

# REAL SPIN DTR

Ref. RBMS01: (para 50 EXTRACCIONES)

(for 50 EXTRATION)

## 1.INTRODUCCIÓN

Las **Real Spin DTR** son microcolumnas cromatográficas ya preparadas y listas para su uso, para obtener una rápida purificación y “clean-up” de ácidos nucleicos y proteínas utilizando una microcentrifuga.

Para la purificación se utiliza el método de filtración en gel, en el cual las moléculas en solución son separadas de acuerdo con sus diferencias de tamaño al pasar por una microcolumna empaquetada con un medio cromatográfico, en forma de gel. El gel es una fase heterogénea en el cual una fase líquida acuosa se encuentra dentro de los poros de una fase sólida, estos poros tienen un rango de tamaño controlado según la matriz en gel utilizada.

Las moléculas pequeñas pueden difundir a través del gel y son retrasadas en su paso hacia abajo de la columna. Por el contrario, las moléculas grandes no pueden difundir a través del gel y dejan la columna rápidamente seguido de moléculas más pequeñas por orden de sus tamaños.

## 1.INTRODUCTION

**Real Spin DTRs** are ready-to-use chromatographic microcolumns for rapid purification and clean-up of nucleic acids and proteins using a microcentrifuge.

The gel filtration method is used for purification, in which molecules in solution are separated according to their size differences by passing through a microcolumn packed with a chromatographic medium, in the form of a gel. The gel is a heterogeneous phase in which an aqueous liquid phase is contained within the pores of a solid phase, these pores have a controlled size range depending on the gel matrix used.

Small molecules can diffuse through the gel and are delayed in their passage down the column. Conversely, large molecules cannot diffuse through the gel and leave the column quickly followed by smaller molecules in order of their size.

## 2.COMPONENTES DEL KIT / KIT COMPONENTS

Componente REAL	Ref.	Envase.	T°
Columns Spin DTR	RSDTR	50 unid.	4°C
Whasing Tubes	R40	50 unid.	RT
Collection Tubes	R30	50 unid.	RT
Protocolo RBMS01	-	1	-

### Equipos y reactivos necesarios y no provistos

- \* Microcentrifuga.

### Equipment and reagents needed and not provided

- \* Microcentrifuge

## 3.PROTOCOLO GENERAL

## 3. GENERAL PROCEDURE

### 3.1 Especificaciones:

- **Aplicaciones:** Eliminación de “dideoxy terminators” y nucleótidos “dye-labelled” no incorporados en reacciones de secuenciación previo al análisis en secuenciadores automáticos
- **Gel Matriz:** Grado especial de poliacrilamida
- **Colorantes eliminados:** 98 % de retención
- Big Dye terminators, Rodamina y d-rodamina, Well RED dye.
- **Capacidad:** 10-75 µl
- **Tiempo:** 4 minutos
- **ADN recuperado:** 95 % de ADN > 22 pb
- **Tampón:** Agua destilada

### 3.1 Specifications:

- **Applications:** Removal of dideoxy terminators and unincorporated dye labelled nucleotides from sequencing reactions prior to analysis on automated sequencers.
- **Gel matrix:** Special grade polyacrylamide
- **Dyes removed:** 98% retention
- Big Dye Terminators, Rhodamine and d-Rhodamine, Well RED dye
- **Capacity:** 10-75 µl
- **Time:** 4 minutes
- **DNA recovery:** 95% DNA > 22 bp
- **Buffer:** Distilled water

### 3.2 Protocolo de trabajo:

1. Resuspender la resina de la **Columns Spin DTR** por inversión varias veces o agitar mediante vortex cuidadosamente.
2. Eliminar el tapón inferior y superior y colocar en un **Whasing Tubes**.
3. Centrifugar 2 minutos en una microcentrifuga a 750 xg para eliminar el tampón de equilibrio.
4. Colocar la **Columns Spin DTR** en el **Collection tube** de 1.5 ml de recogida de muestra.
5. Cuidadosamente aplicar la muestra (10-75 µl) directamente en el centro de la columna sin dañar el gel.
6. Centrifugar 2 minutos a 750 xg. La muestra purificada es recogida en el **Collection tube**. **Las moléculas más pequeñas del límite de exclusión serán retenidas en la Columns Spin DTR.**

$$\text{Rpm} = 1000 \times (750 / 1,12 r)^{1/2}$$

Donde  $r$  = radio del rotor en mm

### 3.2 Protocolo de trabajo:

1. Resuspend the **Columns Spin DTR** resin by inversion several times or by gentle vortexing.
2. Remove the bottom and top cap and place in a **Whasing Tubes**.
3. Centrifuge for 2 minutes in a microcentrifuge at 750 xg to remove equilibration buffer.
4. Place the Real Spin DTR in the 1.5 ml sample **Collection tube**
5. Carefully apply the sample (10-75 µl) directly to the centre of the column without damaging the gel.
6. Centrifuge for 2 minutes at 750 xg. The purified sample is collected in the **Collection tube**. **Molecules smaller than the exclusion limit will be retained on the Columns Spin DTR.**

$$\text{Rpm} = 1000 \times (750 / 1,12 r)^{1/2}$$

Where  $r$  = motor radius in mm

## 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

### 1. Resultados pobres:

- 1.1. **Elevada velocidad de centrifugación.** Es muy importante establecer la velocidad de centrifugación adecuada. Si se aplica una velocidad mayor no se formará la matriz en gel de manera correcta.
- 1.2. **Colocación de la muestra incorrectamente.** Se ha de evitar tocar el gel con la punta de la micropipeta.
- 1.3. **Colocación de la Columns Spin DTR incorrectamente.** Al realizar la primera centrifugación se forma el gel matrix con una parte superior inclinada. **La Columns Spin DTR** se colocará en el rotor con esta parte inclinada tocando el exterior del rotor.

### 2. Dilución de la muestra

Debido a aplicar una velocidad más baja de la indicada, de forma que no se eliminará todo el tampón de equilibrio y en el segundo paso de centrifugación será recogido con la muestra y se producirá una dilución de la muestra.

Para evitar errores al establecer la velocidad de trabajo se recomienda que la primera vez que se trabaje con las **Columns Spin DTR**, se realice una centrifugación corta de 30-60 segundos después de la centrifugación del paso 3 del protocolo. Si se observa más cantidad de tampón será necesario aumentar levemente la velocidad, o bien, aumentar el tiempo de centrifugación en el paso 3.

Tal y como se recomienda en el protocolo, la velocidad adecuada son 750 xg; con estas condiciones no debe encontrarse problemas en este sentido.

### 1. Poor results:

- 1.1. **High centrifugation speed.** It is very important to set the appropriate centrifugation speed. If a higher speed is applied, the gel matrix will not form correctly.
- 1.2. **Incorrect sample placement.** Avoid touching the gel with the micropipette tip.
- 1.3. **Incorrect placement of the Columns Spin DTR.** During the first centrifugation, the matrix gel is formed with a slanted top. **The Columns Spin DTR** shall be placed in the rotor with this slanted part touching the outside of the rotor.

### 2. Sample dilution

Due to applying a lower speed than indicated, so that not all of the equilibration buffer will be removed and in the second centrifugation step it will be collected with the sample and sample dilution will occur.

To avoid errors when setting the working speed, it is recommended that the first time you work with the **Columns Spin DTR**, a short centrifugation of 30-60 seconds is performed after the centrifugation in step 3 of the protocol. If more buffer is observed, it will be necessary to increase the speed slightly, or increase the centrifugation time in step 3. As recommended in the protocol, the appropriate speed is 750 xg; under these conditions no problems should be encountered.

## 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>		



B65699985