

Condaene<sup>®</sup>

Condagene<sup>®</sup> Extracción  
Column 50 rxn

6506



**Laboratorios Conda S.A.**  
C/ Forja, 9. Torrejón de Ardoz  
28850 Madrid, España  
T. +34 91 761 02 00

## INTRODUCCIÓN Y DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

Condagene® Extracción Column ofrece un procedimiento eficaz para aislar el ADN total de las muestras de alimentos (materias primas y alimentos procesados de origen animal o vegetal) y las bacterias. Después de que las muestras de alimentos han sido homogeneizadas, el ADN se puede extraer con el buffer de lisis. Para detectar ADN bacteriano en las muestras alimentarias, es recomendable realizar un preenriquecimiento con el medio de cultivo correspondiente. El ADN bacteriano puede extraerse con el buffer de lisis, después de realizar un paso de concentración por centrifugado.

La lisis se produce por choque térmico, y la purificación se lleva a cabo a través de una serie de procesos destinados a eliminar contaminantes y residuos celulares. El sobrenadante transparente se mezcla después con el buffer de unión, para crear las condiciones de la unión óptima a la columna de la membrana de sílice. El ADN purificado está listo para utilizarse en las reacciones posteriores, como la detección y la cuantificación de la PCR en tiempo real.

### Aplicaciones:

- ADN de matrices complejas, alimentos procesados, alimentos crudos y piensos para animales, soja, chocolate, cereales, carne
- Detección de ADN específico en la alimentación animal
- Detección de material modificado genéticamente en los productos alimenticios (OGM)
- Extracción de ADN microbiano
- Extracción de ADN recogido en hisopos y esponjas
- ADN adecuado para PCR, PCR en tiempo real, reacciones enzimáticas

## CONTENIDO Y CONSERVACIÓN

Si se conserva correctamente, consulte la fecha de caducidad de la estabilidad del kit. RT: Temperatura ambiente.

Tubo con nombre	Volumen o unidad		Conservación
	50 preparados	250 preparados	
Buffer de lisis	65 ml	325 ml	RT
Buffer de unión	13 ml	65 ml	RT
Proteinasa K *	30 mg	2 x 75 mg	-20 °C
Buffer de lavado 1 **	16,5 ml	82,5 ml	RT
Buffer de lavado 2 **	10 ml	50 ml	RT
Elución	10 ml	50 ml	RT
Columnas de centrifugado	50 unidades	250 unidades	RT
Tubos de recogida	100 unidades	500 unidades	RT

### Notas

\* Reconstituya la proteinasa K añadiendo agua sin nucleasa (grado de biología molecular) como se indica en los viales y consérvela a -20 °C. Se recomienda hacer varias alícuotas para evitar los ciclos de descongelación/congelación. A esta temperatura, es estable durante 1 año.

\*\* Añada etanol (96 %-100 %) a los tampones de lavado antes de usarlos, tal como se indica en las botellas. Para evitar la evaporación del etanol, mantenga cerrados los recipientes.

## MATERIAL NECESARIO, PERO NO SUMINISTRADO

Tubos (1,5 - 2,0 ml)

Micropipetas y puntas de filtro de micropipetas (10 µl-100 µl y 100 µl-1000 µl) Vórtex

Microcentrifuga, capaz de funcionar a un máximo de 10 000 g.

Bloque térmico (preferiblemente) o baño de agua a 37, 65±5 °C a 95±5 °C Guantes de nitrilo

Etanol al 100 %

Condagene® Kits de detección en tiempo real de alérgenos o patógenos (opcional)

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Estos productos son exclusivamente para utilizarse in vitro.

La prueba requiere que intervenga personal cualificado para evitar el riesgo de que se generen resultados erróneos. No mezcle los reactivos de diferentes lotes.

No utilice reactivos de productos de otros fabricantes.

Utilice guantes desechables y batas de laboratorio cuando manipule las muestras y los reactivos. Utilice puntas de pipeta estériles con filtros.

Evite que las muestras y los reactivos entren en contacto con la piel, los ojos y las membranas mucosas. Si estas soluciones entran en contacto, enjuáguese inmediatamente con agua y busque consejo médico sin demora.

El buffer de lisis, los tampones aglutinantes y el buffer de lavado 1 contienen clorhidrato de guanidina, que puede formar componentes reactivos cuando se combina con lejía (hipoclorito de sodio).

Hay hojas de datos de seguridad de los materiales (MSDS) disponibles previa petición.

Los residuos deben tratarse y eliminarse de conformidad con las normas de seguridad correspondientes.

Limpie periódicamente el espacio de trabajo con al menos un 5 % de hipoclorito de sodio.

Es muy aconsejable contar con áreas, materiales y equipos específicos para la extracción de ADN, la preparación de la PCR y los procedimientos posteriores a la PCR.

## INFORMACIÓN SOBRE EL USO DEL KIT

El contenido del kit debe mezclarse ligeramente antes utilizarlo.

En condiciones ambientales frías, es posible que se forme un precipitado en el buffer de lisis. En este caso, el componente debe calentarse para disolver el precipitado durante unos 5 minutos a 37 °C y agitarse bien antes de utilizarlo.

## PROCEDIMIENTO

### PREPARATIVOS PRELIMINARES

▲ Asegúrese de que la proteinasa K y los tampones de lavado estén preparados según lo indicado en la sección "Contenido y conservación", página 2

▲ Precaliente el buffer de lisis y el buffer de elución a 65 °C-70 °C.

### 1. AISLAMIENTO DE ADN DE LOS ALIMENTOS (para los productos lácteos, consulte el procedimiento n.º 2)

#### Homogeneice la muestra.

1. Pese unos **200 mg de** material alimenticio y transféralo a un tubo de microcentrifugado  
Para obtener un buen rendimiento, es necesario homogeneizar bien la muestra. La lisis es más eficiente cuando se utilizan muestras que han sido bien homogeneizadas. Recomendamos moler con un mortero o con homogeneizadores comerciales.  
En las muestras líquidas utilice 200 µl directamente.  
Para productos lácteos, vea el procedimiento n.º 2 (página 6).

## Paso de lisis celular

2. Pipetee **1000 µl de buffer de lisis** (precalentado) en el tubo de microcentrifugado, y añada **25 µl de proteinasa K**. Agite enérgicamente con el vórtex.
3. Aplique un centrifugado corto e incube durante **30 minutos a 65 °C**. Agite con el vórtex una o dos veces durante la incubación (opcional).  
En el caso de las muestras que tienen alto contenido de grasa (p. ej.: chorizo, queso, jamón, etc.) un paso de lisis durante la noche (16 h-18 h a 65 °C) y el doble de la proteinasa K (50 µl) pueden ser necesarios.
4. Centrifugue a **más de 10 000 g durante 5 minutos**.

## Paso de unión del ADN

5. Transfiera **500 µl de sobrenadante transparente** a un nuevo microtubo con **250 µl de buffer de unión**. Agite brevemente con el vórtex.  
En la superficie podría aparecer una capa de grasa. Para recoger un sobrenadante transparente, introduzca la punta de la pipeta cruzando esta capa superficial de grasa, y solo tratando de recoger el sobrenadante líquido coloreado (y evite tocar el pellet con la punta).
6. Coloque la columna de centrifugado en un tubo de recogida de 2 ml
7. Transfiera **600 µl de la mezcla** a la columna y centrifugue a **más de 10 000 g durante 1 minuto**. Deseche el líquido que atraviesa el filtro.
8. Repita el paso 7, para **cargar la muestra restante**
9. Coloque la columna de centrifugado en un nuevo tubo de recogida

## Paso de lavado

10. Añada **500 µl de buffer de lavado 1** y centrifugue a **más de 10 000 g durante 1 minuto**. Deseche el líquido que atraviesa el filtro.
11. Añada **700 µl de buffer de lavado 2** y centrifugue a **más de 10 000 g durante 1 minuto**. Deseche el líquido que atraviesa el filtro.
12. Centrifugue a **más de 10 000 g durante 3 minutos**.

## Paso de elución

13. Transfiera la columna de centrifugado a un nuevo tubo de microcentrifugado de 1,5 ml y pipetee **100 µl de buffer de elución** (precalentado a 70 °C) en la membrana. Incube a temperatura ambiente durante 2 minutos  
Disminuya el volumen del buffer de elución ( como 50 µl) si desea una concentración de ADN más alta.
14. Centrifugue a **más de 10 000 g durante 1 minuto**. Deseche la columna de centrifugado y use el ADN inmediatamente o consérvelo a -20 °C.

## 2. AISLAMIENTO DE ADN DE PRODUCTOS LÁCTEOS

⚠ Antes de comenzar, precaliente el buffer de lisis y el buffer de elución a 70 °C.

### Homogeneice la muestra.

1. Homogeneice la muestra de alimentos y centrifugue unos **50 ml** a más de **10 000 g durante 10 minutos**. Deseche el sobrenadante.  
Para obtener un buen rendimiento, es necesario homogeneizar bien la muestra. La lisis es más eficiente cuando se utilizan muestras que han sido bien homogeneizadas. Recomendamos este procedimiento para las muestras de productos lácteos, como leche, mantequilla y queso cremoso o requesón. Para otros tipos de queso, pese 300 mg de material alimenticio y luego avance directamente al paso 4 de este procedimiento.
2. Centrifugue durante **10 minutos** a más de **10 000 g**. Deseche el sobrenadante.
3. Lave el pellet con 1 ml de agua sin nucleasa o una solución salina tamponada con fosfato (PBS). A continuación, centrifugue durante **3 minutos** a más de 10 000 g
4. Pipetee **1000 µl de buffer de lisis** (precalentado) en el tubo de microcentrifugado, y añada **50 µl de proteinasa K**. Agite enérgicamente con el vórtex.
5. Aplique un centrifugado corto e incube durante **30 minutos a 65 °C**. Agite con el vórtex una o dos veces durante la incubación  
  
OPCIONAL: Paso de lisis durante la noche (16 h-18 h a 65 °C)
6. Centrifugue a **más de 10 000 g durante 5 minutos**.
7. Continúe con los pasos de unión de ADN, lavado y elución, según el procedimiento n.º 1 "AISLAMIENTO DE ADN DE LOS ALIMENTOS" (página 5)

## 3. AISLAMIENTO DE ADN BACTERIANO A PARTIR DE CULTIVOS DE ENRIQUECIMIENTO

⚠ Antes de comenzar, precaliente el buffer de lisis y el buffer de elución a 70 °C.

### Paso de concentración

1. Centrifugue **1 ml** de medio de preenriquecimiento o enriquecimiento a más de **10 000 g durante 5 minutos**. Deseche el sobrenadante.  
Evite transferir los desechos de alimentos desde el medio de enriquecimiento hasta el tubo de microcentrifugado.

### Paso de lisis celular

2. Pipetee **500 µl de buffer de lisis** (precalentado) en el tubo de microcentrifugado. Agite enérgicamente con el vórtex.
3. Aplique un centrifugado corto e incube durante **15 minutos a 95 °C**.
4. Centrifugue a **más de 10 000 g durante 5 minutos**.
5. Continúe con los pasos de unión del ADN, lavado y elución, según el procedimiento n.º 1 "AISLAMIENTO DE ADN DE LOS ALIMENTOS" (página 5)

#### 4. AISLAMIENTO DE ADN RECOGIDO EN HISOPOS Y ESPONJAS

⚠ Antes de comenzar, precaliente el buffer de lisis y el buffer de elución a 70 °C.

##### Paso de lisis celular

1. Añada un hisopo/una esponja a **1000 µl de buffer de lisis** (precalentado) al tubo de microcentrifugado, y añada **25 µl de proteinasa K**. Agite enérgicamente con el vórtex.
2. Incube a temperatura ambiente durante 2 horas con agitación.
3. Extraiga el hisopo/la esponja presionándolos contra la pared del tubo de microcentrifugado, para recuperar toda la muestra.
4. Aplique un centrifugado corto e incube durante **30 minutos a 65 °C**. Agite con el vórtex una o dos veces durante la incubación (opcional).
5. Centrifugue a **más de 10 000 g durante 5 minutos**.
6. Continúe con los pasos de unión del ADN, lavado y elución, según el procedimiento n.º 1 "AISLAMIENTO DE ADN DE LOS ALIMENTOS" (página 5)

## FLUJO DE TRABAJO (1. ALIMENTOS y 3. CULTIVO DE ENRIQUECIMIENTO)

### PROCEDIMIENTO 1 y 3

#### 1 HOMOGENEIZACIÓN DE LOS ALIMENTOS



Homogeneice y pese 200 mg de alimentos (para otros procedimientos, consulte el protocolo completo)

#### 2 LISIS CELULAR



Agregue 1000  $\mu$ l de buffer de lisis + 25  $\mu$ l de proteinasa K; 65 °C, 30 min (alimento)

**o bien**

500  $\mu$ l de buffer de lisis 95 °C, 15 min (bacterias)  
>10 000 x g, 5 min Tome 500  $\mu$ l de sobrenadante y continúe con el paso 4

#### 3 UNIÓN DEL ADN



500  $\mu$ l de sobrenadante (paso 3) + 250  $\mu$ l de buffer de unión. Cargue la columna de centrifugado (máx. de 600  $\mu$ l)  
>10 000 x g, 1 min

#### 4 LAVADO



500  $\mu$ l de buffer de lavado 1  
>10 000 x g, 1 min  
700  $\mu$ l de buffer de lavado 2  
>10 000 x g, 1 min  
>10 000 x g, 3 min

#### 5 ELUCIÓN DEL ADN



100  $\mu$ l de buffer de elución (precalentado a 70 °C)  
>10 000 x g, 1 min

## FLUJO DE TRABAJO (2. PRODUCTOS LÁCTEOS)

### PROCEDIMIENTO 1 y 3

#### 1 HOMOGENEIZACIÓN DE LOS ALIMENTOS



Homogeneice y pese 50 ml de alimentos (consulte el protocolo completo de cada tipo de alimento)

#### 2 LAVADO DEL PELLET



>10 000 x g, 10 min  
>10 000 x g, 10 min 1 ml de agua sin nucleasa o una solución salina tamponada con fosfato (PBS)  
>10 000 x g, 3 min

#### 3 LISIS CELULAR



Buffer de lisis de 1000  $\mu$ l + 50  $\mu$ l de proteinasa K  
65 °C, 30 min (alimentos)  
>10 000 x g, 5 min Tome 500  $\mu$ l de sobrenadante y continúe con el paso 4

#### 4 UNIÓN DEL ADN



500  $\mu$ l de sobrenadante (paso 3) Buffer de unión de 250  $\mu$ l Cargue la columna de centrifugado (máx. de 600  $\mu$ l)  
>10 000 x g, 1 min

#### 5 LAVADO



500  $\mu$ l de buffer de lavado 1  
>10 000 x g, 1 min  
700  $\mu$ l de buffer de lavado 2  
>10 000 x g, 1 min  
>10 000 x g, 3 min

#### 6 ELUCIÓN DEL ADN



100  $\mu$ l de buffer de elución (precalentado a 70 °C)  
>10 000 x g, 1 min

## RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Problemas	Posible motivo	Sugerencias para la resolución
Bajo rendimiento del ADN o baja pureza del ADN	Condiciones de conservación inadecuadas	El kit debe conservarse entre +15 °C y +25 °C, excepto la proteinasa K, que debe conservarse a -20 °C. Los tapones del tubo y de la botella deben sellarse herméticamente después de cada uso, para mantener los valores del pH y la estabilidad de los componentes del kit, y para evitar la contaminación
	Los productos químicos y la muestra no se mezclan bien.	La muestra debe mezclarse bien después de cada adición química.
	La elución ha sido insuficiente.	Incubar la columna con un buffer de elución durante 2 minutos a 70 °C puede aumentar el rendimiento Eluda el ADN con 50 µl de buffer de elución
No hay amplificación después de la realización de la PCR/qPCR o bien las reacciones enzimáticas no están funcionando.	Hay residuos de alcohol en el aislado de ADN.	El etanol restante después de los pasos de lavado debe eliminarse centrifugando la columna a más de 10 000 g durante 3 minutos

## CONTROL DE CALIDAD

Cada lote del kit se analiza conforme a especificaciones predeterminadas, para garantizar que la calidad del producto sea uniforme.

## MARCA REGISTRADA, DESCARGO DE RESPONSABILIDAD Y RESTRICCIÓN DEL USO DE PRODUCTOS

No debe considerarse que los nombres registrados, las marcas comerciales, etc., utilizados en este documento, incluso cuando no estén específicamente indicados como tales, están desprotegidos por la ley. Los folletos de los kits y los manuales de usuario de Condagene® se pueden solicitar a Condalab o al distribuidor local.

Si se utiliza este producto, se da por hecho que el comprador o el usuario aceptan los siguientes términos: El kit debe utilizarse únicamente conforme a las instrucciones de uso respectivas. Condalab no concede ninguna licencia sobre su propiedad intelectual para usar o incorporar los componentes incluidos en este kit con componentes que no estén incluidos en este kit, salvo lo descrito en las instrucciones de uso. Este kit y sus componentes tienen licencia para un solo uso y no pueden reutilizarse, reacondicionarse ni revenderse.

¡Los componentes del kit están destinados exclusivamente para uso in vitro, y solo para investigación! Los productos Condalab están destinados únicamente al uso general en el laboratorio. Los procedimientos de biología molecular, como las extracciones de ADN y la amplificación mediante PCR, requieren que intervenga personal cualificado para evitar el riesgo de que se generen resultados erróneos. Es muy aconsejable contar con áreas, materiales y equipos específicos para la extracción de ADN, la preparación de la PCR y los procedimientos posteriores a la PCR. El flujo de trabajo del laboratorio debe avanzar de manera unidireccional, comenzando en el Área de Extracción y continuando hacia el Área de Amplificación y Detección. No vuelva a colocar las muestras, los equipos y los reactivos en el área donde realizó el paso anterior. Antes de llevar a cabo el ensayo, el usuario siempre debe leer todas las instrucciones proporcionadas con el producto. No mezcle los reactivos de diferentes lotes. No utilice los reactivos de productos de otros fabricantes. Utilice guantes desechables y batas de laboratorio cuando manipule las muestras y los reactivos. Utilice puntas de pipeta estériles con filtros. Los residuos deben tratarse y eliminarse de conformidad con las normas de seguridad correspondientes.

## INFORMACIÓN ADICIONAL

Para obtener información adicional, recibir asistencia técnica o resolver problemas, póngase en contacto con: [micro@condalab.com](mailto:micro@condalab.com)

## INFORMACIÓN SOBRE LOS PEDIDOS

Condalab ofrece una amplia gama de productos. Visite [www.condalab.com](http://www.condalab.com) o póngase en contacto con [micro@condalab.com](mailto:micro@condalab.com) para obtener información más detallada sobre el producto.

### Kits de extracción

Referencia	Descripción
6500	Condagene® Extracción Complex 100 rxn
6504	Condagene® Extracción Rapid 100 rxn
6505	Condagene® Extracción Rapid 250 rxn
6506	Condagene® Extracción Column 50 rxn
6507	Condagene® Extracción Column 250 rxn

Conda<sup>ene</sup><sup>®</sup>

[www.condalab.com](http://www.condalab.com)