# Preparazione dell’attività

## Materiale necessario per 6 postazioni (escluso quello gia’ nel kit biorad Crime Scene Investigator PCR Basics™ Kit)

* Termociclatore
* 6 scatole con ghiaccio o blocchetti termici a temperature da frigo
* 6 pipette utili a prelevare 20 μl
* 6 scatole di punte per pipette da 2-20 μl (anche non piene) – non servono sterili
* 6 bicchieri per gli scarti
* 1 pipetta da 20-200 μl
* 1 scatola di punte da 20-200 μl
* 1 pipetta da 200-1000 μl
* 1 scatola di punte da 200-1000 μl (anche non piena)
* 7 pennarelli indelebili
* (una centrifuga per tubini se c’è disponibile)

## Preparazione delle aliquote per 6 postazioni

1. Scongelare e poi mettere in ghiaccio:
   * la master mix 2X fornita con il kit (circa 720μl)
   * il mix di primer
   * i vari campioni di DNA
2. Scrivere su 6 tubi gialli “reagenti per PCR” Scrivere su 6 tubi viola “DNA Scena del crimine” Scrivere su 6 tubi verde “DNA Sospetto A” Scrivere su 6 tubi blu “DNA Sospetto B” Scrivere su 6 tubi arancio “DNA Sospetto C” Scrivere su 6 tubi rosa “DNA Sospetto D”
3. Preparare la master mix:
   * Mettere in uno dei 6 tubi gialli marcati “reagenti per PCR” 720 μl di PCR mix
   * Aggiungere 14,4 μl di primer mix
   * Mescolare bene
   * Trasferire 120 μl di mix in ciascuno degli altri tubini gialli marcati “reagenti per PCR”
   * Mettere i tubi in ghiaccio o in frigo
4. Aliquotare il DNA: Trasferire 25 μl di ciascun tipo di DNA nel corrispondente tubino marcato e colorato; Mettere i tubi in ghiaccio o in frigo

## Materiale da distribuire su ciascuna delle 6 postazioni

* un pennarello indelebile a punta fine
* una micropipetta adatta a prelevare un volume di 20 μl
* punte per la micropipetta
* una scatolina in polistirolo contenente ghiaccio o un blocco termico a 4-8°C, contenenti:
  + 120 μl di reagenti per PCR (liquido blu)
  + 25 μl di DNA estratto dalla scena del crimine (tubo viola)
  + 25 μl di DNA del sospetto A (tubo verde)
  + 25 μl di DNA del sospetto B (tubo blu)
  + 25 μl di DNA del sospetto C (tubo arancio)
  + 25 μl di DNA del sospetto D (tubo rosa)
* 5 tubini per PCR chiusi
* 5 adattatori per i tubini da PCR
* un bicchiere per gli scarti (punte e tubini)