

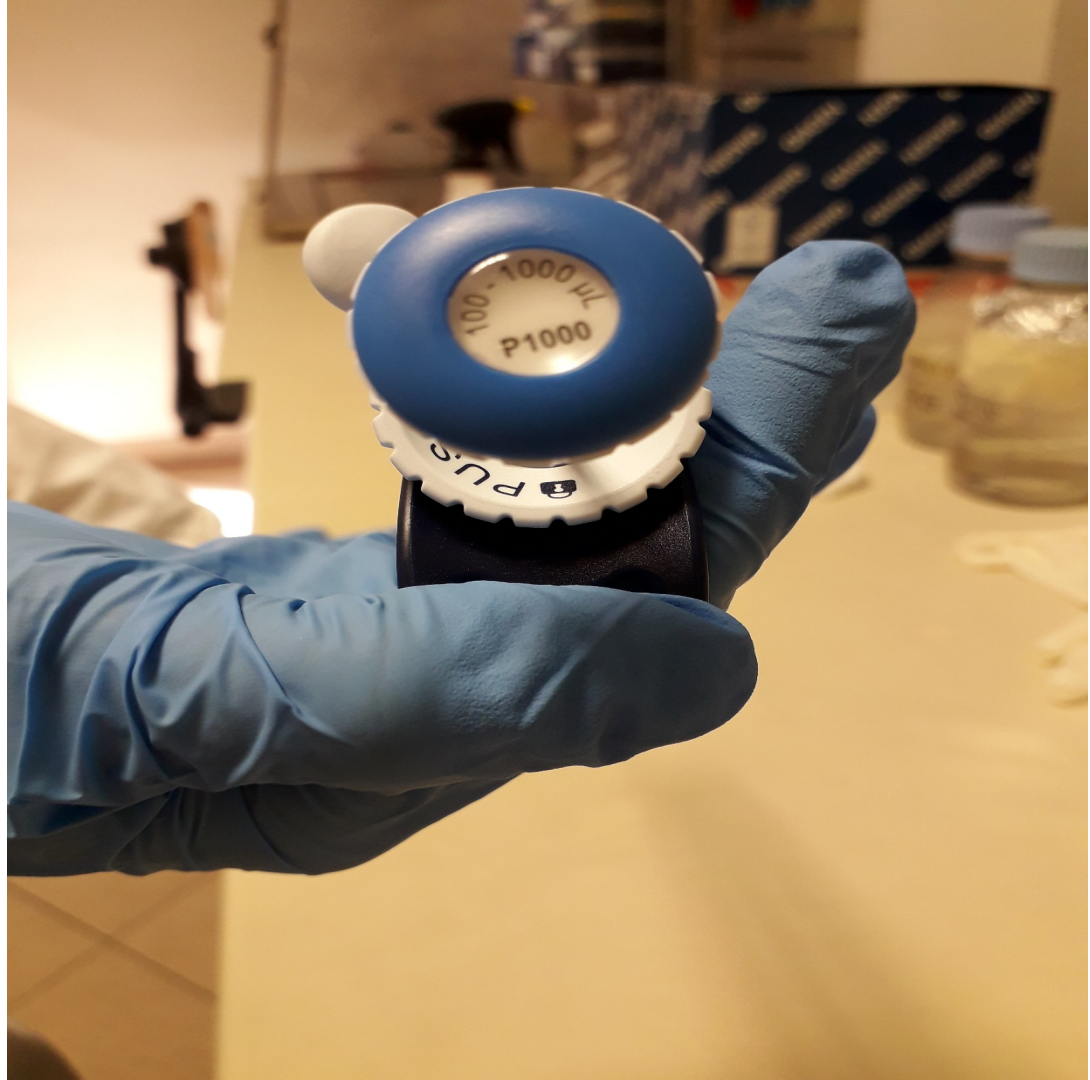
LABORATORIO DIDATTICO BIOLOGIA MOLECOLARE

A.A. 2019-2020

P1000

Da 100 μL

a 1000 μL





100 μ l



1000 μ l

780 μ l



590 μ l



P200

Da 20 μL

a 200 μL





20 μ l

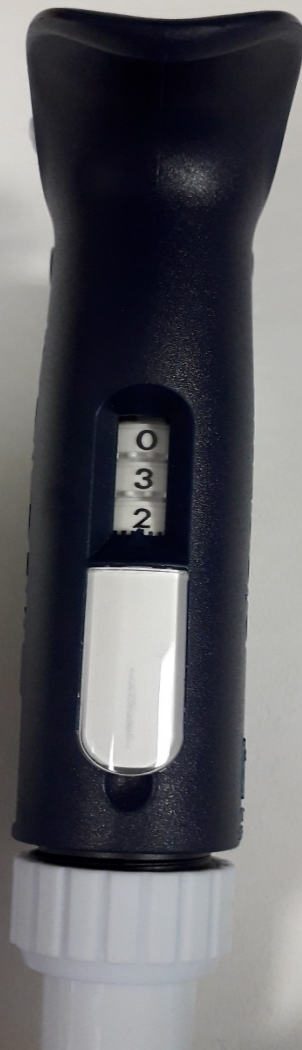


200 μ l

116 μ l



32 μ l



P20

Da 2 μL

a 20 μL





2 μ l



20 μ l

18,1 μ l



13,8 μ l





7,6 μ l

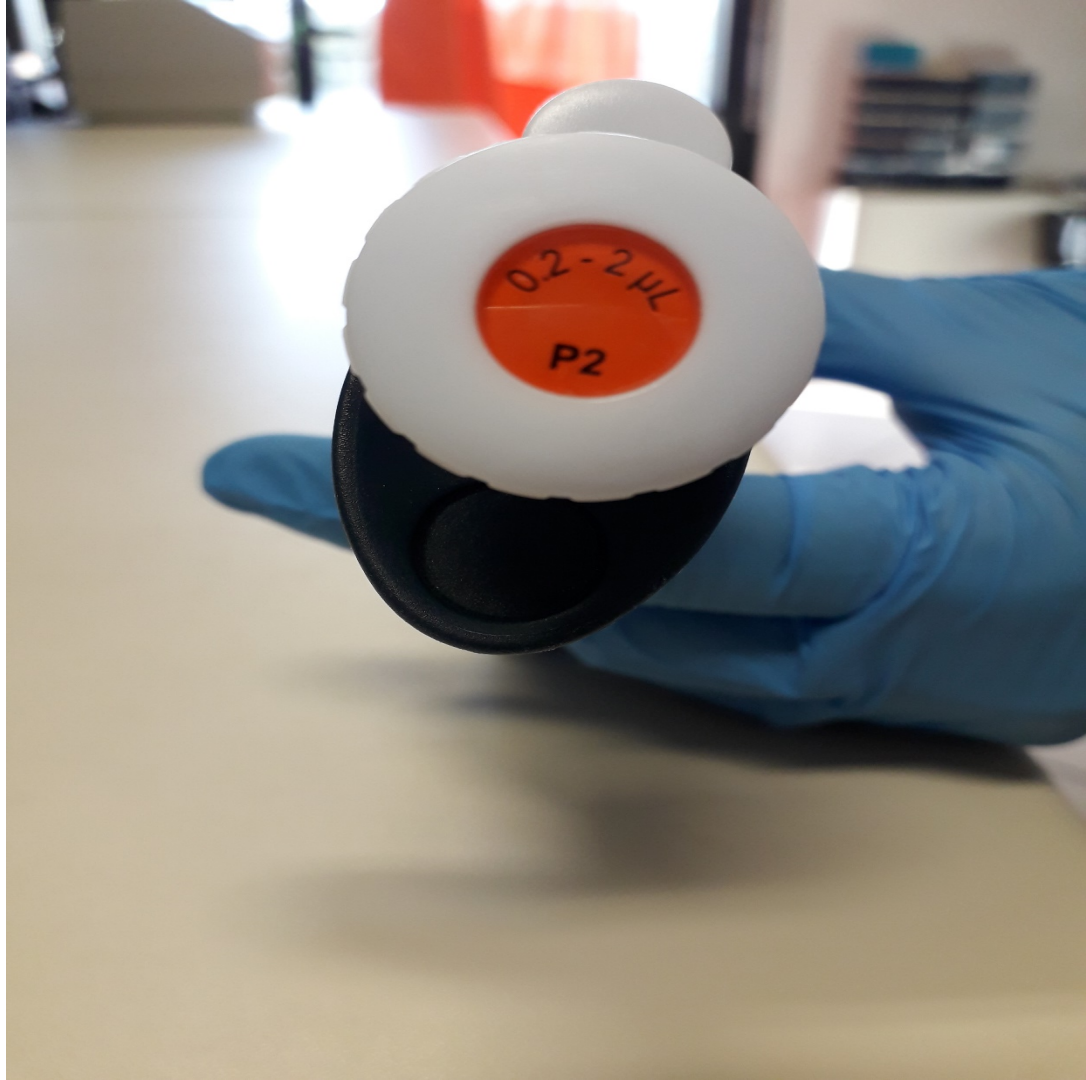


7,64 μ l

P2

Da 0,2 μ L

a 2 μ L





0,5 μ l



2 μ l

1,25 μ l





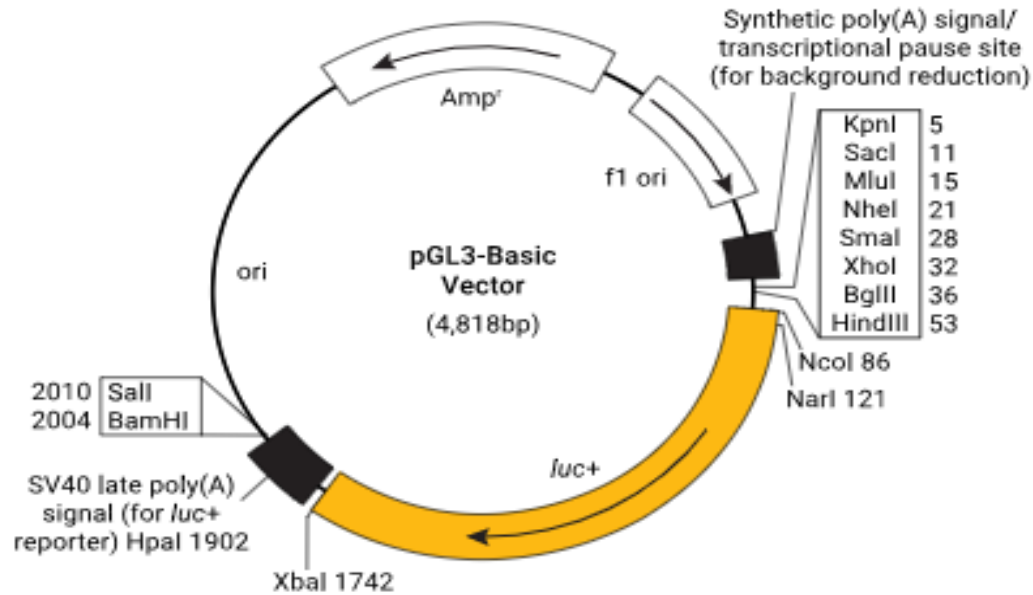
1,62 μ l

P10

Da 1 μL

a 10 μL





pGL3-Basic Vector GenBank® Accession Number [U47295](#) and vector [sequence text file](#).

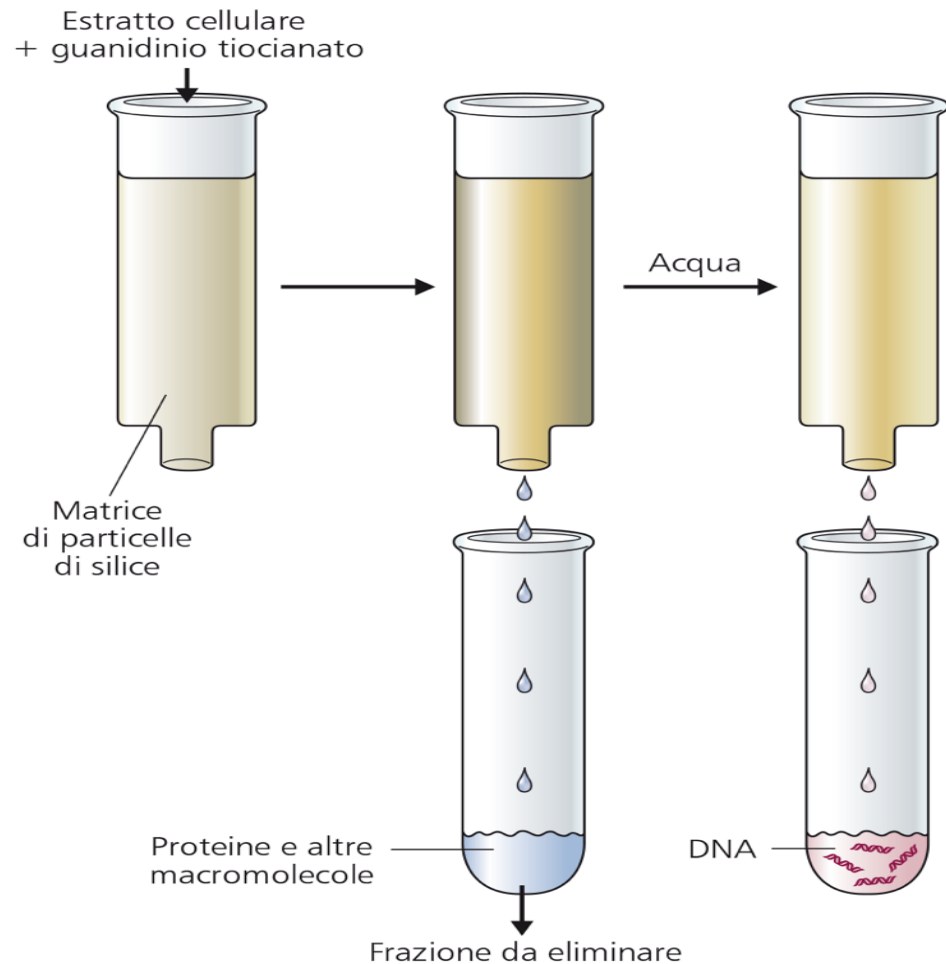
Da: <https://ita.promega.com/products/reporter-assays-and-transfection/reporter-vectors-and-cell-lines/pgl3-luciferase-reporter-vectors/?catNum=E1751>

Kit commerciale: QIAprep Spin Miniprep Kit

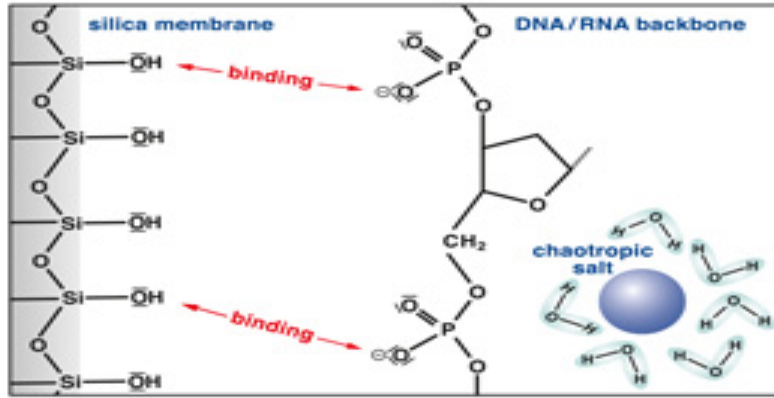


Silica technology per la purificazione del DNA

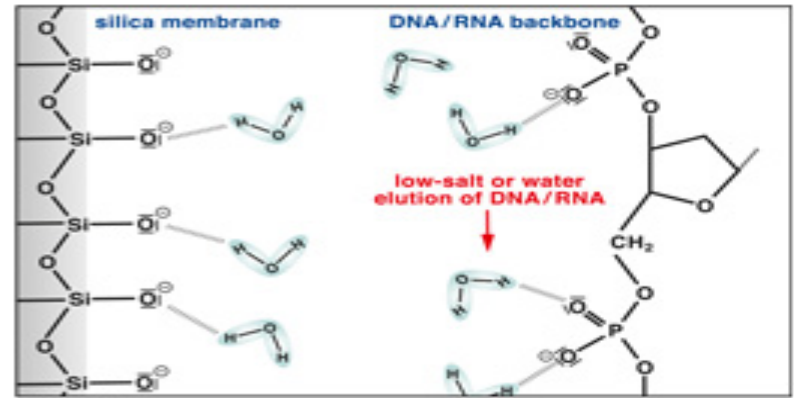
Formato: colonna cromatografica



Silica technology per la purificazione del DNA



Principle of binding



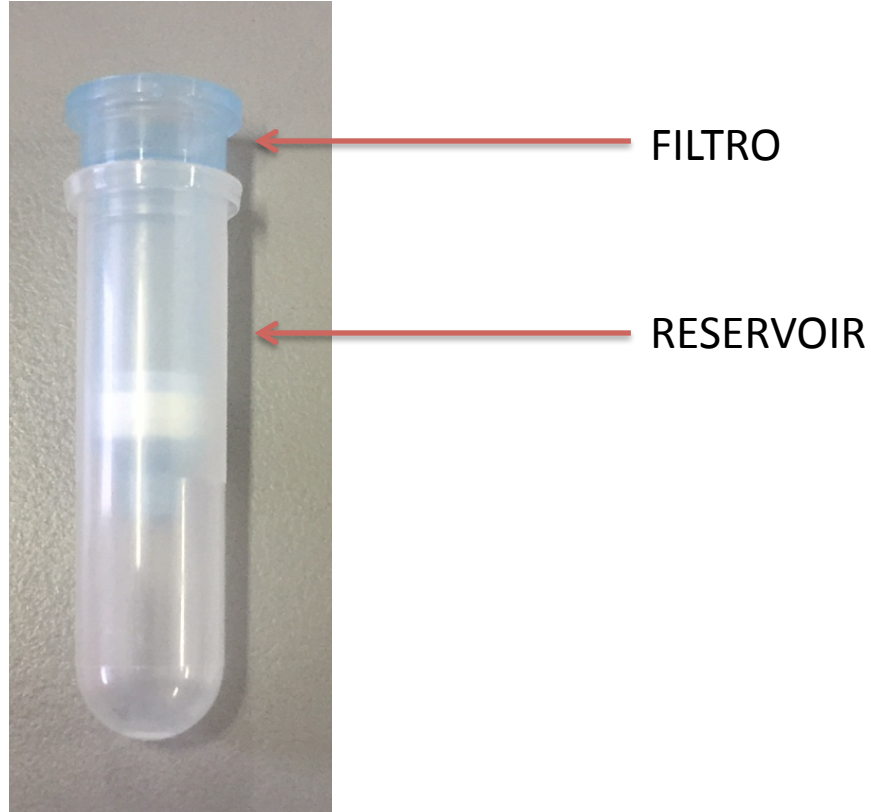
Principle of elution

Legame del DNA a particelle di silice in presenza di agenti caotropici (es. guanidinio tiocianato)

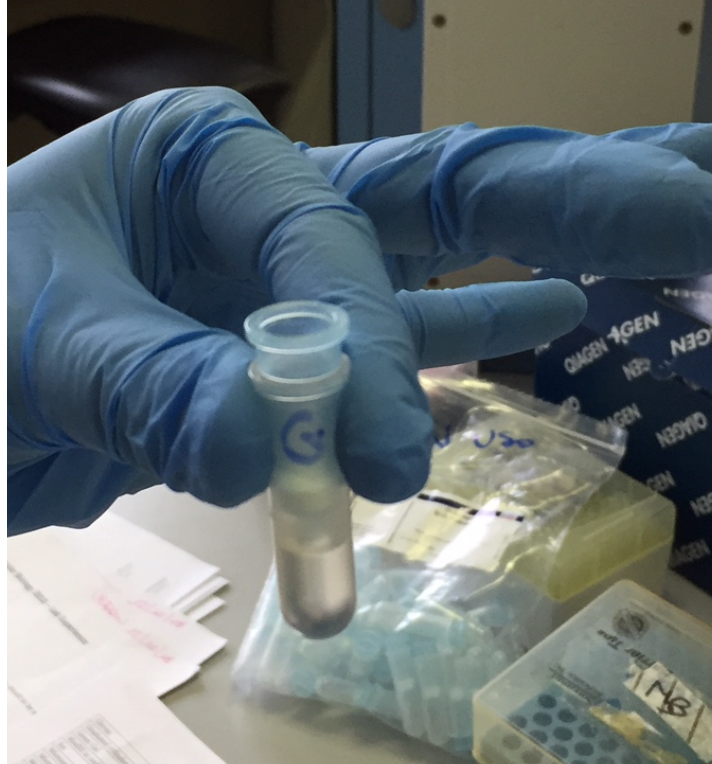
BUFFERS USATI NELLA PURIFICAZIONE DEL DNA PLASMIDICO

- BUFFER P1: buffer di risospensione +Rnasi A+ LyseBlue Reagent (diventa verde dopo la miscelazione)
- BUFFER P2: buffer di lisi (con NaOH/SDS)
- BUFFER N3: buffer con sale caotropico ad alta concentrazione salina
- BUFFER PB: binding buffer con sale caotropico + rimuove endonucleasi
- BUFFER PE: buffer di lavaggio
- BUFFER EB: buffer per eluire il DNA (pH 7.0-8.5)

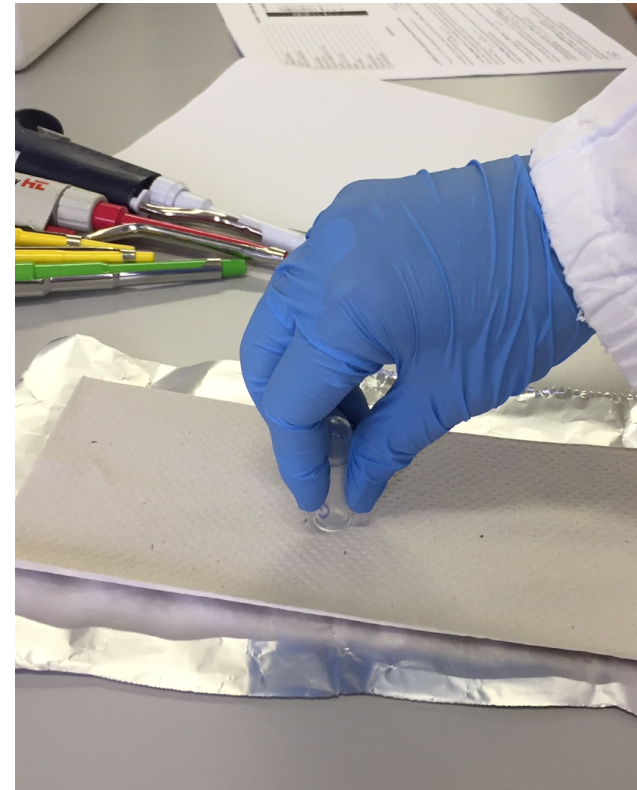
PUNTO 6: QIAprep 2.0 spin column



PUNTO 7: COME SOLLEVARE QIAprep 2.0 spin column



PUNTO 9: COME ELIMINARE IL LIQUIDO DA QIAprep 2.0 spin column



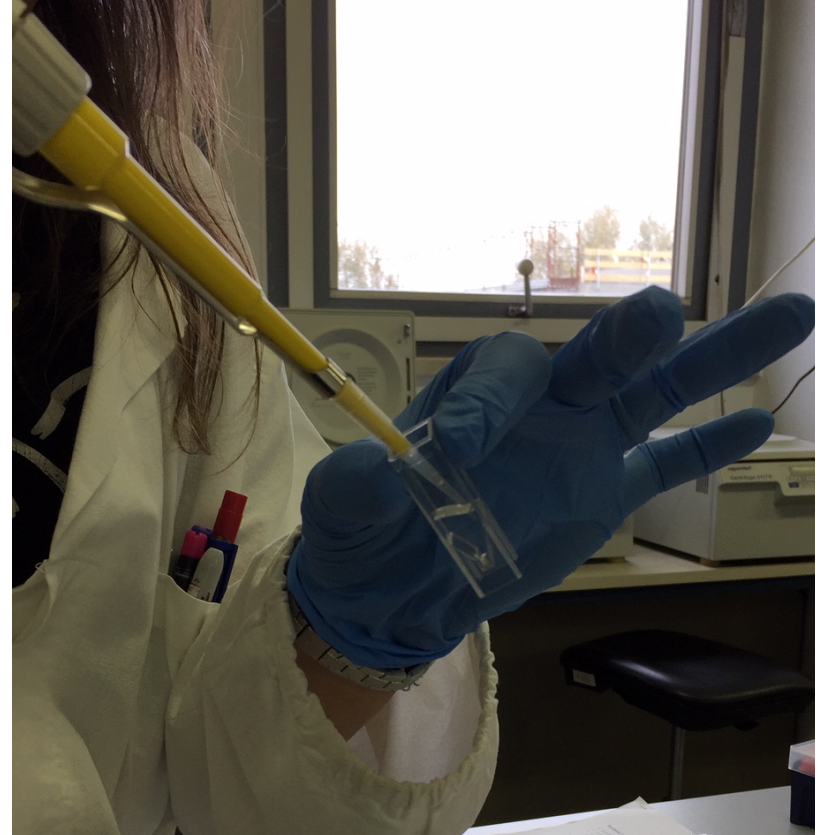
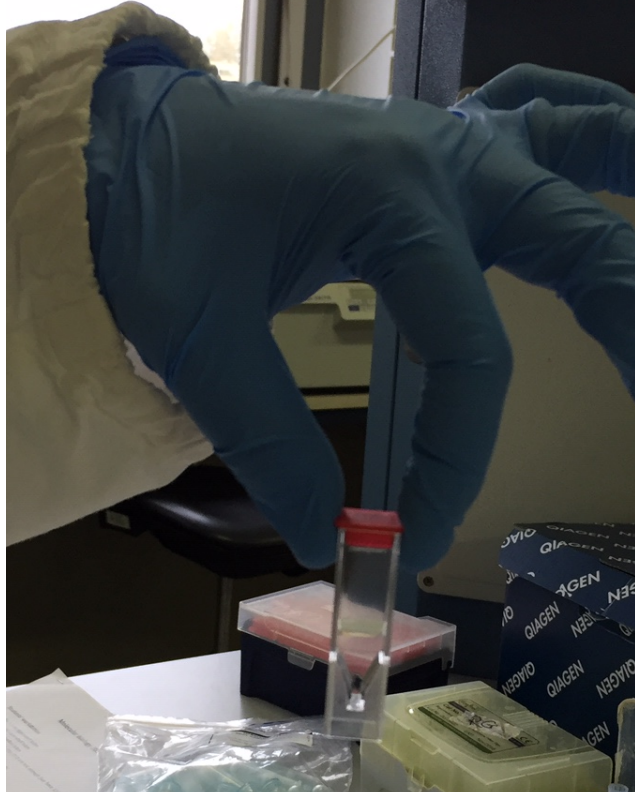
PUNTO 18: POSIZIONAMENTO FILTRO SU TUBO DA 1,5 ML



PUNTO 21: POSIZIONAMENTO DEL TAPPO PER IL TUBO DA 1,5 ML IN CENTRIFUGA



PUNTO 25: UV CUVETTA E COME CARICARE IL DNA DA QUANTIFICARE



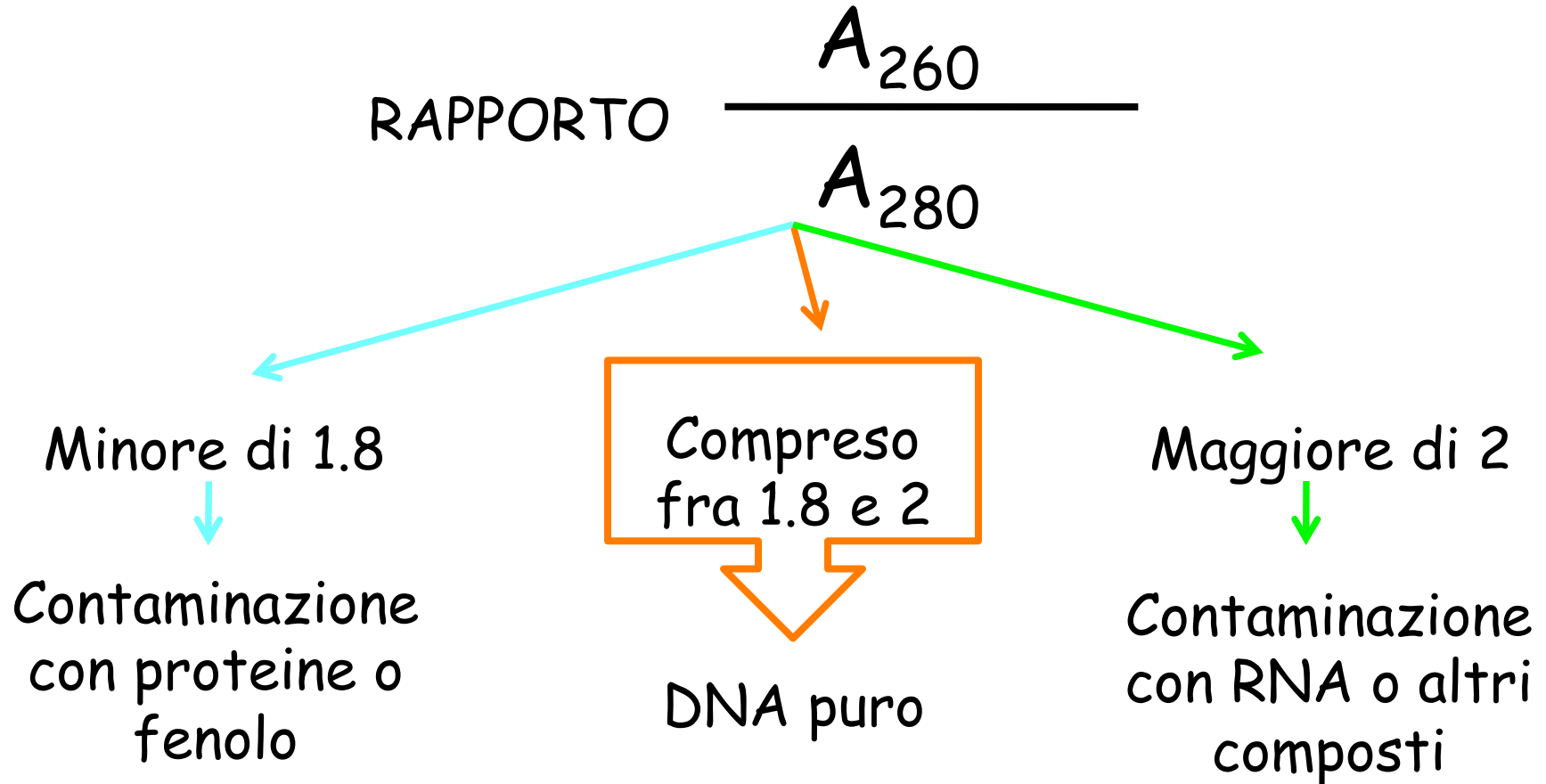
COME SI QUANTIFICA IL DNA?

$$1 \text{ OD}_{260} : 50 \mu\text{g/mL di DNA} = \text{OD}_{260} : X \text{ (conc DNA in cuvetta)}$$

$$X = \text{Concentrazione DNA in cuvetta } (\mu\text{g/mL}) = \frac{(\text{OD}_{260} \times 50 \mu\text{g/mL}) \times \text{fattore di diluizione}}{1}$$

ATTENZIONE! IL DNA E' STATO DILUITO (15 μl in 1mL)

COME SI VALUTA LA PUREZZA DEL DNA?



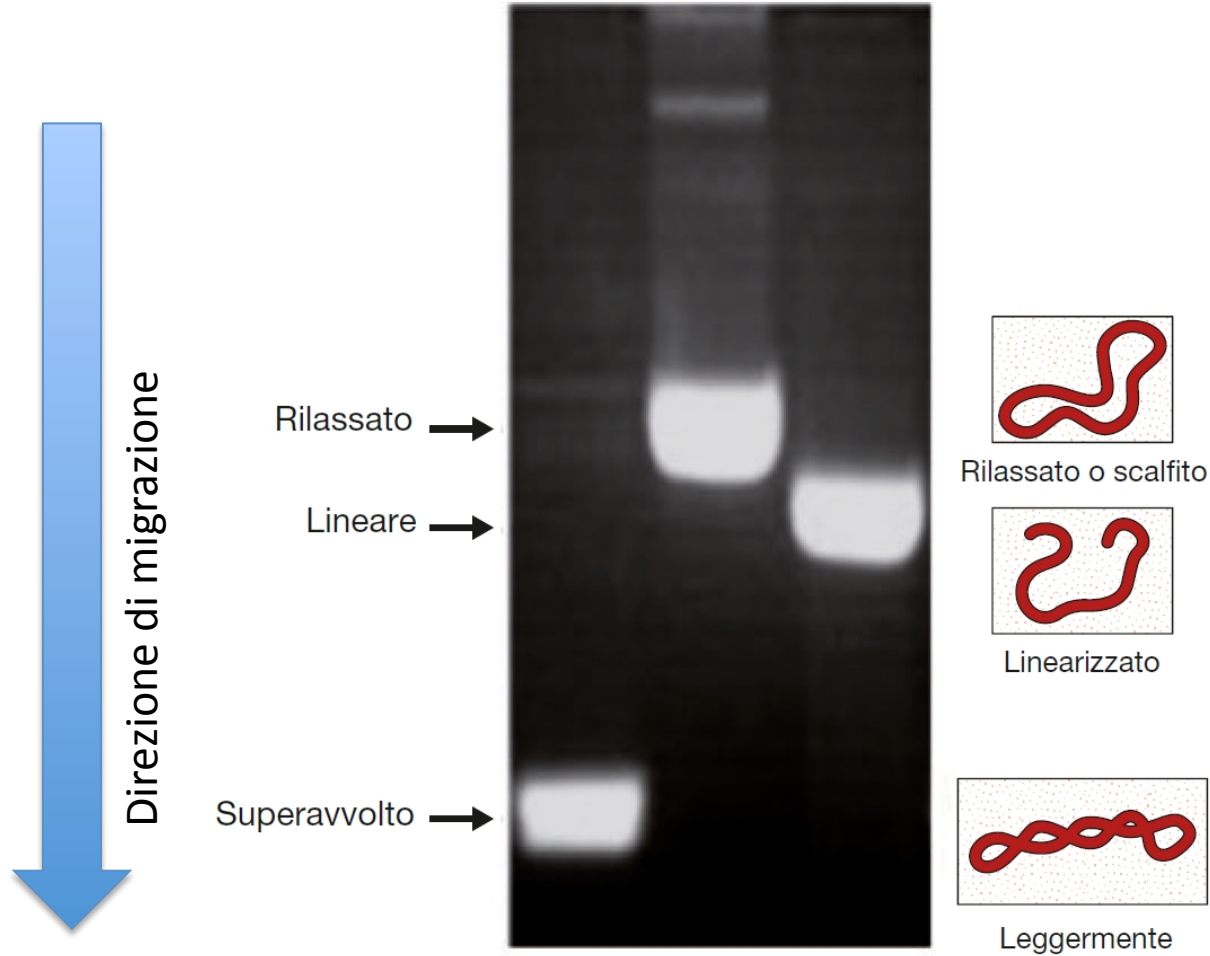
GEL LOADING SCHEME

TURNO _____

DATA

[illegible]

ELETTROFORESI SU GEL DI AGAROSIO: ESEMPIO DI RISULTATO



PER SVOLGERE GLI ESERCIZI INERENTI ALLA PRATICA DI LABORATORIO DI BIOLOGIA MOLECOLARE:

1. Registrarsi in myZanichelli.it come STUDENTE (non è necessario aver acquistato un libro Zanichelli). Ti verrà inviata una email con il link per confermare la registrazione.
2. Una volta completata la registrazione, iscriversi alla classe virtuale:
“BIOLOGIA MOLECOLARE-BORGATTI-BIOTECH-a.a.2019-2020”
codice di classe: Y46EQ3J
Premere “conferma”
3. A questo punto entrare nella sezione “ZTE Università” con le vostre credenziali.

**IL PROTOCOLLO PER IL LABORATORIO SI TROVA
NEL MINISITO DEL CORSO (UNIFE.IT) ALLA
VOCE INFORMAZIONI UTILI E SARA' DA
STAMPARE E PORTARE AL TURNO DI
LABORATORIO**

TURNI DI LABORATORIO ATTUALMENTE DISPONIBILI:

TURNO 1: 7-8 OTTOBRE (8.30-12.30)

TURNO 2: 9-10 OTTOBRE (8.30-12.30)

TURNO 3: 11 OTTOBRE (9-18 CON PAUSA PRANZO)

TURNO 4: 14-15 OTTOBRE (8.30-12.30)

TURNO 5: 16-17 OTTOBRE (8.30-12.30)

TURNO 6: 21-22 OTTOBRE (8.30-12.30)

TURNO 7: 25 OTTOBRE (9-18 CON PAUSA PRANZO)

TURNO 8: 28-29 OTTOBRE (8.30-12.30)

COME ISCRIVERSI AI TURNI DI LABORATORIO?

- 1. ON LINE, MEDIANTE I TURNI (PROVE PARZIALI) INSERITI IN APPELLI D'ESAME**
- 2. A LEZIONE, SULLE LISTE CARTACEE MESSE A DISPOSIZIONE DALLA DOCENTE**
- 3. SCRIVENDO UNA MAIL ALLA DOCENTE (biolmol-biotech@unife.it)
INDICANDO TURNO PRESCELTO E NUMERO DI MATRICOLA**

RICORDARSI DI ISCRIVERSI UTILIZZANDO UNA SOLA DELLE MODALITA' PROPOSTE, LE ISCRIZIONI A CIASCUN TURNO TERMINANO DUE GIORNI LAVORATIVI PRIMA DELLA DATA DEL TURNO

**LEZIONE DI PRESENTAZIONE DEI
RISULTATI OTTENUTI IN LABORATORIO
4 NOVEMBRE 2019**