

## **LABORATORIO DE ADN**

Este laboratorio tiene como objetivo evitar problemas de contaminación que pueden aparecer en la PCR y que pueden llegar a ser un serio problema.

Se recomienda que la preparación de las muestras se realice en un laboratorio diferente del que se trabaja habitualmente con el producto de la PCR o con plásmidos que llevan fragmentos clonados. En nuestro caso el laboratorio de ADN está diseñado para la purificación del ADN o ARN que se quiere amplificar y para la preparación de las reacciones de PCR.

**EN NINGÚN CASO SE PODRÁ EXTRAER ADN DE BACTERIAS QUE CONTENGAN PLÁSMIDOS O TRABAJAR CON ELLAS EN ESTE LABORATORIO.**

### **Barreras a la contaminación:**

Para evitar la contaminación hay que evitar el flujo de elementos provenientes de laboratorios donde se trabaje con productos de PCR, plásmidos o se hagan electroforesis de ADN. Por este motivo, las pipetas automáticas, puntas, tubos eppendorf, gradillas, etc no pueden venir del laboratorio normal. **NO PUEDE EXISTIR FLUJO DE MATERIAL DESDE LOS LABORATORIOS NORMALES AL DE ADN.** Esto implica que **TODO EL MATERIAL QUE SE NECESITE DEBE GUARDARSE EN ESTE LABORATORIO.**

### **Equipamiento:**

En su diseño definitivo el laboratorio de ADN contará con dos congeladores, uno de uso general donde se guardarán los reactivos (Taq polimerasa, primers, etc) y otro para ARN. Una cabina de flujo para preparación de las reacciones de PCR. Dos termobloques. Una centrífuga refrigerada y una microcentrífuga.

Todo este material ha sido adquirido por el grupo de Antonio Caruz (Cabina de flujo, congelador pequeño y centrífuga refrigerada), por el grupo de Francisco Luque (Congelador grande y microcentrífuga) y por el grupo de Juan Bautista Barroso (Termobloques). El uso de este equipamiento está abierto a todos los grupos que lo necesiten, pero los usuarios deberán utilizarlo con cuidado y con limpieza. El mal uso de este laboratorio pone en peligro no solo los experimentos del propio usuario sino los de todos. El congelador grande es de 8 cajones por lo que no debería haber problemas para que todos los grupos puedan utilizar un cajón.

El laboratorio es pequeño, de modo que los usuarios deberemos ser considerados y hacer un uso racional de los cajones y vitrinas para que todos podamos almacenar nuestro material.

### **Procedimiento:**

Cuando se entra en el laboratorio de ADN es conveniente cambiarse de bata, pero lo que resulta imprescindible es antes de tocar nada, ponerse guantes limpios, que deben estar almacenados dentro del laboratorio de ADN.

Es conveniente utilizar puntas con filtro para evitar la contaminación cruzada de las muestras.

La cabina de flujo tiene una lámpara de ultravioleta para irradiar los tubos pipetas y demás material unos minutos antes de preparar las reacciones de PCR. **NUNCA SE DEBE MANIPULAR CON LA LUZ UV ENCENDIDA.** La luz UV degrada las moléculas de ADN y es un elemento más de control de la contaminación.

El laboratorio tiene también una lámpara de UV. Esta se puede accionar para descontaminación general del laboratorio. Para ello habrá que cerciorarse en primer lugar de que el laboratorio no esta siendo utilizado por nadie. A continuación se cerrará con llave el laboratorio y se encenderá la luz UV con la llave correspondiente. Cuando la luz UV esté encendida se encenderá una luz roja sobre la puerta. Pasado un tiempo de no más de una hora se procederá a apagar la luz UV y a abrir la cerradura de la puerta y guardar la llave en el lugar que se habilitará para ello.

Cuando se realicen RT-PCRs la reacción de retrotranscripción se realizará en el termobloque y posteriormente se preparará la PCR.

Una vez preparadas las muestras para la PCR se trasladarán al termociclador en una gradilla traída del laboratorio normal, sin tocar nada ni apoyarla en la mesa.

Finalizado el experimento el lugar deberá quedar limpio y recogido.