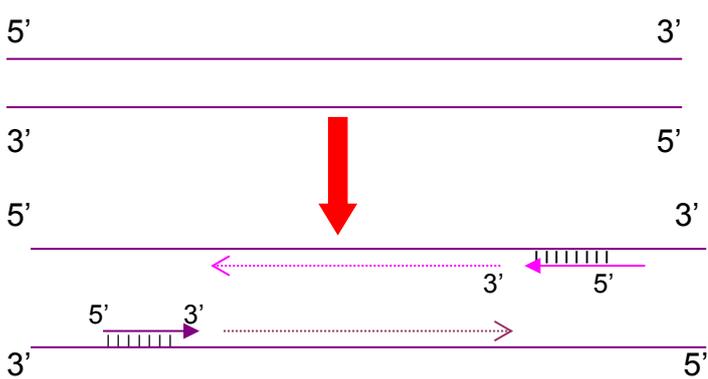


**POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)**

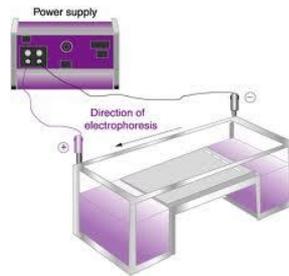
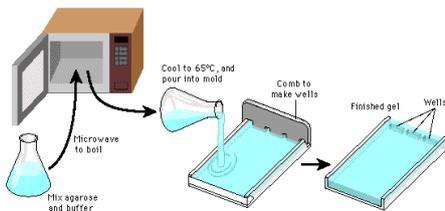


- STEP 1: denaturazione iniziale 94°C; 2'
- STEP 2: denaturazione 94°C; 1'+3'
- STEP 3: annealing 40°÷60°C; 1'+3'
- STEP 4: allungamento 72°C; 1'
- STEP 5: allungamento finale 72°C; 3'

- 1)- 94°C; 2'
- 2)- 94°C; 1'
- 3)- 60°C; 1'
- 4)- 72°C; 2'
- 5)- 40 X
- 6)- 72°C; 10'
- 7)- 4°C ∞

**ANALISI DELL'AMPLIFICAZIONE MEDIANTE PCR DELLE SEQUENZE Alu PER EVIDENZIARE I POLIMORFISMI**

- gel: agarosio 1% in tampone di *running*: TAE (Tris/acetato/EDTA) 1x / GELRED 5µL/100ml
- tampone di corsa: TAE 1x
- tampone di caricamento (*loading buffer*)
- markers di peso molecolare



**PREPARAZIONE CAMPIONI DA PCR**

- campioni controllo da PCR Alu: aggiungere 40µl di acqua in ciascuna reazione PCR, mescolare bene e da ogni reazione così diluita prelevare 3µl e addizionarli a 3µl di *loading buffer* e caricare **tutti i 6µl** in un pozzetto
- campioni DNA genomico da PCR Alu: 10µl addizionarli a 10µl di *loading buffer* e caricare 6µl in un pozzetto e 12µl in un altro
- IN UNO DEI POZZETTI VANNO CARICATI 5µl DI MARKERS di peso molecolare

1	2	3	4	5	6	7	8
MARKER MW	CTRL - /-	CTRL +/-	CTRL +/+	CTRL negativo	PCR DNA gen 6µL	PCR DNA gen 12µL	

La corsa va effettuata a 110v per circa 40' e poi il gel va sottoposto al transilluminatore a raggi UV