



DNAget – Silica - Sistema de purificación de ADN a partir de geles de agarosa.

DGS-100- DNAget – 100 preparaciones

DNAget – Silica es un sistema basado en **partículas de sílica** que tiene alta afinidad por ADN y puede emplearse en la purificación de fragmentos de ADN en agarosa separados por electroforesis (1). Igualmente, puede emplearse en la purificación de RNA (2), ADN plasmídico (3) y ADN antiguo (4).

El ADN recuperado presenta altos niveles de pureza con la capacidad de ligarse en procesos de clonación, en la digestión con enzimas de restricción o emplearse en secuenciación de nucleótidos.

El procedimiento de purificación es rápido (aproximadamente 40 min) no requiere tratamiento con ARNasa, extracción orgánica (fenol), uso de reactivos tóxicos, precipitación con alcohol o equipo especializado.

Ingredientes:

- 1 frasco con 50 ml de **yoduro de sodio 6M** (almacenar a 4°C).
- 2 tubos con 5 ml de solución de lavado 10X (almacenar a -20°C). Prepare la **Solución de lavado 1X**: A 5 ml de la solución 10X adicione 25 ml de etanol absoluto y 20 ml de agua bidestilada estéril. Almacenar a -20°C.
- 2 viales con 500 ul de **perlas de sílica** (almacenar a 4°C).

Instrucciones de uso:

- 1.- Separar el segmento de ADN a purificar por electroforesis en un gel de agarosa en TAE 1X.
- 2.- Recortar el segmento de ADN del gel de agarosa con navaja estéril en un transiluminador UV.
- 3.- Pesarse el fragmento del gel y adicionar 3 volúmenes de yoduro de sodio 6M (considere por cada 1g de gel = 1ml NaI 6M).
- 4.- Incubar 10 min a 55°C (o hasta que la agarosa se disuelva perfectamente).
- 5.- Tomar 15 µl de las **perlas de sílica** (homogenizar previamente) y agregarlas a la suspensión de agarosa, mezclar por inversión, incubar 30-60 min en hielo (en este punto, puede detener el proceso dejando a 4°C por no más de 24 hrs).
- 6.-Centrifugar a 4°C por 5 min a 12,000 rpm.
- 7.-Decantar y resuspender la pastilla con 500 µl de solución de lavado 1X.
- 8.-Centrifugar a 4°C por 4 min a 12,000 rpm.
- 9.-Repetir una vez más los pasos 7 y 8.
- 10.-Decantar y secar la pastilla a 55°C (mantener el tubo abierto para permitir la evaporación).
- 11.-Adicionar a la pastilla 20 - 40 µl de agua bidestilada estéril e incubar por 8 min a 55°C.
- 12.-Centrifugar a temperatura ambiente por 4 min a 12,000 rpm.
- 13.-Recuperar el sobrenadante en un tubo limpio, con ayuda de una micropipeta.
- 14.-Si gusta puede verificar la recuperación del fragmento de ADN (5 µl) por electroforesis en un gel de agarosa.
- 15.-Almacenar el ADN recuperado a -20°C hasta su uso.

Bibliografía

1. Vogelstein Bert and Gillespie David. Preparative and analytical purification of DNA from agarose. 1979. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 76, No. 2, pp. 615-619.
2. Fan Yanga, Guoping Wanga, Wenxing Xua, Ni Honga. 2017. A rapid silica spin column-based method of RNA extraction from fruit trees for RT-PCR detection of virus. Journal of Virological Methods 247: 61-67.
3. Brown J.D. A rapid, non-toxic protocol for sequence-ready plasmid DNA. 1997. Technical Tips Online, 2: 181-183.
4. Rohland N, Hofreiter M. 2007. Ancient DNA extraction from bones and teeth. Nat Protoc. 2:1756-62.