



Biodynamics

Boletín Técnico #161

Papel Nucleico

Cat#B161- 5

Descripción

Papel tratado para conservar DNA de fluidos biológicos para su posterior amplificación por PCR (*Polymerase Chain Reaction*).

Presentación

5 tarjetas para 6 muestras cada una.

Utilización

1-Archivo de la muestra

Pipetear dentro de cada círculo 20 a 25 μL del fluido biológico. Para saliva rotar sobre el papel un hisopo conteniendo células de la mucosa bucal. Para muestras sólidas (hojas, tejidos animales, etc.) presionar sobre el papel girando suavemente.

Dejar secar a T° ambiente.

Archivar en un lugar seco a T° ambiente (ej. un cuaderno o fichero).

Nota: Si bien es improbable que exista contaminación cruzada entre los distintos círculos, se recomienda utilizar tarjetas separadas para muestras críticas o de riesgo.

2-Amplificación de la muestra

Tomar con un sacabocados o una tijera una sección de 2 mm de diámetro de papel con muestra.

Colocar la porción de papel en un microtubo con 500 μL de agua.

Vortexear 5 segundos.

Transferir el papel a un nuevo microtubo con 100 μL de agua.

Calentar a 95° C 10 minutos.

Tomar 5 a 20 μL de la solución para usar como templado de la PCR.

Nota: Es altamente aconsejable utilizar el templado inmediatamente después de la purificación. El congelado del mismo puede reducir significativamente el resultado de la reacción de PCR.

Ejemplos

-Saliva

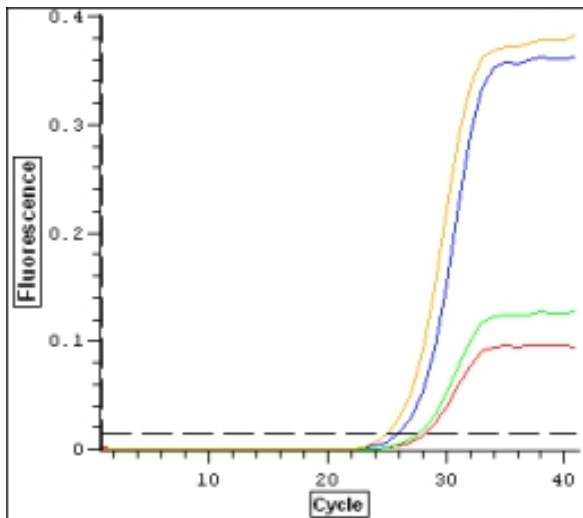
Es el método de elección para genotipificación y otras aplicaciones, rinde diez o más veces que las muestras de sangre, además de ser más inocuo (ver gráfico más abajo). Extraer las células de la mucosa bucal frotando y girando al mismo tiempo con un hisopo la parte interna de la mejilla. Luego transferir el contenido del hisopo presionando y girando contra el papel nucleico hasta humedecerlo.

-Sangre

Obtener una gota de sangre de un dedo con una lanceta y sembrar directamente evitando en lo posible el contacto

de la piel con el papel. Alternativamente, coleccionar la sangre en un tubo y luego sembrar con una pipeta. Es indistinto utilizar sangre entera o tratada con anticoagulante.

Comparación saliva vs. sangre



El gráfico muestra una amplificación del control beta-actina exón 3 (cat# B072-40) mediante Real-Time PCR a partir de muestras de saliva y sangre. Las líneas amarilla y azul representan duplicados a partir de saliva y las líneas verde y roja duplicados a partir de sangre.

-Cultivos bacterianos (Minipreps)

A partir de placas: tomar una colonia con la ayuda de un tip e introducir el mismo en 20 μ l de agua. Calentar 95° C por 2 minutos (opcional). Sembrar la solución en el papel.

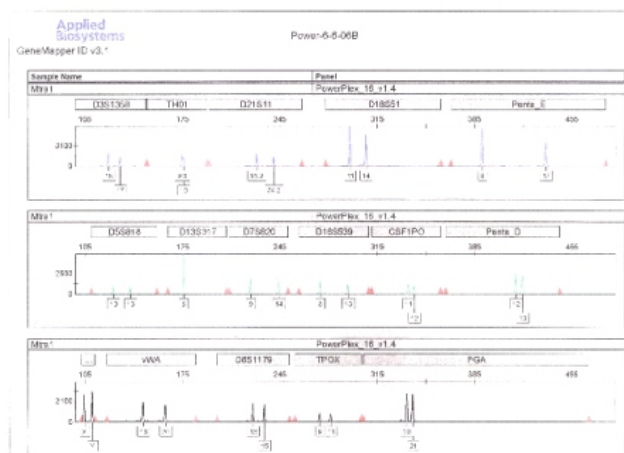
A partir de suspensiones: Sembrar directamente en el papel.

-Plantas

Rotar una porción de hoja sobre el papel hasta obtener un color verde. Dejar secar unos minutos y continuar con el lavado de 500 mL según indica el protocolo.

-Identificación genética

Utilizar 10 μ L de DNA como templado para amplificar short tandem repeats (STRs) en multiplex, por ejemplo, empleando el PowerPlex 16™ de Promega. Separar los productos de la amplificación en un secuenciador ABI310™ o similar.



El gráfico muestra la resolución de 15 loci de STRs y del gen de amelogenina para sexado en un individuo masculino utilizando tres canales de fluorescencia.

Conservación

Tº Ambiente.