



PB-L
Productos
Bio-Lógicos®

Innovación y Desarrollo en Biotecnología



Universidad Nacional
de Quilmes

PURIFICACIÓN DE ADN A PARTIR DE PRODUCTOS DE PCR

Cod: SA00401 (50 reacciones)
SA00402 (100 reacciones)

Principio: Este kit incluye todos los componentes necesarios para extraer y purificar fragmentos de ADN obtenidos mediante amplificación por PCR, reacciones de digestión o modificación enzimática. **IMPORTANTE:** ANTES DE UTILIZAR EL BUFFER B, AGREGAR ETANOL 96% (NO INCLUIDO) SEGÚN LA ESPECIFICACIÓN DE LA BOTELLA.

Protocolo: Purificación de fragmentos de ADN

1. Preparación de la muestra

Agregue 3 volúmenes del BUFFER A por cada volumen de de reacción y mezcle bien. (Si parte de menos de 10 ul de reacción llevar con agua hasta 50 ul final)

2. Unión del ADN

Coloque la columna en un tubo colector de 2 ml. Cargue la columna con la solución obtenida en el paso 1. Centrifugue 30 segundos a 11000 x g, y deseche el filtrado. Coloque la columna nuevamente en su tubo colector.

3. Lavado

Agregue 750 µl de BUFFER B a la columna. Centrifugue 30 segundos a 11000 x g, y descarte el filtrado. Coloque la columna nuevamente en el Tubo Colector

4. Secado de la membrana

Para eliminar los restos del BUFFER B centrifugue la columna 1 min a 11000 x g. Asegúrese que no queden restos del buffer.

5. Elución

Coloque la columna en un tubo de 1,5 ml estéril. Agregue 15 - 50 µl de BUFFER C **directamente sobre la membrana de la columna**. Incube 1 min a temperatura ambiente. Centrifugue 1 min a 11000 x g. El eluato contiene el ADN purificado.

El rendimiento de fragmentos de ADN > 5 kpb incrementa utilizando el BUFFER C previamente calentado a 70 ° C.

Rendimiento

A partir de las especificaciones del kit se obtienen porcentajes de recuperación de los fragmentos purificados mayores al 90%. Para fragmentos mayores a 5 kpb el porcentaje de recuperación puede variar (ver protocolo). El producto obtenido es apto para ser utilizado en la mayoría de las metodologías de biología molecular

Almacenamiento

Almacenar a temperatura ambiente todos los componentes del kit, lejos de sustancias químicas peligrosas y fuentes de polvo.

Componentes incluidos

Componentes	Función
Solución A (15 ó-30 ml)	Resuspensión
Solución B (8 ml + 32 ml de EtOH 96%) ó 16 ml + 64 ml de EtOH 96%)	Lavado de contaminantes y sales
Solución C (5 ó 10 ml)	Elución del ADN

Componentes no incluidos

Micropipetas

Microcentrifuga con velocidad mínima de 10000 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 administración en animales o humanos.