

## PCR di amplificazione del frammento da Miniprep

In una eppendorf da 250  $\mu$ l preparare la seguente reazione:

35.5  $\mu$ l H<sub>2</sub>O sterile per DNA  
5.0  $\mu$ l buffer TAQ (10X)  
4.0  $\mu$ l dNTPs (2.5mM)  
2.0  $\mu$ l Primer FOR (25 $\mu$ M)  
2.0  $\mu$ l Primer REV (25 $\mu$ M)  
0.5  $\mu$ l DNA plasmidico (diluizione 1:5 di una miniprep)  
1.0  $\mu$ l TAQ polimerasi

---

50 $\mu$ l

Impostare il termociclatore con i seguenti parametri:

Step	Temperatura	Tempo
Denaturazione iniziale	95°C	5 minutes
Amplificazione (35 cycles)	95°C (denaturation)	30 sec
	50°C (annealing)	30 sec
	72°C (extension)	30 sec
Estensione finale	72°C	5 minutes

### **IMPORTANTE:**

Indossare i guanti, usare puntali e provette sterili e prestare attenzione a non inquinare i campioni.... Tutto ciò che appaia nella fase di annealing con i primers verrà amplificato.