



DANAGENE CLEAN & CONCENTRATION KIT

REF.0503.1 50 PURIFICACIONES
REF.0503.2 250 PURIFICACIONES
REF.0503.3 1000 PURIFICACIONES

1.INTRODUCCION

Este kit provee un rápido método para la purificación y concentración de **ADN de elevada calidad a partir de reacciones de PCR y enzimáticas** utilizando unas especiales MicroSpin columnas **que permiten pequeños volúmenes de elución de 10 µl**

Aplicaciones:

- Limpieza de productos de PCR, **eficiente eliminación de la polimerasa, primers y dNTPs libres en una reacción de .**
- Limpieza del ADN en reacciones enzimáticas, **incluyendo: Desfosforilación, Digestión con enzimas de restricción, Ligación, Síntesis de primers, Endlabeling and Nick translation.**
- Eliminación de colorantes e isótopos, **eficientemente elimina fluorescentes no incorporados (AMCA, FITC, BIO, DIG, Cy3, Cy5, FAM, etc) y radiolabeled dNTP marcados radiactivamente derivados de reacciones "in vitro" con ADN.**

Características:

- Las microspin columnas están diseñadas para permitir la elución en pequeños volúmenes (10 µl) produciendo ADN concentrado y con altos rendimientos.
- Límite tamaño ADN: Desde 70 pb to 23 Kb.
- Recuperación ADN: Típicamente, hasta 5 µg de ADN total por columna puede ser eluido.
- El protocolo se realiza en tan sólo 5 minutos.
- Proceso rápido y de fácil uso.
- El ADN eluido puede ser utilizado en cualquier aplicación posterior.

2.COMPONENTES KIT

	Ref. 0503.1 50 preps	Ref.0503.2 250 preps	Ref.0503.3 1000 preps	
Solución de Unión	25 ml	125 ml	4 x 125 ml	15-25°C
Solución de Lavado*	10 ml	50 ml	4 x 50 ml	15-25°C
Tampón de Elución	2.0 ml	10 ml	4 x 10 ml	15-25°C
MicroSpin Columnas	50 Unid	250 Unid	1000 Unid	15-25°C
Tubos de recolección	50 Unid	250 Unid	1000 Unid	15-25°C

*Ver en el apartado de preparaciones pre-eliminares como preparar estas soluciones

Equipos y reactivos necesarios y no provistos

- Baño termostático.
- Etanol 100 %.
- Microcentrifuga.
- Microtubos de 1.5 y 2.0 ml.

3. PROTOCOLO GENERAL

3.1 Preparaciones Preliminares

• **AÑADIR 40 ML DE 100% ETANOL A LA SOLUCIÓN DE LAVADO** (ref.50 extracciones) o **200 ML DE 100% ETANOL A LA SOLUCIÓN DE LAVADO** (ref.250 extracciones). 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. Añadir 5 volúmenes de la Solución de unión a 1 volumen de PCR o reacción enzimática (50-100 µl). Mezclar bien. No exceder el máximo volumen de reacción de 100 µl, si es mayor de 100 µl separar en múltiples tubos.

2. Pasar la muestra a una MicroSpin columna con su tubo de recolección

3. Centrifugar durante 1 minuto a 10.000-12.000 r.p.m.

4. Eliminar el filtrado y añadir 600 µl de la Solución de lavado. Centrifugar 1 minuto a 14.000 r.p.m.

5. Eliminar el etanol residual por centrifugación durante 3 minutos a 14.000 r.p.m.

6. Eliminar el tubo de recogida e insertar la microspin columna en un microtubo de 1.5 ml . Añadir 12 µl de Tampón de elución (precalentado a 70°C) en la MicroSpin columna. Incubar 2 minutos.

Es muy importante añadir el Tampón de elución en el centro de la membrana para que se humedezca completamente.

7. Centrifugar a 10.000 rpm velocidad durante 60 segundos. Recoger los 12 µl y volver a depositar en el centro de la membrana. Esto hace aumentar el rendimiento.

8. Incubar 2 minutos y centrifugar a máxima velocidad. Ahora el microtubo contiene el ADN circulante. Utilizar o almacenar a -20°C.

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 .L info@danagen.es