

Электрофорез әдісі

CNE9131 ДНҚ технологиялары · 6B05105 Биотехнология
5-апта · Жаниязов Ж.А., аға оқытушы

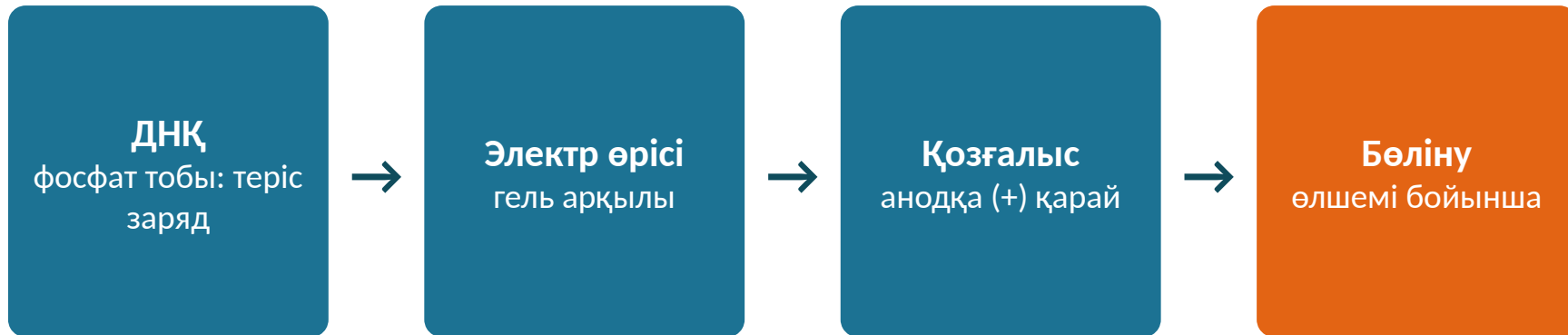
Дәріс жоспары

- Электрофорез принципі
- Гель түрлері және концентрациясы
- Жүргізу кезеңдері
- Визуализация және маркерлер
- Нәтижені талдау және қолданылуы

5 / 15

апта • электрофорез

Электрофорез принципі



Қысқа фрагменттер гельде жылдам, ұзын фрагменттер баяу қозғалады.

Гель түрлері

Гель	Қолданылуы
Агароза	ДНҚ-ның көпшілік талдауы: ПЦР өнімі, рестрикция
Полиакриламид (ПААГ)	Қысқа фрагменттер, 1 нуклеотид айырмасын бөлу, секвенирлеу
Пульс-өрісті гель	Өте ұзын ДНҚ, хромосомалық фрагменттер

Агароза концентрациясы

Агароза, %	Тиімді бөлу ауқымы (мың н.ж.)
0,7	0,8–10
1,0	0,5–7
1,5	0,2–3
2,0	0,1–2

Концентрация жоғары болған сайын гель қысқа фрагменттерді жақсы бөледі.

Жүргізу кезеңдері



Үлгімен қатар әрқашан ДНҚ-маркерін (ladder) жүктеңіз.

Визуализация және маркерлер

Этидий бромиді

УК астында флуоресценция береді, мутаген:
сақтықпен жұмыс істеу

Қауіпсіз бояулар

SYBR Safe, GelRed және т.б.

ДНҚ-маркер (ladder)

Белгілі өлшемді фрагменттер жиынтығы

Жүктеу буфері

Глицерин тығыздық береді, бромфенол көк
жылжуды көрсетеді

Нәтижені талдау

- Жолақ орнын маркермен салыстырып, өлшемін бағалау
- Жолақтың қарқындылығы ДНҚ мөлшерін көрсетеді
- ПЦР өнімі күтілген өлшемде ме, қосымша жолақ бар ма?
- Жағынды (смир) ДНҚ-ның ыдырағанын білдіреді

lg

жылжу қашықтығы ~
 $\lg(\text{өлшем})$

Қолдану салалары

ПЦР өнімін тексеру

Өлшемі мен тазалығын растау

Рестрикциялық талдау

Фрагменттер үлгісі бойынша вектор картасын салыстыру

ДНҚ бүтіндігі

Бөліп алынған ДНҚ сапасын бағалау

Гельден бөліп алу

Керекті жолақты кесіп алып тазарту

Қорытынды және бақылау сұрақтары

- ДНҚ электр өрісінде неге анодқа қарай жүреді?
- Қысқа фрагментті бөлу үшін қандай гель таңдалады?
- Маркердің (ladder) рөлі қандай?
- Жолақтарды қалай талдаймыз?
- Тапсырма: ПР №5, СӨЖ: ПЦР бойынша топтық презентация

75–120

бет • [1] Brown