

Agar Luria con Cloranfenicol 34 µg/ml (Miller's LB Agar)

Cat. 2092

Para E. coli en estudios de genética molecular.

Información práctica

Aplicaciones	Categorías
Selección de transformantes	Escherichia coli

Industria: Biología molecular / Medio de Cultivo Microbiológico

Principios y usos

El Agar Luria con Cloranfenicol 34 µg/ml (Miller's LB Agar) se utiliza para el crecimiento selectivo de cepas recombinantes de E. coli resistentes al cloranfenicol en estudios de genética molecular.

Los E. coli transformados se colocan en placas directamente sobre medios de agar selectivos (LB Agar que contiene antibióticos). Aparecerán menos colonias transformadas por ml en placas. Para seleccionar las bacterias con el plásmido, es necesario subcultivar un inóculo de Agar LB a un Caldo LB con el antibiótico agregado.

La triptona proporciona nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. El extracto de levadura es fuente de vitaminas, particularmente del grupo B. El cloruro sódico promueve el equilibrio osmótico. El agar bacteriológico es el agente solidificante.

Fórmula en g/L

Agar bacteriológico	15	Cloranfenicol	0,034
Cloruro sódico	10	Triptona	10
Extracto de levadura	5		

Preparación

Suspender 40 gramos de medio en un litro de agua destilada. Mezclar bien y disolver por calentamiento agitando con frecuencia. Hervir durante un minuto hasta su completa disolución. Esterilizar en autoclave a 118 °C durante 10 minutos. Enfriar a 45-50 °C, mezclar bien y dispensar en placas.

Instrucciones de uso

Inocular el medio por el método de siembra en superficie:

- En una placa Petri, añadir 12-15 ml de agar fundido y dejar que solidifique.
- Inocular 0,1 ml de la suspensión inicial y/o muestra diluida.
- Extender el inóculo con un asa de siembra estéril sobre la superficie del agar.
- Incubar las placas en posición invertida a una temperatura de 35±2 °C durante 18-24 horas.

Control de calidad

Solubilidad	Apariencia	Color del medio deshidratado	Color del medio preparado	Final pH (25°C)
Sin restos	Polvo fino	Beige	Ámbar, ligeramente opalescente	7,0±0,2

Test microbiológico

Condiciones de incubación: (35±2 °C / 18-24 h).

Microrganismos	Especificación
Escherichia coli ATCC 25922	Inhibición total
Escherichia coli DH5 alpha + PH SG 398	Buen crecimiento

Almacenamiento

Temp. Min.:2 °C
Temp. Max.:25 °C

Bibliografía

Atlas, R.M., L.C.Parks (1993) Handbook of Microbiological Media. CRC Press, Inc. London.
The condensed protocols from molecular cloning: a laboratory manual/ Joseph Sambrook, David W. Russell.