infoPoint

Descontaminación de ácidos nucleicos con DNA/RNA-ExitusPlus™

Aplicación

La descontaminación completa de equipos y superficies de cualquier molécula de ADN y ARN es importante para la contención y seguridad biológica, así como la prevención de falsos resultados en experimentos de amplificación por PCR. DNA/RNA-ExitusPlus™ es una solución de descontaminación segura de ácidos nucleicos para laboratorios de biología molecular. Los efectos catalíticos cooperativos de los componentes de la solución causan una muy rápida degradación inespecífica, no enzimática, de moléculas de ADN y ARN.

Eliminación de ADN - todo o nada

Comparando DNA/RNA-ExitusPlus™ con otros productos convencionales, se ha demostrado que es rápido y eficaz en la eliminación de ácidos nucleicos, sin efectos nocivos para los usuarios del laboratorio, los equipos o para el medioambiente. La mayoría de los reactivos descontaminantes están basados en principios moleculares de destrucción o inactivación de material genético. La modificación y desnaturalización puede enmascarar, pero no destruir la información genética codificada en las cadenas de ADN y existe el riesgo de que puedan ser reactivadas químicamente. Por lo tanto, la descontaminación de ADN segura y completa depende de la degradación del ADN en fragmentos muy pequeños. La Fig. 1 muestra el proceso de fragmentación producido por DNA/RNA-ExitusPlus™ comparado con el de reactivos convencionales. La degradación completa se produjo únicamente con DNA/RNA-ExitusPlus™, mientras que con los otros productos descontaminantes, basados en la técnica de modificación o desnaturalización, se encontraron fragmentos parcialmente degradados (algunos de los cuales contenían información genética completa).

Palabras clave

- Descontaminación de ácidos nucleicos
- Test de degradación de ADN
- PCR, qPCR

Degradación no específica de hebras de ADN

Únicamente nuestro producto patentado DNA/RNA-ExitusPlus™, logra una degradación rápida y eficaz de los ácidos nucleicos, debido a que su método único de acción se basa en la actividad química y no enzimática. Por lo tanto, sus efectos sobre la fragmentación son totalmente independientes de la secuencia y el tamaño de los fragmentos de ADN. Los plásmidos más grandes requieren un tiempo de incubación más largo que los más pequeños (por ejemplo, primers). Los “nicks” serán producidos al azar en cualquier sitio, sin dejar ningún fragmento entero.

Descontaminación de ácidos nucleicos con DNA/RNA-ExitusPlus™

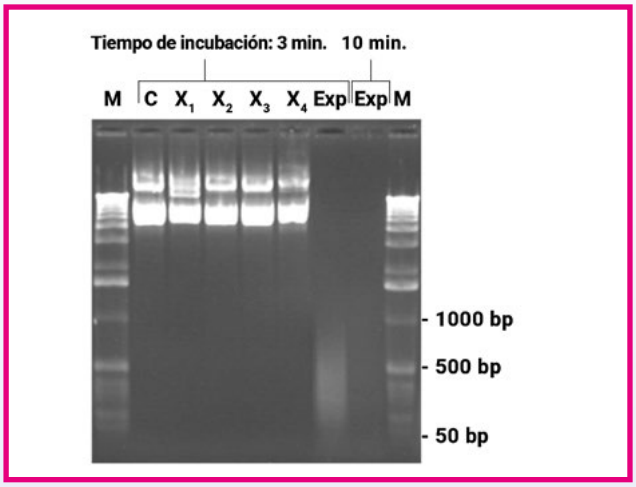

Figura 1. Comparación de la degradación de ADN con DNA/RNA-ExitusPlus™ y con reactivos convencionales de descontaminación de ADN. 200 ng de cada plásmido de ADN CCC fueron tratados con 5 µl del reactivo indicado durante 3 o 10 min. respectivamente.
M = marcador de tamaño molecular, C = control (tratado con agua), X1, X2, X3, X4 = otros productos, Exp = DNA/RNA-ExitusPlus™.

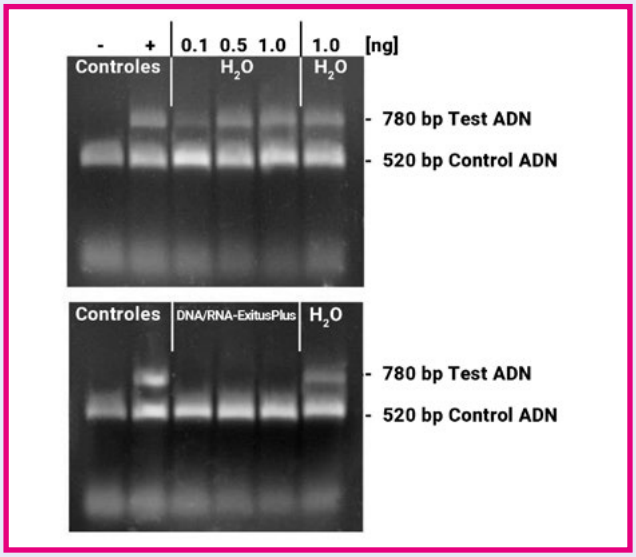

Figure 2. Complete removal of DNA contaminations by DNA/RNA-ExitusPlus™ determined by sensitive PCR assay.
Experimental procedure: Test DNA (0.1 to 1 ng) was lyophilized on the inner surface of PCR tubes, incubated for 20 secs with sterile water or DNA/RNA-ExitusPlus™, then washed twice with 100 µl of sterile water. For the PCR test we used 50 µl of each of the reaction mixtures , containing the appropriate primers for the amplification of the control and test DNA sequences. Control DNA (1 ng) in each sample proves that the PCR reaction is not inhibited. Results: Amplification of a DNA band, corresponding to the test DNA, indicates that intact DNA molecules are present. Conversely, if no amplification DNA bands are present, it indicates complete degradation of the test DNA. The negative control with sterile water (H_2O) exhibits DNA bands for the test and control templates whilst after treatment with DNA/RNA-ExitusPlus™ only the fragment of the control DNA is amplified.

El análisis PCR de alta sensibilidad (Fig. 2) muestra que, después del tratamiento con DNA/RNA-ExitusPlus™, ya no quedaron restos de moldes de ADN amplificables, lo que demuestra que hubo una degradación de moléculas de ADN altamente eficaz. En este experimento se secaron muestras definidas de ADN sobre la superficie interior de los tubos de reacción, aplicándose a continuación un tratamiento con DNA/RNA-ExitusPlus™. Solo los controles positivos y los controles con agua tratada mostraron amplificación del test de ADN mientras que las muestras tratadas con DNA/RNA-ExitusPlus™ no mostraron secuencias amplificadas.

La aplicación en aerosol de DNA/RNA-ExitusPlus™ sobre las superficies de trabajo asegura una eliminación completa de ácidos nucleicos. El tiempo de reacción para DNA/RNA-ExitusPlus™ corresponde al tiempo normal de secado (10 a 20 minutos).

Efecto secundario no deseado con reactivos convencionales: Corrosión

La mayoría de los productos de descontaminación de ADN convencionales contienen productos químicos agresivos con efectos corrosivos, nocivos o incluso tóxicos. Se utilizan ingredientes tales como azidas, ácidos minerales como ácido fosfórico o ácido clorhídrico, peróxidos agresivos o sustancias alcalinas fuertes como hidróxido de sodio. Con este tipo de productos se pueden observar daños irreversibles de las superficies metálicas incluso después de un tiempo de incubación corto. Por el contrario, DNA/RNA-ExitusPlus™ no muestra corrosión del metal (Fig. 3).

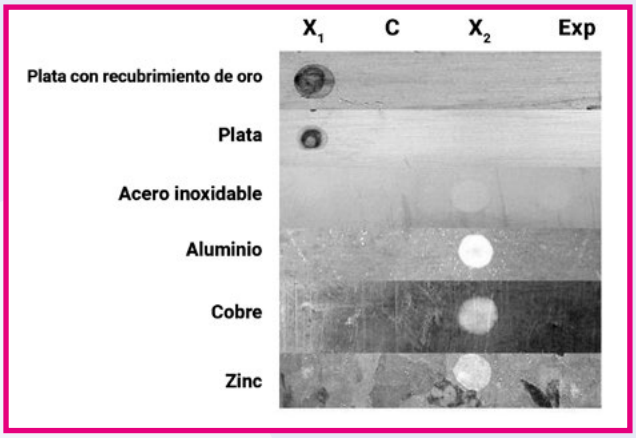

Figura 3. DNA/RNA-ExitusPlus™ no tiene potencial corrosivo comparado con reactivos convencionales de descomposición de ADN.
Las placas de metal que representan equipos y materiales típicos de laboratorio fueron tratadas con 10 µl de cada uno de los reactivos indicados durante 20 minutos. No se observaron efectos corrosivos al utilizar DNA/RNA-ExitusPlus™ (en algunos casos se observa un efecto de pulido por la eliminación de suciedad o capas de óxido). C = agua, Exp = DNA/RNA-ExitusPlus™, X1, X2 = otros productos comercialmente disponibles.

Descontaminación de ácidos nucleicos con DNA/RNA-ExitusPlus™

PanReac AppliChem
ITW Reagents

El tratamiento en autoclave no destruye totalmente los ácidos nucleicos

El autoclavado está considerado como un método efectivo para la descontaminación de ADN, aunque limitado para el uso de materiales resistentes al calor y equipos que quepan en el autoclave. Bajo condiciones estándar de autoclavado se cree que las moléculas de ADN se degradan en fragmentos muy pequeños. Sin embargo, el análisis por PCR demuestra que incluso después de autoclavar, es posible identificar fragmentos largos de ADN [1], especialmente cuando los ácidos nucleicos están protegidos por una envoltura proteica como en el caso de los virus, o en microorganismos con pared celular, como las bacterias. Por ello, se ha diseñado Autoclave-ExitusPlus™, una mezcla en polvo basada en la tecnología ExitusPlus™ para usar como aditivo en la descontaminación de líquido residual. Debido a su composición química (lo que se hace extensivo a todos los demás reactivos ExitusPlus™) Autoclave- ExitusPlus™ no es sensible al calor y no contiene ingredientes volátiles o nocivos. La figura 4 muestra los efectos de Autoclave- ExitusPlus™ en cultivos bacterianos y ácidos nucleicos después de autoclavar. Únicamente con la adición de Autoclave-ExitusPlus™ se consigue una degradación completa de ADN bacteriano, mientras que en condiciones estándar, por ejemplo, autoclavado en solución acuosa o en medio de cultivo, permanece siempre ADN sin degradar o parcialmente degradado. Por lo tanto, el uso de autoclave para eliminar ADN procedente de microorganismos debe ser reevaluado. Los últimos datos muestran que los ácidos nucleicos procedentes de virus y bacterias no son apropiadamente desactivados por simple autoclavado.

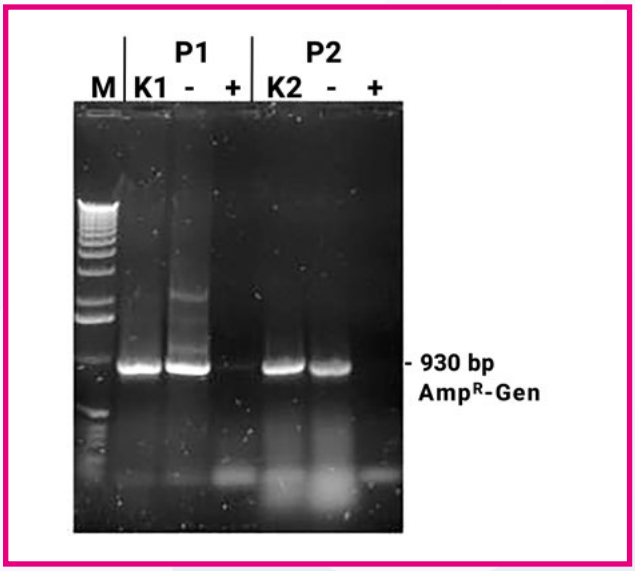

Figura 4. Análisis de dos cultivos de *E. coli* mediante PCR, después de la esterilización en autoclave con o sin Autoclave-ExitusPlus™. Dos cultivos recombinantes de *E. coli* (P1 y P2) conteniendo un plásmido con el gen de resistencia a la ampicilina (AmpR-Gen) tratados en autoclave. Alícuotas (2 µl) de los cultivos tratados en autoclave se analizaron por PCR para la presencia del gen completo AmpR.
(M) marcador de tamaño molecular, (-) = *E. coli*, además de agua, (+) *E. coli* más Autoclave-ExitusPlus™, (K1 y K2) = controles de amplificación de PCR: *E. coli* más Autoclave-ExitusPlus™ más 2 ng de gen AmpR patrón.

Resumen

Solo el análisis de PCR en combinación con un ensayo de degradación de ADN mostrará el verdadero potencial de descontaminación de un reactivo, evitando falsos resultados de enmascaramiento o de modificación del material de ácido nucleico. Las soluciones de DNA/RNA-ExitusPlus™ emplean una química suave no corrosiva para una rápida degradación no enzimática de los ácidos nucleicos. Incluso un corto tiempo de incubación con DNA/RNA-ExitusPlus™ elimina completamente el ADN y el ARN contaminante de las superficies de trabajo y herramientas.

Referencias

[1] Elhafi, G. et al. (2004) Microwave or autoclave treatments destroy the infectivity of infectious bronchitis virus and avian pneumovirus but allow detection by reverse transcriptasepolymerase chain reaction. Avian Pathology **33, 3003-306.**

Descontaminación de ácidos nucleicos con DNA/RNA-ExitusPlus™

IP-020ES;202211

Propiedades únicas y excepcionales de DNA/RNA-ExitusPlus™

- Los efectos catalíticos y cooperativos causan una muy rápida degradación inespecífica, no enzimática, de moléculas de ADN y ARN.
- Todos los componentes de DNA/RNA-ExitusPlus™ son fácilmente biodegradables y no perjudiciales o tóxicos para los seres humanos.
- Las soluciones no contienen ácidos minerales agresivos o sustancias alcalinas. Los equipos y materiales no resultan dañados o corroídos incluso después de tiempos de incubación prolongados.

Productos disponibles

Código de producto	Nombre de producto	Tamaños de envase
A7600,1000	Autoclave-ExitusPlus™	Polvo para tratar 6 x 1 L de medio o cultivo celular
A7089,0100	DNA/RNA-ExitusPlus™	100 mL
A7089,0500		500 mL
A7089,1000RF		1 L
A7089,2500RF		2.5 L
A7409,0100	DNA/RNA-ExitusPlus™ IF	100 mL
A7409,0500		500 mL
A7409,1000RF		1 L
A7409,2500RF		2.5 L
A7409,5000		5 L

Nota: DNA/RNA-ExitusPlus™ contiene un indicador de color amarillo claro. DNA/RNA-ExitusPlus™ se suministra con botella pulverizadora.
IF = sin indicador
RF = botella de recambio, sin pistola pulverizadora

IP-020ES

AppliChem GmbH Ottoweg 4 D-64291 Darmstadt Germany Phone +49 6151 9357 0 Fax +49 6151 9357 11 **info.de@itwreagents.com**

ITW Reagents, S.R.L. Corso Milano 31 I-20900 Monza (MB) Italy Phone +39 039 9530 360 Fax +39 039 9530 361 **info.it@itwreagents.com**

Panreac Química S.L.U. C/ Garraf 2, Polígono Pla de la Bruguera E-08211 Castellar del Vallès (Barcelona) Spain Phone +34 937 489 400 Fax +34 937 489 401 **info.es@itwreagents.com**

itwreagents.com