

Kit Purificación Estándar de Plásmidos

Cat. No. MBL048 (100 reacciones)

Cat. No. MBL049 (150 reacciones)

Versión: 04/2009

Principio: El DNA de simple o doble cadena se une a la matriz de sílica en presencia de altas concentraciones de sales de guanidinio. Este protocolo permite purificar hasta 10 µg de DNA de un plásmido de alto número de copias.

Componentes del kit, almacenamiento y pasos previos:

El kit contiene RNAsa, Buffer S-I, buffer S-II, buffer S-III, buffer de unión, buffer de lavado y buffer EB.

La solución de RNAsa A debe ser almacenada a -20°C y añadida al Buffer S-I. Esta solución con RNAsa A debe ser almacenada a 4°C.

Añadir al Buffer de Lavado la cantidad de etanol que indica la etiqueta del bote.

Protocolo

1. **Recoger 1,5 mL de cultivo en un vial y centrifugar a 13 000 rpm (18 000g), 2 min.** Si trabaja con un plásmido de bajo número de copias recoger 3 mL de cultivo y emplear 2 volúmenes de cada solución.
2. Añadir **100 µL de Buffer S-I** y resuspender.
3. Añadir **100 µL de Buffer S-II** y mezclar por **inversión suavemente** 6 veces.
4. Añadir **100 µL de Buffer S-III** y mezclar por **inversión suavemente** 8 veces.
5. **Centrifugar a 13 000 rpm, 10 min** y **recuperar el sobrenadante** en un tubo limpio.
6. Añadir **500 µL de Buffer de Unión**. Mezclar por inversión varias veces. Dejar a temperatura ambiente 2 minutos.
7. **Añadir la mezcla obtenida en el paso 6** a la columna DNA prep.
8. **Centrifugar a 5500 rpm (9500g), 90 segundos.**
9. Añadir la cantidad de etanol que indica el bote al Buffer de Lavado. Añadir a la columna **700 µL de Buffer de Lavado y centrifugar a 5500 rpm, 90 segundos**. Eliminar el eluato.
10. Colocar la columna nuevamente en el vial y añadir **500 µL de isopropanol puro**.
11. **Centrifugar a 5500 rpm, 90 segundos. Eliminar el eluato.**
12. Para eliminar los restos de isopropanol, **centrifugar a 13 000 rpm, 90 segundos**.
13. Colocar la columna en un vial limpio y añadir en el centro de la matriz **50-60 µL de buffer EB o agua precalentada a 65°C. Dejar en reposo 1 minuto. Centrifugar a 13 000 rpm, 1 min.**

CONTENIDO DEL KIT

COMPONENTES	MBL048 (100 rxn)	MBL049 (150 rxn)
RNAsa A	160 uL	160 uL
Buffer S-I	16 mL	16 mL
Buffer S-II	16 mL	16 mL
Buffer S-III	16 mL	16 mL
Buffer de unión	50 mL	75 mL
Buffer de Lavado	75 mL	112,5 mL
Buffer EB	9 mL	9 mL
Columna Minispin	100	150

Nota: El volumen de Buffer de Lavado, corresponde al volumen final una vez añadidos los 60 mL de etanol/bote para kits de 100 rxn y 90 mL de etanol/bote para los kits de 150 rxn.