



Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

Producto	Preparaciones
M6399-01CEIVD	4 x 96 preparaciones

Fecha del manual: Julio de 2023
Número de revisión: v1.1



Para diagnósticos *in vitro*



Omega Bio tek, Inc.
400 Pinnacle Way, Suite 450
Norcross, GA 30071



www.omegabiotek.com



+1-770-931-8400



+1-770-931-0230



info@omegabiotek.com



[omega-bio-tek](https://www.linkedin.com/company/omega-bio-tek)



[omegabiotek](https://twitter.com/omegabiotek)



[omegabiotek](https://www.facebook.com/omegabiotek)

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

Índice

Uso previsto y usuario previsto.....	2
Descripción del producto.....	3
Contenido del kit.....	4
Almacenamiento y estabilidad.....	4
Dispositivos de separación magnética y materiales plásticos.....	4
Preparar los reactivos.....	5
Control de calidad.....	6
Advertencias / Información de seguridad.....	6
Precauciones.....	7
Limitaciones.....	9
Protocolo para sangre.....	10
Protocolo para tejido.....	14
Protocolo para cultivos celulares.....	19
Protocolo para saliva.....	24
Protocolo para hisopos orales.....	28
Información de contacto.....	32
Símbolos.....	33
Historial de revisiones.....	35
Avisos y exenciones de responsabilidad.....	36

Fecha del manual: Julio de 2023

Número de revisión: v1.1



Uso previsto

Para diagnósticos *in vitro*.

El Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD está previsto para el aislamiento y la purificación de ADN genómico a partir de células y tejidos cultivados frescos o congelados, hasta 250 µl de sangre entera, hisopos bucales, hasta 500 µl de saliva y manchas de sangre seca.

El Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD utiliza tecnología basada en perlas magnéticas y se puede procesar de forma manual o automatizada en la mayoría de las plataformas abiertas de manipulación de líquidos, así como en procesadores magnéticos.

Usuario previsto

El kit está previsto para uso profesional.

El Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD está previsto para su uso *in vitro* y para ser utilizado por usuarios profesionales, como personal de laboratorio, técnicos, investigadores y médicos específicamente formados y capacitados en técnicas de biología molecular y familiarizados con la purificación basada en perlas magnéticas, ya sea manual o automatizada.

Descripción del producto

El Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD ofrece un método versátil para el aislamiento de ADN de alta calidad de una amplia variedad de muestras, que incluyen tanto cultivos celulares como muestras recientes o congeladas de origen animal, hasta 250 µl de sangre completa, hisopos orales, hasta 500 µl de saliva y gotas de sangre seca. Mag-Bind® Particles HDQ ofrece un tiempo de respuesta magnética rápido lo que reduce el tiempo de procesamiento total. El sistema combina las propiedades reversibles de unión de los ácidos nucleicos de las partículas paramagnéticas de Mag-Bind® con la eficiencia probada de las sustancias químicas del tampón Omega Bio-tek para ofrecer un método rápido y cómodo para aislar el ADN de una gran variedad de muestras. El procedimiento de purificación ofrece un ADN de alta calidad que es adecuado para el uso directo en la mayoría de las aplicaciones posteriores, como la amplificación, la secuenciación de nueva generación y las reacciones enzimáticas.

Si va a utilizar el Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD por primera vez, lea este folleto por completo para familiarizarse con los procedimientos. Las muestras se lisan en sistemas tampón adaptadas específicamente para cada tipo de material de partida. Tras el lisado, las muestras se mezclan con el HDQ Binding Buffer y con las Mag-Bind® Particles HDQ para que el ADN se una a las perlas magnéticas. Las partículas paramagnéticas se separan de los lisados utilizando un dispositivo de separación magnética. Tras unos rápidos pasos de lavado para eliminar los microcontaminantes, se eluye el ADN en el Elution Buffer.

En la siguiente literatura de referencia se proporciona una revisión de los métodos para el aislamiento y la purificación de ADN/ARN^{1,2}.

Importante:

1. Si realiza este procedimiento mediante técnicas automatizadas con manipuladores de líquidos o procesadores magnéticos, póngase en contacto con su representante de Omega Bio-tek para recibir instrucciones específicas para el instrumento.
2. Los kits incluyen suficientes reactivos para el número especificado de preparaciones más un excedente adicional de un 10 % para garantizar que haya un volumen suficiente. Tenga en cuenta que el número real de preparaciones puede ser inferior debido a la distribución en alícuotas previa de los reactivos, el procesamiento de placas parciales y la plataforma de automatización utilizada, etc.

¹ Ali, N., Rampazzo, R., Costa, A., & Krieger, M. A. (2017). Current Nucleic Acid Extraction Methods and Their Implications to Point-of-Care Diagnostics. *BioMed research international*, 2017, 9306564. <https://doi.org/10.1155/2017/9306564>
² Geciova, J., Bury, D., & Jelen, P. (2002). Methods for disruption of microbial cells for potential use in the dairy industry—a review. *International Dairy Journal*, 12(6), 541-553.

Contenido del kit

Producto	M6399-01CEIVD
Purificaciones	4 x 96
AL Buffer	125 ml
TL Buffer	120 ml
HDQ Binding Buffer	40 ml
VHB Buffer	230 ml
SPM Buffer	150 ml
Elution Buffer	250 ml
Proteinase K Solution	9 ml
Mag-Bind® Particles HDQ	9 ml

Conservación y estabilidad

Si se conservan adecuadamente, todos los componentes del Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD tienen una garantía de más de 12 meses desde la fecha de compra. La Proteinase K Solution puede conservarse a temperatura ambiente durante un máximo de 12 meses. Para su conservación a largo plazo, conserve la Proteinase K Solution a una temperatura de 2-8 °C. Conserve todos los demás componentes a las temperaturas recomendadas indicadas en la etiqueta del frasco. Después de abrir el producto continúe su conservación según las instrucciones de la etiqueta. Asegúrese de que los tapones estén bien cerrados después de cada uso. Durante el transporte en condiciones de frío, podrían formarse precipitados en algunos de los tampones. Disuelva los depósitos calentando la solución a 37 °C y agitando suavemente.

Dispositivos de separación magnética y materiales de plástico

Aunque existen varias marcas de dispositivos de separación magnética compatibles con el Mag-Bind® Blood & Tissue DNA HDQ 96 Kit (CE-IVD), recomendamos utilizar la placa magnética universal Magnum™ EX de Alpaqua (n.º de parte A000380) junto con los pocillos Nunc DeepWell™ de 2 ml (n.º de parte 278752). Esta combinación ofrece unos tiempos de magnetización rápidos: solo 1 minuto para la magnetización completa durante los pasos de lavado y 5 minutos para los pasos de clarificación del lisado.

Independientemente del dispositivo de separación magnética que se seleccione, asegúrese de que el dispositivo sea compatible con los dispositivos de plástico necesarios para este kit.

Preparación de los reactivos

1. Diluya el SPM Buffer con 350 ml de etanol 100 % y consérvelo a temperatura ambiente.
2. Prepare el VHB Buffer con 290 ml de etanol 100 % y consérvelo a temperatura ambiente.
3. Prepare el HDQ Binding Buffer con 160 ml de isopropanol 100 % y consérvelo a temperatura ambiente.
4. Agite o agite con el agitador vorticial las Mag-Bind® Particles HDQ para volver a poner en suspensión las partículas completamente antes de uso. Las partículas deben estar totalmente en suspensión durante su uso para asegurarse de que la unión es adecuada.

Control de calidad

De acuerdo con el sistema de gestión de calidad con certificación ISO de Omega Bio-tek, todos los reactivos del Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD se prueban de forma regular contra características técnicas predeterminadas lote por lote para garantizar la fiabilidad en el rendimiento y la coherencia de la calidad del producto.

Advertencias

Este kit está previsto para diagnósticos *in vitro*.

Lea atentamente todas las instrucciones antes de utilizar el kit.

Descontamine y elimine todos los materiales potencialmente infecciosos de acuerdo con las normas locales, estatales y europeas aplicables. Para los clientes de la Unión Europea, tenga en cuenta que está obligado a informar al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro en el que se encuentre establecido el usuario y/o el paciente sobre incidentes graves que hayan ocurrido en relación con el dispositivo. Si necesita cualquier tipo de ayuda, póngase en contacto con Omega Bio-tek a través de info@omegabiotek.com.

Si utiliza este kit siguiendo un flujo de trabajo de extracción automatizado, la superficie de la plataforma automatizada se considera un riesgo biológico. Use métodos apropiados de descontaminación y eliminación de acuerdo con todas las normas locales, estatales/provinciales y/o nacionales aplicables.

Información de seguridad



Todos los materiales químicos y biológicos son potencialmente peligrosos.

Las muestras biológicas como plasma, suero, tejidos, fluidos corporales, sangre, etc. son potencialmente infecciosas y deberán tratarse como materiales biopeligrosos. Realice todo el trabajo en instalaciones debidamente equipadas siguiendo las precauciones universales y utilizando el equipo de seguridad personal adecuado, como guantes desechables, batas de laboratorio, gafas de seguridad, etc., según lo requieran las políticas y los procedimientos descritos por su centro.

Consulte las hojas de datos de seguridad (SDS, del inglés safety data sheet) para obtener información sobre la manipulación, el transporte y la eliminación de manera segura de los distintos reactivos incluidos en este kit. Las SDS están disponibles en formato PDF en la página del producto en www.omegabiotek.com. Elimine todos los residuos de acuerdo con las normas de seguridad locales.

Precauciones


Algunos de los tampones incluidos en el Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD contienen agentes caotrópicos a base de guanidina, los cuales pueden formar compuestos altamente reactivos cuando se combinan con lejía. **NO agregue lejía ni disoluciones ácidas** a los residuos de la preparación de muestras que contengan guanidina. Acceda a las SDS en línea para obtener información detallada sobre los reactivos.

Componente	Descripción
AL Buffer 	Contiene: clorhidrato de guanidina. ¡Advertencia! Provoca irritación ocular grave. Causa irritación de la piel. Nocivo si se ingiere. No coma, beba ni fume cuando utilice este producto. Lave bien todas las áreas externas del cuerpo expuestas después de la manipulación. Use guantes protectores, ropa protectora, protección para los ojos y protección para la cara. EN LOS OJOS: Enjuagar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quítese los lentes de contacto, si tiene y es fácil hacerlo. Continúe enjuagando. Consiga consejo/atención médica si persiste la irritación de los ojos. Quite la ropa contaminada y lávela antes de reusarla. EN LA PIEL: Lavar con abundante agua y jabón. Consiga consejo/atención médica si se produce irritación de la piel o sarpullido. INGESTIÓN: Enjuagar la boca. Llame a un centro de información toxicológica o a un médico si no se siente bien.
TL Buffer 	Contiene: detergente aniónico. ¡Advertencia! Provoca irritación ocular grave. Pueden provocar una reacción alérgica. Evite respirar nebulizaciones/vapores/aerosoles. Evitar que la ropa de trabajo contaminada salga del lugar de trabajo. Use guantes protectores/ropa protectora/protección para los ojos/protección para la cara. EN LOS OJOS: enjuagar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quítese las lentillas si las lleva puestas y es fácil hacerlo. Continúe enjuagándose. Obtenga consejo/atención médica si la irritación ocular persiste. EN LA PIEL: lavar con abundante agua y jabón. Obtenga consejo/atención médica si se produce un sarpullido o irritación de la piel. Lave la ropa contaminada antes de usarla.

Precauciones

Componente	Descripción
<p>Proteinase K Solution</p> 	<p>Contiene: perclorato de sodio. ¡Peligro! Puede provocar daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas. Puede provocar un incendio o una explosión; oxidante fuerte. Nocivo si se ingiere. Mantener alejado del calor, superficies calientes, chispas, llamas abiertas y otras fuentes de ignición. No Fumar. Mantener alejado de la ropa y otros materiales combustibles. No respire la niebla/los vapores/el aerosol. Lave bien todas las áreas externas del cuerpo expuestas después de la manipulación. No coma, beba ni fume cuando utilice este producto. Use guantes protectores y ropa protectora. INGESTIÓN: Enjuagar la boca. Llame a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico/médico/socorrista si no se siente bien. EN LA ROPA: Enjuagar inmediatamente la ropa y la piel contaminadas con abundante agua antes de quitarse la ropa. Consiga consejo/atención médica si no se siente bien. En caso de incendio: Utilizar... para extinguir. En caso de incendio importante y de grandes cantidades: Evacue el área. Combatir el fuego de forma remota debido al riesgo de explosión.</p>
<p>HDQ Binding Buffer</p>   	<p>Contiene: perclorato de sodio. ¡Peligro! Provoca irritación ocular grave. Dañino si se traga. Puede provocar fuego o explosión; oxidante potente. Mantener alejado del calor. Mantener/almacenar lejos de ropa/material orgánico/ materiales combustibles. Tome todas las precauciones necesarias para evitar la mezcla con materiales combustibles/ orgánicos. Lave bien todas las zonas externas del cuerpo expuestas después de la manipulación. No comer, beber ni fumar cuando se utilice este producto. Use guantes protectores, ropa protectora, protección para los ojos y protección para la cara. Use ropa ignífuga/retardante/ resistente al fuego. SI SE TRAGA: enjuagarse la boca. Llame a un centro de envenenamientos/doctor/médico/ primeros auxilios si se encuentra mal. EN LOS OJOS: enjuagar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quítese las lentillas si las lleva puestas y es fácil hacerlo. Continúe enjuagándose. Obtenga consejo/atención médica si la irritación ocular persiste. EN LA ROPA: enjuagar inmediatamente la ropa y la piel contaminadas con agua abundante antes de quitarse la ropa. En caso de incendio importante y de gran tamaño: evacue la zona. Apagar el fuego a distancia debido al riesgo de explosión.</p>

Precauciones

Componente	Descripción
VHB Buffer 	Contiene: hidrocloreuro de guanidina. ¡Advertencia! Provoca irritación ocular grave. Provoca irritación de la piel. Pueden provocar una reacción alérgica. Dañino si se traga. Evite respirar nebulizaciones/vapores/aerosoles. No comer, beber ni fumar cuando se utilice este producto. Evitar que la ropa de trabajo contaminada salga del lugar de trabajo. Use guantes protectores/ropa protectora/protección para los ojos/protección para la cara. En caso de exposición o preocupación: llame a un centro de envenenamiento o a un médico. EN LOS OJOS: enjuagar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quítese las lentillas si las lleva puestas y es fácil hacerlo. Continúe enjuagándose. Obtenga consejo/atención médica si la irritación ocular persiste. Quítese la ropa contaminada y lávela antes de reutilizarla. EN LA PIEL: lavar con abundante agua y jabón. Obtenga consejo/atención médica si se produce un sarpullido o irritación de la piel. SI SE TRAGA: enjuagarse la boca. Llame a un centro de envenenamiento/doctor/médico si se encuentra mal.

Limitaciones

El rendimiento del kit se evaluó aislando ADN genómico a partir de 250 µl de sangre total, hisopos bucales, 500 µl de saliva conservada y células cultivadas. El rendimiento del kit se validó aún más mediante la evaluación de la idoneidad del ADN genómico purificado en el análisis directo posterior mediante el método de amplificación estándar. Tenga en cuenta que el usuario es responsable de verificar las características de rendimiento de cualquier procedimiento no cubierto por los estudios de evaluación de rendimiento de Omega Bio-tek. El usuario también es responsable de establecer las métricas de rendimiento necesarias para la aplicación diagnóstica posterior que elija. Se deberán emplear controles apropiados y adecuados en cualquier aplicación diagnóstica posterior que use ADN genómico purificado con el Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

Protocolo para sangre

El siguiente procedimiento se ha optimizado para su uso con muestras de sangre RECIENTE o CONGELADA de 250 µl. También se puede utilizar capa leucocitaria.

Importante: Si realiza este procedimiento mediante técnicas automatizadas con manipuladores de líquidos o agitadores magnéticos, póngase en contacto con su representante de Omega Bio-tek para recibir instrucciones específicas para el instrumento.

Materiales y reactivos que deberá proporcionar el usuario:

- Dispositivo de separación magnética (se recomienda Magnum™ EX de Alpaqua, n.º de parte A000380)
- Agitador vorticial
- Termobloque, incubador o baño de agua capaz de alcanzar los 70 °C
- Microplaca de 96 pocillos (500 µl) o placa de elución deseada
- Placa con 96 pocillos profundos de 2 ml (se recomienda Nunc, n.º de parte 278752) o placa deseada compatible con el dispositivo de separación magnética
- Pipetas multicanal y depósitos para reactivos
- Etanol 100 %
- Isopropanol 100 %
- Agua libre de nucleasas
- Opcional: RNasa A (10 mg/ml)
- Opcional: PBS

Antes de empezar:

- Prepare el SPM Buffer, el VHB Buffer y el HDQ Binding Buffer según la sección "Preparación de reactivos" que aparece en la página 5.
 - Configure el termobloque, incubador o baño de agua a 70 °C.
1. Prepare una mezcla maestra del AL Buffer y de la Proteinase K Solution solo para la extracción de las muestras según la siguiente tabla:

Componente	Cantidad por preparación	Cantidad total por placa de 96 pocillos
AL Buffer	290 µl	30,6 ml*
Proteinase K Solution	20 µl	2,1 ml*

* Para una placa de 96 pocillos se ha calculado un exceso de volumen del 10 %.

Importante: Prepare únicamente la cantidad de mezcla maestra del AL Buffer/ Proteinase K Solution que vaya a utilizar en un plazo inferior a 4 horas desde su preparación.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

2. Añada una muestra de sangre de 250 µl a una placa con 96 pocillos profundos de 2 ml (no incluida en el kit). Si el volumen de sangre es inferior a 250 µl, aumente el volumen hasta 250 µl con PBS (no incluido) o Elution Buffer (incluido en este kit).
3. Añada 310 µl de mezcla maestra de AL Buffer/Proteinase K Solution a cada una de las muestras. Agite con el agitador vortical o pipetee arriba y abajo 20 veces para mezclar. Obtener una buena mezcla es fundamental para un buen rendimiento.

Nota: Para los protocolos automatizados, se recomienda la mezcla con pipetas ya que se obtiene un mejor rendimiento.

4. Incubar a 70 °C durante 10 minutos.

Opcional: Añada 5 µl de RNasa A a cada una de las muestras. Agite con el agitador vortical para mezclar. Deje que se asiente a temperatura ambiente durante 2 minutos.

5. Añada 400 µl de HDQ Binding Buffer y 20 µl de Mag-Bind® Particles HDQ a cada muestra. Agite con el agitador vortical durante 10 minutos para mezclar.

Nota:

- El HDQ Binding Buffer debe diluirse con isopropanol 100 % antes de su uso. Para obtener más instrucciones, consulte la página 5. El HDQ Binding Buffer y las Mag-Bind® Particles HDQ se pueden preparar como mezcla maestra. Prepare únicamente la cantidad necesaria para un ciclo.
- Si no es posible agitar con el agitador vortical de manera constante durante 10 minutos, hágalo durante 30 segundos cada 2 minutos hasta llegar a 10 minutos.

6. Coloque la placa sobre un dispositivo de separación magnética para imantar las Mag-Bind® Particles HDQ. Deje que se asiente a temperatura ambiente hasta que las Mag-Bind® Particles HDQ se separen por completo de la solución.
7. Aspire y deseche el sobrenadante que se ha clarificado. No altere las Mag-Bind® Particles HDQ.
8. Quite la placa del dispositivo de separación magnética.
9. Añada 600 µl de VHB Buffer a cada muestra.

Nota: El VHB Buffer debe diluirse con etanol 100 % antes de su uso. Para obtener más instrucciones, consulte la página 5.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

10. Agite con el agitador vorticial durante 15 segundos para mezclar.

Nota: La resuspensión completa de las Mag-Bind® Particles HDQ es esencial para obtener una buena pureza.

11. Coloque la placa sobre el dispositivo de separación magnética para imantar las Mag-Bind® Particles HDQ. Deje que se asiente a temperatura ambiente hasta que las Mag-Bind® Particles HDQ se separen por completo de la solución.

12. Aspire y deseche el sobrenadante que se ha clarificado. No altere las Mag-Bind® Particles HDQ.

13. Quite la placa del dispositivo de separación magnética.

14. Repita los pasos 9-13 para un segundo paso con el VHB Buffer.

15. Añada 600 µl de SPM Buffer a cada muestra.

Nota: El SPM Buffer debe diluirse con etanol 100 % antes de su uso. Para obtener más instrucciones, consulte la página 5.

16. Agite con el agitador vorticial durante 15 segundos para mezclar.

17. Coloque la placa sobre el dispositivo de separación magnética para imantar las Mag-Bind® Particles HDQ. Deje que se asiente a temperatura ambiente hasta que las Mag-Bind® Particles HDQ se separen por completo de la solución.

18. Aspire y deseche el sobrenadante que se ha clarificado. No altere las Mag-Bind® Particles HDQ.

19. Seleccione uno de los siguientes pasos de eliminación del etanol:

- A. Deje la placa sobre el dispositivo de separación magnética. Añada 500 µl de agua libre de nucleasas (no incluida en el kit), déjela sobre el imán durante 20-30 segundos y luego aspire. No deje el agua libre de nucleasas sobre las Mag-Bind® Particles HDQ durante más de 60 segundos. Continúe con el paso 20.

O

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

- B. Deje la placa sobre el dispositivo de separación magnética. Espere 1 minuto. Retire el líquido residual con una pipeta. Deje secar las Mag-Bind® Particles HDQ durante 10 minutos más. Continúe con el paso 20.

20. Quite la placa del dispositivo de separación magnética.

21. Añada 50-200 µl de Elution Buffer o de agua libre de nucleasas para eluir el ADN de las Mag-Bind® Particles HDQ.

Nota: Caliente el Elution Buffer o el agua libre de nucleasas a 70 °C para mejorar el rendimiento.

22. Agite con el agitador vorticial durante 5 minutos para mezclar.

Nota: Si no es posible agitar con el agitador vorticial de manera constante durante 5 minutos, hágalo durante 15 segundos cada 1-2 minutos hasta llegar a 5 minutos.

23. Coloque la placa sobre el dispositivo de separación magnética para imantar las Mag-Bind® Particles HDQ. Deje que se asiente a temperatura ambiente hasta que las Mag-Bind® Particles HDQ se separen por completo de la solución.

24. Transfiera el sobrenadante clarificado que contiene el ADN purificado a una microplaca con 96 pocillos (no incluida en el kit). Conserve el ADN a -20 °C.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

Protocolo para tejido

Este método permite el aislamiento del ADN genómico de una muestra de tejido de hasta 10 mg. El rendimiento variará en función de la fuente.

Importante: Si realiza este procedimiento mediante técnicas automatizadas con manipuladores de líquidos o agitadores magnéticos, póngase en contacto con su representante de Omega Bio-tek para recibir instrucciones específicas para el instrumento.

Materiales y equipos que deberá proporcionar el usuario:

- Dispositivo de separación magnética (se recomienda Magnum™ EX de Alpaqua, n.º de parte A000380)
- Agitador vorticial
- Centrifugadora con un rotor basculante de pocillos que alcance 4000 g
- Adaptador de centrifugadora para 96 placas
- Baño de agua con agitación capaz de alcanzar los 55 °C
- Microplaca de 96 pocillos (500 µl) o placa de elución deseada
- Placas con 96 pocillos profundos de 2 ml (se recomienda Nunc, n.º de parte 278752) o placa deseada compatible con el dispositivo de separación magnética
- Pipetas multicanal y depósitos para reactivos
- Etanol 100 %
- Isopropanol 100 %
- Agua libre de nucleasas
- Recomendado: Ditiotreitol (DTT) 1 M
- Opcional: RNasa A (10 mg/ml)
- Opcional: termobloque, incubador o baño de agua capaz de alcanzar los 70 °C
- Opcional: nitrógeno líquido y mortero y maza

Antes de empezar:

- Prepare el SPM Buffer, el VHB Buffer y el HDQ Binding Buffer según la sección "Preparación de reactivos" que aparece en la página 5.
- Prepare el baño de agua a 55 °C.
- Opcional: prepare el baño de agua, incubador o termobloque a 70 °C
- Recomendado: añada 40 µl de DTT 1 M por 1 ml de TL Buffer antes de su uso.

OPCIONAL: Aunque la homogeneización mecánica del tejido no sea necesaria, pulverizar las muestras en nitrógeno líquido mejora la lisis y reduce el tiempo de incubación.

Cuando se evapore el nitrógeno líquido, transfiera el tejido en polvo a una placa limpia de 96 pocillos profundos (no incluida). Añada 250 µl de TL Buffer y siga con el paso 3 que aparece en la siguiente página.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

1. Triture hasta obtener 10 mg de tejido y transfíeralos a una placa de 96 pocillos profundos (no incluida).

Nota: Cortar el tejido en partes pequeñas puede acelerar la lisis.

2. Añada 250 µl de TL Buffer a cada muestra.

Opcional: Para la lisis de cabellos y otros tejidos difíciles de lisar, se recomienda una mezcla maestra de TL Buffer y DTT.

- Diluya el DTT hasta lograr una concentración final de 40 mM en el TL Buffer.
- Añada 40 µl de DTT 1 M por 1 ml de TL Buffer antes de su uso.
- Prepare únicamente la cantidad de mezcla maestra del TL Buffer/DTT que vaya a utilizar inmediatamente.

3. Añada 20 µl de Proteinase K Solution a cada una de las muestras. Agite con el agitador vorticial para mezclar.

4. Incube a 55 °C en un baño de agua con agitación.

Nota: Si no dispone de un baño de agua con agitación, agite la muestra con el agitador vorticial cada 20-30 minutos. El tiempo de lisis depende de la cantidad y del tipo de tejido, pero normalmente suele ser menor a 3 horas. La lisis se puede realizar durante la noche.

Opcional: Añada 5 µl de RNasa A a cada una de las muestras. Agite con el agitador vorticial para mezclar. Deje que se asiente a temperatura ambiente durante 2 minutos.

5. Centrifugue a velocidad máxima ($\geq 4000\text{ g}$) durante 5 minutos para que precipiten los residuos de tejido no digeridos.
6. Con cuidado, transfiera 200 µl del sobrenadante a una nueva placa de 96 pocillos profundos sin alterar los precipitados sin digerir.
7. Añada 230 µl de AL Buffer a cada muestra. Agite con el agitador vorticial durante 10 minutos para mezclar. Obtener una buena mezcla es fundamental para un buen rendimiento.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

Nota:

- Para los protocolos automatizados, se recomienda la mezcla con pipetas ya que se obtiene un mejor rendimiento.
- Si no es posible agitar con el agitador vorticial de manera constante durante 10 minutos, hágalo durante 30 segundos cada 2 minutos hasta llegar a 10 minutos.

8. Añada 320 µl de HDQ Binding Buffer y 20 µl de Mag-Bind® Particles HDQ a cada muestra. Agite con el agitador vorticial durante 10 minutos para mezclar.

Nota:

- El HDQ Binding Buffer debe diluirse con isopropanol 100 % antes de su uso. Para obtener más instrucciones, consulte la página 5. El HDQ Binding Buffer y las Mag-Bind® Particles HDQ se pueden preparar como mezcla maestra. Prepare únicamente la cantidad necesaria para un ciclo.
- Si no es posible agitar con el agitador vorticial de manera constante durante 10 minutos, hágalo durante 30 segundos cada 2 minutos hasta llegar a 10 minutos.

9. Coloque la placa sobre un dispositivo de separación magnética para imantar las Mag-Bind® Particles HDQ. Deje que se asiente a temperatura ambiente hasta que las Mag-Bind® Particles HDQ se separen por completo de la solución.

10. Aspire y deseche el sobrenadante que se ha clarificado. No altere las Mag-Bind® Particles HDQ.

11. Quite la placa que contiene las Mag-Bind® Particles HDQ del dispositivo de separación magnética.

12. Añada 600 µl de VHB Buffer a cada muestra.

Nota: El VHB Buffer debe diluirse con etanol 100 % antes de su uso. Para obtener más instrucciones, consulte la página 5.

13. Agite con el agitador vorticial durante 15 segundos para mezclar.

Nota: La resuspensión completa de las Mag-Bind® Particles HDQ es esencial para obtener una buena pureza.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

14. Coloque la placa sobre el dispositivo de separación magnética para imantar las Mag-Bind® Particles HDQ. Deje que se asiente a temperatura ambiente hasta que las Mag-Bind® Particles HDQ se separen por completo de la solución.
15. Aspire y deseche el sobrenadante que se ha clarificado. No altere las Mag-Bind® Particles HDQ.
16. Quite la placa que contiene las Mag-Bind® Particles HDQ del dispositivo de separación magnética.
17. Repita los pasos 12-16 para un segundo paso con el VHB Buffer.
18. Añada 600 µl de SPM Buffer a cada muestra.

Nota: El SPM Buffer debe diluirse con etanol 100 % antes de su uso. Para obtener más instrucciones, consulte la página 5.

19. Agite con el agitador vorticial durante 15 segundos para mezclar.
20. Coloque la placa sobre el dispositivo de separación magnética para imantar las Mag-Bind® Particles HDQ. Deje que se asiente a temperatura ambiente hasta que las Mag-Bind® Particles HDQ se separen por completo de la solución.
21. Aspire y deseche el sobrenadante que se ha clarificado. No altere las Mag-Bind® Particles HDQ.
22. Seleccione uno de los siguientes pasos de eliminación del etanol:
 - A. Deje la placa sobre el dispositivo de separación magnética. Añada 500 µl de agua libre de nucleasas (no incluida en el kit), déjela sobre el imán durante 20-30 segundos y luego aspire. No deje el agua libre de nucleasas sobre las Mag-Bind® Particles HDQ durante más de 60 segundos. Continúe con el paso 23.
 - O
 - B. Deje la placa sobre el dispositivo de separación magnética. Espere 1 minuto. Retire el líquido residual con una pipeta. Deje secar las Mag-Bind® Particles HDQ durante 10 minutos más. Continúe con el paso 23.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

23. Quite la placa que contiene las Mag-Bind® Particles HDQ del dispositivo de separación magnética.
24. Añada 100-200 µl de Elution Buffer o de agua libre de nucleasas para eluir el ADN de las Mag-Bind® Particles HDQ.

Nota: Caliente el Elution Buffer o el agua libre de nucleasas a 70 °C para mejorar el rendimiento.

25. Agite con el agitador vorticial durante 5 minutos para mezclar.

Nota: Si no es posible agitar con el agitador vorticial de manera constante durante 5 minutos, hágalo durante 15 segundos cada 1-2 minutos hasta llegar a 5 minutos.

26. Coloque la placa sobre el dispositivo de separación magnética para imantar las Mag-Bind® Particles HDQ. Deje que se asiente a temperatura ambiente hasta que las Mag-Bind® Particles HDQ se separen por completo de la solución.
27. Transfiera el sobrenadante clarificado que contiene el ADN purificado a una microplaca con 96 pocillos (no incluida en el kit). Conserve el ADN a -20 °C.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

Protocolo para cultivos celulares

Este protocolo está diseñado para un aislamiento rápido de hasta 25 µg de ADN genómico de hasta cultivos de 5×10^6 células.

Importante: Si realiza este procedimiento mediante técnicas automatizadas con manipuladores de líquidos o agitadores magnéticos, póngase en contacto con su representante de Omega Bio-tek para recibir instrucciones específicas para el instrumento.

Materiales y equipos que deberá proporcionar el usuario:

- Dispositivo de separación magnética (se recomienda Magnum™ EX de Alpaqua, n.º de parte A000380)
- Agitador vorticial
- Centrifugadora con un rotor basculante de pocillos que alcance 4000 g
- Baño de agua con agitación capaz de alcanzar los 55 °C
- Microplaca de 96 pocillos (500 µl) o placa de elución deseada
- Placas con 96 pocillos profundos de 2 ml (se recomienda Nunc, n.º de parte 278752) o placa deseada compatible con el dispositivo de separación magnética
- Pipetas multicanal y depósitos para reactivos
- PBS frío (4 °C)
- Etanol 100 %
- Isopropanol 100 %
- Agua libre de nucleasas
- Opcional: RNasa A (10 mg/ml)
- Opcional: termobloque, incubador o baño de agua capaz de alcanzar los 70 °C
- Opcional: tripsina y rascador de células

Antes de empezar:

- Prepare el SPM Buffer, el VHB Buffer y el HDQ Binding Buffer según la sección "Preparación de reactivos" que aparece en la página 5.
- Prepare el baño de agua con agitación a 55 °C.
- Opcional: prepare el baño de agua, incubador o termobloque a 70 °C.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

1. Prepare la suspensión celular.
 - 1a. Las muestras de células congeladas se deben descongelar antes de empezar este protocolo. Precipite las células mediante centrifugación. Lave las células con PBS frío (4 °C) y resuspenda las células en 180 µl de PBS frío. Continúe con el paso 2 de este protocolo.
 - 1b. Para el crecimiento celular en suspensión, precipite 5×10^6 células a 1200g en un tubo para centrifugación. Elimine el sobrenadante, lave las células una vez con PBS frío (4 °C) y resuspenda las células en 180 µl de PBS frío. Continúe con el paso 2 de este protocolo.
 - 1c. Para el crecimiento celular en una monocapa, siembre las células o bien utilizando un tratamiento de tripsina o bien un rascador celular. Lave las células dos veces con PBS frío (4 °C) y resuspenda las células en 180 µl de PBS frío. Continúe con el paso 2 de este protocolo.
2. Prepare una mezcla maestra del AL Buffer y de la Proteinase K Solution solo para la extracción de las muestras según la siguiente tabla:

Componente	Cantidad por preparación	Cantidad total por placa de 96 pocillos
AL Buffer	230 µl	24,3 ml*
Proteinase K Solution	20 µl	2,1 ml*

* Para una placa de 96 pocillos se ha calculado un exceso de volumen del 10 %.

Importante: Prepare únicamente la cantidad de mezcla maestra del AL Buffer/ Proteinase K Solution que vaya a utilizar en un plazo inferior a 4 horas desde su preparación.

3. Añada 250 µl de mezcla maestra de AL Buffer/Proteinase K Solution a cada una de las muestras. Agite con el agitador vorticial durante 10 minutos para mezclar. Obtener una buena mezcla es fundamental para un buen rendimiento.

Nota:

- Para los protocolos automatizados, se recomienda la mezcla con pipetas ya que se obtiene un mejor rendimiento.
- Si no es posible agitar con el agitador vorticial de manera constante durante 10 minutos, hágalo durante 30 segundos cada 2 minutos hasta llegar a 10 minutos.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

4. Incube a 55 °C en un baño de agua con agitación durante 10 minutos.

Nota: Si no dispone de un baño de agua con agitación, agite la muestra con el agitador vorticial cada 2-3 minutos.

5. Transfiera las muestras a una placa con 96 pocillos profundos (no incluida en el kit).

Opcional: Añada 5 µl de RNasa A a cada una de las muestras. Agite con el agitador vorticial para mezclar. Deje que se asiente a temperatura ambiente durante 2 minutos.

6. Añada 320 µl de HDQ Binding Buffer y 20 µl de Mag-Bind® Particles HDQ a cada muestra. Agite con el agitador vorticial durante 10 minutos para mezclar.

Nota:

- El HDQ Binding Buffer debe diluirse con isopropanol 100 % antes de su uso. Para obtener más instrucciones, consulte la página 5. El HDQ Binding Buffer y las Mag-Bind® Particles HDQ se pueden preparar como mezcla maestra. Prepare únicamente la cantidad necesaria para un ciclo.
- Si no es posible agitar con el agitador vorticial de manera constante durante 10 minutos, hágalo durante 30 segundos cada 2 minutos hasta llegar a 10 minutos.

7. Coloque la placa sobre un dispositivo de separación magnética para imantar las Mag-Bind® Particles HDQ. Deje que se asiente a temperatura ambiente hasta que las Mag-Bind® Particles HDQ se separen por completo de la solución.

8. Aspire y deseche el sobrenadante que se ha clarificado. No altere las Mag-Bind® Particles HDQ.

9. Quite la placa que contiene las Mag-Bind® Particles HDQ del dispositivo de separación magnética.

10. Añada 600 µl de VHB Buffer a cada muestra.

Nota: El VHB Buffer debe diluirse con etanol 100 % antes de su uso. Para obtener más instrucciones, consulte la página 5.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

11. Agite con el agitador vorticial durante 15 segundos para mezclar.

Nota: La resuspensión completa de las Mag-Bind® Particles HDQ es esencial para obtener una buena pureza.

12. Coloque la placa sobre el dispositivo de separación magnética para imantar las Mag-Bind® Particles HDQ. Deje que se asiente a temperatura ambiente hasta que las Mag-Bind® Particles HDQ se separen por completo de la solución.

13. Aspire y deseche el sobrenadante que se ha clarificado. No altere las Mag-Bind® Particles HDQ.

14. Quite la placa que contiene las Mag-Bind® Particles HDQ del dispositivo de separación magnética.

15. Repita los pasos 10-14 para un segundo paso con el VHB Buffer.

16. Añada 600 µl de SPM Buffer a cada muestra.

Nota: El SPM Buffer debe diluirse con etanol 100 % antes de su uso. Para obtener más instrucciones, consulte la página 5.

17. Agite con el agitador vorticial durante 15 segundos para mezclar.

18. Coloque la placa sobre el dispositivo de separación magnética para imantar las Mag-Bind® Particles HDQ. Deje que se asiente a temperatura ambiente hasta que las Mag-Bind® Particles HDQ se separen por completo de la solución.

19. Aspire y deseche el sobrenadante que se ha clarificado. No altere las Mag-Bind® Particles HDQ.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

20. Seleccione uno de los siguientes pasos de eliminación del etanol:
- A. Deje la placa sobre el dispositivo de separación magnética. Añada 500 µl de agua libre de nucleasas (no incluida en el kit), déjela sobre el imán durante 20-30 segundos y luego aspire. No deje el agua libre de nucleasas sobre las Mag-Bind® Particles HDQ durante más de 60 segundos. Continúe con el paso 21.
 - O
 - B. Deje la placa sobre el dispositivo de separación magnética. Espere 1 minuto. Retire el líquido residual con una pipeta. Deje secar las Mag-Bind® Particles HDQ durante 10 minutos más. Continúe con el paso 21.
21. Quite la placa que contiene las Mag-Bind® Particles HDQ del dispositivo de separación magnética.
22. Añada 50-200 µl de Elution Buffer o de agua libre de nucleasas para eluir el ADN de las Mag-Bind® Particles HDQ.
- Nota:** Caliente el Elution Buffer o el agua libre de nucleasas a 70 °C para mejorar el rendimiento.
23. Agite con el agitador vorticial durante 5 minutos para mezclar.
- Nota:** Si no es posible agitar con el agitador vorticial de manera constante durante 5 minutos, hágalo durante 15 segundos cada 1-2 minutos hasta llegar a 5 minutos.
24. Coloque la placa sobre el dispositivo de separación magnética para imantar las Mag-Bind® Particles HDQ. Deje que se asiente a temperatura ambiente hasta que las Mag-Bind® Particles HDQ se separen por completo de la solución.
25. Transfiera el sobrenadante clarificado que contiene el ADN purificado a una microplaca con 96 pocillos (no incluida en el kit). Conserve el ADN a -20 °C.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

Protocolo para saliva

Importante: si automatiza este procedimiento en un manipulador de líquidos o un procesador magnético, póngase en contacto con su representante de Omega Bio-tek para obtener instrucciones específicas del instrumento.

Materiales y equipos que deberá proporcionar el usuario:

- Dispositivo de separación magnética (se recomienda Magnum™ EX de Alpaqua, n.º de parte A000380)
- Agitador vorticial
- Baño de agua con agitación capaz de alcanzar los 55 °C
- Microplaca de 96 pocillos (500 µl) o placa de elución deseada
- Placas con 96 pocillos profundos de 2 ml (se recomienda Nunc, n.º de parte 278752) o placa deseada compatible con el dispositivo de separación magnética
- Pipetas multicanal y depósitos para reactivos
- Etanol 100 %
- Isopropanol 100 %
- Agua libre de nucleasas
- Opcional: RNasa A (10 mg/ml)
- Opcional: termobloque, incubador o baño de agua capaz de alcanzar los 70 °C

Antes de empezar:

- Prepare el SPM Buffer, el VHB Buffer y el HDQ Binding Buffer según la sección "Preparación de reactivos" que aparece en la página 5.
- Prepare el baño de agua con agitación a 55 °C.
- Opcional: prepare el baño de agua, incubador o termobloque a 70 °C.

1. Centrifugue el tubo de saliva a 2000 g durante 5 minutos.
2. Transfiera 500 µl de muestras de saliva estabilizadas (por ejemplo, DNA Genotek Oragene®, Mawi iSWAB™, Biomatrix® DNAgard® Saliva) a una placa con 96 pocillos profundos (no incluida en el kit).
3. Prepare una mezcla maestra del AL Buffer y de la Proteinase K Solution solo para la extracción de las muestras según la siguiente tabla:

Componente	Cantidad por preparación	Cantidad total por placa de 96 pocillos
AL Buffer	200 µl	21,12 ml*
Proteinase K Solution	20 µl	2,1 ml*

* Para una placa de 96 pocillos se ha calculado un exceso de volumen del 10 %.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

Importante: Prepare únicamente la cantidad de mezcla maestra del AL Buffer/Proteinase K Solution que vaya a utilizar en un plazo inferior a 4 horas desde su preparación.

- Añada 220 µl de AL Buffer/Proteinase K Solution a cada una de las muestras. Agite con el agitador vorticial durante 10 minutos para mezclar. Obtener una buena mezcla es fundamental para un buen rendimiento.

Nota:

- Para los protocolos automatizados, se recomienda la mezcla con pipetas ya que se obtiene un mejor rendimiento.
- Si no es posible agitar con el agitador vorticial de manera constante durante 10 minutos, hágalo durante 30 segundos cada 2 minutos hasta llegar a 10 minutos.

- Incube a 55 °C en un baño de agua con agitación durante 10 minutos.

Nota: Si no dispone de un baño de agua con agitación, agite la placa con el agitador vorticial cada 2-3 minutos. Si se ha utilizado un tubo de ADN Genotek Oragene® y ya se ha realizado el paso de incubación, salte hasta el paso 6.

Opcional: Añada 5 µl de RNasa A a cada una de las muestras. Agite con el agitador vorticial para mezclar. Deje que se asiente a temperatura ambiente durante 2 minutos.

- Añada 400 µl de HDQ Binding Buffer y 20 µl de Mag-Bind® Particles HDQ a cada muestra. Agite con el agitador vorticial durante 10 minutos para mezclar.

Nota:

- El HDQ Binding Buffer debe diluirse con isopropanol 100 % antes de su uso. Para obtener más instrucciones, consulte la página 5. El HDQ Binding Buffer y las Mag-Bind® Particles HDQ se pueden preparar como mezcla maestra. Prepare únicamente la cantidad necesaria para un ciclo.
- Si no es posible agitar con el agitador vorticial de manera constante durante 10 minutos, hágalo durante 30 segundos cada 2 minutos hasta llegar a 10 minutos.

- Coloque la placa sobre un dispositivo de separación magnética para imantar las Mag-Bind® Particles HDQ. Deje que se asiente a temperatura ambiente hasta que las Mag-Bind® Particles HDQ se separen por completo de la solución.
- Aspire y deseche el sobrenadante que se ha clarificado. No altere las Mag-Bind® Particles HDQ.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

- Quite la placa que contiene las Mag-Bind® Particles HDQ del dispositivo de separación magnética.

- Añada 600 µl de VHB Buffer a cada muestra.

Nota: El VHB Buffer debe diluirse con etanol 100 % antes de su uso. Para obtener más instrucciones, consulte la página 5.

- Agite con el agitador vorticial durante 15 segundos para mezclar.

Nota: La resuspensión completa de las Mag-Bind® Particles HDQ es esencial para obtener una buena pureza.

- Coloque la placa sobre el dispositivo de separación magnética para imantar las Mag-Bind® Particles HDQ. Deje que se asiente a temperatura ambiente hasta que las Mag-Bind® Particles HDQ se separen por completo de la solución.

- Aspire y deseche el sobrenadante que se ha clarificado. No altere las Mag-Bind® Particles HDQ.

- Quite la placa que contiene las Mag-Bind® Particles HDQ del dispositivo de separación magnética.

- Repita los pasos 10-14 para un segundo paso con el VHB Buffer.

- Añada 600 µl de SPM Buffer a cada muestra.

Nota: El SPM Buffer debe diluirse con etanol 100 % antes de su uso. Para obtener más instrucciones, consulte la página 5.

- Agite con el agitador vorticial durante 15 segundos para mezclar.

- Coloque la placa sobre el dispositivo de separación magnética para imantar las Mag-Bind® Particles HDQ. Deje que se asiente a temperatura ambiente hasta que las Mag-Bind® Particles HDQ se separen por completo de la solución.

- Aspire y deseche el sobrenadante que se ha clarificado. No altere las Mag-Bind® Particles HDQ.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

20. Seleccione uno de los siguientes pasos de eliminación del etanol:

- A. Deje la placa sobre el dispositivo de separación magnética. Añada 500 µl de agua libre de nucleasas (no incluida en el kit), déjela sobre el imán durante 20-30 segundos y luego aspire. No deje el agua libre de nucleasas sobre las Mag-Bind® Particles HDQ durante más de 60 segundos. Continúe con el paso 21.

O

- B. Deje la placa sobre el dispositivo de separación magnética. Espere 1 minuto. Retire el líquido residual con una pipeta. Deje secar las Mag-Bind® Particles HDQ durante 10 minutos más. Continúe con el paso 21.

21. Añada 100-200 µl de Elution Buffer o de agua libre de nucleasas para eluir el ADN de las Mag-Bind® Particles HDQ.

Nota: Caliente el Elution Buffer o el agua libre de nucleasas a 70 °C para mejorar el rendimiento.

22. Agite con el agitador vorticial durante 5 minutos para mezclar.

Nota: Si no es posible agitar con el agitador vorticial de manera constante durante 5 minutos, hágalo durante 15 segundos cada 1-2 minutos hasta llegar a 5 minutos.

23. Coloque la placa sobre el dispositivo de separación magnética para imantar las Mag-Bind® Particles HDQ. Deje que se asiente a temperatura ambiente hasta que las Mag-Bind® Particles HDQ se separen por completo de la solución.

24. Transfiera el sobrenadante clarificado que contiene el ADN purificado a una microplaca con 96 pocillos (no incluida en el kit). Conserve el ADN a -20 °C.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

Protocolo para hisopos bucales

Importante: Si realiza este procedimiento mediante técnicas automatizadas con manipuladores de líquidos o agitadores magnéticos, póngase en contacto con su representante de Omega Bio-tek para recibir instrucciones específicas para el instrumento.

Materiales y equipos que deberá proporcionar el usuario:

- Dispositivo de separación magnética (se recomienda Magnum™ EX de Alpaqua, n.º de parte A000380)
- Agitador vorticial
- Centrifugadora con un rotor basculante de pocillos que alcance 4000 g
- Adaptador de centrifugadora para 96 placas
- Baño de agua con agitación capaz de alcanzar los 55 °C
- Microplaca de 96 pocillos (500 µl) o placa de elución deseada
- Placas con 96 pocillos profundos de 2 ml (se recomienda Nunc, n.º de parte 278752) o placa deseada compatible con el dispositivo de separación magnética
- Pipetas multicanal y depósitos para reactivos
- Etanol 100 %
- Isopropanol 100 %
- Opcional: RNasa A (10 mg/ml)
- Opcional: Agua libre de nucleasas
- Opcional: termobloque, incubador o baño de agua capaz de alcanzar los 70 °C

Antes de empezar:

- Prepare el SPM Buffer, el VHB Buffer y el HDQ Binding Buffer según la sección "Preparación de reactivos" que aparece en la página 5.
- Prepare el baño de agua con agitación a 55 °C.
- Opcional: prepare el baño de agua, incubador o termobloque a 70 °C

1. Corte el cepillo o el cabezal del hisopo oral y colóquelo dentro de uno de los pocillos de una placa con 96 pocillos profundos (no incluida en el kit).

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

2. Prepare una mezcla maestra de AL Buffer, de Proteinase K Solution y de Elution Buffer solo para la extracción de las muestras según la siguiente tabla:

Componente	Cantidad por preparación	Cantidad total por placa de 96 pocillos
AL Buffer	290 µl	30,6 ml*
Proteinase K Solution	20 µl	2,1 ml*
Elution Buffer	250 µl	26,4 ml

* Para una placa de 96 pocillos se ha calculado un exceso de volumen del 10 %.

Importante: Prepare únicamente la cantidad de mezcla maestra de AL Buffer/ Proteinase K Solution/Elution Buffer que vaya a utilizar en un plazo inferior a 4 horas desde su preparación.

3. Añada 560 µl de mezcla maestra de AL Buffer/Proteinase K Solution/Elution Buffer a cada una de las muestras. Agite con el agitador vorticial o pipetee arriba y abajo 20 veces para mezclar.

Nota: Para los protocolos automatizados, se recomienda la mezcla con pipetas ya que se obtiene un mejor rendimiento.

4. Incube a 55 °C en un baño de agua con agitación durante 10 minutos.

Nota: Si no dispone de un baño de agua con agitación, agite la placa con el agitador vorticial cada 2-3 minutos.

5. Centrifugue a 3000 g durante 2 minutos.

6. Transfiera 500 µl de lisado a una nueva placa con 96 pocillos profundos. No transfiera los hisopos a la nueva placa.

Opcional: Añada 5 µl de RNasa A a cada una de las muestras. Agite con el agitador vorticial para mezclar. Deje que se asiente a temperatura ambiente durante 2 minutos.

7. Añada 350 µl de HDQ Binding Buffer y 20 µl de Mag-Bind® Particles HDQ a cada muestra. Agite con el agitador vorticial durante 10 minutos para mezclar.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

Nota:

- El HDQ Binding Buffer debe diluirse con isopropanol 100 % antes de su uso. Para obtener más instrucciones, consulte la página 5. El HDQ Binding Buffer y las Mag-Bind® Particles HDQ se pueden preparar como mezcla maestra. Prepare únicamente la cantidad necesaria para un ciclo.
- Si no es posible agitar con el agitador vorticial de manera constante durante 10 minutos, hágalo durante 30 segundos cada 2 minutos hasta llegar a 10 minutos.

8. Coloque la placa sobre un dispositivo de separación magnética para imantar las Mag-Bind® Particles HDQ. Deje que se asiente a temperatura ambiente hasta que las Mag-Bind® Particles HDQ se separen por completo de la solución.
9. Aspire y deseche el sobrenadante que se ha clarificado. No altere las Mag-Bind® Particles HDQ.
10. Quite la placa que contiene las Mag-Bind® Particles HDQ del dispositivo de separación magnética.
11. Añada 600 µl de VHB Buffer a cada muestra.

Nota: El VHB Buffer debe diluirse con etanol 100 % antes de su uso. Para obtener más instrucciones, consulte la página 5.

12. Agite con el agitador vorticial durante 15 segundos para mezclar.

Nota: La resuspensión completa de las Mag-Bind® Particles HDQ es esencial para obtener una buena pureza.

13. Coloque la placa sobre el dispositivo de separación magnética para imantar las Mag-Bind® Particles HDQ. Deje que se asiente a temperatura ambiente hasta que las Mag-Bind® Particles HDQ se separen por completo de la solución.
14. Aspire y deseche el sobrenadante que se ha clarificado. No altere las Mag-Bind® Particles HDQ.
15. Quite la placa que contiene las Mag-Bind® Particles HDQ del dispositivo de separación magnética.
16. Repita los pasos 11-15 para un segundo paso con el VHB Buffer.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

17. Añada 600 µl de SPM Buffer a cada muestra.

Nota: El SPM Buffer debe diluirse con etanol 100 % antes de su uso. Para obtener más instrucciones, consulte la página 5.

18. Agite con el agitador vorticial durante 15 segundos para mezclar.
19. Coloque la placa sobre el dispositivo de separación magnética para imantar las Mag-Bind® Particles HDQ. Deje que se asiente a temperatura ambiente hasta que las Mag-Bind® Particles HDQ se separen por completo de la solución.
20. Aspire y deseche el sobrenadante que se ha clarificado. No altere las Mag-Bind® Particles HDQ.
21. Coloque la placa sobre el dispositivo de separación magnética durante 10 minutos para secar las Mag-Bind® Particles HDQ. Elimine cualquier líquido residual que quede en los pocillos.

Nota: En este paso se debe aspirar todo el líquido. Es útil eliminar todo el líquido de los pocillos, luego esperar un minuto y eliminar cualquier líquido residual del pocillo.
22. Quite la placa que contiene las Mag-Bind® Particles HDQ del dispositivo de separación magnética.
23. Añada 100-200 µl de Elution Buffer o de agua libre de nucleasas para eluir el ADN de las Mag-Bind® Particles HDQ.


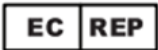

Nota: Caliente el Elution Buffer o el agua libre de nucleasas a 70 °C para mejorar el rendimiento.

24. Agite con el agitador vorticial durante 5 minutos para mezclar.

Nota: Si no es posible agitar con el agitador vorticial de manera constante durante 5 minutos, hágalo durante 15 segundos cada 1-2 minutos hasta llegar a 5 minutos.
25. Coloque la placa sobre el dispositivo de separación magnética para imantar las Mag-Bind® Particles HDQ. Deje que se asiente a temperatura ambiente hasta que las Mag-Bind® Particles HDQ se separen por completo de la solución.
26. Transfiera el sobrenadante clarificado que contiene el ADN purificado a una microplaca con 96 pocillos (no incluida en el kit). Conserve el ADN a -20 °C.















Información de contacto

Para volver a pedir suministros o notificar un fallo o una queja del dispositivo, póngase en contacto con:

	Fabricante Omega Bio tek, Inc. 400 Pinnacle Way Suite #450 Norcross, GA 30071, USA Página web: www.omegabiotek.com Correo electrónico: info@omegabiotek.com SRN: US-MF-000024148
	Representante europeo autorizado Qarad EC-REP BV Pas 257 2440 Geel Belgium SRN: BE-AR-000000040
	Representante autorizado de Suiza Qarad Suisse S.A. World Trade Center Avenue Gratta-Paille 2 1018 Lausanne Switzerland CHRN: CHRN-AR-20002058

Símbolos

Los siguientes símbolos pueden aparecer en las instrucciones de uso o en el envase y el etiquetado:

Imagen	Descripción
	Paquete dañado (no utilizar si el paquete está dañado)
	Representante autorizado de la UE
	Representante autorizado de Suiza
 YYYY-MM	Fecha de caducidad
	Intervalo de temperatura de almacenamiento a largo plazo
	Comprobar las condiciones de almacenamiento de los componentes
	Número de lote
	Número de catálogo, parte o referencia
	Número de serie
	Cantidad
	Precaución
	Instrucciones de uso
	Sello de calidad
	Producto sanitario de diagnóstico <i>in vitro</i>

Símbolos



Identificador único de dispositivo



Fabricante



Sin peligros adicionales o no clasificado como peligroso según GHS



Página web



Teléfono



Fax



Correo electrónico



LinkedIn



Twitter



Facebook

Historial de revisiones

Revisión	Descripción
v1.1, Julio de 2023	Se agregó información sobre el representante autorizado de Suiza
v1.0, diciembre de 2022	Primera publicación

Avisos y exenciones de responsabilidad

Divulgación de REACH

Para uso exclusivo en la Unión Europea.

AL Buffer contiene Triton X-100, 2-[4-(2,4,4-trimetilpentan-2-il)fenoxi]etanol (CAS 9002-93-1), una sustancia incluida en el Lista de autorizaciones europeas (Anexo XIV) del Reglamento REACH (CE) n° 1907/2006. Las sustancias y mezclas utilizadas con fines de investigación y desarrollo científicos (I+D científicos) están exentas de los requisitos de autorización si se utilizan en un volumen inferior a 1 tonelada anual.

La investigación y el desarrollo científicos incluyen la investigación experimental o las actividades analíticas a nivel de laboratorio, como la síntesis y el ensayo de aplicaciones de productos químicos, ensayos de comercialización, etc., así como el uso de la sustancia en la monitorización y el control de calidad regular o el diagnóstico *in vitro*.

Marcas y licencias

Mag-Bind®, HiBind®, E.Z.N.A.®, and MicroElute® son marcas registradas de Omega Bio-tek, Inc.

DNA Genotek Oragene®, Mawi iSWAB™, Biomatrix® DNAgard® Saliva son marcas registradas de sus empresas correspondientes.

La PCR es un proceso patentado de Hoffman-La Roche. El uso del proceso de PCR requiere una licencia.