Circulating DNA Purification

deltalab GROUP

Cat. Nº: DG2024 (50 reacciones)

Descripción

Circulating DNA Purification Kit Mini Spin está diseñado para la purificación simultánea rápida de ADN circulante a partir de muestras libres de células, como suero y plasma (1000 µl).
Se sabe que el ADN libre de células en plasma/suero está muy fragmentado 50-1000 pb. El grado de fragmentación depende de varios parámetros como el ADN de origen (ADN fetal, tumoral, microbiano), la salud de la sangre del donante, el procedimiento de muestreo de sangre y el manejo de la muestra.
El kit se basa en la capacidad del ácido nucleico para unir sílice en presencia de altas concentraciones de sales caotrópicas. Para ello utilizamos unas columnas especiales diseñadas para una alta recuperación, especialmente de ADN fragmentado en un rango de 100-1000 pb.

Características

- Para el aislamiento rápido del ADN circulante del plasma/suero.
- Tamaño de la muestra: 1000 µl (plasma o suero).
- Eliminación completa de inhibidores.
- Rendimiento típico: varía debido a las variaciones de donante a donante, el estado de salud y el nivel de nucleasas presentes en la sangre.
- Volumen de elución: 30 µl.
- ADN obtenido que puede ser utilizado directamente en PCR o PCR en tiempo real.

Aplicaciones

- El ADN circulante purificado es compatible con la mayoría de las aplicaciones de biología molecular.
- Ideal para la detección de biomarcadores en diversas enfermedades.
- Análisis de ADN fetal a partir de plasma materno.

Componentes del Kit	50 Reacciones
Columnas minispin	50 unidades
Tubos de recogida (2 ml)	250 unidades
tubos de 3ml	50 unidades
Búfer BLY	55ml
Proteinasa K*	2x100 miligramos
Buffer WB1**	18ml
Buffer WB2**	10ml
Buffer de elución	2ml

**Disolver proteinasa K (100 mg) en agua (1,9 ml) para obtener una solución madre. 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.*

***Agregue el volumen de etanol (96 %-100 %) especificado [no incluido] antes del uso inicial (consulte la etiqueta de la botella para conocer el volumen). Después de agregar el etanol, marque la botella para indicar que este paso se ha completado.*

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.

(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

Muestras: Plasma y suero.

Este kit es adecuado para el aislamiento de ADN a partir de suero fresco o congelado o plasma preparado a partir de EDTA o citrato de sangre recolectada (las muestras de plasma preparadas a partir de sangre recolectada con heparina no deben usarse, ya que la heparina puede interferir significativamente con muchas aplicaciones posteriores, como RT-PCR).).

Las muestras de suero o plasma congeladas deben centrifugarse durante 2 minutos a 2000 rpm antes de procesarlas. Solo debe procesarse el sobrenadante claro, ya que se pueden producir obstrucciones en la columna si las muestras congeladas se procesan directamente.

PROTOCOLO DETALLADO

1. Colocar 1000µL de muestra (plasma o suero)en un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml. Incubar a 55ºC durante 15 minutos. Centrifugar a máxima velocidad durante 5 minutos.

2. Sobrenadante de recuperación que contiene ADN libre de células circulante utilizando una micropipeta, evite tocar el sedimento visible y agréguelo al tubo de 3 ml suministrado. Agregar 1000 µL de Buffer BLY + 75 µL de proteinasa K y mezcle bien mediante agitación vorticial durante 10-15 segundos.

3. Incubar a 55 °C durante 15 minutos. Mezclar invirtiendo o agitando cada 5 minutos.
4. Añadir 750µ Isopropanol y mezclar con micropipeta.

5. Inserte la columna Minispin en un tubo de recolección de 2 ml (incluido).

6. Transferir700yo muestro a la columna Minispin pipeteando y centrifugando a 8.000rpm durante 30 segundos. *¡La capacidad máxima de las columnas minispin es de 800 uL!* , deberá repetir este paso 4 veces en la misma columna (en el último paso centrifugue a 14.000 rpm).

7. Coloque la columna Minispin en un nuevo tubo de recolección y agregue 500 µl de Buffer WB1. Centrifugar a 14.000 rpm durante 1 minuto. Deseche el flujo continuo.

8. Coloque la columna Minispin en un tubo de recolección nuevo y agregue 500 µL de Buffer WB2. Centrifugar a 14.000 rpm durante 1 minuto. Deseche el flujo continuo.

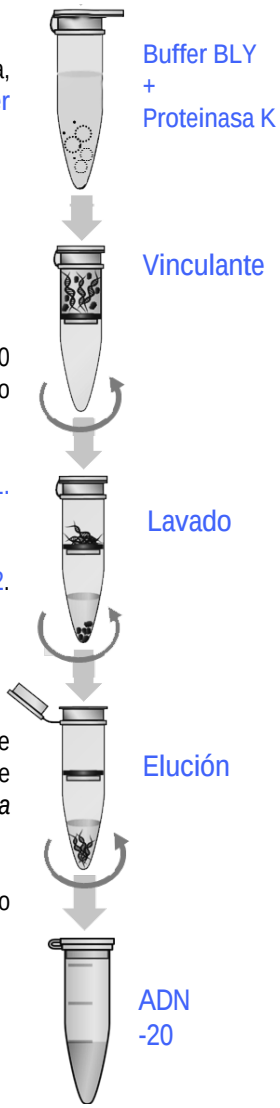
9. Centrifugar a máxima velocidad durante 3 min más para secar la columna de centrifugado.

10. Coloque la columna Minispin en un tubo de microcentrífuga de 1,5 nuevo, etiquetado y pipetee 30 µL de Buffer de elución (precalentado a 70 °C) directamente en la membrana. Cierre la tapa e incube durante 2 minutos a temperatura ambiente. *Es muy importante añadir el Buffer de elución en el centro de la membrana para que quede completamente mojada.*

11. (Opcional) Centrifugar a 10.000 rpm durante 1 minuto para eluir. Recoja el eluato y vuelva a depositarlo en el centro de la membrana. Incubar 2 minutos a temperatura ambiente.
    Este paso opcional aumenta el rendimiento.

1. Centrifugar a máxima velocidad durante 1 minuto. El eluido contiene el ADN circulante.

2. Para un almacenamiento prolongado, coloque los ácidos nucleicos 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