



MANUAL

Kit S QuickGene de extracción de ARN en Tejidos (RT-S)

Para aislamiento de ARN total de muestras en tejidos

ÍNDICE

1	Introducción.....	3
2	Componentes del kit.....	3
3	Condiciones de Almacenamiento	3
4	Otros materiales necesarios, no incluidos en este kit.....	3
5	Advertencias sobre Seguridad	4
6	Advertencias.....	5
7	Controles de Calidad	5
8	Protocolos	6
8.1	Preparación de los Reactivos	6
8.2	Preparación de Muestras.....	7
8.3	Aislamiento de ARN total utilizando el Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico de la serie QuickGene.....	12
9	Resolución de Problemas	14
10	Información sobre pedidos	16
11	Contactos.....	17
	Apéndice 1.....	18

1 Introducción

Fuji Photo Film Co., LTD desarrolló y patentó una revolucionaria membrana porosa para inmovilizar ácido nucleico. Debido a su gran área superficial específica, y a su porosidad fina y uniforme, QuickGene aísla satisfactoriamente ARN total con alto rendimiento; y más aún, con la utilización de su membrana, elimina la mayoría de los contaminantes. QuickGene utiliza la técnica de filtración a presión, la cual no puede utilizarse satisfactoriamente con membranas típicas de fibra de vidrio; utilizando la técnica de filtración a presión se puede usar con gran éxito una nueva instrumentación, compacta y automatizada para la purificación rápida de ácido nucleico.

Utilizando el kit S de QuickGene para extracción de ARN en tejidos junto con la serie de Sistemas Automáticos de Aislamiento de Ácido Nucleico QuickGene se podrá aislar y también purificar ARN total de muestras en tejidos con muy alta calidad y rendimiento. Adicionalmente, se pueden extraer simultáneamente 8 muestras de lisado de tejidos, en sólo 13 minutos, sin necesidad del uso de columnas "spin" o disolventes peligrosos como el fenol. El ARN total, de alta calidad, purificado, se puede utilizar para aplicaciones con RT-PCR, análisis northern blot, y otras aplicaciones.

Por favor asegúrese de leer cuidadosamente este manual antes de la utilización del kit.

2 Componentes del kit

El kit incluye los reactivos necesarios para 96 conjuntos de aislamiento de ARN total.

- Tampón de Lisis (LRT)
- Tampón de Solubilización (SRT)
- Tampón de Lavado (WRT)
- Tampón de Elución (CRT)
- Cartuchos (CA)
- Tubos de recogida (CT)
- Tapones (CAP)
- Tubos de desecho (WT)

3 Condiciones de Almacenamiento

Temperatura de almacenamiento para todos los reactivos: de 15 °C a 28°C

4 Otros materiales necesarios, no incluidos en este kit

◆ Reactivos

- Etanol (>99%)
- 2 Mercaptoetanol (2-ME)
- PBS libre de RNasa
- DNasa para procesos opcionales. (A continuación se da una lista de productos recomendados)
 - RQ1 DNasa libre de RNasa (Promega:Cat.No:M6101)
 - DNasa I, Grado Amplificación (Invitrogen:Cat.No.18068-015)
 - DNasa I, Grado Amplificación (Sigma:Cat. No.AMP-D1)
 - Desoxiribonucleasa (Grado RT) (Nippon Gene:Cat No. 313-03161)
 - DNasa I, libre de RNasa (Ambion: Cat. No 2222)
 - Conjunto DNasa ,libre de RNasa (QIAGEN Cat. No. 79254)

◆ Instrumentos y Equipamiento

- Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico de la serie QuickGene
- Tubos de Centrifuga de 1.5ml
- Tubos de Centrifuga (ver Tabla 1)
- Micropipetas y puntas
- Homogeneizador
 - Homogeneizador mecánico
 - Homogeneizador Pestle para tubos de centrifuga
 - Homogeneizador Molino de bolas
- Agitador Vortex Mixer
- Microcentrifuga
- Contenedor de tubos

Tabla 1. Tubos de Centrifuga recomendados

Tamaño del Contenedor de tubos de centrifuga de la serie QuickGene	Tipo de tubo de centrifuga	Nombre del producto (ejemplos)
Estándar	Tubo de centrifuga grande (para WRT)	Tubo cónico BD Falcon™ 50ml
	Tubo de centrifuga pequeño (para CRT)	Tubo cónico BD Falcon™ 15ml
Grande	Tubo de centrifuga grande (para WRT)	Tubo cónico BD Falcon™ 175ml Tubo cónico BD Falcon™ 225ml
	Tubo de centrifuga pequeño (para CRT)	Tubo cónico BD Falcon™ 50ml

Los tubos de centrifuga se usan con los Sistemas de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico de la serie QuickGene como tubos contenedores del tampón de lavado (WRT) con etanol y del tampón de elución (CRT).

5 Advertencias sobre Seguridad

Advertencia: Para uso en investigación únicamente
No recomendado ni dirigido a aplicaciones diagnósticas o clínicas para humanos y animales.

Todos los reactivos y artículos del kit deberían considerarse química y biológicamente peligrosos. Durante la realización de los experimentos es altamente recomendable utilizar la vestimenta apropiada de laboratorio, guantes y gafas de seguridad. En caso de contacto de los reactivos con los ojos, la piel o la vestimenta, lávese inmediatamente con agua. (consulte las recomendaciones específicas en la hoja de datos de Seguridad Material, <http://www.fujifilm.co.jp/msds>)

Tampón de Lisis (LRT)

No ingerir. Producto venenoso

Tenga cuidado con el contacto de los reactivos con los ojos, y con su ingestión accidental. En caso de contacto de los reactivos con los ojos, piel o vestimenta, lave inmediatamente con agua. Utilice la vestimenta apropiada de laboratorio, guantes y gafas de seguridad.

Tampón de Solubilización (SRT)

Tenga cuidado con el contacto de los reactivos con los ojos, y con su ingestión accidental. En caso de contacto de los reactivos con los ojos, piel o vestimenta, lave inmediatamente con agua.

Tampón de Lavado (WRT)

Tenga cuidado con el contacto de los reactivos con los ojos, y con su ingestión accidental. En caso de contacto de los reactivos con los ojos, piel o vestimenta, lave inmediatamente con agua.

Tampón de Elución (CRT)

Tenga cuidado con el contacto de los reactivos con los ojos, y con su ingestión accidental.

En caso de contacto de los reactivos con los ojos, piel o vestimenta, lave inmediatamente con agua.

- Mantenga el Tampón de Lisis (LRT) lejos de fuentes de calor. No lo mezcle con desinfectantes, como la lejía.
- En cuanto al tratamiento de los residuos líquidos y los consumibles: Cuando utilice muestras potencialmente infecciosas para sus experimentos, realice el tratamiento de los residuos de acuerdo con la normativa aplicable.

6 Advertencias

- Consulte el MSDS (hoja de datos de Seguridad Material) para revisar las recomendaciones específicas de manipulación y propiedad.. Esta hoja de datos (MSDS), se puede obtener de la siguiente página web: <http://lifescience.fujifilm.com>
- Consulte el Manual de usuario del Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico de QuickGene, antes de utilizarlo.

<Prevención contra contaminación con RNasa>

- Lleve guantes desechables cuando manipule el kit y/o el ARN para prevenir la contaminación con RNasa
- Utilice materiales esterilizados plásticos desechables durante las operaciones. Estos materiales están casi libres de RNasa, pero no están garantizados, por lo tanto, puede no necesitar un proceso libre de RNasa.
- En caso de utilizar materiales metálicos o de vidrio, esterilícelos con aire caliente a 200°C durante más de 16 horas.

7 Controles de Calidad

- La estabilidad de los reactivos está garantizada por 9 meses desde la compra siempre que se haya almacenado a la temperatura especificada (de 15°C a 28°C)
- Como parte del riguroso programa de calidad en Fuji Photo Film Co, LTD, las prestaciones del kit S QuickGene ARN en tejidos se evalúan rutinariamente, asegurando la uniformidad de lote a lote.
- Se ha verificado la no contaminación del kit S QuickGene ARN en tejidos con RNasa.
- Se ha comprobado la calidad y el rendimiento del ARN total aislado, por medio de la medida de la absorbancia a 260nm, relación de absorbancia (260nm/280nm) y amplificación RT-PCR.

8 Protocolos

8.1 Preparación de los Reactivos

Tampón de Lisis (LRT)

Mezcle muy bien antes de usar.

Si hay precipitados en el Tampón de Lisis, incube la botella en un baño de agua a 37°C y mezcle invirtiendo la botella intermitentemente hasta que el precipitado se haya disuelto. Una vez disuelto el Tampón de Lisis, deje enfriar la botella a temperatura ambiente antes de su uso.

Dispense el volumen requerido y añada 2- ME por 10µl/1ml LRT cada vez.

Tampón de Solubilización (SRT)

Mezcle muy bien antes de usar.

Si hay precipitados en el Tampón de Solubilización, incube la botella en un baño de agua a 37°C y mezcle invirtiendo la botella intermitentemente hasta que el precipitado se haya disuelto. Una vez disuelto el Tampón de Solubilización, deje enfriar la botella a temperatura ambiente antes de su uso.

Tampón de Lavado (WRT)

Añada la disolución concentrada

Añada 40ml de etanol (>99%) en la botella y mezcle invirtiendo la botella suavemente antes de su primera utilización.

Requerimientos para el Tampón de Lavado (WRT) con etanol (>99%) y el Tampón de Elución (CRT)

Prepare los volúmenes de muestra requeridos para la preparación del Tampón de Lavado (WRT) con etanol(>99%) y del Tampón de Elución (CRT) de acuerdo con el número de muestras para la extracción; siga la tabla siguiente:

Coloque los tampones en cada tubo y coloque los tubos en el Contenedor de Tubos del equipo QuickGene. (Consulte el Manual de Usuario del Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico de QuickGene).

Tabla 2 Volumen del tampón y número de muestras a colocar en el equipo QuickGene

Número de Muestras	WRT con Etanol	CRT
8	26 ml	9 ml
16	44 ml	11 ml
24	62 ml	13 ml
32	80 ml	15 ml
40	99 ml	17 ml
48	117 ml	19 ml
56	135 ml	21 ml
64	154 ml	22 ml
72	172 ml	24 ml
80	190 ml	26 ml
88	209 ml	28 ml
96	227 ml	30 ml

8.2 Preparación de Muestras

- Básicamente el kit S QuickGene de extracción de ARN en tejidos ha sido específicamente diseñado para el aislamiento de ARN total de una muestra de tejido de mamíferos de 5mg. Sin embargo sería capaz de aislar el ARN total de muestras de tejido de más de 5mg (Ver tabla 3).

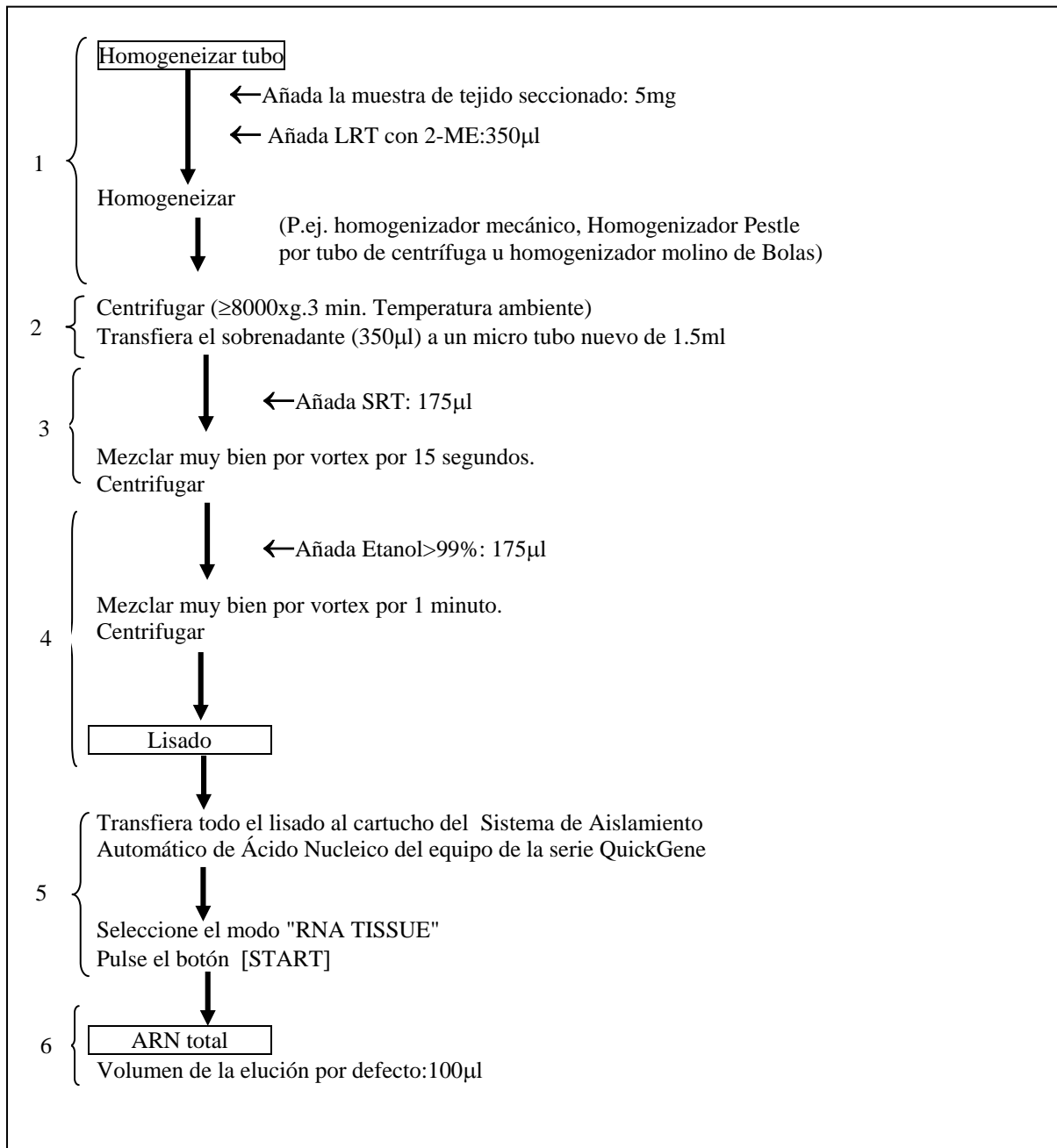
Tabla 3 Rendimiento medio y máxima cantidad de muestra para tejido de ratón

Tejido de ratón	Rendimiento medio* (cantidad de muestra)	Máxima cantidad de muestra *
Hígado	20µg (5 mg)	30 mg
Cerebro	12µg (30 mg)	50 mg
Bazo	15µg (10 mg)	30 mg
Riñón	15µg (10 mg)	20 mg
Pulmón	12µg (20 mg)	30 mg
Corazón	10µg (15 mg)	20 mg
Timo	15µg (10 mg)	20 mg

*Homogeneizar completamente con homogenizador Molino de Bolas . El rendimiento depende del tipo de muestra y de las condiciones de almacenamiento. Estos datos de rendimiento son datos típicos obtenidos de tejido de ratón.

- La cantidad de muestra y el tiempo de procesamiento pueden variar dependiendo del tipo de tejido, las condiciones de almacenamiento del tejido y el método de homogenización. Si se obstruyeran los cartuchos reduzca la cantidad de muestra.
- Sumerja 5mg de sección de tejido en el Tampón de Lisis (LRT) y homogenice inmediatamente después de la recogida de la muestra. Si no va a preparar las muestras inmediatamente, congele el tejido con Nitrógeno Líquido y consérvelo a -80°C .
- Si mantiene las muestras a temperatura ambiente por un largo período de tiempo y/o congela y descongela repetidamente las muestras, el ARN se degradará y se reducirá el rendimiento de la extracción.
- Utilice pipetas calibradas para la preparación de los tampones. Los volúmenes se han ajustado para optimizar el rendimiento del sistema.
- Realice la operación con rapidez a temperatura ambiente (15 -30°C)

<Etapas de Trabajo modo "RNA TISSUE" (ARN en tejidos) sin tratamiento con DNasa>



Notas

1. La membrana se obstruirá, cuando se aplique una cantidad excesiva de muestra de tejido al cartucho. Utilice LRT con 2-ME añadido. Por favor añada 2-ME (10µl/1ml LRT) a LRT antes de su uso. Cuando utilice una muestra congelada, manténgala congelada hasta justo antes de homogeneizar. Los homogeneizadores recomendados son los tres que se indican seguidamente: (Por favor lea el manual de usuario del homogeneizador antes de su uso). El máximo volumen de muestra a utilizar con el homogeneizador Pestle para tubo de centrifuga, puede ser menor que el utilizado con el homogeneizador mecánico o de Molino de Bolas.
 - a. Homogeneizador mecánico

Añada la muestra de tejido y 350µl de LRT con 2-ME a un microtubo nuevo, y homogenice inmediatamente con el homogeneizador mecánico hasta que la muestra esté uniformemente homogénea.

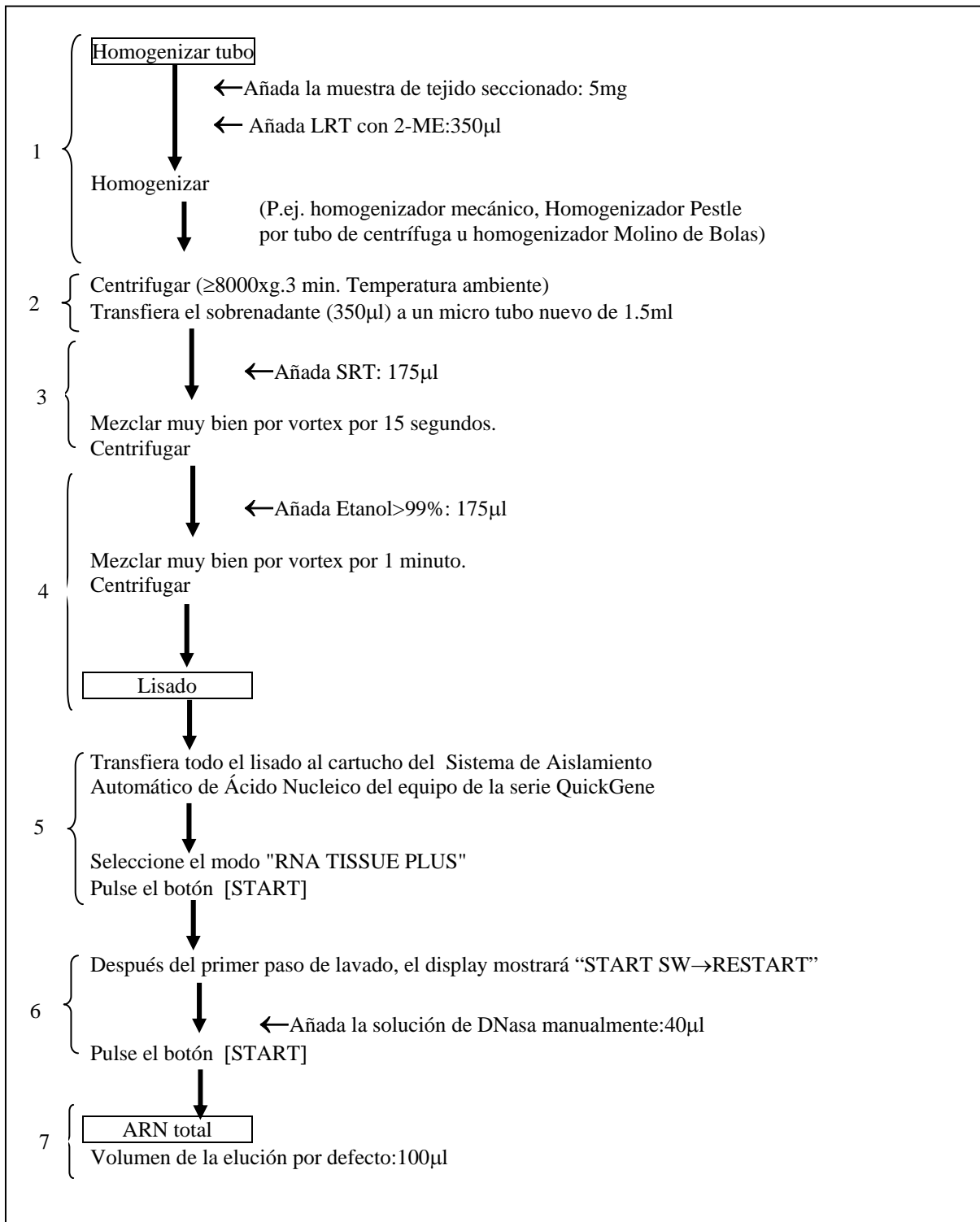
Optimice la velocidad de rotación y el tiempo para cada muestra.
 - b. Homogeneizador Pestle para tubo de microcentrifuga.

Utilice el motor exclusivo y coloque el Pestle en el motor.

Aplique la muestra de tejido y 200µl de LRT con 2-ME en un tubo nuevo, y homogenice inmediatamente con Pestle hasta conseguir una muestra uniformemente homogénea. Añada entonces 150µl de LRT a la mezcla homogenizada y agite por vortex a velocidad máxima durante 15 segundos. Centrifugue la mezcla homogenizada
 - c. Homogeneizador Molino de Bolas

Añada la muestra de tejido y 350µl de LRT con 2-ME a un microtubo nuevo, y homogenice inmediatamente con el homogeneizador Molino de Bolas hasta que la muestra esté uniformemente homogénea.
 2. Centrifugue ($\geq 8000 \times g$ 3 min.) a temperatura ambiente para deshacerse de los materiales insolubles y transfiera los 350µl de sobrenadante a un tubo nuevo. Puede ser necesario incrementar la velocidad de rotación y el tiempo, para centrifugar completamente los materiales insolubles.
 3. Añada 175µl de SRT, agite por vortex a velocidad máxima durante 15 segundos, y centrifugue.
 4. Añada 175µl de etanol >99%, agite por vortex a velocidad máxima durante 1 minuto, y centrifugue el lisado completamente. Un Vortex incompleto puede producir un bajo rendimiento.
 5. Transfiera el lisado completo al cartucho del Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico del equipo de la serie QuickGene y pulse inmediatamente el botón START. Si hay presentes agregados en el lisado en el paso 4, aplíquelos con el lisado al cartucho.
 6. El volumen estándar de elución por defecto es 100µl, aunque se puede cambiar esta configuración a un valor inferior de volumen, hasta un mínimo de 50µl. En el caso de trabajar con una configuración de 50µl, el rendimiento podría bajar.
- Si no va a utilizar el ARN total eluido inmediatamente para otros experimentos, tapone los tubos de recogida (CT) con los tapones de tubo (CAP), y consérvelos a una temperatura entre -20°C y -80°C .

<Etapas de Trabajo modo "RNA TISSUE PLUS": con tratamiento con DNasa>



Notas

- 1 – 5 Vea <Etapas de Trabajo modo "RNA TISSUE" sin tratamiento con DNasa>
6. Añada la cantidad recomendada de DNasa manualmente después del primer paso de lavado; el display mostrará "START SW→RESTART"
- 6.1 Recomendación para la preparación de DNasa

Nombre del Producto	Fabricante	Cat No.	Preparación	Concentración Final
RQ1 DNasa libre de RNasa	Promega	M6101		
DNasa I, Grado Amplificación	Invitrogen	18068-015		
DNasa I, Grado Amplificación	Sigma	AMP-D1		
Desoxiribonucleasa (Grado RT)	Nippon Gene	313-03161	1	20 U/40µl
DNasa I, libre de RNasa	Ambion	2222	2	40 U/40µl
Conjunto* DNasa ,libre de RNasa	QIAGEN	79254	3	3.4 Kunitz /40µl

*1; Disolver 1,500Kunits de DNasa I con 550µl de agua libre de RNasa antes de preparar la disolución reactiva de DNasa I.

Preparación 1

1U/µl DNasa I	20µl
10xTampón de reacción	4 µl
Agua libre de RNasa	16µl

Preparación 2

2U/µl DNasa I	20µl
10xTampón de reacción	4 µl
Agua libre de RNasa	16µl

Preparación 3

2.7 Kunitz /µl DNasa I	1.25µl
Tampón RDD	35 µl
Agua libre de RNasa	3.75µl

6.2 Adición de DNasa I

Abra la puerta frontal del instrumento y añada 40µl de disolución reactiva de DNasa I a cada cartucho utilizando micropipetas. No toque la membrana cuando añada la solución de DNasa I. Cierre la puerta frontal y espere 5 minutos.

- 6.3 Tiempo de espera por defecto para el tratamiento de DNasa: 5 minutos. Puede cambiar la configuración del tiempo como un parámetro del programa.

7. El volumen estándar de elución por defecto es 100µl, aunque se puede cambiar esta configuración a un valor inferior de volumen, hasta un mínimo de 50µl. En el caso de trabajar con una configuración de 50µl, el rendimiento podría bajar.

Si no va a utilizar el ARN total eluído inmediatamente para otros experimentos, tapone los tubos de recogida (CT) con los tapones de tubo (CAP), y consérvelos a una temperatura entre -20°C y -80°C.

8.3 Aislamiento de ARN total utilizando el Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico de la serie QuickGene.

Notas: Configuración del sistema y operaciones básicas.

Por favor lea el Manual de Usuario del Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico de la serie QuickGene antes de su uso.

(1) Selección del modo de aislamiento

Seleccione el modo “RNA TISSUE” o “RNA TISSUE PLUS” para el aislamiento de ARN total con el kit.

(2) Colocación de los cartuchos y los tubos

Abra la puerta frontal del instrumento y coloque los tubos de recogida y desecho en el contenedor de tubos de recogida .

- Utilice sólo los tubos especificados de recogida (CT) y los tubos especificados de desecho (WT) incluidos en el kit
Monte el Contenedor de Cartuchos en el equipo y coloque de 1 a 8 cartuchos en el Contenedor de Cartuchos.
- Utilice sólo los Cartuchos especificados (CA)

Notas: Para detalles sobre el montaje de los tubos y cartuchos Consulte el Manual de Usuario del Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico del equipo de la serie QuickGene.

Una colocación incorrecta de los cartuchos puede provocar un aislamiento incorrecto o un vertido no deseado de la solución.

Utilice siempre guantes durante los experimentos para evitar la contaminación por nucleasas.

(3) Colocación de los reactivos

Prepare el volumen requerido (ver 8.1 Preparación de los reactivos) para el tubo del Tampón de Lavado (WRT) con etanol (>99%) y para el tubo del Tampón de Elución (CRT); colóquelos en el contenedor correspondiente y éste en su posición designada en el equipo.

Notas: Utilice siempre guantes durante la manipulación de los reactivos para evitar la contaminación por nucleasa.

- Para detalles sobre la colocación de los reactivos consulte el Manual de Usuario del Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico del equipo de la serie QuickGene.

(4) Descarga

Coloque la “bandeja de descarga” y compruebe la correcta colocación de los tubos de recogida y del contenedor de cartuchos.

Pulse el botón “DISCHARGE” después de haber cerrado la puerta frontal del instrumento.

Nota: La operación de descarga previa a la extracción resulta necesaria debido a que los tubos podrían contener algo de aire, y esto podría provocar una extracción de volumen de reactivos incorrecta.

(5) Aplicación de las muestras preparadas

Aplique el contenido de las muestras de lisado preparadas (Ver 8.2 Preparación de las Muestras), en cada cartucho (CA) utilizando micropipetas (cualquier agregado presente en el lisado deberá transferirse junto con el lisado al cartucho)

(6) Aislamiento

Cierre la puerta frontal del instrumento.

Confirme que se ha seleccionado el modo de operación apropiado en el panel de operación y pulse el botón [START]

Cuando utilice la muestra de 30 mg de hígado de ratón, se puede extender el tiempo de elución hasta 25 minutos. En el caso de que el cartucho en el equipo QuickGene se obstruyera reduzca el volumen de la muestra de tejido.

(7) Recogida del ARN total

Una vez completado el proceso, el resultado de la extracción se indicará en el panel de operación como sigue:

- ✓ : Extracción satisfactoria
- (guión): Extracción fallida
- _ (subrayado): No cartucho, o No muestra

Abra la puerta frontal y retire el Tubo de Recogida (CT) de su alojamiento.

Ya que el ARN total es eluido de los Cartuchos (CA), si se ha utilizado un volumen de 100µl de Tampón de Elución (CRT), se recuperará una solución de ARN total de 100µl.

Tapone correctamente los Tubos de Recogida (CT) que contienen el ARN total aislado con los Tapones de tubo (CAP)

(8) Recogida de Materiales

Retire los Tubos de Desecho (WT) y deshágase del líquido de desecho de acuerdo con la normativa aplicable.

Retire el contenedor de cartuchos y deshágase de los cartuchos (CA)

Advertencia: En cuanto al tratamiento de los residuos líquidos y los consumibles: Cuando utilice muestras potencialmente infecciosas para sus experimentos, realice el tratamiento de los residuos de acuerdo con la normativa aplicable.

9 Resolución de Problemas

Revise la información que se da a continuación para resolver posibles problemas durante la realización de los experimentos con el kit S en tejidos de QuickGene. Para problemas relacionados con el sistema (esto es, cuando aparezca un mensaje de error en el equipo QuickGene), consulte el Manual de Usuario del equipo de la serie QuickGene.

(1) Bajo rendimiento o no obtención de ARN.

Causa	Posible Solución
Condiciones inadecuadas de almacenamiento de la muestra.	Pruebe a almacenar las muestras en diferentes condiciones incluso variando el volumen de la muestra y el período de almacenamiento. Evite mantener las muestras a temperatura ambiente por un largo período de tiempo y/o descongelarlas durante su manipulación.
Se ha usado una cantidad insuficiente de muestra.	Incremente la cantidad de muestra de tejido a utilizar. (Ver Tabla 3)
Insuficiente homogenización a continuación de la adición del Tampón de Lisis (LRT) conteniendo 2-ME	Permita una homogenización suficiente hasta que la muestra esté uniformemente homogénea, inmediatamente después de la adición del Tampón de Lisis (LRT).
Se añadió el volumen requerido de etanol al Tampón de Lavado (WRT)	Antes de comenzar compruebe siempre que se ha añadido el volumen requerido de etanol al Tampón de Lavado (WRT)
Se ha utilizado un Tampón de Lavado (WRT) usado previamente (incluido etanol).	Antes del uso, examine visualmente el Tampón de Lavado usado (WRT incluido etanol), el cual ha podido utilizarse durante un día o más en el instrumento
El lisado no se ha aplicado completamente a los cartuchos (CA)	Si hay presentes agregados en el lisado, aplíquelos en los cartuchos junto con el lisado.
Se han usado una cantidad insuficiente de reactivos.	Asegúrese de que hay suficiente cantidad de reactivo en las botellas de reactivo
Se ha añadido un volumen insuficiente de DNasa (para aislamiento con tratamiento de DNasa)	Asegúrese de añadir el volumen suficiente de DNasa en la disolución.
La membrana se ha dañado cuando se añadió la disolución con DNasa (para aislamiento con tratamiento de DNasa)	Evite contacto físico con la membrana cuando se añada la disolución con DNasa
El ARN se ha degradado	Ver sección (4)

(2) Baja Pureza (A260/A280)

Causa	Posible Solución
Se ha usado una cantidad excesiva de muestra.	Reduzca la cantidad de muestra de tejido a utilizar, a una cantidad por debajo de la especificada. (Ver Tabla 3)

(3) Obstrucción del Cartucho

Causa	Posible Solución
Insuficiente homogenización a continuación de la adición del Tampón de Lisis (LRT) conteniendo 2-ME	Permita una homogenización suficiente hasta que la muestra esté uniformemente homogénea, inmediatamente después de la adición del Tampón de Lisis (LRT).
Se ha usado una cantidad excesiva de muestra	Reduzca la cantidad de muestra de tejido a utilizar, a una cantidad por debajo de la especificada. (Ver Tabla 3)

(4) Degradación de ARN

Causa	Posible Solución
Condiciones inadecuadas de almacenamiento de la muestra.	Congele en Nitrógeno líquido rápidamente el tejido que no va a ser utilizado, y luego consérvelo a una temperatura por debajo de -80°C . Evite mantener las muestras a temperatura ambiente por un largo período de tiempo y/o descongelarlas durante su manipulación.
Contaminación por RNasa	A pesar de que todos los tampones, cartuchos y tubos de recogida de suministran libres de RNasa, la contaminación por RNasa puede presentarse durante la preparación y el almacenamiento. Extreme las precauciones para evitar la contaminación por RNasa
Contaminación por RNasa en la solución con DNasa (para aislamiento con tratamiento de DNasa)	Utilice DNasa libre de RNasa
Calentamiento de ARN	El ARN se verá degradado si se calienta. Conserve las muestras de ARN en hielo durante los experimentos

(5) Experimentos subsiguientes (por ejemplo RT-PCR) insatisfactorios

Causa	Posible Solución
Se ha usado una cantidad inapropiada de ARN.	Determinar la concentración de ARN basada en la absorbancia a 260nm
Contaminación del ADN genómico	Aísle el ARN total por tratamiento de RNasa (modo "RNA PLUS").
Se ha degradado el ARN	Vea sección (4)

(6) Degradación del ADN incompleta <modo "RNA PLUS">

Causa	Posible Solución
La membrana no se ha sumergido completamente en la solución con DNasa	Asegúrese de que la DNasa está uniformemente distribuida sobre la membrana en los cartuchos cuando se aplique la solución con DNasa.
Insuficiente actividad de DNasa	Asegúrese de utilizar el volumen recomendado de DNasa para provocar la suficiente actividad.

(7) Aparición de precipitados en los reactivos

Causa	Posible Solución
Almacenado a baja Temperatura	Conserve las soluciones entre 15°C y 28°C . Si hay presentes precipitados, incube la botella en baño de agua a 37°C y mezcle invirtiendo la botella intermitentemente hasta que se disuelva el precipitado

(8) Los tubos de recogida están vacíos después de la elución

Causa	Posible Solución
Se ha olvidado realizar la Descarga	Coloque la bandeja de descarga y compruebe que los tubos de recogida y el contenedor de cartuchos estén colocados en su posición correcta. Pulse el botón "DISCHARGE" una vez cerrada la puerta frontal del instrumento. Consulte el Manual de Usuario del equipo QuickGene.

10 Información sobre pedidos

Producto	Cat #
Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico de la serie QuickGene	
Kit S para ADN en tejidos QuickGene	DT - S
Kit de reactivos para aislar ADN genómico en tejidos para QuickGene	
Kit S para ADN en sangre total QuickGene	DB - S
Kit de reactivos para aislar ADN genómico en sangre total para QuickGene	
Kit S para ARN en tejidos QuickGene	RT - S
Kit de reactivos para purificar el ARN total en tejidos para QuickGene	
Kit S para ARN en células en cultivo QuickGene	RC - S
Kit de reactivos para purificar el ARN total en células en cultivo para QuickGene	
Kit S ADN en Plásmidos para QuickGene	PL - S
Kit de reactivos para extraer el ADN en plásmidos para QuickGene	

Marca Registrada: Falcon TM (Becton, Dickinson and Company)

La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) está patentada por Roche Molecular Systems y F Hoffmann-La Roche Ltd.

11 Contactos

<http://lifescience.fujifilm.com>
Fuji Photo Film Co., Ltd. LIFE SCIENCE PRODUCTS DIVISION
26-30, Nishiazabu 2-Chome, Minato-ku, TOKYO 106-8620, JAPAN
Tel:+81-3-3406-2201
Fax:+81-3-3406-2158
E-mail:sginfo@tokyo.fujifilm.co.jp

Filiales

< United States, Canada, Mexico >
Fujifilm Medical System U.S.A.,Inc.
419 West Avenue, Stamford, CT 06902, U.S.A.
Tel:+1-203-324-2000 ext.6112 (1-800-431-1850 ext. 6112 in the U.S.)
Fax:+1-203-351-4713
E-mail:SSG@fujimed.com
URL: <http://lifescience.fujifilm.com/>

< Europe (excl. UK and Ireland) >
Fuji Photo Film (Europe) GmbH,
Heesenstr. 31, 40549 Dusseldorf, Germany,
Tel: +49-211-5089-174
Fax: +49-211-5089-139
E-mail: lifescience@fujifilm europe.de
URL: <http://www.fujifilm.de>

< UK, Ireland >
Fuji Photo Film (U.K) Ltd.
Unit 12 St Martins way, St Martins Business centre, Bedford, MK42 OLF, U.K
Tel:+44-1234-245291
Fax:+44-1234-245293
E-mail: lifesciences@fuji.co.uk
URL:<http://www.fujifilm.co.uk/lifesciences/>

< China >
Fuji Photo Film (China) Investment Co., Ltd.
31st floor, Hong Kong New World Tower, No.300 Huai Hai Zhong Road, Shanghai P.R China
Tel:+86-21-3302-4655-363
Fax:+86-21-6384-3322
E-mail: wgxiang@fujifilm.com.cn
URL: <http://www.fujifilm.com.cn>

Distribuidores

<Australia, New Zealand>
Berthold AUSTRALIA PTY Ltd.
40 Clements Avenue, BUNDOORA Victoria 3083, Australia
Tel:+61-3-9467-6277 (1-300-300-865 in Australia)
Fax:+61-3-9467-7493
E-mail: rafael@berthold.com.au
URL: <http://berthold.com.au>

<Korea>
Shinki Hi-Tec
GUNWHA Bldg. 7-1, Yangjae, 1-dong, Secho-gu, Saoul, 137-886 Korea
Tel:+82-2-572-1600
Fax:+82-2-572-0058
E-mail: info@skhitec.co.kr
URL: <http://www.skhitec.co.kr>

<Taiwan>
HUNG CHONG CORP.
No.38, Sec. 6, Min Chuan E Road, Taipei, Taiwan
Tel:+886-2-2791-1188
Fax:+886-2-2794-2248
E-mail: fuhsing@mail.hungchong.com.tw
URL: <http://www.FUJIFILM.COM.TW>

Apéndice 1 Los modos "RNA TISSUE" y "RNA TISSUE PLUS" se configuran con los siguientes parámetros:

PARAMETRO	RNA TISSUE (ARN en tejidos)	RNA TISSUE PLUS
	VALOR	VALOR
BIND PEAK	120	120
WASH COUNT	3	1
WASH PEAK	110	110
WASH VOL1	750	750
WASH VOL2	750	750
WASH VOL3	750	750
WASH VOL4	750	750
WASH VOL5	750	750
WASH DIP TM	150	150
WAS2 WAIT T	0	5
WAS2 COUNT	0	2
WAS2 PEAK	110	110
WAS2 VOL1	750	750
WAS2 VOL2	750	750
WAS2 VOL3	750	750
WAS2 VOL4	750	750
WAS2 VOL5	750	750
ELUT VOL	100	100
ELUT PEAK	100	100
ELUT DIP TM	30	30