



PURO **Gel Extraction**

Para purificar DNA a partir de
geles de agarosa



PB-L
Productos
Bio-Lógicos

<http://www.pb-l.com.ar>



PURO | Gel Extraction

Cat. no. SA02

Contenido del kit

Componentes	SA0201 50 reac.	SA0202 100 reac.
Solución A	7,5 ml	15 ml
Solución B	8 ml (+ 32 ml de EtOH 96%)	16 ml (+ 64 ml de EtOH 96%)
Solución C	5 ml	10 ml
Columnas	50	100
Tubos Colectores de 2 ml	50	100
Manual	1	1

Equipamiento y reactivos adicionales requeridos

- Microcentrífuga
- Tubos 1,5 ml
- Etanol 96%

Almacenamiento

Almacenar a temperatura ambiente todos los componentes del kit, lejos de sustancias químicas peligrosas y fuentes de polvo.

Rendimiento

A partir de las especificaciones del kit se obtienen porcentajes de recuperación de los fragmentos purificados mayores al 90%. Para fragmentos mayores a 5 kpb el porcentaje de recuperación puede variar (ver protocolo). El producto obtenido es apto para



ser utilizado en la mayoría de las metodologías de biología molecular.

Protocolo

ANTES DE UTILIZAR LA SOLUCIÓN B, RECUERDE AGREGAR ETANOL 96 – 100 % (NO INCLUIDO) SEGÚN LA ESPECIFICACIÓN DE LA BOTELLA.

1. Obtención de la banda del gel

Corte el taco del gel con ayuda de un bisturí o una cuchilla estéril, e introdúzcalo en un tubo de 1,5 ml (no incluido). Minimice al máximo el tamaño del taco de agarosa. Determine el peso del taco obtenido.

2. Disolución del gel

Por cada 100 mg de gel de agarosa obtenido agregue 100 μ l de **Solución A**. Para geles de porcentaje de agarosa > 2%, duplique el volumen de Solución A.

Incube a 55 °C hasta que no visualice restos del gel (5-10 min). Utilice vortex cada 2 - 3 min para optimizar la disolución completa del gel.

En caso de cambio de color de la **solución A**, de amarillo a anaranjado-rosado, agregue 5 μ l de AcNa 3 M.

3. Unión del ADN

1. Coloque la columna en un tubo colector de 2 ml. Cargue la columna con la solución obtenida en el paso 2. Centrifugue 1 min a 11000 xg y deseche el filtrado. Coloque la columna nuevamente en su tubo colector. En algunos casos será necesario realizar este paso dos veces para cargar el volumen total obtenido en el paso 2.



4. Lavado

Agregue 750 μl de **Solución B** a la columna. Centrifugue 1 min a 11000 xg y descarte el filtrado. Coloque la columna nuevamente en el tubo colector.

5. Secado de la membrana

Para eliminar los restos de Solución B centrifugue la columna 2 min. a 11000 xg. Asegúrese que no queden restos de Solución.

6. Elución

Coloque la columna en un tubo de 1,5 ml estéril. Agregue 15 - 50 μl de **Solución C** directamente sobre la membrana de la columna. Incube 1 min a temperatura ambiente. Centrifugue 1 min a 11000 xg. El eluato contiene el ADN purificado.

El rendimiento de fragmentos de ADN > 5 kpb aumenta utilizando la Solución C previamente calentada a 65 °C