

Versuchsanleitung **GELELEKTROPHORESE** (FGenFinger 3 & 4)**MATERIAL** ✎ **WICHTIG:** Pro Gruppe wird **1 Gel** gegossen!

Schüler- material	1) 1 Frischkäsebox (Gelkammern)	<input type="checkbox"/>	15) 1 Objektträger (50 x 70 oder 80 mm)	<input type="checkbox"/>
	2) 5 Batterien (jeweils 9 Volt)	<input type="checkbox"/>	16) 4 Hefthalterklemmen	<input type="checkbox"/>
	3) Permanent Marker (schwarz)	<input type="checkbox"/>	17) 2 Karbonfasergewebe (je 6 x 3 cm)	<input type="checkbox"/>
	4) Schere	<input type="checkbox"/>	18) 2 Kabel mit Krokodilklemmen	<input type="checkbox"/>
	5) Lineal	<input type="checkbox"/>	19) Schutzhandschuhe	<input type="checkbox"/>
	6) Paketbandrolle (Breite 5cm)	<input type="checkbox"/>	Aqua dest. und Mikrowelle/n	<input type="checkbox"/>
	7) Erlenmeyerkolben (200ml) Duran Glas	<input type="checkbox"/>	Gel - Übungstaschen unten: 1b - 5b	
	8) TAE-Pufferlösung	<input type="checkbox"/>	20) Ladepufferlösung - reicht für 3 Taschen	<input type="checkbox"/>
	9) Agarose-Pulver (1g)	<input type="checkbox"/>	Gel - Probestaschen oben: 1a - 5a	
	10) Azur (B) - Lösung (0,04%) ca. 100ml	<input type="checkbox"/>	21) DNA-Marker	<input type="checkbox"/>
	11) 2 aufgeschnittene Schlauchstücke	<input type="checkbox"/>	22) Weiß: amplifizierte DNA-Probe Täter	<input type="checkbox"/>
	12) 6-8 Pipettenspitzen	<input type="checkbox"/>	23) Gelb: amplifizierte DNA-Probe Sohn	<input type="checkbox"/>
	13) Pipette	<input type="checkbox"/>	24) Blau: amplifizierte DNA-Probe Vater	<input type="checkbox"/>
	14) 2 Gelkämme	<input type="checkbox"/>	25) Rot: amplifizierte DNA-Probe Mutter	<input type="checkbox"/>

1. Herstellung Gelgießkammer (FGenFinger 3 & 4 und Film auf www.genie-konzept.de)

1	Zum Bau der Gelgießkammer werden 5 Streifen Paketband mit je ca. 10 cm Länge benötigt.
2	Den Objektträger auf eine glatte und ebene Unterfläche (Tisch / Prospekthülle) legen. (Abb. 2)
3	Den ersten Streifen des Paketbands auf die lange Seite des Objektträgers kleben, so dass dieser über der Mitte des Objektträgers liegt und an der oberen langen Seite sowie links und rechts an den kurzen Seiten mindestens noch 2 cm über den Objektträger hinausragt (Abb. 3).
4	Den zweiten Streifen des Paketbands unten auf die lange Seite des Objektträgers kleben, so dass dieser über der Mitte des Objektträgers liegt (Überlappung) und an der langen Seite sowie an den kurzen Seiten mindestens noch 2 cm über den Objektträger hinausragt (Abb. 4).
5	Die Schritte 3 und 4 mit den Paketbandstreifen 3 und 4 wiederholen (Abb. 5) und zum Abschluss den 5ten Paketbandstreifen über die Mitte kleben (Abb. 6 & 7).
6	Das Paketband mit dem Objektträger von der Unterlage lösen und umdrehen . Mit der Schere das Paketband im Abstand von ca. 1,5 cm um den Objektträger herum abschneiden . (Abb. 8)
7	Das Paketband nun mit der Klebefläche hochklappen und an den Ecken fest zusammendrücken (Abb. 9-11). Die Gelgießkammer ist fertig .

2. Gel gießen (FGenFinger 3 & 4 und Film auf www.genie-konzept.de)

1	An beiden Seiten der Gelkämme je einen Hefthalter befestigen. Die Kämme so in der Gelgießkammer positionieren, dass dieser gerade und in einem Abstand von ca. 1 cm von der oberen (Probestaschen) bzw. unteren (Übungstaschen) kurzen Seite in der Kammer stehen (die Kammzacken befinden sich ca. 1-2 mm über dem Objektträger). (Abb. 12 & 13). Wichtig ist ein gerader Taschenverlauf.
2	Pro Gruppe werden ca. 50 ml eines 1%igen Agarosegels benötigt. 1g Agarosepulver in 100 ml 1fach Pufferlösung (TAE) geben (reicht für zwei Agarose-Gele). Bitte einen Erlenmeyerkolben (Duran Glas) mit mind. 200 ml Volumen benutzen. (Abb. 14 & 15)
3	Die Gellösung im Erlenmeyerkolben in der Mikrowelle aufkochen (ca. 2 Min bei 700 Watt), bis alle Schlieren in der Lösung verschwunden sind (= klare Lösung). (Abb. 16 & 17) Vorsicht: Siedeverzug! Zum Herausnehmen Schutzbrille, Handschuhe und Schlauchstücke tragen. Das Agarosegel 3 Min auf etwa 60° C abkühlen lassen .  
4	Das ca. 60° C warme Agarosegel vorsichtig, aber möglichst in einem Guss in die Gelgießkammer gießen, so dass die Kammspitzen 3-4 mm in das Gel eintauchen . (Abb. 18 & 19). Sollte etwas Agarose auslaufen, ist das kein größeres Problem, da Agarose ungiftig ist. Ist die Agaroselösung bereits zu weit abgekühlt (zähflüssig), kann die Lösung erneut erhitzt werden.
5	Das Gel 15-20 min. ohne Erschütterung erstarren lassen (Gel wird trübe / milchig). (Abb. 20)
6	Nach dem Aushärten des Gels (Fingerprobe) die Kämme vorsichtig und langsam aus dem Gel ziehen . Die Geltaschen werden sichtbar (Abb. 21).

Beobachtungsbogen: Gelelektrophorese

1. Bedingungen der Gelelektrophorese: Gelkonzentration: _____ %, 1x TAE-Puffer

Versuchsbeginn: Datum, Uhrzeit (Wann wurde die Spannungsquelle angeschlossen?)	Versuchsende: Datum, Uhrzeit: (Wann wurde die Spannungsquelle abgetrennt?)
Angelegte Spannung (in Volt):	Färbung (Zeitdauer in Min. und Farbstoff)
Besonderheiten:	

2. Bestimmung der Bandenlaufstrecken:

Aufgabe 2.1)

Versuchsbeginn: Beschriften Sie die Spuren der Probetaschen des Gels mit den eingefüllten Proben und Mengen (Abb.1).

Aufgabe 2.2)

Während der Gelelektrophorese: Notieren und erklären Sie, was Sie während der Gelelektrophorese (im Gel und an den Elektroden) beobachten können (siehe FGenFinger 4, Abb. 34). ☞ Tipp: Der TAE-Puffer ist eine wässrige Lösung.

Aufgabe 2.3)

Versuchsende: Zeichnen Sie für jede Spur der Probetaschen des Gels die Banden (auch deren Färbung und Dicke) auf dem Millimeterpapierstück (Abb.1) ein.

Aufgabe 2.4)

Vergleichen Sie die Farbintensität der Banden des DNA-Markers, die näher an den Taschen liegen, mit denen, die weiter von den Taschen entfernt sind (Eigene Ergebnisse und GenFinger 12, Abb. 2).

Beobachtung:

Deutung:

Abb. 1: Gel-Millimeterpapiererausschnitt

