

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	GLA-01 V. 00
		Página	1 de 1

AUTOR: JORGE CONTRERAS PINEDA

1. Título: PREPARACIÓN DE SOLUCIONES PARA BIOLOGIA MOLECULAR

2. Objetivo:

Conocer y aplicar los principios generales de preparación de soluciones y los cuidados particulares de las soluciones para biología molecular

3. Marco teórico

Los reactivos para ingeniería genética deben ser preparados con agua desionizada. La mayoría de reactivos son sometidos a esterilización, aquellos que toleran el calor se esterilizan en autoclave; los reactivos que no toleran el calor se esterilizan por filtración con membranas de 0.22 o 0.45 μm . Tener en cuenta a que temperatura deben ser almacenados los reactivos, se debe tener especial cuidado con aquellos que deben ser almacenados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Cuando utilice un reactivo almacenado a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, siempre debe sacarlo en hielo, preferiblemente hielo seco; tan pronto utilice el reactivo devuélvalo a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Los reactivos almacenados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, deben distribuirse en alícuotas, de esta manera se evita la repetida congelación y descongelación de la totalidad del reactivo, esto hace que el reactivo se inactive más rápidamente. Muchas de las soluciones pueden ser mantenidas a temperatura ambiente, sin embargo, su almacenamiento a $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ puede aumentar su vida media.

Evite introducir espátulas dentro de los reactivos, si es necesario que lo haga, cerciórese de que la espátula esta perfectamente limpia. Recuerde tener especial cuidado con los reactivos destinados para la preparación de soluciones de trabajo con RNA.

Peso atómico: peso en gramos de una mol para un determinado elemento

Peso molecular: peso en gramos de una mol de moléculas, es equivalente a la suma de los pesos atómicos de los elementos que constituyen dicha molécula

Solución: mezcla homogénea de un determinado soluto con un determinado solvente; puede tratarse de varios solutos y de varios solventes (soluciones mixtas).

Concentración: expresión que define las cantidad de soluto en un determinado volumen de solución; las cantidades pueden ser gramos, moles, equivalentes gramos, etc; los volúmenes pueden referenciarse en litros o sus múltiplos.

Mol: es una cantidad equivalente a $6,02 \times 10^{23}$ unidades

Molaridad: es una forma de expresión de la concentración de una solución equivalente a moles de soluto en un volumen de un litro de solución

Porcentaje peso/volumen: expresión de concentración equivalente a gramos de soluto por 100 mililitros de solución

Normalidad: expresión de concentración para ácidos, bases y electrolitos definida como equivalentes gramo en un litro de solución.

Equivalente gramo: cantidad en gramos de ácido, base o electrolito que nos produce una mol de hidrogeniones, una mol de hidroxilos o una mol de electrones, respectivamente.

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	GLA-01 V. 00
		Página	2 de 1

AUTOR: JORGE CONTRERAS PINEDA

4. Materiales equipos e insumos

Papel para pesada (papel mantequilla)
 12 frascos con tapa de diferentes volúmenes
 Cinta de enmascarar
 Marcador indeleble PUNTA FINA
 5 vasos de precipitado de 50 mL
 1 probeta de 200 mL
 4 probetas de 50 mL
 1 probeta de 25 mL
 5 pipetas de 5 mL
 3 pipeteadores
 Balanza analítica
 Potenciómetro

5. Reactivos

Tris base
 Agarosa
 Acido clorhídrico
 Acido acético glacial
 EDTA sal disódica
 Cloruro de sodio
 Cloruro de magnesio
 Hidróxido de sodio
 Acetato de potasio
 Acetato de sodio
 Glucosa
 SDS
 Acido bórico

6. Procedimiento

Los estudiantes deben averiguar los pesos moleculares de los reactivos listados y deben hacer los cálculos para la preparación de las soluciones que se les solicitan; deben buscar en manuales de biología molecular los procedimientos sugeridos para preparar las soluciones que les solicitan.

Son un total de 11 reactivos que serán utilizados en las prácticas durante todo el curso, cada reactivo es suficiente para todo el grupo:

1. Preparar 200 mL de TBE 5 X
2. Preparar 200 mL de agarosa al 0.7 % en TBE 1 X
3. Preparar 20 mL de NaCl 4 M
4. Preparar 50 mL de Tris-HCl pH 7.5, 1 M
5. Preparar 20 mL de MgCl₂ 1 M
6. Preparar 50 mL de EDTA 0.1 M, pH 8.0

	Guía Unificada de Laboratorios	Código	GLA-01 V. 00
		Página	3 de 1

AUTOR: JORGE CONTRERAS PINEDA

7. Preparar 50 mL de NaOH 2 N
8. Preparar 50 mL de Acetato de potasio 5 M
9. Preparar 50 mL de glucosa 1 M
10. Preparar 20 mL de SDS 5 %
11. Preparar 50 mL de HCl 2 N
12. Preparar 20 mL de Acetato de sodio 3 M pH 5.2

7. Bibliografía

- J. Sambrook; E.F. Fritsch, T. Maniatis, **Molecular Cloning: A Laboratory Manual** CSHL press 2001
- Fred M. Ausubel; Roger Brent; Robert E. Kingston; David D. Moore; J.G. Seidman; John A. Smith; Kevin Struhl **Current Protocols in Molecular Biology**, John Wiley and Sons, Inc, 1998
- Contreras J, Pinilla G, Beltrán R, Wasserman M, Rojas M O **Manual de Técnicas Básicas. Primer Curso Institucional sobre Biología Molecular** ISBN 958-13-0083-X .1 ed. Bogotá : Instituto Nacional de Salud, 1991, v.1. p.30.
- Concepción Puerta y Claudia Urueña. **Prácticas de Biología Molecular**. Editorial Pontificia Universidad Javeriana, 2005