

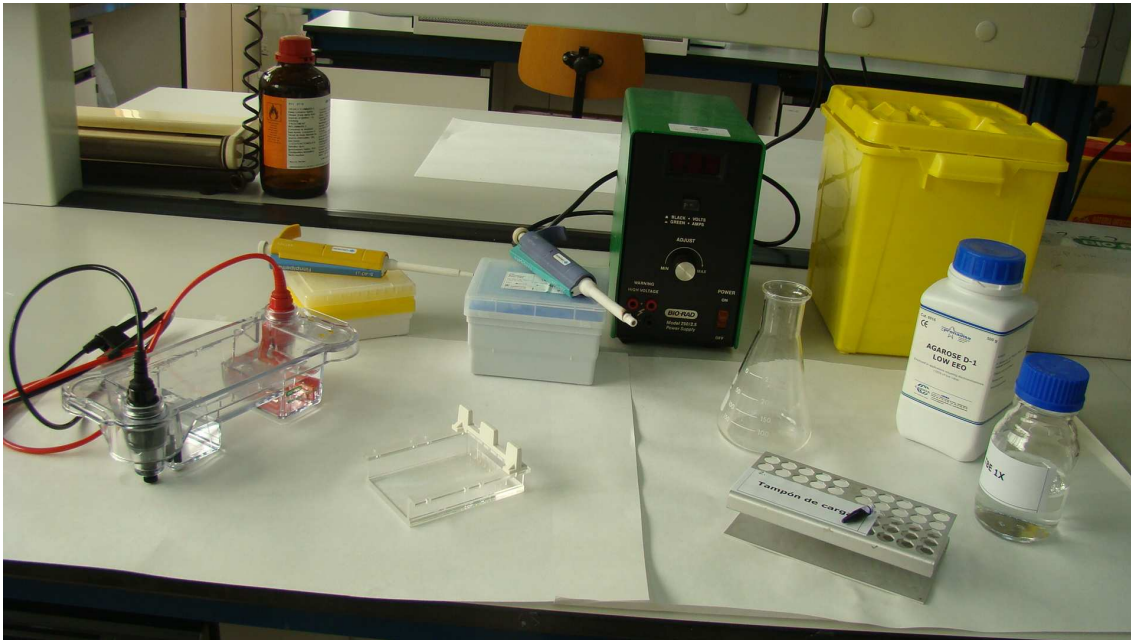
2. BAKTERIOEN DNA BISTARATZEA AGAROSA-GEL ELEKTROFORESIAREN BIDEZ

Materialak

- Gela prestatzeko moldea
- Matrazeak
- Pipetak
- Pipetako punta esterilak
- Agarosa
- Plaka beroemailea/ mikrouhin labea
- Elektroforesia burutzeko kubeta eta energia iturria
- transiluminadore ultramore
- Irudiak ateratzeko sistema

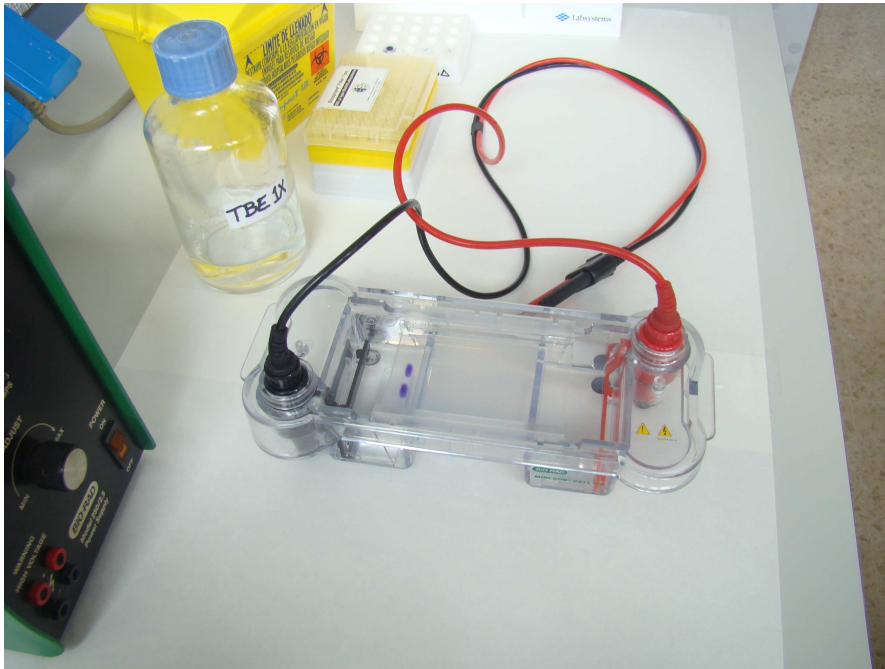
Disoluzioak

- TBE 1X: 0,9 M Tris, 0,9 M azido borikoa, 20 mM EDTA (pH=8,0). Stock disoluzioa prestatzen da 10 X kontzentrazioan eta erabileraren momentuan diluitzen da.
- Karga tanpoia: %0.25 bromofenol urdina, % 10glizerol eta %40 sakarosa 1X. TBE disoluzioan. Osagai guztiak disolbatzen dira eta 4 °Ctan gordetzen dira argitik babestuta.
- DNA bistaratzeko disoluzioa: Gel Red, Ethidio Bromuroa
- Pisu molekularren markatzailea: ikertu nahi duen DNAREN arabera markatzaile komertzialak (100 bp *ladder*) edo andui kontroleetatik erauzitako plasmidoak erabili ahal dira.

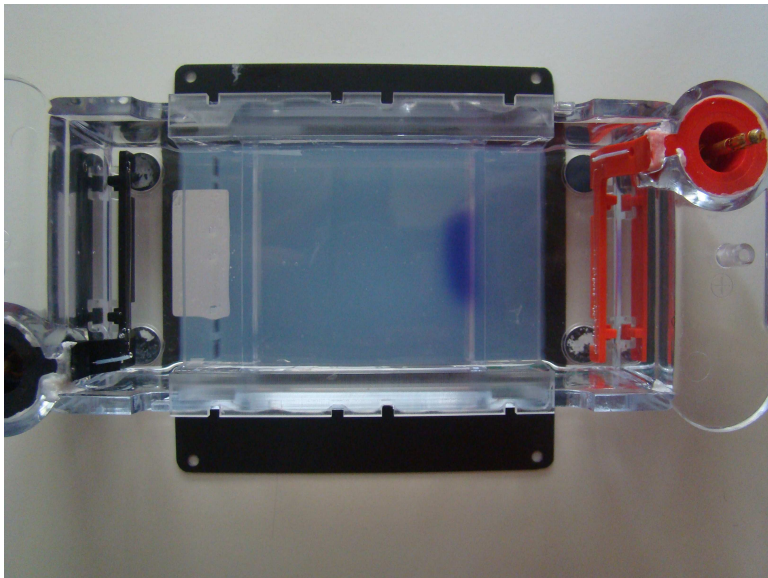


Protokoloa

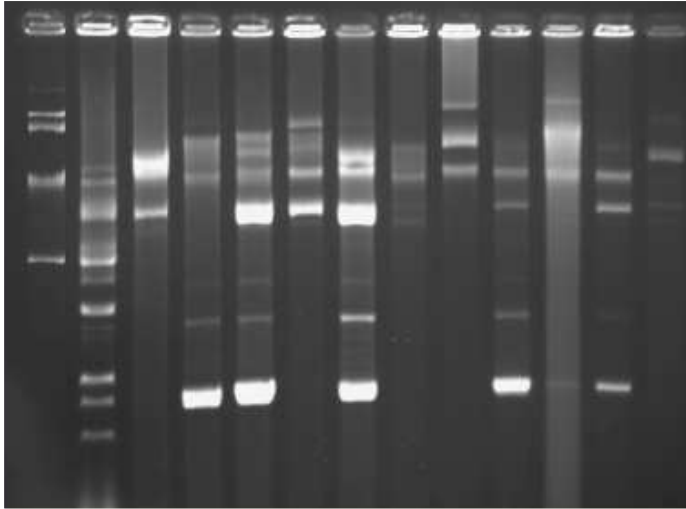
1. Agarosa-gel bat prestatu konzentrazioa zehatz batean (% 0.7tik 1.5era p/b) bistaratu nahi den DNAREN arabera. Orokorrean % 1eko konzentrazioa erabiltzen da, baina DNA zati handiak banandu nahi badira, hala nola plasmidoak, % 0.7ko konzentrazioa erabiltzen da. GelRed soluzioa une honetan gehitu ahal da, edo lagin bakoitzari kargatzeko momentuan (kasu honetan kontutan hartu behar da migrazioa pixka bat aldatzen dela)
 - Agarosaren kantitatea pisatu
 - Disolbatu 1X TBE dagokion bolumenan. Berotu irakin arte, agarosa guztiz disolbatzeko.
 - Aldez aurretik zinta itxaskorarekin inguratuta dagoen gelaren moldea bete (putzuak sortuko dituen orrazia ipinita egon behar da)
 - Hozten utzi gogortu arte
 - Orrazia atera eta zinta itxaskorra kendu.
2. Kokatu gela 1X,TBE tanpoiarekin betetako elektroforesi-kubetan. Gela guztiz estalita gelditu behar da
3. Gela samatu: horretarako 1 ml DNA/ 10 µl karga-tanpoi gehitu behar da, laginari pisua emateko putzuetara jausteko (DNAREN migrazioaren behaketa ere baimentzen du).



4. Kubetari estalkia ipini eta korronte elektrikoaren intentsitatea aukeratu (orokorrean 75 eta 100 V artean).
5. DNaren migrazioa gelaren bukaerara heltzeko gutxi falta zaionean korronte elektrikoa gelditu eta moldea gelarekin atera



6. Gela moldetik atera eta transiluminadore ultramore batean bistaratu .



Gaur egun DNA-irudiak prozesatzeko sistemak daude bheko irudian agertzen denaren bezalakoak:

