




## Protocolo abreviado de kit de tipificación de HLA-B27 de LinkSēq™

**REF** 8011C-SL, 8011C-SR

### Componentes del kit (almacenados a -35 a -15 °C)

12 tiras con reactivos secos – Tapones AZULES/ Línea del indicador NARANJA

- 2 viales de tampón de LS
- 1 vial de ADN polimerasa

ID de pocillo	Designación de muestra
	Muestra 1
	Muestra 1
	Muestra 2
	Muestra 2
	Muestra 3
	Muestra 3
	Vacío
	NTC
	Línea del indicador

#### Notas:

1. *Minimice el tiempo entre la adición de la muestra y el inicio del ciclo térmico.*
2. *No permita que la punta de la pipeta entre en contacto con el fondo del pocillo.*
3. *Transfiera cualquier muestra adicional de la punta de nuevo en el tubo para conservar el suministro (algunos pipetas de repetición tienen grandes volúmenes muertos).*
4. *Asegúrese de que la tira está completamente sellada. Cualquier orificio en las tiras puede provocar evaporación durante la amplificación.*
5. *Utilice agua para biología molecular.*

### Protocolo de configuración de muestras

1. Extraiga los siguientes reactivos del congelador:
  - a. Tampón de LS, ADN polimerasa y tubos de tiras LinkSēq.
  - b. Una vez descongelados, mantenga refrigerados el tampón de LS y el ADN polimerasa.
  - c. Asegúrese de que el contenido está en el fondo de los tubos antes de abrirlos.

- d. Después de que las tiras se hayan estabilizado a temperatura ambiente, centrifúguelas a 500-2000 G durante 30-60 segundos.
2. Haga un seguimiento de la muestra y de la identificación de las tiras en la hoja de referencia de la placa proporcionada para su entrada en SureTyper™.
  - a. Si trabaja con más de un tipo de prueba en los tubos de tiras, escriba el nombre de la prueba en la parte superior de la tira después de haber retirado los tapones de almacenamiento (indicados por color o línea de indicación del color).
  - b. Escriba el número de columna en el que se colocarán las tiras en el dispositivo en tiempo real en la pestaña inferior de la tira después de haber retirado los tapones de almacenamiento.

**Nota:** La línea del indicador naranja muestra la posición del pocillo NTC.

3. Prepare el vial del tampón de LS:
  - a. Añada **12 µl** de ADN polimerasa al vial del tampón de LS.
  - b. Cierre la tapa del vial y mezcle los reactivos invirtiendo el tubo 10 veces o mediante agitación de pulsos/vortical durante 5 segundos.

**Nota:** La cantidad de reactivo es suficiente para 6 tiras. Conserve el vial de tampón de LS con ADN polimerasa a 2-8 °C. Use los reactivos en un plazo de 3 meses.

4. Retire los tapones de almacenamiento y las tiras de etiquetado de conformidad con los pasos 2a y 2b anteriores.
5. Añada 5 µl del tampón de LS (que contiene ADN polimerasa) a cada pocillo en uso.
6. Añada 5 µl de agua de biología molecular a control sin plantilla (NTC) en el pocillo H.
7. Añada 5 µl de ADN y de agua de biología molecular a cada pocillo de la prueba en uso que no sea el pocillo del NTC.

(ADN total de entre 8 ng y 100 ng para cada pocillo de prueba)

- a. Si la concentración de ADN está entre 1,6 ng/µl y 20 ng/µl, añada 5 µl de solución de ADN a cada pocillo.
  - b. Si la concentración de ADN está entre 4 ng/µl y 50 ng/µl, añada 2 µl de muestra y 3 µl de agua de biología molecular en cada pocillo.
  - c. Si la concentración de ADN es inferior a 1,6 ng/µl, aumente la concentración de ADN antes de realizar la prueba.
8. Selle las tiras con los tapones de las tiras reactivas de PCR que se proporcionan.
  9. Centrifugue los pocillos de la tira para que todos los reactivos estén en el fondo de los pocillos y comience el paso 10 inmediatamente.
  10. Coloque la(s) tira(s) en el termociclador o en el instrumento de PCR en tiempo real. Si utiliza un termociclador, siga las instrucciones del fabricante. Comience la amplificación.

**Precaución:** Cuando coloque las tiras en el instrumento de PCR en tiempo real, asegúrese de colocarlas en la(s) ubicación(es) de la(s) columna(s) indicada(s) en la hoja de referencia de la placa del paso 2 anterior. La información de la columna será importante para el posterior análisis de los datos.

11. Si la amplificación se realiza en un termociclador, retire la bandeja en cualquier momento durante el paso de retención de 4 °C y disocie en el instrumento de PCR en tiempo real.
12. Después de completar la amplificación y la disociación, exporte los datos del instrumento de PCR en tiempo real de acuerdo con las instrucciones del manual de SureTyper™.

CE 0197