

## KIT DE EXTRACCIÓN DE ADN GENÓMICO DE ALTA CALIDAD A PARTIR DE MUESTRAS PRENATALES

### Consideraciones generales:

LEER TODO EL PROTOCOLO ANTES de empezar.

Para evitar errores en el uso de las soluciones del kit, se recomienda rotular los viales de cada solución en la tapa, a la llegada del mismo. Mantener las soluciones bien cerradas y en una zona bien ventilada. Este kit está indicado para su uso en diagnóstico in vitro, a partir de mínimas cantidades de líquido amniótico o vellosidad corial. El tiempo aproximado de procesamiento es de 90 minutos a partir de líquido amniótico y de 120 minutos en el caso de vellosidad corial.

### Contenidos del kit:

|                     | Kit 20 extracciones | Kit 50 extracciones |
|---------------------|---------------------|---------------------|
| <b>Solución A</b>   | 7 ml                | 16 ml               |
| <b>Solución B</b>   | 2.5 ml              | 6 ml                |
| <b>Solución C</b>   | 850 µl              | 2.5 ml              |
| <b>Solución D</b>   | 10 ml               | 22 ml               |
| <b>Solución E</b>   | 12 ml               | 25.5 ml             |
| <b>Solución F</b>   | 1 ml                | 3 ml                |
| <b>Tubos 2 ml</b>   | 20                  | 50                  |
| <b>Tubos 1.5 ml</b> | 20                  | 50                  |

### Equipamiento y material necesario pero no suministrado

Para la utilización del kit se requiere el siguiente material no suministrado:

- Pipetas y puntas (es altamente recomendable el uso de puntas con filtro para evitar contaminaciones cruzadas)

- Guantes desechables
- Bloque térmico para la lisis a 56°C
- Microcentrífuga
- Agitador vórtex

### Consideraciones técnicas

Este kit ha sido especialmente diseñado con el objetivo de obtener, de forma reproducible, ADN genómico de alta calidad para su uso posterior en procedimientos de diagnóstico genético.

En concreto, el ADN genómico obtenido (tanto en cantidad como en calidad) ha sido eficazmente testado en el diagnóstico de anomalías cromosómicas usando las tecnologías BoBs y *Constitutional Chip* (Perkin ElmerR).

En cantidades mínimas de partida de líquido amniótico (2ml) y de vellosidad corial (1-5mg) se obtiene un rendimiento alto. Así mismo, la calidad del ADN obtenido es muy alta con una movilidad electroforética alta indicando la baja contaminación y fragmentación del mismo. No obstante, se recomienda utilizar mayores volúmenes de muestra en la medida de lo posible, para asegurar resultados óptimos. Estas características genéricas de alta concentración, baja contaminación por proteínas y otras macromoléculas y mínima fragmentación, junto a la rapidez del procedimiento y mínima muestra de partida, hacen que el ADN genómico obtenido pueda ser usado directamente para estudios genéticos complejos (RFLP, *Southern Blot*, aCGH, etc.) o bien, conservado para un análisis posterior.

### Identificación de la sustancia o preparado

#### SOLUCIÓN A

No peligrosa

#### SOLUCIÓN B

No peligrosa

#### SOLUCIÓN C: Contiene acetato de sodio

##### 1. IDENTIFICACIÓN DE LOS PELIGROS

###### a. Identificación de la sustancia y preparado

- Clasificación de acuerdo con la regulación (EC) No 1272/2008 [EU-GHS/CLP]

Irritación ocular (Categoría 2)

No es una sustancia o preparado peligroso, de acuerdo con las directivas comunitarias 67/548/EEC o 1999/45/EC.

###### b. Pictograma



##### 2. MANIPULACIÓN Y ALMACENAMIENTO

###### a. Precauciones para una correcta manipulación

Evitar el contacto con piel y ojos. Evitar la inhalación de gases y vapores. Tomar las medidas normales en protección frente a incendios.

###### b. Almacenamiento

Almacenar en un lugar fresco. Conservar el envase herméticamente cerrado, en un lugar seco y bien ventilado.

##### 3. MEDIDAS EN CASO DE VERTIDO ACCIDENTAL

a. Equipo de protección del personal y procedimientos de emergencia

Utilizar un equipo de protección. Evitar respirar los gases o vapores que se desprendan.

Asegurarse de que hay una buena ventilación.

###### b. Información medioambiental

No permitir la entrada del producto en el sistema de alcantarillado.

###### c. Materiales y métodos de contención y limpieza

Absorber con un material inerte, y tirar a contenedores apropiados y cerrados para su eliminación.

#### SOLUCIÓN D: Contiene 2-Propanol

##### 1. IDENTIFICACIÓN DE LOS PELIGROS

###### a. Identificación de la sustancia y preparado

- Clasificación de acuerdo con la regulación (EC) No 1272/2008 [EU-GHS/CLP]

Líquidos inflamables (Categoría 2)

Irritación ocular (Categoría 2)

Toxicidad específica en determinados órganos – exposición

única.

- Clasificación de acuerdo con las directivas de la UE 67/548/EEC o 1999/45/EC.

Fácilmente inflamable e irritante. La inhalación de los vapores puede provocar somnolencia y vértigo.

###### b. Pictograma



##### 2. MANIPULACIÓN Y ALMACENAMIENTO

###### a. Precauciones para una correcta manipulación

Evítese el contacto con los ojos y la piel. Evitar la inhalación de vapor o neblina.

Conservar alejado de toda llama o fuente de chispas - No fumar. Tomar medidas para impedir la acumulación de descargas electrostáticas.

###### b. Protección de la piel

Manipular con guantes. Los guantes deben ser inspeccionados antes de su uso. Utilice la técnica correcta de quitarse los guantes (sin tocar la superficie exterior del guante) para evitar el contacto de la piel con este producto. Deseche los guantes contaminados después de su uso, de conformidad con las leyes aplicables y buenas prácticas de laboratorio. Lavar y secar las manos.

##### 3. MEDIDAS EN CASO DE VERTIDO ACCIDENTAL

a. Equipo de seguridad del personal y procedimiento de emergencia.

Utilícese equipo de protección individual. Evitar respirar los vapores, la neblina o el gas. Asegúrese una ventilación apropiada. Retirar todas las fuentes de ignición. Evacuar el personal a zonas seguras. Tener cuidado con los vapores que se acumulan formando así, concentraciones explosivas. Los vapores pueden acumularse en las zonas inferiores.

###### b. Información medioambiental

Impedir nuevos escapes o derrames si puede hacerse sin riesgos. No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado.

#### SOLUCIÓN E

No peligrosa

#### SOLUCIÓN F

No peligrosa

### Condiciones de almacenamiento

Conservar las botellas, bien cerradas, en lugar ventilado. Todas las soluciones se pueden almacenar a temperatura ambiente (15-25°C). Si la temperatura es superior a 25°C se recomienda almacenar, al menos las soluciones A y C en un lugar refrigerado (2-8°C). En este caso puede aparecer un precipitado blanco en la solución A.

Si se han conservado las soluciones en frío, éstas deberán ser homogeneizadas y atemperadas a temperatura ambiente antes de su uso, especialmente la solución A para disolver el precipitado.

Todas las soluciones son estables durante 1 año cuando se almacenan a temperatura ambiente (15-25 ° C), siempre y cuando no se exceda la fecha de caducidad del kit (ver pegatina en la caja). Cuando se conserva a 4°C, el kit es estable más de un año sin disminución de la calidad.

### Recomendaciones del protocolo

- Muestra

La extracción puede hacerse a partir de líquido amniótico fresco o previamente cultivado; así como a partir de vellosidad corial fresca o previamente cultivada.

Aunque la extracción se haga a partir de un volumen mayor de líquido amniótico no es necesario aumentar el volumen de las soluciones, basta con repetir los pasos 1 a 3 hasta que toda la muestra haya sido centrifugada.

- Soluciones

Homogenizar suavemente cada solución antes de usar.

- Secado

Es importante no excederse en el secado final del pellet obtenido, ya que podría dificultar la solubilización del ADN. Añadir la solución F cuando el pellet empiece a secarse.

### Cantidad y Calidad del ADN

#### Concentración

Para obtener valores de concentración reales y fiables, se recomienda utilizar métodos fluorimétricos, especialmente si no se ha tratado la muestra con RNasa, ya que trazas de ARN pueden sobre-cuantificar la concentración de la muestra

#### Ratios 260/230 y 260/280

La calidad del ADN obtenido se puede determinar basándose en los ratios 260/230 y 260/280, no obstante, con concentraciones muy bajas de ADN o con trazas de ARN, los ratios pueden variar sin que ello indique una menor calidad del ADN.

## HIGH QUALITY GENOMIC DNA EXTRACTION KIT FROM PRENATAL SAMPLES

### General instructions:

To ensure proper use and handling, please, READ THE ENTIRE MANUA BEFORE using the Kit.

Labelling the top of each vial upon arrival of the kit is highly recommended to avoid mistakes.

This DNA Kit has been designed for in vitro diagnostic use, from minimal amounts of amniotic fluid or chorionic villi.

The approximate processing time is 90 minutes (for amniotic fluid samples), and 120 minutes (for chorionic villi samples).

### Kit contents

|                     | 20 extractions kit | 50 extractions kit |
|---------------------|--------------------|--------------------|
| <b>Solution A</b>   | 7 ml               | 16 ml              |
| <b>Solution B</b>   | 2.5ml              | 6 ml               |
| <b>Solution C</b>   | 850µl              | 2.5 ml             |
| <b>Solution D</b>   | 10 ml              | 22 ml              |
| <b>Solution E</b>   | 12 ml              | 25.5 ml            |
| <b>Solution F</b>   | 1 ml               | 3 ml               |
| <b>2 ml tubes</b>   | 20                 | 50                 |
| <b>1.5 ml tubes</b> | 20                 | 50                 |

### Equipment and materials required but not supplied

The following equipment and materials are required:

- Pipets and pipet tips (pipet tips with aerosol barriers are strongly recommended to prevent cross-contamination)
- Disposable gloves
- Heating block for lisis of samples at 56°C
- Microcentrifuge
- Vortexer

### Technical considerations

This Kit was specially designed with the aim of obtaining, in a reproducible manner, high quality genomic DNA for subsequent uses in genetic diagnostic procedures.

Purified genomic DNA has been successfully tested specifically, both in quality and in quantity, for the diagnosis of chromosomal anomalies using prenatal BoBs™ and Constitutional Chip technologies (Perkin Elmer™). Even with minimal amounts of starting material (2ml of amniotic fluid or 1-5mg of chorionic villi) high yield can be obtained. Likewise, the quality of the obtained DNA is very high and with a high electrophoretic mobility showing very low contamination and fragmentation rate. However, we recommend using larger volume when possible, to ensure optimal results. The following features: high yield, low contamination by protein and another macromolecules, minimal fragmentation and short processing time, and low amounts of starting required allow purified genomic DNA to be used downstream even for complex genetic studies (RFLP, Southern Blot, aCGH, etc.) either immediately or for later use.

### Identification of the substance/mixture

#### SOLUTION A


Non Hazardous

#### SOLUTION B

Non Hazardous

**SOLUTION C:** Contains sodium acetate solution

#### 1. HAZARDS IDENTIFICATION

- Classification of the substance or mixture  
Classification according to Regulation (EC) No 1272/2008  
Eye irritation (Category 2)  
Not a hazardous substance or mixture according to EC- directives 67/548/EEC or 1999/45/EC.
- Label elements 

#### 2. HANDLING

a. Precautions for safe handling  
Avoid contact with skin and eyes. Avoid inhalation of vapour or mist.  
Normal measures for preventive fire protection.

#### 3. ACCIDENTAL RELEASE MEASURES

- Personal precautions, protective equipment and emergency procedures  
Use personal protective equipment. Avoid breathing vapors, mist or gas.  
Ensure adequate ventilation.
- Environmental precautions  
Do not let product enter drains.
- Methods and materials for containment and cleaning up  
Soak up with inert absorbent material and dispose of as hazardous waste.  
Keep in suitable, closed containers for disposal.

**SOLUTION D:** Contains 2-Propanol

#### 1. HAZARDS IDENTIFICATION

- Classification of the substance or mixture  
Classification according to Regulation (EC) No 1272/2008  
Flammable liquids (Category 2)  
Eye irritation (Category 2)  
Specific target organ toxicity - single exposure (Category 3)  
Classification according to EU Directives 67/548/EEC or 1999/45/EC  
Highly flammable. Irritating to eyes. Vapours may cause drowsiness and dizziness.

- Label elements 

#### 2. HANDLING

a. Precautions for safe handling  
Avoid contact with skin and eyes. Avoid inhalation of vapour or mist.  
Keep away from sources of ignition - No smoking. Take measures to prevent the build up of electrostatic charge.

- Skin protection

Handle with gloves. Gloves must be inspected prior to use.  
Use proper glove removal technique (without touching glove's outer surface) to avoid skin contact with this product. Dispose of contaminated gloves after use in accordance with applicable laws and good laboratory practices.  
Wash and dry hands.

#### 3. ACCIDENTAL RELEASE MEASURES

a. Personal precautions, protective equipment and emergency procedures. Use personal protective equipment. Avoid breathing vapors, mist or gas.

Ensure adequate ventilation. Remove all sources of ignition.

Evacuate personnel to safe areas. Beware of vapours accumulating to form explosive concentrations.

Vapours can accumulate in low areas.

- Environmental precautions

Prevent further leakage or spillage if safe to do so. Do not let product enter drains.

#### SOLUTION E

Non Hazardous

#### SOLUTION F

Non Hazardous

### Storage

Keep container tightly closed in a well-ventilated place.

All buffers can be stored at room temperature (15-25°C). If temperature exceeds 25°C, is recommended to storage at least solution A and C, in a cool place (2-8°C). White precipitates can be formed in solution A when stored in a cool place.

Remember, if stored at (2-8°C) solutions should be homogenized and equilibrated to room temperature before use, especially solution A to dissolve white precipitates formed).

All buffers are stable for at least 1 year when stored at room temperature (15-25°C) but only until the kit expiration date (see box label). If stored at 4°C the kit is stable for more than 1 year and quality does not decrease.

### Procedure recommendations

- Samples

The extraction procedure can be performed from fresh or cultured amniotic fluid and from fresh or cultured chorionic villi.

If extraction starts with a larger amount of amniotic fluid it is not necessary to increase the solutions volume, just repeat steps 1 and 2 until all amniotic fluid has been centrifuged.

- Solutions

Gently homogenize every solution before use, especially solutions A and C if stored in a cool place.

- Dry

It is recommended not overdrying the final pellet in order to avoid a difficult DNA solubilization. Add F solution when the pellet starts drying.

### DNA Quantity and quality

#### Concentration

Fluorometric based method should be used in order to get accurate and reliable concentration readings, particularly when no RNase treatment has been done, as traces of RNA may over-quantify the sample concentration.

#### Ratio 260/230 and 260/280

DNA quality can be determined based on 260/230 and 260/280 ratios, however, with small DNA amount or RNA traces ratios may change without affecting DNA quality.