



Productos Bio-Lógicos®
www.pb-l.com.ar

Bio-Zol | RNA Extraction

Cat N° RA02

Conservación: Conservar entre 4°C y 25°C



Ver la hoja de seguridad:
www.pb-l.com.ar/productos/biozol-arn-total/

Para uso exclusivo en investigación

PELIGRO

PRECAUCIONES

- Este reactivo genera quemadura en la piel.
- En caso de contacto accidental lavar con abundante agua y detergente.
- No inhalar.
- Usar guantes, anteojos protectores y ropa adecuada para su uso.
- Usar tubos de polipropileno o recipientes de vidrio para contener este reactivo.

DESCRIPCIÓN:

Bio-Zol es un reactivo desarrollado para extraer ARN total a partir de células y tejidos (sólidos o líquidos). **Bio-Zol** está optimizado para la obtención de ARN de alta calidad y pureza, libre de contaminación de ADN y proteínas. El ARN obtenido puede ser utilizado para estudios de Northern blot, poly (A)+ *selection*, traducción *in vitro*, RNase *protection*, clonado y retrotranscripción. El procedimiento completo puede ser llevado a cabo en 1 hora. Esta técnica está optimizada tanto para pequeñas cantidades de material de partida (50-100 mg de tejido y 1×10^6 células) como para cantidades mayores (≥ 1 g de tejido y $> 10^7$ células).

PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN DE ARN TOTAL:

1- Homogenización.

Tejidos:

Homogeneizar las muestras en 1 ml de **Bio-Zol** por cada 50-100 mg de tejido. Utilizar homogeneizador de Teflon o equivalente. El volumen de tejido no debe exceder el 10% del volumen de **Bio-Zol** utilizado para la extracción.

Monocapas celulares:

Lisar directamente las células añadiendo 1 ml de **Bio-Zol** en una placa de cultivo de 3.5 cm de diámetro (1 ml cada 10 cm²), pipeteando varias veces el lisado celular. Una cantidad insuficiente de reactivo **Bio-Zol** puede provocar la contaminación del ARN extraído con ADN.

Células creciendo en suspensión:

Agregar 1 ml de **Bio-Zol** al pellet obtenido a partir de $5-10 \times 10^6$ células animales, vegetales o levaduras, o cada 1×10^7 células de bacterias.

Lisar las células pipeteando varias veces el pellet obtenido.

Para llevar a cabo una lisis eficiente de células de levaduras y de bacterias se puede necesitar el uso de homogeneizador.

2- Separación de las fases.

Incubar la muestra homogenizada por 5 minutos a temperatura ambiente para permitir una disociación completa de los complejos nucleoprotéicos. Añadir 0,2 ml de cloroformo por cada 1 ml de **Bio-Zol**. Agitar los tubos vigorosamente por 15 segundos e incubarlos a temperatura ambiente por 2 a 3 minutos. Centrifugar las muestras a 12,000xg durante 10 minutos a 4°C. Luego de centrifugar la mezcla tomar la fase superior donde se encuentra el ARN. Si observa mucha interfase repetir esta etapa de extracción.

3- Precipitación del ARN.

Transferir la fase acuosa a un tubo nuevo. Precipitar el ARN de la fase acuosa mezclándolo con 0,5 ml alcohol isopropílico por cada 1 ml de **Bio-Zol** usado en la homogenización inicial. Incubar 20 min a -20°C y luego centrifugar a 12,000xg durante 10 minutos a 4°C. El precipitado de ARN, generalmente invisible, forma un pellet en la base del tubo.

4- Lavado del ARN.

Remover el sobrenadante. Lavar el pellet de ARN con 1 ml de etanol al 75% por cada 1 ml de **Bio-Zol**. Mezclar la muestra en el vortex y centrifugar a 12000xg durante 5 minutos a 4°C.

5- Resuspensión del ARN.

Secar brevemente el pellet de ARN (al aire por 5 minutos). Es importante no secar completamente el pellet ya que esto provoca la disminución de su solubilidad. Disolver las muestras de ARN en 25 ul de agua libre de RNasa. Conservar la muestra a -70°C.

6- Cuantificación

Cuantificar la cantidad de ARN obtenido por espectrofotometría a 260 nm. Tener en cuenta que 1 unidad de DO = 40 ug/ml.

*En caso de intoxicación con este producto llamar al Centro Nacional de Intoxicaciones 0800-333-0160.