

Elektroforeseapparat

30.11.04

Aa 5441.00

Udstyret består af følgende dele:

Elektroforeseapparat (1) med låg (3)	1 stk.
Dimension: 210 x 160 x 80 mm.	
Libelle (9)	1 stk.
Glasplade (8)	1 stk.
Bakke til støbning af gel (5)	1 stk.
Plastikkamme (6)	2 stk.
Plastiklister (2 x 6 x 88 mm) (7)	2 stk.
Syntetisk stof	1 stk.
Brugsvejledning	1 stk.

Advarsel: I forbindelse med benyttelsen af dette apparat kan der anvendes højspænding.

Elektroforeseapparatet er fremstillet af acrylplast.

Apparatet er udstyret med tre fødder hvoraf de to kan indstilles, v.h.a. skruer. Libellen kan bruges til justering af apparatet, så det står vandret.

Låget til elektroforeseapparatet er udført således, at det ikke er muligt at komme i kontakt med de strømførende dele, når apparatet er i brug.

Ledningerne er forsynet med sikkerhedsstik.

Der er to elektroderum til bufferopløsning, mellem disse rum er der en klods hvor gelen anbringes. Denne klods er forsynet med en fræsning, hvorpå der er limet en glasplade, som gør det muligt at tilslutte kølevand fra koldt vandshanen via to studser på karret.

I hvert elektroderum er der anbragt en elektrode af platintråd.

Der medfølger en bakke og 2 kamme med h.h.v. 4 mm og 8 mm tænder til støbning af gel. Når gelen skal støbes trykkes kanterne (4) på bakken op, og en kam anbringes på det ønskede sted. Når gelen er klar til brug fjernes kammen og kanterne trykkes ned. Bakken med gel anbringes på klodsens midt i elektroforeseapparatet.

Man kan også anvende færdige geler, disse kan anbringes direkte på kølepladen i apparatet.

Såfremt totalladning for de partikler man ønsker at undersøge er negativ, skal prøverne vende mod katoden (sort ledning) og partiklerne vil vandre mod den positive anode (rød). Omvendt for positivt ladede partikler.

Prøver anbringes i hullerne i gelen ved hjælp af hårrør eller automatpipette. Der hældes pufferopløsning i elektroderummene, så væsken lige dækker gelen. Alternativt bruges 2 kontaktbroer af f.eks. syntetiske stykker stof eller filterpapir, kontaktbroerne lægges nogle mm ind over gelen i hver side og dypes ned i hver pufferopløsning. Der lægges en plastikliste på hver kontaktbro og derpå en glasplade over for at holde på kontaktbroerne. Pufferopløsningen skal dække platintrådene helt.

Låget sættes på elektroforeseapparatet og skubbes helt på plads.

Elektroforeseapparatet tilsluttes strømforsyningen – anode (rød ledning) i plus (rød bøsning) og katode (sort ledning) i minus (sort bøsning).

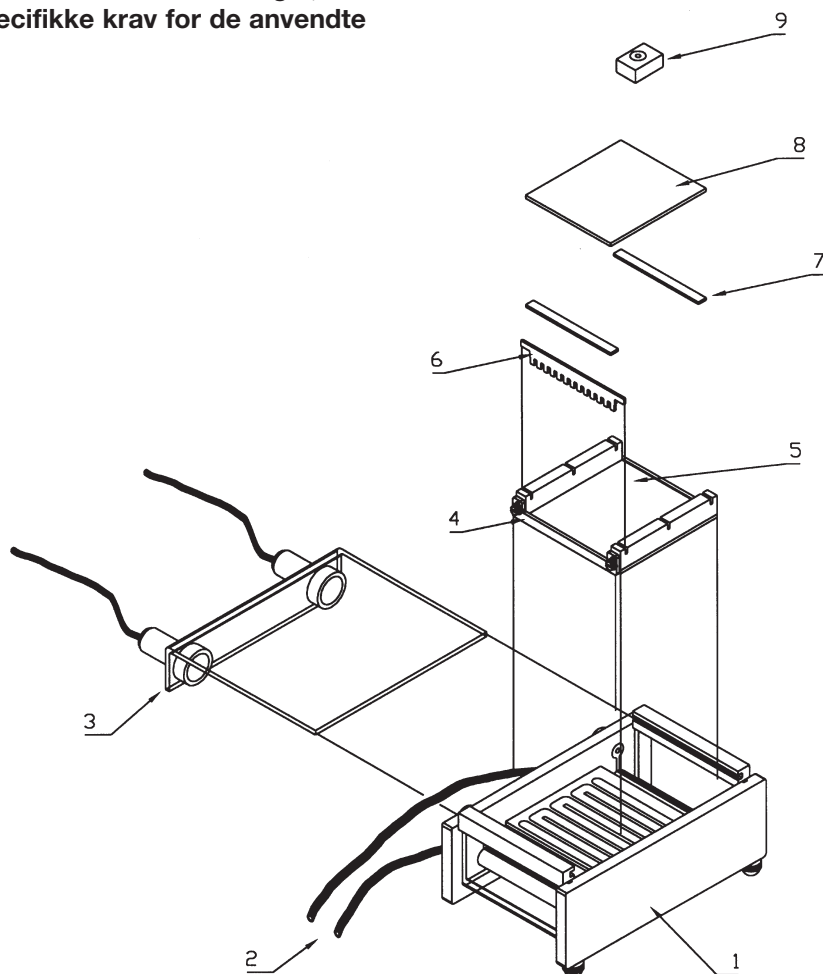
Kølevandet (2) tilsluttes elektroforeseapparatet ved hjælp af 2 stykker silicone- eller plastikslange som forbindes til de 2 studser på karret. Den ene slange sættes på koldt vandshanen, den anden slange lægges i vasken. Vandgennemstrømningen skal højst være 0,5 L/min. Det er ikke tilrådeligt at benytte apparatet uden køling.

Strømforsyningen tændes og indstilles til ønsket spænding.

Efter ønsket forsøgstid standses forsøget ved at slukke for strømforsyningen, og der slukkes for kølevandet.

Resultatet af forsøget undersøges direkte, hvis det er muligt, ved farvning af gelen eller belysning af gelen med UV-lys, (gelen kan evt. tilsættes et fluorescerende stof).

Træf fornødne sikkerhedsforanstaltninger, i henhold til de specifikke krav for de anvendte kemikalier.



GARANTI

På dette produkt ydes en garanti på produktions- og materialefejl på 1 år regnet fra afsendelsestidspunktet fra A/S S. Frederiksen (SF) til kunde.

SF vil inden for denne periode reparere eller erstatte de dele, der på grund af produktions- eller materialefejl måtte være defekte.

Garantien dækker kun ved korrekt brug af udstyret, og således ikke hvis udstyret udsættes for uhensigtsmæssig brug eller i sammenhænge, der ikke er beskrevet i denne manual. En vurdering af om udstyret er anvendt korrekt, kan kun foretages af SF.

Returnering af defekt udstyr som garantireparation sker for kundens regning og risiko, og kan kun foretages efter aftale med SF.

Forsendelsen skal foregå i forsvarlig indpakning for at undgå skader på udstyret. Med mindre andet er aftalt med SF, skal fragtløbet forudbetales. Enhver skade på udstyret, der skyldes forsendelsen dækkes ikke af garantien. SF betaler for returnering af udstyret efter garantireparationer.

Returnering af udstyr

Hvis udstyr skal returneres til SF, kan det kun ske efter aftale med SF enten pr. telefon eller brev.

Når udstyret returneres skal det pakkes omhyggeligt. Transport-selskabet erstatter ikke udstyr, der transportskades på grund af dårlig indpakning.

Følgende regler bør overholdes ved forsendelse:

- 1) Det anvendte karton skal være tilstrækkelig kraftigt til forsendelsen.
- 2) Der bør være mindst 5 cm pakkemateriale mellem enhver del af udstyret og kartonens inderside.
- 3) Vær opmærksom på, at der anvendes pakkemateriale, der ikke flytter sig i kartonen eller bliver komprimeret, så udstyret kommer i kontakt med kartonens inderside.

Øvelsesvejledning

Separation af farvestoffer v.h.a. elektroforese

Af Eske Bruun

En nem, billig og ufarlig tilgang til elektroforesemetodikken.

Øv 5441.00

I 1.g møder eleverne tit begreberne DNA, genetisk fingeraftryk, elektroforese og gel. Måske også ord som restriktionsenzym, PCR m.v., men sjældent har de selv fingrene i den eksperimentelle side af sagen. Her er opskrifterne på, hvordan man på en nem, billig og ufarlig måde kan illustrere, hvordan

man kan adskille stoffer v.h.a. elektroforese, støbe en gel, applikere små stofmængder i gelens brønde og aflæse et resultat.

Resultaterne kan så sættes i sammenhæng med en case, således at man kan perspektivere metoden og resultaterne.

Materialer:

Farvestoffer: Der kan anvendes to typer farvestoffer til elektroforeseforsøgene

1: "fødevarefarvestoffer"

Farvestof	Farve	Relativ vandring	Opløsning
Tartrazin	gul	vandrer længst	25 mg i 1 mL 33% succrose
Ponceau	grønlig	vandrer lidt kortere	25 mg i 1 mL 33% succrose
Sunset yellow	orangegul	som ponceau	25 mg i 1 mL 33% succrose
Brilliant blue	blå	kort	10 mg i 1 mL 33% succrose
Orange II	orange	kort som brilliant blue	25 mg i 1 mL 33% succrose

Bemærkninger: Gode resultater fås med Tartrazin, Ponceau og Brilliant blue farverne.

Der skal anvendes 10 µL farve pr. brønd.

2: "indikatorer"

Indikator	Farve	Relativ vandring	Opløsning
Orange G	orange	vandrer længst	25 mg i 10 mL dem. H ₂ O heri 1 mL glycerol
Bromphenol blue	blå	vandrer lidt kortere	25 mg i 10 mL dem. H ₂ O heri 1 mL glycerol
Xylene cyanole	blå	vandrer kort	25 mg i 10 mL dem. H ₂ O heri 1 mL glycerol

Bemærkninger: Farve adskilles fint.

Der skal anvendes 15 µL farve pr. brønd.

Ved blanding mellem farverne kan der anvendes dobbelt så meget orange G i forhold til de to andre. Ex. 1 mL bromphenol blue : 2 mL orange G. Orange G bliver derfor nemmere at erkende i blandingerne.

Buffer:	0.1g NaCl/1000mL H ₂ O. Almindeligt ledningsvand kan anvendes. Ca. 400 mL i SF-elektroforeseapparat.
Gel:	1% agar (Bacto-agar).
Opløsninger:	Saccharose og glycerol.
Pipetter:	Mikropipetter, så der kan afsættes 10 µL eller 15 µL.
Strømforsyning:	DC-volt strømforsyning, der kan give 100V
Elektroforesekar:	Et semiprofessionelt elektroforesekar, hvor der kan støbes geler med brønde.
Andet:	10 mL reagensglas med prop per til opbevaring af farver og farveblandinger. Det er en fordel med små glas, så man direkte kan anvende mikropipetterne til opsamling af prøverne. Blandingerne skal opbevares i mørke.
Papirvarer:	Sort karton, OH-papir, blå og gule tuscher.

Fremgangsmåde:

Gelen støbes. Det er lettest at opvarme agarblandingen i mikrobølgeovn. Kammen, der danner brøndene i gelen, må ikke fjernes, før puffervæsken er hældt i elektroforeseapparatet. Herved undgår man, at der kommer luftlommer i brøndene, når kammen fjernes. Puffervæsken skal stå 2-3 mm over gelen.

Da farverne er negativt ladede, skal brøndene være ved elektroforeseapparatets negative elektrode.

Elektroforeseapparatet sættes på et stykke sort karton. Herved kan man bedre se brøndene i gelen.

Farvestofferne eller indikatorblandingerne applikeres. Efter opsugning af farve, tørres pipettespidse forsigtigt i køkkenrulle for at undgå farvespild i puffervæsken.

Anvend kun hver anden brønd, for at undgå at farvepletterne fra nabobrøndene flyder sammen.

Der anvendes 10 µL farvestof fra fødevarerfarverne og 15 µL farve for indikatorfarverne. Pipettespidse må ikke ødelægge brøndenes bund, for så vil farverne flyde nedenunder.

Strømmen sluttes. 80V er en passende spænding. Elektroforesen vil her kunne udføres på 30 – 45

minutter. Øges spændingen, øges også vandrings-hastigheden, men samtidig afsættes der meget varme i gelen med fare for, at denne bliver blød og smelter.

Resultatet aflæses på gelen ved at placere et stykke OH-transparent og markere brønde samt farvepletternes position. Man kan evt. anvende farvetusch for også at markere farverne.

Cases

1. To nyfødte piger får p.g.a. en fejl ikke sat identifikationsarmbånd på fødegangen. For at være helt sikre på at de nyfødte ikke bliver forbyttet, foretager hospitalets laboratorium en DNA-analyse. En vævsprøve tages af børnene og forældrene, og v.h.a. PCR-teknikken opformes en del af DNA'ets variable område. Et restriktionsenzym frigør det opformede område, og prøven analyseres v.h.a. elektroforese, hvor forældreskabet så kan fastslås.

På basis af de udleverede prøver skal du ud fra resultaterne fra elektroforesen fastslå forældreskabet.

2. Kirsten og Mads har et barn på 2 år. Netop som Kirsten får at vide, at hun atter er gravid, dør hendes far af en blodprop i hjertet. Han blev 52 år. Hospitalet oplyser, at faderen led af en sjældne stofskiftesygdom, der medfører, at man ikke kan optage og omsætte fedtstoffer i kroppen. Det drejer sig specielt om kolesterol. Lidelsen medfører voldsom forkalkning og dermed en stor risiko for at få en blodprop. Da Kirstens far mor også døde i en tidlig alder, beslutter parret sig for, at familien skal undersøges, så man kan tage sine forholdsregler.

Facts om sygdommen: Hyperkolesterolemia er en arvelig lidelse, der nedarves dominant. Den kan påvises hos 5% af alle yngre med hjerteinfarkt. I befolkningen som helhed findes den i 1 ud af 500 individer. Lidelsen skyldes en genetisk defekt, der medfører, at LDL-receptorerne på cellerne ikke fungerer. Det medfører at cellerne danner alt for meget kolesterol, hvorfor åreforkalkningen øges markant. Har man arvet defekten fra en af forældrene, medfører en ubehandlet hyperkolesterolemia hyppigt dødsfald i halvtredsårsalderen. Arves defekten fra begge forældre dør børnene i den tidligste barndom.

Man kan nedsætte forkalkningsprocessen ved sund levevis, meget motion, ingen tobak.

Medicinsk behandling har en gavnlig effekt, hvis den påbegyndes i tide.

På basis af oplysningerne skal du tegne et stamtræ med mulige arveegenskaber.

På basis af de udleverede prøver skal du ud fra re-

sultaterne fra elektroforesen fastslå, hvem der har ligheden og tegne et stamtræ med mulige arveegenskaber.

Fremstilling af blandinger til de to cases: Blandingsforholdet i prøver med flere farver er 1:1.

1. Forældresagen				Prøveglassnummer
Pige 1		Xylene cyanole el. Brilliant blue	Bromphenol blue el. Ponceau	Prøve 1
Pige 2		Xylene cyanole el. Brilliant blue	Orange G el. Tartrazin	Prøve 2
Par 1	far	Xylene cyanole el. Brilliant blue		Prøve 3
	mor		Bromphenol blue el. Ponceau	Prøve 4
Par 2	far		Orange G el. Tartrazin	Prøve 5
	mor	Xylene cyanole el. Brilliant blue	Orange G el. Tartrazin	Prøve 6

2. Hyperkolesterolæmi				Prøveglassnummer
Mads		Xylene cyanole el. Brilliant blue		Prøve 1
Kirsten		Xylene cyanole el. Brilliant blue	Orange G el. Tartrazin	Prøve 2
Barn 1		Xylene cyanole el. Brilliant blue		Prøve 3
Ufødt		Xylene cyanole el. Brilliant blue	Orange G el. Tartrazin	Prøve 4
Kontrol: Prøve fra rask		Xylene cyanole el. Brilliant blue		Prøve 5
Kontrol: Prøve fra hyperkolesterolæmipatient			Orange G el. Tartrazin	Prøve 6

Materialeliste:

Varenavn:	Varenr.
Tartrazin á 25 g	8296.08
Ponceau á 25 g	8293.08
Sunset Yellow á 25 g	8295.08
Brilliant blue á 25 g	8283.18
Orange II á 25 g	8755.28
Orange G á 25 g	8755.48
Bromphenol blue á 5 g	8396.45
Xylene cyanole á 10 g	8943.78
Saccharose	8825.00
Glycerol	8321.00
Agar	8005.00
Micropipette 2-20 µL	0143.10
Reagensglas 12x75 mm ca. 10 mL resistente DURAN	0121.10
Propper til 0121.10	0425.10
Strømforsyning Consort	5441.15
Elektroforese apparat	5441.00