



PURO | Genomic DNA

Purificación de ADN genómico a partir de
sangre entera, cultivo celular o tejidos



PB-L
Productos
Bio-Lógicos®

Innovación y Desarrollo en Biotecnología

PURO| Genomic DNA

Cat. no. SA05

Contenido del Kit:

Contenido	SA0501 50 reac.	SA0502 100 reac.	SA0503 200 reac.
Solución GL	15 ml	30 ml	60 ml
Solución GA	15 ml	30 ml	60 ml
Solución GB	6 ml (+ 24 ml de EtOH 96%)	12 ml (+ 48 ml de EtOH 96%)	24 ml (+ 96 ml de EtOH 96%)
Solución GC	20 ml	40 ml	80 ml
Proteinasa K (20 mg/ml)	1 ml	2 × 1 ml	4 × 1 ml
Columnas + Tubos de recolección 2 ml - Libre de nucleasas	50	100	2 x 100
Manual	1	1	1

Equipamiento y reactivos adicionales requeridos

- Buffer fosfato salino (PBS)
- Microcentrífuga
- RNasa A (10 mg/ml)

Almacenamiento

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

Para una óptima conservación durante periodos prolongados, conservar la Proteinasa K a -20°C

Rendimiento

Material de partida	Rendimiento
Sangre total de mamífero (100 µl-400 µl)	3-10 µg
Cultivo celular (10^6 - 10^7 células)	5-30 µg
Tejido (30 mg)	10-30 µg

Garantía de satisfacción

Productos Bio-lógicos garantiza el correcto funcionamiento de sus productos al ser utilizados según la descripción que se indica en el manual del usuario correspondiente.

Es responsabilidad del usuario determinar la conveniencia del producto para su uso particular.

En el caso de no obtener un correcto funcionamiento del producto por cualquier otra razón que no sea el uso erróneo, Productos Bio-lógicos repondrá sin cargo el producto o devolverá el monto del producto.

En el caso de que el producto no cumpla sus expectativas o tenga dudas respecto de su funcionamiento, comuníquese con el área de servicio técnico, serviciotecnico@pb-l.com.ar.

Controles de calidad

Los productos de Productos Bio-lógicos han sido sometidos a estrictos controles de calidad para satisfacer los requerimientos de nuestros clientes.

Manejo de las columnas de purificación

Para la correcta performance de las columnas de purificación, y para evitar contaminación cruzada entre productos se recomienda:

- Incorporar la muestra a la columna de purificación sin tocar con el tip la resina.
- Si el volumen a incorporar a la columna es menor a 100 µl, tenga la precaución de depositarlo en el medio del anillo que sostiene la resina.
- Cambiar el tip de uso entre muestras.
- Para evitar la contaminación cruzada, recomendamos centrifugar brevemente los tubos luego de cada agitación con vortex, de esta manera se eliminan las gotas en la tapa del tubo.
- Siempre cerrar la tapa de las columnas de purificación antes del paso de centrifugación.
- Utilizar guantes en todo momento. Si el guante entra en contacto con alguna muestra, descartarlos.
- Abrir una columna de purificación a la vez, evitando la generación de aerosoles y la contaminación cruzada de muestras.

Recomendaciones de uso

1. Se debe evitar la congelación y descongelación repetida de las muestras almacenadas, ya que esto reduce el tamaño de las moléculas de ADN genómico.
2. Si se observa un precipitado en la **solución GA** caliente la solución a 50-60 °C hasta que el precipitado se haya disuelto por completo.
3. Todos los pasos de centrifugación deben llevarse a cabo en una microcentrífuga de mesa convencional a temperatura ambiente (15-25 °C).

Este producto está desarrollado únicamente para investigación, no para diagnóstico o tratamiento de enfermedades, ni para comida, cosméticos, etc.

Información de seguridad



Solución GA



Proteinasa K

Introducción

El sistema PURO Genomic DNA está basado en la tecnología de membranas de sílica junto a un sistema de soluciones que permite lisar las células y obtener el ADN genómico puro. Las columnas que incluyen el kit pueden unir ADN de manera selectiva respecto a otros componentes celulares. Mediante un proceso simple de centrifugación se eliminan por completo los contaminantes e inhibidores enzimáticos, como proteínas, cationes divalentes u otros. El ADN purificado se eluye en una solución buffer de baja salinidad o agua, listo para su uso en aplicaciones posteriores.

El ADN purificado mediante *PURO Genomic DNA* es de alta calidad recomendado para PCR en tiempo real, análisis de restricción enzimática, PCR, secuenciación, *Southern blot*, etc.

Protocolo

Asegúrese de que la Solución GB se haya preparado con el volumen apropiado de etanol (96-100%), como se indica en la botella y agite bien.

1. **a)** Para muestras de **sangre**, agregar 200 µl de sangre entera al tubo de microcentrífuga. Si el volumen de muestra es inferior a 200 µl, completar el volumen agregando PBS 1X (buffer salino fosfato).
b) Para **cultivo celular**, cosechar 5×10^6 células y centrifugar durante 5 min a 500 xg en un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml. Eliminar el medio y volver a resuspender el pellet celular en 200 µl de PBS.
c) Para muestra de **tejido**, cortar hasta 25 mg de tejido (o hasta 10 mg de bazo) en trozos pequeños, colocarlos en un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml, y centrifugar a 12,000

rpm ($\sim 13,400 \times g$) durante 1 minuto, luego descartar el sobrenadante y volver a resuspender el pellet de tejido en **180 μ l de Solución GL**. Agregar **20 μ l de Proteinasa K** (20 mg/ml), mezclar con vórtex e incubar a 56 °C hasta que el tejido sea completamente lisado. **Continuar con el paso 3.**

Nota: El tiempo de lisis varía dependiendo del tipo de tejido procesado. La lisis suele completarse en 1-3 horas. También puede realizarse la lisis durante la noche.

Opcional: Tratamiento de la muestra con RNasa. Añada 4 μ l de RNasa A (10 mg/ml), mezcle por vórtex e incube durante 5 minutos a temperatura ambiente (15-25 °C).

2. Agregar **20 μ l de Proteinasa K** (20 mg/ml), mezclar con vórtex.
3. Agregar **200 μ l de Solución GA** a la muestra, mezclar bien con vortex e incubar a 60 °C durante 15 min para obtener una solución homogénea. Centrifugar brevemente 5 segundos (*spin down*) el tubo de microcentrífuga de 1,5 ml para eliminar las gotas del interior de la tapa.

Nota: no agregar la Proteinasa K directamente a la Solución GA.

4. Agregar **200 μ l de etanol** (96-100%) a la muestra, y mezclar bien con vórtex durante 15 segundos.

Nota: en ocasiones puede formarse un precipitado al agregar etanol. Si observa la presencia de precipitado, centrifugar durante 5 min a 12.000 rpm.

5. Transferir la mezcla del paso 4 a la columna con la membrana de sílica (armada con el tubo colector de 2 ml) y centrifugar a 12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$) durante 30 segundos. Desechar el eluato y colocar la columna nuevamente en el tubo colector.

6. Agregar **500 µl de Solución GB** (preparado con el volumen apropiado de etanol 96-100%) a la columna, y centrifugar a 12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$) durante 30 segundos, luego desechar el eluato y colocar la columna en el tubo colector.
7. Centrifugar a 12,000 rpm ($13,000 \times g$) por 2 min para secar completamente la membrana.

Nota: residuos de etanol en la columna pueden afectar los resultados obtenidos en aplicaciones posteriores.

8. Colocar la columna de centrifugación en un nuevo tubo de microcentrifuga de 1,5 ml limpio y agregar **50-200 µl de Solución GC o agua destilada (precalentada a 60 °C)** directamente en el centro de la membrana. Incubar a temperatura ambiente (15-25 °C) durante 2-5 min, y luego centrifugar durante 2 min a 12,000 rpm ($13,000 \times g$).

Nota: si el volumen de la Solución de elución es menor a 50 µl, puede afectar el rendimiento de recuperación. El pH de la solución de elución debe estar pH 7,0-8,5 para obtener rendimientos máximos. Sugerimos utilizar la Solución GC o agua destilada (pH 7,0-8,5) para eluir el ADNg. Para el almacenamiento a largo plazo del ADNg, se recomienda la elución en Solución GC y el almacenamiento a -20 °C, ya que el ADN almacenado en agua podría estar sujeto a hidrólisis ácida.

