



**pronadisa**  
Micro & Molecular Biology

# TAKARA



ISO 9001  
BUREAU VERITAS  
Certification



- 1.- ¿Qué polimerasas de Takara NO añaden residuo de Adenina en el extremo 3'-terminal de los fragmentos clonados? [– ir a respuesta –](#)
- 2.- ¿Es posible utilizar la Premix RR039A para PCR con SYBRgreen si se añade SYBRgreen ya en uso? [– ir a respuesta –](#)
- 3.- ¿Qué Taq polimerasa está recomendada para muestras degradadas? [– ir a respuesta –](#)
- 4.- ¿Qué producto está recomendado para la construcción de librerías de cDNA? [– ir a respuesta –](#)
- 5.- ¿Qué taq se recomienda para amplificar fragmentos pequeños de ribosoma 16S? [– ir a respuesta –](#)
- 6.- ¿Qué se recomienda para amplificar DNA mitocondrial? [– ir a respuesta –](#)
- 7.- ¿Qué polimerasa es adecuada para amplificar DNA microsatélite? [– ir a respuesta –](#)
- 8.- ¿Para qué se utilizan los random Mers? [– ir a respuesta –](#)
- 9.- ¿Hay algún vector de expresión de Takara para *S. cerevisiae*? ¿y para *E.coli*? [– ir a respuesta –](#)
- 10.- ¿En qué consiste la técnica del Touchdown? [– ir a respuesta –](#)

11.- ¿Qué es FastPure? ¿Para qué sirve? [– ir a respuesta –](#)

12.- ¿Qué kit se recomienda para investigación como indicador del estado o no de apoptosis celular?  
[– ir a respuesta –](#)

13.- ¿Hay algún producto para lisar las paredes celulares de hongos filamentosos tipo Penicillium?  
[– ir a respuesta –](#)

14.- ¿Qué producto se recomienda utilizar para después purificar proteínas con las resinas de agarosa de ABT? [– ir a respuesta –](#)

15.- ¿Qué se entiende por código genético? [– ir a respuesta –](#)

## 1.- ¿Qué polimerasas de Takara NO añaden residuo de Adenina en el extremo 3'-terminal de los fragmentos clonados?

1. PrimeStar en todas sus modalidades: Con y sin GC Buffer.
2. Pyrobest.

Esto quiere decir que los productos amplificados con estas dos polimerasas tienen extremos romos y se pueden clonar en vectores blunt-ended.

**Takara Sólo tiene 1 Kit de Clonación: [LA PCR \*in vitro\* Cloning Kit](#)**

Y varios Kits de Ligación.....:

- [DNA Ligation Kits](#) (version 1 y 2)
- [DNA Ligation Kit Version LONG](#)
- [DNA Ligation Kit, Mighty Mix](#)
- [DNA Blunting Kit](#)

[– ir a índice –](#)

## 2.- ¿Es posible utilizar la Premix RR039A para PCR con SYBRgreen si se añade SYBRgreen ya en uso?

Sí, pero hay que asegurarse de añadir la cantidad recomendada.

Takara sugiere utilizar una solución final de unas 2500 – 3000 veces la solución inicial.

Para menos errores, recomiendan usar la Premix con SYBRgreen, pero en el caso puntual de que alguien que normalmente trabaje con sondas Taqman quiera probar con SYBRgreen, puede hacerlo.

Sin embargo, no se recomienda usar la Premix con otras sondas que no sean taqman, ya que no se sabe si la eficacia de la reacción será igual o no.

[– ir a índice –](#)

### 3.- ¿Qué Taq polimerasa se recomienda para muestras degradadas?

La Takara [Ex Taq Hot Start](#).

Esta enzima es la más robusta al la hora de hablar de alta fidelidad, buena eficiencia de amplificación para fragmentos de hasta 20 b.

En caso de sospechar que el DNA está muy degradado hay que intentar reducir el tamaño del fragmento a amplificar a 200 – 300 pb.

Esta es la polimerasa que actualmente más se utiliza en los kits de alta fidelidad de Takara: En los de tiempo Real, en los de RT-PCR para hacer la etapa de PCR con buen rendimiento.

[– ir a índice –](#)

#### 4.- ¿Qué producto se recomienda para la construcción de librerías de cDNA?

El Kit [PrimeScript 1st strand cDNA Synthesis Kit \(6110A\)](#).

Este kit es perfecto para sintetizar la primera hebra de cDNA a partir de RNA total o poli(A) + RNA.

Este kit incluye todos los reactivos necesarios para realizar la síntesis de la primera hebra de cDNA a partir de RNA usando como retrotranscriptasa la PRIMESCRIPT.

La PrimeScript es una retrotranscriptasa basada en la MMLV, y que posee una excelente habilidad para la elongación, por lo que puede sintetizar cadenas de cDNA de hasta 12Kb con un buen rendimiento.

[– ir a índice –](#)

## 5.- ¿Qué taq se recomienda para amplificar fragmentos pequeños de ribosoma 16S?

### RECORDATORIO:

Los ribosomas son los orgánulos celulares más numerosos, presentes en el citoplasma o en el retículo endoplasmático. Están formados por RNA ribosómico + proteínas. En ellos tiene lugar el ensamblaje de los aminoácidos para realizar la TRADUCCIÓN GENÉTICA. La forma en que los ribosomas están distribuidos en la célula se relaciona con los tipos de proteínas que elabora.

EL RNA que constituye las subunidades ribosómicas es siempre el mismo, es decir que el gen que codifica para este tipo de RNA es un “**gen estructural**”.

A la hora de estudiar la subunidad 16S del ribosoma, el investigador puede hacerlo bien estudiando la secuencia del gen que codifica para esta subunidad (muy utilizado para el estudio de mutaciones y / expresiones genéticas), o bien estudiando el RNA que forma esta subunidad (muy utilizado en el estudio de filogenias entre especies).

Si se desea amplificar el gen de DNA que codifica para el rRNA 16S hay que tener en cuenta que suele ser un fragmento rico en pares GC. Por eso se recomienda el uso de [PrimeStar GC Buffer](#) (R044A), o bien [LA Taq GC Buffer](#) (RR02AG).

[– ir a índice –](#)

## 6.- ¿Qué se recomienda para amplificar DNA mitocondrial?

Por favor consultar la guía "[Sucesful LA PCR Guide](#)", y revisar la pregunta en la página 21.

[– ir a índice –](#)

## 7.- ¿Qué polimerasa es adecuada para amplificar DNA microsatélite?

Microsatélites o son loci polimórficos presentes en el DNA nuclear que consisten de repeticiones de motivos de 1 a 6 nucleótidos que se ubican uno tras otro. **Generalmente se encuentran en zonas no codificantes del DNA.**

Son neutros, co-dominantes y poseen una **alta tasa de mutación**, lo que los hace muy polimórficos, **condición que permite usarlos como marcadores moleculares en una gran variedad de aplicaciones en el campo de la genética como parentescos y estudios de poblaciones.**

Para amplificar este tipo de genes, se recomienda la **PrimeSTAR** ya que es la polimerasa de mayor fidelidad. Lo difícil en estos casos es amplificar secuencias repetidas ya que la enzima podría romper el DNA.

La **LA TAQ** es también una buena elección. Sería interesante probar las dos comparativamente para ver cual de ella da mejores resultados.

[– ir a índice –](#)

## 8.- ¿Para qué se utilizan los random Mers?

Más conocidos como Random primers. Son una mezcla de oligonucleótidos que se utilizan como primers para la síntesis de cDNA.

No se usan como primers de DNA, sino siempre de RNA.

Takara tiene dos Random Primers pd(N6) y pd(N9).

Casi todos están incluidos en los kits de RT PCR.

[– ir a índice –](#)

9.- ¿Hay algún vector de expresión de Takara para *S. cerevisiae*? ¿y para *E.coli*?

[Autonomously Replicating Vector for \*S. cerevisiae\* pAUR112 DNA.](#)

[– ir a índice –](#)

## 10.- ¿En qué consiste la técnica del Touchdown?

El truco aquí sería hacer 2 pasos o ciclos en la PCR o bien un ciclo en 6 tiempos.

Por ejemplo, el protocolo de la PCR sería:

95°C 10 s  
65°C -2°C 10 s  
72°C 1 min  
95°C 10 s  
65°C -2°C 10 s  
72°C 1 min  
X 15 cycles

En vez de:

95°C 10 s  
65°C -2°C 10 s  
72°C 1 min  
X 30 cycles!

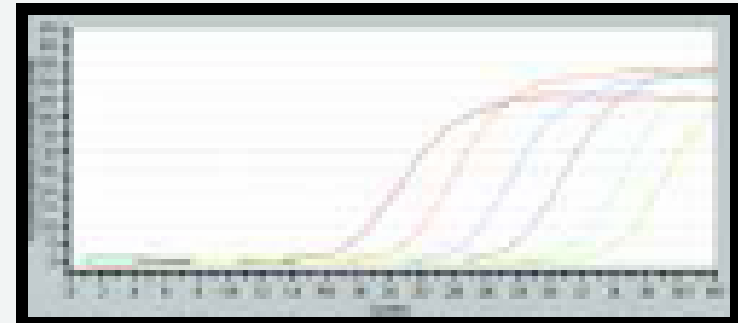
[- ir a índice -](#)

## 11.- ¿Qué es FastPure? ¿Para qué sirve?

### FastPure™ RNA Kit

The FastPure™ RNA Kit allows simple and quick extraction of highly pure total RNA from cultured cells and mammalian tissues via centrifugation. The first step in the FastPure™ Protocol is preparation of lysates via homogenization of mammalian tissues or cells using the supplied Lysis and Solubilization

Buffers. Then the lysate is placed in a cartridge with a multi-pore filter with an affinity for nucleic acids. The cartridge is spun in a microcentrifuge and total RNA is collected.



[Click here for more information](#)

[– ir a índice –](#)

## 12.- ¿Qué kit se recomienda para investigación como indicador del estado o no de apoptosis celular?

El LDH Cytotoxicity Detection Kit (MK401).....2000 tests.

Este kit mide la actividad enzimática de la Lactato Deshidrogenasa (LDH) a partir de las células dañadas.

### ¿Por Qué?

Porque esta enzima está presente en el citoplasma de todas las células. Cuando una célula se muere o se rompe su membrana plasmática, la LDH sale al cultivo sobrenadante. Por lo tanto, el estudio de la presencia o no de LDH en el sobrenadante celular (color vira a amarillo) va a permitir correlacionar y cuantificar mediante un lector de placas (490/492nm) , la cantidad de células dañadas en el medio de cultivo.

[- ir a índice -](#)

### 13.- ¿Hay algún producto para lisar las paredes celulares de hongos filamentosos tipo *Penicillium*?

Sí. Es una enzima específica llamada YATALASE (cod. T017).

Species	Medium	Culture	Conditions
<i>Aspergillus oryzae</i>	Czapek-Dox + 0.5% Casamino acid (pH5.6)	30°C , 20 hr, Shake culture (Rotary at 140 rpm)	2% Yatalase solution 0.6 M (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 50 mM Maleate Buffer (pH5.5) 30°C Reciprocal shaking (at 60-70 rpm) 2-3 hr
<i>Aspergillus kawachi</i>	Same as in (1)	30°C , 20 hr, Stationary culture	Same as in (1)
<i>Aspergillus terreus</i> , <i>Penicillium citrinum</i> , <i>Penicillium lanosum</i> , <i>Trichoderma koningii</i>	Dextrin-peptone (pH5.5)	Same as in (1)	Same as in (1)

[- ir a índice -](#)

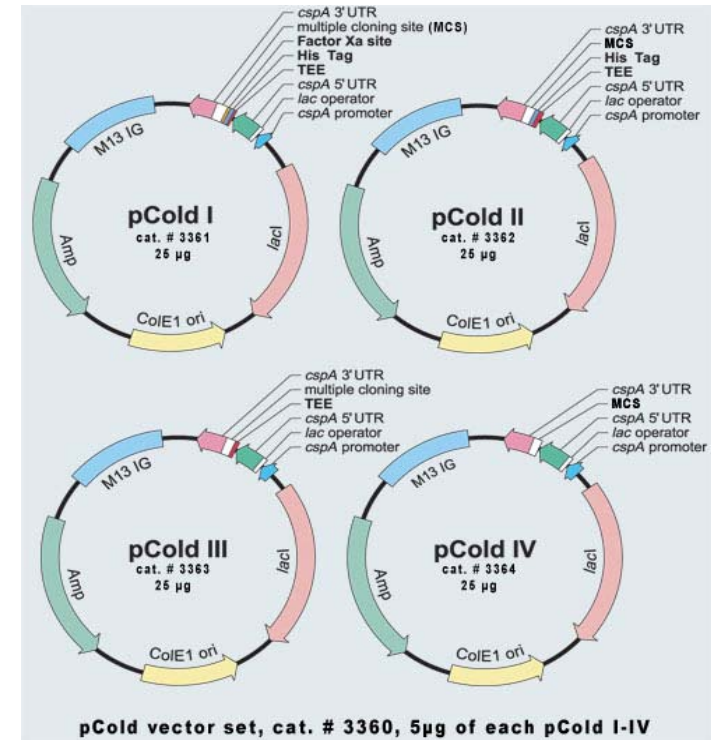
Specie	Medium	Culture	Conditions
Mucor hiemalis, Rhizopus nigricans	2% Malt extract	30°C , 12 hr, Stationary culture (Sporangiospores in germ )	2% Yatalase solution 0.5 M MgSO 4 50 mM Maleate Buffer (pH5.5) 30°C Reciprocal shaking (at 60-70 rpm) 4 hr
Pleurotus ostreatus, Coprinus cinereus, Lentinus edodes	OSG or MYG medium (pH5.5)	25-30°C , 3-4 days, Stationary culture	2% Yatalase solution 0.6 M MgSO 4 50 mM Maleate Buffer (pH5.5) 30°C Reciprocal shaking (at 60-70 rpm) 2-3 hr
Monascus sp.	Same as in (3)	25°C , 20 hr, Shake culture (Rotary at 140 rpm)	Same as in (1)

– ir a índice –

## 14.- ¿Qué producto se recomienda para purificar luego proteínas con las resinas de agarosa de ABT?

Sin duda, los vectores con colas de Histidina, para que luego la proteína expresada se pueda fijar en las resinas de ABT.

En el caso que nos ocupa son los vectores pCold I y pCold II.



[- ir a índice -](#)

## 15.- ¿Qué entiendes por código genético?

Es la regla de correspondencia entre la serie de nucleótidos en que se basan los ácido nucleicos, y la serie de aminoácidos en que se basan las proteínas.

Los 20 aminoácidos son codificados por 61 codones de tripletes de bases nitrogenadas. Hay otros tres codones que sirven de señal para parar la traducción.

**El codón AUG codifica ambos: para la metionina y sirve como sitio de iniciación; el primer AUG en un ARNm es la región que codifica el sitio donde la traducción de proteínas se inicia.**

[– ir a índice –](#)

		2 <sup>a</sup> base			
		U	C	A	G
1 <sup>a</sup> base	U	<b>UUU</b> FENILALANINA <b>UUC</b> FENILALANINA <b>UUA</b> LEUCINA <b>UUG</b> LEUCINA	<b>UCU</b> SERINA <b>UCC</b> SERINA <b>UCA</b> SERINA <b>UCG</b> SERINA	<b>UAU</b> TIROSINA <b>UAC</b> TIROSINA <b>UAA</b> Ocre Stop <b>UAG</b> Ámbar Stop	<b>UGU</b> CISTEÍNA <b>UGC</b> CISTEÍNA <b>UGA</b> Ópalo Stop <b>UGG</b> TRIPTÓFANO
	C	<b>CUU</b> LEUCINA <b>CUC</b> LEUCINA <b>CUA</b> LEUCINA <b>CUG</b> LEUCINA	<b>CCU</b> PROLINA <b>CCC</b> PROLINA <b>CCA</b> PROLINA <b>CCG</b> PROLINA	<b>CAU</b> HISTIDINA <b>CAC</b> HISTIDINA <b>CAA</b> GLUTAMINA <b>CAG</b> GLUTAMINA	<b>CGU</b> ARGININA <b>CGC</b> ARGININA <b>CGA</b> ARGININA <b>CGG</b> ARGININA
	A	<b>AUU</b> ISOLEUCINA <b>AUC</b> ISOLEUCINA <b>AUA</b> ISOLEUCINA <b>AUG</b> <sup>1</sup> METIONINA	<b>ACU</b> TREONINA <b>ACC</b> TREONINA <b>ACA</b> TREONINA <b>ACG</b> TREONINA	<b>AAU</b> ASPARAGINA <b>AAC</b> ASPARAGINA <b>AAA</b> LISINA <b>AAG</b> LISINA	<b>AGU</b> SERINA <b>AGC</b> SERINA <b>AGA</b> ARGININA <b>AGG</b> ARGININA
	G	<b>GUU</b> VALINA <b>GUC</b> VALINA <b>GUA</b> VALINA <b>GUG</b> VALINA	<b>GCU</b> ALANINA <b>GCC</b> ALANINA <b>GCA</b> ALANINA <b>GCG</b> ALANINA	<b>GAU</b> ACD.ASPARTICO <b>GAC</b> ACD.ASPARTICO <b>GAA</b> ACD.GLUTÁMICO <b>GAG</b> ACD.GLUTÁMICO	<b>GGU</b> GLICINA <b>GGC</b> GLICINA <b>GGA</b> GLICINA <b>GGG</b> GLICINA

[- ir a índice -](#)