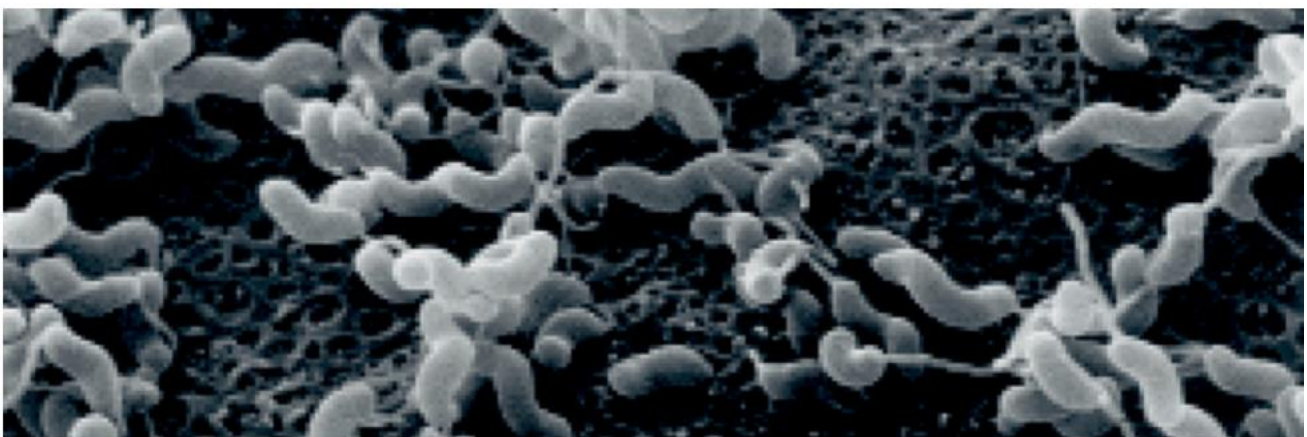


Gelelektroforese

Aa  

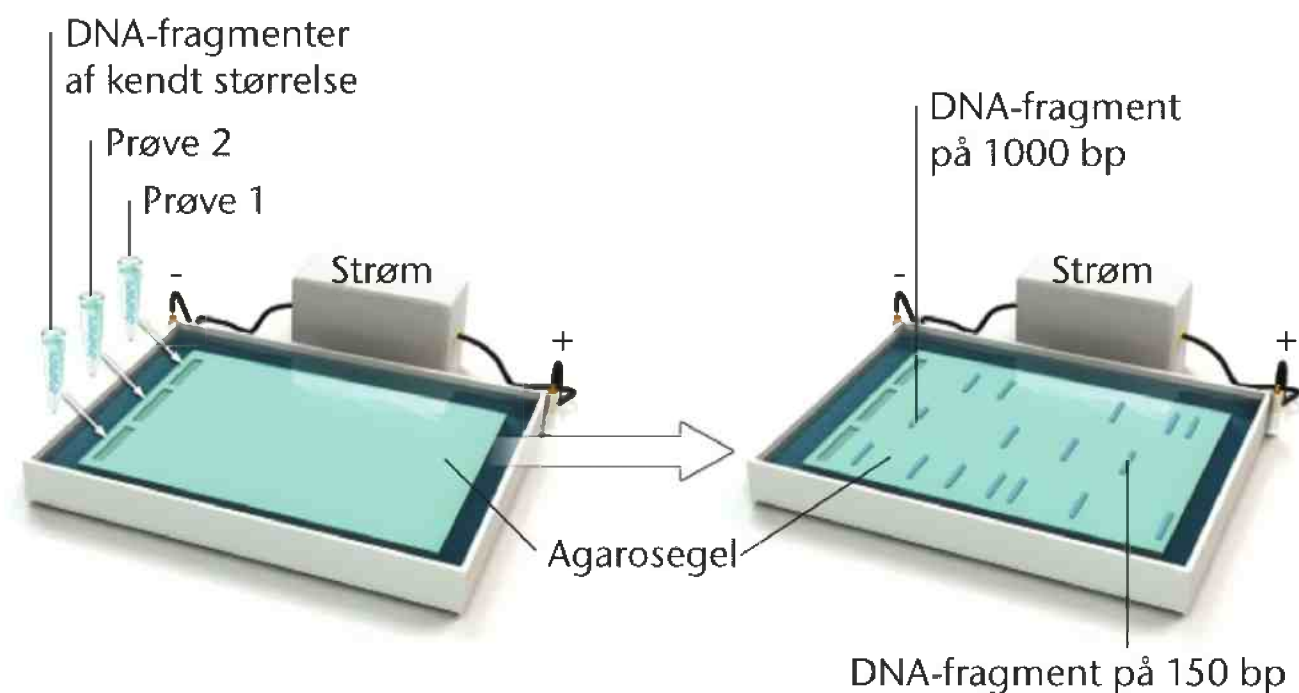
Gelelektroforese er en fælles betegnelse for metoder hvor DNA, RNA eller proteiner undersøges ved hjælp af en gel. En gel er en plade støbt af et geleagtigt porøst materiale som benyttes til disse analyser. Ved gelelektroforese udnytter man at molekyler som fx DNA og proteiner er elektrisk ladede, og derfor vil bevæge sig mod den ene elektrode i et elektrisk spændingsfelt. Den hastighed et molekyle bevæger sig igennem en gel med afhænger af forskellige ting såsom molekylets størrelse, ladning og rumlige struktur. Små DNA-stykker bevæger sig fx hurtigere igennem en agarosegel end lange stykker. Ved at undersøge flere forskellige DNA-stykker på samme gel kan man få DNA'et adskilt efter størrelse. Her beskrives en DNA-gelelektroforese på en agarosegel, men principperne er de samme i mange andre typer af gelelektroforese.

Agarose er et komplekst carbohydrat der oprindeligt blev udvundet fra en rødalge. Figur 205 viser et elektronmikroskopi-billede af strukturen i en agarosegel.



Figur 205. Elektronmikroskopi af agarosegel hvorpå der tilfældigvis vokser bakterier. Bemærk porestørrelsen.

I den yderste brønd på en gelelektroforese afsættes normalt en markør med DNA-molekyler af kendt størrelse. På den måde får man en slags lineal på den færdige gel der kan fortælle, hvor store DNA-molekylerne i de ukendte prøver er ved at sammenligne med den kendte prøve. Princippet er illustreret på figur 206.



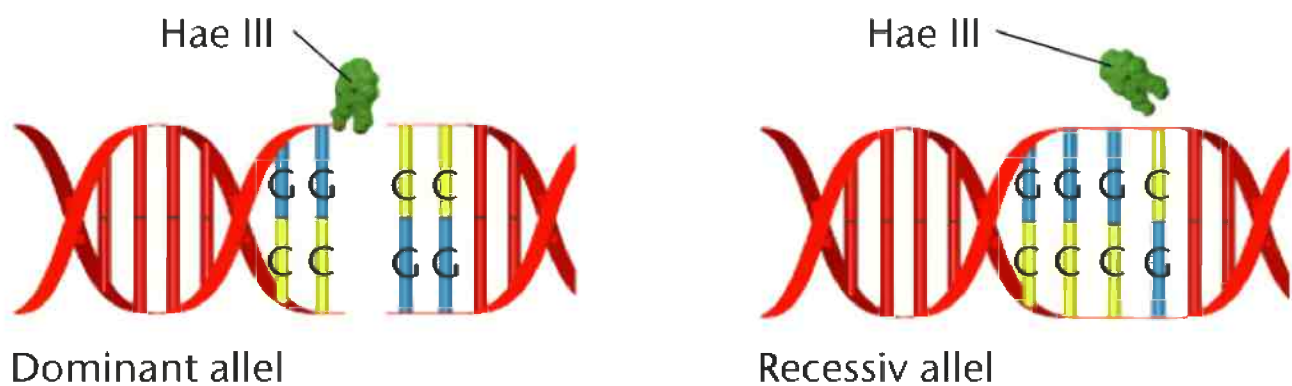
Figur 206. Gelelektroforese. Længst fremme ses markøren, ved siden af ses to forskellige prøver.

Evnen til at smage bitterstoffet PTC



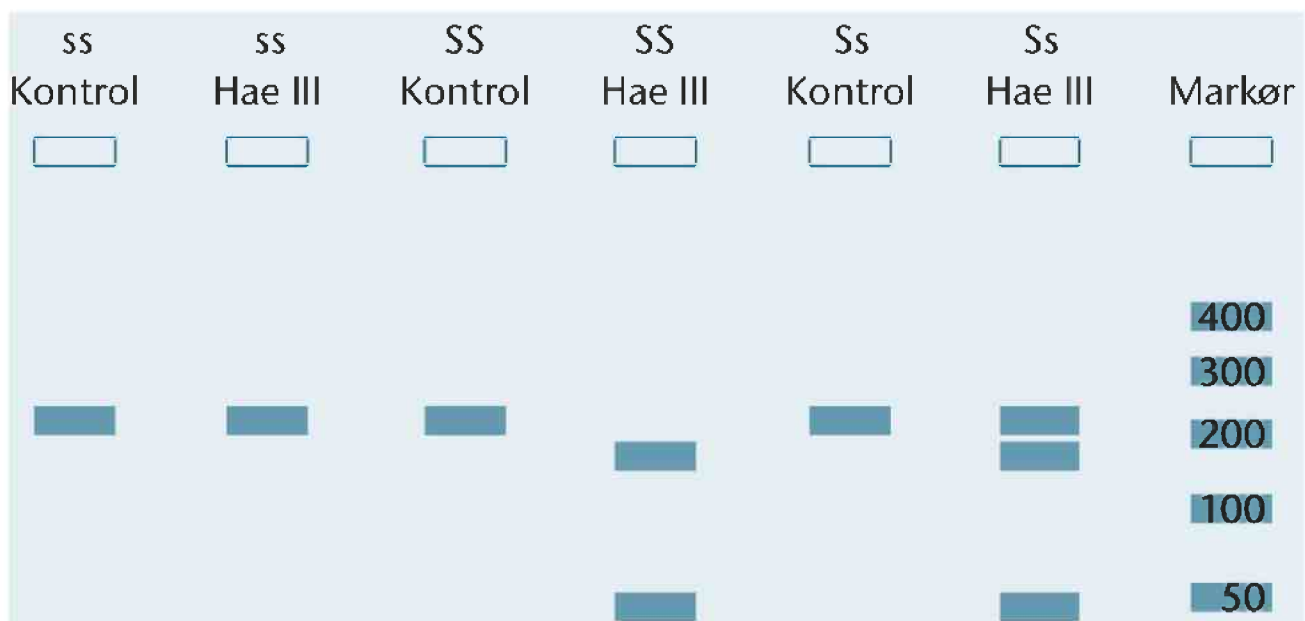
Genet TAS2R38 der ligger på kromosom 7 afgør om man kan smage det bitre stof PTC eller ej. Ved hjælp af PCR kan man opformere et udsnit af genet på 221 basepar. Der findes to alleller af dette gen der afviger fra hinanden med en bestemt punktmutation i det opformerede stykke. Den dominante allel (S) der gør at man kan smage PTC, indeholder en GGCC-sekvens. Denne sekvens kan klippes over med restriktionsenzymet Hae III. Et restriktionsenzym er et enzym der kan klippe DNA-sekvenser ved en bestemt sekvens. Restriktionsenzymet Hae III klipper kun DNA ved sekvensen GGCC. Resultatet af dette er at det PCR-opformerede gen-produkt på ca. 221 basepar bliver klippet i to mindre stykker, et på 44 basepar og et på 177 basepar.

Ved den recessive allel (s) er GGCC-genkendelsessekvensen på grund af punktmutationen ændret til GGGC. Derfor klippes denne allel ikke i to mindre stykker af Hae III-enzymet. PCR-produktet for denne allel forbliver derfor 221 basepar langt. Figur 207 viser hvordan restriktionsenzymet Hae III fungerer.



Figur 207. Hvis Hae III enzymets genkendelsessekvens GGCC er til stede, så klipper enzymet DNA'et i to stykker som vist ved den dominante allel. Den recessive allel indeholder ikke genkendelsessekvensen.

Ved hjælp af en gelelektroforese på ovennævnte PCR-produkter behandlet med Hae III kan man undersøge genotypen af en person. Har man kun et bånd med en størrelse på ca. 221 bp, er man homozygot ss. Har man to bånd, et ved 44 bp og et ved 177, er man homozygot SS. Har man derimod tre bånd (44bp, 177bp og 221bp) har man begge alleller og er heterozygot Ss. Figur 208 viser resultatet af en undersøgelse af tre personer.



Figur 208. Undersøgelse af genotypen i genet TAS2R38 hos tre forskellige personer. Hver person har to baner i gelen. Den første er en positiv kontrol hvor PCR-produktet ikke er behandlet med restriktionsenzymet Hae III. I den anden banen er PCR-produktet behandlet med Hae III, og de forskellige genotyper kan derfor aflæses. Markøren viser længden på 5 forskellige kendte DNA-stykker.