Digestión de ADN con

enzimas de restricción

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dr. Oscar Medina Contreras | Dr. Oscar Medina Contreras | Dra. Jenny Vilchis Gil |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 2020-04-08 | 2020-04-08 | 2020-05-01 |

1. **Propósito**

Utilizar enzimas de restricción para cortar en un sitio especifico del ADN de interés.

1. **Alcance**

Este procedimiento involucra a todo el personal técnico, científico y estudiantes que deseen cortar un fragmento sitio especifico de DNA para su uso posterior en otros experimentos en la Unidad de Investigación Epidemiológica en Endocrinología y Nutrición del Instituto Nacional de Salud Hospital Infantil de México Federico Gómez.

1. **Políticas de operación, normas y lineamientos**

Es responsabilidad de todo el personal técnico, científico y estudiantes adscritos a la Unidad de Investigación Epidemiológica en Endocrinología y Nutrición del Instituto Nacional de Salud Hospital Infantil de México Federico Gómez conocer y dar seguimiento a este procedimiento.

Los residuos de tipo CRETI (Corrosivas, Reactivas, Explosivas, Toxicas e Inflamables) se deberán eliminar con base en su clasificación y especificaciones de manejo según la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002; así como sus características intrínsecas y su toxicidad al ambiente según la NOM-052-SEMARNAT- 2005.

1. **Descripción del Protocolo**

* En un microtubo estéril agregar:

|  |  |
| --- | --- |
| Buffer de Enzima (10X) | 2µl |
| BSA acetilado 10µg/µl | 0.2µl |
| ADN 1µg/µl | 1µl |
| Enzima de restricción | 1 U |
| H2Od | Volumen final 20µl |

* Centrifugar por unos segundos. Incubar a 37 °C 1-4hrs.
* Analizar en gel de agarosa.

Notas: Este ensayo se ha probado para un volumen de sustrato de ADN 0.2-1.5µg, usando un exceso de enzima 2-10 veces sobre la cantidad ADN usado. Si se usa un contenido grande de DNA o enzima, se pueden obtener resultados erróneos.

1. **Diagrama de Flujo**
2. **Documentos de Referencia**

Manual de HindIII. Promega Corporation.