



Biotechnology Explorer™

Gerningsstedets gåde
Den usynlige sandhed - DNA
PCR Basics™ Kit

Katalog nr. 166-2600EDU

Bemærk: Kittedet indeholder temperaturfølsomme dele. Åbn derfor straks pakken og læg de dele, der er mærket med -20°C og 4°C i henholdsvis fryser og køleskab

Det er kun tilladt at kopiere dette dokument eller dele deraf til undervisningsbrug.

BIO-RAD

For teknisk service bedes du ringe til dit lokale Bio-Rad kontor Office
or in the U.S. Call **1-800-4BIORAD** (1-800-424-6723)

10002461

Kriminaldetektiv –et PCR grundkit

Tjekliste:

Du finder her en liste over de dele, der følger med kittet. Derudover finder du en liste over det udstyr, der er nødvendigt for at gennemføre forsøget.

Kittet indeholder materiale nok til 8 grupper med op til 4 i hver.

Når kittet er modtaget, skal mastermix og primere straks lægges i fryseren.

Kittets indhold:

DNA, der skal undersøges	1 rør	<input type="checkbox"/>
Mistænkt A DNA	1 rør	<input type="checkbox"/>
Mistænkt B DNA	1 rør	<input type="checkbox"/>
Mistænkt C DNA	1 rør	<input type="checkbox"/>
Mistænkt D DNA	1 rør	<input type="checkbox"/>
Mastermix 1,2 mL	1 rør	<input type="checkbox"/>
Kriminaldetektivens primere (blå) 0,25 μ L	1 rør	<input type="checkbox"/>
Kriminaldetektivens allel ladder (stige) 200 μ L	1 rør	<input type="checkbox"/>
Orange G loading dye 1 mL	1 rør	<input type="checkbox"/>
PCR-rør 0,2 mL	1 pakke	<input type="checkbox"/>
Hætteløse eppendorfrør (PCR-rør adaptorer) 1,5 mL	1 pakke	<input type="checkbox"/>
2,0 mL farvede eppendorfrør	1 pakke	<input type="checkbox"/>
Skumholdere	8	<input type="checkbox"/>

Udstyr og materialer

Mikropipetter 20-200 μ L	1	<input type="checkbox"/>
Mikropipetter 2-20 μ L	1-8	<input type="checkbox"/>
Mikropipette 100-1000 μ L	1	<input type="checkbox"/>
Pipettespidser 0-200 μ L (nogle med aerosolbarriere)		<input type="checkbox"/>
Pipettespidser 100-1000 μ L (med aerosolbarriere)		<input type="checkbox"/>
Mærkepenne		<input type="checkbox"/>
Demineraliseret vand/destilleret vand		<input type="checkbox"/>
Vandbad 60°C		<input type="checkbox"/>
Mikrocentrifuge		<input type="checkbox"/>
Isbade (op til første forsøgsdag)		
Thermalcykler – PCR-maskine eller et tilsvarende antal vandbade		<input type="checkbox"/>
Strømforsyning		<input type="checkbox"/>
Cellofan – ark		<input type="checkbox"/>
Vandret gel-elektroforesesystem		<input type="checkbox"/>
Agarose		<input type="checkbox"/>
TAE elektroforesebuffer		<input type="checkbox"/>
DNA farve		<input type="checkbox"/>
Kar til farvning af geler		<input type="checkbox"/>
BlueCap flasker til farve og buffer		<input type="checkbox"/>
Handsker		<input type="checkbox"/>
Kitler		<input type="checkbox"/>

Refill:

Der kan købes refill til dette kit:

Reagenspakke: Indeholder mastermix, primere, allel ladder, Orange G loading dye, DNA der skal undersøges samt DNA fra de 4 mistænkte

Mastermix indeholdende 60 units Taq, dNTP, MgCl₂ og buffer pH8,0

Elektroforesepakker indeholdende agarose, TAE elektroforesebuffer samt Fast Blast DNA-farve. Pakkerne fås i forskellig størrelse

Retsgenetisk DNA test – Den usynlige sandhed

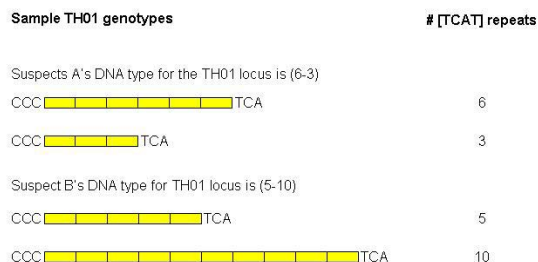
Motelpørtieren hører en høj mandestemme – en kvinde skriger og lyden af et skud dør ud. Portieren styrter hen til vinduet og når lige akkurat at se skæret af lyset fra en bil, der i høj hastighed forsvinder.. Døren til værelse 13 står åben. Han løber hen til døren og ser til sin skræk en mand ligge i en blodpøl på gulvet med hovedet nedad. Han ringer 112. Politiet kommer og begynder at undersøge sagen. Umiddelbart kan det tyde på et mord, men der er ingen tydelige spor på, hvem der kunne have begået mordet eller er der?.....

En retsgenetiker tilkaldes for at undersøge gerningsstedet og samle beviser. Og selv om det kan se ud som om, der ikke er efterladt noget spor, kan specialisten ud fra laboratorieundersøgelser af blot en enkelt bloddråbe eller et hår sætte scenen.

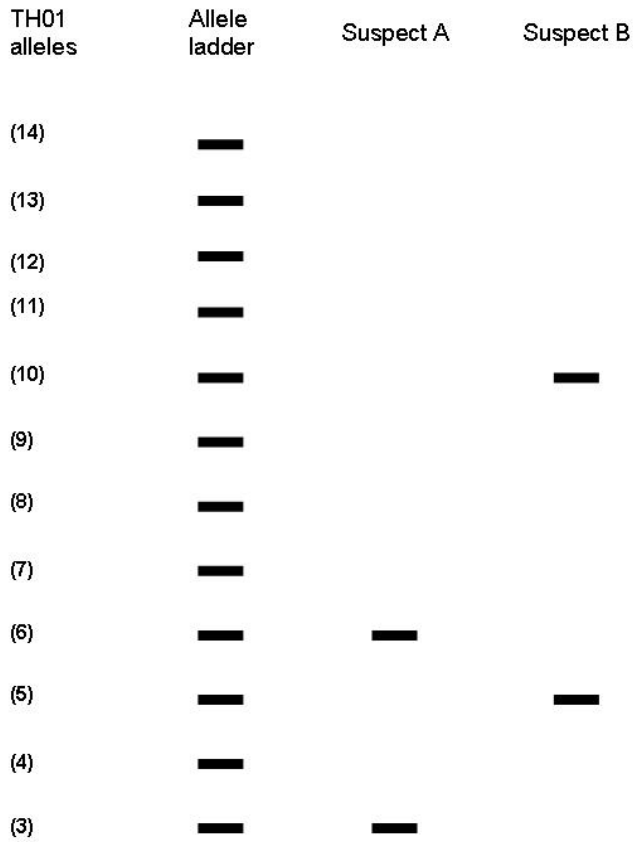
For at kunne lave analyserne har specialisterne brug for biologisk materiale, der indeholder intakt DNA. Ofte er der sporadiske spor på stedet som fx nogle få blodpletter eller lidt afrevet hud. Men med PCR-teknikken er det muligt at mangedoble det fundne DNA. PCR teknikken benytter sig af, at DNA kan replicere sig selv.

Specialisterne indsamler prøver fra offeret, samt fra de forskellige mistænkte samt andre personer, der måtte have været på gerningsstedet. Med PCR-teknikken analyseres prøverne i 13 forskellige loci, idet man benytter genotype-software til at tolke resultaterne fra amplifikationen. For at rydde alle misfortolkninger af vejen analyseres i så mange loci som nødvendigt – her 13. Det muliggør at ethvert individ kan adskilles – med andre ord – desto flere loci, der analyseres desto sikrere er testen.

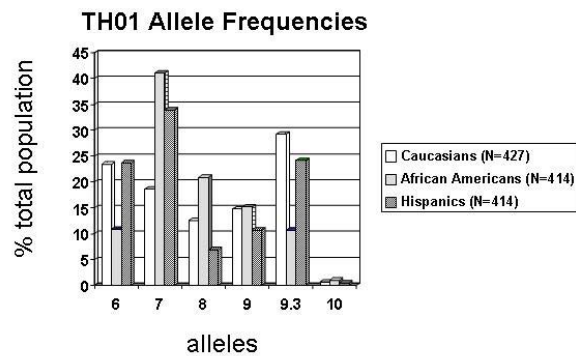
Lad os se nærmere på en case med 2 mistænkte A og B. Det locus, der her analyseres for, TH01, har 12 mulige alleler. Fx har mistænk A en allel med 6 gentagne TCAT-sekvenser, en anden allel med 3 gentagne TCAT-sekvenser. Tilsvarende ses den på figuren, at mistænkt B har hhv. 5 og 10 TCAT-sekvenser.



Prøver fra de to mistænkte amplificeres ved hjælp af PCR idet man bruger en primer specifik mod TH01-locus. Efterfølgende analyseres prøverne ved hjælp af elektroforese. Prøvernes båndmønstre sammenlignes med en allel-stige, som muliggør identifikation af de tilstedeværende alleler – se figur:



Allelmønstre følger ikke normale matematiske regler, men skifter afhængig af hvilke populationer, der studeres. Dette illustreres på den næste figur:

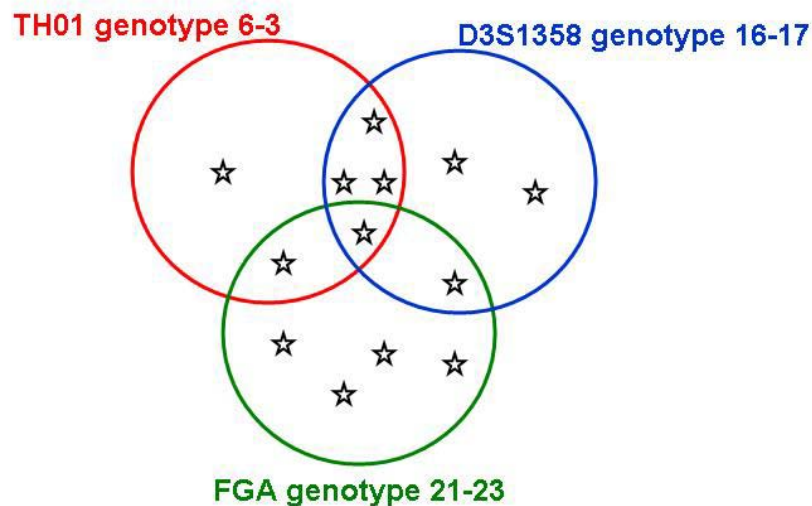


Eftersom kromosomerne nedarves efter Mendels love er det muligt at udregne genotypefrekvenser ved at gange allel-frekvenserne med hinanden.

Lad os se nærmere på TH01:

Mistænkt B har 2 kopier af TH01 allel-10. For kaukasier (læs europæere) er allelhyppigheden af en enkelt kopi af allel-10 0,008. For en kaukasier med to allel-10 er den samlede hyppighed på TH01 således $0,008 \times 0,008 = 0,000064$ – dvs. ca. 1:700 000.

På samme måde beregner man de andre hyppigheder og som det vil fremgå, er det muligt at adskille hvert enkelt individ fra hinanden jo flere alleler, der undersøges for. Dette er illustreret på nedenstående figur:



I dette kit vil der blive lavet PCR med en blanding af Dna-skabeloner, der bruger et par PCR-primere. Det resulterer i PCR-produkter i størrelse 200 til 1000 bp, som kan analyseres på en agarosegel. En DNA allel-stige med bånd i størrelse 100 – 1500bp løber parallelt med prøverne og muliggør identifikation af allelerne.

Lærerens forberedelser:

Tidsforbrug

Til selve forsøget:

Der skal afsættes mindst 3 lektioner á 50 minutter til laboratorietimer eller 2 moduler á 90 minutter til dette forsøg. Vær desuden opmærksom på, at der derudover skal bruges 2½ time på termalcyklning – dette kan dog typisk gøres natten mellem to moduler. Det anbefales, at eleverne er grundigt forberedte, før de laver forsøget.

Til lærerens forberedelser: ca. 1½ time op til hver forsøgsgang.

Forberedelsen beskrives op til de enkelte forsøgsgange. Vær opmærksom på at visse forberedelser skal ske umiddelbart inden forsøget, hvorimod andre forberedelser som fx gelstøbning kan passende gøres flere dage i forvejen.

Sikkerhed

Det er ikke tilladt at spise, drikke eller ryge i laboratoriet

Det anbefales kraftigt at bære handsker og øjenbeskyttelse.

Alle vasker hænder før og efter forsøget.

Hvis man får nogen af opløsningerne i øjet, skylles der med vand i 15 minutter

Selv om den benyttede farve ikke er giftig, anbefales det, at der bæres handsker for at undgå at blive farvet blå. Tilsvarende er det en fordel at bære kittel, så der ikke kommer farve på ens tøj.

Forberedelserne op til PCR delen:

(Ca. 45 minutter)

Bemærk: punkt 3 kan først laves umiddelbart lige inden forsøget

1.

Klargør isbade – et pr. gruppe

Mastermix, primere og DNA optøs ved stuetemperatur.

Centrifuger ved lav hastighed således at hele indholdet befinder sig i bunden af røret.

Stil alle rør på is så snart de er klar.

2.

Mærk rørene til elevgrupperne:

Mærk 9 gule 2mL's eppendorfrør "MMP"

Mærk 8 lilla 2 mL's eppendorfrør "GS" (Gerningssted/Crime Scene)

Mærk 8 grønne 2 mL's eppendorfrør "A" (mistænkt A)

Mærk 8 blå 2 mL's eppendorfrør "B" (mistænkt B)

Mærk 8 orange 2 mL's eppendorfrør "C" (Mistænkt C)

Mærk 8 pink 2 mL's eppendorfrør "D" (Mistænkt D)

3.

Klargøring af mastermix + primere (MMP)

Dette punkt udføres først, når der højst er 1 time til forsøgets start.

Tilsæt **1000µL mastermix** til det ene rør mærket MMP

Tilsæt **20µL Primere** til det samme rør.

Bland godt og pulse-spin (kort centrifugering) for at samle indholdet i bunden.

Blandingen bliver tydelig blå.

Stil røret på is.

Inden man går til fordelingen i punkt 4 centrifugeres igen!

4. Overfør 120µL af blandingen MMP til hvert af de resterende gule rør mærket "MMP".
Stil alle rørene på is – stil dem i skumholderne
5. Overfør 25µL gerningssteds Dna-skabelon til hvert af de 8 lilla rør mærket "GS"
6. Overfør 25µL Mistænkt A Dna-skabelon til hvert af de 8 grønne rør mærket "A".
7. Overfør 25µL Mistænkt B Dna-skabelon til hvert af de 8 blå rør mærket "B".
8. Overfør 25µL Mistænkt C Dna-skabelon til hvert af de 8 orange rør mærket "C".
9. Overfør 25µL Mistænkt D Dna-skabelon til hvert af de 8 pink rør mærket "D".
10. Fordel rørene med 1 af hver slags til hver gruppe. Stil rørene i skumholderne og stil alle skumholderne på is. *Fordelingen, der finder sted i punkt 5-9, kan også udføres ved, at hver gruppe selv afpipetterer.*
11. Klargør elevernes gruppeborde.
Hver gruppe har brug for:
Isbad med MMP, CS, A, B, C og D rør
PCR-rør
PCR adaptorer – dvs. eppendorfrør uden låg
Skumholder
Mærketusch
Mikropipette 2-20µL
Spidser til mikropipetten – med aerosolbarriere

Programmer PCR-maskinen (Thermalcykler)

Trin	Funktion	Temperatur	Varighed	Antal cykler
Denatureringsstart	Denaturerer	94°C	2 minutter	1
Thermalcykling	Denaturerer	94°C	30 sek.	35
	Påhæfter	52°C	30 sek.	
	Forlænger	72°C	1 minut	
Afslutning	Forlænger	72oC	10 minutter	1
Stabilisering	stabiliserer	4°C	Lang tid	1

Forberedelse til elektroforesen af PCR-produkterne (Tidsforbrug: ca. ½ time + 2½ time til at køre gelerne)

Punkt 1-5 kan udføres op til 2 uger før forsøget!

1.

Tø Orange G loading dye og allel-stigen. Pulse-spin/centrifuger kort for at få indholdet ned i bunden af rørene.

2.

Tilsæt 50µL Orange G loading dye til allel-stigen. Dette vil give en orange blanding. Bland godt og centrifuger kort for at få materialet til at samle sig.

3.

Mærk 8 eppendorfrør med "LD" for Loading dye og 8 eppendorfrør med "AL" for allel ladder (allel-stige).

4.

Overfør 60 µL Orange G loading dye til hvert af rørene mærket "LD". Kan opbevares i op til 2 uger ved 4°C.

5.

Overfør 25µL af blandingen Allel-stige med Orange G til hvert af rørene mærket "AL". Kan opbevares i op til 2 uger ved 4°C.

6.

Fremstil elektroforesebufferen: Bufferen, der leveres med kittet er 50x TAE. For at fremstille en 1x koncentration tages 20 mL TAE 50x til 0,980 L demineraliseret vand. Der vil til 8 geler være brug for i alt ca. 3L elektroforesebuffer.

Støb gelerne: 3 % agarosegel: 3g agarose i 100 mL elektroforesebuffer. Blandingen opvarmes i mikrobølgeovn – stop hvert 30 sekund – dels for at undgå at det koger over samt for at tjekke blandingens klarhed. Blandingen skal være helt klar, før gelen kan støbes. En gel på 7x10 cm bruger ca. 45 mL agarosegel.

Tips og tricks

Mastermix – hvad er det?

Mastermix består af en blanding af nucleotid-triphosphat, buffer og Taq DNA polymerase. Den endelige mastermix klargøres ved at tilsætte primere til mastermix'en lige for forsøgets start. Det vil sige, at når DNA skabelonen tilsættes mastermix'en vil alle de komponenter, der er nødvendig for en PCR reaktion være til stede.

Mastermix'en, der leveres, er en 2x koncentration og den indeholder 0,05 units/µL Taq-polymerase, 3mM MgCl₂, 1,6 mM nucleotid-phosphat og 1µM af hver primer.

Bemærk: Så snart mastermix'en er færdigblandet skal den **opbevares på is** indtil brug – og der må ikke gå mere end 30-60 minutter før den bruges.

Ved at opbevares blandingen koldt forhindrer man Taq-polymerasen i at danne kunstige "primer-dimer" bånd, når den arbejder før den skal.

Primere – hvad er det?

Primere er korte stykker af DNA, oligonucleotider, på 3-30 nucleotider. Primerne er komplementære til det Dna stykke, som man ønsker at kopiere vha. PCR.

Primere er nødvendige, fordi polymerasen ikke af sig selv kan danne en ny Dna-kæde. Polymerasen har brug for en nucleotidkæde, som den kan fortsætte med at bygge på.

Se yderligere appendiks A i den engelske manual.

Hvorfor er primerne blå?

Der er tilsat xylen cyanol, således at det er lettere at se, hvad der sker. Ved elektroforesen bevæger farven sig i gelen og viser dermed, at elektroforesen er i gang.

Manuel PCR

Har man ikke en PCR-maskine, er det muligt at lave en manuel PCR.

Her er det vigtigt at bruge **PCR-rør med skruelåg**, som duppes med en dråbe mineralsk olie for at undgå fordampning.

Tidsskemaet er det samme som for PCR-maskinen.

Det kan være slidsomt, men det virker!

Lad eventuelt eleverne tage 10 minutter ad gangen, - så føles det ikke så slidsomt.

Orange D loading dye - markørfarve

Denne loading farve indeholder glycerol, hvilket øger densiteten af prøverne. Dermed er man mere sikker på, at prøverne lægger sig i bunden af brøndene i gelen. Loading farven indeholder et farvestof, der kaldes Orange G. Dette farvestof bevæger sig i gelen med samme hastighed som et DNA stykke på 50bp.

Sørg for at Orange D ikke løber ud af gelen, da det vil være tegn på, at nogle Dna-bånd også er på vej ud af gelen.

Kan jeg bruge ethidiumbromid?

Ja, men det er ikke nødvendigt. Desuden er ethidiumbromid carcinogent, hvorfor det bør undgås.

Skulle man ønske at bruge ethidiumbromid, skal koncentrationen være på 0,05µg/ml agarosegel.

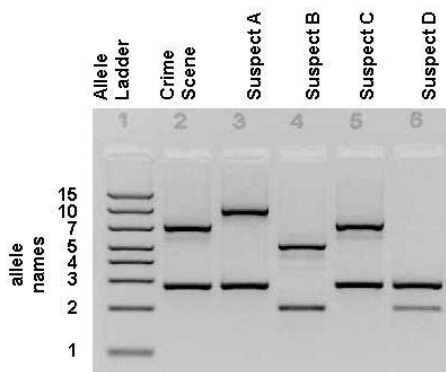
Da Fast Blast DNA farven "slukker" ethidiumbromid, bør man kigge på ethidiumbromid-båndene, før der farves med DNA Fast Blast.

Allelstigen

Allelstigen indeholder 8 bånd med følgende længder: 1500bp, 1000bp, 700bp, 500bp, 400bp, 300bp, 200 bp og 100 bp

Når det færdige resultat er klart, vil man se et billede som dette:

Billedet tolkes
og den skyldige
identificeres



Hvilke dele af
det humane

genom bruges i krimalforskningen?

De DNA-dele, der bruges, er forskellige locus, som ikke har nogen kendt funktion.

De DNA-sekvenser, der bruges, er ikke-kodende områder, som indeholder særlige *Short Tandem Repeats* også kaldet *STR*. Se eksempel fra locus TH01, der er beskrevet i indledningen.

Elevvejledning

PCR trin for trin

PCR involverer en række gentagne cykler, der hver består af følgende tre trin: Denaturering, primer påsætning og forlængelse af den påhæftede primer ved hjælp af *Taq* DNA-polymerase.

Før selve DNA amplifikation påbegyndes, klargøres de prøver af genetisk materiale, som skal undersøges, dvs. fra hhv. gerningsstedet og de mistænkte

Derefter blandes skabelon DNA, primers (oligonucleotider), termostabil DNA-polymerase (*Taq*), de fire baser (T, A, G og C) og reaktionsbuffer i et eppendorfrør. Eppendorfrøret placeres i termocykleren eller de nødvendige vandbade klargøres.

Termocykleren indeholder en aluminiumsblok, hvori prøverne placeres. Denne aluminiumsblok kan lynhurtigt afkøles og opvarmes til meget forskellige temperaturer. Dette kaldes termalcyklning.

I en cyklus opvarmes først til 94 °C, hvorved Dna-strengene vil denaturere eller adskilles. Dette kaldes denatureringstrinnet.

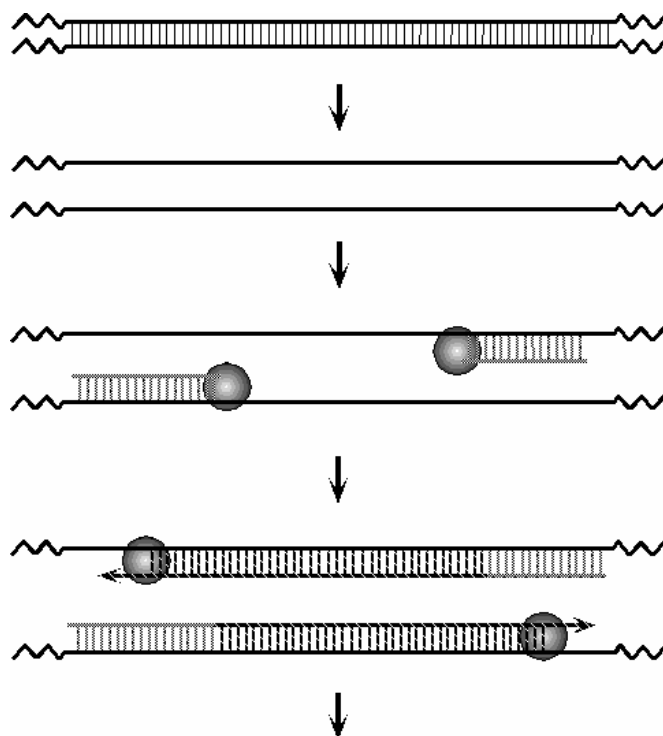
Derefter afkøles lynhurtigt til 60 °C, hvorved primeren bindes til de enkelte skabelon-DNA-streng. Dette kaldes vedhæftningstrinnet. De to oprindelige Dna-streng vil eventuelt samle sig igen eller konkurrere med primerens komplementære bindingssteder. Men der tilsættes i dette forsøg så megen primer, at den originale Dna-streng "udkonkurreres".

Til sidst opvarmes til 72 °C, hvorved *Taq* DNA polymerase forlænger de komplementære DNA streng med start fra primeren og den endelige færdige kopi af Dna-dobbeltstreng kan dannes. Dette trin kaldes forlængelsestrinnet.

Taq polymerasen arbejder mest effektivt ved 72°C, hvorfor det er vigtigt at ramme præcis denne temperatur.

En cyklus = denaturering + vedhæftning + forlængelse

De to nye sæt dobbeltstreng Dna, der er dannet nu, danner dernæst udgangspunkt for næste cyklus og på denne måde mangedobles Dna-strengantallet efterhånden. Ved 40 cykler dannes der eksempelvis over en milliard kopier af det originale DNA stykke.



Normalt køres der 40 cykler. Ved hver cyklus fordobles antallet af Dna-streng. Efter 40 cykler vil der således være $1,1 \times 10^{12}$ ekstra kopier af den oprindelige stump DNA.

PCR laver DNA med eksakte længder og sekvenser. I den første cyklus vedhæftes de to primere til Dna-udgangsmaterialet i hver sin ende på de to komplementære streng. Efter den første fuldendte cyklus er der dannet to nye streng, der er kortere end det oprindelige DNA, men længere end det specifikke Dna-stykke, som man ønsker at mangedoble. Først efter 3. cyklus er man oppe på fuld længde.

Når man således har fået den præcise længde på DNA, påbegyndes ved de næste cykler den eksponentielle fordobling (X^n , hvor X er antallet af udgangsmaterialet og n er antallet af cykler). Der vil altid være et sæt originalt udgangs-DNA-materiale, som ikke er fuldt kopieret. Dette betyder dog ikke noget, når der køres et tilstrækkeligt antal cykler.

Hvad skal vi bruge?

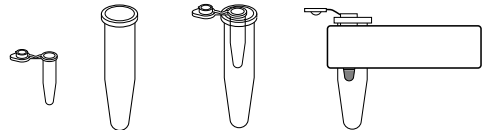
Materialer:

Isbad med DNA allel-stige, mastermix og primere (MMP, blå)	1	<input type="checkbox"/>
Dna fra gerningsstedet og de mistænkte	5	<input type="checkbox"/>
PCR-rør (med <i>skruelåg</i> hvis der skal laves manuel termalcyklung)	5	<input type="checkbox"/>
PCR adaptorer (eppendorfrør uden låg)	5	<input type="checkbox"/>
Skumholder	1	<input type="checkbox"/>
Mærkepen	1	<input type="checkbox"/>
Mikropipette 2-20 μ L	1	<input type="checkbox"/>
Spidser til mikropipetten – med aerosolbarriere	1 æske	<input type="checkbox"/>

Fremgangsmåde ved første del:

1

Mærk de udleverede PCR-rør med hhv. CS, A, B, C og D samt dine initialer.



2

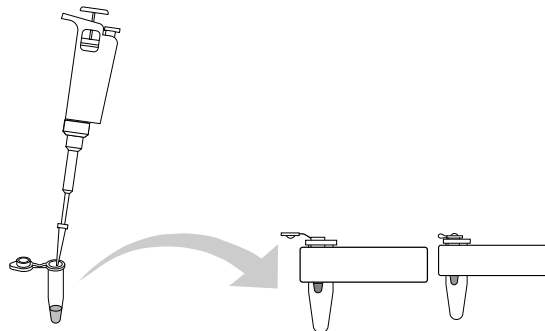
Stil rørene på is i hele forberedelsen

3

Overfør 20 μ L Dna fra de udleverede eppendorfrør til de respektive PCR-rør. Følg skemaet.

Fx overføres 20 μ L fra GS-eppendorfrøret til dit GS-mærkede PCR-rør.

Vigtigt: Skift pipettespids hver gang du arbejder med et nyt rør.



4

Overfør derefter 20 μ L mastermix (MMP) til hvert PCR-rør.

Brug pipetten til at blande med ved at suge op og ned et par gange.

Vigtigt: Skift pipettespids hver gang du arbejder med et nyt rør.

Luk rørene.

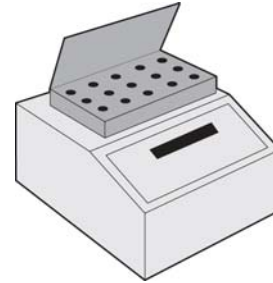
Indholdet i PCR-rørene skulle nu gerne være blå

5

Stil de lukkede PCR-rør i hver sin adaptor

6

Start PCR-maskinen (eller den manuelle termalcyklings)



Hvad skal vi bruge ved anden forsøgsgang:

Materialer:

3% agarosegel	1	<input type="checkbox"/>
PCR-prøver fra forrige forsøgsgang	5	<input type="checkbox"/>
TAE elektroforesebuffer (1x konc.)	350 mL	<input type="checkbox"/>
Orange G loading dye	60 μ L	<input type="checkbox"/>
Allel-stige (orange væske)	25 μ L	<input type="checkbox"/>
Mikropipette 2-20 μ L	1	<input type="checkbox"/>
Spidser med aerosolbarriere til mikropipetten	1 æske	<input type="checkbox"/>
Gelelektroforeseudstyr		<input type="checkbox"/>
Strømforsyning		<input type="checkbox"/>
Fast Blast DNA farve (fælles for alle grupper)		<input type="checkbox"/>
Kar til farvning af gel		<input type="checkbox"/>

Fremgangsmåde:

Elektroforese:

1

Gør elektroforeseapparatet klar

2

Tag de 5 PCR-rør og placer dem i hver deres PCR-adaptor og placer dem i skumholderen

3

Tilsæt 10 μ L Orange G loading dye til hvert PCR-rør og bland godt ved at suge op og ned med pipetten.

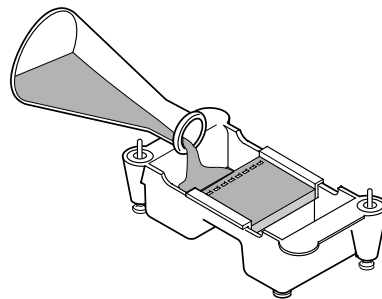
Vigtigt: Husk at skifte pipettespids for hvert nyt rør.

4.

Overfør 20 μ L fra hvert rør til brøndene i gelen.

Rækkefølgen skal være:

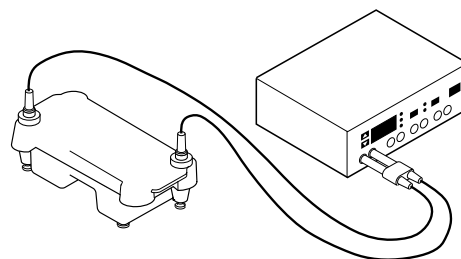
1. Allel-stige (reference)
2. Gerningsstedet
3. Mistænkt A
4. Mistænkt B
5. Mistænkt C
6. Mistænkt D



5

Start elektroforesen og kør i 30 minutter ved 100V.

Sørg for, at den orange farve ikke løber ud af gelen



Farvning af gelen:

6

Flyt forsigtigt gelen fra elektroforesekarret over i det kar, der skal bruges til farvning.

Pas på! Gelen glider meget let.

7

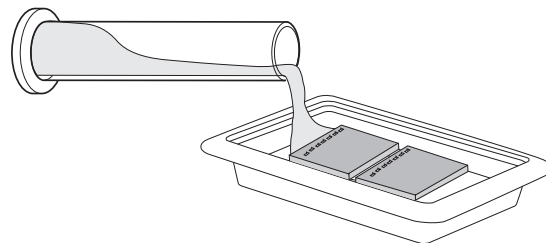
Farv gelen – benyt én af de to metoder:

A

Langsom farvning – gelen står natten over. denne metode **anbefales**

B

Hurtig farvning – ca. 20 minutter



A Langsom farvning – anbefales.

1

Tilsæt 120 mL 1x Fast Blast DNA farve til farvekarret.

Karret kan indeholde 2 geler

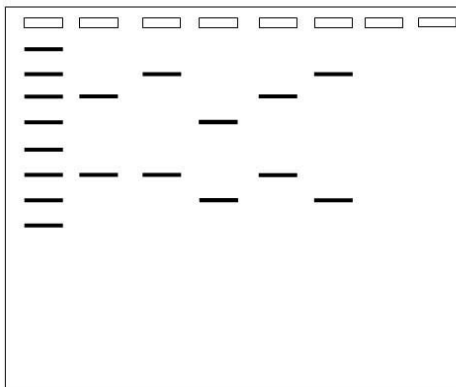
2

Lad farven virke i 4-24 timer. Ryst let undervejs, hvis det er muligt

3

Hæld farven fra. Gelen er nu klar, idet det **ikke** er nødvendigt at affarve.

4
Placer gelen
mod en lys
baggrund og
 aflæs
resultatet



5
Lufttør eventuelt gelen mellem to lag cellofan
eller OH-transparenter.

6
Gelen kan opbevares længe, men undgå at den
udsættes for direkte lys, da det vil få båndene til at blegne

B Hurtig farvning

Med denne metode farves gelen på 15 minutter,
men efterfølgende er det nødvendigt med megen
affarvning for at kunne se båndene bedst muligt:

1
Dæk gelen med 100x Fast Blast DNA farve

2
Farv gelen i 5 minutter mens der rystes let
Hæld farven tilbage på flasken.
Farven kan genbruges 7 gange

3
Vask gelen med 40-55°C varmt vandhanevand
i 10 sekunder

4
Vask derefter gelen 3 gange 5 minutter i
lunkent vand (40-55°C)
Hvis ikke gelen er tilstrækkeligt affarvet,
fortsættes der, til det er tydeligt at se båndene

5

Placer gelen mod en lys baggrund og aflæs resultatet

6

Lufttør eventuelt gelen mellem to lag cellofan eller OH-transparenter.

7

Gelen kan opbevares længe, men undgå at den udsættes for direkte lys, da det vil få båndene til at blegne