Blood DNA Extraction Kit

deltalab GROUP

Cat. Nº: DG2006 (50 reacciones)

Descripción

Kit de extracción de ADN genómico de sangrees un método simple y rápido para la purificación de ADN genómico de alta calidad de varias fuentes, que incluyen: sangre completa, capa leucocitaria* y células cultivadas*.
El procedimiento incluye: lisis, eliminación de proteínas, precipitación de ADN, lavado e hidratación.
.ANEXO1: Protocolo Buffi-coat

Características

- **Seguridad**: sin extracción con fenol-cloroformo.
- **Eficiente**: 3-6 µg de ADN genómico de una muestra de sangre de 200 µl (30-90 µg de ADN genómico de 2 ml).
- **Listo para usar**ADN genómico, en todas las aplicaciones de biología molecular.

Aplicaciones

El ADN genómico de alto peso molecular purificado con el kit es adecuado para uso directo en todas las aplicaciones comunes de biología molecular: PCR, clonación, secuenciación de ADN, análisis de transferencia Southern, etc.

Componentes del Kit	50 Reacciones
Búfer S1	2x60ml
Búfer S2	36ml
Búfer S3	12ml
Proteinasa K*	30 miligramos
Tampón EB	10ml

Almacenamiento de equipos:

Guarde el kit a temperatura ambiente. Si algún reactivo del kit forma un precipitado, caliéntelo a 55–65 °C hasta que el precipitado se disuelva y deje que se enfríe a temperatura ambiente antes de usarlo.

**Disolver la proteinasa K en agua (1,5 ml) para obtener una solución madre de 20 mg/ml. La solución de proteinasa K se puede almacenar durante varios días a 2–8 °C. Para el almacenamiento a largo plazo, la porción no utilizada de la solución se puede almacenar en alícuotas a –20 °C hasta que se necesite. Este producto tal como se suministra es estable a temperatura ambiente.*

Certificaciones de calidad

Kit de extracción de ADN genómico de sangrese analiza lote a lote aislando el ADN total de 200 µl de sangre humana completa. El ADN purificado se analiza mediante:

Espectrofotómetro: Relación 260/ 280 (1,6-1,8)

Electroforesis en gel de agarosa.

(Continúa en el reverso)

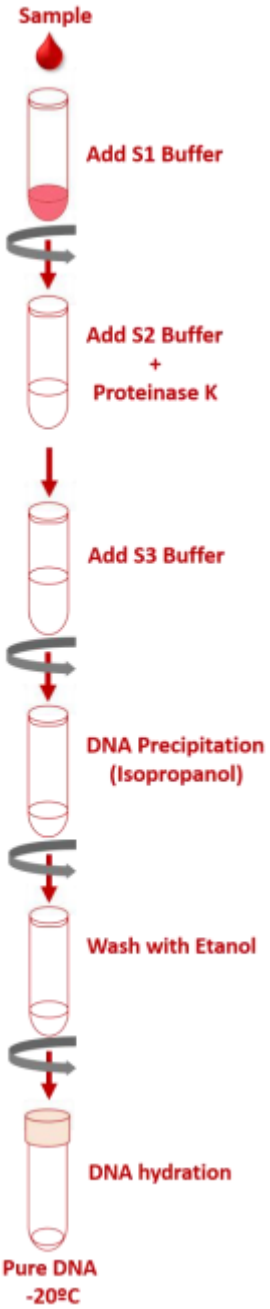
Nirco, S.L
C/Puerto de Navafría, 12.
28935 Móstoles (Madrid). Spain

+34 91 616 42 68
+34 91 616 59 46
nirco@nirco.com

PROTOCOLO DETALLADO

Escoger■ si procesa 5 ml muestras de sangre
Escoger▲ si se procesan muestras de sangre de 10 ml.

1. Transferir hasta■5 mL/▲10ml de muestra a un tubo 50 ml
2. Agregar ■15mL/▲30ml tampón S1 a la muestra y agitar suavemente o invertir el tubo 6-8 veces y dejar incubar durante 5-8 minutos a temperatura ambiente
3. Centrifugar a 2500 rpm durante 2 minutos. Retire el sobrenadante con una pipeta y evite dañar el sedimento celular visible y dejar 200 µl de líquido residual.
4. Agite en vortex el tubo vigorosamente hasta que los glóbulos blancos se resuspendan (10 a 15 segundos). Este proceso ayudará a optimizar la lisis celular en el siguiente paso.
5. Agregar■ 250 µl /▲500 µl proteinasa K y■ 5 ml /▲10 ml de tampón S2 y mezclar por pipeteo. Transferir toda la mezcla a un nuevo a un nuevo tubo 50 ml.
6. Incubar al baño maría a 55°C durante 0.5-1 hora, y luego enfríe a temperatura ambiente.
7. Agregar■1,67 ml/▲3,33 ml tampón S3 y mezcle con vortex vigorosamente durante 20 segundos.
8. Centrifugar a 2500 rpm durante 5 minutos. Debe verse un sedimento de color marrón oscuro. Si no se observa sedimento, incubar en hielo durante 5 minutos y centrifugar nuevamente.
9. Transferir el sobrenadante a un nuevo tubo de 50 ml de que contenga 5ml/▲10 ml de isopropanol. Mezclar por inversión suave 50 veces.
10. Centrifugar a 2500 rpm durante 3 minutos y eliminar el sobrenadante. El ADN será visible como una pequeña bolita blanca.
11. Lavar con■5 ml/▲10ml de etanol 70%y centrifugar en 2500 rpm durante 1 minuto.
12. Retire el sobrenadante con una pipeta y seque el precipitado con el tubo invertido sobre papel absorbente durante 5-10 minutos.
13. Añade ■500 µl /▲1ml de tampón EB y agite en el vortex 5 segundos a velocidad media para mezcla, cierre el tubo e incúbelo durante 1 hora
14. Resuspenda el ADN añadiendo almacene el ADN a -20 ° C.



LIMITACIÓN DE USO DEL PRODUCTO

Este producto está desarrollado, diseñado y vendido exclusivamente con fines de investigación y uso in vitro únicamente. El producto no fue probado para su uso en diagnósticos o para el desarrollo de fármacos, ni es adecuado para su administración a humanos o animales.

Nirco, S.L
C/Puerto de Navafría, 12.
28935 Móstoles (Madrid). Spain
+34 91 616 42 68
+34 91 616 59 46
nirco@nirco.com

Purificación de ADN a partir de muestras de capa leucocitaria

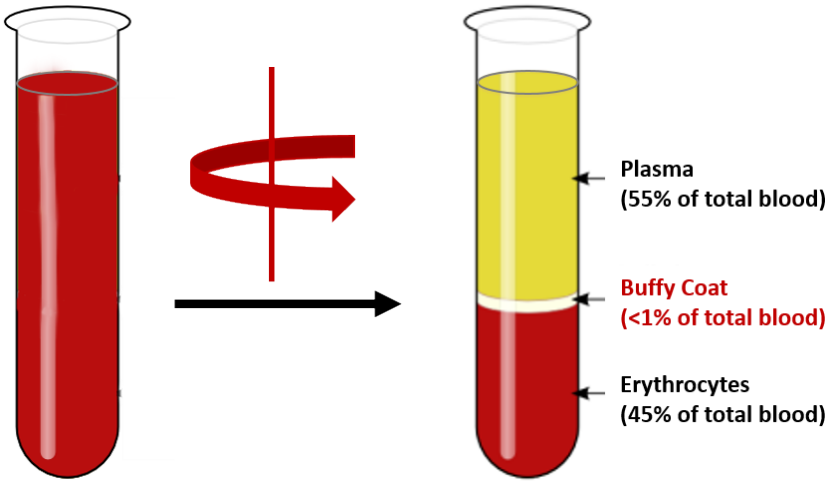
Una suspensión de capa leucocitaria es una suspensión concentrada de leucocitos. No es mononuclear ya que los granulocitos todavía están presentes.

Es posible concentrar los leucocitos a partir de muestras de sangre centrifugando sangre entera anticoagulada con EDTA. Después de la centrifugación, se distinguen tres fracciones diferentes: la capa transparente superior es plasma; la capa intermedia es la capa leucocitaria, que contiene leucocitos concentrados.

El uso de una capa leucocitaria permite purificar grandes cantidades de gDNA utilizando solo muestras muy pequeñas. La fracción de la capa leucocitaria de la sangre completa produce aproximadamente de 5 a 10 veces más ADN que un volumen equivalente de sangre completa.

En esta nota técnica, describimos el uso de hasta 1 ml de capa leucocitaria por muestra. Este tamaño de muestra corresponde aprox. a 10 ml de muestra de sangre entera.

Prepare la capa leucocitaria centrifugando sangre total a 2500 xg durante 10 minutos a temperatura ambiente (15–25 °C).



Nirco, S.L
C/Puerto de Navafría, 12.
28935 Móstoles (Madrid). Spain
+34 91 616 42 68
+34 91 616 59 46
nirco@nirco.com

PROTOCOLO DETALLADO

Generalmente, el volumen de la capa leucocitaria preparada a partir de una muestra es aproximadamente 1/10 del volumen de la muestra de sangre original (p. ej., se prepararían 500 µl de capa leucocitaria a partir de una muestra de sangre de 5 ml). Asegúrese de que la capa leucocitaria esté bien mezclada antes de procesar

Este protocolo es para la purificación del ADN genómico de la capa leucocitaria preparada a partir de 5 ml de sangre total.

1. Transferir hasta 500 ul de muestra a un tubo de 15 ml.
2. Agregar 3 V tampón S1(p. ej., si procesa 500 µl de capa leucocitaria, dispense 1500 µl de tampón S1) a la muestra y agite suavemente o invierta el tubo de 6 a 8 veces y déjelo incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente.
3. Centrifugar a 2000xg durante 5 minutoss. Retire el sobrenadante con una pipeta y evitando dañar el sedimento celular visible y dejando 200 µl de líquido residual.
4. Vortex el tubo vigorosamente para resuspender el precipitado en el líquido residual (10-15 segundos). Este proceso ayudará a optimizar la lisis celular en el siguiente paso.
5. Agregar 250 µl proteinasa K y 5ml Búfer S2y mezclar por pipeteo. Transfiera toda la mezcla a un tubo nuevo de 15 ml.
6. Incubar en un baño de agua a 55 °C durante 0,5-1 hora y luego enfriar a temperatura ambiente.
7. Agregar 1,67ml Búfer S3 y mezclando con vortex vigorosamente durante 20 segundos.
8. Centrifugar a 2000xg durante 5 minutos. Debe verse un sedimento de color marrón oscuro. Si no se observa sedimento, incubar en hielo durante 5 minutos y centrifugar nuevamente.
9. Transferir el sobrenadante a un tubo nuevo de 15 ml que contenga 5ml isopropanol. Mezclar por inversión suave 50 veces.
10. Centrifugar a 2000xg durante 3 minutos y retirar el sobrenadante. El ADN será visible como una pequeña bolita blanca.
11. Retire el sobrenadante con una pipeta y seque el sedimento con el tubo invertido sobre papel absorbente, teniendo cuidado de que el sedimento permanezca en el tubo.
12. lavar con 5ml 70% etanoly centrifugar a 2000xg durante 1 minuto.
13. Retire el sobrenadante con una pipeta y seque el precipitado con el tubo invertido sobre papel absorbente durante 5-10 minutos.
14. Agregar 500 l de Buffer EB y vortex durante 5 segundos a velocidad media para mezclar. Cierre la tapa e incube durante 1 hora.
15. Resuspender el ADN y almacenar a -20 ° C.

Nirco, S.L
C/Puerto de Navafría, 12.
28935 Móstoles (Madrid). Spain
+34 91 616 42 68
+34 91 616 59 46
nirco@nirco.com