

Metodica: isolamento del DNA

1. Preparazione



- 1.1 Miscelare 0,2 g di detersivo in polvere, 0,2 g di NaCl e 10 ml di acqua in modo da ottenere una soluzione di proteasi e sale (P). Prelevarne 300 μ l con una micropipetta e trasferirlo in una provetta blu.
- 1.2 Tramite una pipetta, trasferire 1 ml di soluzione ad azione litica (L), contenete un detergente, in una provetta gialla.
- 1.3 Inserire 3 ml di acqua nella provetta Falcon.

2. Estrazione di cellule della mucosa orale

- 2.1 Mastica l'interno delle guance per 30 secondi.
- 2.2 Agitare nella bocca 3 ml di acqua per 30 secondi.
(Attenzione, non deglutirla!)
- 2.3 Servendosi di un imbuto, trasferire l'acqua dalla cavità orale ad una provetta Falcon.

3. Lisi delle cellule della mucosa orale



- 3.1 Trasferire 1 ml di soluzione detergente (L) nella provetta Falcon.
- 3.2 Chiudere la provetta Falcon e capovolgerla delicatamente per 5 volte, in modo da mescolarne il contenuto. (Non agitarla!)

4. Degradazione delle proteine

- 4.1 Prelevare 300 μ l della soluzione di proteasi e sale (P) e inserirli nella provetta Falcon.
- 4.2 Chiudere la provetta Falcon e capovolgerla delicatamente per 5 volte.
- 4.3 Porre la provetta a bagno maria alla temperatura di 50°C per 10 minuti, permettendo così alle proteasi di agire.

5. Rendere visibile il DNA

- 5.1 Inclinare la provetta Falcon a 45° e aggiungere 8 ml di etanolo freddo, facendolo scorrere lentamente lungo le sue pareti. (Dovrebbe essere possibile vedere la stratificazione dei due liquidi!!!)

6. Porre il DNA all'interno di una bottiglietta

- 6.1 Dopo 5 minuti, trasferire in una bottiglietta i filamenti di DNA precipitati presenti nello strato di etanolo (4 \times 100 μ l).
- 6.2 Chiudere saldamente il tappo della bottiglietta e infilarla in una catenella per ottenere una collana.

