



DOCUMENTO GENERAL

Preparación de soluciones para extracción ARN o ADN

1. Preparación de Soluciones para extracción con Sílica.

Buffer de extracción: Para preparar 50 ml de solución, se mezclan y disuelven en 30 ml de agua libre de nucleasas, los siguientes reactivos:

23,6 g de Tiocianato de guanidina (PM=118.16 g/mol)	4.0 M
3,32 ml de acetato de sodio 3.0 M, pH 5.2	0.2 M
16,66 ml de acetato de potasio 3,0 M, pH 5.0	1,0 M
2,5 ml de EDTA 0.5 M, pH 8.0	0,25 mM
1,25 g de PVP 40 kDa.	2.5 %p/v

Una vez disueltos, se vierte en matraz aforado de 50 ml, se enraza con agua libre de nucleasas y se almacena a temperatura ambiente hasta su uso.

Se debe tener presente que justo antes de usar se debe agregar β -mercaptoetanol para alcanzar una concentración final de 3.0 mM.

Solución de yoduro de Sodio (NaI) 6 M: Se agregan 0,75 g de sulfito de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) en 40 ml de agua libre de nucleasas, se disuelve la sal completamente, se agregan 36 g de NaI lentamente y se deja disolver. Se almacena en frasco oscuro a 4°C.

Solución de N-Lauril Sarcosina de sodio (sarkosyl) al 10%: Para preparar 100 ml de solución agregar 10 g de sarkosyl en 100 ml de agua libre de nucleasas y almacenar en frasco a temperatura ambiente.

Solución de Lavado: Para preparar 50 ml de esta solución se deben mezclar los siguientes reactivos en probeta de 50 ml:

500 μ l de TRIS-HCl 1.0 M pH 7,5
50 μ l de EDTA 0.5 M pH 8,0
25 ml de Etanol absoluto.

Enraza a 50 ml con agua libre de nucleasas, mezclar y almacenar en frasco a 4°C.

Solución TRIS -HCl 1M, Ph 7,5: Para preparar 100 ml de solución, se disuelven 12,114 g de TRIS base (PM = 121,14 g/mol) en 80 ml de agua libre de nucleasas. Luego se ajusta Ph con ácido clorhídrico concentrado hasta alcanzar Ph 7.5, se vierte en matraz aforado de 100 ml y se enraza a este volumen. Luego se almacena hasta su uso.

Solución EDTA 0.5 M, pH 8.0: Para preparar 100 ml de solución, se disuelven 14,61 g de EDTA (PM=292,25 g/mol) en 60 ml de agua libre de nucleasas agregando lentejas de hidróxido de sodio hasta alcanzar pH 8.0, al cual el EDTA se disuelve completamente. Luego se vierte en matraz aforado de 100 ml y se enraza a este volumen. Se almacena en frasco, se autoclava y se mantiene a temperatura ambiente.

Suspensión de Sílica: Se introducen 60 g de sílica en probeta de 1000 ml, se agregan 500 ml de agua DEPC, se sella con parafilm, se agita vigorosamente por 10 min y se deja decantar por 24 horas en oscuridad. Luego se eliminan 470 ml del sobrenadante con pipeta estéril, se llevan a 500 ml con agua DEPC, se agita y se deja decantar por 5 horas a 4°C en oscuridad. Finalmente se eliminan 440 ml del sobrenadante con pipeta estéril, se ajusta a pH2.0 con HCl y se alcuota la suspensión de sílica a microtubos de 2.0 ml.



DOCUMENTO GENERAL

Preparación de soluciones para extracción ARN o ADN

2. Preparación de Soluciones para extracción con Litio.

Buffer de Extracción: Para preparar 100 ml de solución, se mezclan y disuelven en agua libre de nucleasas, los siguientes reactivos en vaso precipitado de 250 ml:

	Conc. final
20 ml Solución TRIS -HCl 1M, Ph 8,5	200mM
1, 5 g Lithium Dodecylsulphate (PM: 272,3)	1,5%
1, 2717 g LiCl (PM: 42,39)	300 mM
0,2922 g EDTA (PM: 292, 25)	10 mM
1,0 g de Sodium Deoxycholate (PM: 414,57)	1%
1,0 g de NP-40 (Tergitol)	1%

Una vez disueltos, se vierten en matraz aforado de 100 ml, se enraza a este volumen con agua libre de nucleasas y se almacena a temperatura ambiente hasta su uso.

Se debe tener presente que justo antes de usar se debe agregar β -mercaptoetanol para alcanzar una concentración final de 0,1%.

Solución TRIS -HCl 1M, Ph 8,5: Para preparar 100 ml de solución, se disuelven 12,114 g de TRIS base (PM = 121,14 g/mol) en 80 ml de agua libre de nucleasas. Luego se ajusta Ph con ácido clorhídrico concentrado hasta alcanzar Ph 8,5, se vierte en matraz aforado de 100 ml y se enraza a este volumen. Luego se almacena hasta su uso.

Solución de Acetato de Potasio 5,0 M: Para preparar 100 ml de solución, se pesan 49,075 g de esta sal, se disuelven con 60 ml de agua sin nucleasas, se vierte en matraz aforado de 100 ml, se enraza a este volumen y se almacena a temperatura ambiente hasta su uso.

Preparación de Acetato de Potasio 6,0 M: A 60 ml de Acetato de Potasio 5M, se adicionan 11.5 ml de ácido acético glacial y 28.5 ml de agua libre de nucleasas. Resultando una solución 3M con respecto al potasio y 5M con respecto al acetato. En esta solución se disuelven 9.815 g de acetato de potasio, resultando una solución 6,0 M respecto al acetato. Luego se almacena hasta su uso.

3. Preparación de Soluciones para extracción con CTAB 3%.

Buffer extracción CTAB 3%: Para preparar 1L de solución, se mezclan y disuelven en 800 ml de agua libre de nucleasas, los siguientes reactivos:

	Conc. Final
30 g de CTAB	3%
121,1 g de TRIS	1 M
40 ml de EDTA 0.5 M	20 mM
81,816 g de Cloruro de sodio	1,4 M

Una vez disueltos, se ajusta a Ph 8, se vierten la solución en matraz aforado de 1L, se enraza a este volumen con agua libre de nucleasas y se almacena a temperatura ambiente hasta su uso.



DOCUMENTO GENERAL

Preparación de soluciones para extracción ARN o ADN

Se debe tener presente que justo antes de usar se debe agregar β -mercaptoetanol para alcanzar una concentración final de 0,2%.

Etanol al 70%: Para preparar 500 ml de esta solución, se deben mezclar los siguientes reactivos en probeta de 500 ml: 350 ml de Etanol absoluto y se enraza con agua libre de nucleasas, se mezclan y se almacena en frasco a 4° C.