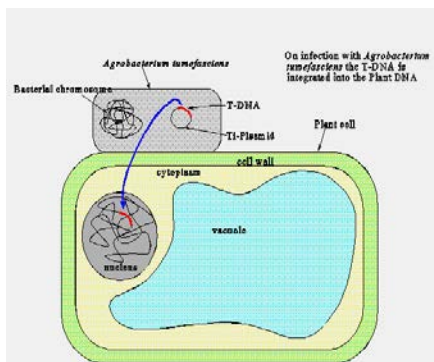


## ΑΣΚΗΣΗ 5



Ποσοτικός προσδιορισμός της έκφρασης του γονιδίου μάρτυρα  $\beta$ -glucuronidase (*GUS*) σε διαγονιδιακά φυτά *Arabidopsis thaliana* με υπόστρωμα MUG.

### Μεθοδολογία:

- 1) Μεταφέρετε 5-10 διαγονιδιακά φυτά στο **eppendorf no. 4** που περιέχει το διάλυμα ομογενοποίησης και ομογενοποιήστε τα σχολαστικά με το εμβολάκι.
- 2) Φυγοκεντρήστε το eppendorf στις 12000 στροφές για 2 λεπτά και μεταφέρετε 100-200μλ του υπερκείμενου στο **eppendorf no. 5**, που περιέχει 500μl του διαλύματος MUG.
- 3) Ανακινήστε το eppendorf και μεταφέρετε αμέσως 100 περίπου μλ στο **eppendorf no. 6** που περιέχει το διάλυμα τερματισμού της αντίδρασης (stop buffer). Αυτό αποτελεί το χρόνο 0.
- 4) Τοποθετείστε την υπόλοιπη αντίδραση στους 37<sup>0</sup>C και σε χρόνους 25, 50, και 75 λεπτών μεταφέρετε αντίστοιχα 100 περίπου μλ της αντίδρασης στα **eppendorf no. 7, 8 και 9** που περιέχουν stop buffer.
- 5) Μετά το τέλος όλων των αντιδράσεων παρατηρείστε το φθορισμό σε λάμπα UV. Συγκρίνετε το φθορισμό στα διάφορα eppendorf με αυτό των δειγμάτων ελέγχου (standards) και υπολογίστε κατά προσέγγιση την ποσότητα της παραγόμενης MU.