Biol 4207 – Ejercicios de Practica

JAC

1. Usted tiene una solución pura de HCl. Usted toma 10 ml de esta y le añade 110ml de agua. Cuando determina la molaridad de esta ultima mezcla esta es 1.

* Cual es el factor de dilución?
* Cuantas veces mas concentrado estaban los 10 ml originales que la solución final?
* A que molaridad estaban los 10 ml originales?

1. De una solución al 5% de normal salina (NaCl) se toman 2 ml y se diluyen 1:5. De esta solución se toma 5 ml y se diluyen 1:10. De esta ultima solución se hace una dilución 2:100.

* Cuantas veces menos concentrada esta la 2da dilución que la original?
* Cual es el factor de dilución en cada paso de la serie?
* Cual es el volumen final de cada dilución?
* Cuantos gramos de NaCl habrá en 1 ml de la ultima solución.

3. Las enzimas de restricción vienen en concentración de U/ml, y se recomiendan que se usen 1U por cada ug de DNA a digerir. Si una enzima que usted quiere usar viene a 22,000U/ml, y usted quiere digerir 5 ug de DNA. Cuanto volumen usted tendrá que usar para la reacción y como le hará para poder medirlo con las pipetas que tenemos en el lab?

1. La enzima Alu 1 viene a una concentración de 5,000 U/ ml. Su buffer viene 10X. EL DNA esta a una concentración de 4 µg/µl. A usted le ordenan hacer una reacción de digestión de 12 µg de DNA en un volumen total de 25 µl.

Usted deberá usar 1 U/ µg de DNA.

* En que volumen las obtendrá?
* Como los dispensara?
* Prepare la siguiente tabla con los reactivos de la reacción:

Buffer \_\_\_\_\_\_µl

DNA \_\_\_\_\_\_\_\_ug \_\_\_\_\_\_µl

Enzima \_\_\_\_\_\_\_\_U \_\_\_\_\_\_µl

Agua \_\_\_\_\_\_µl

TOTAL

1. La enzima BamH1 viene a una concentración de 100,000 U/ml. A usted le piden que digiera 20 ug de DNA con esta enzima.

* Cuantas unidades necesitará?
* Como los dispensará

6. Una enzima para ligación (Cip) viene a una concentración de 16000 unidades/ml. Cuantas unidades habrá en 10 ul?

7. Prepare la siguiente reacción enzimática, preséntela en forma tabulada.

En un volumen final de 30 µl, donde use el buffer 4 (10X), se tratan digerir 10 µg de DNA (su concentración es 1.0µg/µl) y usando 20 unidades de la enzima JplG III (su concentración es 22,000 U/ml). Cuanto volumen serviría de cada reactivo? Y de agua? Algún problema? Explique y muestre su trabajo.

8. La enzima DNA pol 1 viene a una concentración de 50,000 U/ml. Usted tiene que preparar una reacción de 50 µl de PCR donde debe usar 0.05U/ul de reacción. Usted añade 10 µl de buffer de PCR, 2ng de DNA templado que esta a una concentración de 0.5ng/µl, primers (que estan a 200 mM) para que cada uno quede a una concentración de 200µM, Mg+2 que esta 5mM (10X), enzima y agua. Presente la tabla de todos los reactivos que incluye en la reacción, los volúmenes de cada uno en µl. Presente donde aplique la concentración inicial y final de cada reactivo. Asuma que tiene micropipetas para todos los valores.

9. La Enzima Nde1 viene a una concentración de 40U/ul. Según el fabricante el envase tiene suficiente para 10,000 reacciones de 2 µg de DNA, contando con que se recomienda 1U/µg de DNA. Cuantas unidades en total trae el envase? A que concentración en U/ml viene la enzima? Si yo tuviera que usar 10U para una reacción de 10 ugs de DNA como haría para servirlo?

10. Una solución de fagos de una dilución en serie es usada para inocular una placa de E coli en el ensayo de plaque de doble capa. A las 24 horas usted cuenta 148 plaques. Contando que el stock original era 0.1, y con que usted uso la sexta dilución de la serie, Cuanto es el PFU para ese fago en esta cepa de E coli? Cual es el factor de dilución para esta placa?