

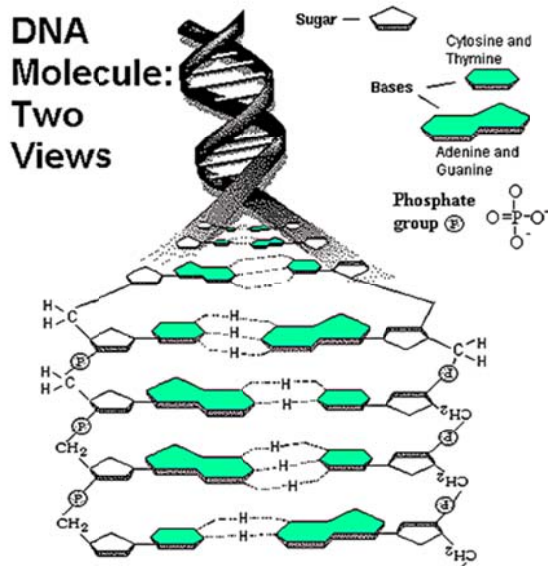
Vás zve na praktický kurz:

## PRAKTICKÝ KURZ ZPRACOVÁNÍ ZÍSKANÝCH FLUORESCENČNÍCH DAT V GELOVÉ ELEKTROFORÉZE

**Ing. Soňa Křížková, Ph.D., Mgr. Michal Horák, RNDr. Josef Růžička, Bc. Miroslav Matoušek, Ing. Iva Blažková**

### Abstrakt

Principem metody je **pohyb záporně nabitých molekul DNA** (hlavním nositelem náboje nukleových kyselin jsou záporně nabitě fosfátové skupiny) **v elektrickém poli směrem k anodě**. Pomocí gelové elektroforézy můžeme separovat (oddělovat) molekuly DNA na základě rozdílných rychlostí pohybu molekul DNA v gelu, které jsou nepřímo úměrné **velikosti molekuly DNA**. Elektroforéza se provádí na vhodném nosiči, nejčastěji v **gelu** tvořeném agarózou či polyakrylamidem. Gel je tvořen složitou sítí polymerních molekul s póry, jimiž se molekuly DNA pohybují různou rychlostí v závislosti na velikosti (malé fragmenty se pohybují rychleji, tj. doputují na gelu dál). Agarózový gel se připravuje v různé hustotě (udávané v % práškové agarózy).



Pomocí gelové elektroforézy můžeme separovat (oddělovat) molekuly DNA na základě rozdílných rychlostí pohybu molekul DNA v gelu, které jsou nepřímo úměrné **velikosti molekuly DNA**. Elektroforéza se provádí na vhodném nosiči, nejčastěji v **gelu** tvořeném agarózou či polyakrylamidem. Gel je tvořen složitou sítí polymerních molekul s póry, jimiž se molekuly DNA pohybují různou rychlostí v závislosti na velikosti (malé fragmenty se pohybují rychleji, tj. doputují na gelu dál). Agarózový gel se připravuje v různé hustotě (udávané v % práškové agarózy).

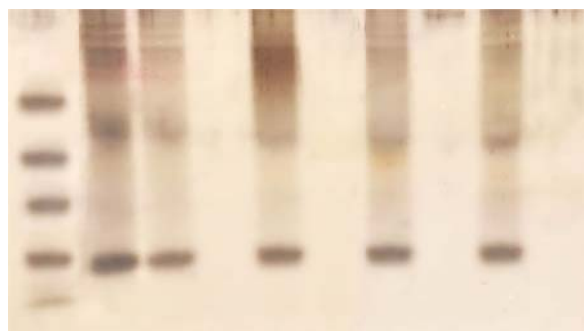
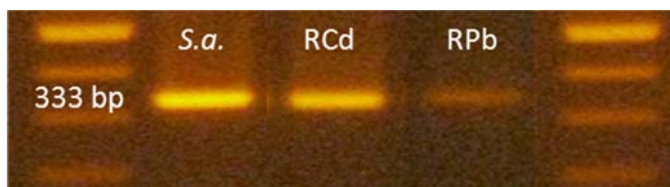


Agaróza se rozpouští v pufru, který je také obsažen v elektroforetické vaně jako elektrolyt. Vzorčky se nanášejí do jamek v gelu, které byly vytvořeny

pomocí tzv. hřebínku. Zatížení DNA (DNA klesne do jamky v gelu) a migrace DNA v gelu jsou zajištěny přidáním tzv. **nanášecího neboli vkládacího pufru**, který je tmavě zbarvený a je tak umožněna kontrola vložení PCR produktu do příslušné jamky a také migrace v gelu.

**Praktické úkoly kurzu:**

- a) Příprava agarózového gelu
- b) Izolace nukleové kyseliny technikami magnetických částic
- c) Namnožení fragmentu nukleové kyseliny genu metalothioneinu u bakteriální kultury
- d) Nanesení fragmentu o různém množství na gel
- e) Provedení gelové elektroforézy
- f) Fluorescenční značení získaného separovaného fragmentu nukleové kyseliny
- g) Snímání získaných gelů a fragmentů
- h) Převedení do elektronické podoby
- i) Vyhodnocení získaných intenzit fluorescenčních signálů
- j) Matematické zpracování a vyhodnocení získaných dat



**pátek 19. 07. 2013, 10:00 h**

Ústav chemie a biochemie, laboratoře fotometrie

Kontakt: [pavlina.sobrova@seznam.cz](mailto:pavlina.sobrova@seznam.cz), [kizek@sci.muni.cz](mailto:kizek@sci.muni.cz)