



Clean Cell Free DNA Kit

Instrucciones de uso

V. 2 DE FEBRERO DE 2024



REF CCF-D0384



CleanNA, Coenecoop 75, 2741 PH, Waddinxveen, Países Bajos

Para uso diagnóstico in vitro.

La información en este documento está sujeta a cambios sin previo aviso. Visite www.cleanna.com/download-ccf con regularidad para comprobar las actualizaciones de este documento.

Descargo de responsabilidad

CleanNA no asume la responsabilidad de garantía alguna con respecto a este documento, expresa o implícita, incluyendo aunque de forma no limitativa las de comerciabilidad o idoneidad para un propósito particular. En la máxima medida permitida por la ley, CleanNA no será responsable en ninguna circunstancia, sea por contrato, negligencia, garantía o en virtud de cualquier otro instrumento o fundamento, de daños especiales, incidentales, indirectos, punitivos, múltiples o derivados en relación con, o como consecuencia de, este documento, incluyendo, aunque de forma no limitativa, el uso del mismo, sea o no previsible e independientemente de si se advierte a CleanNA de la posibilidad de tales daños.

Marcas comerciales

Las marcas comerciales mencionadas aquí son propiedad de sus respectivos propietarios.

Contacto

Coenecoop 75 | 2741 PH Waddinxveen | The Netherlands | T: +31 (0) 182 22 33 50
F: +31 (0) 182 22 33 98 | info@cleanna.com | www.cleanna.com

Contenido

| | |
|---|----|
| Uso previsto..... | 4 |
| Usuario previsto..... | 4 |
| Introducción y principio | 4 |
| Vista general esquemática..... | 5 |
| Materiales proporcionados | 6 |
| Envío, almacenamiento y manejo de los reactivos..... | 6 |
| Advertencias | 7 |
| Precauciones | 8 |
| Control de calidad..... | 10 |
| Limitaciones | 10 |
| Recogida y almacenamiento de muestras..... | 11 |
| Materiales y equipos a suministrar por el usuario..... | 12 |
| Preparación de los reactivos | 13 |
| Clean Cell Free DNA Kit, protocolo de un solo tubo..... | 14 |
| Clean Cell Free DNA Kit, protocolo de placa de 48 pocillos..... | 17 |
| Guía de solución de problemas | 21 |
| Símbolos | 23 |
| Información de pedido..... | 24 |
| Historia de revisión del documento | 24 |
| Notas | 25 |

Uso previsto

El uso previsto del dispositivo es extraer ADN circulante libre de células (cfDNA) de plasma humano con suficiente pureza para su uso en procedimientos de detección posteriores basados en el principio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Usuario previsto

Los usuarios previstos son empleados profesionales de laboratorio con formación en técnicas de biología molecular.

Introducción y principio

El Clean Cell Free DNA Kit está diseñado para aislar ADN libre de células de plasma humano. Todo el procedimiento permite un procesamiento manual y automático de muestras.

Combinando nuestro sistema de tampón propio con la conveniencia de nuestras partículas magnéticas CleanNA CCF, se elimina la necesidad de pasos de vacío o de uso de embudos en todo el procedimiento. Por ello, el Clean Cell Free DNA Kit proporciona un proceso simple de 4 pasos: lisis, unión, lavado y elución.

Nuestro CleanNA Particles CCF proporciona una elevada capacidad de unión y, combinado con el sistema de tampón, tiene por objeto fragmentos de ADN pequeños (120-400 bp). Esta combinación minimiza el riesgo de contaminación con ADN genómico. La elevada capacidad de unión de CleanNA particles CCF reduce la cantidad de partículas requeridas durante los pasos de unión, reduciendo de este modo el volumen de elución. Esto hace posible que el ADN libre de células de 1 ml de plasma se eluya en apenas 30-60 µl.

El ADN libre de células aislado está listo para su uso en (q)PCR como aplicación posterior.

Vista general esquemática

El tampón de lisis con formulación única libera el ADN circulante de las proteínas y de las vesículas unidas al ADN, al tiempo que se inactivan las DNasas. El ADN se aísla del lisado en un paso uniéndolo a la superficie de partículas magnéticas. Las partículas magnéticas de CleanNA se separan posteriormente del lisado utilizando un dispositivo de separación magnética. Siguiendo unos pocos pasos de lavado para eliminar los contaminantes traza, el ADN purificado se eluye de las partículas de CleanNA utilizando un Elution Buffer.

Añadir cuentas

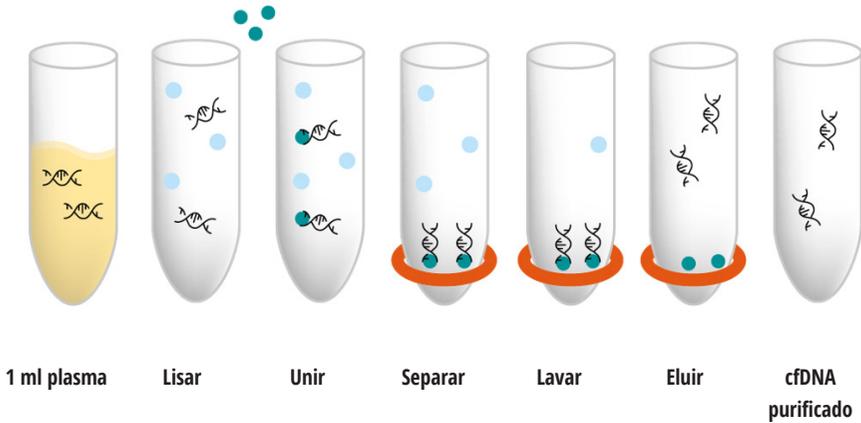


Figura 1: Vista general esquemática del procedimiento del Clean Cell Free DNA Kit.

Materiales proporcionados

Componentes del kit:

| Componente | Volumen CCF-D0384 |
|-----------------------|-------------------|
| CCF Lysis | 30 ml |
| CCF Binding | 430 ml |
| CCF Wash 1 | 2 x 225 ml |
| CCF Wash 2 | 2 x 45 ml |
| Elution Buffer | 100 ml |
| Proteinase K Solution | 6,5 ml |
| CleanNA Particles CCF | 4,3 ml |

Envío, almacenamiento y manejo de los reactivos

El envío del Clean Cell Free DNA debe realizarse a temperatura ambiente (15-25 °C). No congelar los componentes del Clean Cell Free DNA Kit.

| Componente | Almacenamiento |
|-----------------------|---|
| CCF Lysis* | Temperatura ambiente (15-25 °C) |
| CCF Binding | Temperatura ambiente (15-25 °C) |
| CCF Wash 1 | Temperatura ambiente (15-25 °C) |
| CCF Wash 2 | Temperatura ambiente (15-25 °C) |
| Elution Buffer | Temperatura ambiente (15-25 °C) |
| Proteinase K Solution | Temperatura ambiente (15-25 °C) (para almacenamiento > 12 meses, guardar a 2-8 °C) |
| CleanNA Particles CCF | 2-8 °C |

* Si el tampón de lisis muestra un precipitado blanco en el frasco, precalentar el tampón a 37 °C para disolver el precipitado.

Estabilidad durante el uso: Después de abrir el Clean Cell Free DNA Kit, el producto puede utilizarse con seguridad durante un periodo de 19 días.

No utilizar el Clean Cell Free DNA Kit después de la fecha de caducidad de la etiqueta del envase exterior.

Advertencias

Lea las instrucciones cuidadosamente antes de utilizar el kit.

No mezcle varios número de LOTE de kit.

Asegúrese de que los frascos del kit no están dañados y que no hay fugas de líquido de los frascos. No utilizar un kit dañado.

El número de LOTE en el envase de la caja de CleanNA Particles CCF es distinto del número de LOTE en el frasco de CleanNA Particles CCF. El número de LOTE en la caja coincide con el número de LOTE de todo el kit y el de los frascos es específicamente para las partículas. Dado que CleanNA Particles CCF se guarda a una temperatura distinta, asegúrese de que el número de LOTE en el envase de la caja de las partículas coincide con el número de LOTE del kit antes de su uso.

Cualquier incidente grave producido en relación con el dispositivo debe comunicarse al fabricante y a la autoridad competente del Estado Miembro del usuario y/o paciente.

Precauciones

Para toda la información de seguridad, consulte la hoja de datos de seguridad (SDS).
Solicita tu SDS a través de cleanna.com/sds-request.

CCF Binding



Líquido y vapor inflamables. Causa daño ocular grave. Nocivo por ingestión. Provoca irritación de la piel. Nocivo para organismos acuáticos con efectos duraderos. El contacto con ácidos libera un gas muy tóxico.



Mantener alejado del calor, superficies calientes, chispas, llama desnuda y otras fuentes de ignición. No fumar. Mantener el envase herméticamente cerrado. Lleve guantes protectores, indumentaria protectora, protección ocular y protección facial. Conecte a tierra y conecte envase y equipo receptor. Utilice equipos eléctricos/ de ventilación/iluminación/ intrínsecamente seguros a prueba de explosión. Utilizar herramientas que no suelten chispas. Tome medidas para prevenir descargas electrostáticas. Lavar exhaustivamente todas las partes corporales expuestas tras la manipulación. No coma, beba o fume cuando utilice este producto. Impida su liberación en el medio ambiente.



EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con cuidado con agua durante varios minutos. Retirar lentes de contacto si están presentes y es fácil hacerlo. Siga enjuagando.

Llame inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico/profesional de primeros auxilios.

En caso de incendio: Utilice espuma resistente al alcohol o espuma de proteína normal para la extinción.

EN CASO DE INGESTIÓN: Llame a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico/profesional de primeros auxilios si no se siente bien.

EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con jabón y agua abundante.

EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente toda la ropa contaminada. Enjuagar la piel con agua [o ducha].

Enjuagar la boca.

Si se produce irritación en la piel: Busque consejo o atención médica.

Quítese la ropa contaminada y lávela antes de volver a utilizarla.

CCF Lysis



Nocivo para organismos acuáticos. Causa daño ocular grave. Provoca irritación de la piel.

Lleve guantes protectores, indumentaria protectora, protección ocular y protección facial. Impida su liberación en el medio ambiente.

EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con cuidado con agua durante varios minutos. Retirar lentes de contacto si están presentes y es fácil hacerlo. Siga enjuagando.

Llame inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o a un médico.

Quítese la ropa contaminada y lávela antes de volver a utilizarla.

EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con jabón y agua abundante.

Si se produce irritación en la piel: Busque consejo o atención médica.

CCF Wash 1



Nocivo por ingestión. Provoca quemaduras severas en la piel y daño ocular. Nocivo para organismos acuáticos con efectos duraderos. El contacto con ácidos libera un gas muy tóxico.



No respirar neblinas/vapores/pulverizaciones. Lavar exhaustivamente todas las partes corporales expuestas tras la manipulación. Lleve guantes protectores, indumentaria protectora, protección ocular y protección facial. No coma, beba o fume cuando utilice este producto. Impida su liberación en el medio ambiente.

EN CASO DE INGESTIÓN: Enjuagar la boca. NO inducir el vómito.

EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente toda la ropa contaminada. Enjuagar la piel con agua [o ducha].

EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con cuidado con agua durante varios minutos. Retirar lentes de contacto si están presentes y es fácil hacerlo. Siga enjuagando. Llame inmediatamente a un POISON CENTER/CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico/profesional de primeros auxilios.

Lavar la ropa contaminada antes de volver a utilizarla.

EN CASO DE INGESTIÓN: Llame a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico/profesional de primeros auxilios si no se siente bien.

EN CASO DE INHALACIÓN: Retire a la persona a un lugar bien ventilado y mantenerlo en una posición confortable para respirar.

Proteinase K Solution



Puede causar alergia o síntomas de asma o dificultad respiratoria si se inhala.

Evite respirar neblinas/vapores/pulverizaciones. En caso de una ventilación inadecuada, lleve protección respiratoria.

EN CASO DE INHALACIÓN: Lleve al accidentado a un lugar bien ventilado y mantener en una posición de descanso en una posición confortable para respirar.

Si experimenta síntomas respiratorios: Llame a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o a un médico.

Nota: Para una eliminación segura, consulte su normativa local de residuos.

Control de calidad

CleanNA produce cada lote del Clean Cell Free DNA Kit conforme a protocolos predeterminados y validados en el sistema de gestión de calidad (QMS). Además, se lleva a cabo una comprobación de calidad tras la producción de cada lote para asegurar una calidad consistente del producto. El QMS de CleanNA está certificado conforme a EN-ISO 13485.

Limitaciones

El rendimiento del Clean Cell Free DNA Kit se ha establecido con plasma humano conservado en los siguientes anticoagulantes:

- EDTA
- Citrato-fosfato-dextrosa (CPD)
- Citrato sódico

En la evaluación de rendimiento se ha incluido una serie de donantes de plasma individuales. El rendimiento del Clean Cell Free DNA Kit no se ha ensayado con plasma hemolisado.

Es responsabilidad del usuario validar el rendimiento del material de muestra no utilizado en la evaluación del rendimiento.

Recomendamos el uso de un control de extracción interno por muestra para identificar resultados de falso negativo en métodos de detección posteriores, causados por agentes inhibidores potencialmente desconocidos en muestras individuales de plasma de pacientes.

El rendimiento del kit se ha establecido con métodos de detección posteriores basados en la reacción en cadena de la polimerasa. Es responsabilidad del usuario validar el rendimiento del dispositivo cuando se utiliza con otros métodos de detección posteriores.

Los resultados diagnósticos generados tras utilizar el Clean Cell Free DNA Kit deben interpretarse junto con otros resultados clínicos o de laboratorio.

Recogida y almacenamiento de muestras

Plasma

El procedimiento de aislamiento de ácidos nucleicos debe comenzar inmediatamente después de la donación de sangre y de la separación del plasma*. Si no es posible, el plasma puede guardarse durante un máximo de 24 horas a 2-8 °C a corto plazo, y para un almacenamiento más prolongado, el plasma puede guardarse durante un máximo de 4 semanas a -20 °C o a -80 °C. Descongele las muestras de plasma a temperatura ambiente antes de utilizar el plasma para la extracción de ADN libre de células.

 **Nota:** Las muestras de origen humano son potencialmente infecciosas. Tome medidas adecuadas mientras las manipula.

* Para la preparación de plasma antes de aislar ácidos nucleicos libres de células a partir de muestras de sangre, recomendamos el siguiente procedimiento:

1. Centrifugue los tubos de sangre entera durante 10 minutos a 3.000 rpm (1.900 x g) a 4 °C.
2. Aspire cuidadosamente el sobrenadante de plasma, sin tocar las células sanguíneas.
3. Transfiera el sobrenadante del plasma a un tubo de centrifuga nuevo.
4. Para asegurarse de que el plasma está libre de células sanguíneas con núcleo, repita los pasos 1 a 3 para una segunda preparación.
5. En esta fase puede utilizarse el plasma para la extracción de ácido nucleico.

Lleve a cabo los pasos 6-9 a continuación para eliminar también la cromatina intacta de las células sanguíneas rotas del plasma. Observe que esto también puede eliminar una pequeña cantidad de cfDNA presente en vehículos extracelulares más grandes. Si no, siga con el paso 10.

6. Centrifugue las muestras de plasma a 16.000 x g a 4 °C utilizando un rotor de ángulo fijo.
7. Retire con cuidado el sobrenadante de plasma, asegurándose de no tocar el sedimento.
8. Transferir el plasma a un tubo nuevo.
9. Ahora puede utilizarse el plasma para la extracción de ácido nucleico.
10. Guardar el plasma según las instrucciones anteriores.

Materiales y equipos a suministrar por el usuario

Para aislamiento en tubos individuales

Materiales y reactivos a suministrar por el usuario para el protocolo de tubos para hasta 1 ml de muestra:

- Etanol absoluto reciente
- Dispositivo de separación magnética para tubos de 1,5/2,0 ml
- Vortex
- Agitador o agitador basculante
- Incubador que pueda ponerse a 60 °C
- Tubos de microcentrifuga de 1,5 ml
- Tubos de microcentrifuga de 15 ml

Para aislamiento utilizando el formato de placa de 48 pocillos

Materiales y reactivos a suministrar por el usuario para el protocolo de placas para muestras de hasta 1 ml:

- Etanol absoluto reciente
- Placa magnética de 48 pocillos, por ejemplo Alpaqua CatNo# A000530
- Vortex
- Agitador o agitador basculante
- Incubador que pueda ponerse a 60 °C
- Placas de 48 pocillos profundos, 3,5 ml; por ejemplo Wuxi NEST Biotechnology N° cat. 504102
- Placas de 96 pocillos profundos o placas de PCR de 96 pocillos

Preparación de los reactivos

CCF Wash 2

Diluir CCF Wash 2 con etanol absoluto nuevo como sigue y guardar a temperatura ambiente.

| Kit | Debe añadirse etanol absoluto |
|-----------|-------------------------------|
| CCF-D0384 | 180 ml |

Clean Cell Free DNA Kit, protocolo de un solo tubo

Antes de empezar:

- Poner incubador a 60 °C.
- Asegúrese de que CCF Lysis está completamente disuelto. Si no, precalentar a 37 °C.
- Agitar o vortexar CleanNA Particles CCF para resuspender completamente las partículas antes de su uso.
- Prepare CCF Wash 2 siguiendo las instrucciones de la sección Preparación de reactivos de la página 13.

Protocolo:

1. Añadir hasta 1 ml de muestra de plasma a un tubo de centrifuga de 15 ml (no suministrado).

 **Nota:** No supere el volumen de muestra máximo, esto reducirá la eficiencia del procedimiento de extracción.

2. Si el volumen de la muestra es inferior a 1 ml, lleve el volumen de muestra a 1 ml con Elution Buffer (proporcionado con este kit).
3. Añadir 15 µl de Proteinase K Solution.
4. Añadir 67 µl de CCF Lysis.
5. Vortexar a máxima velocidad o pipetear arriba y abajo para mezclar completamente.
6. Incubar a 60 °C durante 20 minutos. Mezclar por inversión o agitación cada 10 minutos.
7. Incubar a temperatura ambiente durante 10 minutos.

 **Nota:** Este paso de incubación es crucial para dejar que la temperatura de la muestra baje y obtener la unión del ADN al CleanNA Particles CCF más eficiente.

8. Añadir 1 ml de CCF Binding. Vortexar a máxima velocidad durante 30 segundos o pipetear arriba y abajo para mezclar completamente.
9. Añadir 10 µl de CleanNA Particles CCF. Invertir la muestra 10 veces o pipetear arriba y abajo para mezclar.

 **Nota:** Agitar o vortexar CleanNA Particles CCF para resuspender completamente las partículas antes de su uso.

10. Incubar 10 minutos a temperatura ambiente con mezcla continua. La muestra debe mezclarse en todo el periodo de incubación de 10 minutos mediante agitación o balanceo.

 **Nota:** No vortexar a velocidades elevadas ya que esto producirá espuma, dando lugar a un menor rendimiento. La velocidad de mezcla debe ajustarse continuamente para mantener las CleanNA Particles CCF resuspendidas en la solución.

11. Transferir 1 ml de la mezcla a un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml (no proporcionado).

12. Ponga el tubo en un dispositivo de separación magnética para magnetizar el CleanNA Particles CCF.
13. Incubar a temperatura ambiente hasta que CleanNA Particles CCF se separen completamente de la solución.

 **Nota:** Asegúrese de incubar hasta que todas las partículas se separen de la solución, la pérdida de cuentas puede dar lugar a un menor rendimiento.

14. Aspirar y desechar el sobrenadante aclarado.

 **Nota:** No toque o pipetee CleanNA Particles CCF. Esto puede reducir el rendimiento.

15. Transfiera la mezcla restante del paso 11 al tubo de microcentrífuga de 1,5 ml utilizado en los pasos anteriores.
16. Ponga el tubo en un dispositivo de separación magnética para magnetizar el CleanNA Particles CCF.
17. Incubar a temperatura ambiente hasta que CleanNA Particles CCF se separen completamente de la solución.

 **Nota:** Asegúrese de incubar hasta que todas las partículas se separen de la solución, la pérdida de cuentas puede dar lugar a un menor rendimiento.

18. Aspirar y desechar el sobrenadante aclarado.

 **Nota:** No toque o pipetee CleanNA Particles CCF. Esto puede reducir el rendimiento.

19. Retire el tubo que contiene CleanNA Particles CCF del dispositivo de separación magnética.
20. Añadir 500 µl de CCF Wash 1.
21. Resuspenda CleanNA Particles CCF vortexando durante 2 minutos o pipeteando arriba y abajo 20 veces.

 **Nota:** Para obtener una buena pureza, es crítica una resuspensión completa de CleanNA Particles CCF.

22. Ponga el tubo en el dispositivo de separación magnética para magnetizar el CleanNA Particles CCF.
23. Incubar a temperatura ambiente hasta que CleanNA Particles CCF se separen completamente de la solución.

 **Nota:** Asegúrese de incubar hasta que todas las partículas se separen de la solución, la pérdida de cuentas puede dar lugar a un menor rendimiento.

24. Aspirar y desechar el sobrenadante aclarado.

 **Nota:** No toque o pipetee CleanNA Particles CCF. Esto puede reducir el rendimiento.

25. Repita los pasos 19-24 para un segundo paso de lavado “CCF Wash 1”.
26. Retire el tubo que contiene CleanNA Particles CCF del dispositivo de separación magnética.
27. Añadir 500 µl de CCF Wash 2.

 **Nota:** CCF Wash 2 debe diluirse con etanol absoluto antes de su uso. Ver la página 13 para obtener instrucciones.

28. Resuspenda CleanNA Particles CCF vortexando durante 2 minutos o pipeteando arriba y abajo 20 veces.
29. Ponga el tubo en el dispositivo de separación magnética para magnetizar CleanNA Particles CCF.
30. Incubar a temperatura ambiente hasta que CleanNA Particles CCF se separen completamente de la solución.

 **Nota:** Asegúrese de incubar hasta que todas las partículas se separen de la solución, la pérdida de cuentas puede dar lugar a un menor rendimiento.

31. Aspirar y desechar el sobrenadante aclarado.

 **Nota:** No toque o pipetee CleanNA Particles CCF. Esto puede reducir el rendimiento.

32. Repita los pasos 26-31 para una segunda paso de lavado "CCF Wash 2".
33. Retire el tubo del dispositivo de separación magnética durante aproximadamente 30 segundos.
34. Ponga el tubo en el dispositivo de separación magnética para magnetizar el CleanNA Particles CCF.

 **Nota:** Asegúrese de incubar hasta que todas las partículas se separen de la solución, la pérdida de cuentas puede dar lugar a un menor rendimiento.

35. aspire y descarte el CCF Wash 2 residual.

 **Nota:** No toque o pipetee CleanNA Particles CCF. Esto puede reducir el rendimiento.

36. Deje el tubo abierto en el dispositivo de separación magnética durante 25 minutos para secar el CleanNA Particles CCF.
37. Retire el tubo que contiene CleanNA Particles CCF del dispositivo de separación magnética.
38. Añadir 30-60 µl de Elution Buffer. Resuspenda CleanNA Particles CCF vortexando o pipeteando arriba y abajo 20 veces.

 **Nota:** Asegúrese de que el tampón de elución cubre el CleanNA Particles CCF. Volúmenes de elución demasiado pequeños pueden reducir el rendimiento. Volúmenes demasiado grandes reducen la concentración del ADN en el eluato.

39. Incubar a temperatura ambiente durante 5 minutos mientras se utiliza el vortex constantemente.
40. Ponga el tubo en el dispositivo de separación magnética para magnetizar el CleanNA Particles CCF.
41. Incubar a temperatura ambiente hasta que CleanNA Particles CCF se separen completamente de la solución.

 **Nota:** Asegúrese de incubar hasta que todas las partículas se separen de la solución, el arrastre de las cuentas puede causar inhibición durante la PCR posterior.

42. Transfiera el sobrenadante aclarado que contiene ADN purificado a un tubo de microcentrífuga limpio de 1,5 ml (no proporcionado).
43. Guardar los ácidos nucleicos libres de células extraídos a -20 °C.

Clean Cell Free DNA Kit, protocolo de placa de 48 pocillos

Antes de empezar:

- Poner un incubador a 60 °C.
- Asegúrese de que CCF Lysis está completamente disuelto. Si no, precalentar a 37 °C.
- Agitar o vortexar CleanNA Particles CCF para resuspender completamente las partículas antes de su uso.
- Preparar CCF Wash 2 siguiendo las instrucciones de la sección Preparación de reactivos de la página 13.

Protocolo:

1. Añadir hasta 1 ml de muestras de plasma/suero a una placa de 48 pocillos profundos (no proporcionada).

 **Nota:** No supere el volumen de muestra máximo, esto reducirá la eficiencia del procedimiento de extracción.

2. Si el volumen de la muestra es inferior a 1 ml, lleve el volumen de muestra a 1 ml con Elution Buffer (proporcionado con este kit).
3. Añadir 15 µl de Proteinase K Solution.
4. Añadir 67 µl de CCF Lysis y sellar la placa.
5. Vortexar a máxima velocidad o pipetear arriba y abajo para mezclar completamente.
6. Incubar a 60 °C durante 20 minutos. Mezclar por inversión o agitación cada 10 minutos.
7. Incubar a temperatura ambiente durante 10 minutos.

 **Nota:** Este paso de incubación es crucial para dejar que la temperatura de la muestra baje y obtener la unión del ADN al CleanNA Particles CCF más eficiente.

8. Añadir 1 ml de CCF Binding. Vortexar a máxima velocidad durante 30 segundos o pipetear arriba y abajo para mezclar completamente.
9. Añadir 10 µl de CleanNA Particles CCF. Invertir las muestras 10 veces o pipetear arriba y abajo para mezclar.

 **Nota:** Agitar o vortexar CleanNA Particles CCF para resuspender completamente las partículas antes de su uso.

10. Incubar 10 minutos a temperatura ambiente con mezcla continua. Las muestras deben mezclarse en todo el periodo de incubación de 10 minutos mediante agitación o balanceo.

 **Nota:** No vortexar a velocidades elevadas ya que esto producirá espuma, dando lugar a un menor rendimiento. La velocidad de mezcla debe ajustarse continuamente para mantener las CleanNA Particles CCF resuspendidas en la solución.

11. Poner la placa de 48 pocillos profundos en la placa magnética de 48 pocillos para magnetizar las CleanNA Particles CCF. Las partículas de cada pocillo se recogerán mediante los imanes de la parte inferior.
12. Incubar a temperatura ambiente hasta que CleanNA Particles CCF se separen completamente de la solución.
⚠ Nota: Asegúrese de incubar hasta que todas las partículas se separen de la solución, la pérdida de cuentas puede dar lugar a un menor rendimiento.
13. Aspirar y desechar el sobrenadante aclarado.
⚠ Nota: No toque o pipetee CleanNA Particles CCF. Esto puede reducir el rendimiento.
14. Retire la placa de 48 pocillos que contiene CleanNA Particles CCF del dispositivo de separación magnética.
15. Añadir 500 µl de CCF Wash 1.
16. Resuspenda CleanNA Particles CCF vortexando durante 2 minutos o pipeteando arriba y abajo 20 veces.
⚠ Nota: Para obtener una buena pureza, es crítica una resuspensión completa de CleanNA Particles CCF.
17. Transfiera las CleanNA Particles CCF resuspendidas a una nueva placa de 48 pocillos profundos (no proporcionada).
⚠ Nota: Siga trabajando en formato de 48 pocillos durante el resto del procedimiento.
18. Poner la placa de 48 pocillos profundos en la placa magnética de 48 pocillos para magnetizar las CleanNA Particles CCF.
19. Incubar a temperatura ambiente hasta que CleanNA Particles CCF se separen completamente de la solución.
⚠ Nota: Asegúrese de incubar hasta que todas las partículas se separen de la solución, la pérdida de cuentas puede dar lugar a un menor rendimiento.
20. Aspirar y desechar el sobrenadante aclarado.
⚠ Nota: No toque o pipetee CleanNA Particles CCF. Esto puede reducir el rendimiento.
21. Retire la placa de 48 pocillos que contiene CleanNA Particles CCF del dispositivo de separación magnética.
22. Añadir 500 µl de CCF Wash 1.
23. Resuspenda CleanNA Particles CCF vortexando durante 2 minutos o pipeteando arriba y abajo 20 veces.
⚠ Nota: Para obtener una buena pureza, es crítica una resuspensión completa de CleanNA Particles CCF.
24. Poner la placa de 48 pocillos profundos en la placa magnética de 48 pocillos para magnetizar las CleanNA Particles CCF.
25. Incubar a temperatura ambiente hasta que CleanNA Particles CCF se separen completamente de la solución.

Nota: Asegúrese de incubar hasta que todas las partículas se separan de la solución, la pérdida de cuentas puede dar lugar a un menor rendimiento.

26. Aspirar y desechar el sobrenadante aclarado.

Nota: No toque o pipetee CleanNA Particles CCF. Esto puede reducir el rendimiento.

27. Retire la placa de 48 pocillos que contiene CleanNA Particles CCF del dispositivo de separación magnética.

28. Añadir 500 µl de CCF Wash 2.

Nota: CCF Wash 2 debe diluirse con etanol absoluto antes de su uso. Ver la página 13 para obtener instrucciones.

29. Resuspenda CleanNA Particles CCF vortexando durante 2 minutos o pipeteando arriba y abajo 20 veces.

30. Poner la placa de 48 pocillos profundos en la placa magnética de 48 pocillos para magnetizar las CleanNA Particles CCF.

31. Incubar a temperatura ambiente hasta que CleanNA Particles CCF se separen completamente de la solución.

Nota: Asegúrese de incubar hasta que todas las partículas se separan de la solución, la pérdida de cuentas puede dar lugar a un menor rendimiento.

32. Aspirar y desechar el sobrenadante aclarado.

Nota: No toque o pipetee CleanNA Particles CCF. Esto puede reducir el rendimiento.

33. Repita los pasos 28-32 para un segundo paso de lavado "CCF Wash 2".

34. Retire la placa de 48 pocillos que contiene CleanNA Particles CCF del dispositivo de separación magnética.

35. Poner la placa de 48 pocillos profundos en la placa magnética de 48 pocillos para magnetizar las CleanNA Particles CCF.

Nota: Asegúrese de incubar hasta que todas las partículas se separan de la solución, la pérdida de cuentas puede dar lugar a un menor rendimiento.

36. Aspire y descarte el CCF Wash 2 residual.

Nota: No toque o pipetee CleanNA Particles CCF. Esto puede reducir el rendimiento.

37. Deje el tubo en el dispositivo de separación magnética durante 25 minutos para secar el CleanNA Particles CCF.

38. Retire la placa de 48 pocillos que contiene CleanNA Particles CCF del dispositivo de separación magnética.

39. Añadir 30-60 µl de Elution Buffer. Resuspenda CleanNA Particles CCF vortexando o pipeteando arriba y abajo 20 veces.

Nota: Asegúrese de que el tampón de elución cubre el CleanNA Particles CCF. Volúmenes de elución demasiado pequeños pueden reducir el rendimiento. Volúmenes demasiado grandes reducen la concentración del ADN en el eluato.

40. Incubar a temperatura ambiente durante 5 minutos mientras se mezcla pipeteando, agitando o vortexando constantemente.
41. Poner la placa de 48 pocillos profundos en la placa magnética de 48 pocillos para magnetizar las CleanNA Particles CCF.
42. Incubar a temperatura ambiente hasta que CleanNA Particles CCF se separen completamente de la solución.

 **Nota:** Asegúrese de incubar hasta que todas las partículas se separen de la solución, el arrastre de las cuentas puede causar inhibición durante la PCR posterior.

43. Transfiera el sobrenadante aclarado que contiene ADN purificado a una placa limpia de 96 pocillos o a tubos individuales limpios (no proporcionados).
44. Almacenar los ácidos nucleicos libres de células extraídos a -20 °C.

Guía de solución de problemas

Utilice esta guía para solucionar los problemas que puedan surgir. Para una asistencia adicional, contacte con su distribuidor local.

Posibles problemas y sugerencias

| Problema | Causa | Sugerencia |
|---|--|--|
| Bajo rendimiento de ADN | Resuspensión incompleta de CleanNA Particles CCF. | Resuspender CleanNA Particles CCF vortexando vigorosamente antes de su uso. |
| | Unión ineficiente del ADN a CleanNA Particles CCF. | Asegúrese de dejar que la muestra se enfríe a temperatura ambiente durante 10 minutos antes de añadir CCF Binding. |
| | | Asegúrese de mezclar cada muestra continuamente en toda la incubación de unión. |
| | Pérdida de CleanNA Particles CCF durante la operación. | Evite tocar las CleanNA Particles CCF durante la aspiración. |
| | El ADN permanece unido a CleanNA Particles CCF. | Diluya CCF Wash 2 añadiendo el volumen adecuado de etanol absoluto antes de su uso (ver la página 13 para las instrucciones). |
| | | Asegúrese de que el tampón de elución cubre todo el CleanNA Particles CCF. |
| Arrastre del etanol. | Seque CleanNA Particles CCF a temperatura ambiente durante 25 minutos antes de la elución. | |
| CleanNA particles CCF no se separa completamente de la solución | Tiempo de magnetización demasiado corto. | Aumente el tiempo de recogida en el dispositivo de separación magnética. |
| Copurificación de alto peso molecular | Deben efectuarse dos pasos de CCF Wash 1. | Lleve a cabo dos pasos de CCF Wash 1 como se indica en las instrucciones de uso. Aumente el volumen de tampón de lavado si es necesario. |
| Problemas en aplicaciones posteriores | Arrastre de sal. | CCF Wash 2 debe estar a temperatura ambiente. |

| | | |
|-----------------------------------|--|--|
| Datos anormales del bioanalizador | El bioanalizador muestra múltiples picos agudos durante el análisis. | Asegúrese de eliminar todas las trazas del sobrenadante separado después de cada paso de lavado. |
| | | Asegúrese de incubar el tubo/placa durante 25 minutos para secar las CleanNA Particles CCF. |
| | El bioanalizador muestra la línea base elevarse al final. | Compruebe la presencia de burbujas en el bioanalizador. Cargue las muestras en un chip recién preparado. |
| | El bioanalizador muestra una mancha al comienzo del trazo. | Asegúrese de que la muestra purificada no contiene trazas de CleanNA particles CCF. |

Símbolos

| | |
|---|---|
|  | Diagnóstico in vitro |
|  | Marca CE. Este producto cumple los requisitos de dispositivo CE-IVD de conformidad con Reglamento de la UE relativo a dispositivos médicos de diagnóstico in vitro (2017/746) |
|  | Número de pedido |
|  | Fabricante |
|  | Precaución |
|  | Límite de temperatura |
|  | Fecha de caducidad |
|  | Número de lote |

Información de pedido

Contacte con su distribuidor local para realizar los pedidos.

| Producto | Número de parte |
|-------------------------------------|-----------------|
| Clean Cell Free DNA Kit (384 preps) | CCF-D0384 |

Historia de revisión del documento

| Versión del manual | Fecha de revisión | Capítulo revisado | Explicación de revisión |
|--------------------|-------------------|--|---|
| 1 | 2023/OCT/02 | N/A | Versión inicial |
| 2 | 2024/FEB/08 | Primera página y Vista general esquemática | Actualización en el enlace al sitio web y Vista general esquemática |

Notas

Notas

Notas

Contacto

Coenecoop 75 | 2741 PH Waddinxveen | Países Bajos

T: +31 (0) 182 22 33 50 | F: +31 (0) 182 22 33 98 | info@cleanna.com

www.cleanna.com

