

## Colorazione del gel d'agarosio

a cura di V. Soglio

*Dopo aver separato i campioni di DNA tramite elettroforesi su gel di agarosio, è necessario usare particolari coloranti per evidenziare gli acidi nucleici. Nei laboratori di biologia molecolare i "coloranti" comunemente usati sono agenti intercalanti. Essi si posizionano tra le basi azotate ed emettono fluorescenza quando vengono colpiti da luce di una data lunghezza d'onda. Nonostante al giorno d'oggi intercalanti mutageni, come l'etidio bromuro, siano stati progressivamente sostituiti da molecole meno tossiche, essi possono essere pericolosi se non maneggiati con la dovuta attenzione. Alla luce di queste considerazioni, nel protocollo di seguito riportato si propongono due tipi di colorazioni alternative agli agenti intercalanti e che possono essere impiegate in sicurezza nei laboratori scolastici.*

### Obiettivo

Rendere visibili i campioni di DNA separati tramite elettroforesi su gel d'agarosio.

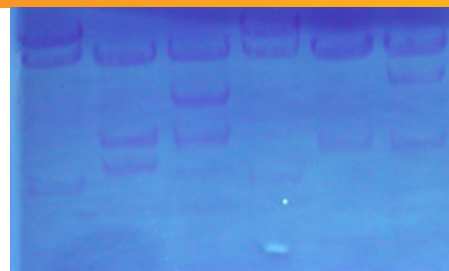
### Procedimento

#### Blu di metilene

- Versare la soluzione di blu di metilene allo 0,02% nella vaschetta in cui è stato trasferito il gel e fare in modo che sia completamente coperto.
- Lasciare a temperatura ambiente per 30-60 minuti.
- Recuperare la soluzione con il colorante trasferendola in una bottiglia e conservarla a temperatura ambiente. Si può riutilizzare più volte.
- Risciacquare il gel ponendo la vaschetta sotto un getto non troppo violento di acqua corrente per qualche secondo.
- Aggiungere acqua fino a coprire completamente il gel.
- Eliminare l'acqua del lavaggio e ripeterne un altro come descritto al punto precedente.
- Lasciare il gel immerso in acqua e osservare la comparsa delle bande blu, sono i campioni di DNA. Affinchè il gel si decolori a sufficienza e le bande diventino visibili potrebbe essere necessaria anche 1 ora.

#### Fast Blast™

- Versare la soluzione di Fast Blast™ 100X nella vaschetta in cui è stato trasferito il gel e fare in modo che sia completamente coperto.
- Lasciare a temperatura ambiente per 2 minuti.
- Recuperare la soluzione di Fast Blast™ trasferendola in una bottiglia e conservarla a temperatura ambiente. Si può riutilizzare fino a 7 volte.
- Risciacquare il gel ponendo la vaschetta sotto un getto non troppo violento di acqua corrente tiepida (40-55°C) per qualche secondo.
- Eliminare l'acqua del lavaggio.
- Coprire di nuovo il gel con acqua tiepida (40-55°C) e aspettare 5 minuti agitando la vaschetta di tanto in tanto.
- Eliminare l'acqua del lavaggio e ripeterne un altro come descritto al punto precedente.
- Lasciare il gel immerso in acqua e osservare la comparsa delle bande blu, sono i campioni di DNA. In 5-10 minuti le bande dovrebbero diventare visibili.



### Tempo previsto

2 ore per la colorazione con blu di metilene  
30 minuti per la colorazione con Fast Blast™

### Materiali e reagenti

- ✓ Vaschetta rettangolare di dimensioni maggiori di quelle del gel
- ✓ Blu di metilene allo 0,02% (acquistabile in farmacia)
- ✓ Fast Blast™ DNA Stain 500X prodotto da Bio-Rad
- ✓ Acqua del rubinetto
- ✓ Acqua deionizzata

### Per la preparazione della soluzione di Blu di metilene allo 0,02%

La soluzione in commercio è allo 0,05%, per ottenere una soluzione allo 0,02% diluirla 2,5 volte aggiungendo 60 ml di blu di metilene 0,02% a 90 ml di acqua deionizzata.

### Per la preparazione della soluzione di Fast Blast™ 100X

La soluzione in commercio è 500X, per ottenere una soluzione 100X diluirla 5 volte aggiungendo 30 ml di Fast Blast™ 500X a 120 ml di acqua deionizzata.