

Purificación del ADN mediante columnas de sílica

1. Separar y conservar una alícuota de la reacción (por ejemplo 10 μL) a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para análisis posterior.
2. Transferir el volumen restante (40 μL) de la reacción de PCR a un tubo de 1,5 mL y llevar a 100 μL .
3. Añadir **5 volúmenes de DNA Cleanup Binding Buffer** por cada volumen de muestra (relación 5:1).
 - Ejemplo: 100 μL de muestra + 500 μL de buffer.
Mezclar suavemente por pipeteo (no vortex).
4. Colocar una columna de purificación en un tubo colector.
5. Transferir la mezcla del paso 3 a la columna. Centrifugar a **16.000 x g durante 1 minuto**. Descartar el líquido que pasó a través de la columna (*Flow-through*).
6. Agregar **200 μL de DNA Wash Buffer** a la columna.
Centrifugar 1 minuto y descartar el líquido que pasó a través de la columna.
7. Repetir el lavado (paso 6) una segunda vez.
8. Transferir la columna a un tubo limpio de 1,5 mL.
(Opcional: centrifugar 1 minuto adicional para eliminar restos de etanol).
9. Añadir **20 μL agua libre de nucleasas** directamente sobre la membrana de la columna.
10. Incubar 1 minuto a temperatura ambiente (T.A.).
11. Centrifugar a 16.000 x g durante 1 minuto para recuperar el **ADN purificado**.