

## **KIT DE EXTRACCIÓN DE ADN GENÓMICO DE ALTA CALIDAD A PARTIR DE MUESTRAS DE SANGRE**

### **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 investigación a partir de mínimas cantidades de sangre.

- El tiempo aproximado de procesamiento es de 120 minutos.

### **Contenido del Kit**

	Kit 20 extracciones	Kit 50 extracciones
Buffer EW	12 ml	25.5 ml
Solución A	7 ml	16 ml
Solución B	2.5 ml	6 ml
Solución C	0,85 ml	2,5 ml
Solución D	10 ml	22 ml
Solución E	12 ml	25,5 ml
Solución F	1 ml	3 ml
Microtubos (1,5 ml)	40	100

### **Equipamiento y material requerido pero no suministrado**

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

Microtubos de 2 y 1,5 ml (preferiblemente tipo *safe-lock*)

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 procedimientos de diagnóstico molecular.

Incluso con cantidades mínimas de partida (50 µl de sangre) se asegura un rendimiento alto (aprox. >75µgr DNA/ml sangre). Así mismo, la calidad del ADN obtenido es muy alta con una movilidad electroforética alta indicando la baja contaminación y fragmentación del mismo.

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.

### **IDENTIFICACION DE LA SUSTANCIA O PREPARADO**

#### **BUFFER EW**

No peligrosa

#### **SOLUCIÓN A**

No peligrosa

#### **SOLUCIÓN B**

No peligrosa

**SOLUCIÓN C:** Contiene acetato de sodio

#### **1. IDENTIFICACIÓN DE LOS PELIGROS**

##### **a. Identificación de la sustancia o 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 or 1999/45/EC.



##### **b. Etiquetado**

#### **2. MANIPULACIÓN Y ALMACENAMIENTO**

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

Evitar contacto con piel y ojos. Evitar la inhalación de gases y vapores.

Tomar las medidas normales en protección contra 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 emergencias**

Usar equipo de protección. Evite respirar los gases o vapores que desprenda

Asegúrese de que hay buena ventilación

##### **b. Información medioambiental**

No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado

##### **c. Material 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 o preparado.**

- **Clasificación de acuerdo con el Reglamento (CE) 1272/2008 [EU-GHS/CLP]**

Líquidos inflamables (Categoría 2)

Irritación ocular (Categoría 2)

Toxicidad específica en determinados órganos - exposición única (Categoría 3)

- **Clasificación de acuerdo con las Directivas de la UE 67/548/CEE ó 1999/45/CE**

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

##### **b. Etiquetado**



#### **2. MANIPULACIÓN**

##### **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 manos**

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 el 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 peligroso.

#### **SOLUCIÓN F**

No peligrosos

### **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**

#### **- Muestras**

La extracción puede hacerse a partir de 50 µl de sangre fresca o congelada.

#### **- Soluciones**

Homogenizar suavemente cada solución antes de usar, especialmente las soluciones A y C si se conservaron en frío.

#### **- 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.