



Biodynamics

Boletín Técnico # 80

DNA - Herring Sperm **B080-10**

Descripción:

DNA fragmentado por sonicación en un rango de 100 a 3,000 bp. Se utiliza en las técnicas de hibridación de sondas para Southern y Northern blots.

Presentación:

1 mL de DNA Herring Sperm 10 mg/mL (tapa azul ●).

Utilización:

Agregar DNA Herring Sperm en las soluciones de pre-hibridación (bloqueo) y de hibridación en un volumen igual a 1/100 a 1/200 del volumen total.

Conservación:

-20°C. Alicuotar en caso de uso frecuente.

Boletín Técnico #123

Fig. 1 Fidelity for PCR

B12

Intro

La eficiencia de la amplificación de DNA es importante en el clonado, la expresión de genes y otras aplicaciones. El uso de **Fidelio 5X** incrementa la fidelidad de las reacciones de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) disminuyendo en más de 50% la incorporación de nucleótidos erróneos cuando se utiliza *Taq* Polimerasa. También puede emplearse para detectar SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*) mediante ARMS™ (*Amplification Refractory Mutation System*), es decir, el uso de primers con diferentes bases alternativas en la posición 3'.

Coeficiente de error de la *Taq* Polimerasa (Método *LacI*):

Buffer tradicional: $\sim 5.5 \times 10^{-5}$ (frecuencia de mutación/bp/duplicación)

Buffer Fidelio 5X: $\sim 1.4 \times 10^{-5}$ (frecuencia de mutación/bp/duplicación)

Método *LacI*

El método de *LacI* (Ref. 1) consiste en la amplificación del gen represor *LacI* del operon lactosa y su posterior clonado *upstream* del gen *LacZ*. Los errores en la amplificación de *LacI* se evidencian como colonias azules (no reprimidas) sobre las colonias normales blancas (reprimidas) en placas con X-Gal (Fig. 1).

Fig. 1 Las colonias azules representan mutantes.

El buffer actúa sobre la selección del nucleótido correcto por parte de la enzima polimerasa antes de su incorporación y es por lo tanto independiente de la presencia o no de actividad *proof-reading*.

Presentación:

1mL Buffer 5X (tapa roja ●)

Utilización:

Reemplazar el buffer usual de la PCR por Fidelio 5X (Ej.: 10 μ L para 50 μ L final). El buffer incluye 7.5 mM $MgCl_2$ (1.5 mM final). Su alta densidad y el colorante rojo permiten sembrar el producto de PCR directamente en el gel. No es necesario modificar la T° de *annealing* habitual.

Ejemplo:

Detección de SNPs

Standard **Fidelio 5X**
A G T C A G T C