



PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN DE ADN PARA ESPECIES DEL GÉNERO PHOENIX



Co-funded by
the European Union





El presente documento muestra la forma de realizar una extracción óptima de ADN de cualquier especie del género *Phoenix* (Arecaceae). Se basa en el método descrito por Dellaporta et al. (1983) modificado por Corniquel y Mercier (1994).

Este protocolo se ha elaborado en el marco del proyecto europeo **LIFE-PHOENIX** [<https://lifephoenix.gesplan.es/es>] denominado **Restauración y mejora del hábitat prioritario 9370*. Palmerales de Phoenix**

Autores

Leticia Curbelo Muñoz
Pedro Sosa Henríquez

Septiembre 2024



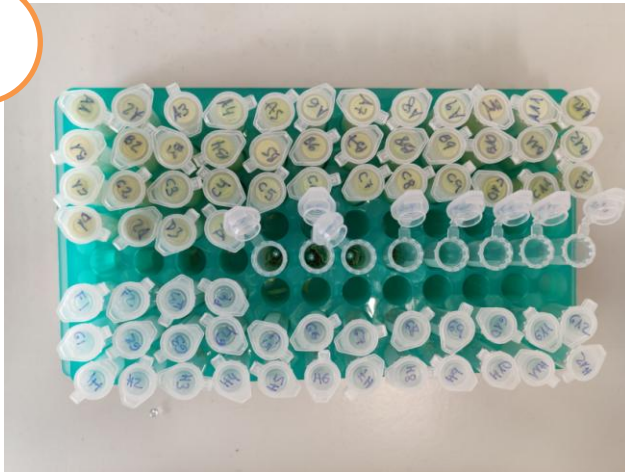
FASE 1

1



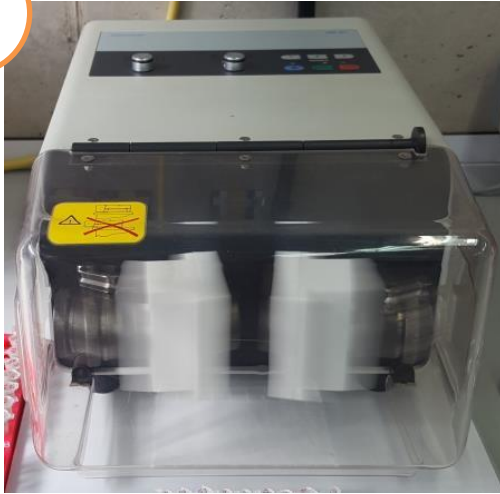
Pesar 50mg de la muestra vegetal (cortada en pequeños trozos) en un microtubo de colección rotulado con su código

2



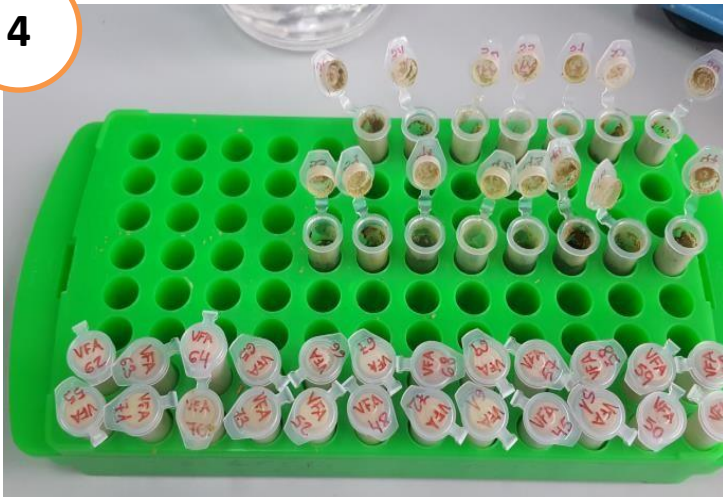
Colocar 2 bolas de acero en el tubo para machacar las muestras

3



Homogeneizar el tubo con Mixer Mill MM 300 (Retsch), utilizando los adaptadores homologados para tubos (Retsch 2x10) (3 min - 30 Hz) dos veces, cambiando la orientación de la placa)

4



Añadir 700µl de tampón de extracción 1 (0.1 M Tris-HCL pH 8; 50 mM EDTA; 0.5 M NaCl; 1% SDS; 2% PVP)

FASE III

5



*Agitar los tubos con ayuda de un agitador
Vortex*

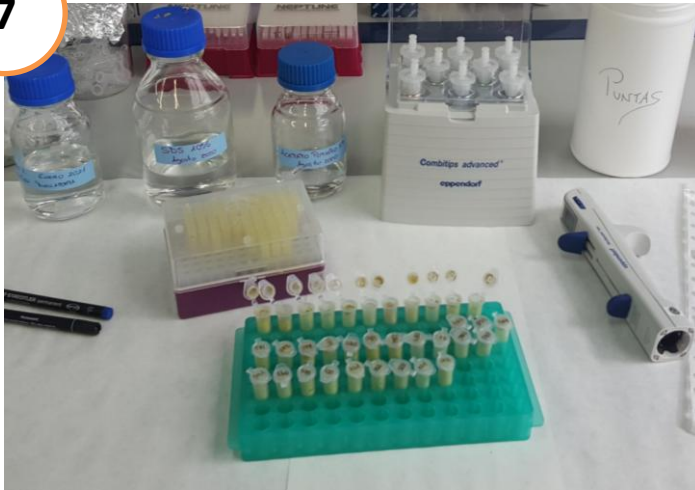
6



*Añadir 300ul de SDS al 10% y situar los
tubos en un bloque térmico a 65°C 20min*

FASE IV

7



Añadir 300ul de Acetato Potásico 5M y se agita brevemente. Introducir las muestras en una cama de hielo 20 min

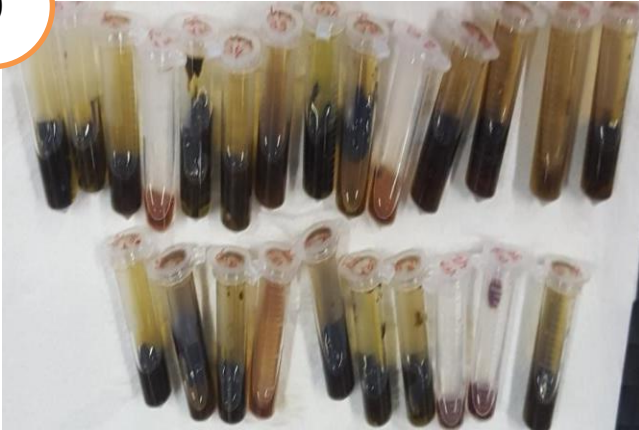
8



Centrifugar 13.000 rpm durante 30 min - temperatura ambiente

FASE V

9



Recoger la fase superior del centrifugado que es la que contiene el ADN y pasar a un tubo con 500 ul de isopropanol muy frío (almacenado a -20°C)

10



Mezclar la solución por inversión y almacenar toda la noche a -20°C

11



*Centrifugar 13.000 rpm durante 15 min -
temperatura ambiente*

12



*Descartar el sobrenadante volcando el
líquido del tubo y dejar secar el
sedimento invirtiendo el tubo sobre
papel secante durante 10 minutos*

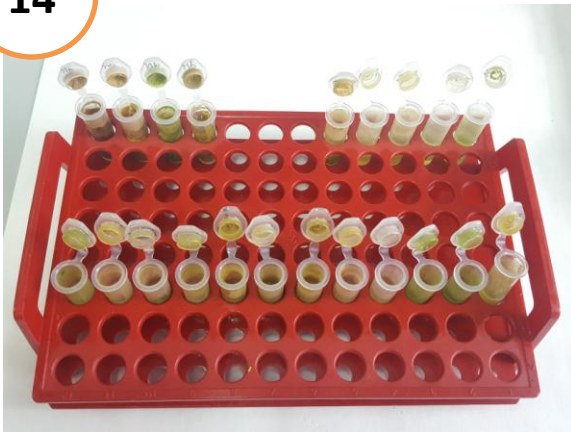
FASE VII

13



Resuspender el sedimento con Tampón-2 (50 mM Tris-HCL pH 8,0; 10 mM EDTA) y se vuelve a centrifugar a 13.000 rpm durante 10 minutos. Temperatura ambiente

14



Transferir el sobrenadante a un nuevo tubo y añadir 75 ul de Acetato Sódico 3M y 500 ul de Isopropanol frío (-20° C). Se mezcla por inversión

FASE VIII

15



*Centrifugar 13.000 rpm. 30 min -
temperatura ambiente*

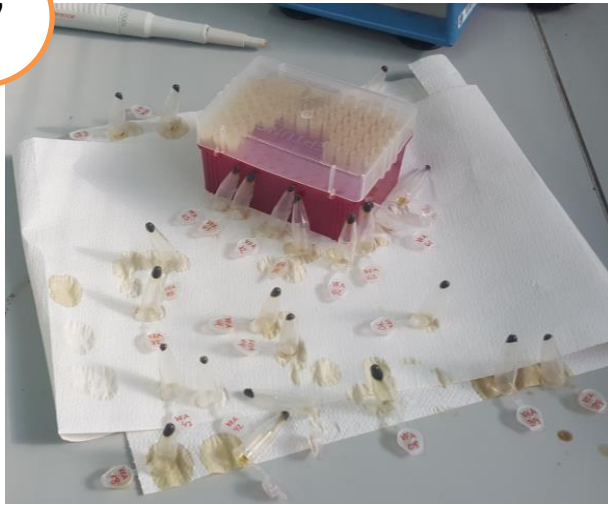
16



*Descartar cuidadosamente el
sobrenadante y lavar el sedimento
con una o dos gotas de etanol al 80%
(5 minutos)*

FASE IX

17



Eliminar el etanol por inversión sobre papel secante y secar el sedimento incubando en estufa a 36°C

18



Resuspender el ADN en 100 μ l de tampón TE (100 mM Tris; 1 mM EDTA)

19



*Almacenar en congelador
a -20° o -80° C*

*El ADN conservado a esta temperatura y en estas condiciones
puede permanecer sin alteración durante un máximo de 12 meses*

Cofinanciado por la Unión Europea. No obstante, las opiniones y puntos de vista expresados son exclusivamente los del autor(es) y no reflejan necesariamente los de la Unión Europea o CINEA. Ni la Unión Europea ni CINEA pueden ser considerados responsables de los mismos.

© *Los autores*



Co-funded by
the European Union





Co-funded by
the European Union

