

Kit extracción

ARN viral

Biomiga



desde 1967
AVÁNTIKA

www.avantika.com.co/tienda – ventas@avantika.com.co – cotizaciones@avantika.com.co

WhatsApp 3015491549



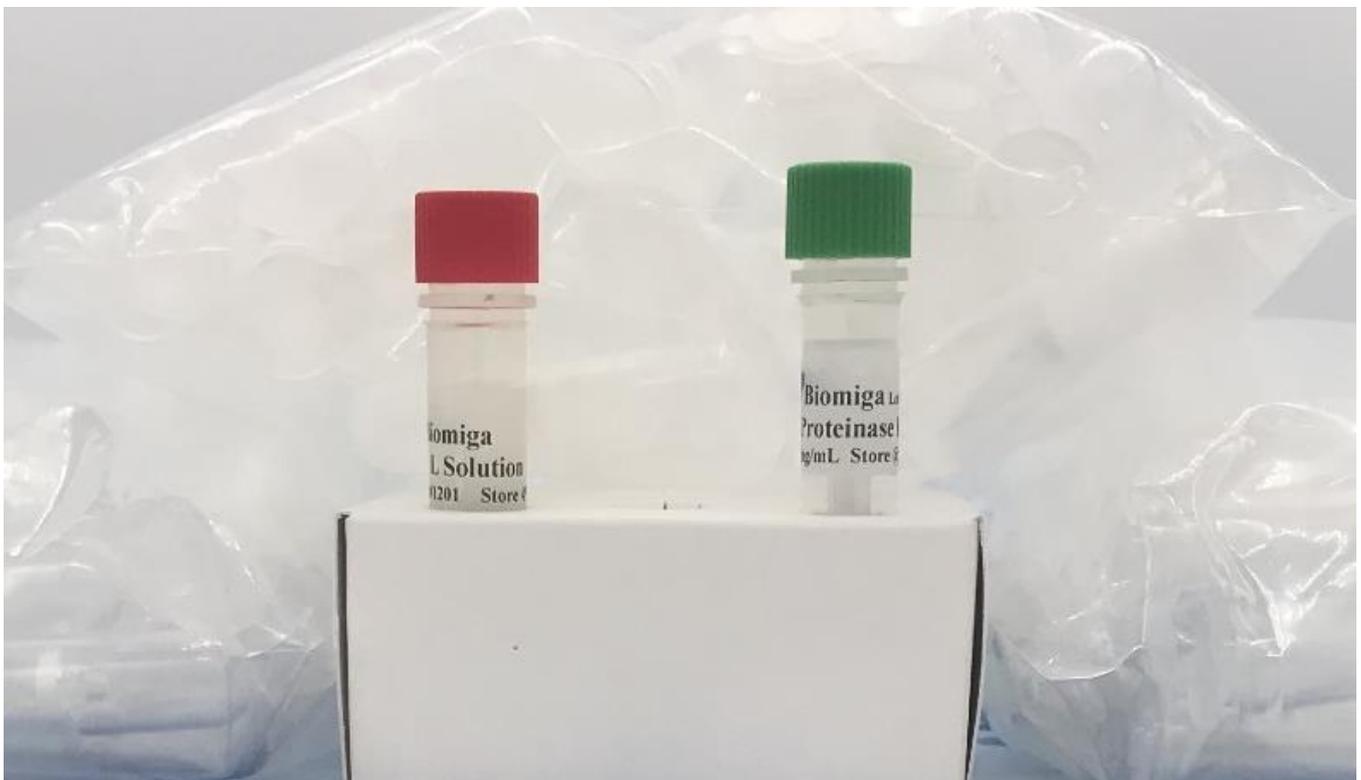
Kit para extracción de RNA viral de muestras respiratorias

VR6568-02

El mini kit EZgene™ Viral DNA / RNA proporciona un método fácil y confiable para aislar RNA viral total de plasma, suero, aspirados o lavados nasofaríngeos u orofaríngeos, hisopos nasofaríngeos u orofaríngeos, lavado bronquioalveolar, aspirados traqueales y esputo. Este procedimiento ha sido probado para aislar ácidos nucleicos de hepatitis A, hepatitis C y VIH. El ARN aislado se puede usar para PCR, qRT-PCR y otras aplicaciones posteriores.

Muestras Aceptables

Muestras respiratorias que incluyen: aspirados o lavados nasofaríngeos u orofaríngeos, hisopos nasofaríngeos u orofaríngeos, lavado broncoalveolar, aspirados traqueales y esputo. Las muestras de hisopos deben recogerse solo en hisopos con punta sintética con ejes de aluminio o plástico. Los hisopos con alginato de calcio o puntas de algodón con ejes de madera no son aceptables
Suero, plasma u otro fluido corporal.



PROTOCOLO

El protocolo se desarrolla para muestras de 200-300 μ L. Las muestras pequeñas deben ajustarse a 200-300 μ l con solución salina tamponada con fosfato (PBS) antes de la carga.

1. Pipetee 20 μ L de proteinasa K, 2 μ L de solución y 300 μ L de tampón LYE en un tubo de 1.5 ml.
1. Calcule el número de muestras a procesar y haga una mezcla maestra de proteinasa K, solución L y tampón LYE.
2. Pipetee 300 μ L de aspirados o lavados nasofaríngeos u orofaríngeos, hisopos nasofaríngeos u orofaríngeos, lavado bronquioalveolar, aspirados traqueales o plasma, suero, en el tubo de 1.5 mL del Paso 1. Mezcle bien con un vórtex de pulso durante 10 segundos. Gire brevemente para recoger las gotas de la tapa. Incubar a temperatura ambiente durante 10 minutos para lisar las células y el virus.
3. Agregue 600 μ L de isopropanol y mezcle bien mediante un vórtex de pulso durante 5 segundos. Gire brevemente para recoger la gota de la tapa.
4. Transfiera 600 μ L de la muestra del paso 3 a una columna de ARN y centrifugue a 10,000 rpm durante 30 segundos. Deseche el flujo a través de un recipiente de desechos con pipeta y vuelva a colocar la columna en la colección. Transfiera la muestra restante a la columna y centrifúguela a 10.000 rpm durante 30 segundos. Deseche el tubo de recolección y transfiera la columna de ARN a un nuevo tubo de recolección.
5. Agregue 500 μ L de Tampón RB a la columna y centrifugue a 10,000 rm durante 30 segundos. Deseche el flujo continuo. Vuelva a colocar la columna en el tubo de recolección.
6. Agregue 500 μ L de tampón de lavado de ARN a la columna y centrifugue a 10,000 rpm durante 30 segundos. Deseche el flujo continuo. Vuelva a colocar la columna en el tubo de recolección.
7. Centrifugue la columna vacía a 12,000 rpm durante 2 min. Es crítico eliminar el etanol residual para una elución óptima.
8. Transfiera la columna de ARN a un tubo de 5 ml sin RNasa, agregue 35-50 μ L de agua tratada con DEPC a la columna y centrifugue a 10,000 rpm durante 30 segundos. El ARN viral está en el líquido de flujo continuo.
9. Opcional: Agregue el eluyente nuevamente a la columna para una segunda elución.

Nota: La primera elución normalmente produce el 70% del ARN, mientras que la segunda elución produce otro 20-30% del ARN unido a la columna.

Nota: El ARN purificado se debe poner en hielo para la aplicación aguas abajo o almacenar a -20 ° C.

