

GAZAPOS Y FE DE ERRATAS

Los errores más frecuentes en el desarrollo de protocolos suelen ser las contaminaciones, degradaciones de ácidos nucleicos e inactivaciones de enzimas por un procedimiento de trabajo inadecuado. Cuando se realizan técnicas de Biología Molecular hay que minimizar el riesgo de contaminaciones que producen falsos positivos y la presencia de nucleasas que degradan los ácidos nucleicos por lo que siempre hay que trabajar con guantes, bata y esterilizar todos los reactivos y soluciones.

A esto hay que añadir que los enzimas son tremendamente delicados y siempre que se trabaja con ellos se deben mantener fuera del congelador el mínimo tiempo requerido y manteniéndolos en todo momento en hielo para evitar que se inactiven.

Video 1

1.1

- Se trabaja sin guantes con lo que se puede contaminar la muestra con DNAsas.

- Aunque no es imprescindible, es conveniente que el agua a utilizar esté alicuotaza.

1.2

- La bata debe estar siempre atada para evitar contaminaciones

- La caja de puntas se debe abrir y cerrar al momento ya que si se mantiene abierta permanentemente se pueden contaminar.

- El etanol para precipitar debe ser al 100% ya que al 70% se usa para lavar el pellet con posterioridad.

Video 2

- Aunque no se aprecia bien a simple vista, la carga del gel se realiza colocando el tampón de carga (azul de bromofenol) sobre una tira de “scotch 3M”.

Video 3

- Una vez utilizado el reactivo correspondiente se debe cerrar inmediatamente el tubo.

- Cuando se hagan diluciones añadir primero el agua y después el reactivo pipeteando suavemente.

- La *Taq* se debe añadir a la “master mix” y lo último que se añade al final de todo el proceso es el DNA.

- El pipeteo debe ser suave para evitar formar aerosoles y salpicaduras.

Video 4

- En el cartel de portada donde dice XXX MacFarland debe decir de 2,3 a 2,5 MacFarland.

- Durante todo el proceso es obligatorio el uso de guantes para evitar la presencia de DNAsas.

- La enzima *ApaI* debe estar siempre en hielo ya que se inactiva fácilmente.

- En el cartel de conservación de los dados una vez solidificados donde dice “se pueden conservar en SA” debe decir “se pueden conservar en SE”.

- En el cartel donde dice “digestión con enzimas de restricción” debe decir “restricción”.

Video 5

- Es preferible que, aunque se lleven guantes, el filtro se manipule con pinzas.
- Cuando se recorta el gel se puede hacer en el transiluminador para comprobar que no se cortan zonas interesantes.
- Para comprobar que la transferencia se ha realizado se puede volver a poner el gel en el transiluminador.
- En el cartel de hibridación, al añadir la sonda donde dice “reición” debe decir “reición”.
- El tiempo de revelado puede variar de un filtro a otro. Un tiempo excesivo puede hacer que el fondo aparezca con color.