

# ChargeSwitch, Tecnología de Purificación de ácidos nucleicos

## Nuevas herramientas para la purificación de DNA y RNA para la investigación clínica

La genotipificación y la expresión génica son fundamentales en la investigación actual y requieren materiales de partida de alta calidad. La tecnología ChargeSwitch es la más simple, limpia y más efectiva para la purificación de todos los tipos de ácidos nucleicos. Esta tecnología se basa en una cobertura ionizable que puede ser unida covalentemente a la superficie de una perla magnética o no magnética, una membrana o inclusive tubos plásticos o placas. Cuando esta cobertura está cargada positivamente, funciona como una superficie capaz de unir eficientemente los ácidos nucleicos. Alterando luego el pH de los buffers, se cambia la carga de la superficie de forma tal que los ácidos nucleicos son liberados y recuperados en la solución.

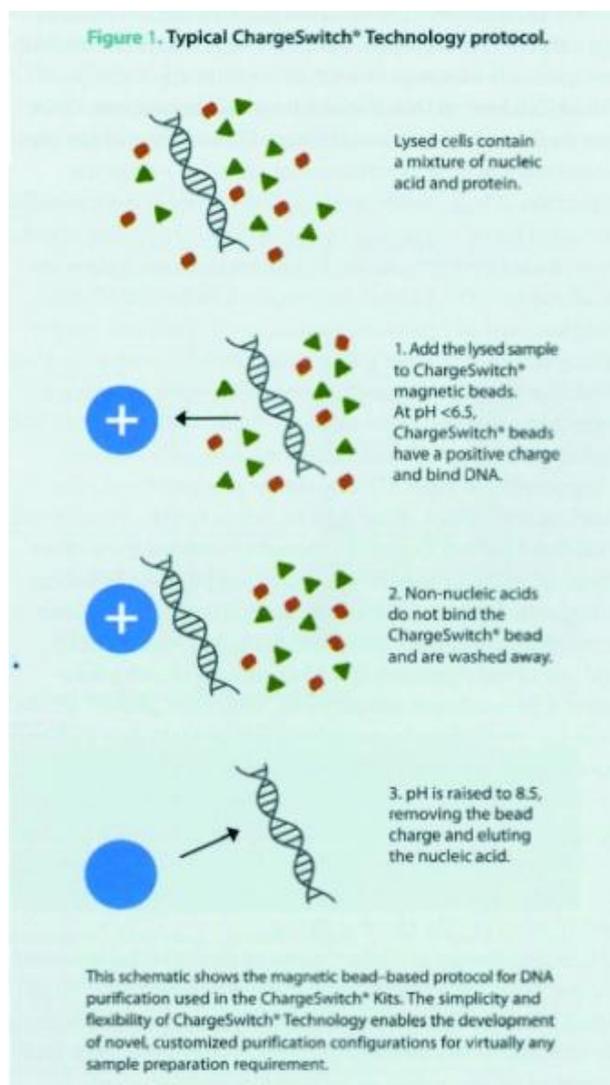
Los kits ChargeSwitch que incorporan esta tecnología tanto en los protocolos para perlas magnéticas como en los de microplacas permiten la purificación del DNA y RNA en tres simples pasos que siguen a la lisis celular:

- 1) unión del ácido nucleico
- 2) lavado para remoción de contaminantes
- 3) elusión del ácido nucleico (Fig 1).

Por ejemplo, a pH menor a 6,5, la superficie que recubre la perla del ChargeSwitch, tiene carga positiva que une en forma selectiva los ácidos nucleicos (cargados negativamente). Luego de lavar para eliminar las proteínas y contaminantes con un buffer acuoso, la carga en la superficie celular se neutraliza con un buffer pH 8,5, que provoca entonces la liberación del ácido nucleico eluyendo en un buffer de bajo contenido de sales.

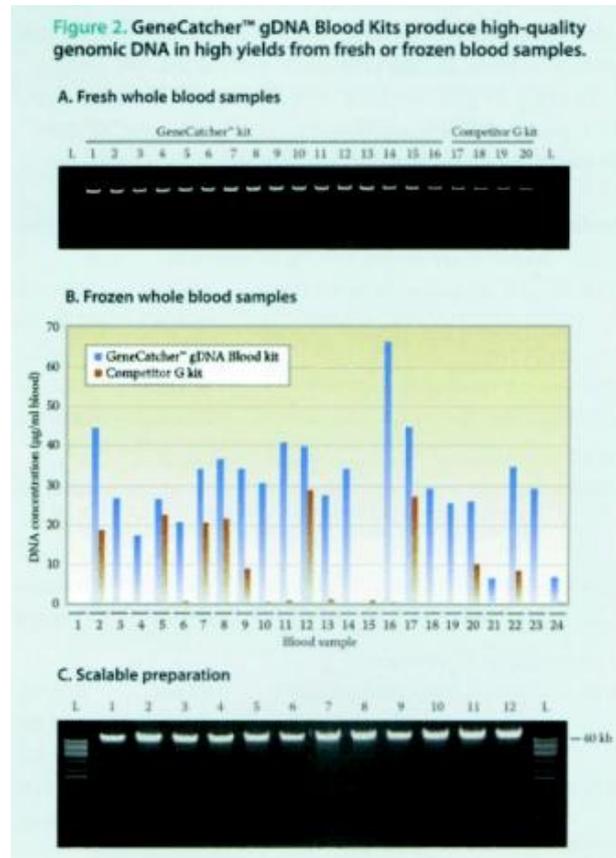
Los kits ChargeSwitch se presentan en diversos formatos para purificación manual y automatizada. Además, debido a que los protocolos de los ChargeSwitch evitan el uso de agentes como la guanidina y el etanol, que pueden interferir en las aplicaciones posteriores, los ácidos nucleicos purificados por esta tecnología pueden utilizarse en las más sensibles técnicas analíticas como la PCR, qPCR, RT-PCR, análisis STR y secuenciación. Los kits GeneCatcher utilizan las perlas ChargeSwitch en un protocolo modificado que permite capturar de manera

eficiente todo el DNA genómico presente en grandes muestras de sangre, con distintos volúmenes iniciales (0.3-1mL y 3-10 mL). El ácido nucleico obtenido es extremadamente puro y listo para ser utilizado en aplicaciones posteriores de alta sensibilidad.



## Gene Catcher gDNA Blood kits, para purificación de DNA genómico a partir de muestras de sangre.

La genotipificación y análisis de expresión génica, requieren trabajar con DNA genómico de alta pureza y calidad, a partir de muestras de sangre obtenidas con diversos anticoagulantes y conservadas en una amplia variedad de diferentes condiciones. Con estos kits que emplean las perlas magnéticas ChargeSwitch y un protocolo optimizado se logra extraer DNA genómico de alto peso molecular de manera eficiente y confiable a partir de sangre entera. El procesamiento de la muestra se realiza en un único tubo y no requiere centrifugación ni separación de leucocitos. Pueden procesarse muestras de sangre fresca o que hayan sido conservadas congeladas, o expuestas a numerosos ciclos de congelamiento y descongelamiento, muestras degradadas, viejas o en diversos anticoagulantes, sin interferencia alguna en el método. Los métodos tradicionales de purificación, como el Salting Out, generalmente producen buen rendimiento y calidad de DNA pero no son efectivos para trabajar con muestras en tan diversas condiciones, el DNA genómico obtenido con los kits Gene Catcher resulta ser más limpio y de mayor calidad (Fig 2 AB) en todos los casos. Si bien el rendimiento depende del volumen de muestra de partida y del recuento leucocitario, normalmente a partir de 10 mL de sangre el rendimiento es 300 µg.



El protocolo del GeneCatcher puede adaptarse para extracciones a partir de muestras entre 300 µl hasta 10 mL (Fig 2C), requiriéndose un rack magnético que permite procesar varias muestras simultáneamente. También pueden adaptarse al uso de robots, tales como el Tecan Freedom EVO, para el cual se desarrolló el kit GeneCatcher gDNA Automated Blood Kit.

El DNA genómico obtenido por este método ha sido validado para diferentes aplicaciones tales como “SGM y STR profiling”.

Charge Switch Direct 96 gDNA Kit: en este kit la superficie que actúa para unir el DNA está recubriendo una microplaca de 96 pocillos a fin de permitir la purificación y la amplificación por PCR en la misma placa. Todos los pasos se realizan fácilmente en la misma microplaca, y la purificación se completa en menos de 45 minutos, (Fig. 5) aplicable para discriminación alélica y análisis SNP.



Five different commercial suppliers' protocols were used to extract DNA from 10 µl aliquots of human blood: Supplier P, Supplier X, ChargeSwitch direct 96 gDNA Kit, Supplier D, and Supplier S. Although no other product employs a mode of action similar to that of the ChargeSwitch direct 96 Kit, the Supplier P, X, and S protocols are similar in processing speed and are considered “direct” (direct from DNA purification to PCR) methods. The protocol for product D uses a silica-based method that is not direct. All protocols were carried out according to the manufacturers' recommended instructions for blood. DNA samples (total proportion of extracted nucleic acid used differed between methods) were then subjected to a 30-cycle “short” actin PCR, and amplified products were run on a 1% agarose gel and visualized with ethidium bromide. Positive (50 ng of purified DNA) and negative PCR controls have also been included (+ and -, respectively); lane M contains 100 bp DNA. Ladder. Note that only the the ChargeSwitch direct 96 Kit provides robust and reproducible PCR results using a direct method.

ChargeSwitch Total RNA Cell Kit permite la extracción y purificación de RNA total, incluidos los microRNA que juegan un papel muy importante en el silenciamiento génico.

## Nuevo Instrumento para purificación automatizada a partir de tecnología Charge Switch: el Iprep





Permite procesar hasta 12 muestras en menos de 18 minutos, es fácil de instalar y de utilizar por trabajar con reactivos pre-empacados en cartuchos, compacto y robusto.

PRODUCTO	CANTIDAD	CATÁLOGO
GeneCatcher™ gDNA 0.3-1 ml Blood Kit	96 preps	CS21101
GeneCatcher™ gDNA 3-10 ml Blood Kit	20 x 10 mL	CS21110
GeneCatcher™ gDNA Automated Blood Kit	96 x 10 mL	CS21110-96
ChargeSwitch® Direct 96 gDNA Kit	One 96-well Plate	CS11205
	Ten 96-well Plates	CS11206
8-well strip, 96 preps	CS11209	
ChargeSwitch® Total RNA Cell Kit	50 preps	CS14010
MagnaRack™ Magnetic Rack, for use with 1.5 mL tubes	1 each	CS15000
50 mL tube Magnetic Separator	1 each	CS15050
24-well Magnetic Separator	1 each	CS15024
24 Deep Well RB Block	Case of 25	CS15124
Lids for 24 Deep Well RB Block	Case of 25	CS15125
iPrep™ Purification Instrument	1 each	IS-10000
iPrep™ ChargeSwitch® Forensic Kit	52 preps	IS-10002
iPrep™ ChargeSwitch® Buccal Cell Kit	52 preps	IS-10003
iPrep™ ChargeSwitch® gDNA Tissue Kit	52 preps	IS-10004
iPrep™ ChargeSwitch® gDNA Tissue Kit	52 preps	IS-10001



Para mayor información consultar a [arorders@invitrogen.com](mailto:arorders@invitrogen.com) - Tel.: (54 11) 4556 0844

Esta es una traducción del artículo publicado en Quest, an Invitrogen Publication for Discovery, Volumen 4, Issue 1, Quarter 1 2007, Pag 13-17