

Kit de extracción de ADN genómico

características

- Alta recuperación de ADN genómico.
- Protocolo corto y escalable.
- El ADN purificado es adecuado para NGS, PCR, secuenciación con bisulfito, etc.

Descripción

El kit de extracción de ADN genómico proporciona un método simple y rápido para el aislamiento de ADN genómico a partir de una amplia variedad de materiales, incluidas células cultivadas, tejidos, sangre entera, plasma, suero, y fluidos corporales. En lugar de usar proteinasa K para digerir los materiales biológicos, el kit utiliza un buffer de lisis de aplicación directa a las células o tejidos. Después de su homogeneización, los lisados se transfieren a las columnas de unión. Por lo tanto, se eliminan los largos pasos de preparación del material. La matriz de unión en la columna permite una alta eficiencia y unión específica del ADN, mientras que el ARN, las proteínas y otros componentes celulares son eliminados durante el lavado. El ADN purificado se puede usar directamente para la mayoría de las aplicaciones, como PCR, transferencias (southern, northern), secuenciación y digestión con enzimas de restricción.

Contenido

Se proporcionan todos los reactivos necesarios para el aislamiento de ADN genómico de muestras. Contiene suficientes reactivos para aislar ADN genómico de 50 muestras en volúmenes de 10-30 mg de tejido, 1×10^6 células y 100-200 ul de sangre, suero o plasma por muestra.

Componente	Cantidad	Almacenamiento
Columnas de DNA	50	Temperatura ambiente
Buffer de lisis GD	60 mL	Temperatura ambiente
Buffer de lavado de DNA	12 mL	Temperatura ambiente
Buffer de elución de DNA	10 mL	Temperatura ambiente
Tubos de colección	50	Temperatura ambiente

PRECAUCIÓN: el buffer de lisis GD contiene sales caotrópicas. Use guantes cuando maneje esta solución.

Almacenamiento y Estabilidad

Los componentes del kit de extracción de ADN genómico están garantizados por al menos 12 meses a partir de la fecha de compra.

Control de calidad

Cada componente ha sido analizado para verificar su pureza y funcionalidad.

Especificaciones

- Tejido y células: hasta 30 mg de tejidos o $1-5 \times 10^6$ células pueden ser procesadas usando el kit.
- Tamaños de ADN: con este kit se pueden purificar fragmentos de hasta 40 kb de ADN. la pureza del ADN esperada (A260/A280) debe ser ≥ 1.8
- El rendimiento de ADN depende de los materiales biológicos utilizados. Hasta 30 microgramos de ADN genómico puede ser eluido con este kit.

Notas importantes

- Se recomienda encarecidamente que se familiarice con todo el manual antes de empezar.
- Agregue β -mercaptoetanol al tampón de lisis al 1% (v/v) antes
- usar, luego almacene el tampón a 4°C.
- Agregue 48 mL de etanol al 100 % de etanol al buffer de lavado de ADN.
- Precaliente el buffer de elución a 70 °C para aumentar el rendimiento.

Materiales suministrados por el usuario

- Homogenizador.
- etanol al 100%.
- Tubos de microcentrífuga de 1,5 ml.
- Microcentrífuga de alta velocidad.

Protocolo para tejidos

1. Preparación del tejido y lisis
 - Empleando el homogeneizador: use una cuchilla para cortar tejido, pese de 10-30 mg de tejido (humano o animal) y transfíralo a un microtubo de 1.5 mL, añada 500 μ l de buffer de lisis (con β -mercaptoetanol añadido), homogeneizar el tejido según las instrucciones del fabricante del homogenizador.
 - Utilizando Nitrógeno líquido: coloque inmediatamente el tejido pesado en nitrógeno líquido, retírelo de este y tritúrelo con un mortero y su mano. Vierta el polvo de tejido y nitrógeno líquido en un microtubo de 1.5 ml. Permita que el

nitrógeno líquido se evapore, pero no deje que el tejido se descongele. Agregue 500 μl de buffer de lisis y homogenice absorbiendo y expulsando la solución mediante una jeringa (calibre 20).

- Tejido lisado mediante proteinasa K: prepare la lisis del tejido a un volumen de hasta 125 μl , agregue 500 μl de buffer de lisis y mezcle bien.
2. Centrifugue el lisado tisular a 11,000 rpm durante 5 min. Transfiera el sobrenadante a una columna de unión de DNA genómico. No resuspenda el sedimento durante la transferencia. Una vez transferido todo el sobrenadante, centrifugue a 11,000 rpm durante 30-60 seg. Deseche el flujo de la columna.
 3. Agregue 400 μl de buffer de lisis a la columna, centrifugue a 11,000 rpm durante 30-60 seg. Deseche el flujo de la columna.
 4. Agregue 700 μl de buffer de lavado de ADN a la columna, centrifugue a 11,000 rpm durante 30-60 seg. Deseche el flujo de la columna. Asegúrese que se agregó el etanol (100%) al buffer de lavado como se indica antes de su uso.
 5. Centrifugue 30-60 segundos adicionales a 11,000 rpm. es fundamental para eliminar el etanol residual para una elución óptima. El etanol residual puede interferir en aplicaciones posteriores.
 6. Coloque la columna de ADN en un microtubo nuevo de 1.5 mL. Agregue 50-100 μl de buffer de elución de ADN precalentado (baño de agua a 70 °C) o agua libre de nucleasas al centro de la columna, incube durante 1 min, centrifugue a 11,000 rpm durante 30-60 seg para eluir el ADN.

El ADN purificado es estable en tampón de elución o agua si se almacena a -20°C o inferior.

Protocolo para células

1. Preparación de las células y lisis
 - Células adherentes: realice un raspado de $1-5 \times 10^6$ células de un cultivo o placa, sedimente las células por centrifugación. Eliminar por completo el sobrenadante por aspiración mediante una micropipeta.
 - Células en suspensión: sedimentar $1-5 \times 10^6$ células por centrifugación. Elimine completamente el sobrenadante por aspiración mediante una micropipeta.
 - Agregue 500 μl de buffer de lisis, agite mediante vórtex para resuspender el sedimento celular. Homogenice el lisado pasándolo a través de una jeringa con aguja de calibre 20 al menos 5 veces.

2. Transfiera el lisado homogenizado a una columna de unión de DNA genómico. Centrifugue a 11,000 rpm durante 30-60 seg. Descarte el flujo de la columna.
3. Agregue 400 µl de buffer de lisis a la columna, centrifugue a 11,000 rpm durante 30-60 seg. Deseche el flujo de la columna.
4. Agregue 700 µl de buffer de lavado de ADN a la columna, centrifugue a 11,000 rpm durante 30-60 seg. Deseche el flujo de la columna. Asegúrese que se agregó el etanol (100%) al buffer de lavado como se indica antes de su uso.
5. Centrifugue 30-60 segundos adicionales a 11.000 rpm. Es fundamental para eliminar el etanol residual para una elución óptima. El etanol residual puede interferir en aplicaciones posteriores.
6. Coloque la columna de ADN en un microtubo nuevo de 1.5 mL. Agregue 50-100 µl de buffer de elución de ADN precalentado (baño de agua a 70 °C) o agua libre de nucleasas al centro de la columna, incube durante 1 min, centrifugue a 11,000 rpm durante 30-60 seg para eluir el ADN.

El ADN purificado es estable en tampón de elución o agua si se almacena a -20°C o inferior.

Protocolo para sangre, suero y plasma

El protocolo se utiliza para purificar el ADN genómico de 100 a 200 µl de sangre, suero o plasma. Sangre entera en fresco, congelada o conservada (como en EDTA, heparina) se pueden utilizar también. Si las muestras no pueden ser procesadas inmediatamente, las muestras se pueden conservar a 4°C o -20°C después de la adición de tampón de lisis.

1. Añada 500 µl de tampón de lisis a los 100 µl de sangre entera, suero o plasma, mezcle completamente mediante vortex durante 5 segundos, incube durante 5 minutos.
2. Transfiera el lisado a una columna de unión de DNA genómico. Centrifugar a 11,000 rpm durante 30-60 seg. Deseche el flujo de la columna.
3. Agregue 400 µl de buffer de lisis a la columna, centrifugue a 11,000 rpm durante 30-60 seg. Deseche el flujo de la columna.
4. Agregue 700 µl de buffer de lavado de ADN a la columna, centrifugue a 11,000 rpm durante 30-60 seg. Deseche el flujo de la columna. Asegúrese que se agregó el etanol (100%) al buffer de lavado como se indica antes de su uso.
5. Centrifugue 30-60 segundos adicionales a 11.000 rpm. Es fundamental para eliminar el etanol residual para una elución óptima. El etanol residual puede interferir en aplicaciones posteriores.

6. Coloque la columna de ADN en un microtubo nuevo de 1.5 mL. Agregue 50-100 μ l de buffer de elución de ADN precalentado (baño de agua a 70 °C) o agua libre de nucleasas al centro de la columna, incube durante 1 min, centrifugue a 11,000 rpm durante 30-60 seg para eluir el ADN.

El ADN purificado es estable en tampón de elución o agua si se almacena a -20°C o inferior.