

Conda[®]ene[®]



**Kit de Extracción
Condagene[®]**

6500

Propósito, características y contexto

Propósito

Este reactivo tiene como propósito la extracción/purificación de ADN de todo tipo de microorganismos en variedad de matrices, en las que pueden estar presentes elevados niveles de inhibidores de la PCR.

Con este reactivo se puede obtener de manera rápida ADN genómico, sin necesidad de digestiones enzimáticas, de fenol/cloroformo ni columnas de separación.

Este producto es compatible con la PCR de viabilidad.

Características y Contexto

Las muestras contenidas en un microtubo son sometidas a una lisis alcalina en ausencia de agentes caotrópicos, pero con una combinación de resinas que retienen diferentes moléculas orgánicas e iones, que podrían afectar a la calidad del ADN.

En un último paso la muestra se resuspende con un buffer corrector del pH que contiene agentes neutralizantes de inhibidores de la PCR de gran tamaño (por ejemplo, ácidos húmicos) no capturados por las resinas.

Tabla 1. Ejemplos de muestra a procesar.

TIPO	PORCIÓN
Suelo	50 mg equivalentes
Heces	25 mg equivalentes
Agua residual	Concentrado de 100 - 50 mL
Agua para consumo	Concentrado de 1 L
Agua continental	Concentrado de 0,5 - 1 L
Caldo enriquecimiento	≤ 1 mL

Instrucciones de uso

Contenidos

Este producto contiene 2 reactivos, suficiente para extraer ADN de 100 muestras.

R1: tampón de lisis, 25 mL

R2: tampón de ajuste y neutralización de inhibidores, 75 mL

Equipamiento adicional requerido

- Pipetas de volumen variable 100-1000 µL.
- Punta de micropipeta con filtro.
- Bloque térmico con agitación, 100-95°C.
- Tubos de microcentrífuga, compatibles con ebullición (Boil proof).
- Rack para tubos.
- Microcentrífuga.
- Vortex o mezclador de tubos de alta velocidad (al menos 1000 rpm).

Almacenamiento y conservación

Este kit es enviado a temperatura ambiente, puede ser conservado sin refrigerar hasta el momento de su apertura, una vez abierto conservar en refrigeración (2-8°C), este permanecerá estable al menos hasta un año.

Estado microbiológico

Producto estéril.

Preparación de los reactivos

Este reactivo está listo para su uso.

Reglas Generales

Lea atentamente las hojas de seguridad de este y de todos los productos que va a usar durante todo el ensayo. Los reactivos R1 y R2 tienen pH extremos, no los manipule sin haber revisado antes la hoja de seguridad.

Este producto es fabricado y vendido para el control de calidad en alimentos/muestras ambientales, no ha sido diseñado para ningún otro uso, en especial para el diagnóstico de enfermedades infecciosas. Su uso debe ser llevado a cabo por personal experimentado, y cualificado en el manejo de productos químicos potencialmente peligrosos.

Los usuarios deben tomar decisiones independientes sobre la integridad de la información en función de todas las fuentes disponibles. Condalab no se hace responsable de ningún daño resultante de la manipulación o el contacto con el producto.

Procedimiento operativo

Acciones para realizar antes de empezar

Todo flujo de trabajo de PCR se tiene que llevar a cabo en unas condiciones que prevengan la contaminación ambiental. Es recomendable que en cada serie incluya al menos un blanco para poder tener bajo control los riesgos de contaminación.

- Sacar de la nevera los reactivos R1 y R2.
- Poner en marcha el bloque térmico, y ajuste temperatura a 80-90°C.
- Poner el R1 en el agitador magnético, a una velocidad suficiente para garantizar una correcta homogenización.

El protocolo empieza sobre un pellet de la muestra, obtenido centrifugando al menos durante 10-13.000 g durante 5-10 minutos, el cual que puede tener naturaleza diversa (ver tabla 1).

Protocolo

1. Añadir 0,2 mL de R1.
2. Agitar a máxima velocidad (mínimo 1.000 rpm) durante 5 min.
3. Incubar a 80-90°C en agitación durante 10 minutos. Si no se dispone de un bloque térmico con agitación, homogeneizar 2-3 veces, con la ayuda de un vortex, durante el tratamiento térmico.
4. Retirar los tubos y dispensar 0,6 mL de R2.
5. Agitar a máxima velocidad (mínimo 1.000 rpm) durante 1-2 min.
7. Centrifugar a 10-13.000 g durante 1-2 minutos.

El sobrenadante puede ser usado inmediatamente en una PCR. Si se necesita conservar el ADN, transferir 0,3 mL a un nuevo tubo y almacenar al menos a -20°C.

Nota: Si va a medir la cantidad de ADN y su pureza mediante métodos espectrofotométricos, recuerde que el blanco del equipo no se puede realizar con agua ni con buffer TE, se debe realizar con una disolución basada en los reactivos usados (1 vol. de R1 + 3 vol. de R2), en caso contrario estará sobrestimando la cantidad de ADN y su impureza.

Marcas y licencias

El uso de este producto puede estar cubierto por Licencias, patentes o solicitud de patente pendiente. Los clientes que recibieron este producto pueden usarlo con fines de investigación y evaluación de la calidad en alimentos/muestras ambientales sin infringir los derechos de propiedad intelectual.

El uso de este producto no está destinado con fines terapéuticos, uso doméstico, agrícola o cosmético. Su uso debe ser supervisado por una persona técnicamente cualificada con experiencia en el manejo de productos químicos potencialmente peligrosos. Los usuarios deben tomar decisiones independientes sobre la integridad de la información en función de todas las fuentes disponibles.

Conda^{ene}[®]

www.condalab.com