



DANAGENE CLEAN PCR KIT

REF.0501.1 50 PURIFICACIONES
REF.0501.2 250 PURIFICACIONES
REF.0501.3 1000 PURIFICACIONES

1.INTRODUCCION

DanaGene 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.**

2.COMPONENTES KIT

	Ref. 0501.1 50 preps	Ref. 0501.2	Ref. 0501.3	
Tampón de Unión	15 ml	60 ml	240 ml	Tªambiente
Tampón de Lavado	10 ml	50 ml	200 ml	Tªambiente
Tampón de Elución	2 ml	10 ml	40 ml	Tªambiente
Spin Columnas	50 unid.	250 unid.	1000 unid.	Tªambiente
Tubos de Recogida	50 unid.	250 unid.	1000 unid.	Tªambiente

Equipos y reactivos necesarios no incluidos en el kit:

- * Isopropanol. 100%.
- * Etanol 100%.
- * Microtubos de 1.5 ml
- * Microcentrifuga.

3. PROTOCOLO GENERAL

3.1 Preparaciones preliminares

- Añadir **40 ml** 50 test, **200 ml** 250 test o **800 ml** 1000 test **de ETANOL 100% al Tampón de Lavado** 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 Tampón de Unión** . Marcar el envase y mantenerlo bien cerrado para evitar la evaporación del isopropanol.
- Pre-calentar el Tampón de Elución a 70°C.

3.2 Protocolo

- 1. Añadir 4 volúmenes del Tampón de Unión con isopropanol a 1 volumen** de mezcla de PCR (50 -100 µl). Por ejemplo, 50 µl mezcla PCR + 200 µl Tampón de unión con isopropanol. Mezclar bien por pipeteo.
- 2. Transferir la muestra a una spin columna.** Colocar la spin columna en un tubo de recogida.
- 3. Centrifugar por 1 minuto a 10.000-12.000 r.p.m.**
- 4. Eliminar el filtrado y añadir 600 µl de Tampón de Lavado.** Centrifugar por 1 minuto a 14.000 r.p.m.
- 5. Eliminar el filtrado y añadir 200 µl de Tampón de Lavado.** 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 spin columna en un nuevo tubo y añadir por lo menos 25 µl de Tampón de Elución** pre-calentado a 70°C. Un segundo paso de elución aumentará el rendimiento.
- 8. Incubar durante 2 minutos y centrifugar durante 1 minuto a 14.000 r.p.m.**

4. GUIA DE PROBLEMAS Y SOLUCIONES

Para cualquier duda o consulta adicional sobre el protocolo pónganse en contacto con el servicio técnico de DanaGen-BioTed S.L info@danagen.es