شرکت مهندسی پزشکی

دنا ژن تجهیز

تلفن : 02166840435- 02166381730

فکس: 02166381730

موبایل:09120351457-09120757486

وبسایت: www.denagene.com

ایمیل: denagenetajhiz@gmail.com

آدرس شرکت: تهران- خیابان کارگر شمالی- خیابان هیئت-پلاک 15- پارک علم و فناوری دانشگاه تربیت مدرس- بخش سلامت و پزشکی

راهنمای ریل‌تایم الکتروفورز

Real-Time Electrophoresis Manual

فهرست

الکتروفورز آگارز 5

موارد امنیتی 6

مراقبت و نگه‌داری 6

مشخصات فنی..... 7

لیست قطعات و لوازم همراه ریل‌تایم الکتروفورز 7

ویژگی‌های ژل آگارز 9

فاکتورهای تاثیرگذار بر مهاجرت اسیدهای نوکلئیک در ژل 10

مهاجرت غیرطبیعی..... 10

مکانیسم مهاجرت DNA و جداسازی آن..... 11

عمل الکتروفورز..... 11

تهیه ژل..... 11

بارگیری نمونه‌ها..... 12

شروع عمل الکتروفورز 12

رنگ آمیزی و مشاهده..... 13

بافرها..... 14

کاربردها 15

مشکلات الکتروفورز DNA و دلایل احتمالی آنها 15

مقدمه

ریل‌تایم الکتروفورز مدل خاصی از سیستم الکتروفورز افقی می‌باشد که بدون هیچ‌گونه نیازی به سایر دستگاه‌ها قادر است تا انتهای مشاهده کیفیت نتایج، همه‌ی مراحل در آن صورت گیرد. در واقع این دستگاه شامل 3 دستگاه الکتروفورز افقی، منبع تغذیه و ترانسلومیناتور جهت مشاهده باند DNA می‌باشد. الکتروفورز افقی مدل Midi معادل الکتروفورز افقی 10x10 می‌باشد. منبع تغذیه آن دارای سه مدل ولتاژی 50 ، 100 و 150 ولت می‌باشد. ترانسلومیناتور آن از زیرمجموعه خانواده safe illuminator می‌باشد که می‌توان از آن به عنوان یک ترانسلومیناتور جداگانه نیز استفاده کرد. در واقع طول موج استفاده شده در این دستگاه 470 نانومتر می‌باشد که این امر موجب حداقل کردن استفاده از نور دستگاه جهت مشاهده باندهای DNA می‌شود. همچنین ذکر این نکته حایز اهمیت است که کلیه رنگ‌های DNA به جز اتیدیوم برماید قابلیت مشاهده با این طول موج را دارند. از طرف دیگر با در نظر گرفتن کلیدی‌ترین ولتاژهای مورد استفاده در الکتروفورز منبع تغذیه این دستگاه طراحی شده است.

با توجه به دقت ولتاژ اعمال شده (دقت ولتاژ دستگاه کمتر از 1 ولت می‌باشد) و کیفیت مشاهده باندها که هر دو مورد بسیار خوب می‌باشد و همچنین بحث میزان بسیار کم فضای اشغال شده در آزمایشگاه، به محققین و متخصصین توصیه می‌شود جهت سهولت هرچه بیشتر کارهای تحقیقاتی خود از این سیستم استفاده کنند.

الکتروفورز آگارز

الکتروفورز آگارز نوعی از ژل الکتروفورز می‌باشد که در زمینه‌های بیوشیمی، ژنتیک و دیگر زیر گروه‌های علوم سلولی و مولکولی جهت جداسازی انواع توالی DNA، RNA و یا پروتئین در یک بستر ایجاد شده با استفاده از ژل آگارز مورد استفاده قرار می‌گیرد. معمولا جداسازی مولکول‌های زیستی با اعمال نمودن یک میدان الکتریکی بر روی این بستر رخ می‌دهد. ژل‌های آگارز به راحتی قابل شکل‌گیری می‌باشند و مهم‌ترین گزینه جهت جداسازی انواع مختلف DNA در آزمایشگاه می‌باشند. DNA جداسازی شده را می‌توان با رنگ‌آمیزی زیر نور مناسب مشاهده نمود. قبلا از رنگ اتیدیوم‌برماید جهت مشاهده باندهای DNA استفاده می‌شد که قابلیت مشاهده با استفاده از نور UV را دارد. اما امروز رنگ‌های مختلف با کیفیت مناسب و قابلیت جهش‌زایی کم‌تر نسبت به اتیدیوم برماید در بازار موجود است که با نورهای مریی هم قابل مشاهده می‌باشند.

در سیستم‌های ریل‌تایم الکتروفورز ساخت دنا ژن تجهیز کاربر به سادگی قادر به جداسازی انواع اسیدهای نوکلئیک می‌باشد. ژل‌های آگارز به راحتی با استفاده از سیستم ژل کستینگ مناسب تهیه می‌شوند. سیستم‌های الکتروفورزی دنا ژن تجهیز به گونه‌ای طراحی شده‌اند که برای سال‌ها قابلیت استفاده با کیفیت بالا را دارند.

موارد امنیتی

- قبل از هرگونه استفاده راهنمای استفاده را به طور کامل مطالعه نمایید.
- سیستم های ریل‌تایم الکتروفورز ساخت دنا ژن تجهیز با حداکثر امنیت و استفاده آسان کاربر طراحی شده‌اند.
- قبل از هرگونه استفاده محفظه تانک، منبع تغذیه و ترانسلومیناتور را چک نمایید که کاملا سالم باشند.
- با توجه به استفاده در ولتاژ بالا حتما از استفاده افراد غیرحرفه‌ای اجتناب گردد.
- در صورت هرگونه استفاده غیرمعمول و نیز تغییرات ایجاد شده در آن توسط افراد فاقد صلاحیت، شرکت دنا ژن تجهیز مسئولیت هر گونه صدمه وارد شده به دستگاه را تقبل نمی‌کند.

مراقبت و نگه‌داری

- ❖ محفظه ریل‌تایم الکتروفورز باید با استفاده از محلول دترجنت ملایم در آب گرم شسته شود.
- ❖ توجه شود که سیم الکترود در هنگام تمیزکاری پاره نشود و یا صدمه نبینند.
- ❖ جهت حفظ ماندگاری و عمر دستگاه مواد شوینده سازگار با دستگاه باید جهت شستشو استفاده شوند.

این مواد شامل:

- ✓ محلول‌های صابونی و دترجنت‌های ملایم
- ✓ حلال‌های آلی مانند: هگزان و هیدروکربن‌های آلیفاتیک

نکته: اجزای پلاستیکی را بیش از 30 دقیقه در دترجنت نگذارید.

- ✓ از مواد شیمیایی زیر جهت تمیز کردن دستگاه استفاده نشود، زیرا می‌توانند موجب خوردگی و از بین بردن قطعات دستگاه شوند:

"کلروفرم، تتراکلرید کربن، بنزن، فنول، تولوئن، متیل اتیل کتون، استون، متانول، اتانول، ایزوپروپیل الکل"

- ❖ دستگاه را در دمای بالاتر از 60 درجه سانتی‌گراد قرار ندهید. همچنین اجزای دستگاه را با استفاده از اتوکلاو تمیز نکنید.
- ❖ جهت از بین بردن آنزیم‌های RNase در دستگاه، آن را به مدت 10 دقیقه با هیدروژن پراکسید تیمار نمایید و سپس با آب 0/1 DEPS treated درصد شستشو نمایید.

توجه شود که DEPC یک عامل مشکوک به سرطان‌زایی است. پس لازم است هنگام کار با آن نکات ایمنی را کاملا رعایت نمایید.

مشخصات فنی

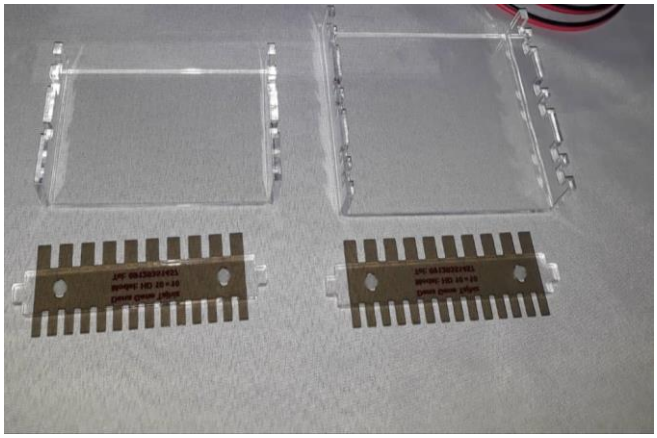
مدل	Mini Real-Time Electrophoresis	Midi Real-Time Electrophoresis
ابعاد ژل	7x7 cm	7x10 cm 10x10 cm
ولتاژ پاور	50 V	50-100-150 V
جریان	Up to 200 mA	Up to 200 mA
ابعاد تانک	15x19x7 cm	17x23x7 cm
حجم بافر	260-320 ml	300-400 ml
تعداد نمونه (کامب دو طرفه)	7 or 10	10 or 14
حداکثر تعداد نمونه	20	42

شکل 1. مشخصات فنی ریل‌تایم الکتروفورز

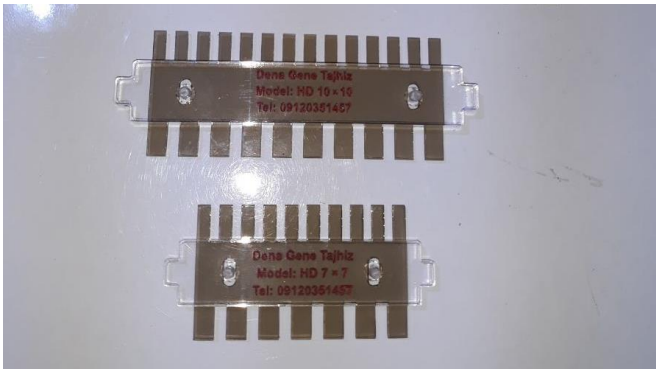
لیست قطعات و لوازم همراه ریل‌تایم الکتروفورز

با توجه به این نکته که گاها مشتریان جهت خرید ریل‌تایم الکتروفورز و اینکه چه قطعات و لوازمی و هر قطعه چه تعداد از آن همراه دستگاه می‌باشد، در ذیل لیست قطعات همراه با هر مدل ریل‌تایم الکتروفورز با جزئیات آمده است.

- *تانک ریل‌تایم الکتروفورز:* در شکل پایین به عنوان یک مثال، ریل‌تایم الکتروفورز مدل midi به همراه کلیه قطعاتی که همراه آن است، آورده شده است.



- *کامب مخصوص:* در شکل زیر انواع سایز کامب ریل‌تایم الکتروفورز کنار هم آمده است. هر سایز مربوط به یک مدل خاص ریل‌تایم الکتروفورز می‌باشد.



- *تری:* هر مدل ریل‌تایم الکتروفورز کامب و تری مخصوص خود را دارد. همچنین تعداد کامب و تری هر الکتروفورز متفاوت می‌باشد.

جدول مربوط به سایز و تعداد کامب و تری انواع مدل ریل‌تایم الکتروفورز

مدل	کامب	تری (سینی ژل)
Mini HD 7x7	یک عدد کامب مدل 7x7	تری مدل 7x7
Midi HD 10x10	دو عدد کامب مدل 10x10	تری مدل 7x10
		تری مدل 10x10

- دقت شود که ریل تایم الکتروفورز برخلاف سیستم‌های روتین و سنتی الکتروفورز فاقد سیم رابط می‌باشد؛ چراکه جهت اتصال الکتروفورز به پاور سیستم رابط داخلی تعبیه شده است.

ویژگی‌های ژل آگارز

ژل آگارز نوعی ماتریکس سه بعدی تشکیل شده از مولکول‌های هلیکسی آگارز می‌باشد که با کنار هم قرار گرفتن به صورت سه بعدی منافذی ایجاد می‌نمایند که جهت جداسازی بیومولکول‌ها فوق‌العاده مناسب می‌باشند. تمام این ساختار سه بعدی تشکیل شده حاصل پیوندهای هیدروژنی می‌باشد که می‌توان با افزایش درجه حرارت آن را از بین برد. دمای ژله‌ای شدن آگارز بسیار متفاوت از دمای ذوب آن می‌باشد. بسته به نوع منبع، آگارز دارای دمای ژله‌ای شدن بین 35-42 درجه سانتی-گراد می‌باشد و دمای ذوب آن حدود 85-95 درجه سانتی‌گراد می‌باشد. ژل آگارز به دلیل اندازه بزرگ منافذ و قدرت ژل بالای آن برای الکتروفورز پروتئین‌های بزرگ و نیز DNA بسیار مناسب می‌باشد. ژل آگارز 1 ٪ دارای منافذ در حدود 100 تا 300 نانومتر می‌باشد. غلظت‌های پایین ژل بسیار ظریف می‌باشند و جابجایی آنها خیلی مشکل دارد. ژل آگارز به دلیل اندازه بزرگ منافذ، قدرت جداسازی و تفکیک پایین‌تری نسبت به اکریل آمید برای DNA دارد، اما دامنه جداسازی آن بسیار وسیع‌تر می‌باشد. حداکثر بازه جداسازی توسط این نوع ژل حدود 750 کیلو باز می‌باشد، اما برای جداسازی‌های در حد 6 مگا باز از تکنیک PFGE استفاده می‌شود. این تکنیک همچنین برای جداسازی پروتئین‌های بزرگ نیز کاربرد دارد و می‌تواند با کارآیی بالایی ذرات دارای شعاع موثر بیشتر از 5-10 نانومتر را جدا سازد. یک ژل آگارز 0.9 ٪ آنقدر بزرگ می‌باشد که باکتریوفاژ T4 بتواند وارد آن شود.

Percent Agarose Gel (w/v)	DNA Size Resolution(kb = 1000)
0.5%	1 kb to 30 kb
0.7%	800 bp to 12 kb
1.0%	500 bp to 10 kb
1.2%	400 bp to 7 kb
1.5%	200 bp to 3 kb
2.0%	50 bp to 2 kb

شکل 2. غلظت‌های مختلف آگارز جهت جداسازی قطعات DNA با اندازه‌های متفاوت

پلیمر آگارز دارای یک‌سری بارهای منفی بر روی گروه‌های باردار پیرووات و سولفات می‌باشد. این گروه‌های با بار منفی طی فرایندی به نام الکتروواندو اسموزیس (EEO) موجب حرکت جریان آب به سمت مخالفت حرکت DNA می‌گردند. همین امر

موجب ایجاد تاخیر در حرکت مولکول DNA و متعاقبا جداسازی آن می‌گردد که موجب ضعیف شدن باندهای تشکیل شده می‌گردد.

فاکتورهای تاثیرگذار بر مهاجرت اسیدهای نوکلئیک در ژل

فاکتورهای زیادی می‌توانند مهاجرت اسیدهای نوکلئیک را تحت تاثیر قرار دهد: اندازه‌های منافذ ژل (غلظت ژل)، اندازه قطعات DNA، ولتاژ اعمال شده، قدرت یونی بافر، و غلظت رنگ DNA (مانند DeNA Gel Stain) درصورتی که در طی الکتروفورز افزوده شود. مولکول‌های کوچک‌تر سریعتر از مولکول‌های بزرگتر در ژل حرکت می‌کنند و DNA دو رشته ای با نرخ 1/LOG تعداد بازها در ژل حرکت می‌کند. اما این رابطه برای توالی‌های با طول بسیار بلند صادق نمی‌باشد. افزایش غلظت ژل موجب کاهش سرعت حرکت DNA بر روی ژل می‌شود.

از طرف دیگر کنفورماسیون DNA می‌تواند حرکت آن را بر روی ژل تحت تاثیر قرار دهد. به عنوان مثال DNA سوپرکویل شده دارای حرکتی سریع‌تر از DNA ریلکس می‌باشد، زیرا DNA سوپرکویل شده فشرده‌تر می‌باشد و از این رو راحت‌تر بر روی ژل حرکت می‌کند. ژل الکتروفورز مولکول‌های پلاسمیدی نشان دهنده حالت سوپر کویل منفی می‌باشد. اما مولکول DNA حلقوی باز (Nicked) و فرم‌های ریلکس حلقوی به صورت باندهای کوچکتر ظاهر می‌شوند.

DeNA Gel Stain که به دو رشته DNA متصل می‌شود، می‌تواند بار، طول و نیز حالت سوپرکویل مولکول DNA را تحت تاثیر قرار دهد و بنابراین حضور آن در ژل در هنگام عمل الکتروفورز حرکت DNA را تحت تاثیر قرار می‌دهد. ژل الکتروفورز آگارز می‌تواند جهت جداسازی انواع DNA حلقوی با توپولوژی سوپرکویلینگ مختلف نیز مورد استفاده قرار بگیرد.

مهاجرت غیرطبیعی

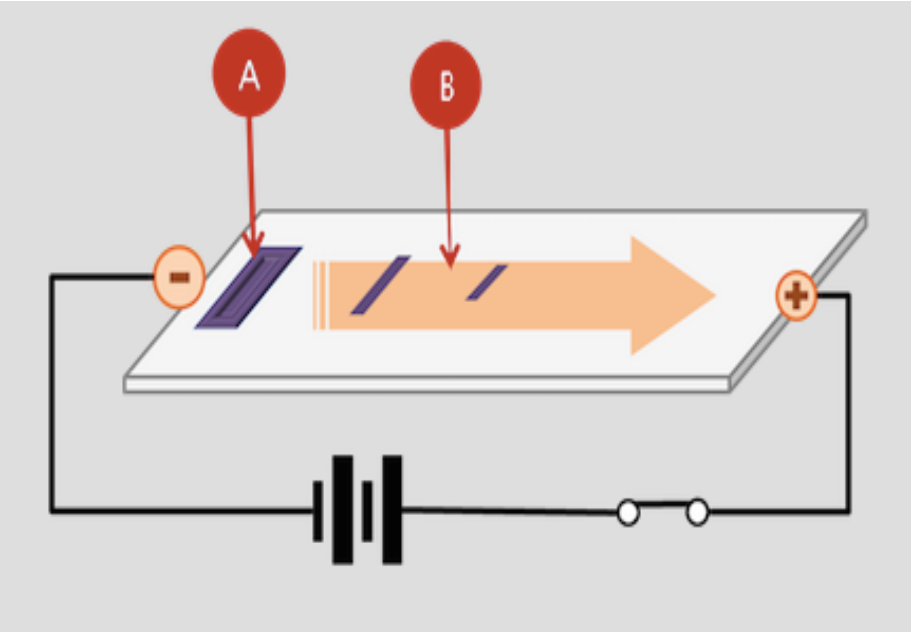
ژل خندان (smiley gel): این حالت زمانی رخ می‌دهد که ولتاژ اعمال شده برای غلظت‌های ژل مورد استفاده خیلی زیاد باشد.

بیش از اندازه DNA ریختن: این امر موجب حرکت کند قطعات DNA خواهد شد.

کثیف شدن ژل: وجود ناخالصی‌هایی مانند نمک‌ها و یا پروتئین‌ها می‌تواند حرکت DNA را تحت تاثیر قرار دهد.

مکانیسم مهاجرت DNA و جداسازی آن

بار منفی چارچوبه‌های فسفاتی مولکول DNA را به سمت آند دارای قطب مثبت حرکت می‌دهد. باید در نظر گرفته شود که در عدم حضور ماتریکس ژلی مهاجرت مولکول DNA مستقل از وزن مولکولی و اندازه آن می‌باشد. پس می‌توان گفت نقش ماتریکس ژلی جداسازی DNA بر اساس اندازه طی عمل الکتروفورز می‌باشد.



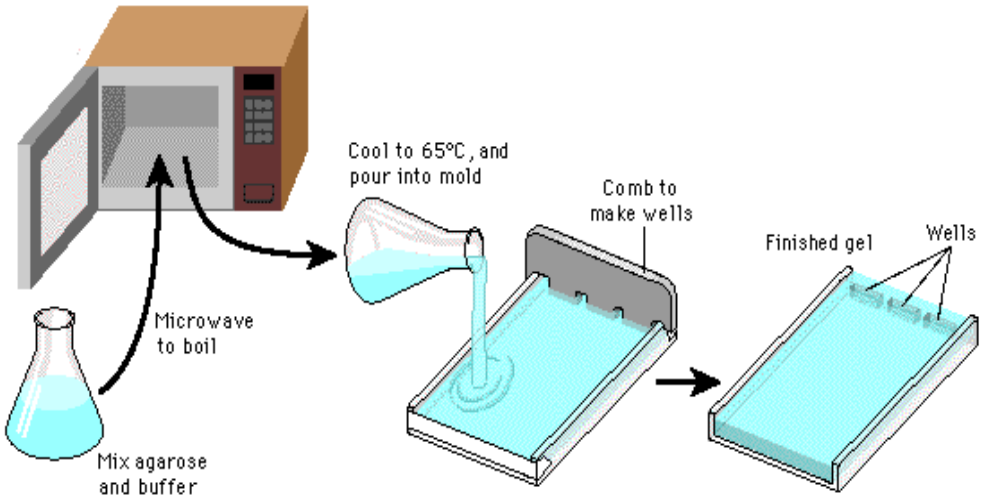
شکل 3. شمای کلی عمل الکتروفورز و جهت حرکت اسیدهای نوکلئیک

عمل الکتروفورز

فرایند الکتروفورز آگارز چندین مرحله متوالی دارد که به صورت خلاصه تهیه ژل، بارگزاری نمونه‌ها، شروع عمل الکتروفورز و نهایتا مشاهده نتایج می‌باشد. در پایین به صورت مفصل هر مرحله توضیح داده شده است.

تهیه ژل

ژل آگارز را می‌توان با حل نمودن پودر آگارز در بافر مناسب (مانند TAE یا TBE) بدست آورد. پودر آگارز ابتدا در بافر مورد نظر حل می‌شود و سپس تا نزدیک دمای جوش گرم می‌شود، اما باید دقت کرد که نجوشد. آگارز ذوب شده قبل از ریختن در ژل تری به خوبی سرد شود. اگر دمای آن بسیار بالا باشد، ممکن است تری ژل سوراخ شود.



شکل 4. شماتیک مراحل تهیه ژل آگارز

شانه را قبل از ریختن آگارز ذوب شده در تری قرار داده تا به خوبی چاهک‌های مخصوص بارگیری نمونه تشکیل شوند. غلظت ژل 1 ٪ معمولا برای یک عمل الکتروفورز روتین تهیه می‌شود.

بارگیری نمونه‌ها

هنگامی که ژل بسته شد، شانه را از آن بیرون آورده و حالا می‌توان با قرار دادن آن در محفظه تانک و ریختن بافر تازه به اندازه کافی نمونه‌ها را بارگذاری کرد. باید دقت کرد که قبل از بارگذاری نمونه‌ها، آنها را با بافر Loading مخلوط نمود تا به راحتی در چاهک‌ها قرار بگیرند. معمولا بافر loading از یک ترکیب با چگالی بالا مانند گلیسرول، ساکاروز و یا فیکول می‌باشد که چگالی کلی نمونه‌ها را بالا می‌برد و نمونه DNA به راحتی در ته چاهک قرار خواهد گرفت. بافر Loading همچنین شامل رنگ‌هایی مانند زایلن سیانول و بروموفنول بلو می‌باشد. این رنگ‌ها به منظور نشان دادن میزان پیشرفت نمونه‌ها بر روی ژل مورد استفاده قرار می‌گیرند (اصطلاحا به این رنگ‌ها Tracing Dyes گفته می‌شود). حالا نمونه‌های DNA را با استفاده از پیپت بارگذاری کنید.

شروع عمل الکتروفورز

ژل الکتروفورز آگارز معمولا در سیستم‌های الکتروفورز submarine (حالت‌های الکتروفورز که ژل در بافر غوطه‌ور می‌شود) ران می‌شود و در حین عمل الکتروفورز ژل کاملا در بافر غوطه ور می‌شود. همچنین می‌توان این نوع الکتروفورز را در سیستم الکتروفورزی عمودی انجام داد، اما کمتر از این نوع روش جهت الکتروفورز آگارز استفاده می‌شود.

باید دقت شود که ولتاژ بالاتر موجب جداسازی سریع‌تر نمونه‌ها خواهد شد، اما موجب ذوب شدن ژل و نیز بافر می‌گردد و از این رو جداسازی نمونه‌ها با کیفیت خوبی صورت نگیرد. ولتاژ پایین نیز می‌تواند موجب پهن شدن باندها برای قطعات کوچک DNA شود. به دلیل آنکه مولکول DNA در نور معمولی قابل مشاهده نمی‌باشد، همراه آنها رنگ‌هایی نیز بارگذاری می‌گردد. زایلن سیانول (آبی کم رنگ) به همراه مولکول‌های بزرگ DNA مهاجرت می‌کند، اما بروموفنل بلو (آبی تیره) همراه با قطعات کوچک‌تر DNA مهاجرت می‌کند.

همچنین طی بارگزاری نمونه‌ها یک مارکر DNA نیز در چاهک جداگانه‌ای افزوده می‌شود. این مارکر حاوی قطعاتی از مولکول DNA با وزن‌های مشخص می‌باشد که برای تخمین وزن مولکول‌های DNA مورد استفاده قرار می‌گیرد. باید در نظر گرفته شود که حرکت مولکول‌های حلقوی DNA (مانند پلاسمید) متفاوت از حرکت مولکول‌های خطی DNA می‌باشد و نمی‌توان با مارکرهای معمول به تخمین وزن آنها پرداخت. از این رو لازم است قبل از ران نمودن آنها بر روی ژل با استفاده از آنزیم‌های محدود الاثر آنها را به صورت خطی در آورد.

رنگ آمیزی و مشاهده

مولکول‌های DNA و RNA در ریل تایم الکتروفورز قابلیت رنگ آمیزی با کلیه رنگ‌ها به جز اتیدیوم برماید را دارند. رنگ هایی که می‌توان از آنها برای رنگ‌آمیزی جهت مشاهده در ریل‌تایم الکتروفورز استفاده نمود عبارتند از: دنا ژل استین، سایبرگرین، ژل رد، رنگ‌های خانواده safe. در جدول پایین تعداد بیشتری از رنگ‌های مورد استفاده در ریل‌تایم الکتروفورز آمده است.

نکته: در صورتی که مرکز تحقیقات یا آزمایشگاه شما از یک رنگ خاص استفاده می‌کند که در لیست ارایه شده در این‌جا موجود نمی‌باشد، قبل از اقدام به خرید جهت اطمینان بهتر با شرکت مشاوره کنید.

تست ایمز قابلیت موتاژنیک (جهش زایی) را نشان می‌دهد. جهت مشاهده نمونه‌ها با استفاده از سایبرگرین لازم است که از ترانسلومیناتور با رنگ آبی استفاده گردد. با توجه با راهنمای رنگ آمیزی با استفاده از رنگ‌ها که در شکل زیر آمده است، کاربران قابلیت استفاده از کلیه رنگ‌های سالم تولید شده امروزی را دارا می‌باشند. البته شرکت دنا ژن تجهیز خود نیز رنگ خاصی را تولید کرده است که با توجه به نتایج تست ایمز در رده رنگ‌های safe قرار گرفته است و تحت نام تجاری DeNA gel stain در بازار عرضه می‌شود. این رنگ بهترین نتایج را با دستگاه ریل‌تایم الکتروفورز داده است. از این رو به محققین و

متخصصین توصیه می‌شود با در نظر گرفتن قیمت مناسب و همچنین کیفیت بالای این رنگ، از آن جهت مشاهده باندهای DNA استفاده شود.

Selection Guide

Cat. No.	UV Light	Blue Light
SYBR® Green I (DNA)	√	√√
SYBR® Green II (RNA)	√	√√
SYBR® Gold	√	√√
Midori Green Driect	√	√√
Hydra Green™ Safe DNA Dye	√	√√
HD Green™ DNA Stain	√	√√
Novel Juice	√	√√
SafeView DNA Stain	√√	√√
SYBR® Safe	√	√√
Midori Green	√	√√
Midori Green Advanced	√	√√
GelGreen ™	√	√√
GelRed ™	√√	√
Ethidium Bromide	√√	
Serva DNA Stain Clear G	√√	
HealthView ™	√√	

√√ Excellent √ Good

شکل 5. لیست رنگ‌هایی که در ریل‌تایم الکتروفورز قابل استفاده می‌باشد.

بافرها

در واقع بار خالص ماکرومولکول‌های زیستی بسیار وابسته به pH محیط می‌باشد. به منظور کاهش تغییرات pHی ایجاد شده در اثر میدان الکتریکی، عمل الکتروفورز در محیط بافری صورت می‌گیرد. به طور معمول بافر ایده‌آل باید دارای هدایت پذیری بالا باشد و همچنین گرمای کمتری تولید کند و زمان ابقا طولانی داشته باشد. تعدادی از بافرها که برای الکتروفورز آگارز جهت جداسازی اسیدهای نوکلئیک استفاده می‌شوند عبارتند از: تریس استات EDTA (TAE) و تریس بورات EDTA (TBE). بافرهای دیگری نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند که نسبت به دو بافر ذکر شده کاربری بسیار کمتری دارند. بافر تریس دارای ظرفیت بافری بالایی می‌باشد اما در صورتی که DNA استخراج شده در واکنش حساس با فسفات مورد استفاده قرار می‌گیرد، نمی‌توان از آن استفاده کرد. بافر TAE دارای کمترین ظرفیت بافری می باشد اما قدرت تفکیک آن برای مولکول های بزرگ DNA بسیار خوب می‌باشد. معمولا بافرهایی که حاوی EDTA هستند، جهت غیر فعالسازی انواع نوکلئازهایی که

نیازمند کاتیون‌های دوظرفیتی جهت فعالیت خود می‌باشند، استفاده می‌کنند. در صورتی که باید جداسازی در حد جفت باز صورت گیرد، باید از ژل با 3 ٪ آگارز و نیز محیط با هدایت پذیری فوق العاده پایین که توسط بافر 1 میلی‌مولار لیتیوم بورات ایجاد می‌گردد، استفاده شود. در صورت استفاده از بافرها برای مدت طولانی، ظرفیت بافری آنها کم خواهد شد و شاید نتواند دیگر محیط لازم جهت انجام عمل الکتروفورز را فراهم آورد.

کاربردها

- ✓ تخمین اندازه مولکول های DNA بعد از برش با آنزیم‌های محدودالاثر: به عنوان مثال نقشه‌یابی DNA کلون شده بعد از در معرض آنزیم‌های محدود الاثر قرار گرفتن.
- ✓ مشاهده باندهای مختلف DNA
- ✓ آنالیز محصولات PCR : به عنوان مثال استفاده در تشخیص ژنتیک و یا Genetic fingerprinting
- ✓ جداسازی قطعات DNA برای استخراج و تخلیص
- ✓ جداسازی DNA ژنومی بریده شده قبل از انتقال ساترن و یا برای RNA قبل از انتقال نوردرن (Northern blotting).

ژل‌های آگارز به راحتی قابل شکل‌گیری و جابجایی هستند و همچنین اسیدهای نوکلئیک هیچ گونه واکنش شیمیایی با آنها انجام نمی‌دهند. نمونه‌ها در آن به راحتی قابل جستجو هستند. بعد از اتمام آزمایش، ژل بدست آمده را می‌توان در یک نایلون قرار داد و در یخچال نگهداری کرد.

مشکلات الکتروفورز DNA و دلایل احتمالی آنها

1- شدت پایین همه یا تعدادی از باندهای DNA

دلایل احتمالی:

- بارگذاری مقدار کم DNA Ladder
- رنگ‌آمیزی ناکافی و یا ناهمگون
- خارج شدن DNA از ژل
- نفوذ و پخش شدن DNA در ژل
- پوشیده شدن DNA توسط رنگ‌های مورد استفاده در رنگ‌آمیزی

2- اسمیر شدن باندها

دلایل احتمالی:

- تجزیه شدن DNA توسط نوکلئازها
- شرایط نامناسب الکتروفورز
- اثر Gel shift
- بارگزاری بیش از اندازه DNA
- غلظت بالای نمک در نمونه
- شکل‌گیری نامناسب چاهک‌های ژل

3- الگوهای باند غیر معمول

دلایل احتمالی:

- قبل از باگیری DNA مارکر گرم نشد.
- دناتوره شدن DNA
- شرایط بارگیری متفاوت برای نمونه DNA و مارکر DNA
- شرایط نامناسب الکتروفورز
- استفاده از درصد ناصحیح ژل و یا بافر
- مهاجرت غیر معمول به دلیل توالی‌ها و یا ساختارهای مختلف DNA
- اثر Gel shift
- غلظت بالای نمک در نمونه‌ها

4- **باندهای منحنی شکل DNA**

دلایل احتمالی:

- ژل به طور کامل در بافر الکتروفورز قرار نگرفته است.
- حجم نمونه‌ها کم می‌باشد.
- شرایط عمل الکتروفورز نامناسب است.
- حباب‌ها و یا ذرات بزرگی در چاهک‌های ژل و یا خود ژل موجود می‌باشند.

5- **باقی ماندن DNA در ژل**

دلایل احتمالی:

- شکل‌گیری نامناسب چاهک‌های ژل
- بارگیری بیش از اندازه DNA
- آلوده شدن نمونه DNA
- اثر Gel shift

6- **تعیین مقدار غلط**

دلایل احتمالی:

- شرایط بارگیری متفاوت بین مارکر DNA و نمونه‌ها
- تعیین باند غلط مارکر برای تعیین مقدار نمونه
- استفاده از روش تعیین مقدار نامناسب
- رنگ آمیزی ناهمگون ژل و نیز رنگ شدن پس زمینه می‌تواند بر نتایج تعیین مقدار ژل اثر بگذارد.
- پوشیده شدن DNA توسط رنگ‌های مسیریابی

7- مهاجرت غیرطبیعی

- ژل خندان :(gel smiley)

بیش از اندازه DNA ریختن

کثیف شدن ژل: وجود ناخالصی‌هایی مانند نمک‌ها و یا پروتئین‌ها می‌تواند حرکت دهد.