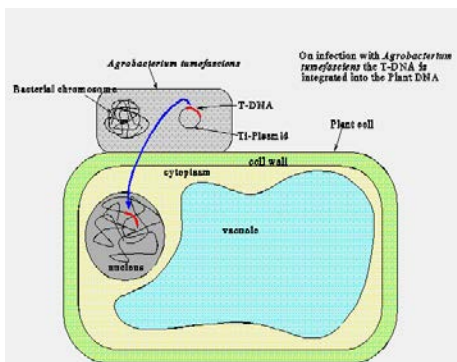


ΑΣΚΗΣΗ 1



Σταθερός μετασχηματισμός φυτών *Arabidopsis thaliana* με τη μέθοδο της διείσδυσης μέσω *Agrobacterium tumefaciens*.

Μεθοδολογία:

- 1) Ποτίστε καλά το φυτό μέσα στο γλαστράκι.
 - 2) Δίνεται 16 ml καλλιέργειας *Agrobacterium tumefaciens* (GV3101::35S::GUS) (**μπουκαλάκι no. 1**). Φυγοκεντρήστε 8 ml της καλλιέργειας στα 4000 rpm για 10 λεπτά.
 - 3) Πετάξτε το υπερκείμενο και προσθέστε στο σωλήνα τα υπόλοιπα 8ml της καλλιέργειας. Φυγοκεντρήστε και πάλι στα 4000 rpm για 10 λεπτά.
 - 4) Πετάξτε το υπερκείμενο και επαναιωρήστε τα κύτταρα σε 8ml θρεπτικού IM(A).
 - 5) Φωτομετρήστε την καλλιέργεια (600nm) και αραιώστε την με IM(A) σε OD₆₀₀: ~0.1 στο μεγάλο ποτήρι ζέσεως των 250 ml.
 - 6) Μεταφέρετε την αραιωμένη καλλιέργεια στο μικρό ποτήρι ζέσεως των 100 ml, γεμίζοντας το μέχρι το χείλος. Προσθέστε μία σταγόνα SILWET L-77 (**ependorf no. 2**) και αναδέψτε την καλλιέργεια για 1 λεπτό.
 - 7) Αναποδογυρίστε το γλαστράκι και εμβαπίστε το φυτό μέσα στην καλλιέργεια. Συμπληρώστε στο ποτήρι ζέσεως τόση καλλιέργεια ώστε όλα τα ανθικά στελέχη να είναι πλήρως εμβαπτισμένα μέσα στην καλλιέργεια.
 - 8) Αφήστε το φυτό μέσα στην καλλιέργεια για 2 λεπτά.
 - 9) Βγάλτε το φυτό από την καλλιέργεια, στραγγίστε το και αφήστε το για 3 λεπτά στον πάγκο.
 - 10) Επαναλάβετε τον εμβαπτισμό του φυτού στην καλλιέργεια για άλλα 2 λεπτά.
 - 11) Βγάλτε το φυτό από την καλλιέργεια και στεγνώστε το προσεχτικά με διηθητικό χαρτί.
 - 12) Τοποθετήστε το φυτό σε θάλαμο σταθερών συνθηκών για να ολοκληρώσει τον κύκλο του (Φωτοπερίοδος 16/8 στους 21°C).
-