

## PREPARAZIONE GEL DI AGAROSIO, PREPARAZIONE CAMPIONI E CORSA ELETTROFORETICA

- 1) PREDISPORRE IL SUPPORTO PER IL GEL E IL PETTINE PER LA FORMAZIONE DEI POZZETTI;
- 2) PREPARARE UN GEL DI AGAROSIO ALL'1%. IL GEL PICCOLO SI DILUISCE IN 25 ml MENTRE QUELLO GRANDE IN 50 ml;
- 3) PESARE L'AGAROSIO E METTERLO IN UNA BEUTA;
- 4) AGGIUNGERE IL TAMPONE PER SCIogliere L'AGAROSIO. FARE ATTENZIONE AD UTILIZZARE LO STESSO TAMPONE PRESENTE NELLA CAMERA ELETTROFORETICA (TBE O TAE 0,5 X), PRELEVANDOLO DALLA BOTTIGLIA CONTENENTE QUELLO SENZA EtBr;
- 5) SCIogliere IL TUTTO IN FORNO A MICROONDE PORTANDO AD EBOLLIZIONE E AGITANDO RIPETUTAMENTE SINO A CHE IL LIQUIDO NON DIVIENE TRASPARENTE;
- 6) LASCIARE DEGASSARE E RAFFREDDARE SOTTO IL GETTO DELL'ACQUA FREDDA;
- 7) AGGIUNGERE L'EtBr (1,5 ul PER I GEL DA 50 ml e 1 ul PER QUELLI DA 25 ml);
- 8) COLARE IL GEL, IN MODO CONTINUO E DECISO EVITANDO DI CREARE DELLE BOLLE;
- 9) LASCIARE RAFFREDDARE SINO A CHE IL GEL POLIMERIZZA. RIMUOVERE DELICATAMENTE IL PETTINE E IMMERGERE IL GEL NELLA CAMERA ELETTROFORETICA, ACCERTANDOSI CHE RIMANGA COMPLETAMENTE COPERTO DAL TAMPONE DI CORSA;
- 10) CARICARE I CAMPIONI PREPARATI NEL SEGUENTE MODO: 1 ul DI DNA, 9 ul DI ACQUA E 2 ul DI COLORANTE DI CARICAMENTO. AGGIUNGERE EVENTUALMENTE IL MARKER DI PESO MOLECOLARE NEL PRIMO POZZETTO.
- 11) AVVIARE LA CORSA ELETTROFORETICA ACCERTANDOSI CHE LA POLARITA' SIA DA - A + E CON UN VOLTAGGIO PARI A 50;
- 12) DOPO CIRCA 20-30 MINUTI IL GEL E' PRONTO PER LA VISIONE ALL'ULTRAVIOLETTO.