

Kit Purificación DNAG en Minicolumna

Cat. No. MBL061 (50rxn)

Cat. No. MBL062 (250rxn)

Versión: 04/2009

Principio: El DNA total (genómico, viral, mitocondrial) de simple o doble cadena se une a la matriz de sílica en presencia de altas concentraciones de guanidinio como sal caotrópica.

Componentes del kit y almacenamiento: Columnas minispín, proteinasa K, Buffer L (lisis), Buffer W1 y W2 (lavado) y buffer EB (elución). Almacenar a temperatura ambiente. El funcionamiento del kit está garantizado por 12 meses a partir de la fecha de compra.

Información adicional: 13000 rpm son 17900g en una centrifuga de mesa estándar.



- Compruebe que ha añadido etanol (96-100%) al buffer W2 según indica el bote.
- Almacenar el vial de proteinasa K a 4°C.
- Use bata de laboratorio y guantes.

Protocolo:

1. **Añadir en un vial de 1,5 mL, 200 µL de muestra** (sangre total, plasma, suero, 5·10⁶ linfocitos en PBS o células en cultivo).
Si el volumen de muestra es menor que 200 µL ajustar el volumen con PBS. Si por el contrario, es mayor a 200 µL (y no mayor a 400 µL) escalar los volúmenes de proteinasa K y de buffer de lisis, pero no escalar W1 y W2.
2. **Añadir 20 µL de proteinasa K.**
3. **Añadir 200 µL de Buffer L** a la muestra y **mezclar 15 segundos con vortex.**
4. Incubar a **56°C** durante **10 minutos.**
5. Centrifugar brevemente a 13000 rpm y **añadir 200 µL de etanol** (96-100%) a la muestra. **Mezclar por vortex 15 segundos.**
6. Centrifugar brevemente a 13000 rpm y **añadir la mezcla a la columna minispín.**
7. **Centrifugar a 8000 rpm** durante **1 minuto.**
8. Colocar la columna minispín en un vial limpio de 2 mL y **añadir 500 µL de buffer W1.**
Centrifugar a 8000 rpm durante **1 minuto.**
9. Colocar la columna minispín en el vial de 2 mL, **añadir 500 µL de buffer W2** y **centrifugar a 13000 rpm** durante **3 minutos. Eliminar el eluato.**
10. Colocar la columna minispín en el vial de 2 mL y **centrifugar nuevamente a 13000 rpm** durante **1 minuto** para eliminar los restos de etanol.
11. Para eluir el DNA, colocar la columna minispín en un vial limpio de 1,5 mL y **añadir 200 µL de buffer EB o H₂O. Incubar a temperatura ambiente** durante **1 minuto.**
12. **Centrifugar a 8000 rpm** durante **1 minuto.**

CONTENIDO DEL KIT

COMPONENTES	MBL061 (50rxn)	MBL062 (250rxn)
Columna minispín	50	250
Buffer L	10 mL	50 mL
Proteinasa K	1 mL	5x (1 mL)
Buffer W1	25 mL	125 mL
Buffer W2	25 mL	125 mL
Buffer EB	15 mL	50 mL

Nota: El volumen del buffer W2, corresponde al volumen final una vez añadido el volumen de etanol que señala el bote.