
Biotechnology Explorer™

DNA Fingerprinting Kit Instruktionsmanual

Katalognummer
166-0007EDU

explorer.bio-rad.com

Kittet sendes ved stuetemperatur. Åben kittet straks ved modtagelse og opbevar de enkelte dele ved -20°C , 4°C eller stuetemperatur som anvist på de enkelte dele.

Kopiering af enhver del af dette dokument er kun tilladt til undervisningsbrug



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)

4006096

Formål

V.h.a. restriktionsanalyse, at undersøge om de fundne skildpadder i Iglø er udsatte sydeuropæiske skildpadder eller, om der er tale om sydfra indvandrede eksemplarer eller om der er tale om en helt oprindelig population indvandret i en varmetpiede efter sidste istid.

Materialer

DNA Fingerprinting Kit (166-0007EDU), Gelelektroforeseapparat (evt. Mini-Sub Cell GT System 166-4000EDU), strømforsyning (evt. PowerPac Junior Power Supply, 165-5048EDU) – alt fra Bio-Rad Laboratories, Mikropipetter (0 - 20µL), isbad, vandbad ved 37°.

Hvis der er kapacitet til det, endvidere: Centrifuge til microcentrifugerør, vandbad ved 60°, mikrobølgeovn.

Teori

Denne øvelse er baseret på øvelseskittet: DNA fingerprinting fra firmaet Bio-Rad Laboratories. Øvelsen er en simplificeret model for en retsgenetisk DNA-metode til at identificere et individ ud fra en større population, og kan som sådan benyttes som model for, hvorledes retsgenetikere anvender moderne bioteknologi i forsøget på at identificere mordere eller sædelighedsforbrydere. Metoden er selvfølgelig også anvendelig i fadderskabssager. Af mere specielle anvendelser kan nævnes at metoden har afsløret svindel med hamburgerbøffer, der var iblandet svinekød, og det var ikke så heldigt, da kødet var leveret til et arabisk land. Eller hvad med sushi, som viste sig at indeholde kød fra delfiner og hvaler.

Metoden benyttes desuden videnskabeligt i arbejdet med at fastslå slægtskabet mellem arter eller evt. i opsplitningen af arter i forskellige underarter.

Ved DNA fingerprinting metodens anvendelse i kriminalsager og benytter man at menneskets kromosomer i visse introns indeholder nogle sekvenser, som ikke koder for noget kendt, men hvis frekvens er ret unik Klippes disse fragmenter med restriktionsenzym og opformeres vha. PCR elektroforese danne et karakteristisk båndmønster, som er karakteristisk I dette eksperiment klippes med EcoRI og PstI, og de klipper som vist i

DNA fra en mistænkt kan ved denne metode sammenlignes med DNA fra kan med 99,99% fastslå om der er tale om identisk DNA, og dermed om sandsynlighed stammer fra samme person.

Agarose-gelelektroforese anvendes til næsten al kvalitativ og kvantitativ elektroforese vil DNA fraktioner adskilles i agarosegelen, således at små hurtigst, og dermed længst, mens større fraktioner vandrer kortest. D.v.s. fraktioner efter molarmasse eller antal nucleotider. Da DNA indeholder pH 7,6 (bufferens pH) alle har en negativ ladning, vil de alle vandre mod den positive pol i elektroforeseapparatet, derfor anbringes brøndene altid ved den negative pol.

Gelen er en fast gelé (som citronbudding) som er støbt af Agarose, et stof der minder om husblas og udvindes af tang. Agarosen fås på pulverform og opvarmes i vand blandet med en buffer. Når blandingen er flydende kan den hældes i elektroforesekarret, hvor den stivner. Bufferen indeholder flere ting, bla. et stof der sørger for at pH ikke ændrer sig samt andre hjælpestoffer (se. evt. note i slutningen af forsøget).

I gelen er der støbt brønde, hvori prøverne med klippet DNA anbringes. Over det hele er hældt en elektroforese buffer, en væske der skaber kontakt mellem de to elektroder. Når strømmen sluttet vil alle positive ioner vandre mod - polen og alle negative ioner, bla. DNA vandre mod + polen. DNA vil vandre i gelen. Agarosegelen er oftest støbt med et 1-2% indhold af agarose. Jo højere procent, jo trangere er pladsen for de vandrende DNA fragmenter. En 2% agarose-gel er således særdeles velegnet til separation af små DNA fragmenter, mens en 1% gel er bedre til separation af større fragmenter.

For at følge elektroforesen tilsættes til hver brønd lidt farve (LD = Loading dye).

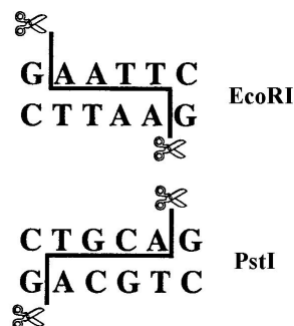
Vandringsfarven (LD = loading dye) er sammensat af to farver, og vil derfor vise sig som to blåsorte bånd, der vil vandre mod den positive pol med hver sin hastighed. Den hurtigste vil vandre med samme hastighed som DNA fragmenter på 500 bp (basepar), mens den langsomste vil følge DNA fragmenter på 5 kbp (5000 bp). Elektroforesen stoppes før det hurtigst vandrende farvede bånd når enden af gelen.

I forsøget benyttes brønd 1 til en DNA markør. Den indeholder virus-DNA, som er klippet i kendte stykker, således at de enkelte bånd her kan relateres til DNA -fragmenter, hvis indhold af basepar er kendt. Markøren kan altså benyttes til størrelses bestemme DNA -fragmenter i de øvrige analyser.

Efter elektroforesens afslutning farves de ellers usynlige DNA-holdige bånd, samtidig udvaskes markørbåndene. En agarosegel med DNAfragmenter fra gerningsstedet og fra mistænkte kunne tage sig ud som vist på figur 2.

Øvelsen består af tre trin, som principielt kan foregå over tre forskellige øvelsesdage eller lektioner.

- Forberedelse af DNA og skæring med restriktionsenzym.
- Støbning af agarose-gel, DNA forberedelse og påsætning på gelen, gelelektroforese og farvning.



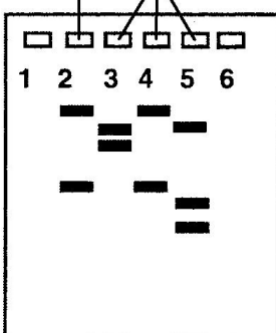
slægtskabsundersøgelser små repeterede DNA -for det enkelte menneske. teknik, vil de ved for det enkelte menneske. figur 1 .

et gerningssted, og man det med stor

Figur 1. Klipping med EcoRI.

DNA analyse. Ved fraktioner vandrer metoden adskiller fosfatgrupper, som ved

fra gerningsstedet tre mistænkte



Figur 2. Aftryk af agarosegel.

- Affarvning af gelen.

Baggrundshistorie for undersøgelsen.

MIDTJYLLANDS AVIS • 18 • ONSDAG 23. OKTOBER 1996

Vilde sumpskildpadder ved Salten Å og i Igelsø

Naturvejleder er overbevist om at en lille vild bestand af sumpskildpadder har overlevet ved bl.a. Salten Å og Igelsø

Hvis der er noget der i øjeblikket vil kunne begejstre naturvejleder Jan Kjærgaard fra Silkeborg Skovdistrikt er det fundet af et skildpadder-æg. Æg eller unger er den sidste lille brik, der vil kunne endelig bekræfte den antagelse, han som omtalt på forsiden bliver mere og mere overbevist om: sumpskildpadden har overlevet i Midtjylland, selvom lærerbøgerne siger, at den er uddød i Danmark for et par tusinde år siden.

Sumpskildpadderne er meget sky, men der er alligevel en række iagttagelser af dem. Hver gang har man sagt, at det må være en skildpadder, som nogen har sat ud, siger Jan Kjærgaard.

Fund ved bl.a. Salten Å og Igelsø i Velling skov har overbevist ham om, at det ikke er udsatte skildpadder, men en naturlig bestand. Det er der en række årsager til: Der er i hvert fald en halv snes sikre observationer af sumpskildpadder i det midtjyske. Iagttagelserne er gjort over en periode på 30 år. Det er ikke de nordamerikanske rødede terrapier, som er de almindelige akvarieskildpadder. Indenfor det seneste år har Jan Kjærgaard kendskab til fire sikre iagttagelser. Han har selv undersøgt to af disse skildpadder og konstateret, at det er skildpadder af den nordeuropæiske art, ikke den sydeuropæiske, der også i mindre omfang har været solgt til akvarier.

Skulle der være tale om udsættelser, skulle nogen selv har foretaget import og udsat skildpadder fra Feks. Tyskland eller Polen. Der skulle være tale om systematiske udsættelser over en lang årrække. Det virker

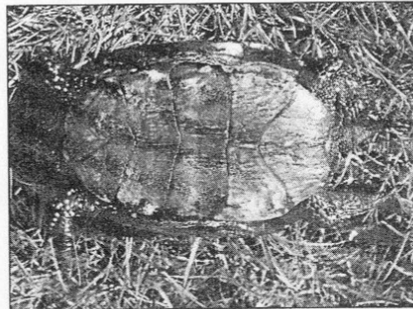
meget usandsynligt, siger Jan Kjærgaard. De to skildpadder, Jan Kjærgaard har undersøgt, var en hun på 16 cm og en han på 13,4 cm.

Æg i sandet

Sumpskildpadderne graver deres æg ned i lune sandede

områder. Æggene klækker om efteråret, men ungerne bliver liggende i deres underjordiske »hule« frem til foråret, og lever i den mellem-liggende periode af blommesækken.

Vi ved ikke, hvor lave temperaturer de nordeuropæiske sumpskildpadders unger kan overleve ved.



Den hunschildpadder, Jan Kjærgaard undersøgte, blev fotografert, inden den blev sat ud igen. Her ligger det flotte eksemplar på 16 cm og spræller med benene i vejret.

Foto: Gunnar Høj Christensen.

Men det er påvist, at de nordamerikanske kan overleve ved temperaturer ned til otte graders frost. At sumpskildpadden uddøde i Danmark - hvis den da gjorde det - er forklaret med klimaforandringer. Og der er ingen tvivl om, at ungerne i nogle kolde vintre går til i vort klima, men jeg anser det for sandsynligt, at de mange år vil kunne overleve, siger Jan Kjærgaard.

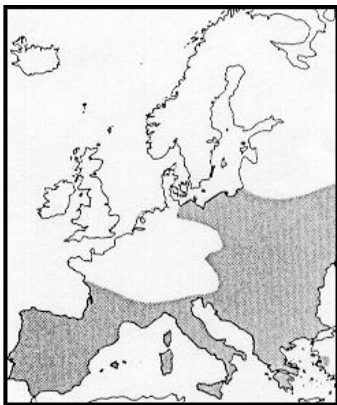
Der er i øvrigt taget blodprøver fra de to skildpadder, Jan Kjærgaard har undersøgt. Blodet er sendt til undersøgelse hos en ekspert i Tyskland, der arbejder med krybdyrers genetik. Jan Kjærgaard ville gerne have ventet med at fortælle om de midtjyske sumpskildpadder, til resultaterne af undersøgelse i Tyskland foreligger til foråret. Men rygter er sluppet ud, og nu bekræftet Jan Kjærgaard gerne, at alt tyder på en zoologisk sensation: Sumpskildpadderne har i 2.000 år haft et hjemmeligt liv i det midtjyske.

Jan Kjærgaard hører meget gerne om andres iagttagelser af skildpadder og vil meget gerne undersøge fundne skildpadder, der efterfølgende vil blive sat ud igen på findestedet. Han kan kontaktes på Silkeborg Statsskovdistrikt.

ben

Hov hvad er nu det. I august 1996 var der avisskrivi om fund af sumpskildpadder i Danmark. Det er vel ingen sensation, da der hver sommer berettes om fund af sumpskildpadder i den danske natur, og endda om skildpadder der har levet i naturen i over 10 år.

Der har dog været bred enighed om at det var dyr undsluppet fra fangenskab, evt. udsatte af lillebror som pludselig blev mere interesseret i piger end i "padden". En skildpadder kan jo være et næsten livslangt bekendtskab, da de jo bliver gamle. Den europæiske sumpskildpadder (Emys orbicularis) har en nutidig naturlig udbredelse som vist her på kortet, men der findes lokale bestande måske underarter, som har meget lidt kontakt med andre populationer.



Figur 3. Den europæiske sumpskildpadder

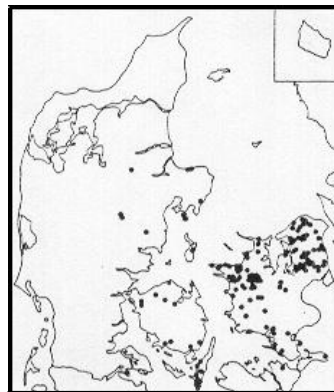
Sumpskildpadder kan godt tåle de kolde vintre, da de graver sig ned og sommerens varmeste måneds gennemsnits temperatur bliver under 18°, klækkes. Det forklarer også at der kan findes endda gamle udsatte Danmark. Det enkelte individ kan overleve, men forsøg på forplantning haft det fint i den danske natur ses også af at de fundne rygskjolde har hvilket er lige så meget som man finder længere syd på, så svageste led har oplagt været formeringen.

Balkan dyrene er således genetisk lidt afvigende fra de nordeuropæiske populationer, hvilket kan erkendes ved at underkaste populationerne genetiske undersøgelser. Det kunne være at klippe Dna-prøver med restriktionsenzym(er), og herefter udføre gel elektroforese på analyserne. Visse båndmønstre vil være konstante for de enkelte populationer, men variere i forhold til andre.

Finder man således en sumpskildpadder i naturen, og foretager en sådan analyse på den, kan man ud fra båndmønstret se, hvilken population den stammer fra.

De dyr der handles i dyrehandler er kommere af sumpskildpadder fra Grækenland.

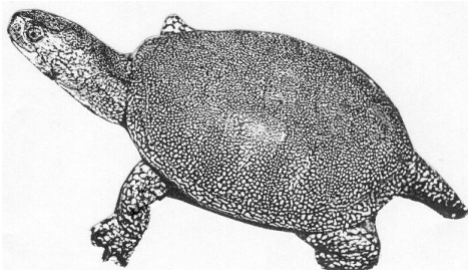
Den nordlige underart har tidligere kendes fra 275 fundne individer i udgravninger. Den er indvandret i den varmetid for 8000-9000 år siden, og natur i ca. 6000 år. Her efter uddøde efterstræbelse, men p.g.a.



Figur 4. Fund af sumpskildpadder. Både

alle importeret eller efter-Balkan området, især

levet i Danmark, idet den forskellige arkæologiske såkaldte postglaciale var en del af den danske den, ikke på grund af klimaforværring, ligger i dvale, men hvis kan deres æg ikke sumpskildpadder i dagens mislykkes. At dyrene har været 14-25 cm lange, skildpadderens livskædes



Figur 5. Det intetanende centrum for undersøgelsen.

Nu kommer så naturvejleder Jan Kærgaard ved Silkeborg Statsskovdistrikt og siger, at der vist lever sumpskildpadder af den nordeuropæiske slags i Velling Igelsø, som ligger i tilknytning til Salten Å syd for Silkeborg, og endnu mere utroligt, at det måske drejer sig om en lokalt overlevende bestand, af den oprindelige danske stamme, som ellers har været regnet for uddød i 2000 år. Der var i hvert fald fanget et eksemplar som lignede den nordiske type i en åluse.

Hvordan kan så stort et dyr, der er fra 25-35 cm fra hoved til halespids leve upåagtet i et så tætbeholdt land som vort i så lang tid?

Det kan der gives flere forklaringer på. Sumpskildpadder holder mest til i stillestående vand som små søer, moser og sumpe med rig vegetation, svært fremkommelige steder. Dette skal så kombineres med at den er meget sky og forsigtig, så selvom den gerne ligger og soler sig på en sten o.l. glider den straks ned i vandet ved mindste forstyrrelse.

Desuden er den nataktiv, og jager i døgnets mørke timer alt fra orme, snegle til fisk.

Alligevel er det mærkeligt om den ikke skulle blive set en gang i mellem, om ikke andet så via dens aktiviteter, idet den når den spiser fisk æder alt undtagen de store knogler og svømmeblæren. Svømmeblæren burde kunne røbe den, da den flyder ovenpå vandet, så en løsgående svømmeblære burde signalere, at der er sumpskildpadder i nærheden.

Det er da også sandsynligt at lokalbefolkninger kan have set disse dyr, men at videnskaben ikke er blevet orienteret om fundene.

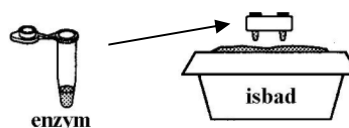
De nuværende fund er dog ikke de første indicier, idet det i 1942 blev foreslået af en professor R. Spärck at sumpskildpadder fundet i Sønderjylland kunne være sådanne efterkommere, da man vidste at der på det tidspunkt fandtes vildtlevende sumpskildpadder i Holsten. På daværende tidspunkt havde man ikke nutidens genetiske redskaber til rådighed, så konklusionen blev dengang at det var efterkommere af udsatte dyr. Interessant er det dog at forfatteren til Danmarks Dyreverden bd. 5. i afsnittet om Europæisk sumpskildpadder side 246-250 ikke udelukker, at der kan være overlevende lokale sumpskildpadder populationer i Danmark, selvom han dog ikke finder det sandsynligt.

Nu er det der er brug for din hjælp. Vi har modtaget prøver af DNA fra sumpskildpadder fanget i Salten Å området, i Polen, Ukraine, Serbien og i Grækenland. Din opgave bliver at undersøge om de nyfundne skildpadder fra Salten Å er tæt beslægtet med disse, om de udgør en isoleret population, og om der evt. kan spores en tidlig indvandningsrute.

Metode

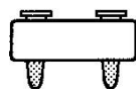
Forberedelse af DNA og skæring med restriktionsenzym

- Røret med restriktionsenzym anbringes i isbad
- Mærk én af hver de farvede microcentrifugerør (E-rør) efter følgende anvisning

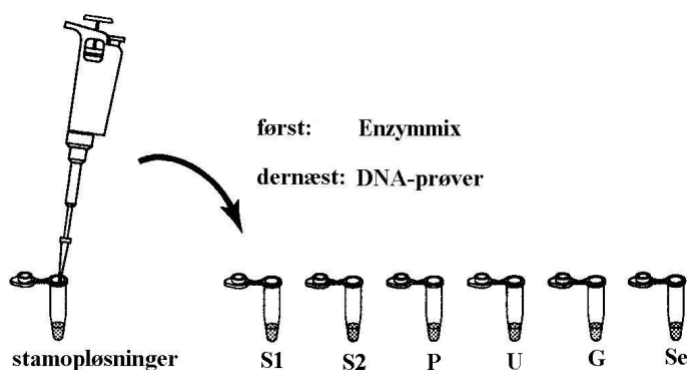


Rørets farve	Symbol	DNA fra
Grøn	S1	Salten 1
Blå	S2	Salten 2
Orange	P	Polen
Violet	U	Ukraine
Rød	G	Grækenland
Gul	Se	Serbien

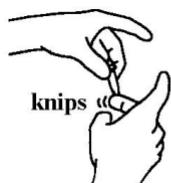
- Mærk også rørene med navn og evt. dato og placer rørene i et
- Tilsæt 10 µL restriktionsenzym til hvert rør.
- Overfør 10 µL af hver DNA til korre-sponderende farvede dråben placeres bunden af ny spids efter hvert rør.



skumplaststativ



stamopløsning E-rør, idet røret. Skift til

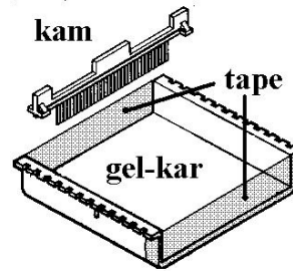


- Luk rørene og bland ved at knipse let til bunden af røret. Blandingen i røret kan nu samles i bunden af røret ved centrifugering eller ved at banke røret let mod bordoverfladen.

- Placer rørene i skumplaststativet og inkuber prøverne i 45 minutter i 37°, eller natten over ved stuetemperatur. Prøverne kan herefter opbevares på is eller i køleskab.

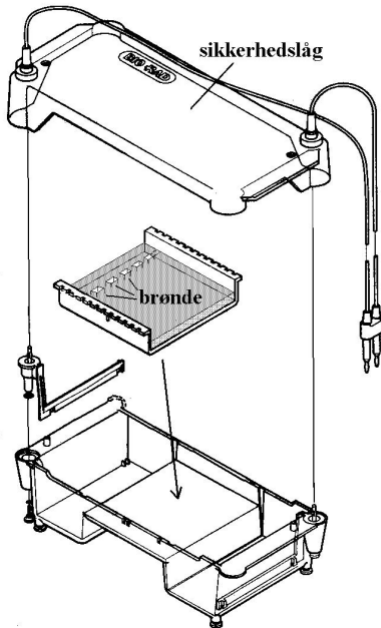
Støbning af elektroforese-gel

- Hvis der fortsættes videre støbes gelerne nu i denne pause
- Gelbakken lukkes i enderne med tape. En kam med mindst 7 anbringes i bakken.
- Fremstil 50 mL agarose-gel ved at opløse 0,5 gram agarose i 50 TAE buffer i 100 mL konisk kolbe.



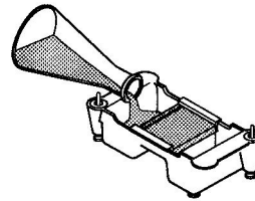
takker

mL brugsklar



- Blandingen bringes i kog, helst i mikrobølgeovn.
- Agaroseopløsningen afkøles til ca. 60° og hældes over i gelbakken (gel-karret). Lad den støbte gel afkøle i mindst 15 minutter.
- Fjern tapen i enderne af gelbakken og overfør gelen til gelelektroforeseapparatet. Vær opmærksom på at gelen skal vende således at brøndene er nærmest minus-polen (den sorte)

- Fyld begge bufferkamre dækket med brugsklar TAE-buffer.



til gelen netop er
TAE-buffer (1 x

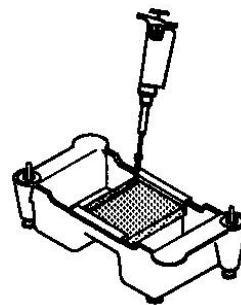
- Efter

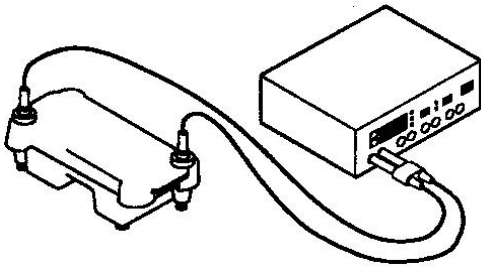
restriktionsskæringen af de 6 DNA-prøver samles rørenes indhold på bunden af rørene ved centrifugering eller ved at banke røret let mod bordoverfladen.

- Tilsæt 5 µL farveblanding (LD = loading dye) til hvert rør, husk ny spids hver gang. Se figur under tilsætning af DNA og enzymmix øverst på denne side.
- Luk rørene, knips for at blande og saml prøven på rørets bund som før.

- Overfør nedenstående volumener af DNA-prøverne til hver sin brønd i gelen, husk en ny spids til hver prøve efter følgende skema.

Brønd	Symbol	Farve	Volumen
1	M	DNA, størrelsesmarkører	15 µL
2	Salten 1	Grøn	20 µL
3	Salten 2	Blå	20 µL
4	Polen	Orange	20 µL
5	Ukraine	Violet	20 µL
6	Grækenland	Rød	20 µL
7	Serbien	Gul	20 µL

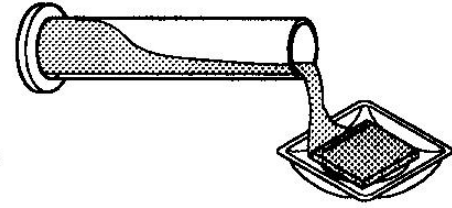
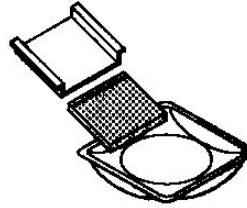




- Sæt låget på elektroforesekarret og forbind ledningerne til strømforsyningen.
- Tænd for strømforsyningen og kør gelen 30 minutter ved 150 V. *Elektroforesen afbrydes under alle omstændigheder når den blå markørfarve er nået halvt op ad gelen, da en del DNA-bånd vandrer foran farvebåndet.*

forsigtigt gelbakken med gelen op og lad forsigtigt gelen glide over i farvekarret.

- Hæld farve over gelen til den er dækket (ca. 60 ml). Læg låg (evt. husholdningsfilm) på farvekarret. Gelen skal farve natten over.



- Tag

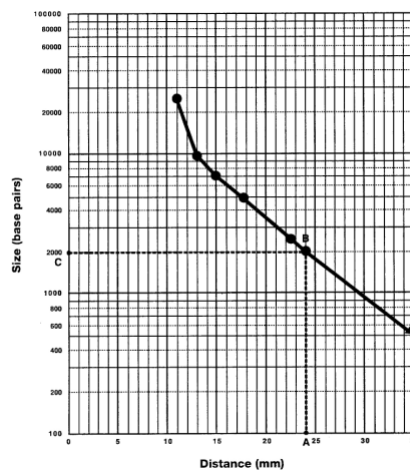
Affarvning og analyse af gelen

- Hæld gelfarven i en flaske – kan genbruges -. Hæld vand på gelen til den er dækket, og affarv gelen i ca. 15 minutter. Skyl evt. en ekstra gang. *Skyllningen må under ingen omstændigheder stå natten over, da farven da udvaskes (båndene affarves).*
- Hæld vandet væk og opmål gelen. Gelen kan fotograferes eller tørres.

Opgave/diskussion

- Tegn/affotografer/kopier gelen og udmål båndene (afstand fra brøndene til båndene i mm)
- Tyd båndmønsteret – Er ”vores skildpadder unikke eller er de blot udsatte stakler.
- Søg de nyeste oplysninger på nettet om Salten Å skildpadderne, og kontroller om jeres hypoteser om oprindelsen passer med den nyeste viden. Diskuter jeres resultater i relation til oplysningerne I kan hente ud fra nettet.
- Hvis restriktionszymerne ikke har fungeret, hvorledes ville gelen da se ud?

- Jo større DNA stykket er, jo kortere vandrer det i sig at hvis man i et koordinatsystem som y-akse logaritmen til antal basepar ($\log(\text{bp})$) og som x-akse afstand båndet har bevæget sig væk fra brønden, så linie. (d.v.s ret linie ved afbildning på semilog-papir). markøren i brønd 1 indeholder 6 DNA fragmenter henholdsvis 23.130, 9.416, 6.556, 4.361, 2.322, 2.027. lav ud fra disse en standardlinie på semilog. papir og fra størrelsen af DNA fragmenterne i de øvrige DNA fragmenter med næsten identiske antal bp kan dobbeltbånd, som kan være svære at erkende som to sådant bånd vil ofte være bredere end de andre. sammenhørende værdier af vandringsvej og bp i koordinatsystem (enkeltlogaritmisk), som vist på vis at de ligger på en ret linie. Bestem herefter DNAstykkerne i analysen.



gelen. Det viser afsætter sætter den får man er ret Lambda DNA med Udmål disse og bestem her ud brønde. To danne bånd, men et Indsæt semilogaritmisk figuren her, og størrelsen af

- Forestil jer to prøver med DNA, som er vist herunder.

Prøve 1:

CAGTGATCTCGAATTCGCTAGTAACGTT
GTCCTAGAGCTTAAGCGATCATTGCAA

Prøve 2

TCATGAATTCCTGGAATCAGCAAATGCA
AGTACTTAAGGACCTTAGTCATTTACGT

Begge DNA stykker klippes med EcoRI. Hvad bliver resultatet? Forklar.

Forberedelse til DNA Fingerprint – lærerens fornøjelser.

Kittet rækker til 8 hold. Hvis der er færre hold kan man forsøge sig med at nedfryse de opløste enzymer og DNA portioner efter brug. Det vil sikkert være en god ide at læreren laver sin egen analyse med et evt. overskyende sæt for rutinens skyld.

Opløs DNA prøverne i 200 μ L sterilt vand (er med i sættet) og opbevar dem i køleskab – ca 1 time før brug. (Det kan kræve vandbad i 10 minutter ved 37°). De 6 flasker med DNA-prøver går på skift fra hold til hold, som så tager hver deres portion. Lad flaskerne rotere samlet.

Opløs restriktionsenzymet i 750 μ L sterilt vand. Blandingen skal stå på is i mindst 5 minutter og ideelt ca. 20 minutter før brug og ikke over 12 timer før.

Den færdige enzymmix: Overfør 80 μ L af den opløste enzymblanding til 1,5 mL mikrorør mærket *enz* i et antal der svarer til antallet af hold (max 8).

Omryst DNA farven (LD = loading dye), opbevares ved stuetemperatur og omrystes før brug.

Forbered lambda størrelses markørerne (DNA-størrelses markører), omrystes før brug. Opbevares i køleskab.

Forbered TAE bufferen. Opbevares ved stuetemperatur. Der kræves ca. 275 mL pr elektroforesekammer ved brug af Mini-Sub Cell GT System, samt ca 60-75 mL til støbning af en gel. Fortyndingsfaktoren står på flasken. Regn med ca. 350 mL pr hold.

Evt. forberedelse af agarosegelen, hvis en sådan laves fælles. Ved 6 hold og 1% agarosegel: Bland 3 gram agarose i 300 mL brugsklar TAE buffer. Opvarm til ca. kogepunkt til alt er opløst og opbevares derefter ved 55-60° indtil gelerne skal benyttes, eller opbevares ved stuetemperatur og opvarmes i mikrobølgeovn til opløsningen atter er flydende når støbningen skal ske.

(NB. Der står i opskriften at gelerne skal være 1% og det er ovenstående lavet ud fra. I Bio-Rad's oprindelige vejledning til støbning af agarosegeler lægges der op til en 2% gel (1 gram agarose i 50 mL 1 x TAE buffer).

Forberedt agarosegel kan holdes flydende i vandbad ved 55-60° til det skal bruges, i stedet for opvarmning i mikrobølgeovn.

Klargør vandbad ved 37° .

Klargør Bio-safe DNA farveopløsning (Bio-Safe DNA Staining Solution). Opløs 1 mL i 499 mL destilleret vand. Til hvert farvekar benyttes ca. 60 mL Varer ca. 10 minutter. Kan opbevares i køleskab.

Det er vigtigt at gelerne affarves så effektivt som muligt med vand. Affarv evt. af et par gange, derved kommer båndene til at stå klarere mod en lys baggrund, men affarvningen må ikke foregå over flere timer, altså heller ikke natten over, da farven da vaskes ud af gelen (en fordelingslignevægt). Skulle det alligevel ske at man får fjernet for meget farve fra båndene, kan gelen genfarves med noget held, hvilket viser at det kun er farven der trækkes ud under for lang skylleproces ikke DNA.

Tør de farvede geler natten over, så de bliver tynde og klare. For at hindre gelen i t krympe, kan de anbringes på en "Gel Support Film for Agarose (Bio-Rad 170-2984EDU). Efter tørring i 2-3 dage vil gelen klæbe effektivt til denne film og bevare form o størrelse, samt være helt transparent.