

301628 DNA fingerprinting met PCR

INLEIDING:

Doel:

Het doel van dit experiment is om de PCR-gebaseerde DNA-fingerprinting uit te voeren op werkelijke DNA-monsters die zijn gekloond in plasmiden en het concept van deze technologie te begrijpen zoals toegepast in de forensische wetenschap.

Veiligheid:

1. Draag altijd handschoenen en een beschermbril tijdens het practicum.
2. Wees uiterst voorzichtig tijdens het werken met apparatuur dat wordt gebruikt voor het verwarmen/smelten van reagentia.
3. Reagentia niet met de mond pipetteren – gebruik pipetteerpomp.
4. Wees voorzichtig bij het gebruik van elektrische apparatuur.
5. Was de handen grondig met water en zeep na het hanteren van reagentia of biologische stoffen.

VOORBEREIDING PCR:

Benodigheden voor PCR-les

Elk practicumgroepje heeft nodig:

- 1 x 0,2 ml microbuisjes
- 1 x PCR-bolletje in 0,5 ml buisje
- 1 x 5-50 μ l micropipet
- 10 x gele pipetpuntjes

Vorbereiding PCR:

Doe het PCR bolletje in het 0,2 ml microbuisje.

Voeg 5 μ l model DNA toe.

Voeg 20 μ l primers toe.

Plaats het buisje in de EdvoCycler.

Selecteer programma 371.

Bewaar de microbuisjes na PCR in de vriezer.

VOORBEREIDING ELECTROFORESE LES:

Buffer maken

Meng 20 ml 50x bufferoplossing met 980 ml water.

Agarose maken

Doe 3 g agarose in 375 ml 1x bufferoplossing.

Verwarm in magnetron tot de agarose gesmolten is.

Gels gieten

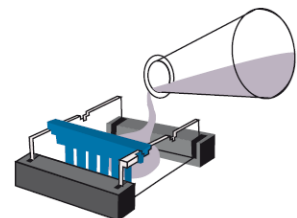
Laat de gesmolten agarose afkoelen tot 50°C.

(Let op: goed laten afkoelen anders kan de gelvorm definitief vervormen).

Pas op! Warm!

Giet 30 ml in de gelvorm met kam en rubberen eindcaps.

Laat 30 minuten staan.



UITVOERING:

Benodigheden voor de les

Elk practicumgroepje heeft nodig:

Buisjes met PCR-resultaat

1 x 5-50 µl micropipet

10 x gele pipetpuntjes

Laadkleurstof

1 x gel

Gels laden

Verwijder voorzichtig de rubberen eindcaps en de kam.

Voeg 5 µl laadkleurstof toe in de 0,2 ml PCR microbuisjes.

Voeg de monsters direct toe in de sleufjes.

Zet de gels in elektroforesebak.

Giet er voorzichtig 1x bufferoplossing op zodat de gels onder staan.

Elektroforese

Doe het deksel erop.

Sluit aan op de voeding.

Laat de meting 20-30 minuten op 150 V lopen.

Resultaat

Schakel de voeding uit.

Verwijder de gels.

DNA-gels kleuren

Leg de gel op een vlakke ondergrond.

Leg de methyleenblauw-kleurkaart op de gel.

Druk goed aan.

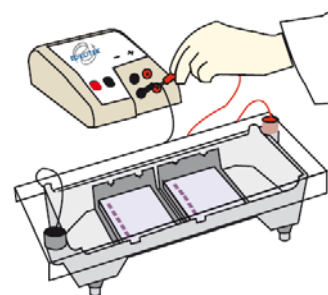
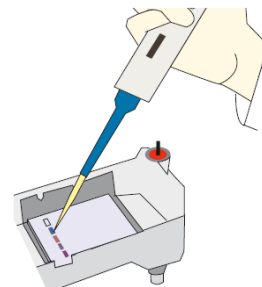
Zet de gelvorm er bovenop.

Laat 5 – 10 minuten staan.

Leg de gel 15 minuten in handwarm water.

(Tot 37°C en niet warmer. De gel wordt dan zacht en kan breken).

Analyseer het resultaat.



Draag beschermbril
en handschoenen

