



# DANAGENE MICROBIOME RNA KIT

Ref.0622 50 Preps

## 1. INTRODUCTION

El **DANAGENE MICROBIOME RNA Kit** ha sido diseñado para una purificación eficaz de **ARN microbiano (bacterias, hongos, protozoos, algas, viral y del huésped)** a partir de muestras conservadas utilizando nuestro **DANASWAB Sample Collection MICROBIOME Kit** para análisis de microbiomas.

Nuestro **DANASWAB Sample Collection MICROBIOME Kit** permite recolectar y conservar una amplia gama de muestras (heces, suelo, fluidos biológicos y otras muestras de hisopos).

En este procedimiento, los microorganismos se lisan eficazmente mediante una combinación de calor, disrupción química y mecánica con partículas especializadas.

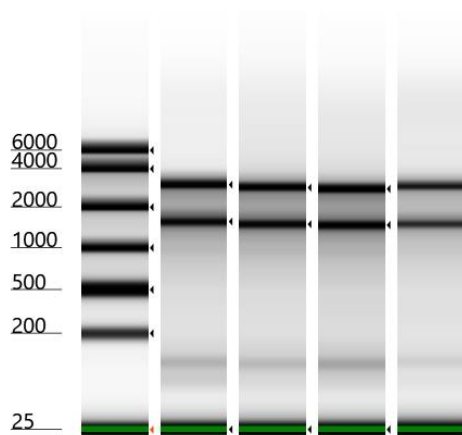
### Características:

- **Diseñado para una purificación rápida y sencilla de ARN microbiano a partir de muestras conservadas utilizando nuestro DANASWAB Sample Collection MICROBIOME Kit.**
- **ARN total (incluyendo small/micro RNAs) libre de sustancias inhibitorias.**
- **Método de lisis optimizado: combinación de lisis térmica, química y mecánica a través de la homogeneización basada en "beads" que permite el aislamiento del ARN microbiano para el análisis de microbioma.**
- **No se necesita extracción con fenol / cloroformo ni precipitación con etanol.**

### Aplicaciones:

- **Next-Generation Sequencing.**
- **RT/qPCR.**
- **Detección de patógenos.**

## High-Quality RNA



Se aisló el ARN total a partir de alícuotas de 200 µl de muestras de heces conservadas con nuestro DANAGENE MICROBIOME RNA kit. Estas muestras se conservaron a temperatura ambiente durante 7 días. La calidad se evaluó mediante Agilent 4150 TapeStation.

## 2. COMPONENTES KIT

|                                | <b>50 preps</b>  | <b>Almacenamiento</b> |
|--------------------------------|------------------|-----------------------|
| <b>Tampón Lisis ARN</b>        | <b>32 ml</b>     | Temperatura ambiente  |
| <b>Tampón de Lavado *</b>      | <b>10 ml</b>     | Temperatura ambiente  |
| <b>Agua libre de Nucelasas</b> | <b>8 ml</b>      | Temperatura ambiente  |
| <b>Proteinasa K *</b>          | <b>30 mg</b>     | -20°C                 |
| <b>Columnas gDNA Removal</b>   | <b>50 unids</b>  | Temperatura ambiente  |
| <b>Columnas Unión ARN</b>      | <b>50 unids</b>  | Temperatura ambiente  |
| <b>Tubos de Recolección</b>    | <b>100 unids</b> | Temperatura ambiente  |
| <b>Bead Microtubes</b>         | <b>50 unids</b>  | Temperatura ambiente  |

(\*) **Estas soluciones deben ser preparadas como se indica en la secciones de Preparaciones Preliminares del protocolo.**

**PRECAUCIONES:** El Tampón de Unión contiene sales de guanidinio y debe manipularse con cuidado. Las sales de guanidinio forman compuestos altamente reactivos cuando se combinan con lejía.

### 2.1 Equipos y reactivos necesarios y no provistos

- Microcentrifuga.
- Microtubos de 1.5 ml y 2.0 ml.
- Etanol 100%.
- Baño de agua, baño seco o bloque con calefacción (70°C).
- **Vortex para la homogenización de los bead microtubos, se recomienda el uso del Vortex Genie 2 o similar con un rack horizontal.**
- Homogenizador tipo "Bead mill" (Opcional).

### 3. PROTOCOLO

#### 3.1 Preparaciones Preliminares

- Disolver la proteinasa K en **1.3 ml** en agua libre de nucleasas y conservar a  $-20^{\circ}\text{C}$ . **Se recomienda realizar varias alícuotas** para evitar demasiados ciclos de descongelado-congelado. A esta temperatura es estable durante 1 año.
- **Añadir el Etanol 100 % al Tampón de Lavado** indicado en la etiqueta, unos **40 ml**. Mantener el envase bien cerrado para evitar la evaporación del etanol.

#### 3.2 Importantes recomendaciones generales

- El procedimiento está optimizado mediante el uso de "beads" en un **vortex con una agitación horizontal (Vortex Genie 2 o similar)**.
- **Los adaptadores con una orientación del tubo vertical pueden no agitar correctamente.**
- Se puede utilizar homogenizadores "Bead mil" como FastPrep, Precellys y otros pero siguiendo las instrucciones del fabricante para optimizar la lisis de la muestra. **IMPORTANTE:** Este tipo de homogenizadores puede causar la rotura de los microtubos con las beads por lo que es responsabilidad del usuario realizar comprobaciones iniciales de estabilidad para asegurar la estabilidad de los beads microtubos durante la configuración inicial.

#### 3.3 Protocolo para la extracción de ARN microbiano a partir de muestras en DANASWAB Sample Collection MICROBIOME Kit

**IMPORTANTE:** antes de la purificación del ARN, espere al menos 24 horas y agite con vortex vigorosamente para homogeneizar correctamente la muestra conservada.

1. Añadir **200  $\mu\text{L}$  de Solución de Estabilización** que contiene la muestra conservada en un **Bead microtube** + **600  $\mu\text{l}$  Tampón Lisis ARN** + **25  $\mu\text{l}$  de Proteínasa K**. **Incubar a  $70^{\circ}\text{C}$  durante 10 minutos**. Agitar los microtubos manualmente durante la incubación.
2. Homogenizar la muestra durante 10 minutos a máxima velocidad en un **Vortex Genie 2 o similar** utilizando un **adaptador horizontal**.
3. **Centrifugar a 14.000 rpm durante 5 minutos**. Pasar **600  $\mu\text{L}$  del sobrenadante** a una **Columna gDNA Removal** y centrifugar durante 1 minuto a 8.000 rpm.
4. Eliminar la Columna gDNA Removal y **continuar con el líquido del tubo de recolección y añadir 600  $\mu\text{l}$  de Etanol 100%**. Mezclar bien.

5. Coger una **Columna Unión ARN más su tubo de recolección** y añadir la mezcla del punto 4. **Centrifugar a 8,000 -10,000 rpm durante 30 segundos**. Pasar la muestra 2 veces ya que el volumen excede la capacidad de la columna.
6. Añadir **200 µl de Etanol 100%**. **Centrifugar a 14.000 rpm durante 1 minuto**. Eliminar el líquido.
7. Añadir **700 µl of Tampón de Lavado**. **Centrifugar a 14.000 rpm durante 1 minuto**. Eliminar el líquido.
- 8. Centrifugar a máxima velocidad durante 3 minutos para eliminar el etanol residual.**
9. Colocar la Columna Unión ARN en un microtubo de 1.5 ml (no suministrado) y añadir **50-100 µL Agua libre de Nucelinas**. Incubar a **temperatura ambiente** durante **2 minutos**.
10. **Centrifugar a máxima velocidad durante 60 segundos**. El microtubo contiene ahora el ARN.

#### **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](mailto:info@danagen.es)