



# Protocolo Bionano Prep SP de aislamiento de ADN de tejidos y tumores

Número del documento: 30339

Revisión del documento: A

## Índice

---

Aviso legal .....	3
Historial de revisiones.....	4
Descripción general del flujo de trabajo .....	5
Kit de aislamiento de ADN de tejidos y tumores SP y materiales suministrados por el usuario.....	6
Introducción y notas importantes .....	7
Introducción.....	7
Descripción general.....	7
Notas importantes .....	7
Protocolo Bionano Prep SP de aislamiento de ADN de tejidos y tumores.....	10
Preparación para el aislamiento de gDNA de tejido y tumor fresco o congelado en fresco.....	10
Aislamiento de gDNA (4,5 horas) .....	11
Homogeneización de la solución de gDNA (70 minutos).....	16
Cuantificación de gDNA (45 minutos).....	17
Solución de problemas .....	19
El gDNA se libera del disco Nanobind.....	19
El gDNA no es homogéneo antes del marcaje .....	19
El gDNA no es viscoso.....	19
Preguntas frecuentes.....	20
¿Qué tipos de tejidos son compatibles con este protocolo? .....	20
¿Qué factores influirán en la calidad del gDNA? .....	20
¿Qué factores influirán en el rendimiento del gDNA? .....	20
¿Cuántas muestras se pueden procesar? .....	20
¿Qué conservantes de tejidos son compatibles con este protocolo?.....	20
Apéndice: Preparación de tejido o tumor fresco para su almacenamiento.....	21
Asistencia técnica.....	22

## Aviso legal

---

### **Para uso exclusivo en investigación. No debe utilizarse en procedimientos de diagnóstico.**

Este material está protegido por las leyes de derechos de autor de Estados Unidos y tratados internacionales. Se prohíbe el uso no autorizado de este material. Ninguna parte de la publicación puede copiarse, reproducirse, distribuirse, traducirse, someterse a ingeniería inversa o transmitirse de ninguna forma ni por ningún medio, ya sea conocido o desconocido, sin el permiso previo, expreso y por escrito de Bionano Genomics. Copiar, según la ley, incluye traducir a otro idioma o formato. Se pretende que la información técnica que se incluye en este documento se utilice para los destinos finales permitidos por la ley de EE. UU. Se prohíbe cualquier desviación contraria a la ley de EE. UU. Este documento representa la información más reciente disponible en el momento de su publicación. Debido a los esfuerzos continuos para mejorar el producto, pueden producirse cambios técnicos que no estén recogidos en este documento. Bionano Genomics se reserva el derecho de realizar cambios en las especificaciones y en el resto de la información contenida en esta publicación en cualquier momento y sin previo aviso. Póngase en contacto con el Servicio de soporte al cliente de Bionano Genomics para obtener la información más reciente.

BIONANO GENOMICS RENUNCIA A TODAS LAS GARANTÍAS CON RESPECTO A ESTE DOCUMENTO, EXPRESAS O IMPLÍCITAS, INCLUIDAS, ENTRE OTRAS, LAS DE COMERCIALIZACIÓN O IDONEIDAD PARA UN PROPÓSITO EN PARTICULAR. EN LA MAYOR MEDIDA PERMITIDA POR LA LEY, BAJO NINGUNA CIRCUNSTANCIA BIONANO GENOMICS SERÁ RESPONSABLE, YA SEA POR CONTRATO, AGRAVIO, GARANTÍA, O CONFORME A CUALQUIER ESTATUTO O CUALQUIER OTRO FUNDAMENTO DE DAÑOS ESPECIALES, INCIDENTALES, INDIRECTOS, PUNITIVOS, MÚLTIPLES O EMERGENTES QUE SE RELACIONEN CON ESTE DOCUMENTO O QUE SURJAN DE ESTE DOCUMENTO, INCLUIDO, ENTRE OTROS, SU USO, SEAN PREVISIBLES O NO E INDEPENDIENTEMENTE DE QUE BIONANO GENOMICS ESTÉ INFORMADO DE LA POSIBILIDAD DE TALES DAÑOS.

### **Patentes**

Es posible que los productos de Bionano Genomics® estén protegidos por una o más patentes estadounidenses o extranjeras.

### **Marcas comerciales**

El logotipo de Bionano Genomics y los nombres de los productos o servicios de Bionano Genomics son marcas comerciales registradas o marcas comerciales propiedad de Bionano Genomics en Estados Unidos y en otros países.

Bionano Genomics®, Irys®, IrysView®, IrysChip®, IrysPrep®, IrysSolve®, Saphyr®, Saphyr Chip®, Bionano Access® y Bionano EnFocus™ son marcas comerciales de Bionano Genomics, Inc. Las demás marcas comerciales son propiedad exclusiva de sus respectivos dueños.

No se otorga ni se da a entender ninguna licencia para utilizar ninguna marca comercial de Bionano Genomics. Los usuarios no pueden utilizar estas marcas comerciales sin previo consentimiento por escrito de Bionano Genomics. El uso de estas marcas registradas o de cualquier otro material, excepto en la medida en que lo permita este documento, está expresamente prohibido y puede infringir las leyes federales u otras leyes aplicables.

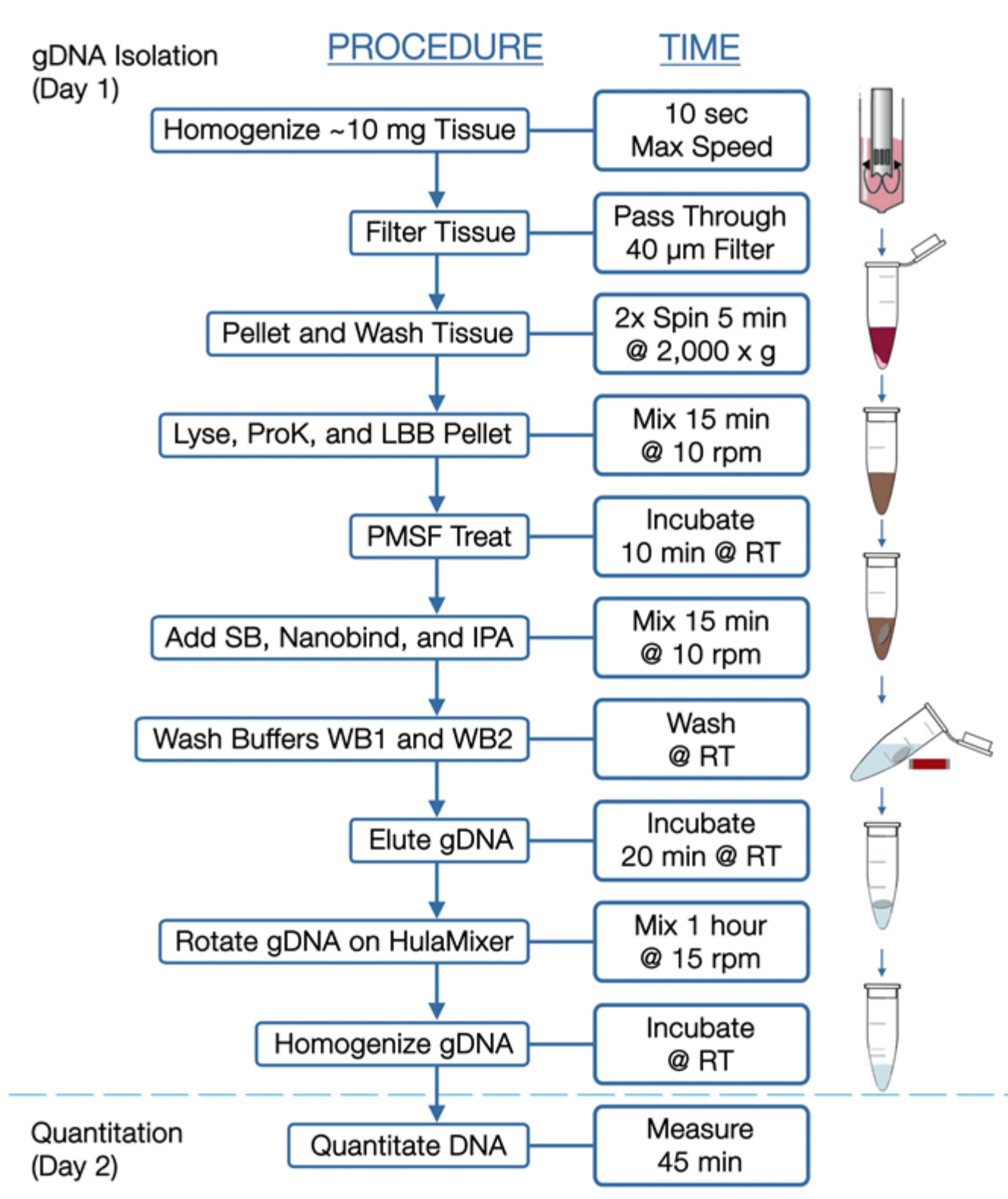
© Copyright 2022 Bionano Genomics, Inc. Todos los derechos reservados.

## Historial de revisiones

---

Revisión	Fecha de lanzamiento	Notas
A	04.15.2022	Publicación inicial. Traducido al español

## Descripción general del flujo de trabajo



## Kit de aislamiento de ADN de tejidos y tumores SP y materiales suministrados por el usuario

Tabla 1: Contenido del kit Bionano Prep SP de aislamiento de ADN de tumores y tejidos (N.º de referencia 80038, 10 preparaciones)

Artículo	Cantidad	Número de referencia	Almacenamiento
Discos Nanobind de 4 mm	10 discos	20402	Temperatura ambiente (entre 18 y 25 °C)
Tubos de microcentrifuga Protein LoBind de 1,5 ml	10 tubos	20380	Temperatura ambiente (entre 18 y 25 °C)
Tubos de microcentrifuga de 2 ml	10 tubos	20396	Temperatura ambiente (entre 18 y 25 °C)
Tamiz celular de 40 µm	10 unidades	20403	Temperatura ambiente (entre 18 y 25 °C)
Detergente	150 µl	20405	Temperatura ambiente (entre 18 y 25 °C)
Buffer salino	1,1 ml	20404	Temperatura ambiente (entre 18 y 25 °C)
Buffer de homogeneización	96 ml	20406	Temperatura ambiente (entre 18 y 25 °C)
Buffer de lavado A	12 ml	20407	Temperatura ambiente (entre 18 y 25 °C)
Proteinasa K	0,5 ml	20372	Temperatura ambiente (entre 18 y 25 °C)
Buffer de lisis y unión (LBB)*	2,5 ml	20375	Temperatura ambiente (entre 18 y 25 °C)
Buffer de lavado 1 concentrado (2,5 veces) (WB1)*	2 x 3,25 ml	20376	Temperatura ambiente (entre 18 y 25 °C)
Buffer de lavado 2 concentrado (2,5 veces) (WB2)	5 ml	20377	Temperatura ambiente (entre 18 y 25 °C)
Buffer de elución (EB)	1,1 ml	20378	Temperatura ambiente (entre 18 y 25 °C)
Fundas SP	10 cada uno	20381	Temperatura ambiente (entre 18 y 25 °C)

\* Consulte la sección de Notas importantes para obtener información sobre residuos peligrosos.

Tabla 2: Materiales proporcionados por el usuario

Artículo	Proveedor	N.º de catálogo
<b>Día 1 - Disrupción tisular, sedimentación, aislamiento y homogeneización del gDNA</b>		
Bionano Prep SP Magnetic Retriever (paquete de 2)	Bionano Genomics	80031
Rotor-estator: TissueRuptor (versión I o II)	QIAGEN o equivalente	9002755
Caja de enchufes (recomendada)	Proveedor general de suministros de laboratorio	
Sondas desechables para TissueRuptor	QIAGEN o equivalente	990890
Soporte de anillo y abrazadera de tres clavijas (p. ej., VWR 76293-368)	Proveedor general de suministros de laboratorio	
Gradilla de tubos magnética DynaMag-2	Thermo Fisher	12321D
Mezclador de muestras HulaMixer	Thermo Fisher	15920D
Bandeja para pesar	Proveedor general de suministros de laboratorio	
Báscula de precisión	Proveedor general de suministros de laboratorio	
Tubos de microcentrifuga de 1,5 ml, sin nucleasas	VWR	87003-294
Tubos con tapa de rosca con junta tórica, 1,5 ml	Proveedor general de suministros de laboratorio	
Cuchilla de afeitar	Proveedor general de suministros de laboratorio	
Cabina de bioseguridad (opcional)	Proveedor general de suministros de laboratorio	
Hielo seco (opcional)	Proveedor general de suministros de laboratorio	
Bloque de aluminio	Proveedor general de suministros de laboratorio	
Espátula de metal	VWR	82027-530
Solución de fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF), 100 mM	Sigma-Aldrich	93482
Etanol al 100%, grado de biología molecular	Sigma-Aldrich	E7023
Isopropanol (IPA), ≥99,5 %, grado de biología molecular	Fisher Scientific	A461-212
Concentrado desinfectante, TexQ TX651	Texwipe	TX651
Tubos de centrifuga cónicos de 50 ml, PP	Thermo Fisher o equivalente	14-432-22
Tubos de centrifuga cónicos de 15 ml, PP	Thermo Fisher o equivalente	05-539-12
Centrífuga refrigerada con rotor para tubos de 1,5/2,0 ml (centrifugado de 2000 x g)	Proveedor general de suministros de laboratorio	
Centrífuga refrigerada, rotor de cestillo basculante para tubos cónicos de 15 ml	Proveedor general de suministros de laboratorio	
Cubo de hielo y hielo	Proveedor general de suministros de laboratorio	
Pipetas desechables estériles de 5 y 10 ml (TD +)	Proveedor general de suministros de laboratorio	
Minimicrocentrifuga de sobremesa (2000 x g)	Labnet	C1301B
Pinzas puntiagudas	Electron Microscopy Sciences o equivalente	78141-01
Puntas de pipeta de calibre ancho, con filtro, aerosol, 200 µl	VWR o equivalente a Rainin	46620-642
Puntas extralargas de 1000 µl, estériles	VWR o equivalente a Rainin	16466-008

Pipetas (10, 20, 200 y 1000 µl) sin nucleasas, con filtro Puntas de pipeta	Proveedor general de suministros de laboratorio	
<b>Día 2: Cuantificación</b>		
Agitador vórtex de sobremesa	Proveedor general de suministros de laboratorio	
Baño ultrasónico (opcional)	Branson o equivalente	CPX 952-119R
Fluorímetro, Qubit	Thermo Fisher o equivalente	Q33216
Kit de análisis de dsDNA Qubit® BR (rango amplio)	Thermo Fisher o equivalente	Q32853
Tubos de ensayo Qubit	Thermo Fisher	Q32856
Pipeta de desplazamiento positivo MR-10 (opcional)	Rainin o equivalente	17008575
Puntas de pipeta, 10 µl, C-10 para desplazamiento positivo Pipeta (opcional)	Rainin o equivalente	17008604

## Introducción y notas importantes

### Introducción

Este protocolo Bionano Prep SP de aislamiento de ADN de tejidos y tumores puede proporcionar gDNA de peso molecular ultraalto (UHMW) en menos de 6 horas a partir de un lote de hasta 8 muestras (hasta 4 recomendadas para usuarios nuevos) con aproximadamente 10 mg de tumor o tejido fresco o congelado en fresco. Se utiliza un procedimiento de homogeneización, lisis, unión, lavado y elución que es común para las tecnologías de extracción de gDNA basadas en sílice en combinación con un nuevo disco paramagnético. A diferencia de las perlas magnéticas y las columnas de rotación de sílice, que cortan el gDNA de gran tamaño, el disco Nanobind se une y libera el gDNA con una fragmentación significativamente menor, lo que da como resultado un gDNA de UHMW. La alta capacidad de unión del gDNA es el resultado de una nueva sílice nanoestructurada en el exterior del disco paramagnético termoplástico. Este protocolo se ha utilizado para procesar tejidos de hígado, pulmón, riñón, colon, ovario, próstata, testículos y útero de ratas Brown Norway y tumores de vejiga, pulmón, hígado, riñón, colon, mama, próstata, cerebro, tiroides y ovario humanos. Este protocolo fue completamente validado en réplica por múltiples usuarios mediante la prueba de tumores humanos de hígado, pulmón y mama, y riñón de rata normal. El gDNA preparado con este protocolo se ha probado con marcaje DLS. Vea los vídeos para la [Homogeneización y filtración de tejido](#) y aislamiento de gDNA SP [Vídeo de formación](#) para conocer los pasos críticos y la solución de problemas; los pasos mencionados en el vídeo corresponden al protocolo Bionano Prep SP de aislamiento de ADN a partir de sangre humana congelada ([30246](#)), pero son los mismos procesos que se detallan aquí.

### Descripción general

Después de la homogeneización en un buffer que contiene etanol, se producen la lisis de tejido y la digestión con proteinasa K en un buffer caotrópico y el gDNA liberado se une al disco Nanobind tras la adición del buffer salino e isopropanol.

Después de cuatro pasos de lavado, el disco se transfiere a un tubo nuevo y el gDNA se eluye del disco.

El gDNA de UHMW recuperado se somete a un cizallamiento limitado para hacer que el gDNA de UHMW sea más homogéneo. A continuación, el gDNA se mezcla y se atempera durante la noche a temperatura ambiente para facilitar la homogeneidad del ADN y se determina la concentración. El intervalo característico de tamaño de gDNA es de 50 Kbp a  $\geq 1$  Mbp.

### Notas importantes

#### Homogeneidad del ADN

El gDNA recuperado se somete a la mezcla con pipeta utilizando la punta de una pipeta estándar de 200 µl para aumentar la homogeneidad, lo que garantiza un muestreo de ADN uniforme para el marcaje.

### Cuantificación de gDNA

La cuantificación del gDNA se utiliza para medir la concentración y sirve como indicador de la homogeneidad del gDNA de UHMW. La cuantificación de Invitrogen™ Qubit™ se utiliza en lugar de otros métodos de cuantificación, ya que también se puede utilizar para medir la concentración de gDNA de la reacción de marcaje y es más precisa que las lecturas del espectrofotómetro para nuestras muestras. El análisis de dsDNA de rango amplio (BR) Qubit mide la concentración de gDNA después del aislamiento, mientras que el análisis de dsDNA de alta sensibilidad (HS) mide la concentración de gDNA después del marcaje.

Para medir la homogeneidad del gDNA, es esencial medir la concentración de gDNA en múltiples posiciones en la solución. Dado que el gDNA viscoso es difícil de pipetear, siga las pautas de las secciones Notas importantes y Cuantificación de gDNA a continuación para un pipeteo preciso. Los análisis estándar para la cuantificación de la concentración de gDNA no proporcionarán mediciones precisas de gDNA largo debido a su naturaleza viscosa.

- Para una cuantificación precisa, es necesaria la fragmentación eficaz del gDNA muestreado mediante sonicación o agitación intensa con vórtice.
- El coeficiente de variación (CV) de tres muestras únicas debe ser inferior a 0,30.
- La concentración típica de gDNA es 50-300 ng/μl.

### Pipeteo de ADN genómico viscoso (gDNA)

Para extraer gDNA viscoso, sujete el tubo de la muestra original para una visualización de cerca, presione el émbolo de la pipeta hasta el primer tope, sumerja la punta de la pipeta y suelte el émbolo con cuidado y lentamente para comenzar a extraer el gDNA viscoso en la punta mientras se controla cuidadosamente la absorción. Mantenga la punta sumergida incluso después de que la solución viscosa deje de moverse hacia arriba y se nivele. Sea paciente. El gDNA viscoso puede tardar unos segundos en alcanzar los 2 μl. Si suelta el émbolo demasiado rápido se podría producir una burbuja en la punta, lo cual derivaría en una muestra insuficiente (comience de nuevo si esto ocurre). Después de que la solución de la punta se haya nivelado y mientras la punta todavía esté sumergida en la solución de gDNA, raspe la punta contra el fondo del tubo de 3 a 5 veces con un movimiento circular. Extraiga la punta de la solución de gDNA e inspecciónela visualmente para confirmar que esté llena hasta 2 μl. Si retira la punta de la pipeta de la solución de gDNA demasiado pronto, o la raspa de manera ineficaz para romper las hebras de gDNA de la punta, podría producirse una burbuja en la punta de la pipeta, lo cual indicaría una muestra insuficiente (comience de nuevo si esto sucede).

### Manipulación del gDNA

- La mezcla del gDNA recuperado siempre se lleva a cabo con la punta de una pipeta de calibre ancho para evitar el cizallamiento.
- El gDNA recuperado nunca debe congelarse ni agitarse en vórtex.
- El pipeteo del gDNA recuperado para obtener un muestreo preciso siempre se realiza con la punta de una pipeta estándar o de una pipeta de desplazamiento positivo.

### Características del gDNA de alta calidad para mapeo Bionano

- Una solución transparente de gDNA es ideal, pero una solución poco clara no siempre se correlaciona con una mala calidad de la muestra.
- El gDNA recuperado en solución es viscoso.
- La presencia de gDNA de tamaño de megabases se mide mediante electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE).



- El gDNA recuperado es homogéneo cuando se mide con el análisis Qubit de cuantificación del gDNA con un CV  $\leq 0,30$ .

#### Uso del Bionano Prep SP Magnetic Retriever

- a. Sostenga una funda de plástico por los lados cerca de la parte superior e inserte el Bionano Prep SP Magnetic Retriever en la funda, colocándolo de manera que quede asentado en la parte inferior de la funda.
- b. Inserte el recuperador enfundado en el tubo Protein LoBind para atraer el disco Nanobind al recuperador en la funda.
- c. Levante con cuidado el recuperador enfundado con el disco atado fuera del tubo e inserte el recuperador enfundado en un nuevo tubo Protein LoBind.
- d. Sosteniendo la funda por el lado cerca de la parte superior, con una mano tire del recuperador hacia arriba hasta que el disco Nanobind se disocie de la funda y caiga en el nuevo tubo.
- e. Cambie la funda para cada nueva muestra.

#### Entrada sugerida (mg de tejido) y calidad del tejido

- Recomendamos comenzar con 10 mg, donde se pueden usar tan solo 5 mg y 20 mg o más dependiendo del contenido de núcleos del tejido en relación con la masa de tejido.
- Si es posible, recomendamos encarecidamente preparar pedazos de tejido de ~10 mg antes de congelar el tejido. Idealmente, pese previamente el tejido fresco antes de congelarlo rápidamente y almacenarlo a  $-80^{\circ}\text{C}$ .
- Recomendamos utilizar tejidos frescos o congelados instantáneamente que estén libres de restos óseos, coágulos de sangre y necrosis extensa.
- Las muestras quirúrgicas deben almacenarse en hielo húmedo o en PBS helado lo antes posible para minimizar la degradación del ADN antes de cortar o congelar rápidamente.
- Los tejidos comprometidos (no manipulados o almacenados adecuadamente) o los tejidos que han pasado por ciclos de congelación-descongelación deben evitarse para el aislamiento del ADN de UHMW.
- La tasa de éxito interna del ADN UHMW aislado de muestras tumorales con alto RIN (número de integridad del ARN)  $\geq 9,0$  fue  $>90\%$ , mientras que la tasa de éxito del ADN UHMW aislado de un número limitado de muestras tumorales con RIN significativamente menor (de 5 a 6) fue menor ( $<50\%$ ).

#### Tamaño del lote

- Recomendamos procesar hasta 8 muestras a la vez (hasta 4 a la vez para usuarios nuevos).

#### Eliminación de residuos peligrosos

Todos los residuos con riesgos biológicos, incluidos los artículos de plástico, deben eliminarse de acuerdo con las normativas locales.

Los buffers LBB y WB1 contienen clorhidrato de guanidina (GuHCl). El GuHCl es dañino si se ingiere o inhala y causa irritación de la piel y los ojos. NO lo mezcle con lejía o reactivos ácidos. Los residuos líquidos que contienen GuHCl deben descontaminarse de manera segura con un desinfectante de amonio cuaternario antes de eliminarlos en una corriente de residuos peligrosos. Recomendamos lejía para la descontaminación del sobrenadante de pellet y TexQ para la descontaminación de todas las soluciones.

mezclado con GuHCl. Esto cumple con los requisitos de eliminación del estado de California, EE. UU., pero puede ser diferente en su ubicación. Consulte los requisitos locales para la descontaminación y eliminación.

## Protocolo Bionano Prep SP de aislamiento de ADN de tejidos y tumores

---

### Preparación para el aislamiento de gDNA de tejido y tumor fresco o congelado en fresco

**Nota:** para obtener los mejores resultados, recomendamos preparar el tejido como se describe en el Apéndice.

#### Antes del primer uso

- Verifique el acceso a una centrífuga refrigerada con rotor de cestillo basculante que pueda acomodar tubos cónicos de polipropileno de 15 ml para sedimentar el homogeneizado.
- Verifique que la velocidad de centrifugado de la minimicrocentrífuga refrigerada de sobremesa sea de 2000 x g.
- El PMSF se descompone rápidamente en soluciones acuosas. Cree alícuotas de 120 µl en tubos con tapa de rosca de 1,5 ml y almacene la muestra original y las alícuotas protegidas de la luz a 4 °C. Cada alícuota será suficiente para diez aislamientos de gDNA.
- Agregue 125 µl de detergente Bionano Prep al tubo de buffer de lisis y unión (LBB) e invierta 10 veces para mezclar. Marque el tubo LBB en el que se agregó el detergente.
- Agregue etanol al 100 % al buffer de homogeneización y buffers de lavado (WB1 y WB2), invierta 10 veces para mezclar y marque las casillas de «Etanol agregado»:
  - Agregue 96 ml de etanol al 100 % al buffer de homogeneización para obtener un volumen final de 192 ml.
  - Agregue 5 ml de etanol al 100 % al buffer de lavado 1 (WB1) para obtener un volumen final de 8,25 ml.
  - Agregue 7,5 ml de etanol al 100 % al buffer de lavado 2 (WB2) para obtener un volumen final de 12,5 ml.

#### Configuración

- Ajuste la centrífuga de cestillo basculante refrigerada y la microcentrífuga refrigerada a 4 °C.
- Inmovilice el TissueRuptor (Qiagen) en un soporte vertical. Conecte el TissueRuptor a un interruptor de la caja de enchufes.
- Reúna los materiales (consulte la sección «Material suministrado por el usuario» más arriba). Buffer de homogeneización de preenfriamiento, buffer de lavado A y sonda(s) TissueRuptor.
- Para la eliminación de residuos, prepare tubos cónicos de 50 ml (1 tubo por cada 2 muestras) con 100 µl de descontaminante TexQ por muestra (para eliminarlos como residuos peligrosos).
- Por cada muestra, etiquete dos tubos cónicos de 15 ml y un tubo cónico de 50 ml y colóquelos en hielo. Coloque un tamiz celular de 40 µm (Bionano) en el tubo cónico de 50 ml.
- Por cada muestra, etiquete dos tubos Protein LoBind de 1,5 ml (Bionano) y un tubo de 2,0 ml (Bionano). Coloque uno de los tubos Protein LoBind de 1,5 ml etiquetados en hielo.
- Invierta los tubos con PMSF y proteinasa K (Bionano) tres veces para mezclar y dé un golpe de centrifuga brevemente. Coloque el PMSF en hielo.
- Por conveniencia, todos los buffers utilizados a 4 °C en este protocolo se pueden almacenar a largo plazo a 4 °C.

## Aislamiento de gDNA (4,5 horas)

**Nota:** para obtener instrucciones importantes sobre la preparación de tejido congelado, consulte el Apéndice.

1. Por cada muestra de tejido, agregue 2 ml de buffer de homogeneización de tejidos y tumores Bionano Prep SP enfriado a un tubo cónico de 15 ml y manténgalo en hielo.
2. Tome tejido y prepare porciones de ~10 mg (consulte la sección Entrada sugerida más arriba):

**Nota:** minimice la exposición del tejido a temperatura ambiente mientras corta porciones de ~10 mg. Si una porción se pesa fuera del intervalo de 9 a 13 mg, se recomienda desechar esa porción y cortar una nueva pieza (si hay más tejido disponible).

- a. Para **tejido fresco**: utilice un bloque de aluminio esterilizado y enfriado con hielo como superficie de corte, corte el tejido con una hoja de cuchilla esterilizada y unas pinzas y pese ~10 mg en una bandeja para pesar en una balanza de precisión (si aún no se conoce el peso).
- b. Para tejido **congelado**:
  - 1) Si el trozo de tejido no mide más de 2 x 2 x 4 mm, córtelo en una bandeja para pesar con una hoja de cuchilla esterilizada y unas pinzas en un bloque de aluminio enfriado con hielo. Pese ~10 mg en una bandeja para pesar diferente y deseche el resto o vuelva a congelar y almacenar a -80 °C para aislar el ADN que no tiene que ser UHMW.
  - 2) Si el trozo de tejido es más grande y no necesita tomar una muestra de una región específica del tejido, coloque el tejido congelado en una bolsa de plástico que se haya enfriado en un bloque de aluminio refrigerado con hielo seco, selle la bolsa y rompa el tejido en fragmentos más pequeños con la ayuda de un mazo grande o un martillo. Extraiga un trozo pequeño y trátelo como se indicó anteriormente (Paso 2.b.1). Los fragmentos restantes se pueden volver a poner a -80 °C para su almacenamiento.
  - 3) Si el trozo de tejido es más grande y necesita tomar una muestra de una región específica del tejido, coloque el tejido congelado en una bandeja para pesar sobre un bloque de aluminio preenfriado (-20 °C) y corte un trozo pequeño con un bisturí u hoja de cuchilla y pinzas. Pese ~10 mg en una bandeja para pesar diferente y coloque el trozo de tejido grande restante nuevamente a -80 °C para su almacenamiento.

**Nota:** si el tejido es fibroso, se recomienda cortar el tejido en trozos pequeños en la bandeja para pesar (1-2 mm)

3. Con una espátula de metal esterilizada previamente enfriada, transfiera de inmediato el tejido cortado al tubo cónico de 15 ml etiquetado que contiene buffer de homogeneización. Asegúrese de que los trozos de tejido estén sumergidos en el buffer de homogeneización y que el tubo cónico esté colocado en hielo. Transfiera la sonda preenfriada al tubo cónico.
4. Repita los pasos 2 a 3 para preparar cada muestra adicional, hasta 8 muestras en total.

**Nota:** antes de continuar con el siguiente paso, asegúrese de colocar cada muestra de tejido o tumor en un buffer de homogeneización cónico de 15 ml y una sonda TissueRuptor en hielo. Vea el vídeo [Homogeneización y filtración](#) de tejidos y tumores para conocer los pasos 5 a 11.

5. Extraiga los tubos cónicos del hielo de uno en uno y conecte firmemente la sonda al dispositivo TissueRuptor mientras sostiene el cónico. Sostenga el tubo de tal manera que la punta de la sonda TissueRuptor quede sumergida en el buffer y muy cerca del fondo del tubo.
6. Pulse el TissueRuptor con el interruptor de la caja de enchufes encendiéndolo y apagándolo. Verifique si el pellet del tejido se ha roto. Si el tejido es particularmente denso, pulse de 2 a 3 veces más para romperlo y lograr una homogeneización completa.

**Nota:** asegúrese de que el tejido no se adhiera a la pared del tubo ni a la punta de la sonda. Sumerja el tejido en buffer de homogeneización con una espátula si es necesario. Si el tejido es fibroso, recomendamos cortar el tejido en trozos pequeños antes de la homogeneización con el TissueRuptor.

7. Mezcle continuamente durante 10 segundos a velocidad máxima con la punta de la sonda sumergida en todo momento. Mueva el tubo en un movimiento circular de arriba hacia abajo durante la mezcla para aumentar la eficiencia de la homogeneización. Al final de la mezcla, apague el interruptor de la caja de enchufes conectado al TissueRuptor, extraiga la sonda del TissueRuptor y vuelva a poner el tubo (con la sonda en el tubo) en hielo.

**Nota:** el tubo cónico debe volver a colocarse inmediatamente después de la homogeneización para garantizar la máxima calidad de ADN.

8. Repita los pasos 5 a 7 para las demás muestras. Hasta 8 muestras en total.
9. Enjuague la punta de cada sonda con 6 ml de buffer de homogeneización helado utilizando una pipeta y recoja en el mismo tubo cónico. Deseche la sonda correctamente (riesgo biológico potencial).
10. Decante el homogeneizado a través de un tamiz celular de 40  $\mu\text{m}$  en la parte superior del tubo cónico de 50 ml etiquetado que se coloca en hielo. Conserve el tubo cónico para el siguiente paso.
11. Agregue 6 ml adicionales de buffer de homogeneización helado al tubo cónico de 15 ml y agite para enjuagar los residuos de los lados del tubo, y luego vierta sobre el tamiz celular, y recoja en el mismo tubo cónico de 50 ml. Deseche el tamiz celular correctamente (riesgo biológico potencial).

**Nota:** si el homogeneizado no pasa a través del tamiz celular, levante y baje brevemente el tamiz para ayudar a que fluya.

12. Pipetee todo el volumen 2 veces antes de transferir el homogeneizado a un nuevo tubo cónico de 15 ml y colocar la tapa.
13. Centrifugue a 2000 x g durante 5 minutos a 4 °C utilizando un rotor de cestillo basculante (ajuste la aceleración y desaceleración en 9).
14. Decante el sobrenadante en los desechos TexQ (riesgo biológico potencial) inmediatamente después de que se detenga la centrifugadora, coloque el tubo cónico en hielo durante 30 segundos y use una pipeta de 1000  $\mu\text{l}$  para extraer la mayor cantidad de líquido residual posible sin alterar el pellet (dejando <200  $\mu\text{l}$  de volumen).
15. Agregue 300  $\mu\text{l}$  de buffer de lavado A, resuspenda el pellet con una punta de 1000  $\mu\text{l}$  (ajustada a 300  $\mu\text{l}$ ) pipeteando lentamente hacia arriba y hacia abajo 5 veces. Transfiera todo el volumen de suspensión a un tubo de Protein LoBind de 1,5 ml previamente etiquetado y enfriado con una punta de 1000  $\mu\text{l}$ . Conserve el tubo cónico para el siguiente paso.

16. Agregue 700 µl de buffer de lavado A adicionales al tubo cónico de 15 ml, pipetee suavemente 2 veces para mezclar y transfiera todo el volumen al mismo tubo Protein LoBind de 1,5 ml preenfriado etiquetado con una punta de 1000 µl.
17. Centrifugue a 2000 x g durante 5 minutos a 4 °C.
18. Sin alterar el pellet, aspire el sobrenadante para dejar aproximadamente 40 µl de volumen. Deseche el sobrenadante en los residuos TexQ (riesgo biológico potencial). Coloque el tubo en hielo durante 30 segundos.
19. Resuspenda el pellet en el volumen residual 10 veces con una punta estándar de 200 µl. Los volúmenes residuales pueden diferir.

#### Lise y digiera células

20. Agregue 50 µl de proteinasa K al tubo de Protein LoBind y tape el tubo. NO PIPETEE LA MEZCLA.
21. Incube a temperatura ambiente durante 3 minutos.
22. Agregue 225 µl de buffer LBB, que contiene detergente, a la muestra con una punta de 1000 µl. Tape e invierta el tubo 15 veces para mezclar.  
**Nota:** el buffer LBB con detergente es una solución viscosa y espumosa que se adhiere a la punta de la pipeta. Dispense lentamente y cambie las puntas entre dispensación para garantizar la precisión del volumen dispensado.
23. Centrifugue la muestra en HulaMixer durante 15 minutos a temperatura ambiente a 10 rpm. No sacuda ni produzca vibraciones.
24. Dé un golpe de centrifuga al tubo durante 2 segundos para recoger el líquido en el fondo del tubo.
25. Agregue 10 µl de PMSF 100 mM en la porción líquida del tubo. Tape e invierta el tubo 5 veces para mezclar y dé un golpe de centrifuga al tubo durante 2 segundos para recoger el líquido en el fondo del tubo.
26. Incube a temperatura ambiente durante 10 minutos.

#### El gDNA se une, lava y eluye

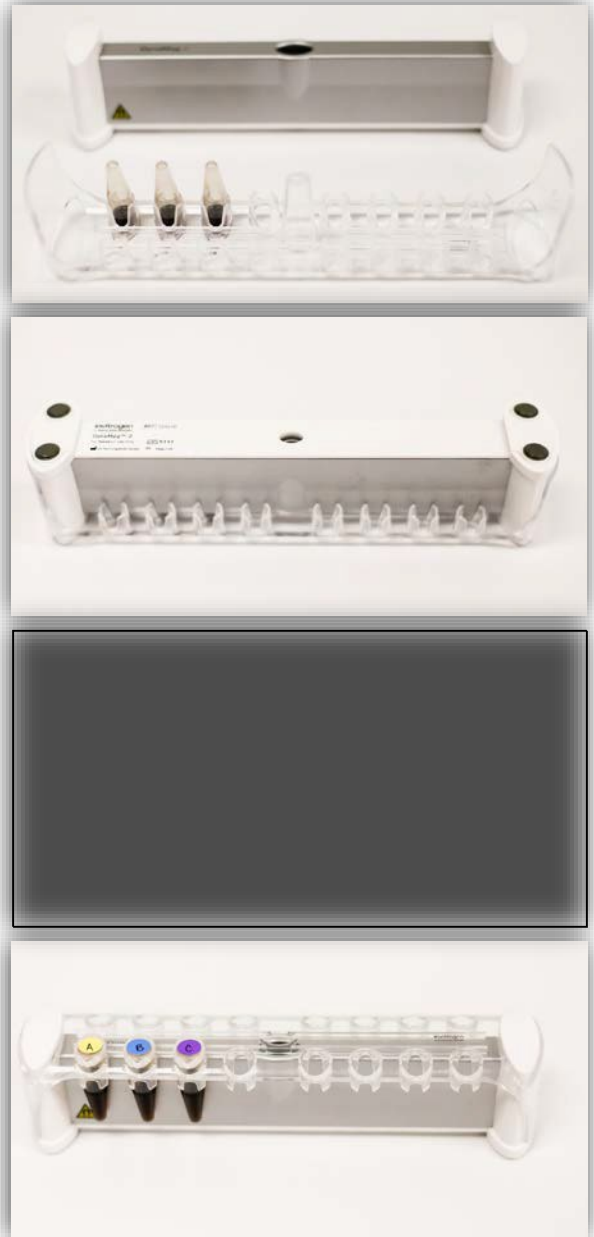
27. Agregue 85 µl de buffer salino Bionano Prep al tubo, tape e invierta 10 veces, y dé un golpe de centrifuga al tubo durante 2 segundos.
28. Con unas pinzas, transfiera cuidadosamente un solo disco Nanobind de 4 mm al lisado.  
**Nota:** a veces los discos se pueden adherir unos a otros.
29. Agregue 400 µl de isopropanol al 100 % al tubo. Tape e invierta el tubo 5 veces para mezclar.
30. Centrifugue la muestra en HulaMixer durante 15 minutos a temperatura ambiente a 10 rpm. No sacuda ni produzca vibraciones.  
**Nota:** asegúrese de que el disco Nanobind no permanezca en la tapa del tubo durante las rotaciones iniciales. Si es así, apague el rotador e invierta el tubo hasta que el disco Nanobind vuelva a la solución. Vuelva a colocar el tubo en el HulaMixer y reanude la mezcla.
31. Examine la asociación de gDNA con el disco Nanobind e invierta para aumentar la unión (vea el [Video de formación](#), 0:25):
  - a. Coloque los tubos de muestra en una gradilla de tubos Dynamag transparente e inspeccione visualmente todos los tubos de la gradilla para asegurarse de que el gDNA esté anclado al disco Nanobind.

- b. Si las hebras de gDNA cuelgan visiblemente bajas, invierta rápidamente a 180° para que el gDNA se asocie más con el disco Nanobind.
- c. Se pueden realizar inversiones a 180° muchas veces hasta que la asociación del gDNA con el disco Nanobind parezca mantenerse sin cambios.

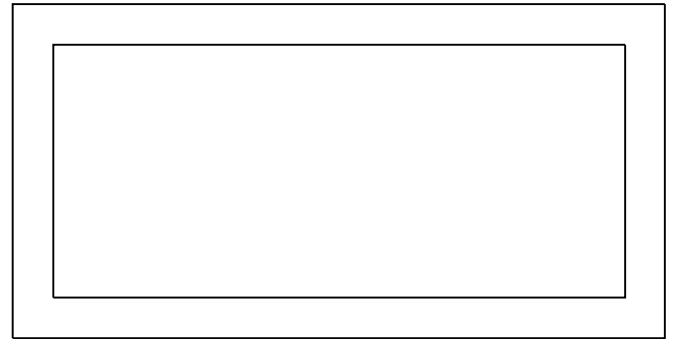
32. Combine la gradilla transparente con la base magnética como se describe a continuación y compruebe que el disco Nanobind esté fijado por el imán cerca de la parte superior del nivel de líquido. Si no es así, vuelva a colocar el tubo en la gradilla (vea el [Video de formación](#), 0:50).

**Nota:** el color del líquido de las siguientes imágenes se modificó con fines ilustrativos.

- a. Invierta la gradilla de tubos Dynamag transparente y colóquela boca abajo con las tapas de las muestras tocando la superficie de trabajo. Los tubos estarán en la misma fila de la gradilla y en la fila más alejada de usted.
- b. Invierta la base magnética Dynamag y bájela sobre una gradilla transparente.
- c. Incline el aparato combinado lentamente a 90 ° hacia usted mientras continúa apoyado en la superficie. Los tubos ahora estarán horizontales y visibles para usted.
- d. Incline el aparato combinado lentamente a 90 ° hacia usted mientras continúa apoyado en la superficie, de modo que quede completamente erguido y los tubos estén frente a usted.



- e. Asegúrese de que el disco Nanobind esté sujeto al imán cerca de la parte superior del nivel de líquido.



- 33. Prepare una pipeta de 1000 µl en 1000 µl y una segunda en 700 µl.
- 34. Extraiga el sobrenadante como se describe a continuación, con cuidado de no aspirar el gDNA (vea el [Video de formación](#), 1:15):
  - a. Incline toda la gradilla a un ángulo de 45° sosteniéndola con una mano (agarre todo el aparato desde abajo con los tubos visibles y las tapas hacia la otra mano).
  - b. Espere 2 segundos para que el gDNA se coloque en el disco Nanobind.
  - c. Extraiga lentamente todo el líquido con una punta extralarga de 1000 µl en ángulo hacia el exterior del disco Nanobind o gDNA para evitar interrupciones.
  - d. Dispense el sobrenadante en un tubo cónico que contenga TexQ.

⚠ Asegúrese de que el gDNA no se elimine inspeccionando visualmente la punta que contiene el buffer antes de desecharlo. Si el gDNA se aspira accidentalmente o se suelta del disco, consulte la sección Solución de problemas a continuación.

- 35. Realice el lavado con WB1 (vea el [Video de formación](#), 2:21):
  - a. Dispense 700 µl de buffer WB1 directamente sobre los discos de los tubos y los tubos con tapa.
  - b. Levante la gradilla de tubos transparente para separarla de la base magnética.
  - c. Invierta la gradilla transparente con los tubos a 180° 4 veces para lavar.
  - d. Vuelva a colocar la gradilla para tubos transparente y los tubos con base magnética como se describe en el Paso 32.
  - e. Extraiga el sobrenadante como se describe en el Paso 34.

⚠ Asegúrese de que el gDNA no se elimine inspeccionando visualmente la punta que contiene el buffer antes de desecharlo. Si el gDNA se aspira accidentalmente o se suelta del disco, consulte la sección Solución de problemas a continuación.

- 36. Repita el lavado con WB1, Paso 35.
- 37. Ajuste la segunda pipeta a 500 µl (anteriormente a 700 µl).
- 38. Realice el lavado con WB2 (vea el [Video de formación](#), 4:10):
  - a. Dispense 500 µl de Buffer WB2 directamente sobre los discos de los tubos y tápelos.
  - b. Levante la gradilla transparente para separarla de la base magnética.
  - c. Invierta la gradilla transparente a 180° 10 veces para lavar.
  - d. Vuelva a colocar la gradilla para tubos transparente y los tubos con base magnética como se describe en el Paso 32.
  - e. Extraiga el sobrenadante como se describe en el Paso 34.

⚠️ Asegúrese de que el gDNA no se elimine inspeccionando visualmente la punta que contiene el buffer antes de desecharlo. Si el gDNA se aspira accidentalmente o se suelta del disco, consulte la sección Solución de problemas a continuación.

39. Repita el lavado con WB2, Paso 38 (vea el [Video de formación](#), 5:50).

**Nota:** extraiga el buffer de 2 o 3 tubos cada vez y procese a través del paso de incubación del buffer EB en lotes pequeños para evitar que el disco o el gDNA se seque.

40. Abra completamente la tapa del tubo (paralela a la mesa de laboratorio) y separe cada tubo de la base.

41. Cerca de un nuevo tubo Protein LoBind, transfiera el disco Nanobind a un nuevo tubo Protein LoBind utilizando el Bionano Prep SP Magnetic Retriever (consulte la sección de Notas importantes para conocer el uso adecuado). Tape el tubo para evitar que el disco se seque (vea el [Video de formación](#), 7:30).

42. Agregue 65 µl del buffer EB al tubo Protein LoBind.

43. Dé un golpe de centrifuga en una microcentrifuga de sobremesa durante 5 segundos.

44. Con una punta estándar de 10 µl, empuje suavemente el disco Nanobind hacia la parte inferior del tubo y asegúrese de que esté completamente sumergido en el líquido. El disco debe permanecer paralelo a la superficie de la mesa (vea el [Video de formación](#), 8:20).

45. Incube el disco Nanobind sumergido en el buffer EB a temperatura ambiente durante 20 minutos.

46. Recoja el gDNA extraído transfiriendo el eluido a un tubo de 2,0 ml previamente etiquetado con una punta estándar de 200 µl.

47. Dé un golpe de centrifuga al tubo con el disco Nanobind en una microcentrifuga de sobremesa durante 5 segundos y transfiera todo el eluido restante que contiene gDNA viscoso al mismo tubo estándar de 2,0 ml que en el paso anterior con una punta estándar de 200 µl. Puede retirar el disco antes de aspirar el buffer de elución restante.

**Nota:** casi todo el gDNA viscoso sale del disco Nanobind durante el golpe de centrifuga.

## Homogeneización de la solución de gDNA (70 minutos)

### Homogeneización de la solución de gDNA

48. Pipetee lentamente todo el volumen de gDNA con una punta de 200 µl de calibre estándar y luego dispense lentamente el gDNA.

Evite la formación de burbujas.

- Repita este proceso 3 veces para un total de 4 pasadas: (1 pasada = 1 aspiración y 1 dispensación).

**Nota:** si la absorción de gDNA se detiene debido a la alta viscosidad, puede ser necesario agitar suavemente mientras suelta lentamente el émbolo para retirar el gDNA.

49. Coloque un tubo estándar de 2,0 ml que contenga gDNA en una gradilla de HulaMixer y gírelo a temperatura ambiente durante 1 hora a 15 rpm.



**Nota:** durante las rotaciones iniciales, asegúrese de que el gDNA se extraiga de la parte inferior del tubo para quedarse en la tapa del tubo durante las rotaciones. Si la solución de ADN permanece en el fondo del tubo durante las rotaciones iniciales, apague el HulaMixer y coloque la gradilla de modo que el tubo esté orientado al revés. Golpee suavemente la parte inferior del tubo hasta que el gDNA se introduzca en la tapa y reanude la mezcla.

50. Extraiga el tubo de la gradilla del HulaMixer y dé un golpe de centrifuga en una microcentrifuga de sobremesa durante 2 segundos para llevar el gDNA al fondo del tubo. Deje que el gDNA se equilibre durante la noche a temperatura ambiente (25 °C) para homogeneizar.

**Nota:** la mayoría de las muestras se volverán homogéneas al tercer día (desde el inicio del protocolo), pero las muestras pueden marcarse tan pronto como se vuelvan homogéneas.

## Cuantificación de gDNA (45 minutos)

### Cuantificación Qubit - Análisis BR dsDNA

Consulte el manual de usuario del kit de análisis Qubit dsDNA BR para obtener detalles del kit y siga los métodos descritos en la sección «Pipeteo de ADN genómico viscoso» para garantizar un pipeteado preciso del gDNA viscoso.

1. Equilibre los patrones del kit de análisis Qubit BR a temperatura ambiente.

**Nota:** si el gDNA se almacenó a 4 °C, equilibre a temperatura ambiente antes de pasar al siguiente paso.

2. Agregue el buffer Qubit BR a los tubos de ensayo Qubit de 0,5 ml:
  - a. Por cada muestra, agregue 18 µl de buffer Qubit BR a tres tubos de ensayo Qubit separados.
  - b. En cuanto a los patrones Qubit, agregue 10 µl de buffer Qubit BR a dos tubos de ensayo Qubit separados.
3. Con una pipeta de 200 µl con una punta de calibre ancho, mezcle suavemente todo el volumen de muestra de gDNA pipeteando hacia arriba y hacia abajo 5 veces y tenga cuidado de no generar burbujas.
4. Usando la punta de una pipeta de calibre estándar nueva o la punta de una pipeta de desplazamiento positivo para cada extracción:

Extraiga alícuotas de 2 µl del lado izquierdo, centro y derecho de cada muestra y dispense en el buffer BR del tubo de ensayo Qubit correspondiente, y enjuague la punta al dispensar. Coloque los tubos de ensayo en una gradilla flotante y someta a ultrasonidos durante 10 minutos. Realice los pasos 5 y 6 durante la sonicación.

**Nota:** si no se dispone de un baño ultrasónico, agite en el vórtex durante al menos 30 segundos a la velocidad máxima y luego reduzca la velocidad brevemente durante de 2 segundos.

5. Prepare la solución de trabajo diluyendo el reactivo de análisis de tinte en el buffer de dilución BR (1:200):
  - a. 200 µl de solución de trabajo para cada uno de los dos patrones (400 µl en total).
  - b. 200 µl de solución de trabajo por cada alícuota de muestra (600 µl por cada muestra).
6. En cuanto a los patrones de ADN Qubit, agregue 10 µl de los patrones 1 y 2 a los tubos de ensayo que contienen el buffer BR del Paso 2b.
7. Una vez que se complete la sonicación, tome los tubos de ensayo y dé un golpe de centrifuga brevemente. Agite los tubos en vórtex durante 5 segundos a velocidad máxima y luego dé un golpe de centrifuga nuevamente.

8. Agregue 180  $\mu$ l de la solución de trabajo a cada alícuota de ADN sonicada y alícuota del patrón de ADN Qubit. Agite en el vórtex durante 5 segundos y dé un golpe de centrifuga a los tubos.
9. Incube las muestras durante al menos 2 minutos y luego lea en el fluorímetro Qubit.
10. El coeficiente de variación (CV = desviación estándar/media) de tres lecturas debe ser  $<0,30$ .

**Nota:** si el CV es  $>0,30$ , pipetee suavemente y mezcle todo el volumen de gDNA con cinco golpes (1 golpe = 1 golpe hacia arriba

+ 1 carrera hacia abajo) con una punta de calibre ancho. Deje reposar el gDNA al menos durante la noche a temperatura ambiente antes de repetir la cuantificación.

**Nota:** las concentraciones típicas de ADN oscilan entre 50 y 300 ng/ $\mu$ l. Si la concentración es  $>150$  ng/ $\mu$ l, consulte las Notas importantes del protocolo Direct Label and Stain (DLS) de Bionano Prep ([30206](#)).

ID de la muestra	Izquierda (ng/ $\mu$ l)	Centro (ng/ $\mu$ l)	Derecha (ng/ $\mu$ l)	Media (ng/ $\mu$ l)	CV (desv. estándar/media)

### Marcaje

El ADN está listo para el Direct Label and Stain (DLS). Consulte la sección «Kits y artículos consumibles» en <https://bionanogenomics.com/support/> para conocer cuáles son los kits y protocolos aplicables.

## Solución de problemas

---

### El gDNA se libera del disco Nanobind.

Evidencia: el gDNA se aspira o se desprende del disco durante la unión o durante los lavados.

Pasos que debe seguir si se aspira gDNA:

1. Deje el tubo de muestra colocado en el imán y dispense el líquido que contiene gDNA nuevamente en el tubo que contiene el disco.
2. Extraiga el tubo de la gradilla del imán e invierta el estante varias veces con la mano para restablecer la unión.

De forma alternativa:

1. Deje el tubo de muestra colocado en el imán y dispense el líquido que contiene gDNA nuevamente en el tubo que contiene el disco.
2. Aspire el líquido del tubo de manera que quede un volumen mínimo (~50 µl) por encima del gDNA suelto y deseche el sobrenadante dejando el ADN en un volumen mínimo en el fondo del tubo.
3. Aspire con cuidado el gDNA suelto que contenga el mínimo de líquido en la punta de la pipeta y pipetee directamente sobre el disco montado en el imán para restablecer la unión.

Pasos que debe seguir si el gDNA se separa visualmente del disco Nanobind y no se aspira:

1. Extraiga el tubo de la gradilla y sosténgalo horizontalmente.
2. Haga girar el tubo entre los dedos hasta que se restablezca la unión.

### El gDNA no es homogéneo antes del marcaje

Evidencia: el CV de cuantificación de gDNA de tres mediciones (superior, media e inferior) es >0,30.

Pasos que debe seguir:

1. Aspire y dispense la muestra con una punta de calibre ancho un total de 5 veces.
2. Incube el gDNA a temperatura ambiente durante 1 a 3 días.
3. Después de la incubación, vuelva a aspirar y dispensar la muestra con una punta de calibre ancho 5 veces.
4. Cuantifique con el análisis Qubit BR.

### El gDNA no es viscoso

Evidencia: La consistencia de la muestra es muy fina y fácil de pipetear, pero la concentración es >35 ng/µl.

Es probable que la muestra no tenga gDNA de alto peso molecular.

Compruebe la muestra mediante electroforesis en gel de campo pulsado antes de marcar para confirmar la presencia de gDNA de alto peso molecular.

Evalúe el método de preparación de la muestra y la calidad y edad del material de partida, y repita el aislamiento del ADN de la muestra biológica.

## Preguntas frecuentes

---

### ¿Qué tipos de tejidos son compatibles con este protocolo?

- Este protocolo se ha utilizado para procesar con éxito los siguientes tipos de tejidos:
  - De rata Brown Norway: hígado, pulmón, riñón, colon, ovario, próstata, testículos y útero.
  - De seres humanos: vejiga, pulmón, hígado, riñón, colon, mama, próstata, cerebro, tiroides y ovario.
  - De ratón: bazo (se recomienda una entrada de 2 a 3 mg).
- Los tejidos cutáneos, musculares y no vertebrados aún no son completamente compatibles.
- Se recomiendan biopsias de tejidos y tumores normales. Este protocolo no se ha probado con aspirados con aguja fina.

### ¿Qué factores influirán en la calidad del gDNA?

- El almacenamiento y la manipulación de tejidos influirán en la calidad del gDNA. Los siguientes puntos pueden afectar negativamente a la calidad del gDNA:
  - Tejidos que han pasado por un ciclo de congelación y descongelación después del almacenamiento inicial a -80 °C.
  - Tejidos congelados expuestos a temperatura ambiente durante períodos prolongados durante el corte.
  - Tejido necrótico dentro de la muestra de tejido.
  - Tejidos con RIN (número de integridad del ARN) <9,0.
- Si hay demasiado material de partida, habrá una menor calidad del gDNA.

### ¿Qué factores influirán en el rendimiento del gDNA?

- El contenido de núcleos en relación con la masa de tejido influirá en el rendimiento del gDNA. Los tejidos que requieren un gran peso de entrada de tejido debido al bajo contenido de núcleos pueden marcarse mal y tener un bajo rendimiento.
  - Nota:** las muestras de tumores suelen tener un mayor rendimiento de gDNA por mg de tejido en comparación con el tejido normal.
- Los tejidos con alto contenido de grasa pueden tener un bajo rendimiento de gDNA.

### ¿Cuántas muestras se pueden procesar?

- Este protocolo se puede utilizar para lotes de hasta 8 muestras.
  - Se necesitarán hasta 6 horas para procesar un lote de este tamaño.
- Según el rendimiento característico del instrumento Saphyr, se pueden recopilar datos de, al menos, 9 muestras por semana.

### ¿Qué conservantes de tejidos son compatibles con este protocolo?

- Si bien actualmente no hemos probado la compatibilidad de los conservantes con este producto, es un área de investigación en curso y actualizaremos esta sección con nuevos hallazgos a medida que estén disponibles.

## Apéndice: Preparación de tejido o tumor fresco para su almacenamiento

---

**Aporte recomendado:** 10 mg de tejido o tumor fresco de pulmón, hígado, riñón, útero, ovario, colon, próstata, tiroides, testículos, mama y vejiga. Este protocolo aún no es totalmente compatible con los tejidos musculares.

**Nota:** es posible que los tejidos con bajo contenido de núcleos en relación con la masa tisular no produzcan suficiente gDNA, y demasiado tejido puede producir gDNA menos puro y más difícil de homogeneizar.

1. Enjuague el tejido en PBS helado y córtelo en trozos más pequeños (~10 mg por pieza) en un bloque de metal esterilizado helado.
  - a. Se recomienda preparar varias porciones de cada tejido.
2. Transfiera el tejido a un tubo de 1,5 ml con tapa de rosca y congele en nitrógeno líquido durante 3 minutos antes de transferirlo a un congelador a -80 °C para un almacenamiento a largo plazo.
3. Es mejor utilizar el tejido congelado dentro de un plazo de 6 meses desde su almacenamiento a -80 °C.
4. Si envía tejido congelado, siga las pautas que se proporcionan en las Instrucciones de envío de tejidos y tumores ([30186](#)).

## Asistencia técnica

---

Para obtener asistencia técnica, póngase en contacto con el Soporte técnico de Bionano Genomics.

Para recuperar la documentación sobre productos Bionano, hojas de datos de seguridad (Safety Data Sheet, SDS), certificados de análisis, preguntas frecuentes y otros documentos relacionados, visite el sitio web de Soporte o envíe una solicitud por correo electrónico y teléfono.

Tipo	Contacto
Correo electrónico	<a href="mailto:support@bionanogenomics.com">support@bionanogenomics.com</a>
Teléfono	Horario de atención: De lunes a viernes, de 9:00 a. m. a 5:00 p. m., hora del Pacífico de EE. UU.: +1 (858) 888-7663
Sitio web	<a href="http://www.bionanogenomics.com/support">www.bionanogenomics.com/support</a>