

## ATTREZZATURA DEL LABORATORIO E ALLESTIMENTO DI REAZIONI

### DISPOSITIVI DI PROTEZIONE

Camice, guanti in lattice, schede di sicurezza reagenti

**norme di comportamento in laboratorio**, dispositivi di smaltimento rifiuti a rischio biologico

cappa chimica e biologica

ATTREZZATURA:	MATERIALI:
<ul style="list-style-type: none"><li>-pipette automatiche</li><li>-frigo 4°C</li><li>-congelatori -20°C</li><li>-centrifughe da banco</li><li>-bilancia tecnica e analitica</li><li>-incubatore a 37°C</li><li>-celle elettroforetiche</li><li>-alimentatori</li><li>-forno a microonde</li><li>-termociclatore per PCR</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>-vetreria (bottiglie Pirex, cilindri, becker, beute,)</li><li>-provette da reazione in polipropilene di vari volumi (provette eppendorf da 0,2-0,5-1,5mL, tubi falcon da 15 e 50mL)</li><li>-supporti (rack) portaprovette</li><li>-puntali monouso per pipette</li><li>-acqua distillata / deionizzata</li><li>-pipette graduate</li><li>-reagentario</li></ul>

### UTILIZZO PIPETTE AUTOMATICHE E STIMA DEI VOLUMI:

Si utilizzano pipette automatiche con puntali **monouso** (range 10 e 100µl, gialli; 1000µl, blu), provette tipo eppendorf da 0,2, 0,5 e 1,5ml, rack portaprovette, soluzione BBF (blu di bromofenolo). I puntali vanno scartati nell'apposito cestino presente su ogni bancone. Disponendo 6 provette sul rack, trasferire in ciascuna 8, 15, 46, 123, 350, 770µl rispettivamente, avendo cura di depositare il liquido sul fondo.. Passare le provette ad un collega del gruppo che verificherà utilizzando le pipette l'esattezza dei volumi depositati.

**NEL CASO IL LIQUIDO SI DEPOSITI SULLE PARETI DELLA PROVETTA, SARÀ NECESSARIO CENTRIFUGARLA BREVEMENTE PER RACCOGLIERE NUOVAMENTE IL LIQUIDO SUL FONDO**

### ALLESTIMENTO DI REAZIONI in parallelo

- 1- Preparazione di **3 reazioni uguali indipendenti**, ciascuna del volume finale di **16µL** aggiungendo **12 µL** di E124 e **4µL** di BBF nelle **provette da 0,5mL**. Verificare il volume FINALE di ciascuna reazione in ciascuna provetta. POI aggiungere altri **6µL** di glicerolo **in ciascuna reazione**, mescolare bene e prelevare **da ciascuna reazione 10µL** e trasferirli in un'altra provetta. **VERIFICARE IL VOLUME CHE RIMANE** in ciascuna provetta da cui si sono prelevati i 10 µL.
- 2- Preparazione di **150µL di un'unica miscela** da cui ricavare **3 reazioni equivalenti** con volume finale di 50µL ciascuna. Aggiungere in una **provetta da 1,5mL IN SEQUENZA: 87µL BBF, 30µL H<sub>2</sub>O, 15µL BBF, 15µL glicerolo, 3µL E124** mescolare bene facendo attenzione che TUTTO il volume si trovi nel fondo della provetta. Preparare ora una **provetta da 0.5mL** con depositati sul fondo **6 µL** di soluzione A. A questo punto trasferire TUTTO il volume in questa provetta e mescolare bene nuovamente. La miscela va suddivisa e trasferita in **3 provette da 0,2mL**. Accertandosi di avere tutto il volume sul fondo della provetta, trasferire **50µl** della miscela in ciascuna **provetta da 0,2mL**. Alla fine **VERIFICARE** che ogni provetta da 0,2mL contenga **50µL** e che tutte e 3 le provette appaiano **UGUALI** fra loro per volume, colore, etc.