



# **PURO Blood DNA**

Para el aislamiento de ADN  
genómico a partir de sangre

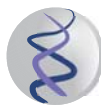


**PB-L  
Productos  
Bio-Lógicos**

---

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





## **PURO-Blood DNA**

Cat. N° SA06

### **Contenidos del kit**

<b>Contenidos</b>	<b>SA06-01 50 reacc</b>	<b>SA06-02 100 reacc</b>
<b>Buffer SA</b>	<b>10 ml</b>	<b>20 ml</b>
<b>Buffer SB</b>	<b>10 ml (+ 40 ml de EtOH 96%)</b>	<b>20 ml (+ 80 ml de EtOH 96%)</b>
<b>Buffer SC</b>	<b>10 ml</b>	<b>20 ml</b>
<b>Proteinasa K</b>	<b>1 ml</b>	<b>2×1 ml</b>
<b>Columnas</b>	<b>50</b>	<b>100</b>
<b>Tubos colectores de 2 ml</b>	<b>50</b>	<b>100</b>
<b>Manual</b>	<b>1</b>	<b>1</b>

### **Equipamiento y reactivos adicionales requeridos**

Buffer fosfato salino (PBS)

Microcentrífuga

RNAasa A (10 mg/ml)

### **Almacenamiento**

Puede almacenarse a temperatura ambiente (15-25 °C) durante 12 meses sin mostrar disminución en su rendimiento y calidad. Para almacenamientos prolongados, se recomienda conservar el kit a 2-8 °C.



## **Introducción**

PURO Blood DNA está basado en la tecnología de membrana de sílica y en un sistema de soluciones que permite obtener el ADN genómico puro. La columna puede unir ADN de manera óptima en condiciones determinadas de sal y pH. Mediante un proceso simple de centrifugación se eliminan por completo los contaminantes y los inhibidores enzimáticos, como las proteínas y los cationes divalentes. El ADN purificado se eluye en un Buffer de baja salinidad o agua, listo para su uso en aplicaciones posteriores.

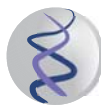
El ADN purificado mediante PURO Blood DNA es de alta calidad recomendado para PCR en tiempo real, análisis de restricción enzimática, PCR, secuenciación, southern blot.

## **Rendimiento del Kit**

<b>Fuente</b>	<b>Rendimiento</b>
Sangre total de mamífero (100 $\mu$ l - 400 $\mu$ l)	3 - 10 $\mu$ g
Buffy coat (100 $\mu$ l - 400 $\mu$ l)	10 - 20 $\mu$ g

## **Notas Importantes**

1. Se debe evitar la congelación y descongelación repetida de las muestras almacenadas, ya que esto reduce el tamaño de las moléculas de ADN genómico.
2. Si se observa un precipitado en el Buffer SA, caliente la solución a 50 - 60 °C hasta que el precipitado se haya disuelto por completo.
3. Todos los pasos de centrifugación deben llevarse a cabo en una microcentrífuga de mesa convencional a temperatura ambiente (15 - 25 °C).



## Protocolo

**Asegúrese de que el buffer SB se haya preparado con el volumen apropiado de etanol (96 - 100%), como se indica en la botella y agite bien.**

1. Agregue 200  $\mu$ l de sangre entera o fracción de células blancas (*buffy coat*) al tubo de microcentrifuga. Si el volumen de muestra es inferior a 200  $\mu$ l, complete el volumen agregando PBS 1X (buffer salino fosfato).
2. *Opcional: Tratamiento de la muestra con RNasa. Añada 4  $\mu$ l de RNasa A (10 mg/ml), mezcle por vórtex e incube durante 5 minutos a temperatura ambiente (15 - 25 °C).*
3. Agregue 20  $\mu$ l de **Proteinasa K** (20 mg/ml), mezcle con vórtex.
4. Agregue 200  $\mu$ l de Buffer SA a la muestra, mezcle bien con vortex e incube a 60 °C durante 15 min para obtener una solución homogénea. Centrifugue brevemente 5 segundos (*spin down*) el tubo de microcentrifuga de 1,5 ml para eliminar las gotas del interior de la tapa.

**Nota: No agregue la Proteinasa K directamente al Buffer SA.**

5. Agregue 200  $\mu$ l de etanol (96 - 100%) a la muestra y mezcle bien con vórtex durante 15 seg. **Nota: En ocasiones puede formarse un precipitado al agregar etanol. Si observa la presencia de precipitado, centrifugue durante 5 min a 12.000 rpm.**
6. Pipetee la mezcla del paso 5 en la columna con la membrana de sílica (armada con el tubo de recolección de 2 ml) y centrifugue a 12,000 rpm ( $\sim$  13,400  $\times$ g) durante 30 segundos. Deseche el eluato y coloque la columna nuevamente en el tubo de recolección.
7. Agregue 500  $\mu$ l de Buffer SB (preparado con el volumen apropiado de etanol 96-100%) a la Columna, y centrifugue a 12,000 rpm ( $\sim$  13,400  $\times$ g) durante 30 seg, luego deseche el eluato y coloque la columna en el tubo de recolección



8. Opcional: repetir el paso 7, si el material de partida fue *buffy coat*.
9. Centrifugue a 12,000 rpm ( $\sim 13,400 \times g$ ) por 2 min para secar completamente la membrana.

**Nota: Residuos de etanol en la columna pueden afectar los resultados obtenidos en aplicaciones posteriores.**

10. Coloque la columna de centrifugación en un nuevo tubo de microcentrífuga de 1,5 ml limpio y agregue 50 - 200  $\mu$ l de Buffer SC o agua destilada (precalentada a 60 °C) directamente en el centro de la membrana. Incubar a temperatura ambiente (15 - 25 °C) durante 2-5 min y luego centrifugar durante 2 min a 12,000 rpm ( $\sim 13,400 \times g$ ).

**Nota: si el volumen del buffer de elución es menor a 50  $\mu$ l, puede afectar el rendimiento de recuperación. El pH de la de la solución de elución debe estar pH 7,0-8,5 para obtener rendimientos máximos. Sugerimos utilizar el Buffer SC o agua destilada (pH 7,0 - 8,5) para eluir el ADNg. Para el almacenamiento a largo plazo del ADNg, se recomienda la elución en el Buffer SC y el almacenamiento a -20 °C, ya que el ADN almacenado en agua podría estar sujeto a hidrólisis ácida.**