



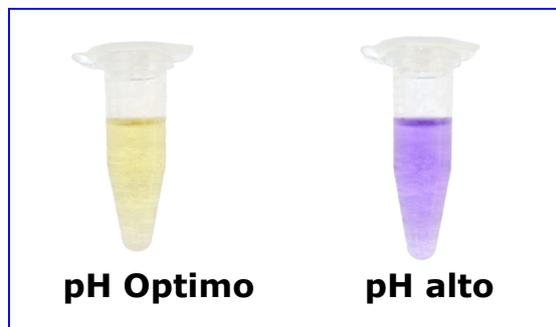
DANAGENE GEL / PCR KIT

REF.0502.1 50 PURIFICACIONES
REF.0502.2 250 PURIFICACIONES
REF.0502.3 1000 PURIFICACIONES

1.INTRODUCCION

El **DANAGENE GEL/PCR SPIN Kit** está designado para la recuperación o concentración de **fragmentos de ADN de geles de agarosa, PCR o reacciones enzimáticas.**

Este kit incluye un indicador de pH el cual está mezclado con el tampón de unión para asegurar un pH óptimo, facilitando la unión del ADN y permitir una fácil observación del gel de agarosa no disuelto. Si el pH excede el nivel óptimo (>7.5), el color de la solución aparecerá de color púrpura en lugar de amarillo. Una solución 3M de acetato de sodio (pH 5.0) se incluye con el kit y se puede añadir a la solución para ajustar el pH y retornar el color amarillo.



Características:

- **Elevada eficiencia: hasta un 90% de recuperación a partir de geles de agarosa; hasta un 95% de recuperación a partir de reacciones de PCR.**
- **Tamaño muestra: Hasta 300 mg de trozos de agarosa o 100 µl PCR reacción.**
- **Rango de tamaño: 70 bp–20 kb.**
- **Eliminación de primer/dimer.**
- **Protocolo en tan solo 10 minutos.**

2.COMONENTES KIT

	Ref. 0502.1 50 preps	Ref. 0502.2 250 preps	Ref.0502.3 1000 preps	T ^a
Tampón de Solubilización y Unión	30 ml	150 ml	4 x 150 ml	RT
3M Acetato de sodio (pH 5.0)	500 µl	500 µl	4 x 500 µl	RT
Solución de Lavado	10 ml	50 ml	4 x 50 ml	RT
Tampón de Elución	2 ml	10 ml	4 x 10 ml	RT
Spin Columnas	50 unid.	250 unid.	1000 unid.	RT
Tubos de Recogida	50 unid.	250 unid.	1000 unid.	RT

Equipos y reactivos necesarios no incluidos en el kit:

- * Etanol 100 %.
- * Microtubos de 1.5 ml.
- * Micocentrífuga.
- * Baño de agua

3. PROTOCOLO GENERAL

3.1 Preparaciones preliminares

- Añadir **40 ml** (50 test) o **200 ml** (250 test) de **Etanol 100%** a la **Solución de Lavado** .Marcar el envase y mantenerlo bien cerrado para evitar la evaporación del etanol.
- Pre-calentar el Tampón de Elución a 70°C.

3.2 Protocolo 1:

- ✓ Para purificaciones rutinarias de **fragmentos de PCR de 70pb - 20 Kb dsDNA** en mezclas de 10-40 mer primers, dNTPS, enzimas y sales.
1. **Añadir 5 volúmenes del Tampón de Solubilización y Unión** a **1 volumen de mezcla de PCR (50 -100 µl)**. Mezclar bien. Si la mezcla cambia de color amarillo a púrpura, añadir **10 µl de 3M Acetato de sodio (pH 5.0)** esto ajustará el pH y el color volverá a amarillo.
 2. **Transferir la muestra a una spin columna.** Colocar la spin columna en un tubo de recogida.
 3. **Centrifugar 1 minuto a 10.000-12.000 rpm.**
 4. **Eliminar el filtrado y añadir 600 µl de Tampón de Lavado** . Centrifugar 1 minuto a 14.000 rpm.
 5. **Eliminar el filtrado y añadir 200 µl de Tampón de Lavado** . Centrifugar 1 minuto a 14.000 rpm.
 6. **Eliminar el etanol residual** por centrifugación durante 3 minutos a 14.000 rpm.
 7. Colocar la spin columna en un nuevo tubo de recogida y **añadir por lo menos 25 µl de Tampón de Elución** pre-calentado a 70°C.
 8. **Incubar durante 2 minutos y centrifugar durante 1 minuto a 14.000 rpm.**

3.3 Protocolo 2:

✓ Para la solubilización de cortes de agarosa para la extracción de fragmentos de ADN

1. Para purificaciones de geles de agarosa, cortar la banda e **intentar minimizar el tamaño del fragmento** eliminando el exceso de agarosa. **Pasar hasta 300 mg de un trozo de agarosa** a un microtubo de 1.5 ml

NOTA: Si utilizamos menos de 300 mg de un trozo de agarosa, el tampón no necesita ser escalado. Si utilizamos más de 300 mg de un trozo de agarosa, separarlo en múltiples microtubos de 1.5 ml.

2. Añadir 500 µl de Tampón de Solubilización y Unión . Mezclar bien. **NOTA:** Si la mezcla cambia de color amarillo a púrpura, añadir **10 µl de 3M Acetato de sodio (pH 5.0)**. esto ajustará el pH y el color volverá a amarillo.

3. Incubar 10 minutos a 55°C para disolver la agarosa. **Agitar** mediante vortex cada 2-3 minutos.

4. Transferir la solución a una spin columna. Colocar la spin columna en un tubo de recogida.

5. Centrifugar durante 1 minuto a 10.000-12.000 rpm.

6. Descartar el filtrado y aplicar 600 µl de la Solución de Lavado . Centrifugar durante 1 minuto a 14.000 rpm

7. Descartar el filtrado y aplicar 400 µl de la Solución de Lavado. Centrifugar durante 1 minuto a 14.000 rpm.

8. Eliminar el etanol residual por centrifugación durante 3 minutos a 14.000 rpm.

9. Colocar la spin columna en un nuevo tubo de recogida y **añadir por lo menos 25 µl de Tampón de Elución** pre-calentado a 70°C.

10. Incubar durante 2 minutos y centrifugar durante 1 minuto a 14.000 rpm.

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.

