

## **KIT DE EXTRACCIÓN DE ADN CIRCULANTE DE ALTA CALIDAD A PARTIR DE MUESTRAS DE PLASMA O SUERO**

### **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*.

-El tiempo aproximado de procesamiento es de 45 minutos.

### **Contenido del Kit**

	Kit 20 extracciones	Kit 50 extracciones
<b>Proteinasa K</b>	0,65 ml	1,6 ml
<b>Solución A</b>	2,1 ml	5,2 ml
<b>Solución B</b>	4,5 ml	10,5 ml
<b>Solución C</b>	1,7 ml	4,2 ml
<b>Solución D</b>	12,5 ml	32 ml (2 x 16 ml)
<b>Solución E</b>	12 ml	25,5 ml
<b>Solución F</b>	1,5 ml	3 ml
<b>Microtubos (1,5 ml)</b>	40	100

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

Para la utilización del kit se requiere del 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 circulante de alta calidad a partir de muestras de 1 ml de suero o plasma, para su uso posterior en análisis genéticos o epigenéticos. Este kit se puede utilizar también para la obtención de ADN circulante a partir de otros fluidos libres de células tales como la orina.

Se pueden utilizar volúmenes menores de muestra reduciendo de manera proporcional el volumen de las soluciones a utilizar. Para volúmenes mayores, se recomienda dividir la muestra en alícuotas de 0,5 ml y proceder con la purificación por separado. El DNA purificado de alícuotas de la misma muestra se puede mezclar al final del proceso, pero se incrementa el volumen de muestra final.

Es importante tener en cuenta que el ADN circulante suele estar presente en concentraciones muy bajas (1-100 ng/ml en personas sanas) y en fragmentos menores de 1000 bp. La concentración también varía de manera considerable entre diferentes individuos. No obstante, el ADN purificado con este kit ha sido analizado de manera exitosa en diversas aplicaciones como experimentos de genotipado o amplificaciones por PCR.

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

#### **SOLUCIÓN A**

No peligrosa

#### **SOLUCION 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]**

Iritación 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**

- **Identificación de la sustancia o preparado. Clasificación de acuerdo con el Reglamento (CE) 1272/2008 [EU-GHS/CLP]**

Líquidos inflamables (Categoría 2)

Iritación 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.

###### **a. 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 peligroso

#### **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,B y C en un lugar refrigerado (2-8°C).

La proteinasa K es estable a temperatura ambiente, pero se recomienda almacenarla a 2-8°C para alargar su vida útil.

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 de sales.

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**

Es muy importante un correcto procesado de las muestras de sangre para minimizar la posibilidad de contaminación con ADN celular en las muestras de plasma. **Se recomienda realizar una centrifugación adicional a alta velocidad en una microcentrífuga previa a la extracción del ADN circulante o del almacenamiento de la muestra.** Para muestras de orina también es recomendable realizar este paso, para evitar la presencia de células epiteliales que pudieran contaminar la muestra. La extracción de ADN puede realizarse a partir de muestras frescas, o muestras congeladas, de plasma, suero u orina.

##### **- Soluciones**

Homogeneizar suavemente cada solución antes de usar. En la solución A pueden aparecer precipitados de sales cuando se conserva a 4°C o incluso a temperatura ambiente. Se recomienda precalentarla a 55°C y homogeneizarla antes de su uso.

#### **Cantidad de ADN**

##### **Concentración**

El ADN circulante está presente en muy bajas concentraciones en los fluidos libres de células, siendo difíciles de determinar con espectrofotómetros. La cantidad de ADN purificado debería determinarse por métodos fluorimétricos (por ejemplo métodos basados en PicoGreen®) para obtener datos fiables y precisos de la concentración de la muestra final.