KARDEX OF SOLUTIONS
KARDEX DE SOLUCIONES

Research Group in Immunobiology and Pathogenesis
Research Group in Poultry Science

LIBM
Laboratorio de Inmunología y Biología Molecular

GIP
Inmunobiología y Patogénesis

Grupo de Investigación en Avicultura

MARCH 28, 2019 (Edited September 22th, 2026, v1)

LABORATORY OF IMMUNOLOGY AND MOLECULAR BIOLOGY
Building 33, Lab Room 105, 1st Floor, University of Tolima, Santa Elena Highs, Ibagué, Tolima, Colombia

Listado de soluciones y reactivos

[1] 2X YT agar
[2] Acetato de sodio (3 M, pH 6)
[3] Acrilamida 40%
[4] Agarosa
[5] Agua DEPC 0.1% (Diethyl pyrocarbonate)
[6] BCIP (5-bromo-4-chloro-3-indolyl-phosphate)/NBT (nitroblue tretrazolium)
[7] Buffer CBB (0.1% y 0.02%) “Coomassie Brilliant Blue”
[8] Buffer de lisis
[9] CGP stain
[10] CHELEX 100
[11] CI (Cloroformo: Alcohol isoamílico) (24: 1)
[12] Destaining Solution
[13] DNA Ladder 1 kb (Invitrogen, Estados Unidos)
[14] DNA Ladder 100 bp (Invitrogen, Estados Unidos)
[15] DNA Ladder 100 bp (New England Biolabs, Estados Unidos)
[16] DNA loading buffer (6X)
[17] dNTP Solution
[18] EDTA 0.5 M
[19] Etanol 70% (Alcohol DEPC)
[20] Fenol
[21] Fixing Solution (50 mL)
[22] Glicerol 25%
[23] Glicerol al 80%
[24] Glucosa 1 M
[25] Hidróxido de sodio (NaOH) 10N
[26] Laemmli sample buffer con β-mercaptoethanol 2x
[27] Luria Bertani (LB) Agar
[28] NTMT (NaCl, Tris-cl, MgCl2, Tween-20) (L) (pH 9.5)
[29] PBS-T buffer
[30] PCI (Fenol: Cloroformo: Alcohol isoamílico) (25: 24: 1)
[31] PCR Buffer Solution (10*X*)
[32] Phosphate Buffer Saline (PBS) 10X
[33] Rojo Ponceau
[34] Running Buffer 10X
[35] SDS 20% (1 L)
[36] TBE (Tris-Borato- EDTA) Buffer 10X
[37] Tris Ácido acético EDTA (TAE) Buffer
[38] Tris-buffered saline (TBS) 1X
[39] Tris-Cl 1 M (pH 6.8)
[40] Tris-Cl 1.5 M (pH 8.8)
[41] Tris-EDTA (TE) 10X
[42] Triton X-100, 20%
[43] Western blot Transfer Buffer

2X YT agar

Para preparar 1L de 2X YT agar en un recipiente apropiado agregar:

- 16 g de triptona
- 10 g de extracto de levadura
- 5 g de NaCl
- 900 mL de ddH_2O

Mezclar hasta disolver el soluto. Ajustar el pH a 7.0 con NaOH 5 N. Ajustar el volumen con ddH_2O hasta llevar a un volumen de 1 L. Esterilizar mediante autoclave a 121 °C por 20 minutos.

Acetato de sodio (3 M, pH 6)

Para preparar 1 L de acetato de sodio (3M, pH 6) mezclar:

- 246.1 g de Acetato de sodio
- ddH_2O
- Ácido acético glacial

①. Disolver 246.1 g de acetato de sodio en 500 mL de ddH_2O
②. Ajustar pH a 6 utilizando ácido acético glacial
③. Dejar que la solución se enfrié durante toda la noche
④. Ajustar el volumen final a 1 L con agua ddH_2O

Acrilamida 40%

Para preparar 500 mL de acrilamida 40% adicionar:

- 190 g de Acrilamida (grado de electroforesis)
- 10 g de Bisacrilamida (grado de electroforesis)

①. Ajustar el volumen con agua destilada desionizada (ddH_2O) (libre de ARNasa) hasta completar 500 mL de la solución
②. Filtrar con un filtro de 0.45 µm y almacenar a 4 °C en una botella oscura.

Agarosa

Para preparar 100 ml de agarosa al 1% adicionar:

- 1 g de Agarosa (grado de electroforesis)

①. Ajustar el volumen con buffer TBE 0.5x hasta completar 100 mL de la solución en el recipiente de 1% de gel de agarosa

②. Calentar en microondas por 30 segundos y repetir este calentamiento hasta que se disuelva completamente. Para ello, entre cada ciclo de calentamiento se debe hacer un mezclado por agitación de la botella en círculos para ayudar en la homogenización de la solución y volver a calentar. Se considera que esta lista la solución cuando se observa traslucida sin presencia de grumos o solidos en suspensión.

Cantidad de Agarosa por cada 100 mL de buffer TBE 0.5x

%	Agarosa
0.5	0.5 g
1.5	1.5 g
2	2 g

Agua DEPC 0.1% (Diethyl pyrocarbonate)

Para preparar 1 L agua DEPC adicionar:

- 1 mL de Diethyl pyrocarbonate (DEPC)
- 1000 mL de dH_2O

①. Agregue 1 mL de DEPC a 1000 mL de dH_2O
②. Mezclar bien y dejar reposar a temperatura ambiente durante 1 hora
③. Autoclavar a 121 °C por 15 min
④. Dejar enfriar a temperatura ambiente antes de usar
⑤. Mezclar por inversión

BCIP (5-bromo-4-chloro-3-indolyl-phosphate)/NBT (nitroblue tretrazolium)

Para 20 mL de solución BCIP/NBT adicionar:

- 70 µL de BCIP (5-bromo-4-cloro-3-indolil fosfato)
- 67.5 µL de NBT (Azul nitro-tetrazolio cloruro)

Ajustar el volumen con NTMT (L) hasta completar 20 mL de la solución.

Buffer CBB (0.1% y 0.02%) "Coomassie Brilliant Blue"

Para preparar 100 mL de Buffer CBB (0.1% y 0.02%) adicionar:

Reactivo	Cantidad (por 100 mL)	Concentración final
NP-40 (10%)	1 mL	0.1%
Tris-HCl (1 M, pH 8.0)	1 mL	10 mM
NaCl (5 M)	3 mL	150 mM
Acetato de magnesio (1 M)	100 µL	1 mM
Imidazol (1 M)	100 µL	1 mM
$CaCl_2$ (1 M)	200 µL	2 mM
β-mercaptoetanol (β-ME) (14.3 M)	70 µL	10 mM

Ajuste a un volumen final de 100 mL con H_2O. Agregue el β-ME al tampón CBB justo antes de usarlo. El 0.02% del tampón CBB es idéntico al 0.1% del tampón CBB, excepto que se utilizan 200 µL de 10% de NP-40.

Buffer de lisis

Para preparar 1 L de buffer de lisis mezclar:

Componente y concentración inicial	Volumen inicial (1 L)	Concentración final
Tris-Cl 1.5 M (pH 8.8)	6.6666 mL	10 mM (pH 8.0)
EDTA 0.5 M (pH 8.0)	2 mL	1 mM (pH 8.0)
SDS 20%	5 mL	0.1%

CGP stain

Para preparar la tinción CGP adicionar:

Polyvivylpyrrolidone	2%
Citric acid	20%
CBB	0.05%

Luego de la preparación se debe proteger de la luz, cubriendo el frasco con papel aluminio o utilizando botella ámbar, almacenar a temperatura ambiente.

CHELEX 100

Para preparar una solución Chelex 100 al 10% (p/v) añadir:

①. 1 g de resina Chelex 100
②. Agregar dH_2O hasta un volumen final de 10 mL
③. Almacenar a temperatura ambiente preferiblemente entre 20–25 °C

CI (Cloroformo: Alcohol isoamílico) (24: 1)

Para preparar 250 mL de CI (24:1) mezclar:

- 10 mL Alcohol isoamílico
- 240 mL de Cloroformo

①. Preparar la mezcla en una cabina de extracción de gases
②. En una botella estéril adicionar 10 mL de alcohol isoamílico y 240 mL de cloroformo
③. Mezclar hasta homogenizar
④. Cubrir la botella con papel aluminio para evitar la incidencia de la luz
⑤. Almacenar a 4°C

Destaining Solution

Para preparar 1 L de destaining solution adicionar:

- 100 mL Metanol
- 100 mL Ácido acético glacial

Mezcle 100 mL de metanol con 100 mL de ácido acético glacial y agregue 800 mL de ddH_2O. Almacene la solución a temperatura ambiente.

DNA Ladder 1 kb (Invitrogen, Estados Unidos)

Reactivo	Volumen (µL)
Agua libre de nucleasas	8
Buffer de carga 6X	2
DNA Ladder	1

DNA Ladder 100 bp (New England Biolabs, Estados Unidos)

Reactivo	Volumen (µL)
TE Buffer	4
Buffer de carga 6X	1
DNA Ladder	1

DNA Ladder 100 pb (Invitrogen, Estados Unidos)

Reactivo	Volumen (µL)
Agua libre de nucleasas	8
Buffer de carga 6X	2
DNA Ladder	1

DNA loading buffer (6X)

Para preparar 10 mL de ADN loading buffer (6X) mezclar:

- 0.025 g de Azul de bromofenol 0.25%
- 4 g de Sacarosa 40%
- 10 mL de ddH_2O

Para preparar 10 mL de buffer de carga se pesa 0,025 g de azul de bromofenol (0.25%) y 4 g de sacarosa (40%) y se afora a 10 mL con ddH_2O. Almacenar a 4°C.

dNTP Solution

[ ] dNTPs	**Nucleótidos (100 mM)**				
1 mL Mix	**dATP**	**dCTP**	**dGTP**	**dTTP**	**ddH_2O**
1.5 mM dNTP Mix	15 µl	15 µl	15 µl	15 µl	940 µl
2.5 mM dNTP Mix	25 µl	25 µl	25 µl	25 µl	900 µl
10 mM dNTP Mix	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	600 µl
25 mM dNTP Mix	250 µl	250 µl	250 µl	250 µl	-

EDTA 0.5 M

Para preparar 1 L de EDTA 0.5 M adicionar:

- 186.1 g de EDTA
- 800 mL de dH_2O
- Solución NaOH para ajustar el pH

①. Revuelva 186.1 g de EDTA (tetraacetato de etilendiamina disódica 2H_2O) en 800 mL de agua destilada.
②. Revuelva la solución vigorosamente con un agitador magnético.
③. Añadir la solución de NaOH para ajustar el pH a 8.0 Si usa gránulos sólidos de NaOH, necesitará de 18 a 20 g de NaOH. Agregue la última cantidad de NaOH lentamente para no sobrepasar el pH. Es posible que desee cambiar de NaOH sólido a una solución hacia el final para un control más preciso. El EDTA se disolverá lentamente a medida que el pH se aproxime a 8.0
④. Diluir la solución a 1 l con agua destilada
⑤. Filtrar la solución a través de un filtro de 0.5 µ
⑥. Dispense en recipientes según sea necesario y esterilice en un autoclave

Etanol 70% (Alcohol DEPC)

Para preparar 100 mL de alcohol DEPC mezclar:

- 70 mL de Etanol absoluto
- Agua DEPC autoclavada

Diluir 70 mL de etanol al 95% o 100% en agua DEPC autoclavada hasta obtener un volumen final de 100 mL. Almacenar a temperatura ambiente

Fenol

Para preparar 50 mL de fenol se debe mezclar:

- Fenol liquificado
- Hidroxiquinolina
- Tris-Cl 0.5 M pH 8.0
- β-mercaptoetanol

①. Descongelar 50 mL fenol a temperatura ambiente y luego derretir a 68°C.
②. Agregar hidroxiquinolina hasta obtener una concentración final de 0.1%
③. Agregar 50 mL de Tris-Cl (0.5 M pH 8.0) en un agitador magnético por 15 minutos
④. Permita que se separen las dos fases y aspirando toda la fase acuosa posible (acuosa)
⑤. Agregar 50 mL de Tris-Cl (0.5 M pH 8.0) en un agitador magnético por 15 minutos y realizar paso 4
⑥. Repetir la extracción con 50 mL de Tris-Cl (0.5 M pH 8.0) hasta que el pH de la fase fenólica sea >7.8
⑦. Adicionar 0.1 µL Tris-Cl (0.1 M pH 8.0) que contenga 0.2% de β-mercaptoetanol

Almacenar en una botella hermética a la luz a 4°C por períodos de hasta 1 mes

Fixing Solution (50 mL)

Para prepara 50 mL de fixing solution se debe mezclar:

①. Ácido acético glacial (22.5 mL)
②. Formaldehído (37%) (2.5 mL)
③. dH_2O (25 mL)

Se recomienda utilizar el reactivo antes de 3 horas de preparado.

Glicerol 25%

Para preparar 100 mL de glicerol al 25% adicionar:

- 40 mL de 100% glycerol solution
- 60 mL de ddH_2O

①. Mida 40 mL de solución de glicerol al 100% en una botella de 250 mL
②. Añadir 60 mL ddH_20 a la botella
③. Esterilizar en autoclave

Glicerol al 80%

Para preparar 100 mL de glicerol al 80% mezclar:

- Glicerol 99%
- ddH_2O

Diluir 80 mL de glicerol 99% en 20 mL de ddH_2O. Esterilizar la solución pasándola por un filtro de 0,22 micras pre-enjugado. Almacenar en alícuotas a 4°C.

Glucosa 1 M

Para preparar 1L de glucosa 1 M mezclar:

- Glucosa
- ddH_2O

①. Añadir 180.16 g de glucosa en un recipiente apropiado
②. Ajustar el volumen con H_2O destilada desionizada hasta llevar a un volumen de 1 L.

Hidróxido de sodio (NaOH) 10N

Para preparar NaOH 10N:

- Agua destilada dH_2O (800 mL)
- NaOH (400 g)

①. A 800 mL de dH_2O, agregue lentamente 400 g de NaOH, mezclando continuamente. Como precaución adicional, coloque el vaso sobre hielo
②. Cuando los gránulos se hayan disuelto completamente, ajuste el volumen con dH_2O hasta completar 1 L
③. Almacene la solución en un recipiente de plástico a temperatura ambiente.

Laemmli sample buffer con β-mercaptoethanol 2x

Para preparar 50 mL de buffer de muestra de SDS 2X adicionar:

- 0.747 g de 100 mM Tris-Cl (pH 6.8)
- 2 g de 2% de SDS
- 10 mL de 20% de glicerol
- 5 mL de 0.2% de azul de bromofenol
- 1 mg de 10% de β-mercaptoetanol

Almacenar a 4 °C en un recipiente oscuro o ámbar.

Luria Bertani (LB) Agar

Para preparar 1 L de Luria Bertani agar adicionar:

- 20 g de Agar
- 10 g de NaCl
- 10 g de Triptona
- 5 g de Extracto de levadura

Agregue H_2O a un volumen final de 1 L y ajuste el pH a 7.0 con NaOH (5N). Lleve a autoclavar a 121 °C por 15 minutos y vierta en placas de Petri (25 mL por placa de 100 mm).

NTMT (NaCl, Tris-cl, MgCl2, Tween-20) (L) (pH 9.5)

Para preparar 200 mL de NTMT (L) (pH 9) adicionar:

- 5 mL de $MgCl_2$ (2 M)
- 4 mL de NaCl (5 M)
- 20 mL de Tris-Cl (1 M, pH 9.5)
- 200 µL de Tween 20

Ajustar el volumen con dH_2O hasta completar 200 mL de la solución

PBS-T buffer

Para preparar PBS-T buffer mezclar:

- 1X PBS
- ddH_2O
- 0.05% Tween-20

Se prepara una solución madre PBS 10X, se diluye a 1X con ddH_2O y se agrega 0.05% de Tween-20.

PCI (Fenol: Cloroformo: Alcohol isoamílico) (25: 24: 1)

Para preparar 250 mL de PCI (25:24:1) mezclar:

- 125 mL de Fenol
- 120 mL de Cloroformo
- 5 mL de Alcohol isoamílico

①. Preparar la mezcla en una cabina de extracción de gases
②. En una botella estéril adicionar 5 mL de alcohol isoamílico, 120 mL de cloroformo y 125 mL de fenol
③. Mezclar hasta homogenizar
④. Cubrir la botella con papel aluminio para evitar la incidencia de la luz
⑤. Almacenar a 4°C

Conservar por periodos de hasta 1 mes.

PCR Buffer Solution (10*X*)

Para preparar 1 L de Buffer (10X):

Reactivo	Concentración final
Tris-HCl (pH 8.3)	100 mM
KCl	500 mM
$MgCl_2$	15 mM
Gelatin	0.01%

Phosphate Buffer Saline (PBS) 10X

Para preparar 1L de PBS al 10X mezclar:

- 25.6 g de $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$
- 80 g de NaCl
- 2 g de KCl
- 2 g de KH_2PO_4

Llevar a 1 L con ddH_2O. Autoclavar por 40 minutos a 121 °C.

Rojo Ponceau

Para preparar 1L de rojo Ponceau mezclar:

- Rojo Ponceau
- Ácido acético
- ddH_2O

①. Añadir 1 g de Rojo Ponceau
②. Añadir 50 mL de ácido acético
③. Ajustar el volumen con ddH_2O hasta llevar a un volumen de 1 L
④. Almacenar a 4°C, no congelar.

Para preparar una solución de Rojo de Ponceau S al 0,1% (p/v) en ácido acético al 5% (v/v)

- Rojo Ponceau
- Ácido acético
- ddH_2O

①. Añadir 0,1 g de Rojo Ponceau
②. Añadir 5 mL de ácido acético
③. Ajustar el volumen con ddH_2O hasta llevar a un volumen de 100 ml
④. Almacenar a 4°C, no congelar.

Running Buffer 10X

Para preparar el Running buffer 10X disolver en 1000 mL de ddH_2O:

- 30 g de Tris base
- 144 g de glicina
- 10 g de SDS

El pH del tampón debería ser 8.3 y no se requiere ajuste del pH. Almacene el tampón en funcionamiento a temperatura ambiente y diluya a 1X antes de usar.

SDS 20 %(1 L)

Para preparar 1 L de SDS al 20% se debe mezclar:

- 200 g de SDS (sodium dodecyl sulfate o sodium lauryl sulfate)
- 800 mL de ddH_2O

①. Disuelva 200 g de SDS en 800 mL de ddH_2O mediante agitación
②. Agregue ddH_2O hasta que el volumen final sea de 1000 mL.
③. Almacenar a temperatura ambiente.

✓ Sí presenta cristales de nubosidad en el interior calentar a 37°C a baño maría de 15 a 20 minutos

TBE (Tris-Borato- EDTA) Buffer 10X

TBE 10X	**1 L**	**2 L**
Tris Base	121.1 g	242.2 g
Ácido Bórico	61.8 g	123.6 g
EDTA 1 M pH 8.0	7.4 mL	14.8 g
dH_2O estéril	Ajustar 1 L	Ajustar a 2 L
TBE 0.5X	**1 L**	**2 L**
TBE 10X	50 mL	100 mL
dH_2O estéril	950 mL	1900 mL

Ajustar la solución a un pH entre 8,2 y 8,4

Tris Ácido acético EDTA (TAE) Buffer

Para preparar 1 L de tris ácido acético EDTA buffer adicionar:

- 242 g de Tris-base
- 57.1 mL de Ácido acético glacial 100%
- 700 mL de ddH_2O
- 100 mL de EDTA 0.5 M (pH 8.0)

①. Pesar 242 g de Tris-base (MW = 121.14 g/mol) y disolver en aproximadamente 700 mL de agua desionizada
②. Agregue cuidadosamente 57.1 mL de ácido acético glacial al 100% (o ácido acético) y 100 mL de EDTA 0.5 M (pH 8)
③. Ajustar la solución a un volumen final de 1 L. El pH de este tampón no está ajustado y debería ser de aproximadamente 8.5
④. Almacenar solución de stock a temperatura ambiente

Tris-buffered saline (TBS) 1X

Para obtener TBS 1X a partir de una solución concentrada TBS 10X, se mezcla 1 parte del concentrado con 9 partes de agua destilada o desionizada; para obtener 1 L de TBS 1X:

①. Adicionar 100 mL de TBS 10X en un recipiente adecuado
②. Adicionar 900 mL de agua destilada desionizada.

Tris-Cl 1 M (pH 6.8)

Para preparar tris-Cl 1M (pH 6.8) adicionar:

- 121.1 g de Tris-base
- HCl
- 800 mL de dH_2O

①. Para preparar una solución 1 M, disuelva 121.1 g de Tris base en 800 mL de dH_2O
②. Mezcle la solución con un agitador magnético
③. Medir el pH antes de agregar el HCl
④. Ajustar el pH al valor deseado agregando HCl concentrado

pH	HCl
7.4	70 mL
7.6	60 mL
8.0	42 mL

Deje que la solución se enfríe a temperatura ambiente antes de realizar los ajustes finales al pH. Ajustar el volumen de la solución a 1 L con dH_2O. Dispensar en alícuotas y esterilizar en autoclave.

✓ Si la solución 1 M tiene un color amarillo, descártela y obtenga Tris de mejor calidad.

Tris-Cl 1.5 M (pH 8.8)

Para preparar 1 L de tris-Cl 1.5 M (pH 8.8) adicionar:

- 181.65 g de Tris base
- 800 mL de dH_2O
- HCl

①. Para preparar una solución 1.5 M, disuelva 181.65 g de Tris base en 800 mL de H_2O.
②. Revuelva la solución con un agitador magnético.
③. Medir el pH antes de agregar el HCl
④. Ajustar el pH al valor deseado agregando HCl concentrado.

Deje que la solución se enfríe a temperatura ambiente antes de realizar los ajustes finales al pH. Ajustar el volumen de la solución a 1 L con dH_2O. Dispensar en alícuotas y esterilizar en autoclave.

Tris-EDTA (TE) 10X

Para preparar 1 L de TE 10X mezclar:

- ddH_2O
- Tris-Cl
- EDTA pH 8

①. Agregar 800 mL de ddH_2O en un recipiente apropiado
②. Añadir 15.759 g de Tris-Cl
③. Añadir 2.92 g de EDTA pH 8
④. Mezclar hasta disolver y ajustar el volumen con ddH_2O hasta llevar a un volumen de 1 L.

Triton X-100, 20%

Para preparar 100 mL de Triton X-100, 20% adicionar:

- 20 mL Triton X-100
- 80 mL ddH_2O

①. Mezcle 20 mL de Triton X-100 con 80 mL de ddH_2O agitando.
②. Almacenar a 4°C.

Western blot Transfer Buffer

Para preparar 1L del buffer para Western blot adicionar:

- 3.03 g de Tris base
- 14.4 g de Glycine
- 200 mL de Metanol
- 500 mL de ddH_2O Llevar a 1 L con ddH_2O