



REALCLEAN & CONCENTRATOR MICROSPIN KIT

Ref. **RBMCS04 50 Test**
Ref. **RBMCS05 250 Test**

1. INTRODUCCIÓN

Este kit provee un método rápido para la purificación y concentración de **ADN de elevada calidad a partir de reacciones de PCR o enzimáticas** utilizando unas columnas MicroSpin especiales **que permiten pequeños volúmenes de elución de 10 µl**

Aplicaciones:

- Limpieza de productos de PCR: eficiente eliminación de la polimerasa, primers y dNTPs libres.
- Limpieza del ADN en reacciones enzimáticas, incluyendo: Desfosforilación, Digestión con enzimas de restricción, Ligación, Síntesis de primers, Endlabeling and Nick translation.
- Eliminación de colorantes e isótopos: mediante este kit es posible la eliminación eficiente de fluorescentes no incorporados (AMCA, FITC, BIO, DIG, Cy3, Cy5, FAM, etc) y dNTPs marcados radiactivamente derivados de reacciones "in vitro" con ADN.

Características:

- Las columnas MicroSpin están diseñadas para permitir la elución en pequeños volúmenes (10 µl) produciendo ADN concentrado y con altos rendimientos.
- Límite tamaño ADN: Desde 70 pb to 23 Kb.
- Recuperación ADN: Típicamente es posible recuperar hasta 5 µg de ADN total por columna.
- El protocolo se realiza en tan sólo 2 minutos.
- Proceso rápido y de fácil uso.
- El ADN eluido puede ser utilizado en cualquier aplicación posterior.

1. INTRODUCTION

*This kit provides a rapid method for purification and concentration of **high-quality DNA from PCR or enzymatic reactions with an extremely small elution volume of only 10 µl** using special MicroSpin columns.*

Applications:

- *PCR products clean-up: efficient desalting of DNA with the removal of DNA polymerases, primers and free dNTPs.*
- *DNA clean-up from Enzymatic Reactions, including: Desphosphorylation, Restriction enzyme digestion, Ligation, Primed synthesis, Endlabeling and Nick translation.*
- *Isotope and Dye Removal, efficiently removes unincorporated fluorescent (i.e., AMCA, FITC, BIO, DIG, Cy3, Cy5, FAM, etc) and radiolabeled dNTP derivats from DNA following in vitro labelling reactions.*

Features:

- *The microspin columns are designed to allow elution in very small volumes (as little as 10 µl) delivering highly concentrated DNA in high yields.*
- *DNA Size Limits: From 70 pb to 23 Kb.*
- *DNA Recovery: Typically, up to 5 µg total DNA per column can be eluted into as little as 10 µl.*
- *The protocol is done in 2 minutes.*
- *Fast procedure and easy handling.*
- *Eluted DNA is well suited for use in DNA ligation, sequencing, labelling, PCR, etc.*



2. COMPONENTES DEL KIT

KIT COMPONENTS

	Ref.	Ref. RBMCS04 50 preps	Ref. RBMCS05 250 preps	T ^a
Solución de Unión 2 <i>Binding Solution 2</i>	CM02	15 ml	75 ml	RT
Solución de Lavado <i>Wash Solution</i>	EP08	10 ml	50 ml	RT
Tampón de Elución <i>Elution Buffer</i>	E13	2 ml	10 ml	RT
MicroSpin Columnas <i>MicroSpin Columns</i>	RSC05	50 unid.	250 unid.	RT
Tubos de Recogida <i>Collection Tubes</i>	R30	50 unid.	250 unid.	RT

Equipos y reactivos necesarios no incluidos en el kit:

- * Etanol 100 %.
- * Isopropanol
- * Baño de agua
- * Microtubos de 1.5 ml
- * Microcentrifuga.

Equipment and additional reagents required

- * 100 % Ethanol
- * Isopropanol
- * Water Bath
- * 1.5 ml microtubes
- * Microcentrifuge.

3. PROTOCOLO GENERAL

GENERAL PROCEDURE

3.1 Preparaciones preliminares

- **Añadir 40 ml** (ref. RBMCS04, 50 extracciones) **o 200 ml** (ref. RBMCS05, 250 extracciones) de etanol 100% a la solución de lavado (EP08). Marcar el envase y mantenerlo bien cerrado para evitar la evaporación del etanol.
- **Añadir 10 ml** (ref. RBMCS04, 50 extracciones) **o 50 ml** (ref. RBMCS05, 250 extracciones) de isopropanol 100% a la solución de unión 2 (CM02). Marcar el envase y mantenerlo bien cerrado para evitar la evaporación del etanol.
- Pre-calentar el Tampón de Elución a 70°C

3.1 Preliminary Preparations

- **Add 40 ml** (ref. RBMCS04, 50 extractions) **or 200 ml** (ref. RBMCS05, 250 extractions) of 100% ethanol to the wash solution (EP08). Label the container and keep it closed to avoid ethanol evaporation.
- **Add 10 ml** (ref. RBMCS04, 50 extractions) **or 50 ml** (ref. RBMCS05, 250 extractions) of 100% Isopropanol to the binding solution 2 (CM02). Label the container and keep it closed to avoid isopropanol evaporation.
- Pre-heat the elution buffer at 70°C.



3.2 Protocolo de trabajo

1. **Añadir 5 volúmenes de la solución de unión 2** (ref. CM02) **con isopropanol a 1 volumen** de PCR (50 -100 µl) o reacción enzimática. Mezclar bien.
2. **Pasar la muestra a una MicroSpin columna** con su tubo de recolección
3. **Centrifugar durante 1 minuto a 10.000-12.000 rpm.**
4. **Eliminar el filtrado y añadir 600 µl de la Solución de lavado** (ref. EP08). **Centrifugar 1 minuto a 14.000 rpm.**
5. **Eliminar el filtrado y añadir 200 µl de la Solución de lavado** (ref. EP08). **Centrifugar 1 minuto a 14.000 rpm.**
6. **Eliminar el etanol residual** por centrifugación durante 3 minutos a 14.000 rpm.
7. Colocar la MicroSpin columna en un microtubo de 1.5 ml y añadir **12 µl de Tampón**

de elución (10 mM Tris.HCl, pH 8.5) o agua a 70°C.

Asegurarse que el Tampón de elución es dispensado directamente en el centro de la membrana para una completa elución del ADN unido. El promedio de volumen de eluido son 10 µl a partir de 12 µl de tampón de elución utilizado.

La eficiencia de elución es dependiente del pH. Cuando utilicemos agua, asegurarse que el pH está dentro del rango de 7.0-8.5, y conservar el ADN a -20°C ya que el ADN se puede degradar en ausencia de un agente tamponador.

8. **Incubar durante 2 minutos y centrifugar durante 1 minuto a 14.000 rpm.**

3.2 Working Protocol

1. **Add 5 volumes Binding Solution 2** (ref. CM02) **with isopropanol to 1 volume of PCR** (50 -100 µl) or enzymatic reaction. Mix well.
2. **Transfer the sample to a MicroSpin column.** Put the spin column in collecting tube.
3. **Centrifuge for 1 minute at 10.000-12.000 rpm.**
4. **Remove the filtrate and add 600 µl of the Washing solution** (ref. EP08). Centrifuge for 1 minute at 14.000 rpm.
5. **Remove the filtrate and add 200 µl of washing solution.** Centrifuge for 1 minute at 14.000 rpm.
6. **Remove the residual ethanol** by centrifugation for 3 minutes at 14.000 rpm.
7. Transfer the spin column into a new receive microtube and add **12 µl of pre-warmed**

Elution Buffer (10 mM Tris.Cl, pH 8.5) or water at 70°C.

Ensure that the elution buffer is dispensed directly onto the centre of the membrane for complete elution of bounded DNA. The average elute volume is 10 µl from 12 µl elution buffer volume.

Elution efficiency is dependent on pH. When using, water, make sure that the pH value is within 7.0 and 8.5 range, and store DNA at -20°C as DNA may degrade in the absence of a buffering agent.

8. **Incubate for 2 minutes and centrifuge for 1 minute at 14.000 rpm.**

4. GUIA DE PROBLEMAS Y POSIBLES SOLUCIONES TROUBLESHOOTING

1. Recomendamos ponerse en contacto con el servicio técnico del laboratorio **REAL** en Durviz s.l., para cualquier consulta adicional respecto a los protocolos de trabajo o problemas que puedan surgir durante el trabajo

1. We recommend contact with **REAL** laboratory technical service at Durviz s.l., for any additional question regarding the work protocols or any problems you may have during work