



Protocolo para la extracción de ARN viral a partir de medios de transporte

- 1. Añadir 200 µl de muestra** a un microtubo.
- 2. Añadir 400 µl Tampón Lisis Viral** . Cerrar el microtubo y vortex vigorosamente durante 20 segundos.
- 3. Incubar a temperatura ambiente durante 10-15 minutos.**
- 4. Centrifugar durante 2 minutos a 11.000 x g.**
- 5. Traspasar el sobrenadante** evitando tocar el pellet que se puede formar a un nuevo microtubo.
- 6. Añadir 350 µl Etanol 100%** .Mezclar bien.
- 7. Pasar la mitad del lisado a una Spin column RNA** con su tubo de recolección. **Centrifugar a 8.000 rpm durante 30 segundos.**
- 8. Pasar la otra mitad y centrifugar a 8.000 rpm durante 30 segundos.**
- 9. Añadir 100 µl Tampón de Lavado 1.** Centrifugar a 11.000 x g durante 1 minuto.
- 10. Añadir 700 µl Tampón de Lavado 2.** Centrifugar a 11.000 x g durante 1 minuto.
- 11. Centrifugar 3 minutos a máxima velocidad** para eliminar todo el etanol.
- 12. Elución con 50 µl Agua libre de nucleasas.** 2 minutos de incubación.
Es muy importante añadir el agua libre de nucleasas en el centro de la membrana para que se humedezca completamente.
- 13. Centrifugar a 10.000 rpm velocidad durante 60 segundos.** **Recoger los 50 µl y volver a depositar en el centro de la membrana.** Esto hace aumentar el rendimiento.
- 14. Incubar 2 minutos y centrifugar a máxima velocidad.**
Si se observan problemas en las detecciones posteriores se puede cambiar el volumen del eluido añadido a RT-PCR.

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