

VAJA: SPREMLJANJE KONCENTRACIJE ZDRAVIL (TDM) IN FARMAKOGENETIKA

1. POSTOPEK

A) Priprava gela in elektroforezna ločba

- ◆ Po inkubaciji restrikcijske zmesi dodamo v vsako epruveto 3 μL nanašalnega pufru s ksilencianolom in ločimo fragmente z elektroforezo na 3% (m/V) agaroznem gelu z vgrajenim barvilom SybrSafe[®]. Elektroforeza bo potekala 45 min v 1x TAE pufru in pri stalni napetosti 90 V.
- ◆ Gel pripravimo tako, da v erlenmajerico natehtamo 2,25 g agaroze, dolijemo 75 mL 1x TAE pufru in ponovno stehamo. Pokrijemo z urnim steklom in pustimo 5 minut. Nato erlenmajerico postavimo v mikrovalovno pečico in segrevamo toliko časa, da dobimo prozorno raztopino. Počakamo 5 minut, dodamo 7,5 μL barvila SybrSafe, premešamo in vlijemo gel v pripravljen model. Po 30 minutah vzamemo gel iz modela.
- ◆ Po končani elektroforezi gele presvetlimo z UV svetlobo valovne dolžine 302 nm in gel fotografiramo.

B) Določitev plazemske koncentracije karbamazepina

V čašice na kalibracijskem krožniku napipetiramo kontrole in vzorce ter v analizator vložimo originalni reagenčni kit za določanje karbamazepina.

2. MATERIALI IN OPREMA

A.

- nanašalni pufer: 0,025 g ksilencianola, 3,78 g glicerola, dopolnimo z bidestilirano vodo do 7 mL
- agarozna
- 50 x TAE-pufer: 2 mol/L Tris-HCl, 1 mol/L očetna kislina, 48 mmol/L EDTA
- barvilo SybrSafe (10.000x)

Aparature:

B.

- Reagent 1
- Reagent 2
- Vzorec

3. PODATKI in REZULTATI

A. Slika gela (odčitani genotipi)

B. Kontrole

kontrola	Referenčno območje za kontrolo	Izmerjena koncentracija za kontrolo
L		
M		
H		

Koncentracija karbamazepina v vzorcu:

4. KOMENTAR

Pregledal-a:

Datum:

Pripombe: