



Preparación de Buffer Tris 10 mM-EDTA 1mM (TE 10:1)

Created: Feb 14, 2008; Last modified: Nov 11, 2008, Version: 1.0

El buffer TE 10:1 es una solución amortiguadora del pH comúnmente empleada en biología molecular, especialmente para procedimientos que buscan proteger al DNA o RNA. La capacidad amortiguadora del buffer depende del Tris, mientras que el EDTA es el responsable de proteger a los ácidos nucleicos inactivando a las DNAsas o RNAsas. El EDTA logra esta inactivación actuando como quelante de cationes divalentes como el Ca^{2+} y el Mg^{2+} los cuales son indispensables para el funcionamiento de las enzimas citadas. El pH del buffer es ajustado con HCl dependiendo del tipo de ácido nucleico que se quiera proteger, siendo el óptimo para RNA de 7.5 mientras que para el DNA es de 8.0.

Procedimiento

1. Prepare 100 mL de Acido Clorhídrico 1M (1M HCl) agregando 8.62 mL de HCl concentrado a 91 mL de dH_2O previamente colocados en un vaso de precipitados de 250 mL. ¡No agregar el agua al ácido! Mezcle en una plancha agitadora magnética durante 5 minutos. Afore a 100 mL con dH_2O .
2. Prepare 100 mL de Hidróxido de Sodio 10M (10M NaOH) agregando 40 g de NaOH a 40 mL de dH_2O previamente colocados en un vaso de precipitados de 250 mL. Mezcle con una barra magnética en una plancha agitadora hasta que el NaOH se haya disuelto por completo. Afore a 100 mL con dH_2O . ¡Precaución, esta reacción es exotérmica!
3. Prepare 1 litro de solución 1M Tris HCl disolviendo 121 grs de Tris Base en 800 mL de dH_2O . Ajuste la solución así formada a un pH de 8.0 con 1M HCl agregandolo gota a gota con una pipeta pasteur limpia y afore a 1 litro. Esta solución se puede esterilizar por filtración a través de unidades de filtración equipadas con membrana de acetato de celulosa de 0.2 μm . Consérvese refrigerada entre 4 y 8°C.
4. Prepare 1 litro de solución 0.5M EDTA pH 8.0 disolviendo 186.1 grs de $\text{Na}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en 700 ml de dH_2O . Ajuste el pH a 8.0 con 10M NaOH (~50 ml) y afore con dH_2O a un litro.
5. Prepare la cantidad necesaria de TE 10:1 1X de acuerdo a la tabla de preparación (ver abajo). Disponga el 80% del volumen requerido de dH_2O en un vaso de precipitados y agregue el volumen requerido de cada uno de los dos componentes.
6. Mezcle en una plancha de agitación magnética durante al menos 5 minutos. Ajuste el pH de la solución a 8.0 añadiendo 1M HCl gota a gota con una pipeta de transferencia limpia y afore al volumen final con dH_2O .





Tabla de preparación

| | Cf 1X | 5ml | 10ml | 50ml | 100ml | 250ml | 500ml | 1000ml |
|-------------------|-------|------------|-------------|-------------|---------|--------|--------|--------|
| 1M TrisHCl | 10 mM | 50 μ l | 100 μ l | 500 μ l | 1 ml | 2.5 ml | 5 ml | 10 ml |
| 0.5M EDTA | 1 mM | 10 μ l | 20 μ l | 100 μ l | 0.2 ml | 0.5 ml | 1 ml | 2 ml |
| dH ₂ O | | 4.94 ml | 9.88 ml | 49.4 ml | 98.8 ml | 247 ml | 494 ml | 988 ml |

Notas

1. El Tris(hidroximetil)aminometano también es conocido por los nombres de tris, TRIS, tris base, trizma, trisamina, THAM, trometamina, trometamol y trometano. Tris-HCl hace referencia a la solución de tris cuyo pH ha sido modificado con HCl. El pH de las soluciones amortiguadoras a base de Tris cambia significativamente con la temperatura, disminuyendo aproximadamente 0.028 unidades de por cada °C por encima de los 25°C. Por ello es necesario ajustar el pH ante fluctuaciones extremas de temperatura ambiental. Como el pK_a del Tris es de 8.08, este no debe usarse para soluciones amortiguadoras con rangosw operacionales por debajo de pH 7.0 o por encima de pH 9.0.
2. Aunque generalmente no es necesario, la solución TE 10:1 puede ser esterilizada en autoclave o por filtración a través de membranas de acetato de celulosa de 0.2 μ m.
3. En caso de que se formase algún precipitado, la solución puede resuspenderse calentandola a 37°C.

Referencias

1. Current Protocols in Molecular Biology, Appendix 2, A.2.5, Supplement 40, Frederick M. Ausubel et al. 2003.
2. Wikipedia contributors. TE Buffer. Wikipedia, The Free Encyclopedia. Jun 08, 2008, at 04:15 UTC. Available at: http://en.wikipedia.org/wiki/TE_buffer
3. Zbio.net Classical and Moleclar Biology. Compound Solutions. Jun 08, 2008, at 05:34 UTC. Available at: http://molbiol.ru/eng/protocol/01_07.html

Revision history

- 1.0 Original document.

