

GlobalFiler™ Express PCR Amplification Kit – PCR Setup – Untreated Paper Substrate

Pub. No. 4481777 Rev. A Translated from English Publication Number 4480795 Rev. A

Nota: Si desea conocer las recomendaciones sobre seguridad y riesgos biológicos, consulte la sección “Seguridad” en el documento *GlobalFiler™ Express PCR Amplification Kit User Guide* (Pub. no. 4477672). Para cada uno de los productos químicos, consulte las fichas de seguridad (SDS) y siga las instrucciones de manipulación indicadas. Use protectores oculares, vestimenta protectora y guantes apropiados.

■ Resumen del producto	1
■ Prerrequisitos	1
■ Pautas para la preparación de muestras	1
■ Preparación de las reacciones	2
■ Realice la reacción en cadena de la polimerasa y la electroforesis capilar	3
■ Garantía limitada de producto	3

Resumen del producto

El GlobalFiler™ Express Kit (200 reacciones Part no. 4476609 o 1000 reacciones Part no. 4474665) es un ensayo multiplex de repeticiones cortas en tándem que amplifica 21 loci de repetición autosómicos, Amelogenina, 1 locus de repeticiones cortas en tándem Y, y 1 locus de inserción/borrado Y (indel Y). Está optimizado para permitir la amplificación directa de los siguientes tipos de muestras de una sola fuente:

- Muestras de sangre o de mucosa yugal recogidas en sustratos de papel tratado (descrito en el documento de referencia rápida Pub. no. 4481768).
- Muestras de sangre o de mucosa yugal recogidas en sustratos de papel sin tratar y tratadas con Prep-n-Go™ Buffer (descrito en este documento de referencia rápida).
- Muestras de mucosa yugal recogidas en sustratos de torunda y tratadas con Prep-n-Go™ Buffer (descrito en el documento de referencia rápida Pub. no. 4481759).

Prerrequisitos

Antes de comenzar, coloque esta guía en el área del laboratorio donde se realicen las reacciones en cadena de la polimerasa (PCR).

Pautas para la preparación de muestras

- Si está procesando una muestra de sangre recogida en un sustrato de papel sin tratar, perforo tan cerca del centro de la muestra como sea posible para garantizar una intensidad de pico óptima. Si aumenta el tamaño de la perforación, puede producirse inhibición durante la amplificación de la PCR.
- Si está utilizando un Bode Buccal DNA Collector™, perforo tan cerca de la punta del dispositivo de recogida de ADN como sea posible para garantizar una intensidad de pico óptima. Si aumenta el tamaño de la perforación, puede producirse inhibición durante la amplificación de la PCR.
- Para perforación manual: coloque la punta de un Harris Micro-Punch de 1,2 mm en la tarjeta, sujete el cañón del Harris Micro-Punch (no toque el émbolo), presione suavemente y gire 1/4 de vuelta, y a continuación expulse el disco dentro del pocillo correspondiente en la placa de reacción.
- Para perforación automática: consulte la guía del usuario del instrumento de perforación de disco automático o semiautomático para obtener las instrucciones pertinentes.

Bode Buccal DNA Collector™
Perforo tan cerca de la punta como sea posible



Preparación de las reacciones

1. Añada Prep-n-Go™ Buffer (Part no. 4467079) a la placa de reacción:

A este/estos pocillo(s) de una MicroAmp® Optical 96-Well Reaction Plate...	Añadir:	
Control negativo	3 µl de Prep-n-Go™ Buffer	
Muestras de test	3 µl de Prep-n-Go™ Buffer	
Control positivo	• Para 25 y 26 ciclos	0 µl de Prep-n-Go™ Buffer
	• Para 27 ciclos	1 µl de Prep-n-Go™ Buffer
	• Para 28 ciclos	2 µl de Prep-n-Go™ Buffer

2. Añada muestras a la placa de reacción:

A este/estos pocillo(s) de una MicroAmp® Optical 96-Well Reaction Plate...	Añadir:	
Control negativo	Disco en blanco 1,2 mm	
Muestras de test	Disco de muestras 1,2 mm	
Control positivo ¡IMPORTANTE! No añada un disco en blanco al pocillo de control positivo.	• Para 25 y 26 ciclos	3 µl de Control DNA 007
	• Para 27 ciclos	2 µl de Control DNA 007
	• Para 28 ciclos	1 µl de Control DNA 007

Nota: Los volúmenes de control positivo son cantidades sugeridas, y pueden ajustarse si las alturas de los picos son demasiado altas o demasiado bajas para su número de ciclos optimizados.

3. Centrifugue la placa para asegurarse de que los discos se sumergen en el Prep-n-Go™ Buffer.
4. Calcule el volumen de cada componente necesario para preparar las reacciones, con ayuda de la tabla siguiente.

Componente de reacción	Volumen por reacción
Master Mix	6,0 µl
Primer Set	6,0 µl

Nota: Incluya reacciones adicionales en los cálculos para compensar la pérdida que se produce durante las transferencias de reactivos.

¡IMPORTANTE! Este kit ha sido optimizado para un volumen de reacción PCR de 15 µl para superar la inhibición de la PCR prevista al amplificar muestras sin purificar. El uso de un volumen de reacción PCR más bajo puede reducir la capacidad de las características químicas del kit para generar perfiles completos de repeticiones cortas en tándem.

5. Prepare los reactivos. Descongele el Master Mix y el Primer Set, y a continuación agite durante 3 segundos y centrifugue brevemente antes de abrir los tubos o frascos.

¡IMPORTANTE! La descongelación solo es necesaria durante el primer uso del kit. Después del primer uso, los reactivos se conservan a una temperatura de entre 2 a 8 °C y, por tanto, no requieren su descongelación posterior. No vuelva a congelar los reactivos.

6. Pipetee los volúmenes necesarios de los componentes en un tubo de polipropileno de tamaño apropiado.
7. Agite la mezcla de reacción durante 3 segundos y luego centrifúguela brevemente.
8. Dispense 12 µl de la mezcla de reacción en cada pocillo de reacción de un MicroAmp® Optical 96-Well Reaction Plate. El volumen final en cada pocillo es 15 µl (mezcla de reacción más Prep-n-Go™ Buffer y muestra o control positivo).
9. Cierre herméticamente la placa con MicroAmp® Clear Adhesive Film (Part no. 4306311) o MicroAmp® Optical Adhesive Film (Part no. 4311971).

¡**IMPORTANTE!** Recomendamos cerrar herméticamente la placa con película adhesiva para obtener un cierre uniforme de todos los pocillos y evitar la evaporación. No utilice tapas, pues puede que no ofrezcan un cierre uniforme en todos los pocillos.

¡**IMPORTANTE!** Si utiliza el termociclador 9700 con bloque de plata o de plata chapado con oro, ponga un MicroAmp® Compression Pad (Part no. 4312639) en la parte superior de la placa para impedir todavía más la evaporación durante el termociclado. El Veriti® Thermal Cycler no requiere una almohadilla de compresión.

10. Centrifugue la placa a 3000 rpm durante 20 segundos en una centrífuga de sobremesa con reposaplacas.

Realice la reacción en cadena de la polimerasa y la electroforesis capilar

Para realizar la amplificación de la PCR y la electroforesis capilar (CE), consulte los documentos *GlobalFiler™ Express PCR Amplification Kit-PCR Amplification and CE Quick Reference Card* (Pub. no. 4481786) y *GlobalFiler™ Express PCR Amplification Kit User Guide* (Pub. no. 4477672).

Garantía limitada de producto

Life Technologies Corporation y/o sus filiales garantizan sus productos conforme a lo expuesto en los términos y condiciones generales de venta de Life Technologies expresados en el sitio web de Life Technologies, en www.lifetechnologies.com/termsandconditions. Si tiene cualquier duda, póngase en contacto con Life Technologies en www.lifetechnologies.com/support.

Limitado al uso forense o a las pruebas de paternidad.

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

EXENCIÓN DE RESPONSABILIDADES: LIFE TECHNOLOGIES CORPORATION Y/O SUS FILIALES NO OTORGAN NINGUNA GARANTÍA CON RESPECTO AL PRESENTE DOCUMENTO, SEA EXPRESA O IMPLÍCITA, LO QUE INCLUYE, ENTRE OTRAS, GARANTÍAS DE COMERCIABILIDAD, DE ADECUACIÓN A UNA FINALIDAD CONCRETA O DE AUSENCIA DE INFRACCIONES. EN LA MEDIDA PERMITIDA POR LA LEY, EN NINGÚN CASO SE PODRÁ EXIGIR A LIFE TECHNOLOGIES Y/O SUS FILIALES NINGUNA RESPONSABILIDAD CONTRACTUAL, EXTRA CONTRACTUAL, DERIVADA DE NINGUNA GARANTÍA O DE NINGUNA LEY NI BAJO NINGÚN OTRO SUPUESTO POR DAÑOS ESPECIALES, INDICENTALES, INDIRECTOS, PUNITIVOS, MÚLTIPLES O CONSECUENTES EN RELACIÓN CON O DERIVADOS DEL PRESENTE DOCUMENTO, LO QUE INCLUYE, ENTRE OTRAS POSIBILIDADES, EL USO DEL MISMO.

© 2012 Life Technologies Corporation. Reservados todos los derechos. Las marcas mencionadas en el presente documento son propiedad de Life Technologies Corporation o de sus respectivos titulares.

Headquarters

5791 Van Allen Way | Carlsbad, CA 92008 USA | Phone +1 760 603 7200 | Toll Free in USA 800 955 6288

For support visit lifetechnologies.com/support

lifetechnologies.com

October 2012

