

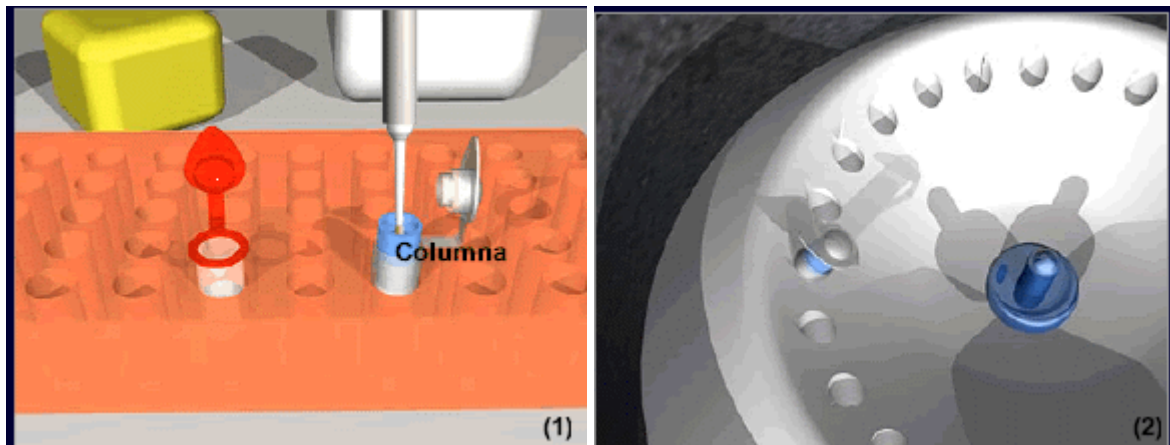
[ [Principal](#) ] [ [Preparación de la muestra](#) ] [ [Amplificación por la PCR](#) ] [ Purificando el producto de la PCR ]  
[ [Preparando la secuenciación](#) ] [ [Secuenciando el ADN](#) ] [ [Identificando la bacteria](#) ]

**Tema desarrollado a partir de las animaciones de:**  
**The Virtual Bacterial ID Laboratory**  
De la Fundación Howard Hugues: <http://www.hhmi.org/biointeractive/>

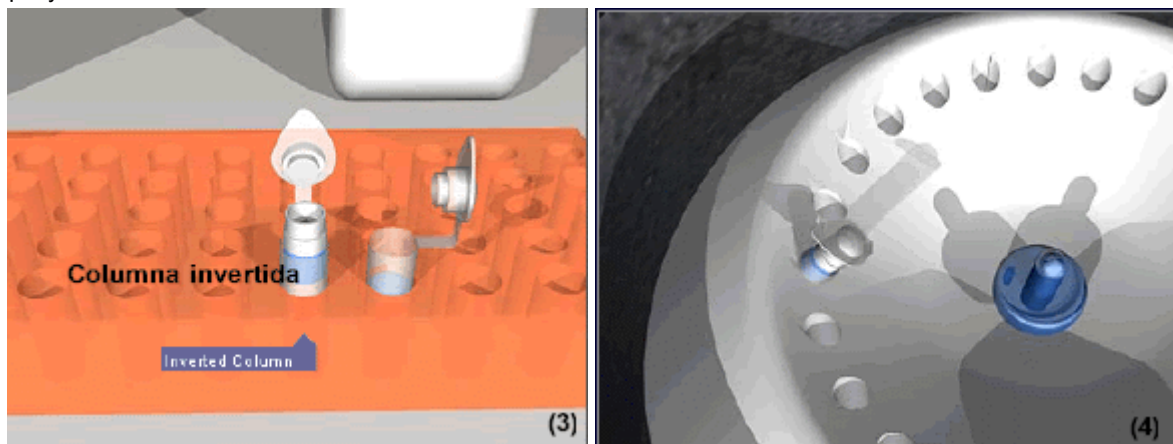
### Parte 3 - Purificando el producto de la PCR

El tubo de la reacción al final de la misma contiene muchas copias del gen del ADN correspondiente al ARNr 16s, cada una de unos de 1.500 pb (pares de base) de longitud. A este punto conviene realizar una corrida electroforética en un gel para confirmar que la PCR trabajó. El gel debe tener tres pistas, una para el control negativo, que no debe tener producto a menos que haya producido una contaminación; otra para el control positivo (el producto de la PCR de una secuencia conocida de ADN) para asegurarse que el sistema funcionó, y por último la muestra.

Si se confirma que la reacción funcionó correctamente, se procede a purificar el producto de la PCR. Correr un gel, es actualmente un procedimiento de purificación, una vez que el producto se separó durante la corrida, se corta la banda correspondiente y se extrae el ADN. Se puede también usar una columna microconcentradora que filtra el ADN tal como se describe a continuación



1. Se Inserta la columna microconcentradora (1) del tamaño apropiado en un tubo colector.
2. Se agrega buffer ( 400  $\mu$ l) y todo el contenido del tubo de la PCR a la columna (~100  $\mu$ l).
3. Se centrifuga a 3,000 rpm en una microcentrífuga (2) de ángulo fijo por 15 minutos
4. El producto de la PCR queda atrapado en la columna, y el tubo colector recibe los primers, nucleótidos etc., que ya no se necesitan. El tubo colector se descarta.



5. La columna se invierte (3) sobre un nuevo tubo colector.
6. Se agrega 50  $\mu$ l de buffer a la columna invertida y se centrifuga a 3,000 rpm en una microcentrífuga de ángulo fijo por 2 minutos para recolectar el ADN en el tubo colector, la columna se descarta.

El tubo colector final contiene el ADN correspondiente al gen del ARNr 16S con una muy pequeña cantidad de ADN

mas largo (como contaminante).

[ [Atrás](#) ] [ [Siguiete](#) ]