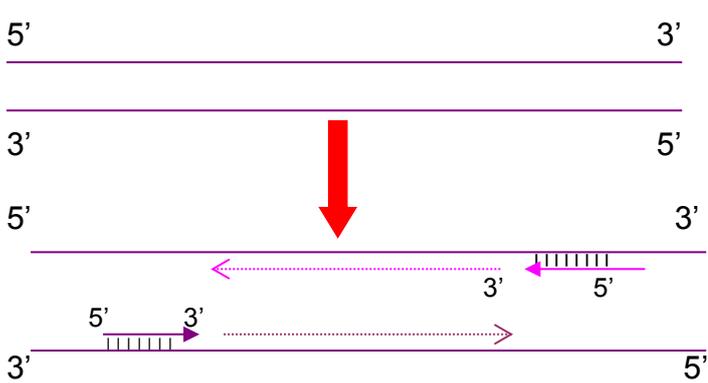


**CORSO DI LABORATORIO di BIOLOGIA MOLECOLARE -4° esercitazione a.a. 2020-21  
POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)**

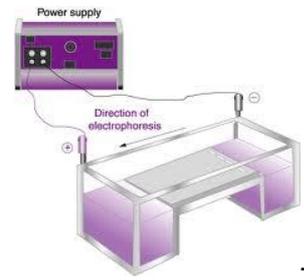
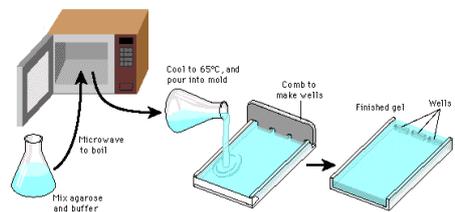


- STEP di denaturazione iniziale 94°C; 2'
- STEP 1: denaturazione 94°C; 1'÷3'
- STEP 2: annealing 40°÷60°C; 1'÷3'
- STEP 3: allungamento 72°C; 1'
- STEP di allungamento finale 72°C; 3'

- 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 1,6%** in tampone di *running*: TAE (Tris/acetato/EDTA) 1x / GELRED 5µL/100ml



- tampone di caricamento (*loading buffer*)
- markers* di peso molecolare

-tampone di corsa: TAE 1x

**PREPARAZIONE CAMPIONI DA PCR**

- **campioni controllo da PCR Alu**: da ogni reazione così diluita prelevare **5µl** e addizionarli a 5µl di *loading buffer* e caricare **6µl** per pozzetto
- **ai campioni di DNA genomico da PCR Alu (20µl)** aggiungere **10µl** di *loading buffer* e caricare **8µl** in un pozzetto e **15µl** in un altro
- **IN UNO DEI POZZETTI VANNO CARICATI 5µl DI MARKERS** di peso molecolare

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
MARKER	CTRL	CTRL Alu	CTRL Alu	CTRL	PCR DNA	PCR DNA	PCR DNA	PCR DNA	
MW	negativo	-/-	+/+	Alu	Studente1	Studente1	Studente2	Studente2	
5µl	5µl	5µl	5µl	+/- 5µl	gen 7µL	gen 15µL	gen 7µL	gen 15µL	

La corsa va effettuata a 100v per circa 40' e poi il gel va sottoposto al transilluminatore a raggi UV