



Istruzioni per risospendere trasformare il DNA plasmidico

1. Prima di aprire il tubo contenente il DNA, si prega di centrifugare brevemente la provetta; il DNA liofilizzato potrebbe essere attaccato alle pareti della provetta e andare perso senza centrifugazione.
2. Il DNA liofilizzato è stabile a -20 ° C per almeno 1 anno. Il DNA disciolto in TE è stabile per almeno 6 mesi a -20 ° C o 4 ° C. Il DNA disciolto in acqua è stabile per almeno 6 mesi a -20 ° C in assenza di nucleasi. Assicurarsi che l'acqua utilizzata sia a pH neutro per evitare depurinazione. Il DNA disciolto in acqua non è stabile a 4 ° C.
3. Protocollo consigliati per ri-piastrare il plasmide:
 - A) Risospendere il plasmide (4ug) in 40 ul di 10mM Tris (pH 8,5). La concentrazione finale è ~ 100 ng / ul. Per determinare con precisione la quantità di DNA presente, si prega di misura da densità ottica a OD260nm.
 - B) In una nuova provetta, effettuare una diluizione 1: 10 dello stock originale in 10mm Tris (pH 8,5).
 - C) Trasformare 2 ul di DNA non diluito e 2 ul di DNA diluito 1:10 con un'aliquota di cellule competenti di E. coli; piastrare le cellule su LB agar (contenente l'antibiotico desiderato) e metterle a 37°C over/night
 - D) Selezionare una colonia singola e ben separata ed inoculare in terreno LB liquido con l'antibiotico specifico

Nota: è importante selezionare una colonia singola.

 - E) Purificare il DNA con kit commerciali (Qiagen, Bio-Fab...)