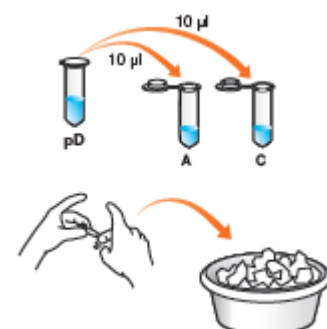
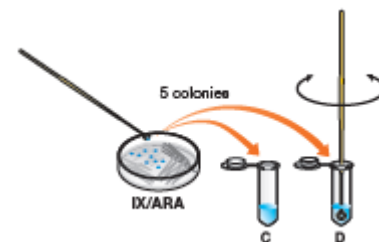
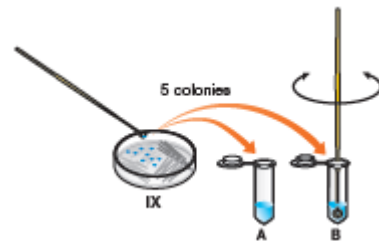
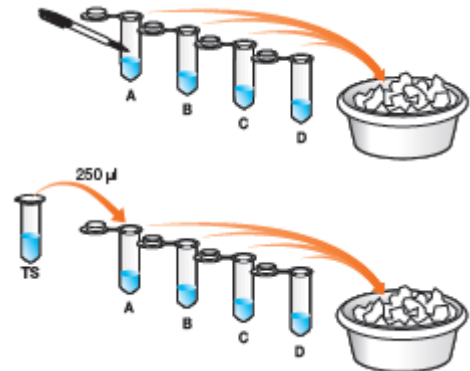
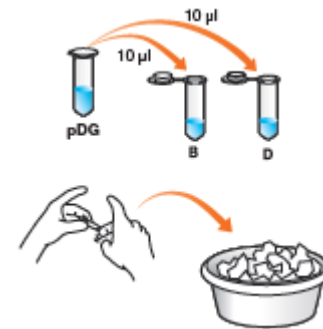


PROTOCOL

1. Identificeer vier 2.0 ml cupjes (A t/m D) en plaats ze daarna op ijs.
2. Voeg 250 microliter ijskoude transformatie oplossing toe aan elk cupje en plaats ze terug op het ijs.
3. Haal met een steriele öse 5 koloniën van de IPTG/X-gal (IX) petrischaal af. Breng het entoogje met bacteriën over in cupje A. Draai de öse (minimaal 1 minuut) rond totdat alle bacteriën homogeen in oplossing zijn en het entoogje geen bacteriën meer bevat. Hierna plaats je het cupje direct weer op ijs.
4. Herhaal stap 3 voor cupje B, gebruik hiervoor een nieuwe öse.
5. Haal met een steriele öse 5 koloniën van de IPTG/X-gal/Ara (IX/ARA) petrischaal af. Breng het entoogje met bacteriën over in cupje C. Draai de öse (minimaal 1 minuut) rond totdat alle bacteriën homogeen in oplossing zijn en het entoogje geen bacteriën meer bevat. Hierna plaats je het cupje direct weer op ijs.
6. Herhaal stap 5 voor cupje D, gebruik hiervoor een nieuwe öse.
7. Pipeteer 10 microliter pLZDonor (pD) in cupje A waarnaar je het cupje sluit. Meng de inhoud van het cupje door een aantal keren tegen de zijkant te tikken. Plaats hierna het cupje weer op ijs.
8. Herhaal stap 7 voor cupje C.



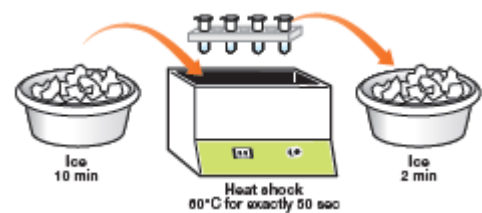
9. Pipeteer 10 microliter pLZDonorGuide (pDG) in cupje B waarnaar je het cupje sluit. Meng de inhoud van het cupje door een aantal keren tegen de zijkant te tikken. Plaats hierna het cupje weer op ijs.



10. Herhaal stap 9 voor cupje D.

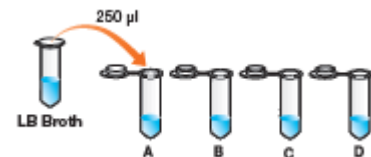
11. Incubeer de cupjes minimaal 10 minuten op ijs.

12. Zet de cupjes in een drijftekje en plaats deze 50 seconden in een waterbad van 60 graden Celsius.



13. Plaats de cupjes direct daarna 2 minuten lang op ijs.

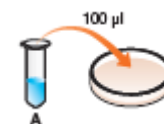
14. Haal de cupjes van het ijs en pipeteer in elk cupje 250 microliter LB nutrient broth. Sluit de cupjes en laat ze **20 minuten tot een nacht staan bij kamertemperatuur.**



15. Identificeer 4 IX/SPT-petrischalen.



16. Resuspendeer de bacteriën van cupje A door voorzichtig tegen de zijkant te tikken en breng hierna 100 microliter van monster A over naar petrischaal A.



17. Verdeel monster A met de drigalski spatel over de voedingsbodem.

18. Herhaal stap 16 en 17 voor monster B t/m D.

19. Plaats de petrischaaltjes in een rekje (dit wordt aangegeven door de T.O.A.)

20. De petrischalen worden 24 uur lang in een broedstov van 37 °C geïncubeerd.

RESULTATEN ANALISEREN

21. Tel de blauwe en witte koloniën en schrijf de resultaten in de tabel 1 hieronder.

22. Als er teveel koloniën zijn om te tellen verdeel je de plaat in vieren

23. Tel 1 kwadrant en vermenigvuldig de uitkomst met vier. Schrijf het resultaat in tabel 1.



24. Bereken het totaal aantal koloniën per plaat en noteer het resultaat in tabel 1.

25. Bereken per plaat hoeveel procent van het totaal aantal koloniën wit is.

26. Vergelijk je voorspellingen uit tabel Met je resultaten. Verklaar de eventuele verschillen tussen je resultaten en je voorspelling.

Tabel

	Blauwe koloniën	Witte koloniën	Totaal aantal koloniën	Percentage witte koloniën	Verklaar eventuele verschillen tussen je voorspelling en je resultaat
A					
B					
C					
D					