

8/oct/07

Comienza la bitácora.

Se transformaron:

- J37034
- J23119
- S03156
- I0462

Protocolo

- Descongelar en hielo durante 10 min, 50 microlitros de células competentes por enzayo.
- Rehidratar los plásmidos del iGEM a partir de las placas del iGEM con 15 microlitros de agua destilada.
- Agradar 2 microlitros de plásmido a las células competentes y guardadr 13 microlitros como stock a -20°C.
- Incubar 20 minutos en hielo.
- Choque térmico a 42°C por 50 segundos.
- Incubar dos minutos en hielo.
- Agregar 950ml de medio líquido.
- Incubar a 37°C por 90 minutos a 150rpm.
- Sembrar con el antibiótico apropiado.

09/oct/07

No hay crecimiento de bacterias transformantes.

10/oct/07

No hay crecimiento de bacterias transformantes.

Por error, se mantuvieron los cultivos en el refrigerador, se trasladan a la incubadora.

15/oct/07

Los cultivos de la primer transformación crecieron, no se ven colonias, forman una capa.

Transformación de

Se transformaron:

- R0051
- S03154
- I130033
- J06550
- I13507

16/oct/07

Preparación de células competentes

- En todo el protocolo las células no deben someterse a cambios bruscos de temperatura.
- Requerimos centrifuga fría.
- Requerimos enfriar el cloruro de magnesio 10 milimolar.
- La solución de cloruro de calcio tiene una concentración 50 milimolar y tiene un 20% de glicerol.

- Previamente cultivar células en 10ml de medio LB sin antibiótico por 16 horas.
- Diluir el cultivo a usar 1/100 en medio LB sin antibiótico.
- Poner en hielo 10 min.
- Vaciar en tubos Eppendorff 1.5ml del cultivo.
- Centrifugar 7min a 3500rpm.
- Eliminar el sobrenadante y agregar 1.5ml de medio de cultivo, repetir el proceso 2 o 3 veces.
- Eliminar sobrenadante y agregar 500microlitros de cloruro de magnesio, resuspender suavemente.
- Centrifugar 7 min a 3500rpm.
- Eliminar el sobrenadante, agregar 3ml de cloruro de calcio por cada 120ml de medio usado. Es decir 0.12mlde cloruro de calcio para cada tubo Eppendorff.
- Dejar en hielo.
- Poner en etanol por 3min los tubos Eppendorff.

18/oct/07

Aparentemente S03154 y R0051 se sembraron en Kanamicina; tienen resistencia a Ampicilina.

I13033 no creció.

Se tomaron muestras de R0051, S03154, I13033, J06550, I135070, J06550, I3507 y se pusieron a cultivar overnight en 10ml de medio LB.

19/oct/07

Se tomaron 500microlitros de cultivo overnight y se agregaron 500microlitros de glicerol en un tubo Eppendorff y se guardó a -80°C.

Se extrajo DNA

