

Extracción ADN de Mariposas

Extraction Buffer para Insectos

- 50 mM Tris HCl
- 25 mM NaCl (stock 1 M)
- 25 mM EDTA pH 8
- 0.1% SDS (stock 10%) pH 7.2

1. Tomar parte del torax (20-40 mg) agregar N líquido y macerar.
2. Agregar 750 µl de buffer de extracción y seguir macerando (mantener en frío)
3. Agregar 20 µl de Proteinasa K (10mg/µl).
4. Incubar a 50-55 C, 2-12 hrs (rotar si es posible)
5. Agregar fenol (entre 750-1000 µl)
6. Incubar a temperatura ambiente por 30 min (rotar).
7. Centrifugar 10 min.
8. Sacar el sobrenadante (ADN esta generalmente en la capa superior)
9. Agregar 750 µl fenol-cloroformo-alcohol isoamílico (25:24:1), agitar supersuave.
10. Centrifugar 10 min.
11. Sacar el sobrenadante.
12. Agregar 750 µl cloroformo-alcohol isoamílico (24:1), agitar supersuave.
13. Centrifugar 10 min.
14. Sacar el sobrenadante.
15. Agregar 2x EtOH (95%, frío) y 0.1x AcONa (3M, pH 5.2).
16. Centrifugar en frío 20 minutos.
17. Sacar la solución (dejar el pelet).
18. Resuspender el pelet en 400µl EtOH (70%).
19. Centrifugar en frío 10 minutos.

20. Extraer el Etanol (dejar el pelet).

21. Dejar secar por unos minutos y resuspender en 50 μ l TE (0.1x)

22. Colocar 5 μ l ADN en un gel de agarosa al 1.5%.