

 <p>INSTITUTO DE BIOLOGIA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO</p>	<p>Procedimiento Operativo Estándar</p> <p>Solicitud de Tareas</p> <p>Área: <i>Técnicas microbiológicas</i></p>		<p>POE16-1</p>
			<p>Fecha de emisión: 28-04-2016</p>
			<p>Versión: V1</p>
<p>Elaboró: Marina Avецilla</p>	<p>Revisó: Marina Perozzi</p>	<p>Aprobó: Alejandro Vila</p>	<p>Fecha de revisión:</p>
			<p>Página 1 de 10</p>

1-OBJETIVO

Planificar el trabajo relacionado con las técnicas microbiológicas entre los grupos de investigación y el responsable de área.

2-ALCANCE

Dentro del Alcance

GI asignados al RA: Laboratorios: 1-AV, 6-DD, 7-EGV, 7-FS, 8-HG

Fuera del Alcance

- GI a los cuales no se les asignó el RA en el área Técnicas Microbiológicas
- Gestión de pedidos de insumos, consumibles, equipamientos entre los GI.
- Retiro de insumos del depósito.
- Limpieza de material y de infraestructura, preparación de material plástico, eliminación de residuos.

3-DOCUMENTOS DE REFERENCIA

1-"Molecular Cloning a Laboratory Manual", 2nd Edition By J. Sambrook, E. F. Fritsch, and T. Maniatis. Cold Spring Harbor Laboratory Press 1989.

2-"Protein Methods", 2nd Edition By Daniel M. Bollag, Michael D. Rozycki, Stuart J. Edelstein. Wiley Press 1996.

ISBN: 978-0-471-11837-4

<http://gen.lib.rus.ec/search.php?req=Daniel%20M.%20Bollag%20Michael%20D.%20Rozycki%20Stuart%20J.%20Edelstein&column=author>

4-DEFINICIONES Y ABREVIATURAS

GI: Grupo de Investigación

RA: Responsable de área

 <p>INSTITUTO DE BIOLOGIA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO</p>	Procedimiento Operativo Estándar Solicitud de Tareas Área: Técnicas microbiológicas		POE16-1
			Fecha de emisión: 28-04-2016
			Versión: V1
			Fecha de revisión:
Elaboró: Marina AVECILLA	Revisó: Marina Perozzi	Aprobó: Alejandro Vila	Página 2 de 10

Stock: Cantidad mínima y permanente de material preparado que se deberá mantener de reserva en los laboratorios

5-RESPONSABILIDADES.

GI: proveer los materiales, insumos, equipamiento y lugar adecuado para trabajar, respetar la ubicación de las reservas, hacer los pedidos con anticipación y en la forma establecida.

RA: sostener los stocks, responder a las solicitudes en tiempo y forma e informar en el caso de incumplimiento o demora vía correo electrónico al investigador y, si fuera necesario, al solicitante (tesista, tesinista) en particular.

6-PROCEDIMIENTO

- 1. Los días viernes de cada semana, el RA se notificará con cada GI para completar, entre ambos, las planillas de pedidos de la semana siguiente y verificar el stock (ANX 1, 2, 3, 4). Esta actividad se registrará en los cuadernos de solicitudes de cada laboratorio.*
- 2. Si existiera alguna modificación u observación sobre alguna tarea preestablecida en particular, se deberá informar al RA al correo avecilla@ibr-conicet.gov.ar para que pueda eliminar ambigüedades y posibles fuentes de error.*
- 3. El RA completará las planillas de pedidos y lista stocks en los anexos correspondientes a cada GI, registrando los datos de los pedidos entregados*

7-HIGIENE, SEGURIDAD Y MEDIO AMBIENTE

- Ropa Adecuada*
- Uso de guantes, barbijos en pesadas.*
- Cabello recogido*

8-ANEXOS

ANX 1 – 1-AV

ANX 2 – 6-DD

ANX 3 – 7-EGV, 7-FS

 INSTITUTO DE BIOLOGIA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO	Procedimiento Operativo Estándar Solicitud de Tareas Área: Técnicas microbiológicas		POE16-1
			Fecha de emisión: 28-04-2016
			Versión: V1
Elaboró: Marina Avecilla	Revisó: Marina Perozzi	Aprobó: Alejandro Vila	Fecha de revisión: Página 3 de 10

ANX 4 – 8-HG

9-Formulario y Registros

REG 16-1 “Preparación de Geles de Proteínas “

REG 16-2 “Preparación Medios de Cultivo y Placas”

REG 16-3 “Eficiencia de Competentes”

REG 16-4 “Preparación de soluciones”

FOR 16-1 “Preparación de Competentes”

10-DOCUMENTOS RELACIONADOS

MAN 18-1 “Reglas Básicas de Higiene y Seguridad-IBR-CONICET-Sede CCT”

11-MODIFICACIONES:

Nro. Revisión	Fecha	Principales cambios

ANX 1

Se dispone de un cuadernillo fechado para pedidos: geles de proteínas, células competentes, soluciones y de planillas para el control interno de tareas realizadas, observaciones y resultados.

1) **Geles de Proteínas:** se prepararán geles (no más de 8 por semana) los días martes por la tarde. Hasta después de cada reunión de grupo REG 16-1 “Preparación de Geles de Proteínas “

2) **Células competentes:** con una semana de antelación, se preparará un stock común (DH5a, BL21/star/gold, C41, C43) de competentes por CaCl₂. Los mismos estarán guardados en las cajas E3-4 y E3-3 del freezer a -80°C.

Cada vez que se prepare una nueva tanda, se largará un control positivo con pET24a(+) y controles negativos con Amp50, Km50 y Gm30, (más comunes). Cualquier otra resistencia que

 <p>INSTITUTO DE BIOLOGIA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO</p>	<p>Procedimiento Operativo Estándar</p> <p>Solicitud de Tareas</p> <p>Área: Técnicas microbiológicas</p>		POE16-1
			Fecha de emisión: 28-04-2016
			Versión: V1
			Fecha de revisión:
Elaboró: Marina Avecilla	Revisó: Marina Perozzi	Aprobó: Alejandro Vila	Página 4 de 10

tenga el vector, el interesado procurará de largar un control negativo cuando planifique su transformación. Dejando Registro en el FOR 16-1 "Preparación de Competentes"

Se informarán los datos de cuándo fueron preparadas las competentes y la eficiencia del control positivo para que se pueda consultar el REG 16-3 "Eficiencia de Competentes"

3) **Preparación de Soluciones:** No se dispone de un día fijo, se solicita avisar con tiempo para facilitar la organización. REG 16-4 "Preparación de soluciones"

La lista es la siguiente:

ADN / ARN

TBE 10X

TAE 50X

Loading Buffer 6X alicuotado

PROTEÍNAS

Acrilamida/Bisacrilamida 30:0,8

Tris-HCl 1,5M pH 8.8

Tris-HCl 0,5M pH 6.8

Sample Buffer 5X alicuotado

LAEMMLI 10X

APS 10% pesado en tubo Eppendorf

Coomassie Blue (si se dispone del tiempo)

TRANSFORMACIÓN

SOC alicuotado

CaCl₂+PIPES para competentes

CaCl₂alicuotado

ANTIBIÓTICOS

Ampicilina 50 mg/ml

Cloranfenicol 35 mg/ml

 <p>INSTITUTO DE BIOLOGIA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO</p>	<p>Procedimiento Operativo Estándar</p> <p>Solicitud de Tareas</p> <p>Área: Técnicas microbiológicas</p>		<p>POE16-1</p>
			<p>Fecha de emisión: 28-04-2016</p>
			<p>Versión: V1</p>
<p>Elaboró: Marina Avецilla</p>	<p>Revisó: Marina Perozzi</p>	<p>Aprobó: Alejandro Vila</p>	<p>Fecha de revisión:</p>
			<p>Página 5 de 10</p>

Gentamicina 30 mg/ml
 Kanamicina 50 mg/ml
 Tetraciclina 12,5 mg/ml
WESTERN BLOTTING

Buffer de transferencia 10X

Buffer de revelado 1X

ANX 2

Se dispone de un cuaderno fechado para pedidos: geles de Proteínas, medios de cultivos, células Competentes, soluciones y planillas para el control interno de tareas realizadas, observaciones y resultados.

1) Geles de Proteínas: se prepararán geles (no más de 8 por semana,) los días lunes por la tarde. La prioridad va a ser por orden de pedido. REG 16-1 "Preparación de Geles de Proteínas"

2) Medios de Cultivo: se prepararán, en primera instancia, los días viernes por la mañana REG 16-2 "Preparación Medios de Cultivo y Placas"

3) Células competentes: con una semana de antelación, se preparará un stock común (DH5a, BL21/star/gold, C41, C43) de competentes por CaCl₂.

Cada vez que prepare una nueva tanda, se largará un control positivo y controles negativos con Amp100 y Km50, (más comunes). Cualquier otra resistencia que tenga el vector, el usuario deberá largar un control negativo cuando lanifique su transformación.

En la planilla de control, después, se informarán los datos de cuándo fueron preparadas las competentes y la eficiencia del control positivo para que se pueda consultar. REG 16-3 "Eficiencia de Competentes" FOR 16-1 "Preparación de Competentes"

4) Soluciones: No se dispone de un día fijo. Se solicita dejar las botellas vacías en el estante bajo del armario 5, con tiempo para facilitar la organización. REG 16-4 "Preparación de soluciones". Comprende:

Medios de Cultivo:

- SPI 10X
- Elementos Traza 100X
- M9 E. coli 10X
- M9 C. elegans 10X

ADN/ARN:

- TAE 50X

  INSTITUTO DE BIOLOGIA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO	Procedimiento Operativo Estándar Solicitud de Tareas Área: Técnicas microbiológicas		POE16-1
			Fecha de emisión: 28-04-2016
			Versión: V1
		Fecha de revisión:	Página 6 de 10
Elaboró: Marina Avecilla	Revisó: Marina Perozzi	Aprobó: Alejandro Vila	

- Loading Buffer 6X

Electroforesis de Proteínas:

- Solución A
- Solución B
- Solución C
- Buffer de electroforesis 10X
- APS 10%
- Sample Buffer 5X

Western Blot:

- TBS 10X
- Solución de Transferencia 5X
- Tris Glicina Buffer Stock pH 7,5 10X

ANTIBIÓTICOS

- Ampicilina 100 mg/ml
- Cloranfenicol 10 mg/m
- Espectinomicina 100 mg/ml
- Kanamicina 50 mg/ml
- Kanamicina 5 mg/ml
- MLS Lincomicina 25 mg/ml + Eritromicina 1 mg/ml
- Tetraciclina 5 mg/ml

Otras:

- Tris HCl pH 8,0 1M
- Tris HCl pH 7,5 1M
- SDS 10%
- NaOH 1M
- KAc 3M
- NaCl 5M
- EDTA 0,5M
- Imidazol 4M
- Glucosa 50%
- Fenilalanina 1%
- Triptofano 1%
- Leucina 1%
- Isoleucina 1%
- Treonina 1%
- Valina 1%

 <p>INSTITUTO DE BIOLOGIA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO</p>	<i>Procedimiento Operativo Estándar</i> Solicitud de Tareas <i>Área: Técnicas microbiológicas</i>		POE16-1
			<i>Fecha de emisión: 28-04-2016</i>
			<i>Versión: V1</i>
<i>Elaboró: Marina AVECILLA</i>	<i>Revisó: Marina Perozzi</i>	<i>Aprobó: Alejandro Vila</i>	<i>Página 7 de 10</i>

ANX 3

Se dispone de un cuadernillo fechado para pedidos: geles de Proteínas, medios de cultivos y placas, células competentes, soluciones y de planillas para el control interno de tareas realizadas, observaciones y resultados.

1) Geles de Proteínas: se prepararán geles (no más de 8 por semana) los días miércoles por la tarde. La prioridad será por orden de solicitud. REG 16-1 "Preparación de Geles de Proteínas"

2) Medios de Cultivo y Placas: se prepararán, los medios de cultivo los días viernes por la mañana y las placas los días lunes y miércoles por la tarde. REG 16-2 "Preparación Medios de Cultivo y Placas"

3) Células competentes: con una semana de antelación, se preparará un stock común (DH5a, BL21/star/gold, C41, C43) de competentes por CaCl₂.

Cada vez que se prepare una nueva tanda, se largará un control positivo y controles negativos con Amp100 y Km50, (más comunes). Cualquier otra resistencia que tenga el vector, el interesado deberá largar un control negativo cuando planifique su transformación.

En la planilla de control, después, se informarán los datos de cuándo fueron preparadas las células competentes y la eficiencia del control positivo para que se pueda consultar. REG 16-3 "Eficiencia de Competentes" FOR 16-1 "Preparación de Competentes"

4) Soluciones: No se dispone de un día fijo. Se solicita dejar las botellas vacías en el estante bajo del armario 5, con tiempo para facilitar la organización. REG 16-4 "Preparación de soluciones"

ANTIBIÓTICOS

- Ampicilina 100 mg/ml
- Cloranfenicol 20 mg/ml
- Estreptomina 100 mg/ml
- Gentamicina 15 mg/ml
- Kanamicina 50 mg/ml
- Tetraciclina 12,5 mg/ml

ADN / ARN

- TBE 50X
- Loading Buffer 6X alicuotado

PROTEÍNAS

- Acrilamida/Bisacrilamida 30:0,8

  INSTITUTO DE BIOLOGIA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO	<i>Procedimiento Operativo Estándar</i>		POE16-1
	Solicitud de Tareas		<i>Fecha de emisión: 28-04-2016</i>
			<i>Versión: V1</i>
	<i>Área: Técnicas microbiológicas</i>		<i>Fecha de revisión:</i>
<i>Elaboró: Marina Avecilla</i>	<i>Revisó: Marina Perozzi</i>	<i>Aprobó: Alejandro Vila</i>	<i>Página 8 de 10</i>

- Tris-HCl 1,5M pH 8.8
- Tris-HCl 0,5M pH 6.8
- Sample Buffer 5X alicuotado
- Tris Glicina Buffer 10X
- APS 10% pesado en tubo Eppendorf
- SDS 10%

TRANSFORMACIÓN

- CaCl₂ 0,1M
- CaCl₂ 0,1M + Glicerol 15%

WESTERN BLOTTING

- Solución de Transferencia 5X
- TBS 10X

SOLUCIONES:

- Z Buffer 5X
- Na₂CO₃ 1M
- Glucosa, Glicerol, Galactosa o Arabinosa
- EGTA, EDTA, IPTG, X-GAL

ANX 4

Se dispone de un cuadernillo fechado para pedidos: Medios de Cultivos, Células Competentes y Soluciones. Y de planillas para el control interno de tareas realizadas, observaciones y resultados.

1) Medios de Cultivo y Placas: se prepararán, los medios de cultivo los días viernes por la mañana y las placas los días jueves por la tarde. REG 16-2 "Preparación Medios de Cultivo y Placas" Comprende:

Medios de Cultivo:

- 7H9
- R5
- Soja Manitol Agar
- TSB

 <p>INSTITUTO DE BIOLOGIA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO</p>	<p>Procedimiento Operativo Estándar</p> <p>Solicitud de Tareas</p> <p>Área: <i>Técnicas microbiológicas</i></p>		<p>POE16-1</p>
			<p>Fecha de emisión: 28-04-2016</p>
			<p>Versión: V1</p>
			<p>Fecha de revisión:</p>
<p>Elaboró: Marina Avецilla</p>	<p>Revisó: Marina Perozzi</p>	<p>Aprobó: Alejandro Vila</p>	<p>Página 9 de 10</p>

- YPD / YPD Agar
- CM / CM Agar

Lista de Placas con ATB:

- Am50
- Ap100
- Kn50
- Kn50Cm20
- Cm20

2) Células competentes: con una semana de antelación, se prepara un stock común (DH5a, BL21/star/gold, C41, C43) de competentes por CaCl₂.

Cada vez que prepare una nueva tanda, se largará un control positivo y controles negativos con Amp100 y Km50, (más comunes). Cualquier otra resistencia que tenga el vector, el usuario deberá largar un control negativo cuando planifique su transformación.

En la planilla de control, después, se informarán los datos de cuándo fueron preparadas las competentes y la eficiencia del control positivo para que se pueda consultar. REG 16-3 "Eficiencia de Competentes" FOR 16-1 "Preparación de Competentes"

3) Soluciones: No se dispone de un día fijo. Se solicita dejar las botellas vacías en el armario de soluciones stock, con tiempo para facilitar la organización. REG 16-4 "Preparación de soluciones". Comprende:

ANTIBIÓTICOS

- Ac. Nal 50 mg/ml (0.15 NaOH)
- Ampicilina 100 mg/ml
- Apramicina 50 mg/ml
- Cloranfenicol 20 mg/ml
- Hygromicina B 50 mg/ml
- Kanamicina 50 mg/ml
- Tetraciclina 5 mg/ml
- Espectinomicina 100 mg/ml

ADN / ARN

- TAE 50X
- Loading Buffer 6X alicuotado

PROTEÍNAS

  INSTITUTO DE BIOLOGIA MOLECULAR Y CELULAR DE ROSARIO	Procedimiento Operativo Estándar Solicitud de Tareas Área: Técnicas microbiológicas		POE16-1
			Fecha de emisión: 28-04-2016
			Versión: V1
			Fecha de revisión:
Elaboró: Marina Avecilla	Revisó: Marina Perozzi	Aprobó: Alejandro Vila	Página 10 de 10

- Acrilamida/Bisacrilamida 30:0,8
- Tris-HCl 1,5M pH 8.8
- Tris-HCl 0,5M pH 6.8
- Sample Buffer 5X alicuotado
- Tris Glicina Buffer 10X
- APS 10% pesado en tubo Eppendorf
- SDS 10%

TRANSFORMACIÓN

- Glicerol 50%
- TF1
- TF2

WESTERN BLOTTING

- Solución de Transferencia 5X

SOLUCIONES:

- Z Buffer 5X
- Na₂CO₃ 1M
- Glucosa, Glicerol, Galactosa o Arabinosa
- EGTA , EDTA, IPTG, X-GAL