

Protocolo de extracción de ADN Humano a partir de heces conservadas en el DANASTOOL Sample Collection Kit

1. Transferir **1.0 ml de muestra estabilizadas de heces** a un microtubo de 1.5 ml

*Antes de transferir la muestra, asegurarse bien **que la muestra está homogenizada completamente**, para la transferencia se recomienda cortar una punta de 1000 μ l para hacer la boca más ancha y coger 2 x 500 μ l, mezclando bien la muestra con la micropipeta.*

2. Incubar la muestra durante 10 minutos a 55°C con agitación continua a 900 rpm.
3. **Centrifugar a 14.000 rpm durante 5 minutos.** Recoger sólo **600 μ l de sobrenadante** que es el líquido transparente con color, evitar coger pellet y capa superficial de grasa que suele presentarse y colocar en un microtubo de 1.5 ml.
4. Añadir **200 μ l Tampón EC (eliminación contaminantes).Vortex.** Incubar a 4°C durante 5 minutos.
5. **Centrifugar a 14.000 rpm durante 5 minutos.** Recoger sólo **500 μ l de sobrenadante** en un nuevo microtubo de 1.5 ml. Evitar coger la posible capa superficial y/o pellet que se puede formar.
6. **Añadir 25 μ l Proteinasa K. Incubar a 70°C durante 10 minutos.**
7. Añadir **250 μ l del Tampón de Unión** a los 500 μ l de sobrenadante. Mezclar bien.
8. Añadir en el reservorio de la MicroSpin columna con su tubo de recogida. **Centrifugar a 10.000 rpm durante 60 segundos.** Eliminar el tubo de recogida.
9. Colocar la MicroSpin columna en un nuevo tubo de recogida y añadir al reservorio **500 μ l de Tampón de Desinhibición. Centrifugar a 12.000 rpm durante 60 segundos.** Eliminar el líquido.
10. **Añadir 700 μ l de Tampón de Lavado** en el reservorio de la MicroSpin columna. **Centrifugar a 14.000 rpm durante 60 segundos.** Eliminar el líquido.
11. **Centrifugar a máxima velocidad durante 3 minutos para eliminar el etanol residual.**
12. Eliminar el tubo de recogida y insertar la MicroSpin columna en un microtubo de 1.5 ml. **Añadir 200 μ l de Tampón de elución** (precalentado a 70°C) en el reservorio de la MicroSpin columna. Incubar 2 minutos.
13. **Centrifugar a máxima velocidad durante 60 segundos.** El microtubo contiene ahora el ADN.