

10. ANEXOS

10.1 Soluciones empleadas en la transformación bacteriana

Medio LB (1 L):

10 g Bactotripton
5 g Extracto de levadura
10 g NaCl
15 g Bactoagar*

*Sólo en placas.

Medio S.O.C. (1 L):

20 g Bactotripton
5 g Extracto de levadura
0.5g NaCl
2.5 mM MgCl₂*
10 mM MgSO₄
20 mM Glucosa*

*Ajustar a pH 7 y agregar estos compuestos después de esterilizar en autoclave.

Solución TB (Transformation Buffer):

10 mM Pipes
75 mM CaCl₂
0.25 M KCl
55 mM MnCl₂

*Ajustar pH a 6.7

Solución I para lisis alcalina:

50 mM Glucosa
25 mM Tris/HCl (pH 8.0)
10 mM EDTA (pH 8.0)

Solución II para lisis alcalina:

0.2 N NaOH (fresco)
1% SDS

*Preparar siempre solución fresca

Solución III (100mL) lisis alcalina:

60 mL Acetato de potasio 5 M
11.5mL Ácido acético glacial
28.5 mL H₂O

Solución de Lisozima:

10 mg/ mL Lisozima
 10 M Tris/HCl (pH 8.0)

TE buffer:

10 mM Tris/ HCl (pH 7.5)
 1.0 mM Na₂EDTA

10.2 Soluciones empleadas en PCR

10x PCR Buffer:

100 mM Tris/ HCl (pH 8.0)
 500 mM KCl
 15 mM MgCl₂
 1.0 % Tritón X-100
 0.1 % Gelatina

10.3 Soluciones para geles

5x TBE (1 L):

27.5 g Ácido bórico
 54 g Trisma base
 20 mL EDTA pH 8.0

Acrilamida –Bis (100mL):

1 g Bis-N-metilbisactil
 19 g Acrilamida 99.9 %

10x TAE (1 L):

48.4 g Trisma base
 11.4 mL Ácido acético glacial
 20 mL EDTA 0.5 M pH 8.0

Bromuro de etidio concentrado (5mL):

50 mg Bromuro de etidio

Bromuro de etidio diluido (10 mL):

1 mL BromuroEt concentrado
 Aforar a 10 mL con H₂O

Persulfato de amonio 10% (10mL):

1g Persulfato de amonio

*aforar a 10 mL con agua destilada.

Colorante 5x:

25 mg Azul bromofenol

25 mg xileno cianol

5 mL Agua destilada estéril

2 mL 5x TBE

3 mL Glicerol estéril

Gel de agarosa al 0.8%:

0.32 g Agarosa

36 mL Agua destilada estéril

4 mL 10x TAE

0.3 µL Bromuro de etidio

Gel de acrilamida al 4.5 %:

3375µL Agua destilada estéril

1125µL Acrilamida-bis (20%)

500 µL 5x TBE

50 µL Persulfato de amonio

2.5 µL TEMED

Gel de poliacrilamida al 6.0%:

3000µL Agua destilada estéril

1500µL Acrilamida-bis (20%)

500 µL 5X TBE

50 µL Persulfato de amonio

2.5 µL TEMED