

Kit Purificación DNA genómico

Cat. No. MBL243 (150 reacciones)

Conservar a 25°C

Versión 02/2007

Principio: El protocolo incluye los siguientes pasos: lisis, precipitación de proteínas, precipitación alcohólica del DNA, lavado e hidratación. La lisis que se lleva a cabo con este kit permite una excelente purificación del DNA genómico de muestras de sangre y de todas aquellas células que carecen de pared celular.

Componentes y almacenamiento: El kit incluye buffer S1, S2, S3 y EB. Almacenar a temperatura ambiente. El funcionamiento del kit está garantizado por 12 meses a partir de la fecha de compra.

Protocolo

- Si la muestra de partida es sangre congelada, descongelarla a 37°C rápidamente. A 200 µL de sangre total añadir 600 µL de buffer S1.** Mezclar por inversión e incubar entre 1-3 min a temperatura ambiente.
- Centrifugar a 13000 rpm durante 20 seg** y eliminar el sobrenadante con pipeta dejando entre 10-20 µL de líquido residual. Dar vortex vigoroso durante 20 segundos para resuspender el pellet.
Es importante resuspender bien el pellet antes de añadir el buffer S2
- Añadir 200 µL de buffer S2** y resuspender el pellet mediante pipeteo hasta que la solución sea homogénea.
Solo si aparecen grumos en el lisado anterior, incubar a 37°C hasta que desaparezcan (1-2 h).
- Añadir 67 µL de buffer S3 al lisado** y mezclar vigorosamente con vortex 20 seg.
- Centrifugar a 13000 rpm durante 1 min** (se forma un pellet marrón; si no se forma un buen pellet incubar en hielo 5 min y repetir la centrifugación)
- Transferir el sobrenadante a un vial limpio de 1,5 mL que contenga 200 µL de isopropanol.** Mezclar por inversión suave 50 veces.
- Centrifugar a 13000 rpm durante 1 min** y eliminar el sobrenadante. El DNA debe aparecer como un pellet blanco.
- Añadir 200 µL de Etanol 70%** y centrifugar a 13000 rpm durante 1 min. Eliminar el sobrenadante. Secar el pellet con el tubo invertido sobre un papel absorbente.
- Añadir 65 µL de Buffer EB o H₂O y resuspender con pipeta.** Si el DNA no se resuspende fácilmente es aconsejable incubar el pellet en el buffer EB a 37°C durante 1-2 horas antes de resuspender con pipeta. Almacenar el DNA a -20°C.

Rendimiento esperado: 3-6µg de DNA/200µL de sangre total

Pureza esperada: relación Abs 260/280 aprox. 1,8

CONTENIDO DEL KIT

COMPONENTES	MBL243 (150rxn)
Buffer S1	100 mL
Buffer S2	36 mL
Buffer S3	12 mL
Buffer EB	9 mL