

REAL CLEAN & CONCENTRATION

Ref. **RBMCS04** (for **50** of purifications)
 Ref. **RBMCS05** (for **250** of purifications)
 Ref. **RBMCS09** (for **1000** of purifications)

1. INTRODUCCIÓN:

Este kit proporciona un método rápido para la purificación y concentración de **ADN de alta calidad a partir de PCR o reacciones enzimáticas con un volumen de elución extremadamente pequeño de sólo 10 µl** utilizando columnas especiales MicroSpin.

APLICACIONES:

- Limpieza de productos de PCR, **desalinización eficaz de ADN con eliminación de ADN polimerasas, cebadores y dNTPs libres.**
- Limpieza de ADN de reacciones enzimáticas, **incluyendo: Desfosforilación, digestión con enzimas de restricción, ligación, síntesis de cebadores, etiquetado final y traducción Nick.**
- Eliminación de isótopos y colorantes, **elimina eficazmente los fluorescentes no incorporados (por ejemplo, AMCA, FITC, BIO, DIG, Cy3, Cy5, FAM, etc.) y los derivados dNTP radiomarcados del ADN tras reacciones de marcaje in vitro.**

CARACTERÍSTICAS:

- Las columnas microspin están diseñadas para permitir la elución en volúmenes muy pequeños (tan solo 10 µl) entregando ADN altamente concentrado en altos rendimientos.
- Límites de tamaño de ADN: De 70 pb a 23 Kb.
- Recuperación de ADN: Típicamente, se pueden eludir hasta 5 g de ADN total por columna en tan solo 10 µl.
- El protocolo se realiza en 2 minutos.
- Procedimiento rápido y fácil manejo.
- El ADN eludido es muy adecuado para su uso en ligación de ADN, secuenciación, etiquetado, PCR, etc.

2. COMPONENTES KIT:

	Ref. RBMCS04	Ref. RBMCS05	Ref. RBMCS09	T°	Ref.
Tampón de Unión / <i>Binding Solution</i>	15 ml	75 ml	4 x 75 ml	RT	CM02
Solución de Lavado / <i>Washing Solution</i>	10 ml	50 ml	4 x 50 ml	RT	EP08
Tampón de Elución / <i>Elution Buffer</i>	2 ml	10 ml	4 x 10 ml	RT	E13
Spin Columns / <i>Columns Spin</i>	50 unid.	250 unid.	1000 unid.	RT	RSC05
Tubos de Recogida / <i>Collection Tubes</i>	50 unid.	250 unid.	1000 unid.	RT	R30

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: Dephosphorylation, 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 derivatives from DNA following in vitro labeling 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. KITS COMPONENTS:

Equipo y reactivos adicionales necesarios:

- ❖ *Microtubos
- ❖ *Microcentrifuga.
- ❖ *Baño de agua.
- ❖ *Ethanol 100%.
- ❖ *Isopropanol.

3. PROTOCOLO GENERAL:

3.1 Preparaciones preliminares

- Añadir: **40 ml 50 test, 200 ml 250 test** DE ETANOL 100% A LA SOLUCIÓN DE LAVADO.
Etiquetar el recipiente y mantenerlo cerrado para evitar la evaporación del etanol.
- Añadir: **10 ml 50 test, 50 ml 250 test** DE ISOPROPANOL 100% A LA SOLUCIÓN DE LAVADO.
Etiquetar el recipiente y mantenerlo cerrado para evitar la evaporación del isopropanol.
- Precalentar el Tampón de Elución a 70°C.

3.2 Protocolo:

1. **Añadir 5 volúmenes de solución de unión con isopropanol** a 1 volumen de PCR (50 -100 µl). Mezclar bien.
2. **Colocar la columna de centrifugación en un tubo colector.**
3. **Centrifugar durante 1 minuto a 10.000-12.000 r.p.m.**
4. **Retirar el filtrado y añadir 600 l de solución de lavado.** Centrifugar durante 1 minuto a 14.000 r.p.m.
5. **Retirar el filtrado y añadir 200 l de solución de lavado.** Centrifugar durante 1 minuto a 14.000 r.p.m.
6. **Eliminar el etanol** residual centrifugando durante 3 minutos a 14.000 r.p.m.
7. Transferir la columna de centrifugación a un nuevo microtubo receptor y añadir **12 µl de tampón de elución precalentado** (10 mM Tris.HCl, ph 8.5) **a 70°C**. Asegúrese de que el tampón de elución se dispensa directamente en el centro de la membrana para la elución completa del ADN unido. El volumen medio de eludido es de 10 l a partir de 12 l de volumen de tampón de elución.
8. **Incubar durante 2 minutos y centrifugar durante 1 minuto a 14.000 r.p.m.**

Equipment and additional reagents required

- ❖ Microtubes.
- ❖ Microcentrifuge.
- ❖ Water bath.
- ❖ Ethanol 100 %.
- ❖ Isopropanol.

3. GENERAL PROTOCOL:

3.1 Preliminary Preparations

- **ADD 40 ml 50 test, 200 ml 250 test OF 100% ETHANOL TO THE WASH SOLUTION.**
Label the container and keep it closed to avoid ethanol evaporation.
- **ADD 10 ml 50 test 50 ml 250 test OF 100% ISOPROPANOL TO THE BINDING SOLUTION.**
Label the container and keep it closed to avoid isopropanol evaporation.
- Pre-heat the Elution Buffer at 70°C.

3.2 Protocol:

1. **Add 5 volumes Binding Solution with isopropanol** to 1 volume of PCR (50 -100 µl). Mix well.
2. **Transfer the sample to a spin column.** Put the spin column in collecting tube.
3. **Centrifuge for 1 minute at 10.000-12.000 r.p.m.**
4. **Remove the filtrate and add 600 µl of the 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 r.p.m.
6. **Remove the residual ethanol** by centrifugation for 3 minutes at 14.000 r.p.m.
7. Transfer the spin column into a new receive microtube and add **12 µl of prewarmed Elution Buffer** (10 mM Tris.HCl, ph 8.5) **at 70°C**. Ensure that the elution buffer is dispensed directly onto the center of the membrane for complete elution of bound DNA. The average eluate volume is 10 µl from 12 µl elution buffer volume.
8. **Incubate for 2 minutes and centrifuge for 1 minute at 14.000 r.p.m.**

4. GUÍA DEL PROBLEMA Y POSIBLE RESPUESTA:

Para cualquier duda sobre los protocolos de trabajo o problemas. Por favor, póngase en contacto con el servicio técnico de Durviz S.L. para cualquier comentario o pregunta sobre el protocolo. durviz@durviz.com

4. PROBLEM GUIDE AND POSSIBLE ANSWER:

For any question regarding the work protocols o problems. Please, contact Durviz S.L. technical service for any comment or question regarding the protocol. durviz@durviz.com