

Manual del kit QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini



Versión 2



Para uso diagnóstico in vitro



61104



1071108ES



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden

(Alemania)

Tfno: +49-2103-29-0

R2



1071108ES



QIAGEN: Tecnologías de preparación de muestras y ensayos de biología molecular

QIAGEN es el proveedor líder de tecnologías innovadoras para la preparación de muestras y ensayos de biología molecular que permiten el aislamiento y la detección del contenido de cualquier muestra biológica. Nuestros productos y servicios de vanguardia y máxima calidad garantizan el éxito desde la muestra hasta el resultado.

QIAGEN sienta las bases de excelencia en los siguientes campos:

- Purificación de ADN, ARN y proteínas
- Ensayos de ácidos nucleicos y proteínas
- Investigación con microARN y ARNi
- Automatización de tecnologías de preparación de muestras y ensayos de biología molecular

Nuestra misión es ayudarle a superar sus retos y a alcanzar un éxito excepcional. Para más información, visite www.qiagen.com.

Índice

Uso previsto	4
Resumen y descripción	4
Lisis de las células sanguíneas	5
Unión del ADN genómico a la membrana de la columna de centrifugación QIAamp Mini	5
Purificación automatizada	6
Materiales suministrados	8
Contenido del kit	8
Materiales necesarios pero no suministrados	9
Información sobre seguridad	10
Almacenamiento y manipulación de los reactivos	12
Manipulación y almacenamiento de las muestras	12
Notas importantes	15
Cuestiones importantes antes de comenzar un protocolo	15
Preparación de reactivos y soluciones tampón	15
Manipulación de las columnas de centrifugación QIAamp Mini	16
Elución de ADN genómico	17
Rendimiento y calidad del ADN genómico	17
Montaje del sistema de vacío QIAvac 24 Plus	18
Protocolos	
■ Aislamiento y purificación de ADN genómico procedente de muestras de sangre con un sistema de vacío	20
■ Aislamiento y purificación de ADN genómico procedente de muestras de sangre con una microcentrifugadora	24
Control de calidad	27
Características del rendimiento	27
Rendimiento en ensayos subsiguientes	28
Símbolos	33
Bibliografía	34
Información de contacto	35
Información para pedidos	36

Uso previsto

El kit QIAamp DSP DNA Blood Mini es un sistema que utiliza la tecnología de membrana de gel de sílice (tecnología QIAamp) para el aislamiento y la purificación de ADN genómico procedente de muestras biológicas.

El producto está concebido para ser utilizado por usuarios profesionales, como técnicos y médicos formados en técnicas de biología molecular.

El kit QIAamp DSP DNA Blood Mini se ha diseñado para el uso diagnóstico in vitro.

Resumen y descripción

El kit QIAamp DSP DNA Blood Mini utiliza una tecnología ampliamente consolidada para ofrecer un método simple y rápido de aislamiento y purificación de ADN genómico a partir de muestras de 200 µl de sangre completa.

Los procedimientos QIAamp DSP DNA Blood Mini, diseñados para el procesamiento simultáneo de múltiples muestras de sangre, obtienen ADN purificado listo para su uso. En los procedimientos se puede utilizar sangre completa fresca o congelada y sangre tratada con citrato o EDTA.

Los sencillos procedimientos QIAamp DSP de centrifugación y vacío permiten el procesamiento simultáneo de múltiples muestras. Algunos de los procedimientos de centrifugación QIAamp pueden ser completamente automatizados en el QIAcube® para una mayor estandarización y facilidad de uso (véase la página 6).

No es necesaria la previa separación de los leucocitos. Los procedimientos no requieren ni la extracción con fenol/cloroformo ni la precipitación con alcohol y precisan una intervención mínima por parte del usuario, lo que permite la manipulación segura de muestras potencialmente infecciosas. Los procedimientos están diseñados para minimizar la contaminación cruzada de una muestra a otra. El ADN purificado está listo para su uso en una PCR o cualquier otra aplicación o puede conservarse a entre -25 °C y -15 °C para un uso posterior.

Principios del procedimiento

Cada procedimiento QIAamp DSP DNA Blood Mini comprende 4 etapas:

- Lisis de las células presentes en la muestra de sangre
- Unión del ADN genómico del lisado celular a la membrana de una columna de centrifugación QIAamp Mini
- Lavado de la membrana
- Elución del ADN genómico de la membrana

Este manual contiene protocolos para 2 procedimientos QIAamp DSP DNA Blood Mini alternativos: el procedimiento de centrifugación, para el que se requiere una centrifugadora, y el procedimiento de vacío, para el que se requiere una centrifugadora y un sistema de vacío (consulte el organigrama, página 7).

Lisis de las células sanguíneas

Las muestras se lisan en condiciones de desnaturalización a altas temperaturas. La lisis se realiza en presencia de proteasa QIAGEN (QP) y solución tampón de lisis (AL).

Unión del ADN genómico a la membrana de la columna de centrifugación QIAamp Mini

Para optimizar la unión del ADN genómico a la membrana de la columna de centrifugación QIAamp Mini se añade en primer lugar etanol a los lisados. Cada lisado se dispensa entonces en una columna de centrifugación QIAamp Mini y, a medida que el lisado la atraviesa por efecto del vacío o de la fuerza centrífuga, el ADN genómico se adsorbe sobre la membrana de gel de sílice.

Purificación automatizada

La purificación de ADN con el kit QIAamp DSP DNA Blood Mini puede automatizarse completamente en el instrumento QIAcube. El innovador QIAcube utiliza tecnología avanzada para procesar las columnas de centrifugación QIAGEN, lo que permite la integración sin interrupciones de la preparación automatizada de muestras de bajo volumen en la dinámica de trabajo de laboratorio. La preparación de muestras con el QIAcube se realiza siguiendo los mismos pasos que en el procedimiento manual (es decir, lisis, unión, lavado y elución), por lo que es posible utilizar el kit QIAamp DSP DNA Blood Mini para la purificación de ADN de alta calidad.

Para obtener más información sobre el procedimiento automatizado, consulte la hoja del protocolo correspondiente en www.qiagen.com/MyQIAcube. Las hojas de protocolo actualizadas se pueden descargar gratuitamente u obtener a través del Departamento de Servicio Técnico de QIAGEN (consulte la página 35).

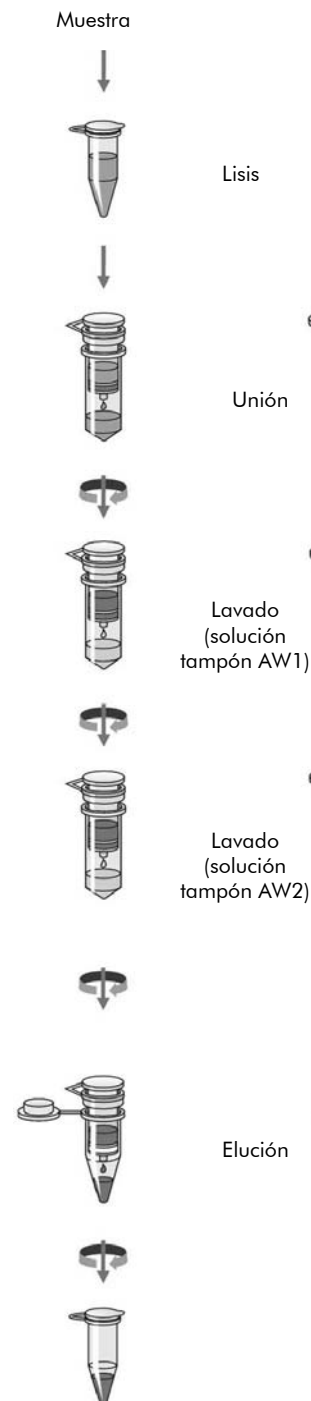
Al automatizar el kit QIAamp DSP DNA Blood Mini en el instrumento QIAcube, el instrumento quizá procese menos de 50 muestras debido a volúmenes muertos, evaporación y consumo adicional de reactivo por el pipeteo automatizado. QIAGEN únicamente garantiza 50 preparaciones de muestras con el uso manual del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini.



Figura 1. El instrumento QIAcube.

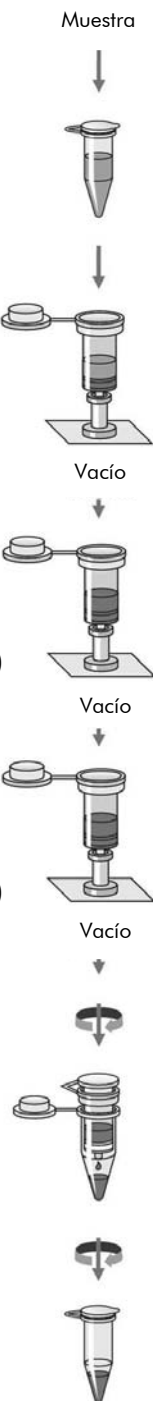
Procedimientos de centrifugación y vacío del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini

Procedimiento de centrifugación QIAamp



ADN genómico o viral puro

Procedimiento de vacío QIAamp



Lea atentamente los protocolos (páginas 22 y 26) antes de comenzar.

Añada a un tubo de lisis (LT) 20 μ l de QP, 200 μ l de muestra y 200 μ l de AL.

Agite con la agitadora vorticial 15 segundos.

Incube 10 minutos ($\pm$ 1 minuto) a 56°C ($\pm$ 1°C).

Añada 200 μ l de etanol.

Agite con la agitadora vorticial 15 segundos.

Transfiera el lisado a la columna de centrifugación QIAamp Mini.

Procedimiento de centrifugación: centrifugue 1 minuto a 6.000 x g.

Procedimiento de vacío: aplique vacío.

Procedimiento de centrifugación: ponga la columna de centrifugación QIAamp Mini en un tubo de lavado nuevo, añada 500 μ l de AW1 y centrifugue 1 minuto a 6.000 x g.

Procedimiento de vacío: añada 750 μ l de AW1 y aplique vacío.

Procedimiento de centrifugación: ponga la columna de centrifugación QIAamp Mini en un nuevo tubo de lavado, añada 500 μ l de AW2 y centrifugue 1 minuto a la máxima velocidad (aproximadamente 20.000 x g o 14.000 rpm).

Procedimiento de vacío: añada 750 μ l de AW2 y aplique vacío.

Ponga la columna de centrifugación QIAamp Mini en un tubo de lavado.

Centrifugue 3 minutos a la máxima velocidad (aproximadamente 20.000 x g o 14.000 rpm).

Ponga la columna de centrifugación QIAamp Mini en un tubo de elución.

Añada 50–200 μ l de AE e incube durante 1 minuto.

Centrifugue 1 minuto a 6.000 x g.

Materiales suministrados

Contenido del kit

Kit QIAamp DSP DNA Blood Mini			
Nº de referencia			61104
Número de preparaciones			50*
QIAamp Mini Spin	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (columnas de centrifugación QIAamp Mini con tubos de lavado) (WT) (2 ml)		50
ET	Elution Tubes (tubos de elución) (1,5 ml)		50
VC	VacConnectors (conectores VacConnector)		50
LT	Lysis Tubes (tubos de lisis) (1,5 ml)		50
WT	Wash Tubes (tubos de lavado) (2 ml)		3 x 50
AL	Lysis Buffer (solución tampón de lisis) [†]		12 ml
AW1	Wash Buffer 1 [†] (concentrate) (solución tampón de lavado 1 [concentrado])		19 ml
AW2	Wash Buffer 2 [‡] (concentrate) (solución tampón de lavado 2 [concentrado])		13 ml
AE	Elution Buffer [†] (solución tampón de elución)		25 ml
PS	Protease Solvent [†] (disolvente de protease)		2 ml
QP	QIAGEN Protease [§] (proteasa QIAGEN)		1 vial
	CD		1
	Manual		1

* Al automatizar el kit QIAamp DSP DNA Blood Mini en el QIAcube, el instrumento quizá procese menos de 50 muestras debido a volúmenes muertos, evaporación y consumo adicional de reactivo por el pipeteo automatizado. QIAGEN únicamente garantiza 50 preparaciones de muestras con el uso manual del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini.

[†] Contiene clorhidrato de guanidina. No compatible con desinfectantes que contengan lejía. Para más información, consulte la página 11.

[‡] Contiene azida sódica como conservante.

[§] Volumen de resuspensión 1,2 ml. Véase “Preparación de la proteasa QIAGEN” en la página 15.

Materiales necesarios pero no suministrados

Siempre que trabaje con productos químicos, utilice una bata de laboratorio adecuada, guantes desechables y gafas protectoras. Para más información, consulte las correspondientes fichas de datos de seguridad de los materiales (MSDS) que el proveedor del producto pone a su disposición.

Para los procedimientos de centrifugación y vacío

- Etanol (96–100%)
- Pipetas* y puntas de pipeta (para prevenir la contaminación cruzada, recomendamos encarecidamente usar puntas de pipeta resistentes a aerosoles)
- Guantes desechables
- Bloque de calentamiento* para la lisis de muestras a 56 °C (recomendamos el equipo Thermomixer comfort de Eppendorf® con termobloque para tubos de ensayo micro de 1,5 ml[†])
- Microcentrifugadora*
- Probeta graduada (50 ml)
- Agitadora vorticial

Para el procedimiento de vacío únicamente

- Sistema de vacío QIAvac 24 Plus (QIAvac 24 Plus, n° de referencia 19413, QIAvac Connecting System, n° de referencia 19419, y Vacuum Pump, n° de referencia 84020) o sistema de vacío de laboratorio genérico equivalente.

* Para garantizar el correcto procesamiento de las muestras en los procedimientos QIAamp DSP DNA Blood Mini, recomendamos encarecidamente calibrar los instrumentos (p. ej., pipetas y bloques de calentamiento) siguiendo las recomendaciones de los fabricantes.

[†] Esta no es una lista completa de proveedores y no incluye a numerosos proveedores importantes de suministros biológicos.

Información sobre seguridad

Siempre que trabaje con productos químicos, utilice una bata de laboratorio adecuada, guantes desechables y gafas protectoras. Para más información, consulte las correspondientes hojas de datos de seguridad de materiales (MSDS). Dichas hojas están disponibles online en un formato PDF cómodo y compacto en www.qiagen.com/Support/MSDS.aspx, donde podrá encontrar, ver e imprimir la hoja de datos sobre seguridad correspondiente a cada kit y a cada componente del kit QIAGEN.

ATENCIÓN: NO añada lejía o soluciones ácidas directamente al residuo de la preparación de la muestra.

La solución tampón de lisis (AL) y la solución tampón de lavado 1 (AW1) contienen clorhidrato de guanidina, susceptible de formar compuestos muy reactivos cuando se combina con lejía. Si se derrama algún líquido que contenga estas soluciones tampón, límpielo con agua y un detergente de laboratorio adecuado. Si el líquido derramado contiene agentes potencialmente infecciosos, limpie primero la zona afectada con agua y detergente de laboratorio y seguidamente con hipoclorito sódico al 1% (v/v). Si los frascos de solución tampón sufren algún daño o pierden líquido, use guantes y gafas protectoras al desecharlos para evitar lesiones personales o lesiones a terceros.

QIAGEN no ha analizado los residuos líquidos generados por los procedimientos QIAamp DSP DNA Blood Mini para determinar si contienen materiales residuales infecciosos. La contaminación del residuo líquido con materiales residuales infecciosos es improbable, pero no se puede descartar completamente. Por consiguiente, el residuo líquido debe considerarse como infeccioso y manipularse y desecharse según las normas de seguridad locales.

A los diversos componentes del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini les conciernen las siguientes declaraciones de riesgo y seguridad:

Solución tampón de lisis (AL) y solución tampón de lavado 1 (AW1)



Contienen clorhidrato de guanidina: nocivo, causa irritación. Declaraciones de riesgo y seguridad: * R22-36/38, S13-26-36-46.

Proteasa QIAGEN (QP)



Contiene subtilisina: sensibilizante, causa irritación. Declaraciones de riesgo y seguridad: * R37/38-41-42, S22-24-26-36/37/39-46.

Información para emergencias disponible las 24 horas

Información médica para emergencias disponible en inglés, francés y alemán las 24 horas del día en:

Centro de información de toxicología, Maguncia, Alemania.

Tfno: +49-6131-19240

* R22: nocivo por ingestión; R36/38: causa irritación en los ojos y la piel; R37/38: causa irritación en el sistema respiratorio y la piel; R41: riesgo de lesiones oculares graves; R42: posibilidad de sensibilización por inhalación; S13: manténgase lejos de alimentos, bebidas y piensos; S22: no respirar el polvo; S24: evítese el contacto con la piel; S26: en caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico; S36: úsese indumentaria protectora adecuada; S36/37/39: úsese indumentaria protectora adecuada; S46: en caso de ingestión, acuda inmediatamente al médico y muestre la etiqueta o el envase.

Almacenamiento y manipulación de los reactivos

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

Todas las soluciones tampón se pueden conservar a temperatura ambiente (15–25 °C) hasta la fecha de caducidad indicada en la caja del kit.

La proteasa QIAGEN (QP) liofilizada se puede conservar a temperatura ambiente (15–25 °C) hasta la fecha de caducidad del kit sin que su rendimiento se vea afectado. La proteasa QIAGEN reconstituida permanece estable hasta un año si se conserva a entre 2 °C y 8 °C, pero solo hasta la fecha de caducidad del kit.

La solución tampón de lavado 1 (AW1) reconstituida y la solución tampón de lavado 2 (AW2) reconstituida permanecen estables hasta 1 año a temperatura ambiente (15–25°C), pero solo hasta la fecha de caducidad del kit.

Manipulación y almacenamiento de las muestras

Los crioprecipitados que se forman durante la descongelación de muestras congeladas obstruirán la membrana de la columna de centrifugación QIAamp Mini. Si los crioprecipitados son visibles, evite aspirarlos durante la aspiración de la muestra. Los efectos de congelar y descongelar muestras de sangre en la purificación de ADN con el kit QIAamp DSP DNA Blood Mini han sido determinados (véase la Figura 2).

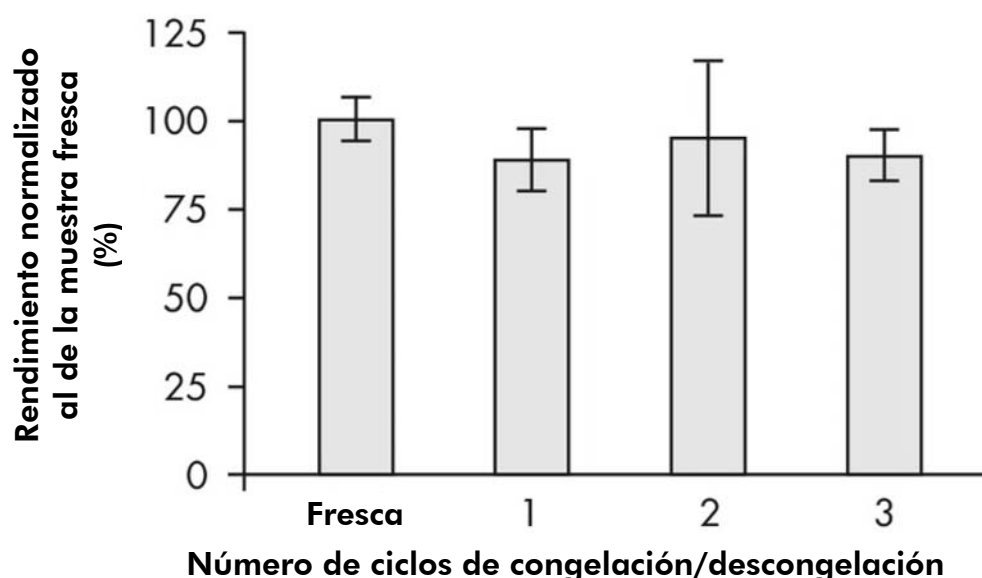


Figura 2. Efecto de la congelación y descongelación de muestras de sangre. Se congeló y descongeló hasta 3 veces sangre tratada con EDTA y seguidamente se sometió a una purificación del ADN con el kit QIAamp DSP DNA Blood Mini. Los resultados de rendimiento de ADN obtenidos están normalizados respecto al rendimiento de una muestra fresca (100%). Cada barra en la gráfica representa los resultados de 32 réplicas (media $\pm$ desviación estándar).

La cantidad de ADN purificado en los procedimientos QIAamp DSP DNA Blood Mini depende del contenido de leucocitos de cada muestra de sangre. Mediante el procedimiento de centrifugación o vacío, el ADN genómico se purifica a partir de 200 μ l de muestras de sangre de donantes sanos. Para recoger las muestras de sangre que se van a analizar con los procedimientos QIAamp DSP DNA Blood Mini se pueden utilizar varios tipos distintos de tubos primarios y anticoagulantes (Tabla 1).

Tabla 1. Rendimientos relativos medios de ADN en muestras de sangre recogidas utilizando diversos tipos de tubos primarios y anticoagulantes

Tubo primario	Fabricante	Nº de referencia	Volumen nominal	Rendimiento medio*
BD™ Vacutainer® 9NC	BD	366007	9 ml	6,4 μ g
BD Vacutainer K3E	BD	36847	10 ml	6,6 μ g
BD Vacutainer K2E	BD	367864	6 ml	6,4 μ g
S-Monovette® EDTA	Sarstedt®	02.1066.001	9 ml	6,5 μ g
S-Monovette CPDA1	Sarstedt	01.1610.001	8,5 ml	6,3 μ g
Vacurette® K3E	Greiner Bio-One®	455036	9 ml	6,5 μ g
Vacurette 9NC	Greiner Bio-One	454382	2 ml	6,3 μ g

El ADN genómico fue purificado a partir de 200 μ l de muestras de sangre de donantes sanos (de $4,0 \times 10^6$ células por ml a $9,0 \times 10^6$ células por ml).

* Para cada tubo primario, se determina el rendimiento medio a partir de 11 muestras triplicadas.

Eliminación de los contaminantes residuales

Mientras que el ADN genómico se mantiene unido a la membrana de la columna de centrifugación QIAamp Mini, los contaminantes se eliminan de manera eficaz primero con la solución tampón de lavado 1 (AW1) y seguidamente con la solución tampón de lavado 2 (AW2).

Elución de ADN genómico puro

El ADN genómico se eluye de la membrana de la columna de centrifugación QIAamp Mini con 50–200 μ l de solución tampón de elución (AE). El ADN eluido está listo para su uso en distintos ensayos subsiguientes, incluidos diversos tipos de ensayos de diagnóstico in vitro.

Notas importantes

Cuestiones importantes antes de comenzar un protocolo

- Al recibir el kit, compruebe que los componentes no han sufrido ningún daño. Si los blísteres o los frascos de solución tampón están dañados, contacte con el Servicio Técnico de QIAGEN o con el distribuidor local. Si se derrama algún líquido, consulte la “Información sobre seguridad” (página 10). No use los componentes dañados de un kit, ya que su rendimiento podría verse afectado.
- Cambie siempre las puntas de pipeta entre las transferencias de líquidos. Para evitar la contaminación cruzada, recomendamos usar puntas de pipeta resistentes a aerosoles.
- Todos los pasos de centrifugación se realizan a temperatura ambiente (15–25 °C).
- Use siempre guantes desechables y compruebe regularmente que no se hayan contaminado con el material de las muestras. Deseche los guantes si se contaminan.
- Para minimizar la contaminación cruzada, no abra más de un tubo a la vez.
- No use componentes de kits distintos del que está utilizando a menos que tengan el mismo número de lote.
- Procure evitar la contaminación microbiana de los reactivos del kit.
- Para minimizar el riesgo de infección con material potencialmente infeccioso, se recomienda trabajar bajo un flujo de aire laminar hasta que las muestras estén lisadas.
- Este kit solo debe ser utilizado por personal con experiencia en los métodos de laboratorio de diagnóstico in vitro.

Preparación de reactivos y soluciones tampón

■ Preparación de la proteasa QIAGEN

Añada 1,2 ml de disolvente de proteasa (PS) al vial de proteasa QIAGEN (QP) liofilizada y mezcle cuidadosamente. Para evitar que se forme espuma, mezcle invirtiendo el vial repetidas veces. Compruebe que la proteasa QIAGEN (QP) se ha disuelto por completo.

- ❗ No añada la proteasa QIAGEN (QP) directamente a la solución tampón de lisis (AL).

■ Preparación de la solución tampón de lavado 1

Usando una probeta graduada, añada 25 ml de etanol (96–100%) al frasco que contiene 19 ml de concentrado de solución tampón de lavado 1 (AW1). Conserve la solución tampón de lavado 1 (AW1) reconstituida a temperatura ambiente (15–25 °C).

- ① Mezcle siempre la solución tampón de lavado 1 (AW1) reconstituida invirtiendo el frasco varias veces antes de comenzar el procedimiento.

■ Preparación de la solución tampón de lavado 2

Usando una probeta graduada, añada 30 ml de etanol (96–100%) al frasco que contiene 13 ml de concentrado de solución tampón de lavado 2 (AW2). Conserve la solución tampón de lavado 2 (AW2) reconstituida a temperatura ambiente (15–25 °C).

- ① Mezcle siempre la solución tampón de lavado 2 (AW2) reconstituida invirtiendo el frasco varias veces antes de comenzar el procedimiento.

■ Preparación de la solución tampón de elución

El kit incluye un frasco de solución tampón de elución (AE). Para evitar la contaminación de la solución tampón de elución (AE), recomendamos encarecidamente utilizar puntas de pipeta resistentes a aerosoles para su pipeteo y volver a cerrar el frasco inmediatamente después.

- ① La solución tampón de elución (AE) contiene azida sódica como conservante, la cual presenta absorbencia a 260 nm. Por lo tanto, al cuantificar el ADN en el eluido midiendo la absorbencia a 260 nm, al determinar la pureza del ADN en el eluido midiendo la absorbencia a 260 y 280 nm o al controlar la absorbencia en el rango comprendido entre 220 nm y 350 nm, asegúrese de que la muestra para ensayo en blanco contiene la misma concentración de azida sódica que el eluido. Por ejemplo, si prepara el eluido para la medición de absorbencia diluyendo 50 µl del mismo con 100 µl de agua, para preparar la muestra para ensayo en blanco diluya 50 µl de solución tampón de elución (AE) con 100 µl de agua. Utilice agua destilada fresca para las diluciones.

Manipulación de las columnas de centrifugación QIAamp Mini

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

- Dispense la muestra o la solución cuidadosamente en la columna de centrifugación QIAamp Mini. Pipetee la muestra en la columna de centrifugación QIAamp Mini procurando no mojar el borde de la columna.
- Cambie siempre las puntas de pipeta entre las transferencias de líquidos. Recomendamos el uso de puntas de pipeta resistentes a aerosoles.
- Evite tocar la membrana de la columna de centrifugación QIAamp Mini con la punta de la pipeta.
- Tras haber realizado todos los pasos de agitación vorticial con pulsos, centrifugue brevemente los tubos para microcentrifugadora con el fin de eliminar las gotas del interior de las tapas.
- Abra cada vez solamente una columna de centrifugación QIAamp Mini y procure no generar aerosoles.
- Lleve guantes durante todo el procedimiento. Si los guantes entran en contacto con la muestra, cámbieselos inmediatamente.

Elución de ADN genómico

El volumen de ADN eluido procedente de una columna de centrifugación QIAamp Mini puede ser hasta 20 μ l menor que el volumen de solución tampón de elución (AE) dispensado en la columna. El volumen del eluido recuperado depende de la naturaleza de la muestra. La solución tampón de elución (AE) debe equilibrarse a temperatura ambiente (15–25 °C) antes de dispensarla en la columna. El ADN eluido se recoge en tubos de elución (ET). Para periodos de hasta 4 semanas, recomendamos conservar el ADN a entre 2 °C y 8 °C. Para el almacenamiento a largo plazo, recomendamos conservarlo a –20 °C.

Rendimiento y calidad del ADN genómico

El rendimiento y la calidad del ADN genómico aislado son adecuados para todos los tipos de procedimientos de detección subsiguientes utilizados en el diagnóstico molecular. Los ensayos de diagnóstico deberán llevarse a cabo conforme a las instrucciones de los fabricantes.

Montaje del sistema de vacío QIAvac 24 Plus

Compruebe que ha montado correctamente la columna de centrifugación QIAamp Mini, el conector VacConnector (VC) y la válvula VacValve (véase la Figura 3).

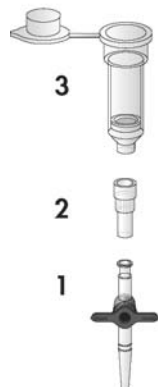


Figura 3. Ensamblado de los componentes del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini para el procesamiento al vacío de las muestras.

1. VacValve (suministrada con el sistema de vacío)
2. VacConnector (VC)
3. Columna de centrifugación QIAamp Mini

Si se emplea el procedimiento de vacío con el sistema de vacío QIAvac 24 Plus, recomendamos etiquetar los tubos de lisis (LT), los tubos de elución (ET) y las columnas de centrifugación QIAamp Mini según el esquema de la Figura 4 (véase la página siguiente) para no confundir las muestras. Este esquema se puede fotocopiar y etiquetar con los nombres de las muestras. Si se utiliza un sistema de vacío distinto o el procedimiento de centrifugación, recomendamos utilizar un esquema similar.

Fecha: _____

Operador: _____

ID del ciclo: _____

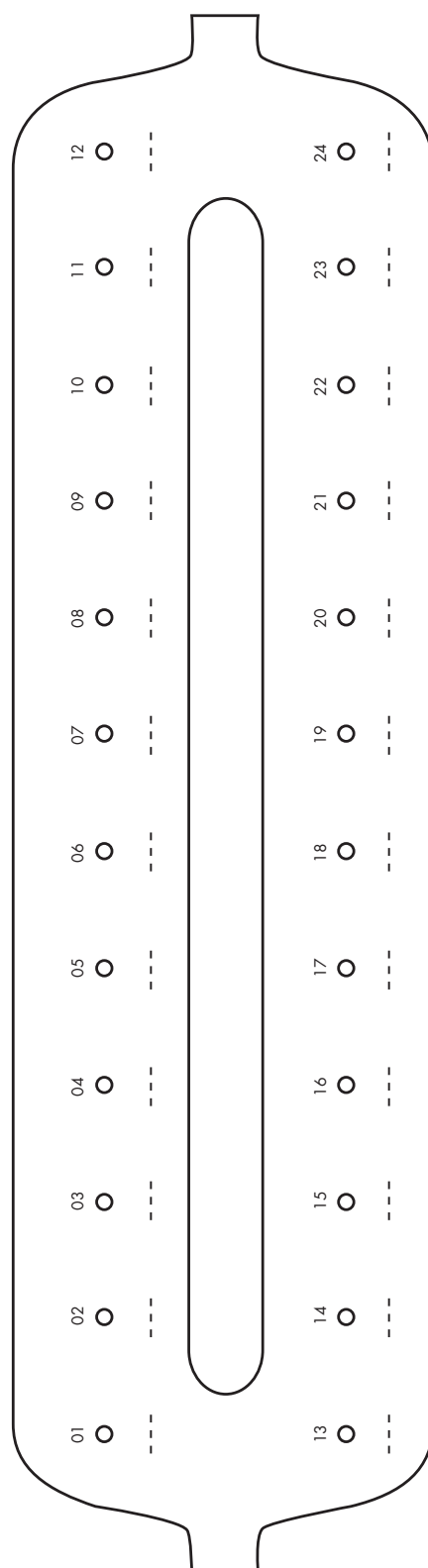


Figura 4. Esquema de etiquetado para los tubos de lisis (LT), los tubos de elución (ET) y las columnas de centrifugación QIAamp Mini para su uso en el sistema de vacío QIAvac 24 Plus.

Protocolo: Aislamiento y purificación de ADN genómico procedente de muestras de sangre con un sistema de vacío

Para el aislamiento y purificación de ADN genómico procedente de muestras de 200 µl de sangre completa tratada con EDTA o citrato con un sistema de vacío como el QIAvac 24 Plus.

Cuestiones importantes antes de comenzar

- El siguiente procedimiento proporciona instrucciones para procesar una sola muestra de sangre. No obstante, con el sistema de vacío QIAvac 24 Plus se pueden procesar hasta 24 muestras simultáneamente.

Antes de comenzar

- Equilibre las muestras de sangre a temperatura ambiente (15–25 °C) y compruebe que están bien mezcladas.
- Si se ha formado un precipitado en la solución tampón de lisis (AL), disuélvalo incubando a 56 °C.
- Asegúrese de que la solución tampón de lavado 1 (AW1), la solución tampón de lavado 2 (AW2) y la proteasa QIAGEN (QP) se han preparado según las instrucciones del apartado “Preparación de reactivos y soluciones tampón” en las páginas 15 y 16.
- Equilibre la solución tampón de elución (AE) a temperatura ambiente (15–25 °C) para su uso en el paso 14.
- Ajuste el bloque de calentamiento a 56 °C para su uso en el paso 4.
- Para minimizar la contaminación cruzada, inserte un VacConnector (VC) en cada adaptador Luer del sistema de vacío.
- Los procedimientos de control de calidad de QIAGEN se basan en las pruebas funcionales realizadas en el lanzamiento del kit para cada lote concreto del kit. Por ello, no mezcle reactivos de lotes del kit distintos y no combine reactivos individuales de diferentes lotes de reactivos.
- Compruebe que el frasco de residuos del sistema de vacío está vacío y que todas las conexiones se han realizado correctamente.
- Para información detallada sobre el funcionamiento del sistema de vacío, especialmente acerca de su mantenimiento, consulte el manual suministrado con el equipo.

Procedimiento

1. Pipetee 20 μ l de proteasa QIAGEN (QP) en un tubo de lisis (LT).

 Compruebe la fecha de caducidad de la proteasa reconstituida antes de utilizarla.

2. Añada 200 μ l de muestra de sangre al tubo de lisis (LT).

3. Añada 200 μ l de solución tampón de lisis (AL) al tubo de lisis (LT), cierre la tapa y mezcle en la agitadora vorticial con pulsos durante 15 segundos.

Para que la lisis sea eficaz, es esencial que la muestra y la solución tampón de lisis se mezclen perfectamente hasta obtener una solución homogénea.

 Dado que la solución tampón de lisis (AL) es muy viscosa, asegúrese de añadir el volumen correcto de la misma, ya sea pipeteándola cuidadosamente o utilizando una pipeta adecuada.

 No añada la proteasa QIAGEN (QP) directamente a la solución tampón de lisis (AL).

4. Incube a 56 °C ($\pm 1^\circ$ C) durante 10 minutos (± 1 minuto).

5. Centrifugue el tubo de lisis (LT) durante ≥ 5 segundos a la máxima velocidad para eliminar las gotas del interior de la tapa.

6. Añada 200 μ l de etanol (96–100%) al tubo de lisis (LT), cierre la tapa y mézclelo bien en la agitadora vorticial con pulsos durante ≥ 15 segundos.

7. Centrifugue el tubo de lisis (LT) durante ≥ 5 segundos a la máxima velocidad para eliminar las gotas del interior de la tapa.

8. Inserte la columna de centrifugación QIAamp Mini en el VacConnector (VC) del sistema de vacío. Asegúrese de que la válvula de vacío principal (entre el sistema de vacío y el colector de vacío) y la válvula con tapón de rosca (en el colector de vacío) están cerradas. Encienda la bomba de vacío.

Deseche el tubo de lavado (WT) (2 ml) en el que está colocada la columna de centrifugación QIAamp Mini en el blíster.

El vacío solamente se aplica al sistema de conexión (si se utiliza) y no al colector de vacío.

9. Dispense cuidadosamente todo el lisado obtenido en el paso 7 en la columna de centrifugación QIAamp Mini procurando no mojar el borde. Evite tocar la membrana de la columna de centrifugación QIAamp Mini con la punta de la pipeta.

- ① Si se están procesando varias muestras, no abra más de un tubo de lisis (LT) cada vez.

10. Abra la válvula principal de vacío. Una vez que el lisado haya atravesado la columna de centrifugación QIAamp Mini, cierre la válvula principal de vacío y abra la válvula con tapón de rosca en el colector de vacío para ventilar el colector. Cierre la válvula con tapón de rosca una vez que el vacío haya desaparecido del colector.

Tras cerrar la válvula principal de vacío, el vacío solamente se aplica al sistema de conexión (si se utiliza) y no al colector de vacío.

- ① Utilice la válvula con tapón de rosca del colector de vacío para una rápida eliminación del vacío.

- ① Si se procesan varias columnas de centrifugación QIAamp Mini al mismo tiempo, se recomienda cerrar la válvula VacValve de cada columna después de que el lisado las haya atravesado con el fin de acortar la duración de este paso de vacío.

- ① Si al cabo de 10 minutos el lisado aún no ha terminado de atravesar la membrana, coloque la columna de centrifugación QIAamp Mini en un tubo de lavado (WT) limpio, cierre la tapa y centrifugue a aproximadamente 6.000 x g (8.000 rpm) durante 3 minutos o hasta que haya pasado todo el lisado. Coloque la columna de centrifugación QIAamp Mini en otro tubo de lavado (WT) limpio y prosiga con el paso 10 del protocolo en la página 25.

- ① Si el lisado sigue sin pasar por la membrana durante la centrifugación, deseche la muestra y repita el aislamiento y la purificación con nuevo material de muestra empezando por el paso 1 de la página 21.

11. Dispense 750 µl de solución tampón de lavado 1 (AW1) en la columna de centrifugación QIAamp Mini procurando no mojar el borde. Evite tocar la membrana de la columna de centrifugación QIAamp Mini con la punta de la pipeta. Deje la tapa de la columna abierta y abra la válvula de vacío principal. Una vez que la solución tampón de lavado 1 (AW1) haya atravesado la columna de centrifugación QIAamp Mini, cierre la válvula principal de vacío y abra la válvula con tapón de rosca para ventilar el colector. Cierre la válvula con tapón de rosca una vez que el vacío haya desaparecido del colector.

12. Dispense 750 µl de solución tampón de lavado 2 (AW2) en la columna de centrifugación QIAamp Mini procurando no mojar el borde. Evite tocar la membrana de la columna de centrifugación

QIAamp Mini con la punta de la pipeta. Deje la tapa de la columna abierta y abra la válvula de vacío principal. Una vez que la solución tampón de lavado 2 (AW2) haya atravesado la columna de centrifugación QIAamp Mini, cierre la válvula principal de vacío y abra la válvula con tapón de rosca para ventilar el colector. Cierre la válvula con tapón de rosca una vez que el vacío haya desaparecido del colector.

- 13. Cierre la tapa de la columna de centrifugación QIAamp Mini, retírela del sistema de vacío y deseche el VacConnector (VC). Ponga la columna de centrifugación QIAamp Mini en un tubo de lavado (WT) limpio y centrifúguela a la máxima velocidad (aproximadamente 20.000 x g o 14.000 rpm) durante 3 minutos para secar completamente la membrana.**

i La omisión de la centrifugación en seco puede producir una inhibición del ensayo subsiguiente.

- 14. Ponga la columna de centrifugación QIAamp Mini en un tubo de elución (ET) limpio y deseche el tubo de lavado (WT) contenedor del filtrado. Abra cuidadosamente la tapa de la columna de centrifugación QIAamp Mini y dispense de 50 a 200 µl de solución tampón de elución (AE) en el centro de la membrana. Cierre la tapa e incube a temperatura ambiente (15–25 °C) durante 1 minuto. Centrifugue a 6.000 x g (8.000 rpm) durante un minuto para eluir el ADN.**

i Tras realizar este protocolo, siga el procedimiento de mantenimiento del sistema de vacío (para más detalles, véase el manual suministrado con el sistema de vacío).

Protocolo: Aislamiento y purificación de ADN genómico procedente de muestras de sangre con una microcentrifugadora

Para el aislamiento y purificación del ADN genómico de muestras de 200 µl de sangre completa tratada con EDTA o citrato con una microcentrifugadora.

Cuestiones importantes antes de comenzar

- El siguiente procedimiento proporciona instrucciones para procesar una sola muestra de sangre. No obstante, es posible procesar varias muestras al mismo tiempo, el número dependerá de la capacidad de la microcentrifugadora utilizada.

Antes de comenzar

- Equilibre las muestras de sangre a temperatura ambiente (15–25 °C) y compruebe que están bien mezcladas.
- Si se ha formado un precipitado en la solución tampón de lisis (AL), disuélvalo incubando a 56 °C.
- Asegúrese de que la solución tampón de lavado 1 (AW1), la solución tampón de lavado 2 (AW2) y la proteasa QIAGEN (QP) se han preparado según las instrucciones del apartado “Preparación de reactivos y soluciones tampón” en las páginas 15 y 16.
- Equilibre la solución tampón de elución (AE) a temperatura ambiente (15–25 °C) para su uso en el paso 15.
- Ajuste el bloque de calentamiento a 56 °C para su uso en el paso 4.
- Los procedimientos de control de calidad de QIAGEN se basan en las pruebas funcionales realizadas en el lanzamiento del kit para cada lote concreto del kit. Por ello, no mezcle reactivos de lotes del kit distintos y no combine reactivos individuales de diferentes lotes de reactivos.

Procedimiento

1. Pipetee 20 µl de proteasa QIAGEN (QP) en un tubo de lisis (LT).

- ① Compruebe la fecha de caducidad de la proteasa reconstituida antes de utilizarla.

2. Añada 200 µl de muestra de sangre al tubo de lisis (LT).

3. Añada 200 µl de solución tampón de lisis (AL) al tubo de lisis (LT), cierre la tapa y mezcle en la agitadora vorticial con pulsos durante 15 segundos.

Para que la lisis sea eficaz, es esencial que la muestra y la solución tampón de lisis (AL) se mezclen perfectamente hasta obtener una solución homogénea.

- i** Dado que la solución tampón de lisis (AL) es muy viscosa, asegúrese de añadir el volumen correcto de la misma, ya sea pipeteándola cuidadosamente o utilizando una pipeta adecuada.
- i** No añada la proteasa QIAGEN (QP) directamente a la solución tampón de lisis (AL).
- 4. Incube a 56 °C ($\pm 1^{\circ}\text{C}$) durante 10 minutos (± 1 minuto).**
- 5. Centrifugue el tubo de lisis (LT) durante ≥ 5 segundos a la máxima velocidad para eliminar las gotas del interior de la tapa.**
- 6. Añada 200 μl de etanol (96–100%) al tubo de lisis (LT), cierre la tapa y mézclelo bien en la agitadora vorticial con pulsos durante ≥ 15 segundos.**
- 7. Centrifugue el tubo de lisis (LT) durante ≥ 5 segundos a la máxima velocidad para eliminar las gotas del interior de la tapa.**
- 8. Dispense cuidadosamente todo el lisado obtenido en el paso 7 en la columna de centrifugación QIAamp Mini procurando no mojar el borde. Evite tocar la membrana de la columna de centrifugación QIAamp Mini con la punta de la pipeta.**
- i** Si se están procesando varias muestras, no abra más de un tubo de lisis (LT) cada vez.
- 9. Cierre la tapa de la columna de centrifugación QIAamp Mini y centrifugue a aproximadamente 6.000 x g durante 1 minuto. Ponga la columna de centrifugación QIAamp Mini en un tubo de lavado (WT) limpio y deseche el tubo contenedor del filtrado.**
- i** Si después de una centrifugación a aproximadamente 6.000 x g (8.000 rpm) el lisado aún no ha terminado de atravesar la membrana, vuelva a centrifugar a la máxima velocidad (hasta 20.800 x g) durante 1 minuto.
- i** Si el lisado sigue sin pasar por la membrana durante la centrifugación, deseche la muestra y repita el aislamiento y la purificación con nuevo material de muestra empezando por el paso 1 de la página 24.
- 10. Abra cuidadosamente la columna de centrifugación QIAamp Mini y añada 500 μl de solución tampón de lavado 1 (AW1) procurando no mojar el borde. Evite tocar la membrana de la columna de centrifugación QIAamp Mini con la punta de la pipeta.**
- 11. Cierre la tapa de la columna de centrifugación QIAamp Mini y centrifugue a aproximadamente 6.000 x g durante 1 minuto. Ponga**

la columna de centrifugación QIAamp Mini en un tubo de lavado (WT) limpio y deseche el tubo contenedor del filtrado.

12. Abra cuidadosamente la columna de centrifugación QIAamp Mini y añada 500 μ l de solución tampón de lavado 2 (AW2) procurando no mojar el borde. Evite tocar la membrana de la columna de centrifugación QIAamp Mini con la punta de la pipeta.
13. Cierre la tapa de la columna de centrifugación QIAamp Mini y centrifugue a la máxima velocidad (aproximadamente 20.000 x g o 14.000 rpm) durante 1 minuto. Ponga la columna de centrifugación QIAamp Mini en un tubo de lavado (WT) limpio y deseche el tubo contenedor del filtrado.
14. Centrifugue a la máxima velocidad (aproximadamente 20.000 x g o 14.000 rpm) durante 3 minutos para secar completamente la membrana.



La omisión de la centrifugación en seco puede producir una inhibición del ensayo subsiguiente.

15. Ponga la columna de centrifugación QIAamp Mini en un tubo de elución (ET) limpio y deseche el tubo de lavado (WT) contenedor del filtrado. Abra cuidadosamente la tapa de la columna de centrifugación QIAamp Mini y dispense de 50 a 200 μ l de solución tampón de elución (AE) en el centro de la membrana. Cierre la tapa e incube a temperatura ambiente (15–25 °C) durante 1 minuto. Centrifugue a aproximadamente 6.000 x g (8.000 rpm) durante un minuto para eluir el ADN.

Control de calidad

Conforme al sistema de gestión de la calidad con certificación ISO de QIAGEN, cada lote del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini se somete a pruebas frente a una serie de especificaciones predeterminadas con el fin de garantizar una calidad constante del producto.

Limitaciones

El rendimiento del sistema se ha comprobado utilizando sangre completa para el aislamiento de ADN genómico.

Es responsabilidad del usuario validar el rendimiento del sistema para cualquier procedimiento utilizado en su laboratorio que no haya sido avalado por los estudios de rendimiento de QIAGEN.

Para minimizar el riesgo de un efecto negativo sobre los resultados diagnósticos, deben utilizarse controles adecuados para las aplicaciones subsiguientes. Para validaciones adicionales, se recomiendan las directrices de la International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH) detalladas en *ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology*.

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

Características del rendimiento

Rendimiento del ADN purificado

Se ha determinado el rango lineal del rendimiento de ADN mediante el procedimiento de vacío QIAamp DSP DNA Blood Mini a partir de sangre de donantes sanos con recuentos leucocitarios de $3,8 \times 10^6$ – $1,34 \times 10^7$ células/ml (véase la Figura 5, página 28).

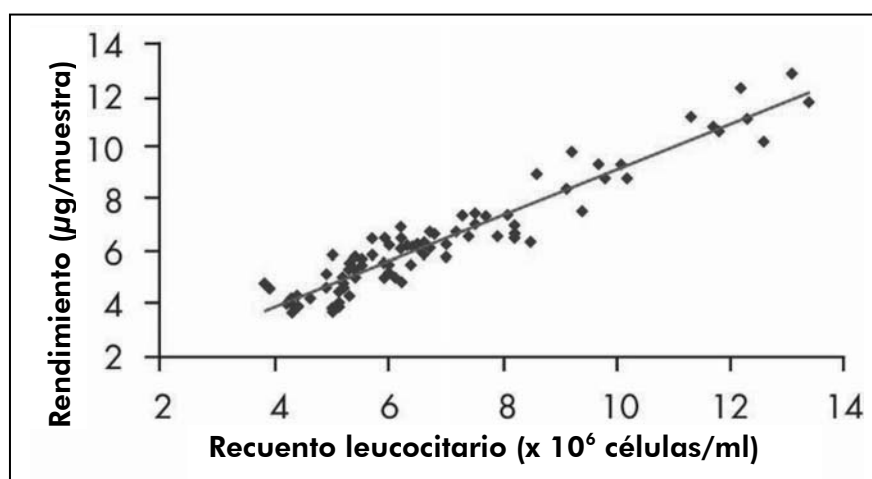


Figura 5. Rango lineal del rendimiento de ADN mediante el procedimiento de vacío QIAamp DSP DNA Blood Mini con 200 µl de volumen de elución. Se determinaron los recuentos leucocitarios de los donantes sanos, que se hallaban en el rango $3,8 \times 10^6 - 1,34 \times 10^7$ células/ml. Se purificó el ADN a partir de las muestras de sangre mediante el procedimiento de vacío QIAamp DSP DNA Blood Mini con un volumen de elución de 200 µl. Se procesaron 87 muestras triplicadas.

Rendimiento en ensayos subsiguientes

El ADN genómico eluido está listo para su uso en distintos ensayos subsiguientes, incluidos varios tipos de ensayos de diagnóstico in vitro (Tablas 2–6). Se han determinado los efectos del volumen de elución y del volumen de eluido utilizado en la PCR sobre el rendimiento de la PCR (véase la Tabla 7).

Tabla 2. Tipificación del HLA con Dynal® AllSet⁺™ SSP Assays HLA-A “Low Resolution”, HLA-B “Low Resolution”, DR “Low Resolution” y DQ “Low Resolution”

Locus HLA-A		Locus HLA-B		Locus HLA-DR		Locus HLA-DQ	
Genotipo	Nº	Genotipo	Nº	Genotipo	Nº	Genotipo	Nº
A2/A3	2	B51, B51/ B13 o B51/B27	1	DR1/DR3	1	DQ2	1
A3/A1	1	B13/B35	1	DR3 o DR3/DR13	1	DQ2/DQ3	2
A3/A25	1	B8/B27	1	DR3/DR7	1	DQ6	1
A2/A24	2	B7/B13 o B7/B15	1	DR7/DR15	2	DQ2/DQ5	1
A1/A2	2	B7/B18	1	DR4/DR15	1	DQ2/DQ5	2
A30/A68	1	B7/B44	1	DR4/DR7	1	DQ3	1
A2/A32	1	Otro	0	DR4	1	DQ3/DQ6	2
Otro	0			DR15	1	Otro	0
				DR1/DR7	1		
				Otro	0		

Se recogió sangre completa de donantes individuales y se purificó ADN genómico a partir de 200 µl de sangre completa con el kit QIAamp DSP DNA Blood Mini. Con Dynal AllSet⁺ SSP Assays (Dynal Biotech), se identificaron alelos en los loci indicados en el número determinado de individuos. **Nº**: número de individuos.

Tabla 3. Genotipificación del factor V Leiden (FV) con el kit LightCycler® Factor V Leiden Mutation Detection

Genotipo	Número
Natural	17
FV G16191 A heterocigótico	13
FV G16191 A homocigótico	0

Se recogió sangre completa de 30 donantes individuales y se purificó ADN genómico a partir de 200 μ l de sangre completa con el kit QIAamp DSP DNA Blood Mini. El estatus alélico en el locus FV G1691 A se determinó con el kit LightCycler Factor V Leiden Mutation Detection (Roche Group).

Tabla 4. Genotipificación del factor V Leiden (FV) mediante PCR convencional y análisis Pyrosequencing® con el kit PSQ-96 SNP-Reagent en el instrumento Pyrosequencing PSQ 96MA

Genotipo	Número
Natural	17
FV G16191 A heterocigótico	13
FV G16191 A homocigótico	0

Se recogió sangre completa de 30 donantes individuales y se purificó ADN genómico a partir de 200 μ l de sangre completa con el kit QIAamp DSP DNA Blood Mini. El estatus alélico en el locus FV G1691 A se determinó mediante PCR convencional y análisis Pyrosequencing con el kit PSQ-96 SNP-Reagent en el instrumento Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

Tabla 5. Genotipificación de protrombina (PT) mediante PCR convencional y análisis Pyrosequencing con el kit PSQ-96 SNP-Reagent en el instrumento Pyrosequencing PSQ 96MA

Genotipo	Número
Natural	30
PT G20210A heterocigótico	0
PT G20210A homocigótico	0

Se recogió sangre completa de 30 donantes individuales y se purificó ADN genómico a partir de 200 µl de sangre completa con el kit QIAamp DSP DNA Blood Mini. El estatus alélico en el locus PT G20210 A se determinó mediante PCR convencional y análisis Pyrosequencing con el kit PSQ-96 SNP Reagent en el instrumento Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

Tabla 6. Análisis de los polimorfismos de la ApoE T112C y C158T mediante PCR convencional, con secuenciación del amplicón mediante el kit BigDye™ v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing y separación en el instrumento ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer

Genotipo	Número
ApoE*3/*3	5
ApoE*3/*4	5
Otro	0

Se recogió sangre completa de 10 donantes individuales y se purificó ADN genómico a partir de 200 µl de sangre completa con el kit QIAamp DSP DNA Blood Mini. El análisis de los polimorfismos de la ApoE T112C y C158T se realizó mediante PCR convencional, con secuenciación del amplicón mediante el kit BigDye v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing y separación en el instrumento ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Life Technologies Corporation).

Tabla 7. Efectos del volumen de elución y el volumen de eluido utilizado en la PCR sobre el rendimiento de la PCR

Volumen de elución	Volumen de eluido por 50 μ l de PCR*		
	2 μ l	5 μ l	10 μ l
50 μ l	100%	100%	100%
100 μ l	100%	100%	97%
200 μ l	100%	100%	100%

* Los valores indican las tasas de resultados positivos de la PCR y representan la media de 48 muestras.

Estabilidad del eluido

En las pruebas de almacenamiento con eluidos generados con el kit QIAamp DNA Blood Mini, un kit de laboratorio de uso genérico que utiliza la misma tecnología, se puso de manifiesto que el ADN eluido con columnas de centrifugación QIAamp Mini en la solución tampón AE y conservado a 5 °C o a -20°C era estable durante 8 años (Figura 6). No obstante, los estudios a largo plazo sobre la estabilidad de los eluidos obtenidos con el kit QIAamp DSP DNA Blood Mini aún no han concluido.

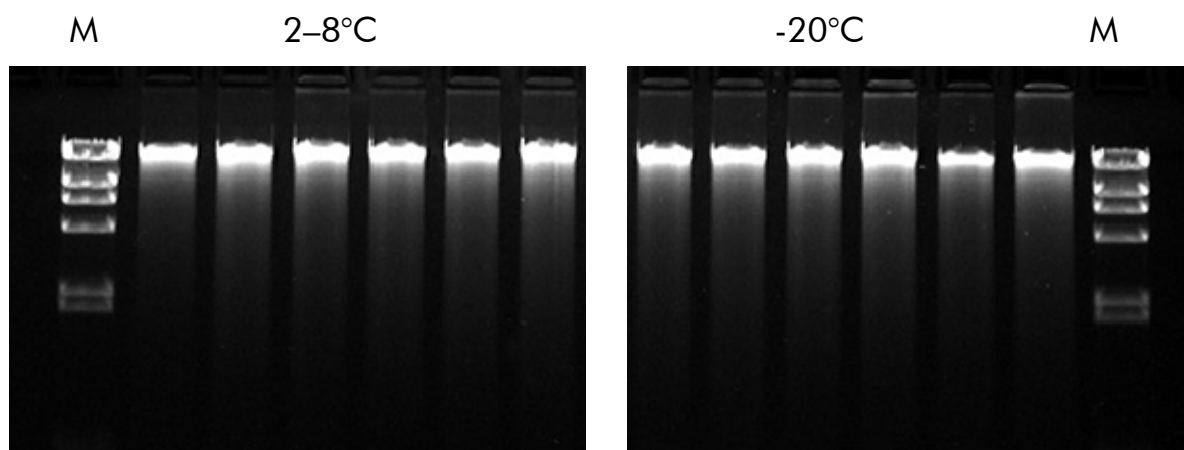


Figura 6. Estabilidad a largo plazo de ADN aislado y purificado con columnas de centrifugación QIAamp Mini. El ADN se purificó con el kit QIAamp DNA Blood Mini, se eluyó en 200 μ l de solución tampón AE y se conservó a una temperatura entre 2 °C y 8 °C o a -20 °C durante 8 años. Las muestras de ADN se analizaron en un gel de agarosa teñido con bromuro de etidio. **M:** marcador.

Símbolos

	Contiene suficientes reactivos para <N> preparaciones de muestras
	Fecha de caducidad
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
	A su recepción
	Abrir en el momento de la entrega; conservar las columnas de centrifugación QIAamp Mini a 2–8 °C
	Número de referencia
	Número de lote
	Número de material
	Componentes
	Contiene
	Número
	Volumen
	Limitación de temperatura
	Fabricante
	Anotar la fecha actual tras añadir etanol al frasco
	Añadir

LYOPH	Liofilizado
RCNS	Reconstituir en
EtOH	Etanol
GuHCl	Clorhidrato de guanidina
SUBT	Subtilisina
➡	Dirige a
	Consultar instrucciones de uso
	Nota importante

Bibliografía

QIAGEN mantiene online una extensa base de datos actualizada de publicaciones científicas en las que se utilizan los productos de QIAGEN. Las exhaustivas opciones de búsqueda permiten al usuario encontrar los artículos que necesita, ya sea mediante una búsqueda sencilla con una palabra clave o especificando la aplicación, el área de investigación, el título, etc.

Para obtener una lista bibliográfica completa, visite la base de datos bibliográfica online de QIAGEN en www.qiagen.com/RefDB/search.asp o póngase en contacto con el Servicio Técnico de QIAGEN o con su distribuidor local.

Información de contacto

En QIAGEN nos enorgullecemos de la calidad y disponibilidad de nuestra asistencia técnica. En nuestros departamentos de Servicio Técnico trabajan científicos expertos con amplia experiencia en los aspectos prácticos y teóricos de las tecnologías de preparación de muestras y ensayos de biología molecular y en el uso de los productos de QIAGEN. Si tiene alguna duda o experimenta alguna dificultad con el kit QIAamp DSP DNA Blood Mini o con productos de QIAGEN en general, no dude en ponerse en contacto con nosotros.

Los clientes de QIAGEN son una valiosa fuente de información sobre los usos avanzados o especializados de nuestros productos. Esta información es de utilidad para otros científicos además de para los investigadores de QIAGEN. Por este motivo, le animamos a ponerse en contacto con nosotros si tiene cualquier sugerencia sobre el rendimiento de nuestros productos o sobre nuevas aplicaciones y técnicas.

Para recibir asistencia técnica y solicitar más información, consulte nuestro Centro de Asistencia Técnica en www.qiagen.com/Support o póngase en contacto telefónico con uno de los departamentos de Servicio Técnico de QIAGEN o distribuidores locales (véase la contraportada o consulte www.qiagen.com).

QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden, Alemania

Información para pedidos

Producto	Índice	Nº de referencia
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	Para 50 preparaciones de ADN: Columnas de centrifugación QIAamp Mini, conectores VacConnector, proteasa QIAGEN, reactivos, soluciones tampón y tubos de recogida	61104
Accesorios		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold*	Colector de vacío para el procesamiento de 1 a 24 columnas de centrifugación: colector de vacío QIAvac 24 Plus, conexiones Luer, acoplamientos rápidos	19413
Vacuum Pump*	Bomba de vacío universal	84020

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

* Para el uso con protocolos de vacío.

Marcas comerciales: QIAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, artus®, Pyrosequencing® (QIAGEN Group); ABI PRISM®, BigDye™ (Life Technologies Corporation); BD™, Vacutainer® (Becton, Dickinson and Company); Bio-One®, Vacuette® (Greiner Bio-One); Dynal®, AllSet+™ (Dynal Biotech); Eppendorf® (Eppendorf AG); LightCycler® (Roche Group); Monovette®, Sarstedt® (Sarstedt AG & Co.). Incluso en aquellos casos en los que no se indica de manera explícita, no debe asumirse que las marcas comerciales, nombres registrados, etc., no están protegidos por la ley.

Acuerdo de Licencia Limitada para el kit QIAamp DSP DNA Blood Mini

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

1. El producto puede utilizarse únicamente conforme a los protocolos suministrados con el producto y a este manual y para su uso exclusivo con los componentes incluidos en el kit. QIAGEN no ofrece licencia alguna bajo ninguna de sus propiedades intelectuales para incorporar o utilizar los componentes contenidos en este kit con componentes no incluidos en el mismo, excepto según se describe en los protocolos proporcionados con el producto, en este manual y en los protocolos adicionales disponibles en www.qiagen.com. Algunos de estos protocolos adicionales han sido suministrados por usuarios de QIAGEN para usuarios de QIAGEN. Estos protocolos no han sido rigurosamente comprobados u optimizados por QIAGEN. QIAGEN ni los garantiza ni ofrece garantías de que no infrinjan los derechos de terceros.
2. Aparte de las licencias expresamente especificadas, QIAGEN no garantiza que este kit ni su(s) uso(s) no infrinja(n) los derechos de terceros.
3. Este kit y sus componentes tienen licencia para un solo uso y no pueden ser reutilizados, reacondicionados ni revendidos.
4. QIAGEN renuncia específicamente a cualquier otra licencia, explícita o implícita, distinta de las licencias expresamente especificadas.
5. El comprador y el usuario del kit aceptan no realizar ni permitir a otros realizar ningún paso que pueda conducir a acciones que hayan sido prohibidas en las especificaciones anteriores o que pueda facilitarlas. QIAGEN se reserva el derecho de emprender acciones legales ante cualquier tribunal para el cumplimiento de las prohibiciones especificadas en este Acuerdo de Licencia Limitada y recuperará todos los gastos derivados de la investigación y de los costes del juicio, incluidos los honorarios de abogacía, en cualquier acción emprendida para hacer cumplir este Acuerdo de licencia limitada o cualquier otro derecho de propiedad intelectual en relación con este kit y/o sus componentes.

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

© 2012 QIAGEN, reservados todos los derechos.

www.qiagen.com

Australia ■ techservice-au@qiagen.com

Austria ■ techservice-at@qiagen.com

Belgium ■ techservice-bnl@qiagen.com

Brazil ■ suportetecnico.brasil@qiagen.com

China ■ techservice-cn@qiagen.com

Denmark ■ techservice-nordic@qiagen.com

Finland ■ techservice-nordic@qiagen.com

France ■ techservice-fr@qiagen.com

Germany ■ techservice-de@qiagen.com

Hong Kong ■ techservice-hk@qiagen.com

India ■ techservice-india@qiagen.com

Ireland ■ techservice-uk@qiagen.com

Italy ■ techservice-it@qiagen.com

Japan ■ techservice-jp@qiagen.com

Korea (South) ■ techservice-kr@qiagen.com

Luxembourg ■ techservice-bnl@qiagen.com

Mexico ■ techservice-mx@qiagen.com

The Netherlands ■ techservice-bnl@qiagen.com

Norway ■ techservice-nordic@qiagen.com

Singapore ■ techservice-sg@qiagen.com

Sweden ■ techservice-nordic@qiagen.com

Switzerland ■ techservice-ch@qiagen.com

UK ■ techservice-uk@qiagen.com

