

## 1. Tee geeli

Tarvikkeet:

- Agaroosijauhetta
  - Puskurointiliuostiivistettä
  - Tislattua vettä
  - Kelkka, kumipäädyt ja kampa
  - 10 ml mittalasi (tms.)
  - Mitta, jolla saa mitattua 0,1 ml tarkkuudella
  - Vaaka, jolla voi mitata 0,01 g tarkkuudella
  - Astia, johon sekoitat geeliliuoksen
1. Yhtä 7x7 cm geeliä varten tarvitset 0,6 ml purkurointiliuostiivistettä (50x), 29,4 ml tislattua vettä ja 0,24 g agaroosia
  2. Sekoita aineet.
  3. Liuota agaroosi kuumentamalla ja sekoittamalla
  4. Anna seoksen jäähtyä 60-asteiseksi
  5. Laita geelikelkan kumipäädyt paikalleen. Aseta kampa paikalleen. Tämän työn ajoa varten tarvitsee kuusi koloa.
  6. Kaada agaroosiliuos astiaan ja anna jähmettyä n. 20 minuuttia. Geeli sumenee jähmettyessään.
  7. Poista päädyt ja kampa. Ole varovainen kampa poistaessa, jotta kolot eivät pääse rikkoutumaan.

## 2. Tee puskurointiliuos

Tarvikkeet

- Puskurointiliuostiivistettä
  - Tislattua vettä
  - Mitat, joilla saa mitattua 1 ml ja 10 ml tarkkuudella
  - Vähintään 400 ml astia, johon sekoittaa puskurointiliuos
1. Sekoita yhtä ajoa varten tarvitset 8 ml puskurointiliuostiivistettä ja 392 ml tislattua vettä.

## 3. Valmistele ajo

Tarvikkeet

- Geeli kelkassa
  - Elektroforeesilaitteisto
  - Puskurointiliuos
  - Mikropipetti + päitä
  - DNA-näytteet
1. Aseta geeli kelkassa elektroforeesilaitteistoon. Varmista, että se on oikein päin. DNA liikkuu negatiivisesta (mustasta) päästä kohti positiivista (punaista), joten kuoppien tulee olla mustassa päässä.
  2. Kaada puskurointiliuos laitteistoon.
  3. Pipetoi näytteet kokonaisuudessaan (35 µl) koloihin. Näytteen kannen saa rikottua pipetin kärjellä. Pipetointi täytyy tehdä varovasti ja rauhassa, jotta näyte jää kolojen pohjalle. Katso, että näytteet tilevat oikeaan järjestykseen, jotta osaat tulkita tulokset oikein:
    1. näyte A: sirppisolualemiaa sairastava

2. näyte B: sirppisoluanemian kantaja
3. näyte C: ei sirppisoluanemiaa
4. näyte D: äidin DNA
5. näyte E: lapsen DNA
6. näyte F: isän DNA

#### 4. Tee ajo

##### Tarvikkeet

- Elektroforeesilaitteisto, valmistelu edellisessä kohdassa
  - Virtalähde
1. Kiinnitä johdot. Katso, että musta johto tulee kiinni negatiiviseen ja punainen positiiviseen.
  2. Valitse volttimäärä. Mitä suurempi se on, sitä lyhyempi aika ajoon käytetään
    - 150 V → 20-35 min
    - 125 V → 30-45 min
    - 100 V → 40-60 min
  3. Käynnistä ajo ja odota tarvittava aika.

#### 5. Värjää geeli

##### Tarvikkeet

- Väritiivistettä
  - Tislattua vettä
  - Mitta, jolla saa mitattua 10 ml tarkkuudella
  - Vähintään 100 ml astia
  - Kertakäyttölautanen
  - Geeli kelkassa
1. Sekoita väri: 10 ml FlashBlue-tiivistettä (10x), 90 ml tislattua vettä.
  2. Poista valmistunut geeli elektroforeesilaitteistosta kelkan kanssa, liu'uta geeli varovasti irti kelkasta ja aseta pelkkä geeli värjäysastiaan.
  3. Kaada väriaine geelin päälle ja anna vaikuttaa 2-3 minuuttia. Saat parhaan tulokset, jos heilutat geeliä ja väriä hellästi.
  4. Mikäli sinun tarvitsee värjätä useampi geeli, kaada väri talteen johonkin astiaan. Jos et, voit kaataa sen viemäristä alas.
  5. Kaada geelin päälle lämmintä vettä ja huuhtelee puolisen minuuttia. Kaada vesi pois.
  6. Kaada geelin päälle lämmintä vettä ja anna seistä 5-15 minuuttia. Pidemmät ajat sekä veden heiluttelu ja vaihtaminen välillä tuottavat paremman tuloksen.

#### 6. Katso tulosta

##### Tarvikkeet

- Valkovalolaite
  - Geeli
1. Nosta oranssi ja sininen kansi ylös ja aseta geeli valkovalolaitteeseen. DNA näkyy tummansinisinä juovina vaaleansinisellä pohjalla kun laitat valon päälle. Kansia ei tarvitse laittaa takaisin päälle DNA-työtä varten.