

Příprava gelu pro PAGE

1. Zvolte požadovanou koncentraci gelu, a to dle velikosti separovaných molekul (viz. tabulka).

Akrylamide/Bisakrylamid	Gel %	Nativní DNA/RNA (bp)	Denaturovaná DNA/RNA (bp)
19:1	4	100-1500	70-500
	6	60-600	40-400
	8	40-500	20-200
	10	30-300	15-150
	12	20-150	10-100
29:1	5	200-2000	70-800
	6	80-800	50-500
	8	60-400	30-300
	10	50-300	20-200
	12	40-200	15-150
	20	<40	<40

2. připravte gel smícháním patřičného množství komponent uvedených v tabulce (pro denaturační či nativní PAGE) . Komponenty přidávejte v uvedeném pořadí. Před přidáním TEMEDu roztok důkladně promíchejte. Po přidání TEMEDu začíná roztok polymerovat, a proto jej urychleně aplikujte mezi skla.

Složení gelu pro nativní/denaturační PAGE:

Koncentrace gelu	6%	8%	10%	12%
Voda (ml)*	6.4	5.9	5.4	4.9
5X TBE (ml)	2.0	2.0	2.0	2.0
Močovina (g)*	4.8	4.8	4.8	4.8
40% akrylamid (ml)	1.5	2.0	2.5	3.0
10% APS (μL)	100	100	100	100
TEMED (μL)	10	10	10	10
Celkový objem (ml)	10	10	10	10

* močovina se přidává jen při přípravě denaturačního gelu. Přidanou močovinu nejprve důkladně rozpustíme ve vodě a TBE, roztok doplníme vodou na objem 8,4 ml a až poté přidáme akrylamid a další komponenty. Pokud močovinu nepřidáváme, nahradíme její objem vodou.