

Kit MBL-Agarosa QuickClean

Cat. No. MBL070 (50rxn)
Cat. No. MBL071 (150rxn)

Almacenar a 25°C

Versión 04/2009

Principio: El DNA se une a la matriz de sílica en presencia de altas concentraciones de tiocianato de guanidinio como sal caotrópica, la cual también ayuda a disolver la agarosa. El protocolo incluye extracción del DNA de la agarosa, su unión a la membrana de sílica, lavado y elución lo cual puede ser completado en 20 minutos.

Información adicional: Use bata de laboratorio y guantes. El Buffer QG contiene tiocianato de guanidinio que es nocivo por inhalación, por ingestión o en contacto con la piel.

Nota: 13000rpm son 17900g en una centrífuga de mesa estándar.

Protocolo

- Cortar el fragmento de DNA-gel** con bisturí eliminando la máxima cantidad de agarosa posible. **Pesar el fragmento** en un vial de 1,5 mL.
- Añadir 3 µL de Buffer QG*** por cada **mg de gel** (ej: a 100 mg de gel le corresponden 300 µL de buffer QG).
** Para geles al 2% añadir 6 µL de buffer QG por cada mg de gel.*
- Incubar a 50°C en un baño durante 10 min** o hasta que el gel se disuelva totalmente. Mezclar con vortex durante uno o dos min en el transcurso de la incubación para ayudar a disolver el gel.
Muy Importante: para fragmentos menores de 500pb y mayores de 4 Kb añadir un volumen de isopropanol una vez fundido el gel en el buffer QG y mezclar. (Ej: si partimos de 100 mg de gel añadir 100 µL de isopropanol).
- Añadir la mezcla del paso anterior a la columna minispín insertada en el vial de 2 mL.** Cuando el volumen de dicha mezcla supere los 750 µL dividirla a la mitad y centrifugar primero una parte y después la otra.
- Centrifugar durante 1 min a 13000 rpm.**
 Compruebe que ha añadido etanol (96-100%) al buffer PE según indica el bote.
- Eliminar el eluato** y colocar la columna minispín en el vial de 2 mL. **Añadir 700 µL de Buffer PE** a la columna minispín. **Centrifugar durante 1 min a 13000 rpm.**

- Eliminar el eluato y centrifugar nuevamente durante 1 min** para eliminar los restos de buffer PE.
- Colocar la columna minispín en un vial de 1,5 mL.**
- Para eluir el DNA, **añadir 30 µL de Buffer EB o H₂O** (con pH=7,0-8,5) en el centro de la columna minispín. **Esperar 1 min y centrifugar durante 1 min a 13000 rpm.**

Nota: Para incrementar la recuperación del DNA eluído calentar el buffer EB o H₂O a 65° C antes de añadirlo a la columna.

CONTENIDO DEL KIT

COMPONENTES	MBL070 (50rxn)	MBL071 (150rxn)
Columna minispín	50	150
Buffer QG	40 mL	(3x40 mL)
Buffer PE	56,25 mL	(2x56,25 mL)
Buffer EB	9 mL	9 mL

Nota: El volumen del Buffer de lavado PE, corresponde al volumen final una vez añadidos los 45 mL de etanol/bote.