

1 Miniprep - Preparazione di DNA plasmidico tramite lisi alcalina

1.1 Introduzione - Contesto

1.2 Obiettivo

L'esperimento mira a estrarre il DNA plasmidico in forma pura, separandolo da componenti cellulari come proteine, RNA e DNA genomico al fine di ottenere un campione adatto a successive analisi molecolari.

1.3 Strumentazione

- Micropipette e puntali sterili
- Provette Eppendorf (1.5-2 ml)
- Centrifuga da banco
- Vortex
- Congelatore o ghiaccio secco

1.4 Soluzioni e reagenti

- Soluzione I: per risospendere il pellet batterico (spesso contiene Tris, EDTA e glucosio)
- Soluzione II: per la lisi cellulare (NaOH e SDS, potente detergente)
- Soluzione III: tampone di neutralizzazione (acetato di potassio, a pH acido)
- Etanolo 100% o isopropanolo: per precipitare il DNA
- Etanolo 70%: per lavaggi finali
- Tampone TE (Tris-EDTA): per la risospensione del DNA plasmidico
- RNAasi (opzionale): per degradare eventuale RNA contaminante

1.5 Procedura

1. Step

Obiettivo: L'obiettivo di questo step

- Centrifuga per 30 secondi a 12.000 rpm
- Centrifuga per 30 secondi a 12.000 rpm
- Capovolgi il tubo ed elimina il supernatante.

Accorgimento: Box Accorgimento

Perché: Box Perché

Criticità: Box Criticità

2. **Step**

3. **Step**

4. **Step**

5. **Step**

2 Titolo

2.1 Introduzione - Contesto

2.2 Obiettivo

L'esperimento mira a estrarre il DNA plasmidico in forma pura, separandolo da componenti cellulari come proteine, RNA e DNA genomico al fine di ottenere un campione adatto a successive analisi molecolari.

2.3 Strumentazione

- Micropipette e puntali sterili
- Provette Eppendorf (1.5-2 ml)
- Provette Eppendorf (1.5-2 ml)

2.4 Soluzioni e reagenti

- Soluzione I: per risospendere il pellet batterico (spesso contiene Tris, EDTA e glucosio)
- Soluzione II: per la lisi cellulare (NaOH e SDS, potente detergente)

2.5 Procedura

1. **Step**

Obiettivo: L'obiettivo di questo step

- Centrifuga per 30 secondi a 12.000 rpm
- Centrifuga per 30 secondi a 12.000 rpm
- Capovolgi il tubo ed elimina il supernatante.

Accorgimento:Box Accorgimento

Perché: Box Perche

Criticità: Box Criticita

2. **Step**

3. **Step**

4. **Step**

5. **Step**