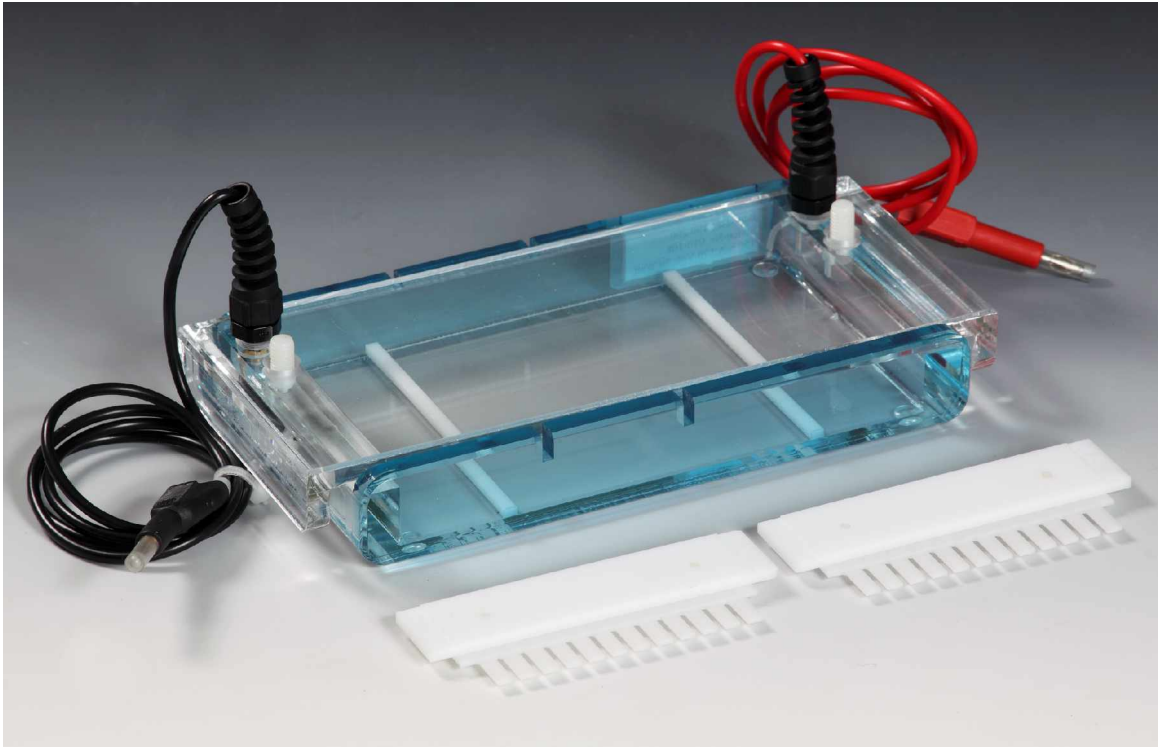


Bedienungsanleitung

Elektrophoresekammer „Mini“

Art.Nr. EK-100



Inhaltsverzeichnis

Lieferumfang	Seite	2
Sicherheitshinweise		2
Technische Merkmale		2
Garantie		3
Allgemeine Bedienungshinweise		3
Gießen von Agarosegelen		3
Beladung von Agarosegelen und Elektrophorese		4
Anfärbung von Nukleinsäuren		4
Auswertung / Dokumentation		5
Reinigung und Pflegehinweise		5
Benötigte Materialien und Rezepte		5
Elektrophoresepuffer		5
Agarose, Gelvolumen und Gelkonzentrationen		6
Gelladepuffer / Probenpuffer		7
DNA-Längenstandards		7
Anfärbung von DNA		7
Probleme: Ursachen und Behebung		8
Technischer Service und Bestellinformationen		9
Konformitätserklärung		9
Literatur		9

Lieferumfang

Sofern mit dem Hersteller bzw. mit dem Lieferanten nichts anderes vereinbart wurde, wird das Modell „Mini“ in folgender Ausstattung geliefert:

- Eine Elektrophoresekammer mit korrosionsgeschützten Platinelektroden und hochwertigen Anschlüssen für den Plus- und Minuspol.
- Einen Sicherheitsdeckel mit fest verschraubten Stromkabeln.
- Zwei Gelkämme, 1,5 mm dick, je 12 Zähne.
- Eine ausführliche Bedienungsanleitung.

Sicherheitshinweise

- Die Bedienungsanleitung bitte sorgfältig durchlesen, bevor Sie die Elektrophoresekammer erstmalig in Betrieb nehmen.
- Verwenden Sie zur Stromversorgung ausschließlich CE-konforme Gleichstrom-Netzgeräte (Power Supplies)..
- Bevor Sie den Sicherheitsdeckel entfernen, ist die Elektrophoresekammer unbedingt von der Spannungsquelle zu trennen.
- Den Deckel nie auf nassen Oberflächen ablegen.
- Bei Nichtgebrauch der Elektrophoresekammer diese grundsätzlich von der Elektrophoresekammer trennen.
- Die für die Kammer vorgesehene maximale Stromstärke und Spannung darf nicht überschritten werden (150 mA, 120 Volt, 20 Watt).
- Die maximale Füllhöhe für den Elektrophoresepuffer darf keinesfalls überschritten werden.

Technische Merkmale

Bei der horizontalen Elektrophoresekammer „Mini“ handelt es sich um eine Kammer, bei der das Gel direkt in der Kammer gegossen wird; und zwar in den Raum, der durch die weißen Kunststoffstäbe auf dem Kammerboden eingefasst ist.

Die Gelkammer verfügt über einen UV-durchlässigen Boden, so kann der Verlauf der Elektrophorese durch Bestrahlung mittels UV-Licht von unten leicht verfolgt werden, sofern sich entsprechende Farbstoffe im Gel bzw. Elektrophoresepuffer befinden. Somit lassen sich auch Zwischenergebnisse eines Trennvorgangs leicht und bequem dokumentieren. Das Endresultat der elektrophoretischen Auftrennung kann ebenfalls ohne Herausnehmen des Gels aus der Kammer dokumentiert werden.

Das Gel kann selbstverständlich auch herausgenommen werden, um die Dokumentation durchzuführen bzw. um Färbetechniken nach dem Gellauf durchzuführen.

Bitte verwenden Sie bei allen o.g. Handhabungen nur UV-Licht mit einer Wellenlänge oberhalb von 300 nm. Hartes UV-Licht (<300 nm Wellenlänge) schädigt sowohl die Gelkammer als auch die Nukleinsäuren. Letzteres kann für Folgeexperimente äußerst unerwünscht sein.

Wenn Sie nur kurze Trennstrecken benötigen, so können Sie beide Kammpositionen nutzen. So stehen Ihnen dann anstatt 12 Taschen 24 Taschen für die Probenauftragung zur Verfügung.

Garantie

Der Hersteller des Gerätes garantiert, dass die ausgelieferte Elektrophoresekammer genauestens geprüft wurde und den geltenden Sicherheitsstandards entspricht.

Bitte überprüfen Sie die Lieferung aber dennoch umgehend nach Erhalt auf Vollständigkeit und eventuelle Transportschäden. Sollte die Lieferung fehlerhaft oder beschädigt sein, wenden Sie sich umgehend an den Technischen Service von Behrens Labortechnik. Bewahren Sie das Verpackungsmaterial mindestens bis zur vollständigen Prüfung des Gerätes auf. Das erleichtert den notwendigen Rücktransport im Schadensfall. Dieser ist bitte vorab mit Behrens Labortechnik abzustimmen.

Auf die Elektrophoresekammer gewährt der Hersteller 24 Monate Garantie, sofern die Kammer ausschließlich gemäß der Bedienungsanleitung eingesetzt wurde. Ansprüche auf kostenlosen Ersatz oder Reparatur bestehen nicht, wenn eine falsche Handhabung vorliegt. Eine Haftung für Folgeschäden, die aus der Verwendung der Elektrophoresekammer entstanden sind, wird hiermit ausgeschlossen.

Die zwei Platin-Elektroden halten erfahrungsgemäß bei sachgerechter Behandlung viele Jahre. Schäden treten meistens durch mechanische Zerstörung (Spülbürste o.ä.) auf oder durch den Kontakt mit sog. „Platingiften“ wie Phosphor, Bor oder Schwermetallen wie Blei, Zink, Zinn etc. auf. Aus diesem Grund sind die Platin-Elektroden nicht in der Geräte-Garantie enthalten.

Platin-Elektroden oder andere Defekte an der Elektrophoresekammer können auch nach Ablauf der Garantiezeit durch Behrens Labortechnik kostengünstig repariert werden.

Um Neu- und Weiterentwicklungen zeitnah einführen zu können, behält sich der Hersteller Behrens-Labortechnik vor, gegebenenfalls technische oder kleine optische Details ohne Vorankündigung zu ändern.

Allgemeine Hinweise zur Bedienung

Gießen von Agarosegelen

1. Bitte Schutzkleidung anziehen, Schutzbrille aufsetzen und ein paar isolierte Handschuhe für das Erhitzen der Agarosegellösung bereit legen.
2. Entfernen Sie den Sicherheitsdeckel indem Sie das Unterteil der Elektrophoreskammer mit der einen Hand festhalten und den Deckel mit der anderen Hand langsam nach oben abziehen.
3. Für das Ansetzen der Gellösung sollten nur geeignete Agarosen und entsprechende Elektrophoresepuffer eingesetzt werden. Agaroseart und –konzentration sowie der verwendete Elektrophoresepuffer sind abhängig von der Art und Länge der aufzutrennenden Nukleinsäuren. Die Ansprüche des Experimentators an Folgeexperimente mit den Nukleinsäuren müssen dabei ebenso berücksichtigt werden. Für die Herstellung von der Agarosegellösung wird eine entsprechende Menge Agarose in einem kleinen Erlenmeyerkolben abgewogen, eine geeignete Menge mit Elektrophoresepuffer (Arbeitslösung) hinzugegeben und ein Rührfisch (Erhitzen mit Heizrührer) hinzugegeben. Das Gesamtgewicht des befüllten Erlenmeyerkolbens wird festgehalten, so dass auftretende Kochverluste durch Verdampfen durch Zugabe von H₂O (dest.) ausgeglichen werden können. So hat die flüssige Gellösung, mit der später das Gel gegossen wird, tatsächlich die vorgesehene Agarosekonzentration. Zum Lösen der Agarose wird der Erlenmeyerkolben entweder in die Mikrowelle gegeben oder der Erlenmeyerkolben auf einer Heizplatte unter Rühren und bei mittlerer Heizleistung erhitzt. Die Erhitzung in der Mikrowelle sollte kurz bei mittlerer Hitze erfolgen und mehrfach wiederholt werden. Zwischendurch nimmt man den Erlenmeyerkolben heraus (Achtung: Handschuhe, Schutzbrille tragen und eventuell auftretenden Siedeverzug beachten !) und schwenkt vorsichtig die Gellösung kreisförmig. Dann wieder in die Mikrowelle geben und den gesamten Vorgang 3-4 Mal wiederholen bis die Agarose vollständig gelöst ist.

4. Um eine Verformung der Elektrophoresekammer aufgrund zu hoher Temperatur zu vermeiden, muß die Gellösung auf 60°C abgekühlt werden bevor das Gel gegossen wird. Die Gellösung wird dann luftblasenfrei in die Aussparung zwischen die beiden weissen Kunststoffstreifen des Kammerbodens gegossen (Fassungsvermögen beträgt ca. 40 ml). Dann wird ein Kamm (oder 2 Kämmen) eingesetzt. Auch dabei ist zu beachten, dass sich keine Luftblasen an den Taschenrändern bilden. Gele aus Standard-Agarose sind bei Raumtemperatur in ca. 20 Minuten verfestigt. Sollten Sie „Low Melting“- oder andere Spezialagarosen verwenden, befolgen Sie bitte die jeweiligen Herstellerangaben.
5. Nach Verfestigung des Agarosegels mit Elektrophoresepuffer ca. 3 mm überschichten, damit das Gel nicht austrocknet. Das Gel kann nun nach vorsichtigem Entfernen des Kamms sofort beladen werden. Das überschichtete Gel kann auch für ein paar Tage aufbewahrt werden, am günstigsten sogar mit eingesetztem Kamm. Das Gel muß lediglich vor Austrocknung geschützt werden, z.B. durch Abdecken mit Haushaltsfolie.

Beladung von Agarosegelen und Elektrophorese

1. Sobald das Agarosegel vollständig verfestigt ist, wird Elektrophoresepuffer eingefüllt, und zwar so viel, dass das Gel komplett mit ca. 3 mm Elektrophoresepuffer überschichtet ist. Die maximale Puffermenge ist durch die Markierung „Fill Line“ begrenzt.
2. Entfernen Sie die Kämmen vorsichtig aus dem Agarosegel, indem Sie diese vorsichtig wippend hin- und herbewegen und dann gerade nach oben herausziehen.
3. Beladen Sie nun die Taschen des Gels mit den vorbereiteten Proben. Die Proben müssen vorab mit einem entsprechenden Gelladepuffer (Probenpuffer) versetzt werden, der das spezifische Gewicht der Proben erhöht und die Proben beim Auftragen mit der Mikropipette schön in die Taschen absinken lässt (vgl. Abschnitt Gelladepuffer / Probenpuffer).
4. Beim Beladen der Geltaschen die Spitze der Mikropipette oberhalb der Tasche bzw. vorsichtig in die Tasche tauchen und die Probe vorsichtig herausdrücken. Dabei bitte nicht den Taschenboden beschädigen.
Dieser Vorgang sollte mit „Übungsproben“, die lediglich aus H₂O und Gelladepuffer bestehen, von Anfängern eingeübt werden.
5. Auf jedem Gel sollte mindestens ein Längenstandard mit aufgetragen werden, damit eine Größenbestimmung bzw. eine Überprüfung der zu erwartenden Fragmentgröße(n) vorgenommen werden kann.
6. Setzen Sie nun den Sicherheitsdeckel auf die Elektrophoresekammer und schließen Sie die Stecker der Stromkabel an eine geeignete Gleichstrom-Spannungsquelle (Power Supply) an.
Bitte beachten Sie die richtige Polung. Nukleinsäuren sind im alkalischen bis neutralen Milieu negativ geladen und wandern zur Anode, der positiven Elektrode (rote Markierung).
7. Schalten Sie die Spannungsquelle ein und führen Sie die elektrophoretische Trennung bei einer angemessenen Spannung durch (80 bis 120 Volt). Der Fortschritt der Elektrophorese kann anhand der Wanderung des Farbstoffs, der sich im Gelladepuffer befindet, verfolgt werden.
Häufig werden Bromphenolblau bzw. Xylencyanol als Farbstoffe im Gelladepuffer eingesetzt. Das Laufverhalten bzw. die sog. Comigration zu doppelsträngigen DNA-Fragmenten ist vom Agarosetyp, von der Gelstärke und vom Elektrophoresepuffer abhängig.
Zur Groborientierung: Bromphenolblau läuft in 1xTAE-Puffer (vgl. Elektrophoresepuffer) und Standard-Agarosegel von 1% in etwa wie ein DNA-Fragment mit 650 Basenpaaren. Unter gleichen Bedingungen läuft Xylencyanol wie ein Fragment mit 5000 Basenpaaren.

Anfärbung von Nukleinsäuren

Da es verschiedene Möglichkeiten der Anfärbung von Nukleinsäuren gibt, wird an dieser Stelle auf die einschlägige Fachliteratur verwiesen (Sambrook et. al., 1989). Sie können auch den Technischen Service von BEHRENS LABORTECHNIK nutzen, um hierzu Anleitungen, Hinweise und Ratschläge zu erhalten.

Auswertung / Dokumentation

Größenbestimmungen von Nukleinsäure-Fragmenten können durch Vergleich mit den Fragmenten eines Längenstandards durchgeführt werden. Eine genaue Beschreibung des Verfahrens findet man z.B. im Fachbuch „Molekulare Genetik“ von R. Knippers (2006).

Reinigung und Pflegehinweise

Achtung: Die Elektrophoresekammer unbedingt vor der Reinigung von der Stromversorgung trennen.

Die Elektrophoresekammer und Kämme sollten nach jeder Verwendung mit lauwarmem Wasser gereinigt werden. Falls notwendig, kann eine kleine Menge mildes Spülmittel ergänzend verwendet werden. Bitte verwenden Sie keine Spülbürsten oder ähnliches, da damit die Platinelektroden beschädigt werden können. Ein Abspülen der Elektrophoresekammer nach der Reinigung mit entkalktem oder destilliertem Wasser verhindert das Entstehen von Kalkflecken.

Bitte die Elektrophoresekammer nie stundenlang oder gar über Nacht ungereinigt stehen lassen, da sich Schmutzränder bilden können durch angetrocknete Gelreste oder Puffer, die sich dann nur schwer oder gar nicht mehr vollständig entfernen lassen.

Achtung: Die elektrischen Anschlüsse bitte möglichst vom Wasser fernhalten. Sollten diese dennoch einmal etwas Wasser abbekommen haben, bitte sorgsam trocken putzen mit einem weichen Küchentuch / Geschirrtuch bzw. an der Luft trocknen lassen. Bitte kein Papier verwenden, da dies häufig zu grob und zu hart ist und kleine Kratzer verursacht. Bitte auch nicht trocken föhnen, die heiße Föhnluft kann zu Zerstörungen an den Anschlüssen, Verschraubungen und dem Acrylmaterial der Elektrophoresekammer führen.

Achtung: Zur Reinigung weder Ethanol noch sonstige organische Lösungsmittel verwenden. Es können Risse, Sprünge oder andere unerwünschte Materialveränderungen (Blindwerden etc.) auftreten.

Benötigte Materialien und Rezepte

Elektrophoresepuffer

Der Elektrophoresepuffer stellt die für die Elektrophorese nötigen Ionen bereit und sorgt für einen konstanten pH-Wert, damit die Nukleinsäuren die gewünschte Nettoladung aufweisen. Nukleinsäuren sind im alkalischen bis neutralen Milieu negativ geladen. In der Regel beinhalten Elektrophoresepuffer auch Komponenten, die die Nukleinsäuren vor Degradierung schützen, z.B. EDTA, welches zweiwertige Kationen komplexiert und dadurch DNasen inhibiert.

Bei der Elektrophorese von RNA werden ausserdem noch Substanzen zugesetzt, die die unerwünschte Ausprägung von Sekundärstrukturen bei RNA verhindern. Welche dies sind und wie die Pufferzusammensetzung für denaturierende RNA-Gele aussieht, kann in der einschlägigen Fachliteratur nachgelesen werden (vgl. Literatur).

An dieser Stelle werden die gängigen Elektrophoresepuffer TAE und TBE für Elektrophorese von DNA unter nicht-denaturierenden Bedingungen beschrieben. TAE steht dabei für Tris-Acetat-EDTA, TBE für Tris-Borat-EDTA. Beide Abkürzungen ergeben sich aus den chemischen Komponenten des Elektrophoresepuffers (siehe unten).

TAE-Puffer trennt DNA etwas schneller, hat aber eine geringere Pufferkapazität als TBE-Puffer. Letzteres ist jedoch nur bei sehr langen Laufzeiten der Elektrophorese von Bedeutung oder wenn getrennte Puffertanks für die Anoden- und Kathodenseite vorliegen. Bei der vorliegenden Elektrophoresekammer „Mini“ wird das Trenngel jedoch mit Elektrophoresepuffer überschichtet und der Elektrophorespuffer kann gut zirkulieren. Diese Konstruktion verhindert die Verschiebung des pH-Wertes an den Polen.

TBE-Puffer neigt auch zum Ausfallen und die Verkrustungen, die sich an den Seiten des Aufbewahrungsgefäßes zeigen, sind beim Erwärmen im Wasserbad nur schwer wieder in Lösung zu bringen.

Alles in allem ist deshalb für die meisten Anwendungen im Bereich Schule & Didaktik TAE-Puffer als Elektrophoresepuffer bevorzugt zu empfehlen.

Die Puffer können Sie entweder selbst herstellen oder aber z.B. bei Behrens Labortechnik als konzentrierte Fertigpuffer erhalten. Diese werden dann nur noch mit H₂O (dest.) verdünnt und ergeben so die einsatzbereite Arbeitslösung (1-fach konz. Elektrophoresepuffer).

Zusammensetzung der gängigen Elektrophoresepuffer TAE und TBE:

TAE (Tris-Acetat-EDTA) Puffer

Arbeitslösung (1-fach konzentriert) 40 mM Tris-Acetat, 1 mM EDTA

Stammlösung (50-fach konz.), für die Herstellung von 1 Liter wird folgendes benötigt:

242 g Tris
57,1 ml konz. Essigsäure
100 ml 0,5 M EDTA (pH 8,0)
mit H₂O (dest.) auf 1 Liter auffüllen

TBE (Tris-Borat-EDTA) Puffer

Arbeitslösung (1-fach konzentriert) 45 mM Tris-Borat, 1 mM EDTA

Stammlösung (10-fach konz.), für die Herstellung von 1 Liter wird folgendes benötigt:

108 g Tris
55 g Borsäure
40 ml 0,5 M EDTA (pH 8,0)
mit H₂O (dest) auf 1 Liter auffüllen

Agarose, Gelvolumen und Gelkonzentrationen

Obgleich verschiedene Agarosen angeboten werden, hat die sog. Standard-Agarose sicherlich die größte Bedeutung. Für das Gießen eines Agarosegels in der vorliegenden Kammer wird ca. 40 ml Gellösung benötigt. Bitte etwas mehr Gellösung herstellen, da immer ein Rest im Ansatzgefäß verbleibt.

Je nach Agarosegehalt des Gels werden Moleküle unterschiedlicher Größenbereiche optimal aufgetrennt, die in der unten stehenden Tabelle aufgeführt werden. Spezialagarosen bzw. andere Trennmatrices kommen meistens für sehr kleine oder aber sehr große Nukleinsäuren in Frage.

Optimale Auftrennungsbereiche doppelsträngiger DNA bei verschiedenen Agarosegehalten

Agarosegehalt (%)	Agarose (g)	Puffer (ml)	Optimaler Trennbereich (kbp)
0,5	0,25	50	1 – 15
0,7	0,35	50	0,8 – 10
1,0	0,5	50	0,5 – 7
1,2	0,6	50	0,3 – 6
1,5	0,75	50	0,2 – 4
2,0	1,0	50	0,1 - 3

Gelladepuffer / Probenpuffer

Die zu analysierenden Proben werden vor dem Auftragen auf das Gel mit einem geeigneten Ladepuffer vermischt. Ladepuffer enthalten Farbstoffe zur Sichtbarmachung des Migrationsfortschrittes sowie Glycerol, Saccharose o.ä., damit die Proben schwerer als der Elektrophoresepuffer werden und bei der Probenauftragung schön in die Geltaschen sinken. Häufig werden Bromphenolblau bzw. Xylencyanol als Farbstoffe im Gelladepuffer eingesetzt. Das Laufverhalten bzw. die sog. Comigration zu doppelsträngigen DNA-Fragmenten ist vom Agarosetyp, von der Gelstärke und vom Elektrophoresepuffer abhängig.

Zur Groborientierung: Bromphenolblau läuft in 1xTAE-Puffer (vgl. Elektrophoresepuffer) und Standard-Agarosegel von 1% in etwa wie ein DNA-Fragment mit 650 Basenpaaren. Unter gleichen Bedingungen läuft Xylencyanol wie ein Fragment mit 5000 Basenpaaren.

Zusammensetzung von DNA-Ladepuffer (6-fach konzentriert)

- 0,25% (w/v) Bromphenolblau
- 0,25% (w/v) Xylencyanol
- 30% (v/v) Glycerol

Für die Vorbereitung der Proben wird 1/6 Vol. 6-fach DNA-Ladepuffer zu 5/6 Vol. DNA-Lösung gegeben. Eine Vermischung erfolgt automatisch beim Aufziehen in die Spitze einer Mikropipette mit der die Proben dann aufgetragen werden.

DNA-Längenstandards

DNA-Längenstandards (DNA-Längenmarker) werden auf jedem Gel mindestens in einer Spur aufgetragen, um die Auftrennung zu kontrollieren und um eine Größenbestimmung der Proben vernehmen zu können. Wird eine spezifische Konzentration eines bekannten Markers aufgetragen, kann auch die DNA-Menge einer Bande abgeschätzt werden.

DNA-Längenmarker bestehen häufig aus gespaltener Plasmid-DNA mit Fragmenten bekannter Größe. Teilweise werden definierte DNA-Fragmente aber auch mittels PCR-Technik hergestellt.

BEHRENS LABORTECHNIK hat ebenfalls verschiedene DNA-Längenstandards im Programm.

Anfärbung von Nukleinsäuren

Da es verschiedene Möglichkeiten der Anfärbung von Nukleinsäuren gibt, wird an dieser Stelle auf die einschlägige Fachliteratur verwiesen (Sambrock et. al., 1989). Sie können auch den Technischen Service von BEHRENS LABORTECHNIK nutzen, um hierzu Anleitungen, Hinweise und Ratschläge zu erhalten

Probleme: Ursachen und Behebung

Hier finden Sie einige Ursachen und Lösungen zu Problemen, die typischerweise in der Praxis vorkommen. Diese können materialbedingt sein oder durch Fehler des Anwenders entstehen.

Sollten Sie weitere Fragen haben, wird Ihnen das BEHRENS LABORTECHNIK-Team gerne weiterhelfen (siehe Technischer Service und Bestellinformationen).

Banden laufen nicht gerade.

Wurde das Gel eventuell auf einer nicht geraden Unterlage gegossen? Wurde eine zu hohe Spannung verwendet? Ist möglicherweise H₂O statt Elektrophoresepuffer verwendet worden? Ist die Zusammensetzung des Elektrophoresepuffers richtig gewesen?

Sind möglicherweise die Chemikalien für die Zubereitung des Elektrophoresepuffers verdorben oder zu alt gewesen? Wurde der Elektrophoresepuffer (Arbeitslösung) falsch verdünnt aus der konzentrierten Stammlösung?

Banden laufen in bestimmten Bereichen des Gels ungleichmäßig.

Sind die Platinelektroden intakt und geben diese über die gesamte Länge gleichmäßig Strom ab? Dies zeigt sich durch Blasenbildung an den Elektroden während des Betriebs. Sollte eine Elektrode gerissen sein, kontaktieren Sie bitte das BEHRENS LABORTECHNIK-Team zwecks Reparatur.

Kontrollieren Sie auch bitte den Boden der Elektrophoresekammer auf Verzug. Eventuell wurden wiederholt Agarosegele bei zu hoher Temperatur gegossen. Die Gellösung muß vor dem Gießen immer auf 60°C abgekühlt werden, damit sich das Acrylglas nicht verformt.

Agarose läuft aus der Fläche heraus, die für das Gießen des Gels vorgesehen ist.

Sind die weissen Kunststoffleisten, die das Gel nach links und rechts begrenzen, in korrekter Position und fest. Ist das Volumen der Gellösung richtig bzw. wurde vielleicht zu viel Gellösung eingegossen, so dass es zum Überlaufen kam?

Unschärfe Banden

War das Gel vollständig erstarrt? Normalerweise ist Standardagarose nach ca. 30 Minuten bei Raumtemperatur vollständig verfestigt. Low-Melting Agarose braucht zur vollständigen Verfestigung deutlich länger und sollte dazu möglichst in den Kühlschrank gestellt werden. Für längere Lagerung (mehrere Stunden bis wenige Tage) sollten erstarrte Gele mit etwas Elektrophoresepuffer (Arbeitslösung) überschichtet werden. Ist Elektrophoresepuffer für die Zubereitung der Gellösung verwendet worden.

Sind Spannung und Stromstärke im Normalbereich gewesen? Ein zu starker Strom kann zu starker Erwärmung führen und damit das Gel zum Schmelzen bringen.

Wurde eventuell eine zu große Menge an Nukleinsäure pro Tasche aufgetragen, wodurch es zum „Schmieren“ der Banden kommen kann?

Taschen beschädigt beim Herausziehen des Kamms.

Beim Herausziehen des Kamms sollte das Gel mit etwas Elektrophoresepuffer überschichtet sein, das erleichtert das Herausziehen des Kamms. Der Kamm sollte in leichter Wippbewegung herausgezogen werden. Das heißt, abwechselnd links und rechts ganz leicht anheben und wieder absenken (so löst sich der Kamm von der Agarose) und erst dann langsam gleichmäßig herausziehen.

Kämme sollten direkt nach Gebrauch mit lauwarmem Wasser sorgfältig gereinigt werden, da anhaftende Reste vom vorherigen Gebrauch zur Beschädigung von Geltaschen führen können.

Proben laufen auffallend langsam.

Elektrophoresepuffer falsch verdünnt? Gel mit zu viel Elektrophoresepuffer überschichtet? Ein deutlich überhöhtes Überschichten des Agarosegels führt zur verringerter Wanderungsgeschwindigkeit, da der Widerstand sinkt und der Stromfluss erhöht ist.

Proben bleiben in den Taschen, diffundieren aus dem Gel oder laufen „rückwärts“.

Prüfen Sie den Stromkreis bestehend aus Elektrophoresekammer und Netzgerät. Platinelektroden und Bananenstecker sollten intakt sein. Den Stromfluss können Sie überprüfen, indem Sie die Elektrophoresekammer ohne Gel mit Elektrophoresepuffer füllen, den Sicherheitsdeckel aufsetzen und die vorgesehene Spannung am angeschlossenen Netzgerät einstellen. Das Netzgerät sollte einen Strom anzeigen. An den Platinelektroden sollten sich kleine Bläschen zeigen.

„Rückwärts“ laufende Proben deuten auf eine verkehrte Polung hin. Da der dazugehörige Sicherheitsdeckel nur in der richtigen Orientierung auf die Elektrophoresekammer passt, kann die falsche Polung praktisch nur am Netzgerät erfolgt sein.

Technischer Service und Bestellinformationen

Bei technischen Fragen oder Bestellinformationen kontaktieren Sie bitte das Serviceteam von BEHRENS LABORTECHNIK. Tel. ++49 (0)05241 – 927569, E-Mail: info@Behrens-Labortechnik.de

Einiges an Hintergrundinformationen erfahren Sie auch auf unserer Homepage bzw. aus unserem Online-Katalog (www.Behrens-Labortechnik.de)

Konformitätserklärung

Die Elektrophoresekammer „Mini“ entspricht den grundlegenden Sicherheitsanforderungen gemäß EN: 50081-1 (1992) sowie EN: 50082-1 (1992).

Literatur

Boots S: (1989). Gel Elektrophoresis of DNA. Anal. Chem, 61 (8): 551A-553A..

Knippers, R. (2006). Molekulare Genetik.

Frederik M. Ausubel et al. (Ed.), (2005). Short Protocols in Molecular Biology, A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology.

Ogden R. and Adams D. A. (1987). Electrophoresis in Agarose and Acrylamide Gels. Methods Enzymol. 152:61-87.

Sambrook J, Fritsch E:F: and Maniatis T. (1989). Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY.