

## KIT DE EXTRACCIÓN DE ADN GENÓMICO DE ALTA CALIDAD A PARTIR DE MUESTRAS PRENATALES

### Consideraciones generales:

LEER TODO EL PROTOCOLO ANTES de empezar.

Para evitar errores en el uso de las soluciones del kit, se recomienda rotular los viales de cada solución en la tapa, a la llegada del mismo. Mantener las soluciones bien cerradas y en una zona bien ventilada. Este kit está indicado para su uso en diagnóstico in vitro, a partir de mínimas cantidades de líquido amniótico o vellosidad corial. El tiempo aproximado de procesamiento es de 90 minutos a partir de líquido amniótico y de 120 minutos en el caso de vellosidad corial.

### Contenidos del kit:

	Kit 20 extracciones	Kit 50 extracciones
<b>Solución A</b>	7 ml	16 ml
<b>Solución B</b>	2.5 ml	6 ml
<b>Solución C</b>	850 µl	2.5 ml
<b>Solución D</b>	10 ml	22 ml
<b>Solución E</b>	12 ml	25.5 ml
<b>Solución F</b>	1 ml	3 ml
<b>Tubos 2 ml</b>	20	50
<b>Tubos 1.5 ml</b>	20	50

### Equipamiento y material necesario pero no suministrado

Para la utilización del kit se requiere el siguiente material no suministrado:

- Pipetas y puntas (es altamente recomendable el uso de puntas con filtro para evitar contaminaciones cruzadas)

- Guantes desechables
- Bloque térmico para la lisis a 56°C
- Microcentrífuga
- Agitador vórtex

### Consideraciones técnicas

Este kit ha sido especialmente diseñado con el objetivo de obtener, de forma reproducible, ADN genómico de alta calidad para su uso posterior en procedimientos de diagnóstico genético.

En concreto, el ADN genómico obtenido (tanto en cantidad como en calidad) ha sido eficazmente testado en el diagnóstico de anomalías cromosómicas usando las tecnologías BoBs y *Constitutional Chip* (Perkin ElmerR).

En cantidades mínimas de partida de líquido amniótico (2ml) y de vellosidad corial (1-5mg) se obtiene un rendimiento alto. Así mismo, la calidad del ADN obtenido es muy alta con una movilidad electroforética alta indicando la baja contaminación y fragmentación del mismo. No obstante, se recomienda utilizar mayores volúmenes de muestra en la medida de lo posible, para asegurar resultados óptimos. Estas características genéricas de alta concentración, baja contaminación por proteínas y otras macromoléculas y mínima fragmentación, junto a la rapidez del procedimiento y mínima muestra de partida, hacen que el ADN genómico obtenido pueda ser usado directamente para estudios genéticos complejos (RFLP, *Southern Blot*, aCGH, etc.) o bien, conservado para un análisis posterior.

### Identificación de la sustancia o preparado

#### SOLUCIÓN A

No peligrosa

#### SOLUCIÓN B

No peligrosa

#### SOLUCIÓN C: Contiene acetato de sodio

##### 1. IDENTIFICACIÓN DE LOS PELIGROS

###### a. Identificación de la sustancia y preparado

- Clasificación de acuerdo con la regulación (EC) No 1272/2008 [EU-GHS/CLP]

Irritación ocular (Categoría 2)

No es una sustancia o preparado peligroso, de acuerdo con las directivas comunitarias 67/548/EEC o 1999/45/EC.

###### b. Pictograma



##### 2. MANIPULACIÓN Y ALMACENAMIENTO

###### a. Precauciones para una correcta manipulación

Evitar el contacto con piel y ojos. Evitar la inhalación de gases y vapores. Tomar las medidas normales en protección frente a incendios.

###### b. Almacenamiento

Almacenar en un lugar fresco. Conservar el envase herméticamente cerrado, en un lugar seco y bien ventilado.

##### 3. MEDIDAS EN CASO DE VERTIDO ACCIDENTAL

a. Equipo de protección del personal y procedimientos de emergencia

Utilizar un equipo de protección. Evitar respirar los gases o vapores que se desprendan.

Asegurarse de que hay una buena ventilación.

###### b. Información medioambiental

No permitir la entrada del producto en el sistema de alcantarillado.

###### c. Materiales y métodos de contención y limpieza

Absorber con un material inerte, y tirar a contenedores apropiados y cerrados para su eliminación.

#### SOLUCIÓN D: Contiene 2-Propanol

##### 1. IDENTIFICACIÓN DE LOS PELIGROS

###### a. Identificación de la sustancia y preparado

- Clasificación de acuerdo con la regulación (EC) No 1272/2008 [EU-GHS/CLP]

Líquidos inflamables (Categoría 2)

Irritación ocular (Categoría 2)

Toxicidad específica en determinados órganos – exposición

única.

- Clasificación de acuerdo con las directivas de la UE 67/548/EEC o 1999/45/EC.

Fácilmente inflamable e irritante. La inhalación de los vapores puede provocar somnolencia y vértigo.

###### b. Pictograma



##### 2. MANIPULACIÓN Y ALMACENAMIENTO

###### a. Precauciones para una correcta manipulación

Evítese el contacto con los ojos y la piel. Evitar la inhalación de vapor o neblina.

Conservar alejado de toda llama o fuente de chispas - No fumar. Tomar medidas para impedir la acumulación de descargas electrostáticas.

###### b. Protección de la piel

Manipular con guantes. Los guantes deben ser inspeccionados antes de su uso. Utilice la técnica correcta de quitarse los guantes (sin tocar la superficie exterior del guante) para evitar el contacto de la piel con este producto. Deseche los guantes contaminados después de su uso, de conformidad con las leyes aplicables y buenas prácticas de laboratorio. Lavar y secar las manos.

##### 3. MEDIDAS EN CASO DE VERTIDO ACCIDENTAL

a. Equipo de seguridad del personal y procedimiento de emergencia.

Utilícese equipo de protección individual. Evitar respirar los vapores, la neblina o el gas. Asegúrese una ventilación apropiada. Retirar todas las fuentes de ignición. Evacuar el personal a zonas seguras. Tener cuidado con los vapores que se acumulan formando así, concentraciones explosivas. Los vapores pueden acumularse en las zonas inferiores.

###### b. Información medioambiental

Impedir nuevos escapes o derrames si puede hacerse sin riesgos. No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado.

#### SOLUCIÓN E

No peligrosa

#### SOLUCIÓN F

No peligrosa

### Condiciones de almacenamiento

Conservar las botellas, bien cerradas, en lugar ventilado. Todas las soluciones se pueden almacenar a temperatura ambiente (15-25°C). Si la temperatura es superior a 25°C se recomienda almacenar, al menos las soluciones A y C en un lugar refrigerado (2-8°C). En este caso puede aparecer un precipitado blanco en la solución A.

Si se han conservado las soluciones en frío, éstas deberán ser homogeneizadas y atemperadas a temperatura ambiente antes de su uso, especialmente la solución A para disolver el precipitado.

Todas las soluciones son estables durante 1 año cuando se almacenan a temperatura ambiente (15-25 ° C), siempre y cuando no se exceda la fecha de caducidad del kit (ver pegatina en la caja). Cuando se conserva a 4°C, el kit es estable más de un año sin disminución de la calidad.

### Recomendaciones del protocolo

- Muestra

La extracción puede hacerse a partir de líquido amniótico fresco o previamente cultivado; así como a partir de vellosidad corial fresca o previamente cultivada.

Aunque la extracción se haga a partir de un volumen mayor de líquido amniótico no es necesario aumentar el volumen de las soluciones, basta con repetir los pasos 1 a 3 hasta que toda la muestra haya sido centrifugada.

- Soluciones

Homogenizar suavemente cada solución antes de usar.

- Secado

Es importante no excederse en el secado final del pellet obtenido, ya que podría dificultar la solubilización del ADN. Añadir la solución F cuando el pellet empiece a secarse.

### Cantidad y Calidad del ADN

#### Concentración

Para obtener valores de concentración reales y fiables, se recomienda utilizar métodos fluorimétricos, especialmente si no se ha tratado la muestra con RNasa, ya que trazas de ARN pueden sobre-cuantificar la concentración de la muestra

#### Ratios 260/230 y 260/280

La calidad del ADN obtenido se puede determinar basándose en los ratios 260/230 y 260/280, no obstante, con concentraciones muy bajas de ADN o con trazas de ARN, los ratios pueden variar sin que ello indique una menor calidad del ADN.