

## Tagli enzimatici di controllo

- Miniprep colonie positive, preinoculate ON giorno prima (vedi protocollo allegato)
- Preparare per ogni campione 2 eppendorf da 200  $\mu$ l contenenti 5  $\mu$ l di DNA templatato proveniente dalla miniprep (una per Nde I + Xho I e l'altra per EcoR I).
- Preparare le seguenti reazioni di taglio enzimatico:

### Taglio con Nde I e Xho I

11.0  $\mu$ l H<sub>2</sub>O  
2.0  $\mu$ l Universal Buffer 10X  
1.0  $\mu$ l Nde I  
1.0  $\mu$ l Xho I

---

15  $\mu$ l

### Taglio con EcoR I

11.0  $\mu$ l H<sub>2</sub>O  
2.0  $\mu$ l Universal Buffer 10X  
2.0  $\mu$ l EcoR I

---

15  $\mu$ l

- Aggiungere ad ogni eppendorf contenente i 5  $\mu$ l di DNA templatato 15  $\mu$ l di miscela di taglio.
- Lasciare a 37 °C per 2 ore.
- Preparazione di un gel di agarosio (0.8 %), 1 ogni 2 gruppi
- Nel gel di agarosio precedentemente preparato caricare i prodotti di digestione addizionati di 4  $\mu$ l di loading buffer 6X ognuno:
- Fare correre 1 ora a 100 V, 50 mA, 15 W.
- Rivelare le bande al transilluminatore