

# REAL CLEAN PCR KIT

Ref. **RBMCS06:** (para **50 EXTRACCIONES**)  
 Ref. **RBMCS03:** (para **250 EXTRACCIONES**)  
 Ref. **RBMCS07:** (para **1000 EXTRACCIONES**)

(for **50 EXTRACTION**)  
 (for **250 EXTRACTION**)  
 (for **1000 EXTRACTION**)

## 1.INTRODUCCIÓN

El Real Clean PCR Kit es un método versátil y efectivo para una rápida y eficiente purificación y concentración de ADN a partir de soluciones, o de geles de agarosa de TAE o TBE. **Está especialmente diseñado para un rápido "clean-up" de productos de PCR.** Este método permite la purificación de hasta 15 µg de DNA.

La purificación se basa en la absorción selectiva de los ácidos nucleicos en membranas de sílica que se encuentran en mini-columnas "spin" en presencia de sales caotrópicas.

El ADN purificado es eluido en un pequeño volumen de tampón (5 mM Tris HCl pH 8.5) y se puede utilizar en manipulaciones enzimáticas incluyendo, secuenciación, clonaje, análisis de restricción, ligaciones, marcaje y transcripción "in vitro".

DanaGene Clean PCR Kit permite una recuperación de ADN de 0.1- 10 Kb con una eficiencia que varía entre el 75-90% dependiendo del tamaño del fragmento.

### Aplicaciones:

- Especialmente indicado para un rápido "clean-up" de productos de PCR, consiguiéndose una completa eliminación de sales, primers, nucleótidos, aceite mineral y enzimas.
- Purificación y desalado de fragmentos a partir de soluciones, tales como reacciones de ligación, restricción o secuenciación.

## 1.INTRODUCTION

The Real Clean PCR Kit is a versatile and effective method for fast and efficient purification and concentration of DNA from solutions, or from TAE or TBE agarose gels. **It is specially designed for rapid clean-up of PCR products.** This method allows purification of up to 15 µg of DNA.

The purification is based on the selective adsorption of nucleic acids on silica membranes in mini-spin columns in the presence of chaotropic salts.

The purified DNA is eluted in a small volume of buffer (5 mM Tris HCl pH 8.5) and can be used in enzymatic manipulations including sequencing, cloning, restriction analysis, ligation, tagging and in vitro transcription.

DanaGene Clean PCR Kit allows DNA recovery from 0.1- 10 Kb with an efficiency ranging from 75-90% depending on fragment size.

### Applications:

- Especially suitable for rapid "clean-up" of PCR products, achieving complete removal of salts, primers, nucleotides, mineral oil and enzymes.
- Purification and desalting of fragments from solutions, such as ligation, restriction or sequencing reactions.

## 2.COMPONENTES DEL KIT / KIT COMPONENTS

Componente REAL	Ref.	Envases (50 Preps)	Envases (250 Preps)	Envases (1000 Preps)	T°
Disinhibition Solution (GHCL 8M)	CM02	15 ml	60 ml	240 ml	RT
Washing solution	EP08	10 ml	50 ml	200 ml	RT
Hydration Solution	REA05	2 ml	10 ml	40 ml	RT
MicroSpin columns	RSC05	50 unid.	250 unid.	1000 unid.	RT
Collection Tubes	R30	50 unid.	250 unid.	1000 unid.	RT

### Equipos y reactivos necesarios y no provistos

- \* Isopropanol 100%.
- \* Etanol 100 %.
- \* Microtubos de 1.5 ml.
- \* Microcentrífuga.

### Equipment and reagents needed and not provided

- \* Isopropanol 100%.
- \* 100 % Ethanol.
- \* 1.5 ml. microtubes
- \* Microcentrifuge.

### 3. PROTOCOLO GENERAL

#### 3.1 Preparaciones preliminares

- Añadir **40 ml** (50 test), **200 ml** (250 test) o **800 ml** (1000 test) de **Etanol 100%** a la **Washing Solution** Marcar el envase y mantenerlo bien cerrado para evitar la evaporación del etanol.
- Añadir **10 ml** (50 test), **40 ml** (250 test) o **160 ml** (1000 test) de **Isopropanol 100%** al **Disinhibition Solution (GHCL 8M)**.
- Precalentar el **Hydration Solution** a 70°C.

#### 3.2 Protocolo 1:

1. **Añadir 4 volúmenes del Disinhibition Solution (GHCL 8M) con Isopropanol a 1 volumen** de mezcla de PCR (50 -100 µl). Por ejemplo, 50 µl mezcla PCR + 200 µl **Disinhibition Solution (GHCL 8M)** con Isopropanol. Mezclar bien por pipeteo.
2. **Transferir la muestra a una Microspin columns.** Colocar la **Microspin columns** en un **Collection tube**.
3. **Centrifugar por 1 minuto a 10.000-12.000 r.p.m.**
4. **Eliminar el filtrado y añadir 600 µl de Washing Solution.** Centrifugar por 1 minuto a 14.000 r.p.m.
5. **Eliminar el filtrado y añadir 200 µl de Washing Solution.** Centrifugar por 1 minuto a 14.000r.p.m.
6. **Eliminar el etanol residual** por centrifugación durante 3 minutos a 14.000 r.p.m.
7. Colocar la **Microspin columns** en un nuevo **Collection tube** y **añadir por lo menos 25 µl de Hydration Solution** pre-calentado a 70°C. Un segundo paso de elución aumentará el rendimiento.
8. **Incubar durante 2 minutos y centrifugar durante**

### 3. GENERAL PROCEDURE

#### 3.1 Preliminary Preparations

- Add **40 ml** (50 test), **200 ml** (250 test) or **800 ml** (1000 test) of **100% Ethanol** to the **Washing Solution**. Label the container and keep it closed to avoid ethanol evaporation.
- Add **10 ml** (50 test), **40 ml** (250 test) or **160 ml** (1000 test) of **100% Isopropanol** to the **Disinhibition Solution (GHCL 8M)**.
- Pre-heat the **Hydration Solution** at 70°C.

#### 3.2 Protocol 1:

1. **Add 4 volumes of Disinhibition Solution (GHCL 8M) with Isopropanol to 1 volume** of PCR mix (50-100 µl). For example, 50 µl PCR mix + 200 µl **Disinhibition Solution (GHCL 8M)** with Isopropanol. Mix well by pipetting.
2. **Transfer the sample to Microspin columns.** Place the **Microspin columns** in a **Collection tube**.
3. **Centrifuge for 1 minute at 10,000-12,000 r.p.m.**
4. **Remove filtrate and add 600 µl of Washing Solution.** Centrifuge for 1 minute at 14,000 r.p.m.
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. Place the **Microspin columns** in a new **Collection tube** and **add at least 25 µl of Hydration Solution** pre-heated to 70°C. A second elution step will increase the yield.
8. **Incubate for 2 minutes and centrifuge for**

### 4. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

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

### 4. STORAGE AND STABILITY

- 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](mailto:durviz@durviz.com).

For any further questions or doubts about the protocol, please contact DURVIZ s.l. technical service at [durviz@durviz.com](mailto: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>		Contiene suficiente para n pruebas / <i>Contains enough for n tests</i>
	Lote / <i>Lot</i>		Irritante, sensibilizante y nocivo / <i>Irritant, sensitizing and harmful</i>



B65699985