

Prep-Card

Experiment II: Vermehren und Isolieren von Plasmid-DNA

Material

für 6 Gruppen
(im Kit enthalten)

- Sterile 10 ml-Röhrchen (6x)
- 2 ml-Eppendorfröhrchen (6x)
- 1.5 ml-Eppendorfröhrchen (12x)
- Pipettenspitzen blau, gelb, weiss
- Entsorgungsbeutel
- Entsorgungsflasche
- Lysepuffer
- Lysozym
- TE-Puffer
- Glykogenlösung
- 98% Ethanol
- LB-Medium
- Ampicillin (50 mg/ml)

Geräte

(im Koffer enthalten)

- 200-1000 µl-Mikropipette
- 20-200 µl-Mikropipette
- 0.5-10 µl-Mikropipette
- Thermoblock 95°C
- Zentrifuge
- Rack

Nicht enthalten:

- Schüttelbad
- Eisbad
- Holzzahnstocher

Vorbereitung

(Dauer ca. 15 Min.)

LB-Medium mit Ampicillin (Dauer ca. 5 Minuten)

Geben Sie zu 25 ml des mitgelieferten LB-Medium 50 µl der Ampicillin-Lösung.

Lösen und Aliquotieren des Lysozyms (Dauer ca. 10 Minuten)

Das mitgelieferte lyophilisierte Lysozym (5 mg) wird erst unmittelbar vor Gebrauch gelöst.

1. Beschriften Sie sechs 1.5 ml-Eppendorfröhrchen mit «Lysozym» und stellen Sie die Röhrchen auf Eis.
2. Pipettieren Sie 500 µl TE-Puffer in das Eppendorfröhrchen, indem sich 5 mg lyophilisiertes Lysozym befindet. Schütteln Sie das Röhrchen, bis sich das Lysozym gelöst hat.
3. Pipettieren Sie in die sechs beschrifteten Röhrchen je 50 µl der Lysozym-Lösung. Stellen Sie die Röhrchen auf Eis.

Vorheizen des Heizblockes (mindestens 30 Minuten vor Gebrauch)

Stellen Sie zum Aufheizen des Heizblocks die Solltemperatur 5°C höher als die gewünschte Temperatur ein. Kontrollieren Sie die Temperatur mit dem Thermometer, das im Metallbock steht, und regulieren Sie die Einstellung bei Bedarf.

Entsorgung

Der bei diesem Experiment entstehende feste Abfall muss in einem autoklavierbaren Entsorgungsbeutel gesammelt werden. Die Entsorgungsbeutel und die mit Bakterien bewachsenen Platten müssen im Dampfkochtopf bei 120°C für 20 Minuten autoklaviert werden (siehe Biosicherheit).

Der flüssige Abfall muss in der mitgelieferten Entsorgungsflasche gesammelt werden, nach 24 Stunden Einwirkungszeit kann die Flüssigkeit über die normale Kanalisation entsorgt werden (siehe Biosicherheit).

Lagerung

Eine gewachsene Bakterienkultur kann bis zu 7 Tage bei 4°C aufbewahrt werden, bevor man daraus die DNA isoliert. Die gelöste Plasmid-DNA kann bei 4°C einige Wochen und bei -20°C unbegrenzt lange aufbewahrt werden.