



PB-L
Productos
Bio-Lógicos®

Innovación y Desarrolla en Biotecnología

PURIFICACIÓN DE PLÁSMIDO

Cod: SA00101 (50 reacciones)
SA00102 (100 reacciones)

Principio: Este kit está diseñado para la extracción y purificación plasmídica a partir de cultivos líquidos de *E. coli*. No requiere etapas de extracción orgánica ni precipitación de ADN. La purificación de plásmidos se realiza mediante una columna que contiene una matriz basada en sílica, que permite separar los ácidos nucleicos de las proteínas y restos celulares. Este sistema permite obtener moléculas plasmídicas ultrapuradas en menos de 15 min, listas para ser utilizadas en técnicas de digestión, marcado enzimático, clonado, amplificación por PCR, transcripción *in vitro* y secuenciación

Protocolo: a partir de **1 - 3 ml de cultivo de *E. coli***

1. Recolectar las células mediante centrifugación a 12000 xg durante 1 min y descartar todo el sobrenadante.
2. **(Agregar 150 ul de la solución de RNAsa en la Solución 1)** Resuspender las células en **250 uL de Solución 1** y homogeneizar con vortex hasta que todo el pellet esté bien disgregado.
3. Agregar **250 uL de Solución 2** y homogeneizar suavemente mediante repetidas inversiones del tubo. La suspensión debe tornarse completamente transparente. No incubar durante más de 5 min. con la Solución 2.
4. Agregar **350 uL de Solución 3** y homogeneizar por inversión inmediatamente. Verificar la formación de abundante precipitado de color blanco.
5. Centrifugar a 12.000 xg durante 10 min y transferir el sobrenadante a la columna de purificación, evitando arrastrar restos del precipitado blanco.
6. Centrifugar la columna de purificación a 8.000 xg durante 30 segundos, descartar el filtrado y volver a colocar la columna en el tubo recolector.
7. Agregar **750 uL de Solución 4 (verificar el agregado de Etanol 96% según especificaciones)** y centrifugar a 8.000 xg durante 30 seg., descartar el filtrado y volver a colocar la columna en el tubo recolector.
8. Centrifugar a 12.000 xg durante 1 minuto para eliminar todo resto de Solución 4.
9. Colocar la columna en un microtubo de 1,5 ml estéril, agregar **50 µl de Solución 5** y centrifugar a 8,000 xg durante 1 min. El ADN recuperado puede ser almacenado a -20 °C o utilizado en el momento.

Rendimiento

A partir de 1 - 3 ml de cultivo líquido de *E. coli*, conteniendo un plásmido de alto número de copias, se obtiene hasta 20 ug de ADN plasmídico, libre de ARN, proteínas, sales y otros contaminantes.

Almacenamiento

Almacenar a temperatura ambiente todos los componentes del kit excepto la Solución 1 con **Ribonucleasas** que se recomienda almacenar a 4 °C.

Nota: Almacenar la Solución 2 a menos de 10°C genera la precipitación del SDS. En caso de observar precipitado incubar a 65°C durante 10 min .

Componentes incluidos

	Función
Solución 1 (15 ó-30 ml)	Resuspensión, adición de Ribonucleasa
Solución 2 (15 ó 30 ml)	Lisis alcalina
Solución 3 (20 ó 40 ml)	Neutralización, precipitación de ADN genómico y proteínas.
Solución 4 (10 ml + 30 ml de Etanol 96% ó 20 ml+ 60 ml de Etanol 96%)	Lavado de contaminantes y sales
Solución 5 (3 ó 6 ml)	Elución del ADN
Columnas (50 ó 100 Unidades)	Purificación
Tubos de descarte (50 ó 100)	Descarte

Componentes no incluidos

Micropipetas
Microcentrifuga con velocidad mínima de 5000 Xg
Microtubos de 1, 5 ml estériles

Limitaciones de uso

Este producto ha sido diseñado, desarrollado y comercializado para su uso exclusivo en el área de investigación. El producto no fue desarrollado para su uso en el área de diagnóstico o desarrollo de drogas, tampoco para su
versión 1.0