

MagMAX™ Viral/Pathogen II Nucleic Acid Isolation Kit

INSTRUCCIONES DE USO

Número de catálogo A48383

Número de publicación MAN0019808

Revisión A.0



Para utilización en diagnóstico in vitro.

ThermoFisher
S C I E N T I F I C



Thermo Fisher Scientific Baltics UAB | V.A. Graiciuno 8, LT-02241 | Vilnius, Lithuania

Para ver las descripciones de los símbolos en las etiquetas o la documentación de los productos, dirijase a [thermofisher.com/symbols-definition](https://www.thermofisher.com/symbols-definition).

El cliente es responsable del cumplimiento de los requisitos legales relacionados con los procedimientos y usos del instrumento.

La información incluida en esta guía está sujeta a cambios sin previo aviso.

EXENCIÓN DE RESPONSABILIDAD : EN LA MEDIDA DE LO ESTIPULADO POR LA LEY, THERMO FISHER SCIENTIFIC INC. Y/O SUS AFILIADOS NO SE HACEN RESPONSABLES POR DAÑOS ESPECIALES, INCIDENTALES, INDIRECTOS, PUNITIVOS, MÚLTIPLES O CONSIGUIENTES EN RELACIÓN CON O DERIVADOS DE ESTE DOCUMENTO, INCLUYENDO EL USO DEL MISMO.

Traducido del texto en inglés en la publicación Número MAN0019746 Rev. A.0.

Historial de revisiones: N.º de pub.MAN0019746

Revisión	Fecha	Descripción
A.0	20 de noviembre de 2020	Documento nuevo.

MARCAS COMERCIALES: Todas las marcas comerciales son propiedad de Thermo Fisher Scientific y sus subsidiarias a menos que se especifique lo contrario.

©2020 Thermo Fisher Scientific Inc. Todos los derechos reservados.

Índice

■ CAPÍTULO 1 Información sobre el producto	5
Uso previsto	5
Información sobre el producto	5
Componentes y almacenamiento	6
Materiales necesarios no suministrados	6
■ CAPÍTULO 2 Extracción de ácidos nucleicos (método automatizado)	9
Antes de empezar	9
Extracción de ácidos nucleicos: método automatizado (volumen de partida de la muestra de 200 µl)	10
Configuración del instrumento (volumen de partida de la muestra de 200 µl)	10
Preparación de las placas de procesamiento (volumen de partida de la muestra de 200 µl)	11
Preparación de la Binding Bead Mix (volumen de partida de la muestra de 200 µl)	11
Preparación de la placa de muestra	11
Procesamiento de las muestras (volumen de partida de la muestra de 200 µl)	12
Extracción de ácidos nucleicos: método automatizado (volumen de partida de la muestra de 400 µl)	13
Configuración del instrumento	13
Preparación de las placas de procesamiento	13
Preparación de la Binding Bead Mix (volumen de partida de la muestra de 400 µl)	14
Preparación de la placa de muestra	14
Procesamiento de las muestras (volumen de partida de la muestra de 400 µl)	15

■	CAPÍTULO 3 Extracción de ácidos nucleicos (método manual)	16
	Antes de empezar	16
	Extracción de ácidos nucleicos: método manual (volumen de partida de la muestra de 200 µl)	17
	Preparación de la Binding Bead Mix (volumen de partida de la muestra de 200 µl)	17
	Digestión con Proteinase K (volumen de partida de la muestra de 200 µl)	17
	Lavado de las esferas (volumen de partida de la muestra de 200 µl)	18
	Elución de ácidos nucleicos (volumen de partida de la muestra de 200 µl)	18
	Extracción de ácidos nucleicos: método manual (volumen de partida de la muestra de 400 µl)	19
	Preparación de la Binding Bead Mix (volumen de partida de la muestra de 400 µl)	19
	Digestión con Proteinase K (volumen de partida de la muestra de 400 µl)	20
	Lavado de las esferas (volumen de partida de la muestra de 400 µl)	20
	Elución de ácidos nucleicos (volumen de partida de la muestra de 400 µl)	21
■	APÉNDICE A Seguridad	22
	Seguridad química	23
	Seguridad frente a los riesgos biológicos	24
■	APÉNDICE B Documentación y soporte	25
	Documentación relacionada	25
	Asistencia al cliente y soporte técnico	25
	Garantía limitada del producto	25



Información sobre el producto

■ Uso previsto	5
■ Información sobre el producto	5
■ Componentes y almacenamiento	6
■ Materiales necesarios no suministrados	6

Uso previsto

El MagMAX™ Viral/Pathogen II Nucleic Acid Isolation Kit es un kit de purificación de ácido nucleico basado en la tecnología de esferas magnéticas diseñado para aislar y purificar ARN y ADN procedente de hisopos nasofaríngeos obtenidos en seres humanos. El kit está diseñado para ser usado por personal de laboratorio clínico formado y cualificado, específicamente instruido y formado en técnicas de purificación con esferas magnéticas, ya sea manuales o automatizadas, y procedimientos de diagnóstico *in vitro*.

Información sobre el producto

El MagMAX™ Viral/Pathogen II Nucleic Acid Isolation Kit (N.º de Cat. A48383) está diseñado específicamente para recuperar ARN y ADN procedente de partículas virales contenidas en Viral Transport Media (VTM). El kit utiliza tecnología de esferas magnéticas MagMAX™ que asegura la recuperación reproducible de ácidos nucleicos de alta calidad.

Este producto está diseñado para su uso diagnóstico *in vitro* e incluye las siguientes funcionalidades:

- El flujo de trabajo automatizado realizado con el KingFisher™ Flex Magnetic Particle Processor with 96 Deep-Well Head permite procesar 96 muestras de hisopos nasofaríngeos en <30 minutos
- Las opciones de protocolo son compatibles con flujos de trabajo automatizados o manuales
- La flexibilidad del protocolo permite volúmenes de partida de muestra de entre 200 y 400 µl de viral transport medium
- No precisa ARN transportador
- Volumen de elución de 50 µl

Componentes y almacenamiento

El MagMAX™ Viral/Pathogen II Nucleic Acid Isolation Kit contiene reactivos suficientes para 1000 reacciones con un volumen de partida de 400 µl o 2000 reacciones con un volumen de partida de 200 µl.

Componente	Cantidad	Almacenamiento
Binding Solution	550 ml	15 °C a 25 °C
Wash Solution	1000 ml	
Binding Beads	20 ml	
Proteinase K	10 ml	
Elution Buffer	100 ml	

Materiales necesarios no suministrados

A menos que se indique lo contrario, todos los materiales están disponibles en thermofisher.com. «MLS» indica que el material está disponible en fisherscientific.com u otro proveedor principal de productos de laboratorio.

Los números de catálogo que aparecen como vínculos abren las páginas web de esos productos.

Artículo	Origen
Sistema automatizado de extracción de ácidos nucleicos y materiales	
KingFisher™ Flex Magnetic Particle Processor with 96 Deep-Well Head	5400630
KingFisher™ Flex 96 Deep-Well Heating Block	24075430
KingFisher™ Deep-Well 96 Plate	95040450 , A48305, A48424, 95040455
Placa de 96 pocillos para el peine para muestras con puntas, una de las siguientes: <ul style="list-style-type: none"> KingFisher™ 96 KF microplate Tip Comb Presenting Plate for KF 96 Nunc™ MicroWell™ 96-Well Microplate, Flat Bottom Nunc™ MicroWell™ 96-Well Microplate, barcoded ABgene™ 96-Well Polypropylene Storage Microplate ABgene™ 96-Well 1.2-mL Polypropylene Deepwell Storage Plate Nunc™ F96 MicroWell™ Black Polystyrene Plate Nunc™ F96 MicroWell™ White Polystyrene Plate KingFisher™ Deep-Well 96 Plate 	<ul style="list-style-type: none"> 97002540 267600 167008 269787 AB0796 AB1127 137101 136101 95040450, A48305, A48424, 95040455

(cont.)

Artículo	Origen
KingFisher™ 96 tip comb for DW magnets	97002534, A48438, A48414
Sistema manual de extracción de ácidos nucleicos y materiales	
Soporte magnético 96	AM10027 AM10050
Compact Digital Microplate Shaker	88882005
Incubador capaz de alcanzar 65 °C con estantes de rejilla	MLS
KingFisher™ Deep-Well 96 Plate	95040450, A48305, A48424, 95040455
Placa estándar de 96 pocillos para el eluato, una de las siguientes: <ul style="list-style-type: none"> KingFisher™ 96 KF microplate MicroAmp™ Fast Optical 96-Well Reaction Plate with Barcode, 0.1 mL MicroAmp™ Fast Optical 96-Well Reaction Plate, 0.1 mL MicroAmp™ Optical 96-Well Reaction Plate with Barcode, 0.2 mL MicroAmp™ Optical 96-Well Reaction Plate, 0.2 mL 	<ul style="list-style-type: none"> 97002540 4346906, 4366932 4346907 4306737, 4326659 N8010560, 4316813
MicroAmp™ Clear Adhesive Film	4306311
Equipos	
Mezclador de laboratorio, mezclador vórtex o equivalente	MLS
Pipetas de un solo canal y multicanal ajustables (de 1,00 µl a 1000,0 µl)	MLS
Bloque de frío o hielo	MLS
Reactivos	
Fisher BioReagents™ Ethanol, Absolute, Molecular Biology Grade ^[1] , o equivalente	BP2818100, BP2818500, BP28184
Nuclease-free Water (not DEPC-Treated)	MLS
(Opcional) Control de extracción, si su ensayo lo precisa	Consulte la guía del ensayo para obtener más información
Tubos, placas y otros consumibles	
MicroAmp™ Clear Adhesive Film	4306311
MicroAmp™ Adhesive Film Applicator	4333183

(cont.)

Artículo	Origen
Tubos cónicos estériles para preparar los reactivos	MLS
Puntas de pipeta estériles con barrera para aerosoles (filtrada)	thermofisher.com/pipettetips

^[1] Disponible en [fisherscientific.com](https://www.fisherscientific.com).

2

Extracción de ácidos nucleicos (método automatizado)

- Antes de empezar 9
- Extracción de ácidos nucleicos: método automatizado (volumen de partida de la muestra de 200 µl) 10
- Extracción de ácidos nucleicos: método automatizado (volumen de partida de la muestra de 400 µl) 13

La extracción automatizada de ácidos nucleicos se realiza con el KingFisher™ Flex Magnetic Particle Processor with 96 Deep-Well Head usando un volumen de partida de muestra de 200 µl o 400 µl. Consulte la documentación de su ensayo para ver el volumen de partida de muestra específica que se recomienda en su caso.

Antes de empezar

- Asegúrese de leer y comprender la información que aparece en esta guía antes de empezar el procedimiento de extracción.
- Revise la documentación del ensayo para determinar si es recomendable usar un control de extracción para comprobar la eficacia de la preparación de los ácidos nucleicos. Siga las directrices para el control de extracción que aparecen en la documentación del ensayo.
- Determine el número de reacciones necesarias basándose en el número de muestras de pacientes que hay que procesar, más un control negativo por placa.
- Prepare una solución fresca de etanol al 80 % usando Ethanol, Absolute, Molecular Biology Grade y Nuclease-free Water (not DEPC-Treated) para el número necesario de reacciones, de forma que haya suficiente para tener 1 ml por reacción, más un excedente del 10 %.
- Etiquete el lado corto de cada KingFisher™ Deep-Well 96 Plate (4):

Etiqueta	Número de placas
Placa de muestra	1
Lavado 1	1
Lavado 2	1
Placa de elución	1

- Etiquete el lado corto de la KingFisher™ 96 KF microplate (1):

Etiqueta	Número de placas
Peine para muestras con puntas	1

Nota: Para sostener el peine para muestras con puntas, en vez de usar la KingFisher™ 96 KF microplate se pueden usar:

- Tip Comb Presenting Plate for KF 96
- Nunc™ MicroWell™ 96-Well Microplate, Flat Bottom
- Nunc™ MicroWell™ 96-Well Microplate, barcoded
- ABgene™ 96-Well Polypropylene Storage Microplate
- ABgene™ 96-Well 1.2-mL Polypropylene Deepwell Storage Plate
- Nunc™ F96 MicroWell™ Black Polystyrene Plate
- Nunc™ F96 MicroWell™ White Polystyrene Plate
- KingFisher™ Deep-Well 96 Plate

-
- Marque el pocillo de control negativo en la placa.

Extracción de ácidos nucleicos: método automatizado (volumen de partida de la muestra de 200 µl)

Configuración del instrumento (volumen de partida de la muestra de 200 µl)

1. Asegúrese de que el KingFisher™ Flex Magnetic Particle Processor with 96 Deep-Well Head se ha configurado con el KingFisher™ Flex 96 Deep-Well Heating Block.

¡IMPORTANTE! El uso de un cabezal magnético o bloque calefactor incorrectos hace que se obtenga menos producto y puede dañar el instrumento.

2. Asegúrese de que el programa **MVP_2Wash_200_Flex** se ha descargado de la página de producto del MagMAX™ Viral/Pathogen II Nucleic Acid Isolation Kit en www.thermofisher.com y se ha cargado en el instrumento.

Preparación de las placas de procesamiento (volumen de partida de la muestra de 200 µl)

Nota: En los pasos de lavado, la Wash Solution puede desarrollar particulados blancos o marrones que flotan en la solución. No es motivo de preocupación y no afecta negativamente a su rendimiento.

Prepare las placas de procesamiento según la siguiente tabla. Cubra las placas con un sello temporal (como MicroAmp™ Clear Adhesive Film) y conserve a temperatura ambiente durante un máximo de 1 hora mientras prepara la placa de muestra.

ID de la placa	Posición de la placa	Tipo de placa	Reactivo	Volumen por pocillo
Placa de lavado 1	2	KingFisher™ Deep-Well 96 Plate	Wash Solution	500 µl
Placa de lavado 2	3		Etanol al 80 %	500 µl
Placa de elución	4		Elution Buffer	50 µl
Placa de peine para muestras con puntas	5	Coloque un KingFisher™ 96 tip comb for DW magnets en una KingFisher™ 96 KF microplate o placa equivalente ^[1]		

^[1] Consulte “Antes de empezar” en la página 9 para ver las placas equivalentes.

Preparación de la Binding Bead Mix (volumen de partida de la muestra de 200 µl)

Prepare la cantidad de Binding Bead Mix necesaria para cada día de uso.

1. Agite las Binding Beads con el mezclador vórtex para asegurarse de que la mezcla de esferas es homogénea.
2. Prepare la Binding Bead Mix para el número de reacciones necesarias siguiendo la siguiente tabla:

Componente	Volumen por pocillo ^[1]
Binding Solution	265 µl
Binding Beads	10 µl
Volumen total por pocillo	275 µl

^[1] Cuando elabore Binding Bead Mix para uso en múltiples reacciones, incluya un excedente del 10 %.

3. Mezcle bien por inversión y conserve a temperatura ambiente.

Preparación de la placa de muestra

1. Invierta la Binding Bead Mix 5 veces con cuidado para mezclarla, y después añada 275 µl a cada pocillo de muestra y pocillo de control negativo de la placa de muestra (KingFisher™ Deep-Well 96 Plate).

Nota: Vuelva a mezclar la Binding Bead Mix mediante inversión con frecuencia durante el pipeteado para asegurarse de que las esferas quedan bien distribuidas por todas las muestras o pocillos. La Binding Bead Mix es viscosa, así que pipetéela despacio para asegurarse de añadir la

cantidad correcta. NO reutilice las puntas de pipeta para añadir Binding Bead Mix a las muestras, ya que su alta viscosidad provocará variaciones en los volúmenes añadidos.

2. Añada 200 µl de muestra a cada pocillo de muestra.
 3. Añada 200 µl de Nuclease-free Water (not DEPC-Treated) al pocillo de control negativo.
 4. Añada 5 µl de Proteinase K a cada pocillo, incluido el de control negativo.
 5. (Opcional) Si usa un control de extracción, añada el volumen necesario a cada pocillo, incluido el pocillo de control negativo. Para más información sobre el uso de un control de extracción, consulte la documentación del ensayo.
-

Nota: La Proteinase K (consulte paso 4) y el control de extracción se pueden premezclar cada día de uso y después conservarse en hielo. Añada el volumen combinado necesario de Proteinase K y control de extracción a cada pocillo de la placa de muestra.

Por ejemplo, si su ensayo recomienda 5 µl de control de extracción por reacción, añada 10 µl de Proteinase K y control de extracción premezclados a cada pocillo durante el paso 4.

Procesamiento de las muestras (volumen de partida de la muestra de 200 µl)

1. Seleccione el **MVP_2Wash_200_Flex** en el KingFisher™ Flex Magnetic Particle Processor with 96 Deep-Well Head.
 2. Inicie la carrera y cargue las placas preparadas en su posición cuando así se lo pida el instrumento.
 3. Cuando haya finalizado la carrera (~22 minutos después de iniciarla), retire inmediatamente la placa de elución del instrumento y cúbrala con MicroAmp™ Clear Adhesive Film.
-

¡IMPORTANTE! Para impedir la evaporación, selle la placa que contiene el eluato inmediatamente.

Las muestras se eluden en 50 µl de Elution Buffer (consulte “Preparación de las placas de procesamiento (volumen de partida de la muestra de 200 µl)” en la página 11).

Nota:

- La recogida accidental de una cantidad significativa de esferas puede afectar negativamente al rendimiento de la RT-PCR. Si se observa recogida accidental de esferas, coloque la placa de elución en un soporte magnético para agrupar las esferas y después pipetee el eluato a una nueva placa estándar de 96 pocillos para usarla en la PCR en tiempo real. Revise los resultados de la PCR en tiempo real para determinar si es necesario realizar una nueva extracción.
 - Para asegurarse de que el KingFisher™ Flex Magnetic Particle Processor funciona de forma fiable, realice el mantenimiento preventivo tal y como indica el fabricante.
-

Si va a usar la placa de elución inmediatamente para hacer una RT-PCR en tiempo real, colóquela en hielo.

Extracción de ácidos nucleicos: método automatizado (volumen de partida de la muestra de 400 µl)

Configuración del instrumento

1. Asegúrese de que el KingFisher™ Flex Magnetic Particle Processor with 96 Deep-Well Head se ha configurado con el KingFisher™ Flex 96 Deep-Well Heating Block.

¡IMPORTANTE! El uso de un cabezal magnético o bloque calefactor incorrectos hace que se obtenga menos producto y puede dañar el instrumento.

2. Asegúrese de que el programa **MVP_2Wash_400_Flex** se ha descargado de la página de producto del MagMAX™ Viral/Pathogen II Nucleic Acid Isolation Kit en www.thermofisher.com y se ha cargado en el instrumento.

Preparación de las placas de procesamiento

Nota: En los pasos de lavado, la Wash Solution puede desarrollar particulados blancos o marrones que flotan en la solución. No es motivo de preocupación y no afecta negativamente a su rendimiento.

Prepare las placas de procesamiento según la siguiente tabla. Cubra las placas con un sello temporal (como MicroAmp™ Clear Adhesive Film) y conserve a temperatura ambiente durante un máximo de 1 hora mientras prepara la placa de muestra.

ID de la placa	Posición de la placa	Tipo de placa	Reactivo	Volumen por pocillo
Placa de lavado 1	2	KingFisher™ Deep-Well 96 Plate	Wash Solution	1000 µl
Placa de lavado 2	3		Etanol al 80 %	1000 µl
Placa de elución	4		Elution Buffer	50 µl
Placa de peine para muestras con puntas	5	Coloque un KingFisher™ 96 tip comb for DW magnets en una KingFisher™ 96 KF microplate o placa equivalente ^[1]		

^[1] Consulte “Antes de empezar” en la página 9 para ver las placas equivalentes.

Preparación de la Binding Bead Mix (volumen de partida de la muestra de 400 µl)

Prepare la cantidad de Binding Bead Mix necesaria para cada día de uso.

1. Agite las Binding Beads con el mezclador vórtex para asegurarse de que la mezcla de esferas es homogénea.
2. Prepare la Binding Bead Mix para el número de reacciones necesarias siguiendo la siguiente tabla:

Componente	Volumen por pocillo ^[1]
Binding Solution	530 µl
Binding Beads	20 µl
Volumen total por pocillo	550 µl

^[1] Cuando elabore Binding Bead Mix para uso en múltiples reacciones, incluya un excedente del 10 %.

3. Mezcle bien por inversión y conserve a temperatura ambiente.

Preparación de la placa de muestra

1. Invierta la Binding Bead Mix 5 veces con cuidado para mezclarla, y después añada 550 µl a cada pocillo de muestra y pocillo de control negativo de la placa de muestra (KingFisher™ Deep-Well 96 Plate).

Nota: Vuelva a mezclar la Binding Bead Mix mediante inversión con frecuencia durante el pipeteado para asegurarse de que las esferas quedan bien distribuidas por todas las muestras o pocillos. La Binding Bead Mix es viscosa, así que pipetéela despacio para asegurarse de añadir la cantidad correcta. NO reutilice las puntas de pipeta para añadir Binding Bead Mix a las muestras, ya que su alta viscosidad provocará variaciones en los volúmenes añadidos.

2. Añada 400 µl de muestra a cada pocillo de muestra.
3. Añada 400 µl de Nuclease-free Water (not DEPC-Treated) al pocillo de control negativo.
4. Añada 10 µl de Proteinase K a cada pocillo, incluido el de control negativo.
5. (Opcional) Si usa un control de extracción, añada el volumen necesario a cada pocillo, incluido el pocillo de control negativo. Para más información sobre el uso de un control de extracción, consulte la documentación del ensayo.

Nota: La Proteinase K (consulte paso 4) y el control de extracción se pueden premezclar cada día de uso y después conservarse en hielo. Añada el volumen combinado necesario de Proteinase K y control de extracción a cada pocillo de la placa de muestra.

Por ejemplo, si su ensayo recomienda 10 µl de control de extracción por reacción, añada 20 µl de Proteinase K y control de extracción premezclados a cada pocillo durante el paso 4.

Procesamiento de las muestras (volumen de partida de la muestra de 400 µl)

1. Seleccione el **MVP_2Wash_400_Flex** en el KingFisher™ Flex Magnetic Particle Processor with 96 Deep-Well Head.
2. Inicie la carrera y cargue las placas preparadas en su posición cuando así se lo pida el instrumento.
3. Cuando haya finalizado la carrera (~24 minutos después de iniciarla), retire inmediatamente la placa de elución del instrumento y cúbrala con MicroAmp™ Clear Adhesive Film.

¡IMPORTANTE! Para impedir la evaporación, selle la placa que contiene el eluato inmediatamente.

Las muestras se eluden en 50 µl de Elution Buffer (consulte “Preparación de las placas de procesamiento” en la página 13).

Nota:

- La recogida accidental de una cantidad significativa de esferas puede afectar negativamente al rendimiento de la RT-PCR. Si se observa recogida accidental de esferas, coloque la placa de elución en un soporte magnético para agrupar las esferas y después pipetee el eluato a una nueva placa estándar de 96 pocillos para usarla en la PCR en tiempo real. Revise los resultados de la PCR en tiempo real para determinar si es necesario realizar una nueva extracción.
 - Para asegurarse de que el KingFisher™ Flex Magnetic Particle Processor funciona de forma fiable, realice el mantenimiento preventivo tal y como indica el fabricante.
-

Si va a usar la placa de elución inmediatamente para hacer una RT-PCR en tiempo real, colóquela en hielo.

3

Extracción de ácidos nucleicos (método manual)

- Antes de empezar 16
- Extracción de ácidos nucleicos: método manual (volumen de partida de la muestra de 200 µl) 17
- Extracción de ácidos nucleicos: método manual (volumen de partida de la muestra de 400 µl) . 19

La extracción manual de ácidos nucleicos se puede realizar usando un volumen de partida de muestra de 200 µl o 400 µl. Consulte la documentación de su ensayo para ver el volumen de partida de muestra específica que se recomienda en su caso.

Antes de empezar

- Asegúrese de leer y comprender la información que aparece en esta guía antes de empezar el procedimiento de extracción.
- Revise la documentación del ensayo para determinar si es recomendable usar un control de extracción para comprobar la eficacia de la preparación de los ácidos nucleicos. Siga las directrices para el control de extracción que aparecen en la documentación del ensayo.
- Determine el número de reacciones necesarias basándose en el número de muestras de pacientes que hay que procesar, más un control negativo por placa.
- Prepare una solución fresca de etanol al 80 % usando Ethanol, Absolute, Molecular Biology Grade y Nuclease-free Water (not DEPC-Treated) para el número necesario de reacciones, más un excedente del 10 %.

Volumen de partida de la muestra	Volumen de etanol al 80 % por reacción
200 µl	0,75 ml
400 µl	1,5 ml

- Marque el pocillo de control negativo en la placa.

Extracción de ácidos nucleicos: método manual (volumen de partida de la muestra de 200 µl)

Preparación de la Binding Bead Mix (volumen de partida de la muestra de 200 µl)

Prepare la cantidad de Binding Bead Mix necesaria para cada día de uso.

1. Agite las Binding Beads con el mezclador vórtex para asegurarse de que la mezcla de esferas es homogénea.
2. Prepare la Binding Bead Mix para el número de reacciones necesarias siguiendo la siguiente tabla:

Componente	Volumen por pocillo ^[1]
Binding Solution	265 µl
Binding Beads	10 µl
Volumen total por pocillo	275 µl

^[1] Cuando elabore Binding Bead Mix para uso en múltiples reacciones, incluya un excedente del 10 %.

3. Mezcle bien por inversión y conserve a temperatura ambiente.

Digestión con Proteinase K (volumen de partida de la muestra de 200 µl)

Esta sección contiene los volúmenes para la misma placa de muestras. La disposición de su placa dependerá del número de muestras que vaya a ejecutar.

1. Invierta la Binding Bead Mix 5 veces con cuidado para mezclarla, y después añada 275 µl a cada pocillo de muestra y pocillo de control negativo.

Nota: Vuelva a mezclar la Binding Bead Mix mediante inversión con frecuencia durante el pipeteado para asegurarse de que las esferas quedan bien distribuidas por todas las muestras o pocillos. La Binding Bead Mix es viscosa, así que pipetéela despacio para asegurarse de añadir la cantidad correcta. NO reutilice las puntas de pipeta para añadir Binding Bead Mix a las muestras, ya que su alta viscosidad provocará variaciones en los volúmenes añadidos.

2. Añada 200 µl de muestra a cada pocillo de muestra de una KingFisher™ Deep-Well 96 Plate.
3. Añada 200 µl de Nuclease-free Water (not DEPC-Treated) al pocillo de control negativo.
4. Añada 5 µl de Proteinase K a cada pocillo, incluido el de control negativo.
5. (Opcional) Si usa un control de extracción, añada el volumen necesario a cada pocillo, incluido el pocillos de control negativo. Para más información sobre el uso de un control de extracción, consulte la documentación del ensayo.

Nota: La Proteinase K (consulte paso 4) y el control de extracción se pueden premezclar cada día de uso y después conservarse en hielo. Añada el volumen combinado necesario de Proteinase K y control de extracción a cada pocillo de la placa de muestra.

Por ejemplo, si su ensayo recomienda 5 µl de control de extracción por reacción, añada 10 µl de Proteinase K y control de extracción premezclados a cada pocillo durante el paso 4.

6. Selle la placa con MicroAmp™ Clear Adhesive Film y luego agítela a 1050 rpm durante 2 minutos.
7. Incube la placa sellada a 65 °C durante 5 minutos (asegúrese de que la parte inferior de la placa no está cubierta) y después agítela a 1050 rpm durante 5 minutos.
8. Coloque la placa sellada en el soporte magnético durante 10 minutos o hasta que las esferas se hayan congregado.

Lavado de las esferas (volumen de partida de la muestra de 200 µl)

Nota: En los pasos de lavado, la Wash Solution puede desarrollar particulados blancos o marrones que flotan en la solución. No es motivo de preocupación y no afecta negativamente a su rendimiento.

1. Con la placa en el imán, retire la cubierta con cuidado y después deseche el sobrenadante de cada pocillo.
-

¡IMPORTANTE! Intente no alterar las esferas.

2. Quite la placa del soporte magnético y añada 500 µl de Wash Solution a cada muestra.
 3. Vuelva a sellar la placa y luego agítela a 1050 rpm durante 1 minuto.
 4. Vuelva a colocar la placa en el soporte magnético durante 2 minutos o hasta que las esferas se hayan congregado.
 5. Con la placa en el imán, retire la cubierta con cuidado y después deseche el sobrenadante de cada pocillo.
-

¡IMPORTANTE! Intente no alterar las esferas.

6. Repita los pasos del paso 2 al paso 5 usando 500 µl de etanol al 80 %.
7. Repita los pasos del paso 2 al paso 5 usando 250 µl de etanol al 80 %.
8. Seque las esferas agitando la placa (sin cubrir) a 1050 rpm durante 2 minutos.

Elución de ácidos nucleicos (volumen de partida de la muestra de 200 µl)

1. Añada 50 µl de Elution Buffer a cada muestra y después selle la placa con MicroAmp™ Clear Adhesive Film.
2. Agite la placa sellada a 1050 rpm durante 5 minutos.
3. Coloque la placa en un incubador a 65 °C durante 10 minutos.
4. Quite la placa del incubador y agítela a 1050 rpm durante 5 minutos.

5. Coloque la placa sellada en el soporte magnético durante 3 minutos o hasta que esté bastante clara como para recoger las esferas contra los imanes.
6. Con la placa en el imán, retire el sello con cuidado, transfiera los eluatos a una nueva placa estándar de 96 pocillos (de pocillos no profundos) y después selle la placa con MicroAmp™ Clear Adhesive Film.

¡IMPORTANTE! Para impedir la evaporación, selle la placa que contiene el eluato inmediatamente después de completar las transferencias.

Nota: La recogida accidental de una cantidad significativa de esferas puede afectar negativamente al rendimiento de la RT-PCR. Si se observa recogida accidental de esferas, aumente el tiempo que la placa pasa en el soporte magnético para agrupar las esferas mejor y después pipetee el eluato a una nueva placa estándar de 96 pocillos para usarla en la PCR en tiempo real. Revise los resultados de la PCR en tiempo real para determinar si es necesario realizar una nueva extracción.

Si va a usar la placa inmediatamente para hacer una RT-PCR en tiempo real, colóquela en hielo.

Extracción de ácidos nucleicos: método manual (volumen de partida de la muestra de 400 µl)

Preparación de la Binding Bead Mix (volumen de partida de la muestra de 400 µl)

Prepare la cantidad de Binding Bead Mix necesaria para cada día de uso.

1. Agite las Binding Beads con el mezclador vórtex para asegurarse de que la mezcla de esferas es homogénea.
2. Prepare la Binding Bead Mix para el número de reacciones necesarias siguiendo la siguiente tabla:

Componente	Volumen por pocillo ^[1]
Binding Solution	530 µl
Binding Beads	20 µl
Volumen total por pocillo	550 µl

^[1] Cuando elabore Binding Bead Mix para uso en múltiples reacciones, incluya un excedente del 10 %.

3. Mezcle bien por inversión y conserve a temperatura ambiente.

Digestión con Proteinase K (volumen de partida de la muestra de 400 µl)

Esta sección contiene los volúmenes para la misma placa de muestras. La disposición de su placa dependerá del número de muestras que vaya a ejecutar.

1. Invierta la Binding Bead Mix 5 veces con cuidado para mezclarla, y después añada 550 µl a cada pocillo de muestra y pocillo de control negativo.

Nota: Vuelva a mezclar la Binding Bead Mix mediante inversión con frecuencia durante el pipeteado para asegurarse de que las esferas quedan bien distribuidas por todas las muestras o pocillos. La Binding Bead Mix es viscosa, así que pipetéela despacio para asegurarse de añadir la cantidad correcta. NO reutilice las puntas de pipeta para añadir Binding Bead Mix a las muestras, ya que su alta viscosidad provocará variaciones en los volúmenes añadidos.

2. Añada 400 µl de muestra a cada pocillo de muestra de una KingFisher™ Deep-Well 96 Plate.
3. Añada 400 µl de Nuclease-free Water (not DEPC-Treated) al pocillo de control negativo.
4. Añada 10 µl de Proteinase K a cada pocillo, incluido el de control negativo.
5. (Opcional) Si usa un control de extracción, añada el volumen necesario a cada pocillo, incluido el pocillos de control negativo. Para más información sobre el uso de un control de extracción, consulte la documentación del ensayo.

Nota: La Proteinase K (consulte paso 4) y el control de extracción se pueden premezclar cada día de uso y después conservarse en hielo. Añada el volumen combinado necesario de Proteinase K y control de extracción a cada pocillo de la placa de muestra.

Por ejemplo, si su ensayo recomienda 10 µl de control de extracción por reacción, añada 20 µl de Proteinase K y control de extracción premezclados a cada pocillo durante el paso 4.

6. Selle la placa con MicroAmp™ Clear Adhesive Film y luego agítela a 1050 rpm durante 2 minutos.
7. Incube la placa sellada a 65 °C durante 5 minutos (asegúrese de que la parte inferior de la placa no está cubierta) y después agítela a 1050 rpm durante 5 minutos.
8. Coloque la placa sellada en el soporte magnético durante 10 minutos o hasta que las esferas se hayan congregado.

Lavado de las esferas (volumen de partida de la muestra de 400 µl)

Nota: En los pasos de lavado, la Wash Solution puede desarrollar particulados blancos o marrones que flotan en la solución. No es motivo de preocupación y no afecta negativamente a su rendimiento.

1. Con la placa en el imán, retire la cubierta con cuidado y después deseche el sobrenadante de cada pocillo.

¡IMPORTANTE! Intente no alterar las esferas.

2. Quite la placa del soporte magnético y añada 1 ml de Wash Solution a cada muestra.
3. Vuelva a sellar la placa y luego agítela a 1050 rpm durante 1 minuto.

4. Vuelva a colocar la placa en el soporte magnético durante 2 minutos o hasta que las esferas se hayan congregado.
5. Con la placa en el imán, retire la cubierta con cuidado y después deseche el sobrenadante de cada pocillo.

¡IMPORTANTE! Intente no alterar las esferas.

6. Repita los pasos del paso 2 al paso 5 usando 1 ml de etanol al 80 %.
7. Repita los pasos del paso 2 al paso 5 usando 500 µl de etanol al 80 %.
8. Seque las esferas agitando la placa (sin cubrir) a 1050 rpm durante 2 minutos.

Elución de ácidos nucleicos (volumen de partida de la muestra de 400 µl)

1. Añada 50 µl de Elution Buffer a cada muestra y después selle la placa con MicroAmp™ Clear Adhesive Film.
2. Agite la placa sellada a 1050 rpm durante 5 minutos.
3. Coloque la placa en un incubador a 65 °C durante 10 minutos.
4. Quite la placa del incubador y agítela a 1050 rpm durante 5 minutos.
5. Coloque la placa sellada en el soporte magnético durante 3 minutos o hasta que esté bastante clara como para recoger las esferas contra los imanes.
6. Con la placa en el imán, retire el sello con cuidado, transfiera los eluatos a una nueva placa estándar de 96 pocillos (de pocillos no profundos) y después selle la placa con MicroAmp™ Clear Adhesive Film.

¡IMPORTANTE! Para impedir la evaporación, selle la placa que contiene el eluato inmediatamente después de completar las transferencias.

Nota: La recogida accidental de una cantidad significativa de esferas puede afectar negativamente al rendimiento de la RT-PCR. Si se observa recogida accidental de esferas, aumente el tiempo que la placa pasa en el soporte magnético para agrupar las esferas mejor y después pipetee el eluato a una nueva placa estándar de 96 pocillos para usarla en la PCR en tiempo real. Revise los resultados de la PCR en tiempo real para determinar si es necesario realizar una nueva extracción.

Si va a usar la placa inmediatamente para hacer una RT-PCR en tiempo real, colóquela en hielo.



Seguridad

¡ADVERTENCIA! SEGURIDAD GENERAL. Si este producto se utiliza de alguna forma que no se especifica en la documentación del usuario, se pueden producir lesiones personales o daños en el instrumento o el dispositivo. Asegúrese de que todo el que utilice este producto haya recibido instrucciones sobre las prácticas de seguridad generales para laboratorios y la información de seguridad facilitada en este documento.

- Antes de utilizar un instrumento o dispositivo, lea y comprenda la información de seguridad facilitada en la documentación del usuario suministrada por el fabricante del instrumento o del dispositivo.
- Antes de manipular productos químicos, lea y comprenda todas las hojas de datos de seguridad (SDS) y use el equipo de protección individual apropiado (guantes, batas, protección ocular, etc.). Para obtener las SDS, consulte el apartado «Documentación y soporte» de este documento.

Seguridad química

¡ADVERTENCIA! MANIPULACIÓN GENERAL DE PRODUCTOS QUÍMICOS. Para reducir al mínimo los riesgos, asegúrese de que el personal del laboratorio lea y ponga en práctica las directrices sobre seguridad generales para el uso, el almacenamiento y la eliminación de productos químicos que se dan a continuación. Consulte las hojas de datos de seguridad (SDS) pertinentes para conocer las precauciones e instrucciones específicas:

- Lea y comprenda las hojas de datos de seguridad (SDS) que proporciona el fabricante de los productos químicos antes de almacenar, manipular o trabajar con cualquier producto químico o material peligroso. Para obtener las SDS, consulte el apartado «Documentación y soporte» de este documento.
- Reduzca al mínimo el contacto con productos químicos. Utilice un equipo de protección individual adecuado durante la manipulación de productos químicos (por ejemplo, gafas de seguridad, guantes o ropa protectora).
- Reduzca al mínimo la inhalación de productos químicos. No deje abiertos los recipientes de productos químicos. Utilícelos únicamente con una ventilación adecuada (por ejemplo, una campana extractora de humo).
- Compruebe periódicamente la ausencia de fugas o derrames de los productos químicos. Si se produce una fuga o un derrame, siga los procedimientos de limpieza del fabricante, tal y como se recomienda en la hoja de datos de seguridad.
- Manipule los residuos químicos bajo una campana extractora de humo.
- Asegúrese de que se utilizan los contenedores de residuos principales y secundarios. (Los contenedores principales contienen los residuos inmediatos. Los contenedores secundarios contienen cualquier derrame o fuga del contenedor principal. Ambos contenedores deben ser compatibles con el material de residuo y deben cumplir los requisitos federales, estatales y locales sobre el almacenamiento en contenedores).
- Después de vaciar el recipiente de residuos, ciérrelo bien con el tapón suministrado.
- Identifique (mediante análisis, si es necesario) los residuos generados por las aplicaciones, los reactivos y los sustratos concretos utilizados en su laboratorio.
- Asegúrese de que los residuos se almacenan, transfieren, transportan y eliminan de acuerdo con todas las normativas locales, estatales/provinciales o nacionales.
- **¡IMPORTANTE!** Los materiales radiactivos o que impliquen un peligro biológico pueden requerir una manipulación especial, pudiéndose aplicar limitaciones en materia de eliminación.

Seguridad frente a los riesgos biológicos

¡ADVERTENCIA! RIESGO BIOLÓGICO. Las muestras biológicas como, por ejemplo, tejidos, fluidos corporales, agentes infecciosos y sangre humana o de otros animales, pueden transmitir enfermedades infecciosas. Realice todo el trabajo en instalaciones que dispongan del equipamiento adecuado y con el equipo de seguridad apropiado (por ejemplo, dispositivos de contención física). El equipo de seguridad puede incluir también artículos para protección personal, como guantes, batas, trajes, protectores de zapatos, botas, respiradores, protectores faciales, protección para los ojos o gafas de seguridad. Los trabajadores deben recibir formación de acuerdo con los requisitos de la institución o empresa y los requisitos legales aplicables antes de trabajar con materiales potencialmente peligrosos. Siga todas las normativas locales, estatales/provinciales y/o nacionales aplicables. Las referencias siguientes proporcionan directrices generales sobre la manipulación de muestras biológicas en un entorno de laboratorio.

- Departamento de Salud y Servicios Sociales de los Estados Unidos, *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) (Seguridad biológica en laboratorios microbiológicos y biomédicos [BMBL])*, 5ª edición, n.º de publicación del HHS (CDC) 21-1112, revisado en diciembre de 2009; encontrado en:
<https://www.cdc.gov/labs/pdf/CDC-BiosafetymicrobiologicalBiomedicalLaboratories-2009-P.pdf>
- Organización Mundial de la Salud, *Laboratory Biosafety Manual (Manual de seguridad biológica en laboratorios)*, 3ª edición, WHO/CDS/CSR/LYO/2004.11; encontrado en:
www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Biosafety7.pdf

¡ADVERTENCIA! Posible riesgo biológico. Si usa el kit con el flujo de trabajo de extracción automatizada de ácidos nucleicos, la superficie del KingFisher™ purification system puede considerarse un peligro biológico. Use los métodos de descontaminación apropiados cuando trabaje con sustancias con peligro biológico.



Documentación y soporte

Documentación relacionada

Documento	Número de publicación
<i>Thermo Scientific™ KingFisher™ Flex User Manual</i>	N07669

Asistencia al cliente y soporte técnico

Visite thermofisher.com/support para conocer la última información en servicio y asistencia.

- Números de teléfono de contacto en todo el mundo
- Información de asistencia del producto
 - Preguntas más frecuentes (FAQ) sobre productos
 - Software, parches y actualizaciones
 - Formación para muchas aplicaciones e instrumentos
- Pedidos y soporte web
- Documentación del producto
 - Guías de usuario, manuales y protocolos
 - Certificados de análisis
 - Hojas de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS; también conocidas como MSDS)

Nota: Para conocer las SDS de los reactivos y productos químicos de otros fabricantes, póngase en contacto con el fabricante.

Garantía limitada del producto

Life Technologies Corporation y/o sus filiales garantizan sus productos tal y como se establece en los términos y condiciones para la venta de Life Technologies en www.thermofisher.com/us/en/home/global/terms-and-conditions.html. Si tiene cualquier duda, póngase en contacto con Life Technologies en www.thermofisher.com/support.

