

Disolución Fenol-cloroformo isoamílico

Notas Para extracción de DNA

No contar, si cogemos algo de tris en el fenol, el volumen de éste

Proteger de la luz y del aire

Receta Fenol equilibrado-----

-----25ml

Cloroformo-----
ml

Isoamiloalcohol

-----1ml

Mantener a 4°C

Disolución OFB 10x

Notas Tampón de digestión de plásmidos.

Receta Tris-Acetato 1M, Ph 8

-----330

Acetato potásico 5M

-----132

Acetato

magnésico 1M-----100

Seroalbúmina bovina 100mg/ml (BSA) -----10

Espermidina

1M-----30

Agua destilada y autoclavada -----(a 1 ml)-----398

Mantener a -20 °C

Disolución Ampicilina (100 mg/ml) 1000x

Notas Para hacer medios selectivos.

vale la pena hacer de 20 en 20 ml si se quieren economizar los filtros

La ampicilina se disuelve fatal; mejor hacer la disolución en tubos corex vortexeables.

Receta Ampicilina

pura-----2

Agua destilada y autoclavada -----a 20
ml

Mantener a -20 °C

Disolución Gel's Juice 10x

Notas Tampón de carga de electroforesis y stop para endonucleasas

Receta Ficoll

20%(w/v)-----10
ml

E.D.T.A. 0.5M, Ph 8
-----200

Azul de Bromofenol puro ----- (0,25%w/v)-----25mg

Xilenocianol puro----- (0,25%
w/v)-----25 mg

Alicuotas d e 0.5 ml

Mantener a -20 °C

Disolución Javier's Juice 10x

Notas Tampón de carga de electroforesis y stop para endonucleasas

Receta Gel's Juice

-----0.5
ml

Ficoll
20%-----1
ml

Disolución GTE

50mM glucosa; 25mM Tris Ph 8; 10 mM EDTA ph 8

Notas Solución de resuspensión de células bacterianas

Receta Glucosa 1M

-----2.5
ml

Tris ClH 1M ph
8-----1.25 ml

EDTA 0.5M ph
8-----1.00 ml

H2O-----
ml

PABLO Y MANIATIS

Disolución RB (resuspension buffer)

Na Cl 150 mM; 10 mM EDTA ph 8

Notas Solución de resuspensión de células bacterianas

Receta

NaCl-----
ml

EDTA 0.5M ph
8-----0.2 ml

H2O-----
10 ml

Separata de Salmonella

Disolución Fenol equilibrado

Notas Para hacer la solución Cloroformo-fenol para desnaturalizar las proteínas (Minipreps) y para extracción de DNA

Cada vez que se añada Tris hay que agitar con la pildorilla

Para eliminar la fase acuosa se usa la pipeta Pasteur. (mucho cuidado de no coger fenol.

Para reducir la oxidación se puede añadir 8 Hidroquinolona.

Ser rápidos

Si la solución toma un color rosado es que se está perdiendo (oxidando).

Receta Fenol 100% (fundido en H2O caliente)-----1 Vol.

Ph-----Malú no lo suele comprobar----- a 7,6 (?)

Tris-Cl 1M, Ph 8-----1
Vol máximo (añadir poco a poco)

Tris-Cl 0,1M, Ph 8-----1
Vol máximo (añadir poco a poco)

Proteger de la luz

Dispensar en alícuotas (-20°C)

Mantener a 4°C la solución de uso

Maniatis y hoja anexa.

Disolución RNAasa 1000X

Notas Para purificar el DNA de las midipreps

Dispensar en alícuotas de 1,5 ml

Enfriar a t° ambiente

Guardar a -20°C

Receta RNAasa pancreática 10 mg/ml (1000x)-----100mg

Tris*ClH 1M ph 7,5-----100

ClNa 5M -----30

H₂O-----a 10ml

Calentar a 100°C -----15'

Mantener a -20°C

MALÚ

Disolución TBE 5x

SOL 0.5X: 0.045 M Tris-Borato; 1mM EDTA

Notas Buffer concentrado para hacer tampón con que correr las electroforesis de ácidos nucleicos.

Receta Tris puro----- 54 g

Ácido bórico puro ----- 25.7 g

E.D.T.A 0,5 M ph 8.0----- 20 ml

Hidróxido sódico 4M ----- a Ph 8

Agua destilada y autoclavada ----- a 500 ml

Esterilización por autoclave

MANIATIS

Disolución TAE 50x

Sol 1X; 40 mM Tris-Acetato ph 8.0; 1mM de EDTA

Notas Buffer concentrado para hacer tampón en el que correr las electroforesis de ácidos nucleicos.

Receta Tris puro

-----242 g

Ácido acético glacial puro -----57,1 ml

E.D.T.A. 0.5M, Ph 8 -----100 ml

Hidróxido sódico puro 1-----a Ph 8

H₂O-----a 1
L

Esterilización por autoclave

MANIATIS

Disolución TAE 50x modificado para kit de purificación de DNA de geles de AGAROSA

Sol 1X; 40 mM Tris-Acetato ph 8.0; 0,1mM de EDTA

Notas Buffer concentrado para hacer el tampón en el que correr las electroforesis de ácidos nucleicos, la diferencia es que es para extraer de el gel fragmentos de DNA que se podrán utilizar para reacciones de secuenciación directamente.

Receta Tris puro

-----242 g

Ácido acético glacial puro -----57,1 ml

E.D.T.A. 0.5M, Ph 8 -----10 ml

Hidróxido sódico puro 1-----a Ph 8

H₂O-----a 1
L

Esterilización por autoclave

Kit DNA : Ultrafree-DA (AMICON,Millipore) Cat.Nº 42600.

Disolución E.D.T.A. 0.5M, Ph 8

Notas Añadir poca agua (25 ml p.e.) antes de equilibrar. Múltiples disoluciones relacionadas con acidos nucleicos.

Receta E.D.T.A

puro-----18.61 g

Agua destilada y autoclavada -----a 100 ml

Hidróxido sódico 4M -----a Ph 8.0

MANIATIS

Disolución Solución 1 para Minipreps

50mM Glucosa; 25mM Tris-Cl ph 8.0; 10mM EDTA ph 8.0

Notas Buffer para extraer DNA plasmídico

Receta Glucosa 1M -----2.5ml

Tris-Clorhídrico puro 1M , Ph 8 -----1.25ml

E.D.T.A. 0.5M, Ph 8-----1.0 ml

Agua destilada y autoclavada -----45.25 ml

Esterilización por autoclavado

Mantener a 4°C

MANIATIS

Disolución Solución 2 para Minipreps

0.2 N NaOH; 1% S.D.S.

Notas Buffer para extraer DNA plasmídico (lisis alcalina y desnaturalización de las células por el detergente S.D.S).

Hay que echar el agua antes que los otros componentes

Si se baja a 0°C se vuelve lechoso.

Receta Agua destilada y autoclavada -----21.25 ml

Hidróxido sódico 1M -----1.25 ml

S.D.S. 10% -----2.5
ml

Esterilización por autoclavado

Mantener a temperatura ambiente

MANIATIS

Disolución Solución 3 para Minipreps

Notas Función: Buffer para extraer DNA

Hay que echar agua antes que los otros componentes

Receta Agua destilada y autoclavada -----28,5 ml

Ácido acético glacial 5M -----11,5 ml

Acetato potásico 5M -----60 ml

MANIATIS

Disolución TE Ph 8

10 mM Tris-ClH (ph8.0); 1mM EDTA ph8

Notas Buffer de disolución del DNA

Receta Tris*ClH

1M-----1ml

E.D.T.A. 0.5M Ph 8 -----200

Hidróxido sódico 1M -----a Ph 8

Agua destilada y autoclavada -----a 100ml

MANIATIS

Disolución TEs Ph 7.5

10 mM Tris-ClH (ph7.5); 0.1mM EDTA (ph 8)

Notas Buffer de disolución del DNA. Usado en secuenciación.

Receta Tris-Clorhídrico puro 1M , Ph 8 -----4 ml

E.D.T.A. 0.5M, Ph 8 -----80 l

ClH diluído-----a Ph 7.5

Agua destilada y autoclavada -----a 400 ml

Esterilización por autoclave

Mantener a Temperatura ambiente

MALÚ

Disolución TEs Ph 7.5 (Especial para Malú)

10 mM Tris-ClH (ph7.5); 0.1mM EDTA (ph 8); Na Cl 50 mM

Notas Buffer de disolución del DNA. Usado en secuenciación.

Receta TEs Ph 7,5-----50
ml

NaCl 5M-----500 l

Esterilización por autoclave

Mantener a Temperatura ambiente

MALÚ

Disolución Tris-Clorhídrico 1M , Ph 8

Notas Disolución para hacer diferentes tampones.

Si baja la temperatura, aumenta el Ph.

Hay que usar mucho clorhídrico y concentrado

Echar el agua antes de echar el tris

Receta Tris puro -----
121.1 g

Agua destilada y autoclavada ----- a 1L

Ácido clorhídrico 1M ----- a Ph 8.0

MANIATIS

Disolución Tris-Clorhídrico 1M , Ph 7,5

Notas Dilución especial para hacer diferentes disoluciones. Si sube la temperatura, baja el Ph.

Hay que usar mucho clorhídrico y concentrado

Echar el agua antes de echar el tris

Receta Tris puro -----
-----121.1

Agua destilada y autoclavada -----a 1L

Ácido clorhídrico 1M -----a Ph 7,5

Esterilizar por autoclave.

Mantener a temperatura ambiente.

MANIATIS

Disolución Tris–Acetato 1M, Ph 8

Notas Para hacer OFB.

No echar el Ácido acético glacial puro sobre el tris, es difícil de disolver.

Trabajar en la campana con el ácido acético.

Receta Tris puro -----Pm :121.1-----12.11 g

Agua destilada y autoclavada -----a 100 ml

Ácido acético glacial 2,5M ----- a Ph 8

Agua destilada y autoclavada -----a 100 ml

Esterilización por filtración.

Mantener a temperatura ambiente.

MALÚ

Disolución Glicerol al 15% en Cloruro cálcico (mezcla de conservación)

Notas Solución de conservación de Células competentes .

Hacer fresco preferiblemente.

Receta para una muestra de un cultivo de 50 ml.

Receta Glicerol 100% -----
-----300 l

Cloruro Cálcico 50 mM-----a 2,5 ml

MALÚ

Disolución CTAB buffer

Notas Para extraer DNA, por ejemplo de moluscos, en el que hay sustancias como polisacáridos y proteínas fenólicas que interfieren con la extracción.

Receta CTAB----- 2%
W/v -----

NaCl -----1,4
M -----

–Mercaptoetanol -----0,2% V/V-----

EDTA 0,5 M -----(20 mM)

TrisClH Ph 8, 1M -----(a 10mM)-----

Proteinasa K-----0,1 mg/ml

Disolución Glucosa 1M

Notas Preparar otras disoluciones (Sol 1Mimiprep).

Receta Glucosa pura -----0,05 moles

Agua destilada y autoclavada -----a 50 ml

Esterilizar por autoclave

Mantener a temperatura ambiente.

Disolución Acetato magnésico 1M

Notas Para hacer OFB

El acetato magnésico es muy higroscópico.

Receta Acetato magnésico puro -----Pm 214.46-----21.446g

Agua destilada y autoclavada -----a 100 ml

Esterilizar por filtración

Mantener a temperatura ambiente

Disolución Cloruro cálcico 50 mM

Notas Hacer células competentes para la transformación

Receta Cloruro cálcico puro-----pm:147.02-----2.9404 g

Agua destilada y autoclavada -----a 400 ml

Esterilizar por autoclave

Mantener a temeratura ambiente

MALÚ

Disolución Ácido acético glacial 5M

Notas Se disuelve mal; hay que echar unpoco de agua al principio, no

se puede autoclavar

Receta Ácido acético glacial puro-----0,5 moles

Agua destilada y autoclavada -----a 100 ml

Disolución Hidróxido sódico 4 M

Notas Para hacer otras disoluciones como NaOH 0,1 N ó NaOH 1M

Receta Hidróxido sódico puro-----4 moles

Agua destilada y autoclavada ----- a 1L

Esterilizar por filtración

Disolución Hidróxido sódico 1 M

Notas Para equilibrar el Ph de las soluciones

Receta Hidróxido sódico 4M -----250 ml

Agua destilada y autoclavada -----a 1L

Disolución Acetato Amónico 5M

Notas Solución para precipitar primers sin precipitar los desoxinucleótidos.

Receta Acetato
amónico-----38.54
g

H₂O-----
100 ml

Esterilizar por filtración y por autclave

MANIATIS

Disolución SDS 10% (Sodium dodecyl sulfate= Sodium lauryl sulfate))

Notas Detergente para la lisis alcalina en minipreps plasmídicas.

Cuidado al pesarlo que es un polvo muy fino

Disolverlo calentando un poco (68°C)

Receta

SDS-----
g

H₂O-----
200 ml

HCl
puro-----

ph 7,2

Disolución Acetato Amónico 10M

Notas Solución para precipitar DNA

Receta Acetato

amónico-----38.54
g

H₂O-----
50 ml

Esterilizar por filtración

MANIATIS

Disolución Acetato potásico 5M Para lisis alcalina

Notas Para Solución I de Minipreps

Receta Acetato potásico puro

-----49.1 g

H₂O-----
100 ml

Disolución Cloruro sódico 5M

Notas Para la mezcla de purificación PEG 8000, para la precipitación de ácidos nucleicos en alcohol, paraguayo.

Receta ClNa

----- (P.M.:58,44)-----
58.44 g

H₂O-----
200 ml

Esterilizar por autoclave

Mantener a temperatura ambiente

Disolución PEG 8000 13%

Notas Para la purificación de Midipreps

Mucho cuidado con la contaminación

No se puede autoclavar

Mantener a -20°C en tubos con 50 ml

Se necesitan 5 ml por cultivo de midiprep

Receta PEG 8000

/6000-----26 g

H₂O-----a

200 ml

Disolución GES (Gu-SCN-EDTA-Sarcosinate)

Notas Para extraer DNA

Receta Gu-SCN

g

EDTA 0.5 M ph

8.0-----a 25 ml

H₂O-----

ml

Calentar a 65°C (disolver)

N-Lauroyl

Sarkosine-----0.1g

H₂O-----

10 ml

Esterilización por filtración de 0,45 l

S024

Disolución Tiocianato de Guanidina 6M (Guanidine isothiocyanate)

Notas Para extraer DNA (Varios protocolos). Cuidado, tóxico. PM:118,16.

6M: máxima concentración a temperatura ambiente. Calentar mientras se agita. Aumenta el volumen en disolución.

Receta Gu-SCN

-----33.084g

H₂O-----

ml

H₂O-----Ajustar el volumen a 50ml.

No necesita esterilización

S 025

Disolución Acetato sódico 3M ph 5,2

Notas Para la precipitación de ácidos nucleicos (se usa más rutinariamente que el acetato amónico, cloruro de litio y cloruro sódico).

Hay que tener en cuenta que hay que echarle bastante Ac. Acético glacial.

Receta

H₂O-----to
20 ml

(AcO)Na anhidro----P.M.: 82.034-----12,3045g

Ac.Acético Glacial-----hasta ph 5,35

H₂O-----hasta 45
ml

Ac.Acético Glacial -----hasta ph 5,2

H₂O-----hasta 50
ml

Esterilización por autoclave

Mantener a temperatura ambiente

MANIATIS

Disolución L Broth

Notas Medio de cultivo líquido para bacterias (E.coli)

Receta Bactotripton -----10 g

Levadura bacteriológica -----5 g

Cloruro sódico puro -----10 g

Hidróxido sódico 1M -----a Ph 7,5

Agua destilada y autoclavada -----a 1l

Esterilizar por autoclave

Mantener a 4°C

Disolución L Broth suplementado con ampicilina

Notas Medio de cultivo líquido para bacterias (E.coli)

La ampicilina se degrada con el calor(>50°C); Autoclavar

y dejar enfriar antes de añadirla

Receta LB estéril -----100
ml

Ampicilina (100 mg/ml) -----0.1ml

Mantener a 4°C

Disolución L Agar suplementado con ampicilina (0.1 mg/ml)

Notas Medio sólido selectivo; El agar se disuelve en el autoclave; 150 ml sobre 4-5 placas. Tras autoclavar el agar y una vez frío éste, se añade la ampicilina, por que se puede desintegrar(<50°C); Agitar bien la ampicilina, para que no haya placas de agar sin ella.

Receta L Broth -----150 ml

Agar bacteriológico -----(12g/l)-----1.8g

Esterilizar por autoclave; enfriar a 50°C

Ampicilina (100 mg/ml) -----0.150 ml

Mantener a 4°C

Disolución SOC medio

Notas Medio usado durante la transformación de células

Receta Bactotripton -----20 g

Levadura bacteriológica -----5 g

Cloruro sódico puro -----0,5 g

Glucosa 1M -----20 ml

Esterilizar por autoclave

Mantener a 4°C

(Maniatis)

Disolución SOC medio

Notas Medio usado durante la transformación de células

Receta Bactotripton -----20 g

Levadura bacteriológica -----5 g

Cloruro sódico ----- 10 mM

Cloruro potásico ----- 2,5 mM

Cloruro magnésico ----- 10 mM

Sulfato magnésico ----- 20 mM

Glucosa 1M ----- 20 ml

Esterilizar por autoclave

Mantener a 4°C

(Short protocols)