



PURIFICACIÓN y CUANTIFICACIÓN DE PRODUCTOS DE PCR

Es sabido que para llevar a cabo la reacción de secuenciación de amplificados, estos deben estar previamente purificados, es decir, libres de restos de *primers*, dNTPs, enzimas y demás compuestos utilizados durante la PCR. La calidad de las secuencias esta directamente relacionada con el proceso de purificación empleado, por lo que este método interfiere directamente en el resultado final.

La purificación del producto de PCR se puede realizar mediante el empleo de kits comerciales específicos, como por ejemplo QIAquick PCR Purification kit de QIAGEN, No. Cat. 28106. o High Pure PCR Product Purification Kit de Roche Molecular Biochemicals, No. Cat. 1 732 668. Estos kits son de fácil utilización, no requieren de equipamiento especializado (solo una microcentrifuga) y se presentan en formato individual, por lo que el usuario del servicio de Secuenciación puede incorporar sin dificultad este último paso al protocolo aplicado en su laboratorio tras la amplificación de la secuencia de interés, y mandarnos directamente el producto de PCR purificado y cuantificado.

Sin embargo, el servicio también ofrece la posibilidad de remitir el amplificado sin purificar. El servicio se encargará de purificar y cuantificar el producto de PCR mediante un sistema robotizado.

METODOLOGÍA EMPLEADA

Purificación

El servicio ha robotizado el protocolo del kit de Purificación de productos de PCR *MultiScreen HTS PCR 96-Well Plate* (Millipore) adaptándolo a los robots Hamilton *Starlet*. Este kit presentado en formato placa, permite la purificación de 10-300ul de producto de PCR mediante filtración por vacío. Sin embargo, tiene la limitación de no poder purificar surfactantes y estabilizadores de proteína por lo que no se recomienda su uso en productos de PCR que contengan Tween-20, Triton X-100, Nonidet P-40,....

La concentración final del purificado suele ser menor que la obtenida por los kits individuales convencionales pero resulta más que suficiente para su uso en reacciones de secuenciación. El producto se resuspende en agua.

Cuantificación

La cuantificación se lleva a cabo en un espectrofotometro NanoDrop® ND-1000, que además de valores de concentración, también da valores de relación 260/280 (ADN/proteínas) y 260/230 (ADN y solventes orgánicos) que aportan información sobre pureza del producto.

TARIFAS

	Miembros de la UPV/EHU	Centros públicos de investigación	Empresas privadas
Purificación + cuantificación	2,5 €	3,75€	5€

Se ofrecen precios especiales, previa consulta, para el análisis de grandes volúmenes de muestras.