Transformación bacteriana:

Choque térmico

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dr. Oscar Medina Contreras | Dr. Oscar Medina Contreras | Dra. Jenny Vilchis Gil |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 2020-04-08 | 2020-04-08 | 2020-05-01 |

1. **Propósito**

Incorporar con eficiencia un vector exógeno a la cepa bacteriana TOP10, DH-5 ó BL21 por choque térmico.

1. **Alcance**

Este procedimiento involucra a todo el personal técnico, científico y estudiantes que deseen realizar transformación bacteriana de las cepas bacterianas TOP10, DH-5 ó BL21 en la Unidad de Investigación Epidemiológica en Endocrinología y Nutrición del Instituto Nacional de Salud Hospital Infantil de México Federico Gómez.

1. **Políticas de operación, normas y lineamientos**

Es responsabilidad de todo el personal técnico, científico y estudiantes adscritos a la Unidad de Investigación Epidemiológica en Endocrinología y Nutrición del Instituto Nacional de Salud Hospital Infantil de México Federico Gómez conocer y dar seguimiento a este procedimiento.

Los residuos de tipo CRETI (Corrosivas, Reactivas, Explosivas, Toxicas e Inflamables) se deberán eliminar con base en su clasificación y especificaciones de manejo según la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002; así como sus características intrínsecas y su toxicidad al ambiente según la NOM-052-SEMARNAT- 2005.

1. **Descripción del Protocolo.**

* Mezclar 3µl del vector exógeno con un vial de bacterias competentes.
* Incubar 30 minutos en hielo.
* Incubar 60 segundos a 42ºC.
* Incubar 2 minutos en hielo.
* Añadir 200µl de medio SOC, e incubar 37°C/200rpm/1hr.
* Plaquear en agar LB con antibiotico de selección.
* Incubar 12-16hrs a 37°C.

1. **Diagrama de flujo**

1. **Documentos de Referencia**

Manual de “pENTR™ Directional TOPO Cloning Kits” de Invitrogen.