# Protocollo dell’attività

## Materiale a disposizione di ogni gruppo

* un pennarello indelebile a punta fine
* una micropipetta ogni 2 gruppi adatta a prelevare un volume di 20-200 μl
* una micropipetta ogni 2 gruppi adatta a prelevare un volume di 2-20 μl
* punte per le micropipette
* un portatubini a temperatura ambiente contenente:
  + un piccolo campione di sangue raccolto sulla scena del crimine (tubo viola)
  + 160 μl di sangue della vittima (tubo giallo)
  + 160 μl di sangue del sospetto A (tubo verde)
  + 160 μl di sangue del sospetto B (tubo blu)
  + 160 μl di sangue del sospetto C (tubo arancio)
  + 160 μl di sangue del sospetto D (tubo rosa)
  + 500 μl di soluzione di anticorpi contro il gruppo sanguigno A (tubo e liquido blu)
  + 500 μl di soluzione di anticorpi contro il gruppo sanguigno B (tubo e liquido giallo)
  + 500 μl di soluzione di anticorpi contro il fattore Rh+ (tubo e liquido trasparente)
* 6 piastre per le reazioni di tipizzazione del sangue
* 6 stecchini blu
* 6 stecchini gialli
* 6 stecchini bianchi
* un portatubini a temperatura compresa fra 0-10°C contenente:
  + liquido di caricamento denso 5X (tubo trasparente, liquido arancione)
  + Soluzione di rifermento (misto di frammenti di DNA di varie lunghezze note)
  + PCR sul campione di DNA rinvenuto sulla scena del crimine SC
  + PCR sul campione di DNA del sospetto A
  + PCR sul campione di DNA del sospetto B
  + PCR sul campione di DNA del sospetto C
  + PCR sul campione di DNA del sospetto D
* 6 tubini trasparenti senza tappo
* un contenitore per gli scarti (punte e tubini)

## Protocollo sperimentale

#### Analisi dei campioni di sangue rinvenuti sulla scena del crimine

Annota su ciascuna delle 6 piastre di reazione la sigla del campione che stai per analizzare (SC per la scena del crimine; V per la vittima, A per il sospetto A, B per il sospetto B, C per il sospetto C, D per il sospetto D)

Indossa i guanti perché il sangue può essere un vettore di malattie e infezioni

Trasferisci 50 μl di sangue del campione che vuoi analizzare su ciascuno dei 3 pozzetti della piastra di reazione corrispondente (quella su cui hai scritto la sigla di quel campione)

Aggiungi sul pozzetto marcato come A (in alto a sinistra) 50 μl di soluzione di anticorpi contro il gruppo sanguigno A (tubo e liquido blu), mescola con uno stecchino pulito di colore blu, osserva cosa succede e annota il risultato sul foglio risposte

Aggiungi sul pozzetto marcato come B (in basso a sinistra) 50 μl di soluzione di anticorpi contro il gruppo sanguigno B (tubo e liquido giallo), mescola con uno stecchino pulito di colore giallo, osserva cosa succede e annota il risultato sul foglio risposte

Aggiungi sul pozzetto marcato come Rh (al centro a destra) 50 μl di soluzione di anticorpi contro il fattore Rh+ (tubo e liquido trasparenti), mescola con uno stecchino pulito di colore bianco, osserva cosa succede e annota il risultato sul foglio risposte

Uno dei due componenti del gruppo, senza guanti, può fotografare con il cellulare il risultato dell’esperimento

Ripeti l’operazione per ciascuno dei 6 campioni, osservando e annotando i risultati ogni volta

#### Analisi dei campioni di DNA ricavati dalla scena del crimine

Indossa i guanti perché le DNAsi presenti sulla tua pelle potrebbero degradare il DNA

Scrivi su ciascuno dei 6 tubini trasparenti senza tappo la sigla del campione che ci metterai dentro (riferimento; SC; A; B; C; D) e la sigla del tuo gruppo

In ciascuno dei 6 tubini aggiungi 5 μl di soluzione di caricamento arancione

In ciascun tubino aggiungi 20 μl di campione corrispondente alla sigla che hai indicato (riferimento; SC; A; B; C; D). Pipetta per mescolare

Carica 20 μl di ciascuna PCR nel pozzetto del gel corrispondente seguendo l’ordine di caricamento indicato nello schema sintetico seguente

## Schema sintetico dell’ordine di caricamento delle pcr in gel

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **GRUPPO 1** | | | | | |  | **GRUPPO 2** | | | | | |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| riferimento  (misto di frammenti di DNA di lunghezza nota) | SC | A | B | C | D | vuoto | SC | A | B | C | D | riferimento  (misto di frammenti di DNA di lunghezza nota) |

Quando il gel avrà corso, osserva il risultato, fotografalo con il cellulare e copialo nello schema del foglio risposte.