imegen

Bringing genomics to health

CE IVD

Instrucciones de uso

imegen® MSH2

Análisis genético molecular del gen MSH2 mediante secuenciación

REF IMG-132

Fabricado por:
Instituto de Medicina Genómica SL
Agustín Escardino 9,
Parc Científic de la Universitat de València
46980 Paterna (Valencia, España)
+34 963 212 340 - info@imegen.es

imegen.es

ISO 13485
BUREAU VERITAS Certification
Nº ES069949-1

Imegen le garantiza que todos sus productos están libres de defectos, tanto en los materiales empleados como en su proceso de fabricación. Esta garantía se hace extensible hasta la fecha de caducidad, siempre que se observen las condiciones de conservación especificadas en este manual.

Nuestros productos están diseñados para diagnóstico *in vitro*. Imegen no le ofrece ninguna otra garantía, expresa o implícita, que se extienda más allá del funcionamiento correcto de los componentes de este kit. La única obligación de imegen, respecto de las garantías precedentes, será la de reemplazar los productos, o bien devolver el precio de la compra de los mismos, a voluntad del cliente, siempre y cuando se pruebe la existencia de un defecto en los materiales, o bien en la elaboración de sus productos.

Imegen no será responsable de ningún daño, directo o indirecto, que resulte en pérdidas económicas o en daños que pudieran producirse por el uso de este producto por parte del comprador o usuario.

Todos los productos comercializados por Imegen son sometidos a un riguroso control de calidad. **Imegen-MSH2** ha superado todas las pruebas de validación internas, que garantizan la fiabilidad y reproducibilidad de cada ensayo.

Para cualquier consulta sobre las aplicaciones de este producto o sobre sus protocolos, puede contactar con nuestro Departamento Técnico:

Teléfono: 963 212 340
e-Mail: tech.support@imegen.es

*imegen® es una marca registrada del Instituto de Medicina Genómica en España

Modificaciones de las Instrucciones de Uso (IFU)	
Versión 03	Cambio introducido: Adaptación a los requisitos del Reglamento (UE) 2017/746 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 5 de abril de 2017, sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro.

imegen

Índice

1. **Información general** 4
2. **Uso previsto** 5
3. **Características técnicas** 5
4. **Advertencias y precauciones de seguridad** 6
5. **Contenido y condiciones de almacenamiento del kit** 7
6. **Equipos, reactivos y materiales necesarios que no se suministran** 8
7. **Protocolo de ensayo** 9
   - 7.1 Preparación de las reacciones de amplificación 9
   - 7.2 Purificación de los productos de PCR 11
   - 7.3 Preparación de las reacciones de secuenciación 11
   - 7.4 Purificación de las reacciones de secuenciación 12
   - 7.5 Electroforesis capilar 13
8. **Troubleshooting** 14
9. **Limitaciones** 19
   - 9.1 Equipos 19
   - 9.2 Reactivos 19
   - 9.3 Estabilidad del producto 19

1. Información general

El término cáncer hace referencia a un grupo muy amplio y variado de enfermedades que se caracterizan por un crecimiento descontrolado de células que pueden diseminarse a tejidos de otras partes del cuerpo. Las causas que desencadenan la aparición del cáncer son muy variadas y, con frecuencia, son el resultado de la interacción de un número elevado de factores de riesgo. Estos factores de riesgo provocan variaciones en los genes y en el genoma, que dan lugar a una pérdida del control de determinados procesos biológicos, que dan lugar a un crecimiento celular descontrolado.

El cáncer colorrectal hereditario no polipósico dominante (HNPCC), también conocido como síndrome de Lynch, es la forma más común de predisposición genética a padecer cáncer de colon, representando del 2 al 4 % de todos los casos de cáncer colorrectal.

El HNPCC es un tipo de síndrome asociado con un mayor riesgo de desarrollar cáncer colorrectal, así como otros tipos de cáncer, como de endometrio, estómago, mama, ovario, intestino delgado, páncreas, próstata, tracto urinario, hígado, riñón, y del conducto biliar.

El HNPCC está asociado con mutaciones en la línea germinal en genes implicados en la reparación de los errores que ocurren durante la replicación del ADN (MMR), *MLH1* (MIM *120436; NG_ 007109.1; NM_000249.2), *MSH2* (MIM *609309; NG_007110.1; NM_000251.1), *MSH6* (MIM *600678; NG_007111.1; NM_000179.2) y *PMS2* (MIM *600259; NG_008466.1). Las mutaciones de la línea germinal en *MLH1* y *MSH2* representan más del 90% de las mutaciones encontradas en familias con HNPCC. Mutaciones en *MSH6* y *PMS2* representan aproximadamente el 10% y menos del 5% respectivamente.

Referencias

- Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer and Cancer Syndromes: Recent Basic and Clinical Discoveries. Chen E, Xu X, Liu T. J Oncol. 2018 Apr 23;2018:3979135. doi: 10.1155/2018/3979135

- Hereditary Colorectal Polyposis and Cancer Syndromes: A Primer on Diagnosis and Management. Kanth P, Grimmett J, Champine M, Burt R, Samadder NJ. Am J Gastroenterol. 2017 Oct;112(10):1509-1525. doi: 10.1038/ajg.2017.212.

- NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines). Colon Cancer. Version 3.2018

2. Uso previsto

El kit **imegen-MSH2** ha sido diseñado para identificar las mutaciones puntuales y pequeñas inserciones y deleciones en las regiones codificantes, así como en los sitios de *splicing* del gen *MSH2* (NG_007110.1), localizado en la región cromosómica 2p22-p21. Este kit no permite detectar grandes deleciones ni duplicaciones.

El kit **imegen-MSH2** usa la tecnología de secuenciación por Sanger. Este método, altamente exhaustivo, se basa una replicación del ADN *in vitro,* durante la cual tiene lugar la incorporación selectiva por parte de una DNA polimerasa de dideoxinucleotidos terminadores de cadena, marcados fluorescentemente. Este proceso genera fragmentos de distintos tamaños que son analizados mediante electroforesis capilar y dan lugar a una secuencia de nucleótidos completa de la región amplificada del gen mediante el análisis de dos cadenas de ADN complementarias (*Forward* y *Reverse*).

El kit **imegen-MSH2** es sólo para uso diagnóstico in vitro y está dirigido a profesionales del sector de la biología molecular.

3. Características técnicas

Este kit ha sido validado utilizando muestras de ADN de referencia procedentes de HAPMap Project obtenidas a través de Coriell Institute for Medical Research. En dicha validación se ha comprobado que se detectan de manera específica las variantes presentes en las regiones diana del producto, especificadas en el apartado 2 de este documento, y que dicho análisis fuera reproducible.

Especificidades técnicas:

- Tipo de muestra: ADN genómico procedente de sangre periférica.
- Cantidad de ADN requerida: 800 ng totales (50 ng por reacción).

Este producto cumple con los requisitos de calidad especificados por la ISO 13845 en lo referente a los materiales empleados en su proceso de fabricación

4. Advertencias y precauciones

1. Se recomienda seguir estrictamente las instrucciones de este manual, especialmente en cuanto a las condiciones de manipulación y almacenamiento de los reactivos.

2. No pipetear con la boca.

3. No fumar, comer, beber ni aplicarse cosméticos en las zonas donde se manipulan kits y muestras.

4. Se debe proteger debidamente cualquier afección cutánea, así como cortes, abrasiones y otras lesiones de la piel.

5. No verter los restos de reactivos a la red de agua potable. Se recomienda utilizar los contenedores de residuos establecidos por la normativa legal y gestionar su tratamiento a través de un gestor de residuos autorizado.

6. En caso de un derrame accidental de alguno de los reactivos, evitar el contacto con la piel, los ojos y las membranas mucosas y limpiar con abundante agua.

7. Las hojas de datos de seguridad (MSDS) de todos los componentes peligrosos que contiene este kit están disponibles bajo petición.

8. Este producto requiere la manipulación de muestras y materiales de origen humano. Se recomienda considerar todos los materiales de procedencia humana como potencialmente infecciosos y manipularlos conforme a la norma de la OSHA sobre Bioseguridad de nivel 2 de los patógenos de transmisión sanguínea o se deben utilizar otras prácticas pertinentes de bioseguridad para los materiales que contienen o se sospecha que puedan contener agentes infecciosos.

9. Los reactivos incluidos en este kit no son tóxicos, explosivos, infecciosos, radiactivos, magnéticos, corrosivos ni causantes de contaminación ambiental biológica.

10. Este kit ha sido validado con unos equipos y en unas condiciones específicas que podrían variar sensiblemente en otros laboratorios. Se recomienda por tanto que cada laboratorio realice una validación interna cuando vaya a utilizar por primera vez el kit.

5. Contenido y condiciones de almacenamiento del kit

Este kit contiene reactivos suficientes para la realización de 6 determinaciones. La relación de reactivos incluidos en el kit es la siguiente:

- MSH2 Master Mix: Master Mix de PCR con las cantidades necesarias de tampón, $MgCl_2$, dNTPs y agua para llevar a cabo las reacciones de PCR.
- MSH2 Taq: DNA polimerasa necesaria para las reacciones de PCR.
- MSH2 PCR: Placa con los oligonucleótidos específicos para las reacciones de PCR.
- MSH2 Sec F: Placa con los oligonucleótidos específicos para las reacciones de secuenciación.
- MSH2 Sec R: Placa con los oligonucleótidos específicos para las reacciones de secuenciación.
- ExcelaPure Plate: Placas para la purificación de los productos de PCR.
- Optima DTR Plate: Placas para la purificación de los productos de secuenciación.

Reactivos	Color	Cantidad	Conservación
MSH2 Master Mix	Disco rojo	7 x 716 µl	-20ºC
MSH2 Taq	Tapa amarilla	45 µl	-20ºC
MSH2 PCR	Placa roja	18 x 50 µl	-20ºC
MSH2 Sec F	Placa amarilla	16 x 34 µl	-20ºC
MSH2 Sec R	Placa morada	16 x 34 µl	-20ºC
Placas ExcelaPure	-	2 placas	Tª ambiente
Placas Óptima DTR	-	4 placas	4ºC

Tabla 1. Componentes del kit imegen-MSH2

6. Equipos, reactivos y materiales no suministrados

Equipos:

- Termociclador
- Micropipetas de 10 µL, 20 µL, 200 µL y 1000 µL
- Pipeta multicanal (0.5 – 10 µL)
- Vortex
- Centrífuga
- Bomba de vacío y presión
- Secuenciador

Reactivos:

- BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems cat. No. 4336919)
- Hi-Di™ formamide

Materiales:

- Puntas de pipetas con filtro (10 µL, 20 µL, 200 µL y 1000 µL)
- Tubos estériles de 1.5 mL
- Tubos o placas de 96 pocillos de 0.2 mL
- Film para placas de 96 pocillos
- Placa de 96 pocillos con faldón
- Gradilla refrigerada
- Guantes de látex

Nota: Este kit no incluye los reactivos necesarios para llevar a cabo las reacciones de secuenciación ni la electroforesis capilar.

6.1 Kits complementarios

El HNPCC es una enfermedad autosómica dominante asociada con mutaciones en la línea germinal de genes implicados en la reparación del ADN (MMR), entre los que se encuentra *MSH2.* Con el fin de analizar mutaciones de otros de los genes asociados a HNPCC imegen ha desarrollado los kits imegen-MLH1 (IMG-133) e imegen-MSH6 (IMG-134).

7. Protocolo de ensayo

7.1 Preparación de las reacciones de amplificación

En las placas que incluye el kit **imegen-MSH2** se han añadido los cebadores necesarios para seleccionar las regiones genómicas de interés mediante reacciones de amplificación por PCR. En cada uno de los pocillos se han añadido los cebadores necesarios para la amplificación de un exón o región exónica y regiones intrónicas adyacentes, la distribución es la siguiente:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	E1	E9	Cext									
B	E2	E10	CPCR									
C	E3	E11										
D	E4	E12										
E	E5	E13										
F	E6	E14										
G	E7	E15										
H	E8	E16										

Tabla 2. Disposición de los oligonucleótidos en la placa MSH2 PCR

Donde E=Exón

Nota: Para optimizar el proceso y los reactivos del kit, se recomienda procesar 3 muestras de forma simultánea.

1. Descongelar MSH2 Master Mix, MSH2 Taq, MSH2 PCR y el ADN de las muestras. Agitar en vortex cada uno de los reactivos y mantener en frío.
2. Al tubo MSH2 Master Mix, añadir 4 µL de MSH2 Taq. Agitar en vortex y dar un spin.
3. Dispensar en una placa 40 µL del mix de PCR a los pocillos de control de extracción (Cext y de PCR (CPCR) y añadir 5 µL de agua al CPCR y 5 µl de control de extracción al Cext. Imegen recomienda realizar este control negativo para verificar que no existe contaminación tanto en el proceso de extracción como en los reactivos de PCR.
4. Añadir al Mix de PCR 88 µL de ADN de la muestra a 10 ng/µL. Agitar en vortex y dispensar 45 µL en cada pocillo (excepto en los pocillos correspondientes a los controles negativos).
5. Transferir con una pipeta multicanal, 5 µL de los cebadores de la placa MSH2 PCR (placa roja) a la placa en la que se están preparando las reacciones de PCR.

6. Colocar los tubos en el termociclador y ejecutar el siguiente programa de amplificación con el apropiado ratio de las rampas (4°C/s).

Temperatura	Tiempo	Ciclos
95°C	15 minutos	1
95°C	30 segundos	40
55°C	30 segundos	
72°C	45 segundos	
72°C	10 minutos	1
4°C	∞	1

Tabla 3. Programa de PCR óptimo para T3000 Thermocycler, T1 Thermocycler, GeneAmp® PCR System 2720, GeneAmp® PCR System 9700 y SimpliAmp Thermal Cycler

Es posible detener el protocolo en este punto. Los productos de PCR pueden almacenarse a 4°C si se va a continuar con el protocolo en las próximas 24 horas o a -20°C para periodos de almacenamiento superiores.

Posteriormente se recomienda analizar, mediante electroforesis en gel de agarosa al 2.5%, los productos de PCR para verificar la presencia de amplificados en todas las reacciones de PCR y la ausencia de amplificación en los controles negativos.

El kit **imegen-MSH2** incluye reactivos para realizar repeticiones de muestras control o de exones determinados para confirmar su resultado. En la siguiente tabla se muestran los cálculos para llevar a cabo la amplificación de reacciones individuales:

Reactivo	Volumen por reacción (µL)
MSH2 Master Mix	39.8
MSH2 Placa PCR	5
MSH2 Taq	0.2
ADN	5

Nota: Recomendamos realizar los cálculos, considerando una reacción más, o bien, incrementando un 10% el volumen de cada reactivo.

7.2 Purificación de los productos de PCR

Para la purificación de los productos de PCR se emplean las placas ExcelaPure (EdgeBio). El protocolo recomendado requiere el uso de una *manifold* acoplada a una bomba de vacío, compatible con las placas ExcelaPure.

1. Añadir 50 µL de agua libre de nucleasas en los pocillos de la placa ExcelaPure que se van a utilizar en la purificación.
2. Transferir todo el volumen del producto de PCR a los pocillos correspondientes de la placa ExcelaPure.
3. Colocar la placa sobre la *manifold* y aplicar vacío a 20 inches Hg hasta que los pocillos estén vacíos (7 minutos, aproximadamente).
4. Añadir 50 µL de agua libre de nucleasas en los pocillos y dejar la placa ExcelaPure en la nevera durante 30 minutos.
5. Pasado el tiempo de incubación, recuperar las muestras, transfiriéndolas a una placa limpia.

Mantener a 4ºC si se va a proceder con la secuenciación en las siguientes 24 horas o conservar a -20ºC para periodos de tiempo superiores.

7.3 Preparación de las reacciones de secuenciación

A partir de los productos de PCR purificados se preparan dos reacciones de secuenciación: una con el cebador directo y la otra con el reverso. Las reacciones de secuenciación se realizan en un volumen final de 10 µL.

Nota: Los reactivos de secuenciación utilizados en esta sección no se incluyen en el kit.

1. Preparar una mezcla que contenga, 2 µL de Buffer BigDye 5x y 3.4 µL de agua por reacción. Para el análisis de muestras completas de BRCA1 (ambas hebras de todas las regiones incluidas) se aconseja realizar la siguiente mezcla:

Reagents	Volume (µL) 1 muestra	Volume (µL) 4 muestras
BigDye 5x Buffer	79.2	316.8
Nuclease Free water	122.4	489.6

2. Dispensar 5.4 µL de la mezcla anterior en cada pocillo, tanto de las reacciones que se van a llevar a cabo con el oligonucleótido directo como con el oligonucleótido reverso.
3. Añadir con una pipeta multicanal 1 µL del ADN purificado de la PCR.
4. Añadir con una pipeta multicanal, 1.6 µL de cada uno de los cebadores a los pocillos correspondientes. Para realizar la secuenciación con los cebadores directos emplear la placa amarilla (MSH2 Sec F) y para realizar la secuenciación con los cebadores reversos emplear la placa morada (MSH2 Sec R)
5. Tapar la placa, dar un spin y desnaturalizar en un termociclador durante 5 minutos a 98ºC.
6. Sacar la placa del termociclador, manteniéndola en una gradilla refrigerada, y dar un spin.
7. Añadir 2 µL de Big Dye a cada una de las reacciones y dar un spin.
8. Colocar las muestras en el termociclador y ejecutar el siguiente programa de secuenciación con el apropiado ratio de las rampas (4ºC/s).

Temperatura	Tiempo	Ciclos
96ºC	1 minuto	1
96ºC	10 segundos	30
50ºC	5 segundos	
60ºC	4 minutos	
4ºC	∞	1

Tabla 4. Programa de secuenciación óptimo para T3000 Thermocycler, T1 Thermocycler, GeneAmp® PCR System 2720, GeneAmp® PCR System 9700 y SimpliAmp Thermal Cycler

Mantener a 4ºC hasta que se proceda con la purificación, en las siguientes 24 horas.

7.4 Purificación de las reacciones de secuenciación

Para la purificación de las reacciones de secuenciación se emplean las placas Optima DTR (EdgeBio) según el siguiente protocolo:

1. Manteniendo la placa Optima DTR en posición horizontal, abrir el envoltorio que protege la placa del kit y quitar el adhesivo que sella la parte inferior.
2. Colocar la placa Optima DTR encima de una placa desechable, retirar el adhesivo que sella la parte superior y centrifugar 3 minutos a 2300 rpm y 4ºC.
3. Colocar la placa Optima DTR sobre una placa de 96 pocillos con faldón, compatible con el secuenciador.

4. Dar un spin a la placa de las reacciones de secuenciación.
5. Transferir las reacciones a purificar a la placa Optima DTR, con ayuda de una pipeta multicanal, colocándolas en el centro del pocillo y sin tocar ni las paredes ni el gel del fondo del pocillo.
6. Centrifugar 5 minutos a 2300 rpm y 4ºC.
7. Desechar la placa Optima DTR.
8. Añadir 5 µL de formamida a cada una de las reacciones de secuenciación y desnaturalizar 5 minutos a 98ºC.

Guardar a 4ºC la placa con las reacciones purificadas hasta el momento de introducirla en el secuenciador.

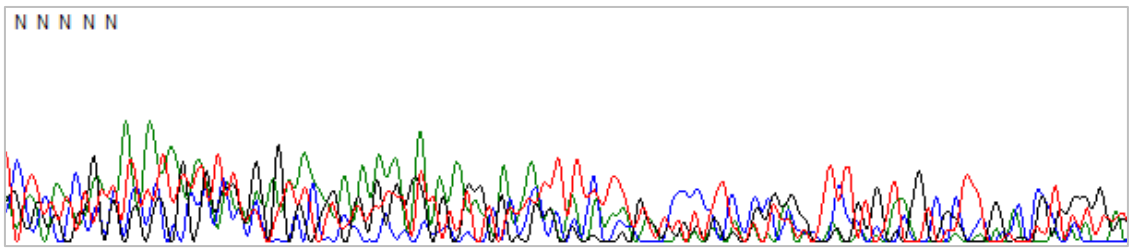
7.5 Electroforesis capilar

Una vez purificadas, las reacciones de secuenciación deben ser sometidas a electroforesis capilar. Dependiendo del modelo de secuenciador utilizado, se empleará el polímero recomendado por el fabricante. Para programar las condiciones de electroforesis se tendrá en cuenta que el amplicon de menor tamaño tiene 269 pb y el amplicon de mayor tamaño tiene 486 pb.

8. Troubleshooting

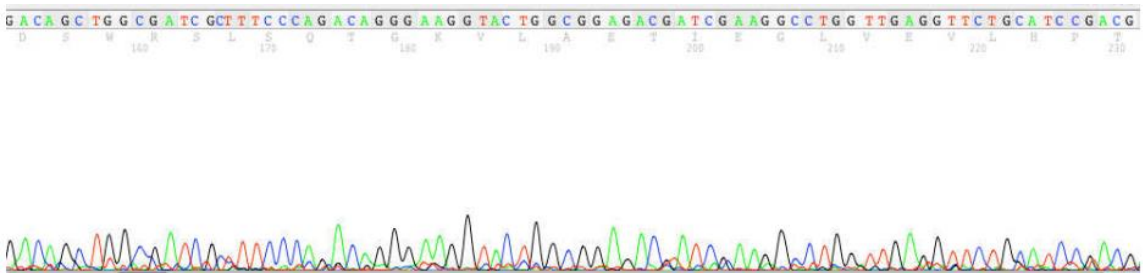
A continuación se listan los posibles resultados inesperados, obtenidos tras la realización del protocolo de amplificación y secuenciación de las dianas del kit **imegen-MSH2,** así como las causas más probables de dichos resultados y la solución propuesta.

- **Ausencia de datos de secuencia**



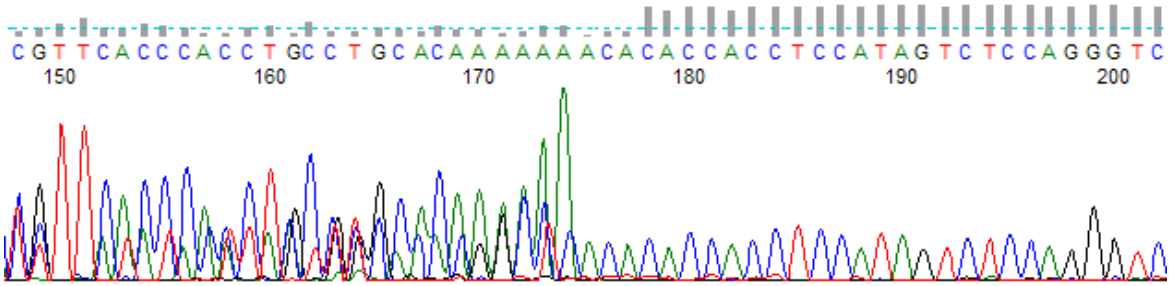
Causa probable	Solución
Cantidad de ADN molde no óptima, ya sea por exceso o por escasez	Comprobar que la concentración de la muestra es la recomendada y ajustarla a la cantidad de ADN especificada en estas instrucciones de uso
ADN degradado	Repetir la reacción de PCR o la extracción del ADN molde
Presencia de contaminantes inhibidores de PCR en las muestras (ej, sales, fenoles, EDTA, etanol)	Purificar el ADN molde

- **Señal de fluorescencia débil (picos bajos)**



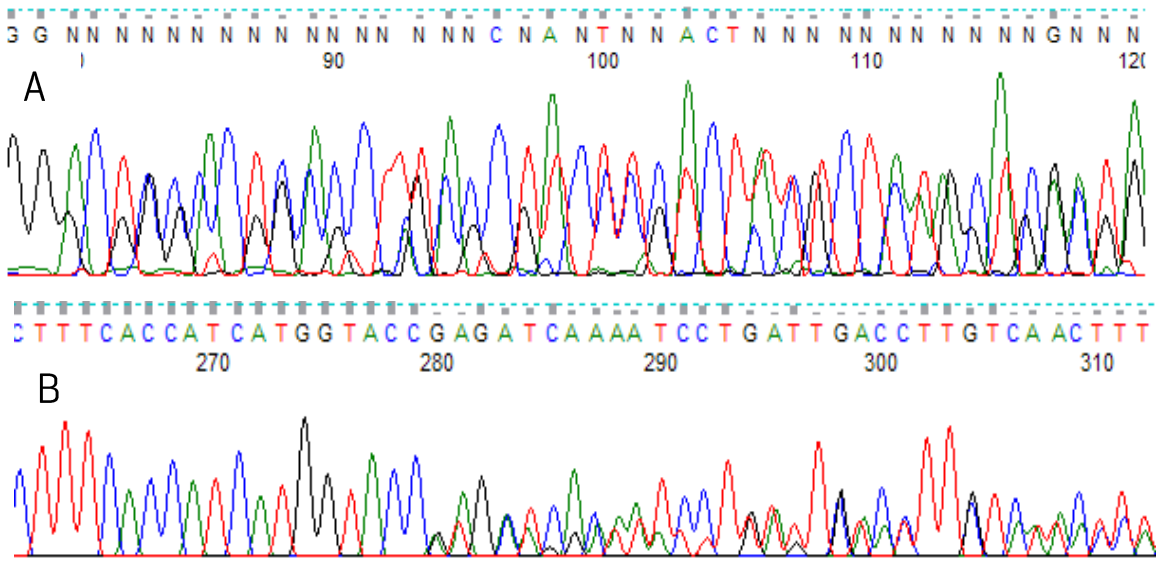
Causa probable	Solución
Cantidad de ADN molde no óptima, ya sea por exceso o por escasez	Comprobar que la concentración de la muestra es la recomendada y ajustarla a la cantidad de ADN especificada en estas instrucciones de uso
Presencia de contaminantes inhibidores de PCR en las muestras (ej, sales, fenoles, EDTA, etanol)	Purificar el ADN molde

- Inicio de baja calidad seguido de una señal de fluorescencia débil



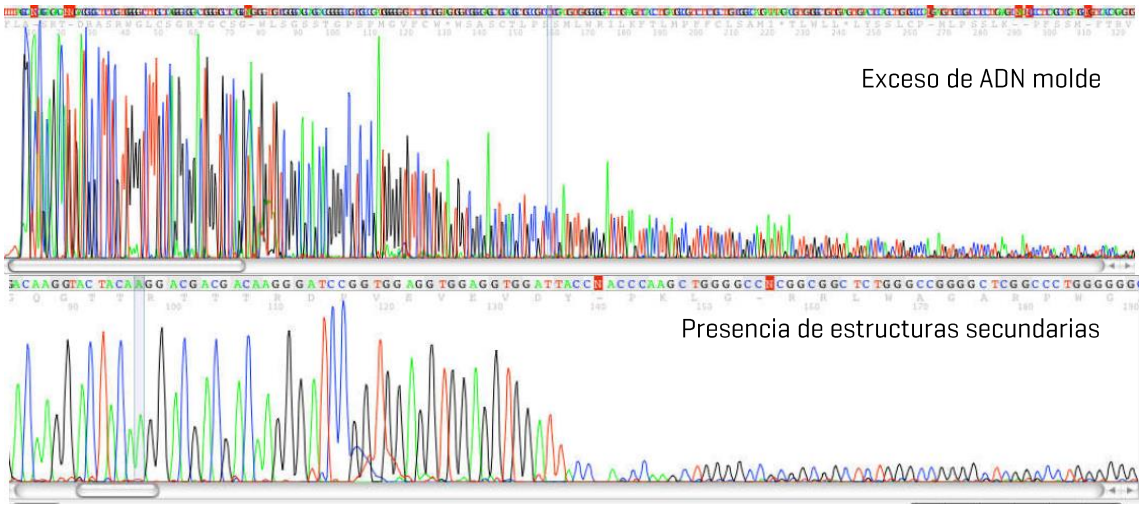
Causa probable	Solución
Presencia de oligonucleótidos en el purificado de PCR	Confirmar que la purificación de los productos de PCR se ha llevado a cabo correctamente, de lo contrario, repetir dicho paso del protocolo

- Presencia de múltiples picos



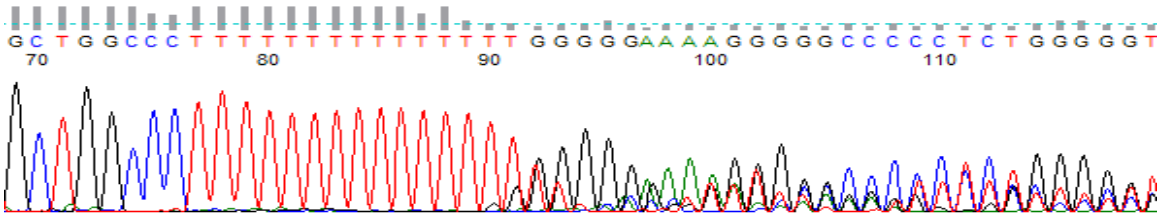
Causa probable	Solución
(A) Presencia de oligonucleótidos en el purificado de PCR	Confirmar que la purificación de los productos de PCR se ha llevado a cabo correctamente, de lo contrario, repetir dicho paso del protocolo
(B) Presencia de un INDEL en el producto de PCR	Analizar la secuencia de la hebra complementaria para confirmar la presencia del evento mencionado

- Interrupción de la señal de secuencia



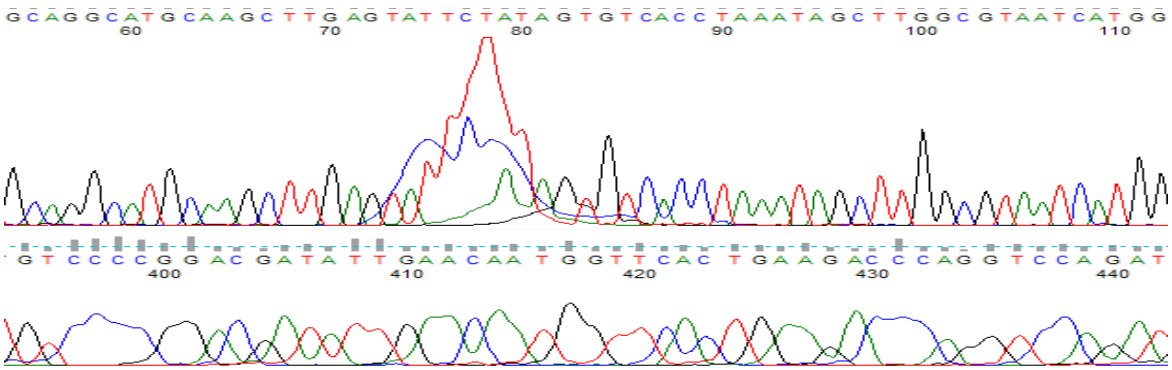
Problema	Causa probable	Solución
La señal de fluorescencia desaparece bruscamente	Presencias de estructuras secundarias (regiones ricas en GC y AT pueden causar estructuras como bucles y horquillas en el ADN)	Con el fin de desnaturalizar las estructuras secundarias, añadir DMSO o betaina a la reacción de secuenciación (recomendamos sustituir el volumen de agua por el de alguno de estos reactivos)
La señal de fluorescencia se debilita gradualmente (efecto ski-slope)	Exceso de ADN molde (una sobrecarga de ADN dará lugar a un número excesivo de fragmentos pequeños)	Añadir menos ADN molde en la reacción de secuenciación
La señal de fluorescencia se debilita rápidamente	Presencia de regiones repetitivas (sobre todo repeticiones GC y GT pueden causar un desvanecimiento de la señal por agotamiento de reactivos, deslizamiento de la polimerasa, o formación de estructuras secundarias)	1. Añadir DMSO o betaina a la reacción de secuenciación 2. Analizar la secuencia de la hebra complementaria

- Múltiples picos *downstream* de un homopolímero



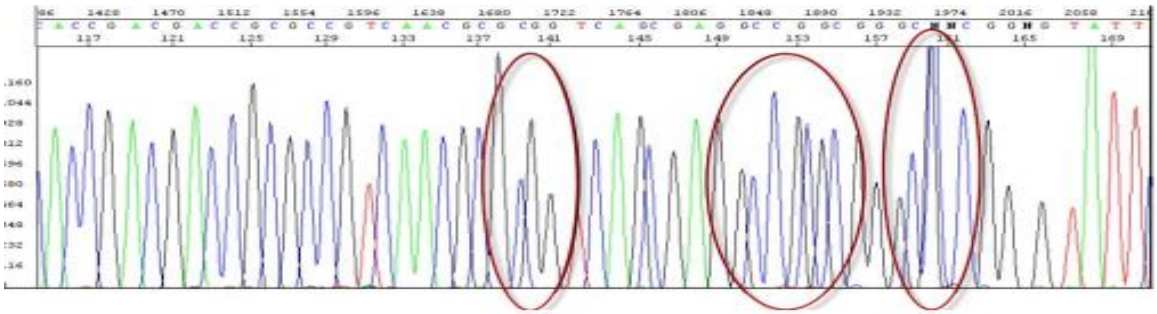
Causa probable	Solución
Deslizamiento de la enzima provocado por el homopolímero, dando lugar a longitudes variables de la misma secuencia tras dicha región (poblaciones n-1, n-2 y n-3)	Analizar la secuencia de la hebra complementaria

- Artefactos de secuenciación



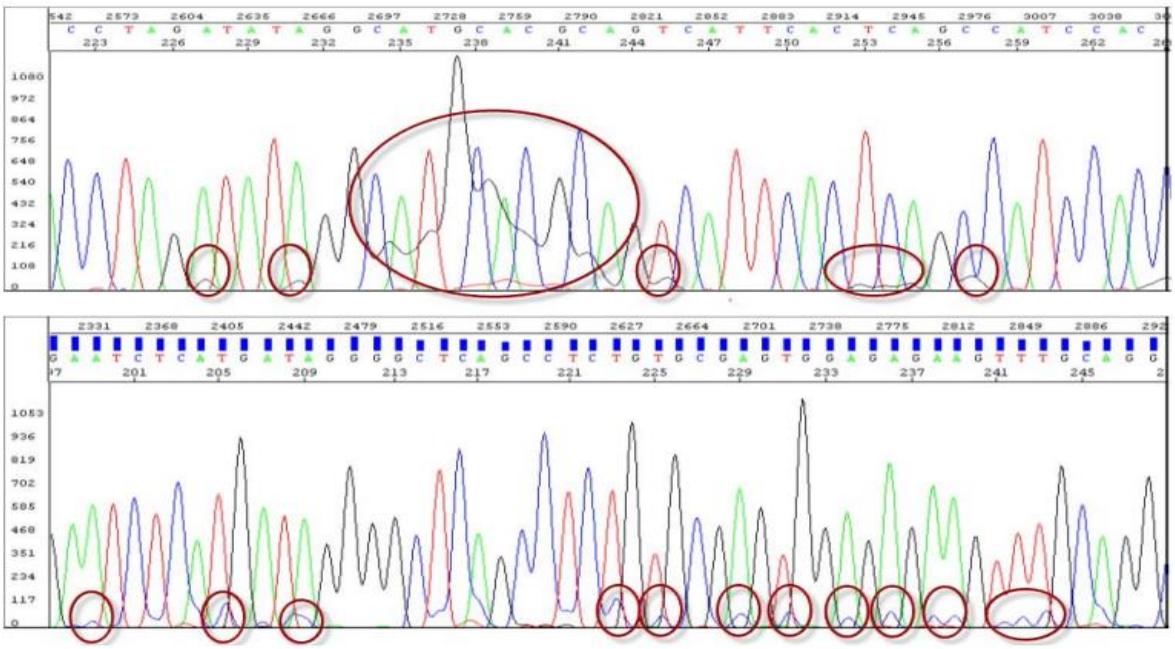
Problema	Causa probable	Solución
Presencia de grandes picos que enmascaran la secuencia real	Los *blobs* debidos al BigDye no incorporado, suelen verse a 70 pb y 120 pb. Normalmente se deben a secuencias fallidas o débiles. En ocasiones la secuencia real puede llegar a leerse bajo estos *blobs*.	Añadir más ADN molde o menos BigDye a la reacción de secuenciación
Pico multicolor que cubre 1-2 bases	Presencia de una pequeña burbuja de aire en el polímero del capilar	Revisar los capilares y repetir la secuenciación
Baja resolución de los picos en las primeras 500 pb de secuencia	1. Si el problema se da en alguna muestra en particular, se deberá a la presencia de contaminantes en la muestra o a una sobrecarga del capilar	1. Limpiar el ADN molde 2. Usar menos ADN molde en la reacción de secuenciación
	2. Si el problema se da en varias muestras, se deberá a una degradación del polímero o a una matriz antigua (polímero con muchos usos)	Si la matriz se ha usado en exceso, es posible que deba reemplazarse

- **Compresión de G/C (moldes ricos en G/C)**



Causa probable	Solución
Desnaturalización incompleta del ADN	Añadir DMSO o Betaina a la reacción de secuenciación

- **Degradación de los dideoxinucleótidos (ddNTPs) G/C**



Causa probable	Solución
En reactivos de secuenciación en mal estado, los dd-NTPs pueden estar degradados. Una degradación leve da lugar a picos de rebote tras los verdaderos picos C y/o G. Niveles de degradación superiores dan lugar a pequeños picos C y/o G o a la desaparición completa de estos	Repetir la secuenciación con alícuotas nuevas de reactivos de secuenciación.

9. Limitaciones

9.1 Equipos

imegen-MSH2 ha sido validado usando los siguientes termocicladores de PCR:

- SimpliAmp Thermal Cycler (ThermoFisher Scientific)
- GeneAmp PCR System 9700 (ThermoFisher Scientific)
- GeneAmp PCR System 2720 (ThermoFisher Scientific)
- T3000 Thermocycler (Biometra)
- T1 Thermocycler (Biometra)

Si usa otra marca o modelo de termocicladores, podría necesitar ajustar el programa de amplificación. Por favor, contacte con nuestro servicio técnico para cualquier consulta o aclaración.

imegen-MSH2 ha sido validado usando la siguiente plataforma de secuenciación:

- 3730xl DNA Analyzer (ThermoFisher Scientific)

En caso de utilizar otros equipos de secuenciación distintos al 3730xl DNA Analyzer (ThermoFisher Scientific), tendrá que ajustarse a las especificaciones de los protocolos de dichos equipos.

9.2 Reactivos

imegen-MSH2 se ha validado empleando los reactivos incluidos en el kit y los recomendados en el apartado 6 de este manual (Equipos y materiales necesarios que no se suministran).

Para la electroforesis capilar se recomienda emplear los reactivos recomendados por el proveedor del secuenciador: ThermoFisher Scientific.

En caso de duda, por favor contacte con nuestro servicio técnico.

9.3 Estabilidad del producto

El funcionamiento óptimo de este producto está confirmado siempre que se apliquen las condiciones recomendadas de almacenamiento especificadas dentro de la fecha óptima del producto, asociada a cada lote de producción.