

**Studiju kurss**

---

# **Mikroorganismu gēnu inženierija**

---

2018./2019. mācību gada 2. semestris

---

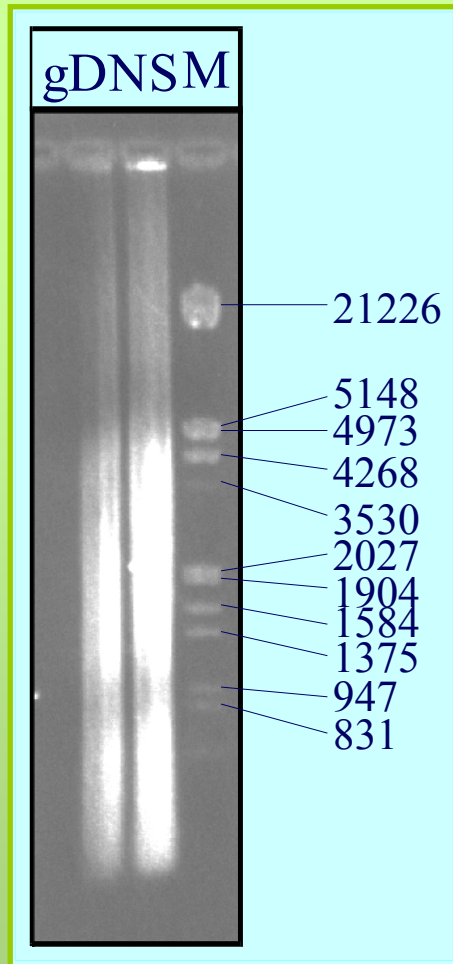
**Māris Lazdiņš**

**[lazda@latnet.lv](mailto:lazda@latnet.lv)**

LU BF Mikrobioloģijas un biotehnoloģijas katedra

---

# Noteiktu DNS fragmentu klonēšana



Lai veicinātu noteikta garuma DNS klonēšanu, ar restrikcijas enzīmu palīdzību hidrolizēto DNS var sadalīt agarozes gelā, un no gela izdalīt noteikta garuma intervāla DNS fragmentus.

# DNS izdalīšana no gela

---



No gela ar sterilu asmeni tiek izgriezts vajadzīgais gabals.

DNS izdalīšanai no gela gabaliņa zināmas vairākas metodes.

# DNS izdalīšana no gela

---



Agarozes gels, **variants A:**

Elektroforēzi veic **mazas kušanas temperatūras** agarozes gelā.

Gela gabaliņam uzlej eluēšans buferi un agarozī izkausē 65 °C.

# DNS izdalīšana no gela

---



Agarozes gels, **variants A:**

Pēc tam no iegūtā šķīduma  
DNS izgulsnē ar etanolu Na-acetāta klātbūtnē.

Vairākas firmas piedāvā komplektus DNS  
izdalīšanai no agarozes gela.

# DNS izdalīšana no gela

---



Agarozes, poli-akrilamīda gels, **variants B:**

Gela gabaliņam uzlej eluēšans buferi un saspaida ar stikla spieķīti.

Atstāj 6 - 24 stundas eluēties 37 - 65 °C.

# DNS izdalīšana no gela

---



Agarozes, poli-akrilamīda gels, **variants B:**

Eluēšanas laiks atkarīgs no:

- temperatūras,
- eluējamo DNS fragmentu lieluma,
- gela koncentrācijas,
- gela sasmalcināšanas pakāpes.

No PAAG veiksmīgi izdodas eluēt līdz 400 bp garus fragmentus, lielāki fragmenti eluējas neefektīvi.

# DNS izdalīšana no gela

---



Agarozes, poli-akrilamīda gels, **variants C:**

Ar centrifugāciju pie izteikti liela RCP gela gabaliņus sablīvē stobriņa apakšā un

supernatantu pārnes uz jaunu stobriņu.



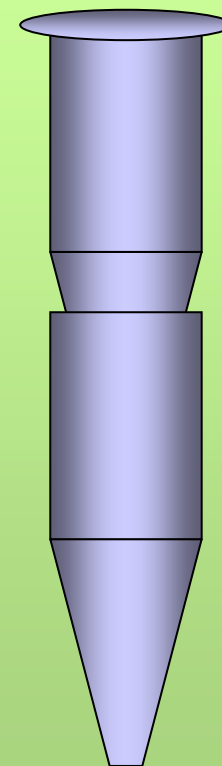
# DNS izdalīšana no gela



## Poli-akrilamīda gels, variants D:

Gela ietverto šķīdumu (kopā ar DNS) ar centrifugācijas palīdzību izspiež caur stobriņa apakšā izdurtu caurumiņu citā stobriņā.

DNS izgulsnē ar etanolu Na-acetāta klātbūtnē.

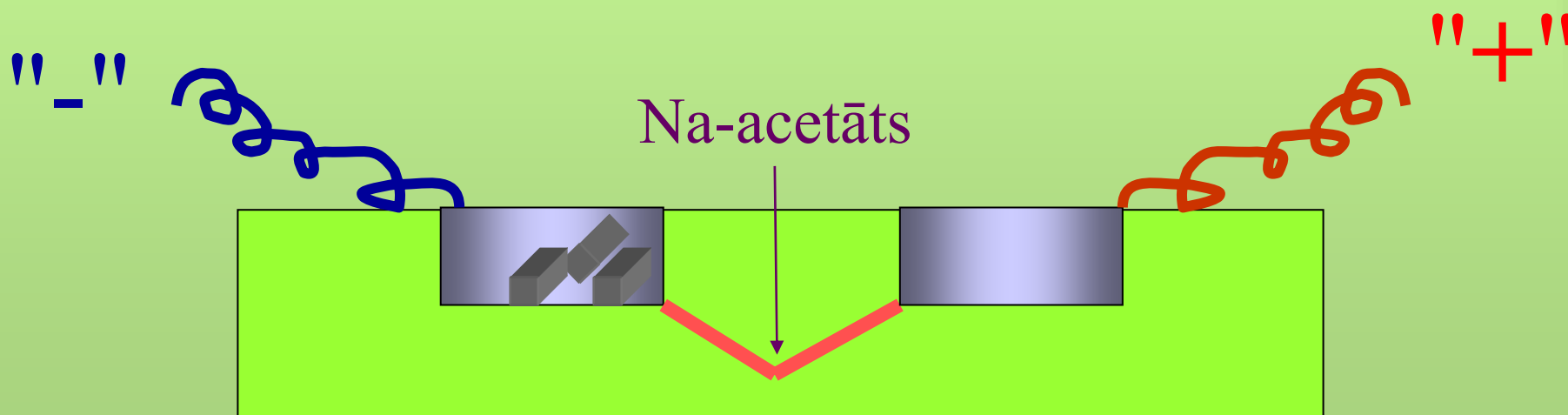


# DNS izdalīšana no gela



Agarozes, poli-akrilamīda gels, **variants E**:

Veiksmīgi lietojama elektroeluēšanas metode, kurā DNS iznāk no gela elektriskā lauka darbības rezultātā.

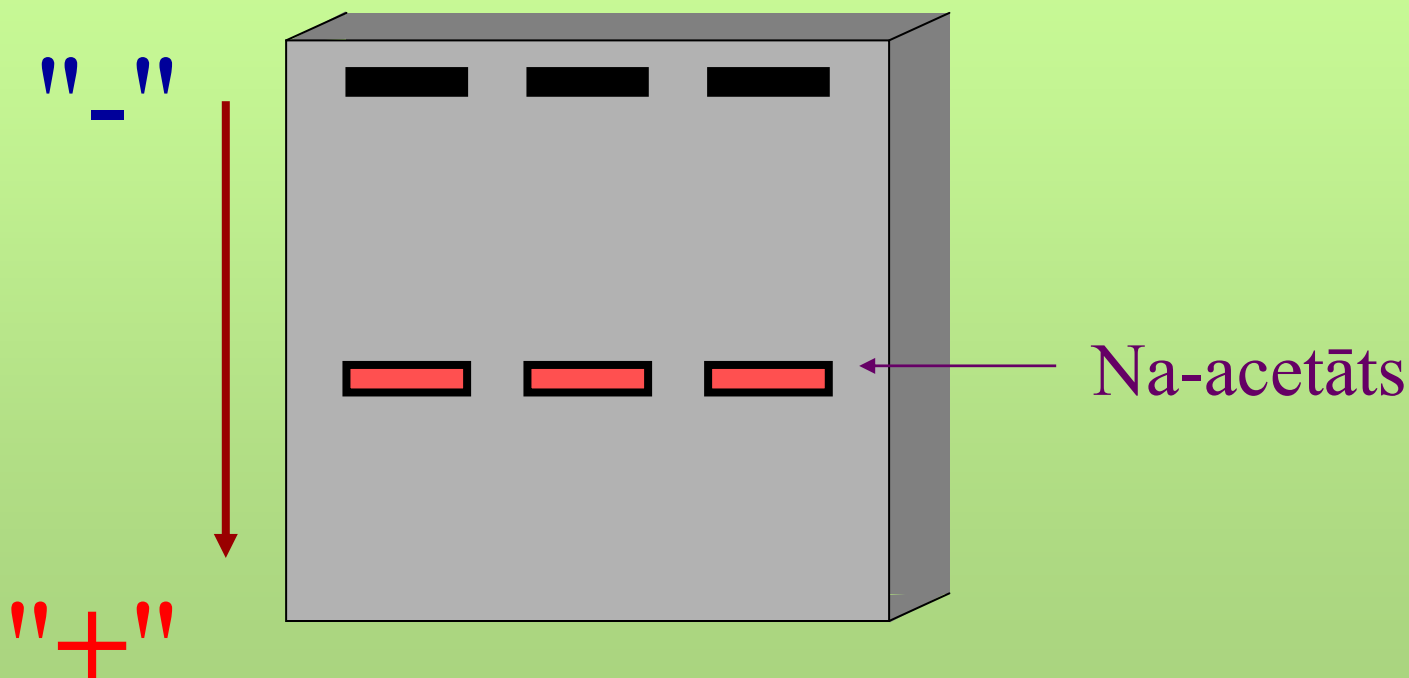


# DNS izdalīšana no gela



Agarozes gels, variants F:

Gelā iestrādātas divas bedrīšu rindas.





17. 05. 2019.

Mikrobioloģijas un biotehnoloģijas  
katedra ML

12