dNEAT™ Mini Spin Kit de extracción de ADN de saliva

PURK-SAL-050

Descripción

Este kit es un método sencillo y rápido para purificar ADN de alta calidad a partir de muestras humanas y animales. El kit se basa en la capacidad del ADN para unirse a sílice en presencia de altas concentraciones de sales caotrópicas.

Características

- ✓ Seguro: sin extracción de fenol y cloroformo.
- ✓ Eficiente: Depende de la cantidad y tipo de material de la muestra. 3-12 µg. Ten en cuenta que el rendimiento medio de ADN variará según el donante (por ejemplo, estado de salud).
- ✓ ADN genómico listo para usar, para todas las aplicaciones de biología molecular.

Aplicaciones

El ADN genómico (ADNg) purificado con el kit es apto para su uso directo en todas las aplicaciones habituales de biología molecular: PCR, clonación, secuenciación de ADN, análisis mediante Southern blot, etc.

Certificaciones de calidad

Este kit se prueba de forma conjunta aislando el ADN total de la saliva de muestra humana. El ADN purificado se analiza mediante espectrofotómetro (relación 260/280 (1,6-1,8)) y electroforesis en gel de agarosa.

Componentes del kit	
Columnas Minispin	50
Tubos de recogida (2 ml)	100
1XPBS	100 ml
Tampón BLY	20 ml
Proteinasa K*	30 mg
Tampón WB1	30 ml
Tampón** WB2	6 ml
Tampón EB	10 ml

Almacenamiento

Guarda el kit a temperatura ambiente. Si algún reactivo del kit forma un precipitado, calienta a 55–65 °C hasta que el precipitado se disuelva y deja enfriar hasta la temperatura ambiente antes de usarlo.

*Disolver la proteinasa K en 1,5 ml de agua para obtener una solución madre de 20 mg/ml. La solución de proteinasa K puede conservarse durante varios días a 2–8 °C. Para un almacenamiento a largo plazo, la parte no utilizada de la solución puede dividirse en alícuotas y conservarse a –20 °C hasta su uso. Este producto, tal como se suministra, es estable a temperatura ambiente.

**Antes del primer uso, añadir al tampón WB2 el volumen indicado de etanol (96–100 %) [no incluido] (consultar la etiqueta del frasco para conocer el volumen necesario). Una vez añadido el etanol, marcar el frasco para indicar que se ha completado este paso.

Limitación del uso del producto

Este producto se desarrolla y vende exclusivamente con fines de investigación. No está destinado a diagnósticos ni desarrollo de fármacos, ni es adecuado para su administración a humanos o animales.

Protocolo

1. Recoge ≈1 ml de saliva escupiendo en un tubo de microcentrífuga de 2 ml (no incluido). Evita arrastrar secreciones nasofaríngeas. Evita tocar la boca del tubo con las manos.
   - Asegúrese de que la persona que proporciona la muestra no haya ingerido ningún alimento o bebida en los 30 minutos previos a la recogida. Homogeneiza la muestra agitando el tubo que contiene la saliva recogida (es importante obtener una solución homogénea) y transfiere con una pipeta 1 ml de la mezcla a un nuevo tubo de microcentrífuga de 2 ml (no incluido). El resto de la muestra de saliva puede almacenarse a temperatura ambiente hasta su posterior utilización.
2. Añade 1 ml de 1XPBS frío a la muestra y mezcla bien.
3. Centrifuga a máxima velocidad durante 2 minutos para sedimentar las células.
4. Decantar cuidadosamente el sobrenadante y volver a suspender el sedimento celular en 180 µl de 1XPBS.
   - Agita vigorosamente hasta que las células se resuspendan (10-15 segundos). Este proceso ayudará a optimizar la lisis celular en el siguiente paso.
5. [Paso opcional] Eliminación del ARN: Si se requiere ADNg libre de ARN, añadir 4 µl de RNasa A (100 mg/ml) (no incluida).
6. Añada 20µL de proteinasa K y 200 µL de tampón BLY y mezcle inmediatamente mediante agitación con vórtex (es importante obtener una solución homogénea).
7. Incube en un baño de agua a 55 °C durante 10 minutos.
8. Añada 200 µl de etanol (96–100%) y mezcla vigorosamente mediante agitación con vórtex.
9. Transfiera la mezcla a la columna minispin con una pipeta y centrifugar a 8000 rpm durante 1 minuto. Desechar el líquido filtrado.
10. Coloque la columna de minispin en un tubo de recogida y añade 500 µL de tampón WB1. Centrifuga a 8000 rpm durante 1 minuto. Desechar el líquido filtrado.
11. Coloque la columna de minispin en un tubo de recogida y añade 500 µL de tampón WB2. Centrifuga a 8000 rpm durante 3 minutos. Desechar el líquido filtrado.
12. Centrifuga a máxima velocidad durante 1 minuto para secar la columna de minispin. Este paso evitará que el líquido residual inhiba las reacciones enzimáticas posteriores.
13. Coloca la columna de minispin en un nuevo tubo de microcentrífuga de 1,5 ml, debidamente etiquetado (no incluido), y añadir con una pipeta entre 50 y 100 µl de tampón EB o agua precalentada directamente sobre la membrana. Cerrar el tubo e incubar durante 1 minuto a temperatura ambiente.
14. Centrifugue a máxima velocidad durante 1 minuto para eluir el ADN.
15. [Paso opcional] Puedes repetir los pasos anteriores (13-14) para obtener el máximo rendimiento.
16. El ADN genómico purificado puede almacenarse a 2-8°C durante unos días. Para un almacenamiento a largo plazo, se recomienda -20°C.