



PB-L
Productos
Bio-Lógicos®

Innovación y Desarrolla en Biotecnología



Universidad Nacional
de Quilmes

PURIFICACIÓN DE ADN A PARTIR DE GELES DE AGAROSA

Cod: SA00201 (50 reacciones)
SA00202 (100 reacciones)

Principio: Este kit incluye todos los componentes necesarios para extraer y purificar fragmentos de ADN a partir de geles de agarosa.
IMPORTANTE: ANTES DE UTILIZAR EL BUFFER B, AGREGAR ETANOL (NO INCLUIDO) SEGÚN LA ESPECIFICACIÓN DE LA BOTELLA.

Protocolo: A partir de geles de agarosa

1. Obtención de la banda del gel

Corte el taco del gel con ayuda de un bisturí o una cuchilla estéril, e introdúzcalo en un tubo de 1,5 ml (no incluido). Minimice al máximo el tamaño del taco de agarosa. Determine el peso del taco obtenido.

2. Disolución del gel

Por cada 100 mg de gel de agarosa obtenido agregue 300 µl de BUFFER A. Para geles de porcentaje de agarosa > 2%, duplique el volumen de BUFFER A. Incube a 55 °C hasta que no visualice restos del gel (5-10 min). Utilice vortex cada 2-3 min para optimizar la disolución completa del gel.

3. Unión del ADN:

Coloque la columna en un tubo colector de 2 ml. Cargue la columna con la solución obtenida en el paso 2. Centrifugue 1 min a 11000 x g, y deseche el filtrado. Coloque la columna nuevamente en su tubo colector. En algunos casos será necesario realizar este paso dos veces para cargar el volumen total obtenido en el paso .

4. Lavado

Agregue 750 µl de BUFFER B a la columna. Centrifugue 1 min a 11000 xg, y descarte el filtrado. Coloque la columna nuevamente en el Tubo Colector

5. Secado de la membrana

Para eliminar los restos del BUFFER B centrifugue la columna 2 min. a 11000 x g. Asegurese que no queden restos del buffer.

6. 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 65 °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, 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.