

REAL GEL/PCR KIT

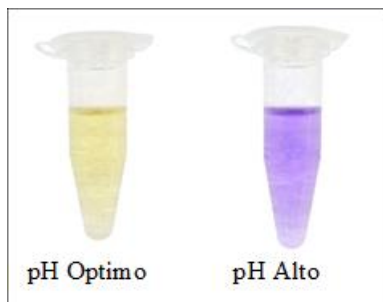
Ref. **RBMCS01:** (para **50 EXTRACCIONES**)
 Ref. **RBMCS02:** (para **250 EXTRACCIONES**)
 Ref. **RBMCS08:** (para **1000 EXTRACCIONES**)

(for **50 EXTRATION**)
 (for **250 EXTRATION**)
 (for **1000 EXTRATION**)

1.INTRODUCCIÓN

El **REAL GEL/PCR SPIN Kit** está designado para la recuperación o concentración de **fragmentos de ADN de geles de agarosa, PCR o reacciones enzimáticas.**

Este kit incluye un indicador de pH el cual está mezclado con la Solución de Unión para asegurar un pH óptimo, facilitando la unión del ADN y permitir una fácil observación del gel de agarosa no disuelto. Si el pH excede el nivel óptimo (>7.5), el color de la solución aparecerá de color púrpura en lugar de amarillo. Una **3M Sodium Acetate** (pH 5.0) se incluye con el kit y se puede añadir a la solución para ajustar el pH y retornar el color amarillo.



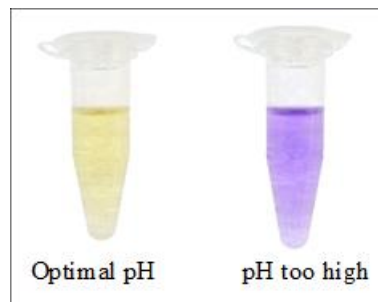
Características:

- **Elevada eficiencia:** hasta un 90% de recuperación a partir de geles de agarosa; hasta un 95% de recuperación a partir de reacciones de PCR.
- **Tamaño muestra:** Hasta 300 mg de trozos de agarosa o 100 µl PCR reacción.
- **Rango de tamaño: 70 bp–20 kb.**
- Eliminación de primer/dipper.
- Protocolo en tan solo 10 minutos.

1.INTRODUCTION

The **REAL GEL/PCR SPIN Kit** was designed to recover or concentrate **DNA fragments from agarose gel, PCR or other enzymatic reactions.**

This kit includes a pH indicator which is premixed with the Union Solution to ensure optimal pH, facilitate DNA binding and allow for easy observation of undissolved agarose gel. If pH exceeds the optimal level (>7.5), the color of the solution will appear purple instead of yellow. **3M Sodium Acetate** (pH5.0), which is included with the kit, can then be added to the solution to adjust pH and return the color to yellow.



Features:

- **High Efficiency:** up to 90% recovery from agarose gels, up to 95% recovery from PCR or other enzymatic reactions.
- **Sample Size:** up to 300 mg of agarose gel slice or up to 100 µl of PCR products.
- **Broad Fragment Size Range: 70 bp–20 kb.**
- Primers and primer/dimer removal.
- The protocol is done in 10 minutes

2.COMPONENTES DEL KIT / KIT COMPONENTS

Componente REAL	Ref.	Envases (50 Preps)	Envases (250 Preps)	Envases (1000 Preps)	T°
3M Sodium Acetate	ACNA	500 µl	500 µl	4x500 µl	RT
Solubilization and Binding Solution	CM03	30 ml	150 ml	4x150 ml	RT
Washing solution	EP08	10 ml	50 ml	4x50 ml	RT
Hydration Solution	REA05	2 ml	10 ml	4x10 ml	RT
MicroSpin columns	RSC05	50 unid.	250 unid.	1000 unid.	RT
Collection Tubes	R30	100 unid.	250 unid.	1000 unid	RT

Equipos y reactivos necesarios y no provistos

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

Equipment and reagents needed and not provided

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

3.PROTOCOLO GENERAL

3.1 Preparaciones preliminares

- Añadir **40 ml** (50 test) o **200 ml** (250 test) de **Etanol 100% a la Washing Solution** Marcar el envase y mantenerlo bien cerrado para evitar la evaporación del etanol.
- Precalentar el *Hydration Solution* a 70°C.

3.2 Protocolo 1:

- ✓ Para purificaciones rutinarias de **fragmentos de PCR de 70pb - 20 Kb dsDNA** en mezclas de 10-40 mer primers, dNTPS, enzimas y sales.

1. **Añadir 5 volúmenes del Solubilization and Binding Solution a 1 volumen de mezcla de PCR (50 -100 ml).** Mezclar bien. Si la mezcla cambia de color amarillo a púrpura, añadir **10 µl de 3M Sodium Acetate** (pH 5.0) esto ajustará el pH y el color volverá a amarillo.
2. **Transferir la muestra a una MicroSpin Columns.** Colocar *MicroSpin Columns* en un *Collection Tubes*.
3. **Centrifugar 1 minuto a 10.000-12.000 rpm.**
4. **Eliminar el filtrado y añadir 600 µl de Washing Solution.** Centrifugar 1 minuto a 14.000 rpm.
5. **Eliminar el filtrado y añadir 200 µl de Washing Solution.** 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 Columns* en un nuevo *Collection Tubes* y **añadir por lo menos 25 µl de Hydration Solution** pre-calentado a 70°C.
8. **Incubar durante 2 minutos y centrifugar durante 1 minuto a 14.000 rpm.**

3.3 Protocolo 2:

- ✓ Para la solubilización de cortes de agarosa para la extracción de fragmentos de ADN
1. Para purificaciones de geles de agarosa, cortar la banda e **intentar minimizar el tamaño del fragmento** eliminando el exceso de agarosa. **Pasar hasta 300 mg de un trozo de agarosa** a un microtubo de 1.5 ml

NOTA: Si utilizamos menos de 300 mg de un trozo de agarosa, el tampón no necesita ser escalado. Si utilizamos más de 300 mg de un trozo de agarosa, separarlo en múltiples microtubos de 1.5 ml

3. GENERAL PROCEDURE

3.1 Preliminary Preparations

- Add **40 ml** (50 test) or **200 ml** (250 test) of **100% Ethanol to the Washing Solution**. Label the container and keep it closed to avoid ethanol evaporation.
- Pre-heat the *Hydration Solution* at 70°C.

3.2 Protocol 1:

- ✓ for routine purifications of **70 bp - 20 Kb dsDNA PCR fragments** from 10-40 mer primers, dNTPs, enzymes and salts mixtures.

1. **Add 5 volumes of Solubilization and Binding Solution to 1 volume of PCR (50 -100 ml).** Mix well. If the mixture has turned from yellow to purple, add **10 µl 3M Sodium Acetate** (pH 5.0) and mix thoroughly. This will adjust pH and the color return to yellow.
2. **Transfer the sample to a MicroSpin Columns.** Put the *MicroSpin Columns* in *Collection Tubes*.
3. **Centrifuge for 1 minute at 10.000-12.000 rpm.**
4. **Remove the filtrate and use 600 µl of the Washing Solution.** Centrifuge for 1 minute at 14.000 rpm.
5. **Remove the filtrate and apply 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 *MicroSpin Columns* into a new *Collection Tubes* and add **at least 25 µl of pre-warmed Hydration Solution at 70°C.**
8. **Incubate for 2 minutes and centrifuge for 1 minute at 14.000 rpm.**

3.3 Protocol 2:

- ✓ For solubilization of the agarose gel slice for extractions of DNA fragments

1. To purify agarose gels, cut the band and **try to minimize the fragment size** removing the excess of agarose. **Transfer up to 300 mg of gel slice** to a 1.5 ml microcentrifuge tube.

Note: If using less than 300 mg of gel slice, the buffer does not to be scaled. If using more than 300 mg of gel slice, separate it into multiple 1.5 ml microcentrifuge tube.

- Añadir 500 µl de Solubilization and Binding Solution.**
Mezclar bien.

NOTA: Si la mezcla cambia de color amarillo a púrpura, añadir **10 µl de 3M Sodium Acetate** (pH 5.0). Esto ajustará el pH y el color volverá a amarillo.

- Incubar 10 minutos a 55°C** para disolver la agarosa.
Agitar mediante vórtex cada 2-3 minutos.
- Transferir la solución a MicroSpin Columns.** Colocar la *MicroSpin Columns* en un *Collection Tubes*.
- Centrifugar durante 1 minuto a 10.000-12.000 rpm.**
- Descartar el filtrado y aplicar 600 µl de la Washing solution.** Centrifugar durante 1 minuto a 14.000 rpm
- Descartar el filtrado y aplicar 400 µl de la Washing solution.** Centrifugar durante 1 minuto a 14.000 rpm.
- Eliminar el etanol residual** por centrifugación durante 3 minutos a 14.000 rpm.
- Colocar la *MicroSpin Columns* en un nuevo *Collection Tubes* y añadir por lo menos **25 µl de Hydration Solution** precalentado a 70°C.
- Incubar durante 2 minutos y centrifugar durante 1 minuto a 14.000 rpm.**

- Add 500 µl of Solubilization and Binding Solution.**
Note: If the mixture has turned from yellow to purple, add **10 µl 3M Sodium Acetate** (pH 5.0) and mix thoroughly. This will adjust pH and the color return to yellow.
- Incubate for 10 minutes at 55°C** to dissolve the agarose.
Shake with a vortex every 2-3 minutes.
- Transfer the solution to MicroSpin Columns.** Put the *MicroSpin Columns* in *Collection Tubes*.
- Centrifuge for 1 minute at 10.000-12.000 rpm.**
- Remove the filtrate and use 600 µl of the Washing solution** (ref. EP08). Centrifuge for 1 minute at 14.000 rpm.
- Remove the filtrate and apply 400 µl of Washing solution.** Centrifuge for 1 minute at 14.000 rpm.
- Remove the residual ethanol** by centrifugation for 3 minutes at 14.000 rpm.
- Transfer the *MicroSpin Columns* into a new *Collection Tubes* and add **at least 25 µl of pre-warmed Hydration Solution at 70°C.**
- Incubate for 2 minutes and centrifuge for 1 minute at 14.000 rpm.**

4. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD /

STORAGE AND STABILITY

- Todos los componentes son estables durante 12 meses desde la fecha de la compra siendo almacenados como se indica.

- All components are stable for 12 months from date of purchase when stored as directed.

5. GUIA DE PROBLEMAS Y POSIBLES SOLUCIONES / TROUBLESHOOTING

Para cualquier duda o consulta adicional sobre el protocolo pónganse en contacto con el servicio técnico de DURVIZ s.l en durviz@durviz.com.

For any further questions or doubts about the protocol, please contact DURVIZ s.l. technical service at durviz@durviz.com.

6. SIMBOLOS / SYMBOLS

	Número de catálogo / <i>Catalogue number</i>		Fabricante / <i>Manufacturer</i>
	Limitación de temperatura / <i>Temperature limitation</i>		Uso exclusivo en investigación / <i>Research use only</i>
	Fecha de caducidad / <i>Expiration date</i>		Irritante, sensibilizante y nocivo / <i>Irritant, sensitizing and harmful</i>
	Lote / <i>Lot</i>		Infamable / <i>Infamous</i>
	Contiene suficiente para n pruebas / <i>Contains enough for n tests</i>		Corrosivo / <i>Corrosive</i>