

Febrero 2017

Manual del kit QIAamp[®] DSP DNA FFPE Tissue



Versión 1

IVD

Para uso en diagnóstico in vitro

CE

REF

60404



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,
ALEMANIA

R3 **MAT**

1062689ES



Contenido

Uso previsto	5
Resumen y explicación	5
Principios del procedimiento	6
Materiales suministrados	8
Contenido del kit.....	8
Materiales necesarios pero no suministrados	9
Advertencias y precauciones.....	10
Almacenamiento y manipulación de reactivos	11
Manipulación y almacenamiento de muestras	12
Procedimiento	13
Preparación de soluciones tampón	14
Material de partida	15
Procedimiento de manipulación para evitar la contaminación cruzada.....	16
Centrifugado	17
Procesamiento de las columnas QIAamp MinElute en una microcentrifugadora	17
Elución de ADN purificado.....	18
Protocolo: aislamiento de ADN genómico a partir de cortes de tejido FFPE	19
Control de calidad.....	23
Limitaciones	23
Características de rendimiento	24
Símbolos	24
Información de contacto	25
Información para pedidos.....	26

Uso previsto

El kit QIAamp DSP DNA FFPE Tissue es un sistema que utiliza la tecnología de membrana de gel de sílice (tecnología QIAamp) para el aislamiento y la purificación de ADN genómico procedente de muestras biológicas fijadas en formalina e incorporadas en parafina (formalin-fixed, paraffin-embedded, FFPE).

El producto se ha diseñado para su empleo por usuarios profesionales, tales como técnicos y médicos, con formación en técnicas de biología molecular para diagnóstico in vitro (IVD); tiene como fin la preparación manual de muestras y no proporciona resultados de ensayo cualitativos ni cuantitativos.

Resumen y explicación

El kit QIAamp DSP DNA FFPE Tissue se utiliza para la purificación de ADN procedente de secciones tisulares FFPE. Utiliza la bien consolidada tecnología QIAamp DNA Micro para la purificación de ADN genómico y mitocondrial procedente de pequeños volúmenes o tamaños de muestras. El kit combina las propiedades de unión selectiva de una membrana de gel de sílice con volúmenes de elución flexibles.

Las condiciones de lisis permiten una purificación eficiente del ADN genómico procedente de secciones tisulares FFPE sin necesidad de incubación durante toda la noche. La incubación a una temperatura elevada una vez que la digestión en proteinasa K elimina parcialmente la reticulación de la formalina en el ADN liberado, lo que puede mejorar potencialmente los resultados, así como el rendimiento del ADN en los ensayos posteriores. Debe tenerse en cuenta que el ADN aislado de las muestras FFPE normalmente presenta un peso molecular inferior al del ADN procedente de muestras frescas o congeladas. El grado de fragmentación depende del tipo y de la antigüedad de la mezcla, así como de las condiciones empleadas para la fijación.

Tras la lisis de la muestra, el sencillo procedimiento QIAamp DSP DNA FFPE Tissue permite el procesamiento simultáneo de varias muestras.

Es responsabilidad del usuario validar el rendimiento del sistema con cualquier procedimiento utilizado en su laboratorio que no esté contemplado en los estudios de rendimiento de QIAGEN descritos en el manual.

Principios del procedimiento

El procedimiento QIAamp DSP DNA FFPE Tissue consta de seis pasos (Figura 1):

- Eliminación de la parafina: la parafina se disuelve en xileno y se elimina
- Lisis: la muestra es lisada a 56 °C en condiciones desnaturalizantes con proteinasa K
- Calor: la incubación a 90 °C revierte la reticulación de la formalina
- Unión: el ADN se une a la membrana y los contaminantes fluyen a través de esta
- Lavado: los contaminantes residuales desaparecen al lavarlos
- Elución: el ADN puro y concentrado se eluye desde la membrana

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Procedure

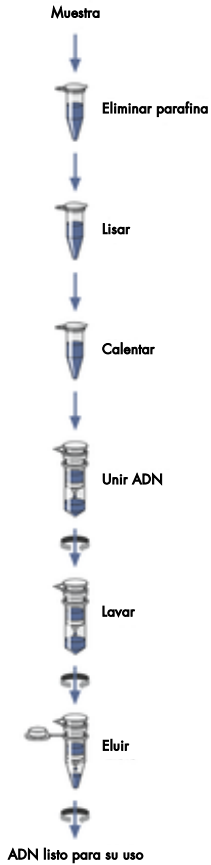


Figura 1. Procedimiento de QIAamp DSP DNA FFPE Tissue.

Materiales suministrados

Contenido del kit

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit			(50)
N.º de referencia			60404
Número de reacciones			50
QIAamp MinElute®	QIAamp MinElute Columns with Wash Tubes (Columnas QIAamp MinElute con tubos de lavado)	COL	50
WT	Wash Tubes (Tubos de lavado) (2 ml)	WASH TUBE	3 x 50
ET	Elution Tubes (Tubos de elución) (1,5 ml)	ELU TUBE	50
LT	Lysis Tubes (Tubos de lisis) (2 ml)	LYS TUBE	50
ATL	Tissue Lysis Buffer (Tampón de lisis Tissue)	TIS LYS BUF	10 ml
AL	Lysis Buffer* (Tampón de lisis)	LYS BUF	12 ml
AW1	Wash Buffer 1* (Tampón de lavado 1) (concentrado)	WASH BUF 1 CONC	19 ml
AW2	Wash Buffer 2† (Tampón de lavado 2) (concentrado)	WASH BUF 2 CONC	13 ml
ATE	Elution Buffer† (tampón de elución)	ELU BUF	12 ml
PK	Proteinase K (Proteinasa K)	PROTK	1,25 ml
-	Instructions For Use (Handbook) (Manual de instrucciones de uso)	HB	1

* Contiene una sal de guanidina. No es compatible con desinfectantes que contengan lejía. Consulte la página 10 si desea ver las advertencias y precauciones correspondientes.

† Contiene azida sódica como conservante.

Materiales necesarios pero no suministrados

Siempre que trabaje con productos químicos, utilice una bata de laboratorio adecuada, guantes desechables y gafas protectoras. Para obtener más información, consulte las hojas de datos sobre seguridad (safety data sheets, SDS) correspondientes, que puede solicitar al proveedor del producto.

Reactivos

- Xileno
- Etanol (96-100 %)*

Consumibles

- Si se decide no utilizar los tubos proporcionados en el kit, recomendamos tubos de microcentrifugadora de 1,5 ml o 2 ml (para los pasos de lisis) y de 1,5 ml (para los pasos de elución) (pueden solicitarse a Eppendorf® [Safe-Lock: n.º ref. 022363204, EE.UU.; n.º ref. 0030 120.086, Europa] o a Sarstedt [n.º ref. 72.690]). Recomendamos los tubos de forma cónica, libres de ADNasa/ARNasa, con tapas seguras.
- Pipetas y puntas de pipeta (para evitar la contaminación cruzada, recomendamos encarecidamente puntas de pipeta resistentes a aerosoles).

Equipo

- Thermomixer†, incubador orbital térmico, bloque térmico o baño de agua que permita la incubación a 56 °C, 70 °C y 90 °C
- Microcentrifugadora† con rotor para tubos de 2 ml
- Agitador vorticial

* No utilice alcohol desnaturalizado, que contiene otras sustancias como metanol o metiletilcetona.

† Para garantizar el correcto procesamiento de las muestras en los procedimientos QIAamp DSP DNA FFPE, es muy recomendable calibrar los instrumentos siguiendo las recomendaciones de los fabricantes.

Advertencias y precauciones

Para uso en diagnóstico in vitro

Siempre que trabaje con productos químicos, utilice una bata de laboratorio adecuada, guantes desechables y gafas protectoras. Para obtener más información, consulte las hojas de datos sobre seguridad (SDS) correspondientes. Puede obtenerlas en línea en el práctico y compacto formato PDF en www.qiagen.com/safety donde también podrá encontrar, consultar e imprimir las hojas de datos SDS de todos los kits y componentes de los kits QIAGEN®.



PRECAUCIÓN: NO añada lejía ni soluciones ácidas directamente a los residuos de la preparación de muestras.

El tampón AL y el tampón AW1 contienen clorhidrato de guanidina, susceptible de formar compuestos altamente reactivos cuando se combina con lejía.

Si se derrama el líquido que contiene estos tampones, límpielo con detergente específico de laboratorio y agua. Si el líquido derramado contiene agentes potencialmente infecciosos, limpie el área afectada con detergente de laboratorio y agua en primer lugar y, a continuación, con solución de hipoclorito de sodio al 1 % (v/v).

Las siguientes instrucciones de prevención y riesgos son aplicables a los componentes del kit QIAamp DSP DNA FFPE.

Tampón AL



Contiene clorhidrato de guanidina; ácido maleico. ¡Atención! Puede ser nocivo en caso de ingestión o de inhalación. Provoca irritación cutánea. Provoca irritación ocular grave. Puede provocar una reacción alérgica en la piel. Si persiste la irritación ocular: consultar a un médico. EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitarse las lentes de contacto, si lleva y le resulta fácil. Seguir aclarando. Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas. EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: lavar con agua y jabón abundantes. En caso de irritación cutánea: consultar a un médico. Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

Tampón ATL



¡Atención! Provoca irritación leve de la piel. En caso de irritación cutánea: consultar a un médico.

Tampón AW1



Contiene: clorhidrato de guanidina. ¡Atención! Nocivo en caso de ingestión o de inhalación. Provoca irritación cutánea. Provoca irritación ocular grave. Llamar a un CENTRO de información toxicológica o a un médico si se encuentra mal. Eliminar el contenido/el recipiente en una planta autorizada de eliminación de residuos. Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas. Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

Proteinasa K



Contiene: proteinasa K. ¡Peligro! Provoca irritación leve de la piel. Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación. Evitar respirar el polvo/ el humo/ el gas/ la niebla/ los vapores/ el aerosol. Eliminar el contenido/el recipiente en una planta autorizada de eliminación de residuos. En caso de síntomas respiratorios: Llamar a un CENTRO de información toxicológica o a un médico. EN CASO DE INHALACIÓN: Si respira con dificultad, transportar a la víctima al exterior y mantenerla en reposo en una posición confortable para respirar. Llevar equipo de protección respiratoria.

Almacenamiento y manipulación de reactivos

Las columnas QIAamp MinElute deben almacenarse a entre 2 y 8 °C tras su recepción y pueden utilizarse hasta la fecha de caducidad indicada en la caja del kit.

Todas las soluciones tampón se pueden conservar a temperatura ambiente (15–25 °C) y son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el kit. No obstante, el tampón reconstituido AW1 y AW2 puede almacenarse a temperatura ambiente (15–25 °C) durante 1 año como máximo o hasta la fecha de caducidad correspondiente al kit, lo que suceda antes.

El kit QIAamp DSP DNA FFPE Tissue contiene una solución de proteinasa K lista para su uso, que se suministra en un tampón de almacenamiento especialmente formulado. La proteinasa K es estable hasta la fecha de caducidad del kit si se conserva a temperatura ambiente (15–25 °C).

Manipulación y almacenamiento de muestras

Deberán emplearse procedimientos estándar de fijación en formalina e incorporación en formalina para limitar la fragmentación de ADN; asegúrese de:

- Fijar las muestras de tejidos en formalina según el protocolo del laboratorio (generalmente se acepta formalina neutra tamponada al 10 %) lo antes posible tras la escisión quirúrgica.
- Utilizar un tiempo de fijación de 14–24 horas. Limitar los tiempos de fijación, ya que una fijación prolongada (por ejemplo, >24 horas) podría provocar una mayor fragmentación del ADN, con lo que se conseguiría un peor rendimiento en los ensayos posteriores).
- Deshidratar las muestras de forma meticulosa antes de la incorporación (los restos de formalina pueden inhibir la digestión de la proteinasa K).

El ADN se eluye en tampón ATE y está inmediatamente listo para su uso en reacciones de amplificación o para su almacenamiento (las condiciones dependerán de los requisitos del usuario). Consulte los manuales del kit correspondientes para conocer las condiciones de almacenamiento recomendadas para aplicaciones posteriores de QIAGEN específicas.

Procedimiento

Cuestiones importantes antes de comenzar

- Todos los reactivos suministrados con el kit QIAamp DSP DNA FFPE Tissue se suministran para uso exclusivo con otros reactivos del mismo kit QIAamp DSP DNA FFPE Tissue. Para mantener un rendimiento óptimo de los reactivos del kit, no los sustituya.
- Tras recibir el kit, compruebe que los componentes no hayan sufrido ningún daño. Si los envases o los frascos de solución tampón están dañados, póngase en contacto con el Servicio Técnico de QIAGEN o con su distribuidor local. Si se derrama algún líquido, consulte la “Advertencias y precauciones” (página 10). No utilice los componentes dañados de un kit, ya que su rendimiento podría verse afectado.
- No utilice componentes de kits distintos del que está utilizando a menos que tengan el mismo número de lote.
- Procure evitar la contaminación microbiana de los reactivos del kit.
- Este kit sólo debe ser utilizado por personal cualificado para los métodos de laboratorio de diagnóstico in vitro.
- Al manipular los reactivos y las muestras, utilice siempre guantes de látex o de vinilo para evitar la contaminación procedente de la superficie de la piel o de un equipo de laboratorio con polvo. Las manos y el polvo pueden ser portadores de bacterias y hongos y son fuentes comunes de contaminación. Cámbiese los guantes con frecuencia y mantenga los tubos cerrados.
- Las soluciones tampón sin usar, los líquidos y los restos de muestras deberán desecharse siguiendo los procedimientos locales.
- Si utiliza su propio material plástico, se recomienda el uso de tubos cónicos desechables de polipropileno de baja unión libres de ADNasa/ARNasa, de 1,5-2 ml y con tapas de seguridad durante todo el procedimiento de purificación.
- Realice todos los pasos de la centrifugación a temperatura ambiente (15-25 °C).

- Todas las soluciones tampón se deben conservar a temperatura ambiente (15–25 °C) y mezclar bien antes de su uso.
- Ajuste un thermomixer o un incubador orbital térmico a 56° C para su uso en el paso 11. Si no dispone de un thermomixer o un incubador orbital térmico, puede utilizar en su lugar un bloque térmico o un baño de agua.
- Si las soluciones tampón AL o ATL contienen precipitados, disuélvalos calentando a 70 °C y agitando con suavidad.
- Asegúrese de que las soluciones tampón AW1 y AW2 se hayan preparado siguiendo las instrucciones que se indican a continuación.
- Los procedimientos de control de calidad de QIAGEN emplean pruebas funcionales de liberación de kit para cada lote de kit individual. Por lo tanto, no mezcle reactivos de lotes distintos de kit y no combine reactivos individuales de diferentes lotes de reactivos.

Preparación de soluciones tampón

Preparación del tampón ATL

- Antes de comenzar el procedimiento, compruebe si se ha formado precipitado en el tampón ATL. En caso necesario, disuélvalo calentando a 70 °C y agitando suavemente.

Preparación del tampón AL

- Antes de comenzar el procedimiento, compruebe si se ha formado precipitado en el tampón AL. En caso necesario, disuélvalo calentando a 70 °C y agitando suavemente.

Preparación del tampón AW1

- Añada 25 ml de etanol (96–100 %) al frasco que contiene 19 ml de tampón AW1 concentrado. Marque la casilla de verificación de la etiqueta del frasco para indicar que se ha añadido etanol. El tampón reconstituido AW1 puede almacenarse a temperatura ambiente (15–25 °C) durante 1 año como máximo o hasta la fecha de caducidad correspondiente al kit, lo que suceda antes. Recomendamos anotar la fecha de reconstitución en la etiqueta del tampón.

Nota: antes de comenzar el procedimiento, mezcle el tampón AW1 reconstituido mediante agitación.

Preparación del tampón AW2

- Añada 30 ml de etanol (96–100 %) al frasco que contiene 13 ml de tampón AW2 concentrado. Marque la casilla de verificación de la etiqueta del frasco para indicar que se ha añadido etanol. El tampón reconstituido AW2 puede almacenarse a temperatura ambiente (15–25 °C) durante 1 año como máximo o hasta la fecha de caducidad correspondiente al kit, lo que suceda antes. Recomendamos anotar la fecha de reconstitución en la etiqueta del tampón.

Nota: antes de comenzar el procedimiento, mezcle el tampón AW2 reconstituido mediante agitación.

Material de partida

El material de partida para la purificación de ADN son secciones cortadas de tejido FFPE (idealmente, recién cortadas). Se pueden combinar varios cortes en una misma preparación. Si no dispone de información acerca de la naturaleza de su material de partida, le recomendamos que comience con no más de tres cortes en cada preparación.

El usuario deberá optimizar el número de cortes, su grosor y área superficial para los procedimientos empleados en su laboratorio. Si se utiliza el kit junto con una aplicación QIAGEN posterior, consulte el correspondiente manual para obtener instrucciones.

Procedimiento de manipulación para evitar la contaminación cruzada

Dada la sensibilidad de las tecnologías de amplificación de los ácidos nucleicos, cuando se manipulen las columnas de centrifugación QIAamp MiniElute deben adoptarse las siguientes medidas de precaución con el fin de evitar una posible contaminación cruzada entre las muestras:

- No llene en exceso los tubos con el tejido.
- Cambie de bisturí entre una muestra y otra cuando raspe el tejido.
- Aplique la muestra o la solución con cuidado a la columna QIAamp MinElute. Pipetee la muestra para transferirla a la columna QIAamp MinElute procurando no humedecer el borde de la columna.
- Cambie siempre las puntas de pipeta entre las transferencias de líquidos. Recomendamos el uso de puntas de pipeta resistentes a aerosoles.
- Utilice siempre tubos de lavado nuevos al realizar los pasos de lavado de las muestras.
- Asegúrese de que las tapas de los tubos están totalmente cerradas antes de la agitación vorticial y el centrifugado.
- Asegúrese de que la columna QIAamp MinElute está cerrada por completo antes de comenzar el centrifugado.
- Tras haber realizado todos los pasos de agitación vorticial con pulsos y los pasos de incubación a 90 °C, centrifugue brevemente los tubos para microcentrifugadora con el fin de eliminar las gotas del interior de las tapas.
- Abra sólo una columna QIAamp MinElute cada vez y evite generar aerosoles.
- Cambie de bisturí siempre entre una muestra y otra.
- Cambie siempre las puntas de pipeta entre las transferencias de líquidos. Para minimizar la contaminación cruzada, recomendamos utilizar puntas de pipeta resistentes a aerosoles y evitar el uso de pipetas de varios pasos.

- Use siempre guantes desechables y compruebe regularmente que no se hayan contaminado con el material de las muestras. Deseche los guantes si sospecha que se han contaminado.
- No abra más de un tubo a la vez.

Centrifugado

Las columnas QIAamp MinElute se pueden utilizar en la mayoría de tubos de microcentrifugadora de 1,5–2 ml convencionales. Se pueden adquirir aparte más tubos de lavado de 2 ml (QIAGEN, n.º ref. 19201). El centrifugado de las columnas QIAamp MinElute se debe realizar a aproximadamente 6000 x g para reducir el ruido de centrifugado. El centrifugado a máxima velocidad no mejora el rendimiento del ADN. Sin embargo, se requiere el centrifugado de las columnas QIAamp MinElute a máxima velocidad en dos pasos del procedimiento: el paso de centrifugado en seco una vez lavadas las membranas y el paso de elución. También se precisa el centrifugado a máxima velocidad para reducir la muestra después del tratamiento con xileno y del paso de lavado con etanol.

Todos los pasos de centrifugado deben realizarse a temperatura ambiente (15–25°C). Una temperatura de centrifugado baja puede llevar a que la extracción no sea óptima.

Procesamiento de las columnas QIAamp MinElute en una microcentrifugadora

- Cierre siempre las columnas QIAamp MinElute antes de introducirlas en la microcentrifugadora.
- Evite tocar la membrana de la columna QIAamp MinElute con la punta de la pipeta.
- Las fracciones líquidas pueden contener residuos peligrosos; elimínelas de la forma apropiada.

- Para llevar a cabo un procesamiento paralelo eficaz de varias muestras, recomendamos llenar una gradilla con tubos de lavado a los que se pueden transferir las columnas QIAamp MinElute después del centrifugado. Los tubos de lavado utilizados que contienen el líquido se pueden eliminar y los nuevos tubos de lavado que contienen las columnas QIAamp MinElute se pueden introducir directamente en la microcentrifugadora.
- Asegúrese de que se mantiene una trazabilidad total de las muestras durante todo el proceso.

Elución de ADN purificado

Para aplicaciones posteriores que precisen volúmenes de partida reducidos (p. ej., algunos ensayos PCR), se podría aumentar la sensibilidad del ensayo mediante un eluido más concentrado pero este también podría aumentar la concentración de potenciales inhibidores.

Si se aumenta el volumen de elución, la concentración de ADN en el eluido disminuirá.

El volumen del eluido recuperado será aproximadamente 5 μ l menor que el volumen del tampón ATE aplicado a la columna QIAamp MinElute. Por ejemplo, un volumen de elución de 20 μ l produce ≥ 15 μ l de eluido. El volumen del eluido recuperado depende de la naturaleza de la muestra.

Es responsabilidad del usuario optimizar el volumen de elución para cualquier procedimiento utilizado en su laboratorio. Consulte los manuales del kit para conocer los volúmenes de elución recomendados para aplicaciones posteriores de QIAGEN específicas.

Los valores podrían aumentar si la columna se incubaba junto con el tampón ATE a temperatura ambiente durante 5 minutos antes de la centrifugación. El ADN eluido se puede recoger en tubos de elución de 1,5 ml (suministrados). Las condiciones de almacenamiento para el ADN eluido dependen de los requisitos definidos por el usuario. Consulte los manuales del kit para conocer las condiciones de almacenamiento recomendadas para aplicaciones posteriores de QIAGEN específicas.

Protocolo: aislamiento de ADN genómico a partir de cortes de tejido FFPE

Procedimiento

1. Recorte con un bisturí la parafina sobrante del bloque de muestra.
2. Corte las secciones siguiendo las prácticas convencionales del laboratorio (consulte “Material de partida”, página 15). El usuario deberá optimizar el número de cortes, su grosor y área superficial para los procedimientos empleados en su laboratorio. Asegúrese de que se mantiene la trazabilidad de las muestras durante todo el procedimiento.
3. Raspe de inmediato el tejido de los cortes con un bisturí estéril en un tubo de lisis (proporcionado). Asegúrese de que todo el tejido disponible se coloca en el tubo. Añada 1 ml de xileno a la muestra, cierre la tapa y agite en vórtex hasta que se disuelva la parafina (unos 10 s). Asegúrese de que el tubo está totalmente cerrado para evitar que se vierte el xileno, la contaminación cruzada entre muestras y el posible contacto con el xileno.

Nota: utilice el xileno en campana de humos o en otros aparatos de contención adecuados.

4. Centrifugue a máxima velocidad durante aproximadamente 2 minutos a temperatura ambiente para recoger el sedimento del tejido. Ni no se forma sedimento del tejido, repita este paso.

Nota: una temperatura de centrifugado baja puede llevar a que la extracción no sea óptima.

5. Elimine el sobrenadante mediante pipeteado y deséchelo. Conserve el sedimento. El sobrenadante contiene xileno, que es un residuo peligroso y debe desecharse correctamente siguiendo las normativas locales.
6. Añada 1 ml de etanol (96–100 %) al sedimento del tejido y mezcle a fondo mediante agitación vorticial. El etanol extrae el xileno residual de la muestra y debe desecharse debidamente.

7. Centrifugue a velocidad máxima durante 2 minutos a temperatura ambiente.

Elimine el sobrenadante mediante pipeteado. No elimine ninguna parte del sedimento.

Elimine con cuidado cualquier resto de etanol con una punta de pipeta fina. Abra el tubo e incúbelo a 15-40 °C hasta que se haya evaporado todo el etanol residual.

La eliminación del etanol residual es clave para el éxito de la extracción.

Nota: una temperatura de incubación más baja reduce la velocidad de evaporación, mientras que una temperatura más alta puede secar en exceso el sedimento, dificultando su suspensión.

8. Resuspenda el sedimento en 180 µl de tampón ATL. Añada 20 µl de proteinasa K y mezcle mediante agitación vorticial.

Nota: el sedimento debe estar bien resuspendido en el tampón ATL para garantizar el máximo rendimiento en la recuperación.

9. Incube a 56 °C ± 3 °C durante aproximadamente 1 hora (o hasta que la muestra se haya lisado completamente).

10. Incube a 90 °C ± 5 °C durante 1 hora ± 5 min.

La incubación a 90°C en tampón ATL invierte parcialmente la alteración de los ácidos nucleicos por el formaldehído. Unos tiempos de incubación más cortos o unas temperaturas más bajas pueden afectar a la calidad y cantidad de ADN. Si emplea un único bloque calefactor, deje la muestra a temperatura ambiente tras la incubación a 56 °C hasta que el bloque calefactor haya alcanzado los 90 °C.

11. Centrifugue brevemente el tubo para eliminar las gotas del interior del tapón.

12. Añada a la muestra 200 µl de tampón AL y mezcle a fondo mediante agitación vorticial. A continuación, añada 200 µl de etanol (96-100 %) y mezcle de nuevo a fondo mediante agitación vorticial.

Es esencial que la muestra, el tampón AL y el etanol se mezclen inmediatamente y a fondo mediante agitación vorticial o pipeteando hasta conseguir una solución homogénea. El tampón AL y el etanol pueden mezclarse previamente y añadirse juntos en un solo paso para ahorrar tiempo cuando se procesan varias muestras. Es posible que se forme un precipitado blanco al añadir el tampón AL y el etanol. Este precipitado no interfiere con el procedimiento QIAamp. Utilice en todo momento una mezcla fresca y deséchela inmediatamente después de su uso.

13. Centrifugue brevemente el tubo para eliminar las gotas del interior del tapón.

14. Transfiera con cuidado todo el lisado a la columna QIAamp MinElute (en un tubo de lavado de 2 ml) sin mojar el borde, cierre la tapa y centrifugue a aproximadamente 6000 x g durante ≥ 1 min. Disponga la columna QIAamp MinElute en un tubo de lavado limpio de 2 ml (proporcionado) y deseche el tubo de lavado que contiene el líquido.

Si el lisado todavía no ha atravesado completamente la membrana tras el centrifugado, repita el centrifugado a una velocidad mayor hasta que la columna QIAamp MinElute quede vacía.

15. Abra con cuidado la columna QIAamp MinElute y añada 500 µl de tampón AW1 reconstituido procurando no humedecer el borde. Cierre la tapa y centrifugue a aproximadamente 6000 x g durante ≥ 1 min. Disponga la columna QIAamp MinElute en un tubo de lavado limpio de 2 ml y deseche el tubo de lavado que contiene el líquido.

16. Abra con cuidado la columna QIAamp MinElute y añada 500 µl de tampón AW2 reconstituido procurando no humedecer el borde. Cierre la tapa y centrifugue a aproximadamente 6000 x g durante ≥ 1 min. Disponga la columna QIAamp MinElute en un tubo de lavado limpio de 2 ml y deseche el tubo de lavado que contiene el líquido. Debe evitarse el contacto entre la columna QIAamp MinElute y el líquido. Asegúrese de equilibrar el rotor de la centrifugadora. Algunos rotores de centrifugadora pueden vibrar durante la deceleración y hacer que el líquido que contiene etanol entre en contacto con la columna QIAamp MinElute. Tenga cuidado al retirar la columna QIAamp MinElute y el tubo de lavado del rotor, de modo que el líquido no entre en contacto con la columna QIAamp MinElute.
17. Centrifugue a velocidad máxima (aproximadamente 20.000 x g durante unos 3 minutos para secar la membrana. El arrastre de etanol hacia el eluido puede interferir en las aplicaciones posteriores
18. Introduzca la columna QIAamp MinElute en un tubo de elución limpio de 1,5 ml (proporcionado) y deseche el tubo de lavado que contiene el filtrado. Abra con cuidado la tapa de la columna QIAamp MinElute y aplique de 20 a 200 µl de tampón ATE en el centro de la membrana.
- IMPORTANTE:** si utiliza volúmenes de elución pequeños (<50 µl), dispense el tampón ATE en el centro de la membrana para asegurar la completa elución del ADN ligado. Las columnas QIAamp MinElute permiten flexibilidad a la hora de elegir el volumen de elución. Elija un volumen de acuerdo con los requisitos de la aplicación posterior. El volumen del eluido será aproximadamente 5 µl menor que el volumen de la solución de elución aplicada a la columna.
19. Cierre la tapa e incube a temperatura ambiente (15–25 °C) durante al menos 1 min. Centrifugue a máxima velocidad (aproximadamente 20.000 x g) durante ≥ 1 min. El rendimiento del ADN podría aumentar si se incubaba la columna QIAamp MinElute cargada con tampón ATE durante aproximadamente 5 min a temperatura ambiente antes de la centrifugación.

Control de calidad

Conforme al sistema de gestión de calidad con certificación ISO de QIAGEN, cada lote del kit QIAamp DSP DNA FFPE Tissue se somete a distintas pruebas en función de una serie de especificaciones predeterminadas con el fin de garantizar una calidad constante del producto.

Limitaciones

El rendimiento del kit se ha establecido utilizando tejidos fijados en formalina e incorporados en parafina (tejidos FFPE) para el aislamiento de ADN genómico.

Es responsabilidad del usuario validar el rendimiento del sistema con cualquier procedimiento utilizado en su laboratorio que no esté contemplado en los estudios de rendimiento de QIAGEN descritos en el manual.

Para minimizar el riesgo de que se produzcan efectos negativos sobre los resultados diagnósticos, deben utilizarse controles apropiados para las aplicaciones posteriores. Para realizar validaciones adicionales se recomienda seguir las directrices de la International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH) (Conferencia Internacional sobre la Armonización de los Requisitos Técnicos) detalladas en ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology (Validación de los procedimientos analíticos: texto y metodología).

Todo resultado diagnóstico que se genere debe interpretarse en combinación con otros datos clínicos o de laboratorio.








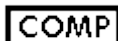


Mediante el uso del kit QIAamp DSP DNA FFPE Tissue, el ARN puede copurificarse con ADN si está presente en la muestra.

Características de rendimiento

Consulte www.qiagen.com/p/QIAamp-DSP-DNA-FFPE-Tissue-CE para conocer las características de rendimiento del kit QIAamp DSP DNA FFPE Tissue.











Símbolos

Los símbolos siguientes pueden aparecer en el embalaje y las etiquetas:

Símbolo	Definición del símbolo
	Contiene suficientes reactivos para <N> reacciones
	Fecha de caducidad
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	A su recepción
	Número de referencia
	Número de lote
	Número de material
	Componentes
	Contenido
	Número

Símbolo

Definición del símbolo

	Anotar la fecha actual tras añadir etanol al frasco
	Etanol
	Adición
	Clorhidrato de guanidina
	Ácido maleico
	Número mundial de artículo comercial
	Limitación de temperatura
	Fabricante
	Consultar las instrucciones de uso
	Precaución

Información de contacto

Para recibir asistencia técnica y solicitar más información, visite nuestro Centro de servicio técnico en el sitio www.qiagen.com/Support, llame al 00800-22-44-6000 o póngase en contacto con uno de los departamentos del servicio técnico de QIAGEN o con los distribuidores locales (consulte la contraportada o visite www.qiagen.com).

Información para pedidos

Producto	Contenido	N.º de ref.
Kit QIAamp DSP DNA FFPE Tissue, para la purificación de ADN genómico obtenido de tejidos incorporados en parafina		
QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit (50)	Para 50 preparaciones de ADN: 50 columnas QIAamp MinElute®, proteinasa K, tampones, tubos de lavado (2 ml), tubos de elución (1,5 ml), tubos de lisis (2 ml)	60404

Para obtener información actualizada sobre licencias y exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual de uso o la guía del usuario del kit de QIAGEN correspondiente. Los manuales y los manuales del usuario de los kits de QIAGEN están disponibles en www.qiagen.com o pueden solicitarse al Servicio Técnico de QIAGEN o al distribuidor local.

Marcas comerciales: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, MinElute® (QIAGEN Group); Eppendorf® (Eppendorf AG).

Acuerdo de Licencia Limitada para el manual del kit QIAamp DSP DNA FFPE

La utilización de este producto implica por parte de cualquier comprador o usuario del producto la aceptación de los siguientes términos:

1. El producto debe utilizarse exclusivamente de acuerdo con los protocolos proporcionados con el producto y este manual de uso, así como con los componentes contenidos en el panel. QIAGEN no ofrece licencia alguna bajo ninguna de sus propiedades intelectuales para utilizar o incorporar los componentes suministrados en este panel con componentes no incluidos en el mismo, excepto según se describe en los protocolos proporcionados con el producto, este manual de uso y otros protocolos disponibles en www.qiagen.com. Algunos de estos protocolos adicionales han sido proporcionados por usuarios de QIAGEN para otros usuarios. QIAGEN no ha probado ni optimizado estos protocolos en profundidad. Por ello, QIAGEN no los garantiza ni asegura que no infrinjan los derechos de terceros.
2. Aparte de las licencias expresamente especificadas, QIAGEN no garantiza que este panel ni su(s) uso(s) no infrinjan derechos de terceros.
3. Este panel y sus componentes tienen licencia para un solo uso y no se pueden reutilizar, reacondicionar ni revender.
4. QIAGEN niega específicamente cualquier otra licencia, explícita o implícita, distinta de las licencias expresamente especificadas.
5. El comprador y el usuario del panel aceptan no realizar ni permitir a otros realizar ningún paso que pueda conducir a acciones prohibidas en las especificaciones anteriores o que pueda facilitarlas. QIAGEN se reserva el derecho de emprender acciones legales ante cualquier tribunal para el cumplimiento de las prohibiciones especificadas en este Acuerdo de licencia limitada, y recuperará todos los gastos derivados de la investigación y de los costes del juicio, incluidos los honorarios de abogacía, en cualquier acción emprendida para hacer cumplir este Acuerdo de licencia limitada o cualquier otro derecho de propiedad intelectual con relación a este panel y con sus componentes.

Para obtener los términos actualizados de la licencia, visite www.qiagen.com.

Feb-17 HB-0414-004 © 2017 QIAGEN. Reservados todos los derechos.

Pedidos www.qiagen.com/contact | Asistencia técnica support.qiagen.com | Sitio web www.qiagen.com