

# REAL BLOOD DNA KIT

Ref. **RBME05:** (para **100 ml** de muestra)  
Ref. **RBME06:** (para **200 ml** de muestra)

(for **100ml** of sample)  
(for **200ml** of sample)

## 1.DESCRIPCIÓN

REAL BLOOD DNA Kit provee un método para la extracción de ADN genómico de alta calidad a partir de sangre total o médula ósea.

Es un método rápido, seguro y económico. Su protocolo es escalable permitiendo procesar muestras de diferentes tamaños. Utiliza un paso de desproteinización con un novedoso tampón salino evitando el uso de disolventes orgánicos tóxicos como fenol o cloroformo.

Este Kit provee reactivos suficientes para el procesado de 100-200 ml-según tamaño del kit- de sangre.

La obtención de ADN oscila entre 15-45 µg / ml de sangre total y está libre de inhibidores de la PCR y otras reacciones enzimáticas.

## 1.DESCRPTION

The REAL BLOOD DNA Kit provides a method for the extraction of high-quality genomic DNA from whole blood or bone marrow.

It is a fast, safe and economical method. Its protocol is scalable allowing to process samples of different sizes. It uses a deproteinization step with a novel saline buffer avoiding the use of toxic organic solvents such as phenol or chloroform.

This kit provides enough reagents to process 100-200 ml of blood, depending on the size of the kit.

The DNA yield ranges between 15-45 µg / ml of whole blood and is free of PCR inhibitors and other enzymatic reactions

## 2.COMPONENTES DEL KIT / KIT COMPONENTS

| Componentes REAL               | Ref. | Envase (100ml) | Envase (300ml) | T <sup>a</sup> |
|--------------------------------|------|----------------|----------------|----------------|
| RBC Lysis Solution             | E20  | 300 ml         | 600 ml         | RT             |
| Lysis Solution                 | E21  | 100 ml         | 200 ml         | RT             |
| Protein Precipitation Solution | E23M | 35 ml          | 70 ml          | RT             |
| Hydration Solution             | E24  | 35 ml          | 70 ml          | RT             |

### Equipos y reactivos necesarios no incluidos:

- \* Isopropanol
- \* Etanol 70 %.
- \* Microtubos de 1.5, 15 o 50 ml
- \* Microcentrifuga o centrifuga clínica
- \* Vortex
- \* Baño de Agua

### Equipment and additional reagents required

- \* *Isopropanol*
- \* *70 % Ethanol*
- \* *1.5, 15 or 50 ml microtubes*
- \* *Microcentrifuge or clinic centrifuge.*
- \* *Vortex*
- \* *Water Bath*

### 3.PROTOCOLO GENERAL / GENERAL PROCEDURE

El protocolo implica los siguientes pasos:

- Lisis selectiva de los eritrocitos, las células que contienen el ADN son separadas de los eritrocitos que son lisados.
- Lisis celular. Las células son lisadas con un detergente aniónico que solubiliza los componentes celulares.
- Precipitación de proteínas. Se eliminan las proteínas citoplasmáticas y nucleares por precipitación salina.
- Precipitación ADN. El ADN genómico se extrae con una precipitación con isopropanol.
- Hidratación del ADN. El pellet de ADN es disuelto en agua estéril o la solución de hidratación mediante incubación a 65°C o "overnight" a Tª ambiente y agitación.

#### 3.1 Consideraciones preliminares

- Si la Solución de Lisis contiene un precipitado debido a las bajas temperaturas, incubar a 37°C y mezclar para disolver el precipitado.

#### 3.2 Protocolo extracción a partir de sangre total:

1. Recoger la sangre en tubos que contengan 15 % EDTA para reducir la degradación del ADN y coagulación, otros anticoagulantes como el citrato de sodio o heparina también funcionan bien.
2. Muestras frescas pueden conservarse a 4°C por no más de 5 días.
3. Muestras congeladas son estables a -80°C por dos años.

#### Extracción a partir de muestras de 300 µl. Microtubos 1.5-2.0 ml y microcentrífuga:

##### Lisis Celular

1. Añadir 300 µl de sangre en un microtubo que contenga 900 µl de **RBC Lysis Solution**. Mezclar e incubar durante 10 minutos a Tª ambiente. Invertir el tubo varias veces durante la incubación.
2. Centrifugar durante 20-30 segundos a 13.000-16.000 x g. Eliminar el sobrenadante con pipeta sin dañar el pellet visible de células y dejar 10-20 µl de líquido residual.
3. Vortex el microtubo para resuspender el pellet, lo cual ayudará a la lisis celular del paso 4.
4. Añadir 300 µl de **Lysis Solution** y resuspender mediante pipeta para lisar las células.

Es muy importante observar la solución homogénea sin grupos celulares, se recomienda la incubación a 37°C durante 5 minutos o hasta que se observe la solución homogénea.

The protocol involves the following steps:

- Selective lysis of erythrocytes, cells containing DNA are separated from erythrocytes that are lysed.
- Cell lysis. Cells are lysed with an anionic detergent that solubilizes cellular components.
- Protein precipitation. Cytoplasmic and nuclear proteins are removed by saline precipitation.
- DNA precipitation. Genomic DNA is extracted by isopropanol precipitation.
- DNA hydration. The DNA pellet is dissolved in sterile water or hydration solution by incubation at 65°C or overnight at room temperature and shaking.

#### 3.1 Preliminary conditions

- If the Lysis Solution contains a precipitate due to low temperatures, incubate at 37°C and mix to dissolve the precipitate.

#### 3.2 Protocol for whole blood collection:

1. Collect blood in tubes containing 15% EDTA to reduce DNA degradation and clotting, other anticoagulants such as sodium citrate or heparin also work well.
2. Fresh samples can be stored at 4°C for no more than 5 days.
3. Frozen samples are stable at -80°C for two years.

#### Extraction from 300 µl samples. 1.5-2.0 ml microtubes and microcentrifuge.

##### Cell Lysis

1. Add 300 µl of blood into a microtube containing 900 µl of **RBC Lysis Solution**. Mix and incubate for 10 minutes at room temperature. Invert the tube several times during incubation.
2. Centrifuge for 20-30 seconds at 13,000-16,000 x g. Remove the supernatant by pipette without damaging the visible cell pellet and leave 10-20 µl of residual liquid.
3. Vortex the microtube to resuspend the pellet, which will aid in cell lysis in step 4.
4. Add 300 µl of **Lysis Solution** and resuspend by pipette to lyse the cells.

It is very important to observe the homogeneous solution without cell clumps, incubation at 37°C for 5 minutes or until homogeneous solution is observed.

### Precipitación proteica.

**OPCIONAL:** Añadir 1.5 µl RNasa (10 mg/ml) y mezclar bien. Incubar durante 15 minutos a 37°C.

1. Enfriar la muestra a T<sup>a</sup> ambiente.
2. Añadir 100 µl de **Protein Precipitation Solution** al lisado celular. Vortex vigorosamente a máxima velocidad durante 20-30 segundos.
3. Centrifugar a 13.000-16.000 x g durante 3-5 minutos. Se formará un precipitado marrón oscuro. Si se observan partículas flotando volver a centrifugar después de incubar 5 minutos en hielo.

### Precipitación del ADN.

1. Traspasar el sobrenadante que contiene el ADN a un microtubo nuevo que contiene 300µl de **Isopropanol**.
2. Mezclar por inversión unas 50 veces.
3. Centrifugar a 13.000-16.000 x g durante 2 minutos. El ADN será visible como un pellet blanco.
4. Eliminar el sobrenadante y secar el tubo de forma breve en papel absorbente. Añadir 300 µl de **Etanol 70%** para lavar el ADN.
5. Centrifugar a 13.000-16.000 x g durante 1 minuto. Cuidadosamente eliminar el sobrenadante sin tocar el pellet de ADN. Se puede volver a centrifugar brevemente para recoger con una micropipeta las últimas gotas de etanol residual evitando tocar el pellet de ADN.
6. Invertir el microtubo en un papel absorbente y dejar secar durante unos 15 minutos.

### Hidratación del ADN.

1. Añadir 100 µl de la **Hydration Solution** y resuspender con pipeta.
2. Conservar a 2-8°C. Para almacenajes largos conservar a -20°C o - 80 °C

### Lisis Celular

1. Añadir 3 ml de sangre en un tubo que contenga 9 ml de **RBC Lysis Solution**. Mezclar y incubar durante 10 minutos a T<sup>a</sup> ambiente. Invertir el tubo varias veces durante la incubación.
2. Centrifugar durante 10 minutos a 2.000 x g. Eliminar el sobrenadante con pipeta sin dañar el pellet visible de células y dejar 100-200 µl de líquido residual.
3. Vortex el tubo para resuspender el pellet, lo cual ayudará a la lisis celular del paso 4.
4. Añadir 3 ml de **Lysis Solution** y resuspender mediante pipeta para lisar las células.

Es muy importante observar la solución homogénea sin grupos celulares para aumentar el rendimiento en la obtención de ADN, se recomienda la incubación a 37°C durante 5 minutos o hasta que se observe la solución

### Protein precipitation.

**OPTIONAL:** Add 1.5 µl RNase (10 mg/ml) and mix well. Incubate for 15 minutes at 37°C.

1. Cool the sample to room temperature.
2. Add 100 µl of **Protein Precipitation Solution** to the cell lysate. Vortex vigorously at maximum speed for 20-30 seconds.
3. Centrifuge at 13,000-16,000 x g for 3-5 minutes. A dark brown precipitate will form. If floating particles are observed, centrifuge again after incubating for 5 minutes on ice.

### Precipitation of DNA.

1. Transfer the supernatant containing the DNA to a new microtube containing 300 µl of **Isopropanol**.
2. Mix by inversion about 50 times.
3. Centrifuge at 13,000-16,000 x g for 2 minutes. The DNA will be visible as a white pellet.
4. Remove the supernatant and dry the tube briefly on absorbent paper. Add 300 µl of **70% Ethanol** to wash the DNA.
5. Centrifuge at 13,000-16,000 x g for 1 minute. Carefully remove the supernatant without touching the DNA pellet. Centrifuge again briefly to collect the last drops of residual ethanol with a micropipette while avoiding touching the DNA pellet.
6. Invert the microtube on absorbent paper and allow to dry for about 15 minutes.

### Hydration of the DNA.

1. Add 100 µl of the **Hydration Solution** and resuspend with pipette.
2. Store at 2-8°C. For long term storage store at -20°C or -80°C.

homogénea

### Cell Lysis

1. Add 3 ml of blood into a tube containing 9 ml of **RBC Lysis Solution**. Mix and incubate for 10 minutes at room temperature. Invert the tube several times during incubation.
2. Centrifuge for 10 minutes at 2,000 x g. Remove the supernatant by pipette without damaging the visible cell pellet and leave 100-200 µl of residual liquid.
3. Vortex the tube to resuspend the pellet, which will aid in cell lysis in step 4.
4. Add 3 ml of **Lysis Solution** and resuspend by pipette to lyse the cells.

It is very important to observe the homogeneous solution without cell clumps to increase the yield in obtaining DNA, it is recommended to incubate at 37°C for 5 minutes.

### Precipitación proteica.

**OPCIONAL:** Añadir 15 µl RNasa (10 mg/ ml) y mezclar bien. Incubar durante 15 minutos a 37°C.

1. Enfriar la muestra a Tª ambiente.
2. Añadir 1.0 ml de **Protein Precipitation Solution** al lisado celular. Vortex vigorosamente a máxima velocidad durante 20-30 segundos.
3. Centrifugar a 2.000 x g durante 5 minutos. Se formará un precipitado marrón oscuro. Si se observan partículas flotando volver a centrifugar después de incubar 5 minutos en hielo.

#### Precipitación del ADN.

1. Traspasar el sobrenadante que contiene el ADN a un tubo nuevo que contiene 3 ml de **Isopropanol**.
2. Mezclar por inversión unas 50 veces.
3. Centrifugar a 2.000 x g durante 3 minutos. El ADN será visible como un pellet blanco.
4. Eliminar el sobrenadante y secar el tubo de forma breve en papel absorbente. Añadir 3 ml de **Etanol 70%** para lavar el ADN.
5. Centrifugar a 2.000 x g durante 2 minutos. Cuidadosamente eliminar el sobrenadante sin tocar el pellet de ADN. Se puede volver a centrifugar brevemente para recoger con una micropipeta las últimas gotas de etanol residual evitando tocar el pellet de ADN.
6. Invertir el microtubo en un papel absorbente y dejar secar durante unos 15 minutos.

#### Hidratación del ADN.

1. Añadir 250-500 µl de **Hydration Solution** y resuspender con pipeta.
2. Incubar a 65°C durante 1 hora con periódicas agitaciones para ayudar a la dispersión del ADN, o incubar "overnight" a temperatura ambiente con ligera agitación.
3. Transferir a un microtubo de 1.5 ml y conservar a 2-8°C. Para almacenajes largos conservar a -20°C o -80 °C.

### Protein precipitation.

**OPTIONAL:** Add 15 l RNase (10 mg/ ml) and mix well. Incubate for 15 minutes at 37°C.

1. Cool the sample to room temperature.
2. Add 1.0 ml of **Protein Precipitation Solution** to the cell lysate. Vortex vigorously at maximum speed for 20-30 seconds.
3. Centrifuge at 2,000 x g for 5 minutes. A dark brown precipitate will form. If floating particles are observed, centrifuge again after incubating for 5 minutes on ice.

#### Precipitation of DNA.

1. Transfer the supernatant containing the DNA to a new tube containing 3 ml of **Isopropanol**.
2. Mix by inversion about 50 times.
3. Centrifuge at 2000 x g for 3 minutes. The DNA will be visible as a white pellet.
4. Remove the supernatant and dry the tube briefly on absorbent paper. Add 3 ml of **70% ethanol** to wash the DNA.
5. Centrifuge at 2,000 x g for 2 minutes. Carefully remove the supernatant without touching the DNA pellet. Centrifuge again briefly to collect the last drops of residual ethanol with a micropipette while avoiding touching the DNA pellet.
6. Invert the microtube on absorbent paper and allow to dry for about 15 minutes.

#### Hydration of the DNA.

1. Add 250-500 µl of **Hydration Solution** and resuspend with pipette.
2. Incubate at 65°C for 1 hour with periodic shaking to aid DNA dispersion, or incubate "overnight" at room temperature with gentle agitation.
3. Transfer to a 1.5 ml microtube and store at 2-8°C. For long term storage store at -20°C or -80 °C

**Tabla de volúmenes de reactivos escalados desde 5 µl hasta 10 ml/  
Scaled reactive volumes table from 5 µl to 10 ml**

| Volumen de sangre<br><i>Blood Volume</i>                                           | 5-25 µl   | 50 µl   | 200 µl  | 500 µl | 1 ml   | 5 ml    | 10 ml   |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----------|---------|---------|--------|--------|---------|---------|
| Tamaño del Tubo<br><i>Tube size</i>                                                | 1.5 ml    | 1.5 ml  | 1.5 ml  | 2.0 ml | 15 ml  | 50 ml   | 50 ml   |
| Tampón de Lisis RBC<br><i>RBC Lysis Buffer</i>                                     | 75 µl     | 150 µl  | 600 µl  | 1.5 ml | 3 ml   | 15 ml   | 30 ml   |
| Tampón de Lisis<br><i>Lysis Buffer</i>                                             | 5-25 µl   | 50 µl   | 200 µl  | 500 µl | 1 ml   | 5 ml    | 10 ml   |
| Solución de Precipitación de<br>Proteínas<br><i>Protein Precipitation Solution</i> | 5-10 µl   | 17 µl   | 67 µl   | 170 µl | 330 µl | 1.67 ml | 3.3 ml  |
| Isopropanol<br><i>Isopropanol</i>                                                  | 25 µl     | 50 µl   | 200 µl  | 500 µl | 1 ml   | 5 ml    | 10 ml   |
| Etanol 70%<br><i>70% Ethanol</i>                                                   | 25 µl     | 50 µl   | 200 µl  | 500 µl | 1 ml   | 5 ml    | 10 ml   |
| µg de DNA obtenidos<br><i>µg of DNA obtained</i>                                   | 0.15-0.75 | 0.8-2.0 | 3.0-8.0 | 7.0-23 | 15-40  | 75-200  | 150-400 |

#### 4. GUIA DE PROBLEMAS Y POSIBLES SOLUCIONES / TROUBLESHOOTING

- |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <b>Lisis incompleta de eritrocitos.</b><br/>Volver a incubar con la solución <b>RBC lysis solution</b></li> <li>2. <b>Presencia de coágulos sanguíneos en la muestra de sangre total.</b><br/>La muestra no fue conservada adecuadamente o fue mezclada inadecuadamente con el EDTA en el tubo de recogida. Extraer el ADN sólo de la porción de muestra no coagulada, evitando transferir coágulos del tubo de recogida.</li> <li>3. <b>Lisis celular incompleta.</b> <ol style="list-style-type: none"> <li>3.1. Debido a que el número de células era demasiado grande para la cantidad de <b>Lysis Solution</b> utilizada. Añadir más cantidad de la <b>Lysis Solution</b>.</li> <li>3.2. Debido a la formación de grumos o grupos de células, esto ocurre cuando las células no son resuspendidas correctamente antes de añadir la <b>Lysis Solution</b>. Incubar en la <b>Lysis Solution</b> hasta que la solución sea homogénea.</li> </ol> </li> <li>4. <b>No se produce precipitación proteica.</b> <ol style="list-style-type: none"> <li>4.1. Debido a que la muestra no fue suficientemente enfriada previamente a la adición de la <b>Protein Precipitation Solution</b>.</li> <li>4.2. Debido a que no se mezcló lo suficientemente con la <b>Protein Precipitation Solution</b>. Agitar mediante vortex el tiempo indicado.</li> </ol> </li> </ol> | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <b>Incomplete lysis of erythrocytes.</b><br/>Re-incubate with <b>RBC lysis solution</b>.</li> <li>2. <b>Presence of blood clots in the whole blood sample.</b><br/>Sample was not properly preserved or was improperly mixed with EDTA in the collection tube. Extract DNA only from the unclotted portion of the sample, avoiding transferring clots from the collection tube.</li> <li>3. <b>Incomplete cell lysis.</b> <ol style="list-style-type: none"> <li>3.1. <b>Because the number of cells was too large</b> for the amount of <b>Lysis Solution</b> used. Add more <b>Lysis Solution</b>.</li> <li>3.2. <b>Due to the formation of clumps or clusters of cells</b>, this occurs when the cells are not resuspended correctly before adding the <b>Lysis Solution</b>. Incubate in the <b>Lysis Solution</b> until the solution is homogeneous.</li> </ol> </li> <li>4. <b>No protein precipitation occurs.</b> <ol style="list-style-type: none"> <li>4.1. <b>Because the sample was not sufficiently cooled</b> prior to the addition of the <b>Protein Precipitation Solution</b>.</li> <li>4.2. <b>Because it was not mixed sufficiently with the Protein Precipitation Solution</b>. Agitate by means of vortex the indicated time.</li> </ol> </li> </ol> |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

- 4.3. Debido a que la velocidad de centrifugación no fue correcta.** Para microcentrifugas utilizar la velocidad máxima. Para otras centrifugas, la velocidad debe ser de 2.000xg (que no es equivalente a 2.000 rpm). Si su centrifuga no alcanza 2.000xg, aumentar el tiempo de centrifugación.
- 5. Baja rehidratación del ADN.**
- 5.1. Debido a que las muestras no fueron mezcladas durante el paso de rehidratación.** Mezclar las muestras periódicamente.
- 5.2. Debido a que los pellets se secaron en exceso.** Aumentar el tiempo de rehidratación. No incubar durante toda la noche a 65°C.
- 6. Contaminación proteica en el ADN rehidratado.**
- 6.1. Debido a que se utilizó una muestra demasiado grande.** Re-extraer el DNA.
- 7. Calidad del ADN.**
- 7.1. Se obtiene una relación A<sub>260/280</sub> demasiado alta o demasiado baja.** Si la muestra está contaminada con proteínas, el valor que se obtendrá en la relación A<sub>260/280</sub> será menor a 1.6. Por el contrario, si la ratio obtenida es mayor de 2.0, nos indica que la muestra contiene ARN, para eliminarlo se recomienda realizar un tratamiento con RNAsa.
- 7.2. Otro indicador de la calidad del ADN extraído es que pueda ser digerido con enzimas de restricción o amplificado mediante técnicas de PCR.**
- 8. El ADN obtenido es menor de 50Kb.**
- 8.1. El ADN está degradado** debido a una incorrecta recogida de la muestra o un almacenamiento incorrecto del material a utilizar.
- 9. Baja obtención de ADN.**
- 9.1. Debido a un insuficiente número de células en la muestra inicial** - sobre todo en saliva y semen.
- 9.2. Debido a que la lisis celular no fue completa.** Este paso es muy importante, se ha de prolongar la lisis hasta que la muestra sea homogénea.
- 9.3. Debido a la presencia de grumos o grupos de células no disueltos después de añadir la *Lysis solution*.** Es muy importante disolver estos grupos de células previamente a la adición de la *Lysis Solution*.
- 10. Para cualquier otra consulta póngase en contacto con el servicio técnico e Durviz SL.**
- 4.3. Because the centrifugation speed was not correct.** For microcentrifuges use the maximum speed. For other centrifuges, the speed should be 2,000xg (which is not equivalent to 2,000 rpm). If your centrifuge does not reach 2,000xg, increase the centrifugation time.
- 5. Low DNA rehydration.**
- 5.1. Because the samples were not mixed during the rehydration step.** Mix the samples periodically.
- 5.2. Because the pellets were over-dried.** Increase the rehydration time. Do not incubate overnight at 65°C.
- 6. Protein contamination in rehydrated DNA.**
- 6.1. Because too large a sample was used.** Re-extract the DNA.
- 7. DNA quality.**
- 7.1. Too high or too low A<sub>260/280</sub> ratio is obtained.** If the sample is contaminated with proteins, the A<sub>260/280</sub> ratio value obtained will be less than 1.6. On the other hand, if the ratio obtained is greater than 2.0, it indicates that the sample contains RNA, and to eliminate it, treatment with RNAsa is recommended.
- 7.2. Another indicator of the quality of the extracted DNA is that it can be digested with restriction enzymes or amplified by PCR techniques.**
- 8. The DNA obtained is smaller than 50Kb.**
- 8.1. The DNA is degraded** due to improper sample collection or improper storage of the material to be used.
- 9. Low DNA yield.**
- 9.1. Due to an insufficient number of cells in the initial sample** - especially in saliva and semen.
- 9.2. Due to incomplete cell lysis.** This step is very important, the lysis has to be prolonged until the sample is homogeneous.
- 9.3. Due to the presence of undissolved lumps or clumps of cells after adding the *lysis solution*.** It is very important to dissolve these groups of cells prior to the addition of the *Lysis Solution*.
- 10. For any other questions please contact Durviz SL technical service.**

## 5. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD / STORAGE AND STABILITY

Los componentes del kit deben ser almacenados según las indicaciones del etiquetado. Es posible que cada uno de los frascos requiera condiciones de almacenamiento diferentes. Debidamente conservado, el kit tiene una estabilidad de 12 meses.








*The components of the kit should be stored according to the labelling. Individual bottles may require different storage conditions. Properly stored, the kit has a shelf life of 12 months.*

## 6. GARANTÍA DE SATISFACCIÓN / SATISFACTION GUARANTEE

Todos los productos se someten a exhaustivas pruebas de control de calidad y se garantiza que funcionan tal y como se describen cuando se utilizan correctamente. Rogamos informen inmediatamente de cualquier problema. Para cualquier duda o consulta adicional sobre el protocolo, puede ponerse en contacto con el servicio técnico de Durviz ([durviz@durviz.com](mailto:durviz@durviz.com))

*All products undergo extensive quality control testing and are guaranteed to perform as described when used correctly. Please report any problems immediately. For any further questions or queries about the protocol, please contact Durviz technical service ([durviz@durviz.com](mailto:durviz@durviz.com)).*

## 7.SIMBOLOS / SYMBOLS

|                                                                                   |                                                                         |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
|  | Número de catálogo / <i>Catalogue number</i>                            |
|  | Limitación de temperatura / <i>Temperature limitation</i>               |
|  | Fecha de caducidad / <i>Expiration date</i>                             |
|  | Lote / <i>Lot</i>                                                       |
|  | Contiene suficiente para n pruebas / <i>Contains enough for n tests</i> |
|  | Fabricante / <i>Manufacturer</i>                                        |
|  | Uso exclusivo en investigación / <i>Research use only</i>               |



B65699985