

Tagli enzimatici di controllo

- Miniprep colonie positive, preinoculate ON giorno prima (vedi protocollo allegato)
- Preparare per ogni campione 2 eppendorf da 200 μ l contenenti 5 μ 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 μ l H₂O
2.0 μ l Universal Buffer 10X
1.0 μ l Nde I
1.0 μ l Xho I

15 μ l

Taglio con EcoR I

11.0 μ l H₂O
2.0 μ l Universal Buffer 10X
2.0 μ l EcoR I

15 μ l

- Aggiungere ad ogni eppendorf contenente i 5 μ l di DNA templatato 15 μ 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 μ l di loading buffer 6X ognuno:
- Fare correre 1 ora a 100 V, 50 mA, 15 W.
- Rivelare le bande al transilluminatore