

MANUAL TÉCNICO

Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit

Instrucciones de uso del producto
AS1560

Precaución: Manipule los cartuchos con cuidado, los bordes del sistema de sellado podrían estar afilados.

Nota: Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit solo es compatible con el software Maxwell® CSC versión 4.0.0 o superior o Maxwell® CSC 48 versión 4.1.1 o superior.



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover, Alemania



INSTRUCCIONES DE
USO DEL PRODUCTO
AS1560



Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit

Toda la literatura técnica se encuentra disponible en: www.promega.com/protocols/
 Visite nuestro sitio web para comprobar que está utilizando la versión más reciente de este manual técnico.
 Si tiene alguna pregunta sobre el uso de este sistema, póngase en contacto con Promega Technical Services: techserv@promega.com

1. Descripción	2
2. Componentes del producto y condiciones de almacenamiento	3
3. Finalidad del producto/uso previsto	5
4. Limitaciones de uso del producto	5
5. Antes de empezar	6
5.A. Preparación de muestras de tejido FFPE	6
6. Preparación del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Cartridge	8
6.A. Preparación del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Cartridge	8
6.B. Protocolo de extracción de ADN	9
6.C. Protocolo de extracción de ARN	10
6.D. Protocolo de extracción de ácido nucleico total	11
6.E. Protocolo de extracción secuencial de ADN y ARN.....	12
7. Configuración y ejecución del Maxwell® Instrument	15
8. Eficacia del flujo de trabajo	19
9. Instrucciones para después de la extracción	20
10. Evaluación del rendimiento analítico	20
10.A. Cantidad, calidad y amplificabilidad del ADN	20
10.B. Cantidad, calidad y amplificabilidad del ARN	22
10.C. Cuantificación basada en tintes fluorescentes	24
10.D. Reproducibilidad	25
10.E. Inhibición de la amplificación debida a sustancias que interfieren.....	26
10.F. Contaminación cruzada	28
11. Evaluación de la eficacia clínica	29
11.A. Flujo de trabajo de extracción de ADN	29
11.B. Flujo de trabajo de extracción de ARN	29
11.C. Flujo de trabajo de extracción de ácido nucleico total	29
11.D. Flujo de trabajo de extracción de ADN/ARN secuencial.....	30

12. Solución de problemas	31
13. Creación de un entorno sin ribonucleasa	33
14. Productos relacionados	34

El Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit solamente está disponible en algunos países.

1. Descripción

El Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit se utiliza junto con los Maxwell® Instruments especificados en la tabla 1 para proporcionar un método sencillo y eficiente para la extracción automatizada de ADN, ARN o ácido nucleico total (TNA, por sus siglas en inglés), o bien de ADN y ARN en forma secuencial, a partir de muestras de tejido fijadas en formol o incluidas en parafina (FFPE, por sus siglas en inglés). Los Maxwell® CSC Instruments están diseñados para utilizarse con cartuchos de reactivos predispensados y reactivos adicionales suministrados en el kit. Los métodos de extracción preprogramados maximizan la simplicidad y la comodidad a la hora de utilizar los Maxwell® CSC Instruments. Los Maxwell® CSC Instruments pueden procesar de manera eficiente desde una hasta el número máximo de muestras permitidas con extracciones automatizadas de ADN, ARN y TNA en aproximadamente 30 minutos, y extracciones secuenciales de ADN y ARN en menos de 1 hora. El ADN, ARN o ácidos nucleicos totales extraídos pueden utilizarse directamente en ensayos posteriores basados en amplificación.

Tabla 1. Instrumentos compatibles.

Instrumento	Cat. #	Manual técnico	Cantidad máxima de muestras
Maxwell® CSC	AS6000	TM457	16
Maxwell® CSC 48	AS8000	TM623	48

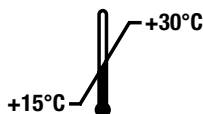
Principio del método: El Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit extrae el ácido nucleico mediante partículas paramagnéticas, que proporcionan una fase sólida móvil para optimizar la recogida de muestras, el lavado y la extracción del ADN, ARN o ácido nucleico total. Opcionalmente, tanto el ADN como el ARN se pueden extraer de manera secuencial de la misma muestra de tejido FFPE sin que sea necesario dividir el lisado. Los Maxwell® CSC Instruments se ocupan de las partículas utilizando métodos magnéticos. Este sistema permite que el ácido nucleico se adhiera eficazmente a las partículas paramagnéticas del primer pocillo de un cartucho precargado y mueve la muestra por los pocillos del cartucho. Este enfoque de captura magnética evita problemas comunes, como la obturación de las puntas o la transferencia parcial de reactivos, que dan lugar a un proceso de extracción deficiente por parte de otros sistemas automatizados de uso frecuente.

Consideraciones de las muestras: La extracción de ácido nucleico a partir de muestras de tejido FFPE puede resultar compleja debido a las características del tejido, como la fibrosidad, la composición lipídica, los niveles de nucleasas y el número de células disponibles en la sección de tejido. Además, la variabilidad en la forma de manipular el tejido antes y durante la fijación, incluida la duración durante la cual se expone el tejido durante el proceso de fijación, influye enormemente en el grado de entrecruzado y fragmentación de ácidos nucleicos en el tejido FFPE. Todos estos atributos pueden influir en la calidad y la cantidad de ácidos nucleicos amplificables que se pueden extraer a partir de las secciones de tejido FFPE. Durante el desarrollo, se evaluó el Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit con una variedad de tipos de tejido FFPE humano para extraer el ADN, ARN o ácido nucleico total amplificable disponible.

2. Componentes del producto y condiciones de almacenamiento

PRODUCTO	TAMAÑO	CAT. #
Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit	48 muestras	AS1560

Para uso en diagnóstico in vitro. Solo para uso profesional. Válido para 48 aislamientos automatizados a partir de muestras FFPE. Los Maxwell® CSC Cartridges solo deben utilizarse con una sola muestra.



Incluye:

- 35 ml Aceite mineral
- 20 ml Tampón para lisis
- 2 x 1 ml Proteinasa K
- 2 x 100 µl Colorante azul
- 2 x 1 ml MnCl₂, 0,09 M
- 3 viales ADNasa I (liofilizada)
- 48 Maxwell® CSC Cartridges (CSCR)
- 50 CSC/RSC Plungers
- 2 x 50 Elution Tubes (0,5 ml)
- 25 ml Nuclease-Free Water

Condiciones de almacenamiento: Almacene el Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit a temperatura ambiente (entre +15 y +30 °C). Almacene la ADNasa I rehidratada entre -30 °C y -10 °C. **No la congele y descongele más de 10 veces.**



Información de seguridad: Los cartuchos contienen etanol e isopropanol. Estas sustancias deben considerarse inflamables, dañinas e irritantes.



Los componentes del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit están diseñados para su uso con sustancias potencialmente infecciosas. Lleve un equipo de protección personal adecuado (p. ej., guantes y gafas de seguridad) cuando manipule sustancias infecciosas. Siga las directrices institucionales de manejo y eliminación de todas las sustancias infecciosas utilizadas en el sistema.



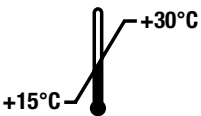













Precaución: Manipule los cartuchos con cuidado, los bordes del sistema de sellado podrían estar afilados.

2. Componentes del producto y condiciones de almacenamiento (continuación)

Información adicional: Los componentes del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit son aptos para el uso conjunto y se han sometido a las pruebas de control de calidad pertinentes. No mezcle los componentes del kit entre diferentes lotes del mismo. Utilice únicamente los componentes proporcionados en el kit. No utilice los cartuchos si el sellado del cartucho no está intacto al recibirlo.

Legenda de símbolos

Símbolo	Explicación	Símbolo	Explicación
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro		Representante autorizado
	Se debe almacenar a temperaturas entre +15 °C y +30 °C.		Fabricante
	Precaución		Irritante
	Peligro para la salud		Válido para pruebas "n"
	Conformidad europea		Advertencia. Riesgos biológicos.
	Advertencia. Peligro de aprisionamiento.		Número de catálogo
	Número de lote		No reutilizar

3. Finalidad del producto/uso previsto

El Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit está diseñado para usarse, junto con los Maxwell® CSC Instruments y los métodos Maxwell® CSC XtractAll, como producto sanitario de diagnóstico in vitro (IVD, por sus siglas en inglés) para realizar un aislamiento automatizado solamente de ADN, solamente de ARN, ADN y ARN secuencialmente o ácido nucleico total a partir de muestras de tejido incluidas en parafina (FFPE) humano. El ADN, ARN o ácido nucleico total extraído es adecuado para el uso en análisis de diagnóstico in vitro basados en amplificación.

El Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit está diseñado para emplearse a una temperatura de entre 15 °C y 30 °C. El uso fuera de este rango de temperatura puede provocar resultados no óptimos. Con el Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit pueden usarse muestras de tejido FFPE preparadas mediante formalina tamponada neutra al 10 %.

El Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit está diseñado solamente para uso profesional. Los resultados diagnósticos obtenidos mediante el uso de ADN, ARN o ácido nucleico total extraídos con este sistema deberán interpretarse junto con otros datos clínicos o de laboratorio.

4. Limitaciones de uso del producto

El Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit se ha diseñado para usarse solo con muestras de tejido FFPE. No está diseñado para usarse con muestras de tejido no FFPE, por ejemplo, muestras de tejido frescas o congeladas. No se han establecido las características del rendimiento al usar muestras de tejido FFPE preparadas con fijadores distintos a la formalina tamponada neutra al 10 %.

La idoneidad del ácido nucleico extraído con el Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit para usarlo en la secuenciación de próxima generación (NGS, por sus siglas en inglés) se demostró durante el desarrollo del producto, pero no se ha validado.

El usuario es responsable de establecer las características de rendimiento necesarias para las aplicaciones diagnósticas posteriores. Deben incluirse los controles apropiados en cualquier aplicación diagnóstica posterior que utilice el ADN, ARN o ácido nucleico total extraído con el Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit.

5. Antes de empezar

Materiales que ha de aportar el usuario

- Microcentrífuga
- Vórtex de mesa
- Pipeteadores y puntas de pipeta para preprocesar y transferir muestras a cartuchos de reactivos prellenados
- Tubos de 1,5–2,0 ml para incubar las muestras (por ejemplo, Microtubes, 1,5 ml; Cat.# V1231)
- Bloques calefactados ajustados a 56 °C y 90 °C
- Muestras de tejido FFPE (**Nota:** Las muestras deben almacenarse a temperatura ambiente [entre 15–30 °C]).
- Isopropanol, ≥99,5 % grado para biología molecular (para flujos de trabajo de ARN, TNA y ADN/ARN secuenciales)
- Cuchillas (**Nota:** Tenga cuidado al utilizar las cuchillas para raspar la muestra de tejido FFPE del portaobjetos).

Si es necesario, reconstituya un vial liofilizado de ADNasa I con 275 µl de Nuclease-Free Water y 15 µl de colorante azul. Invierta el vial para recuperar los restos de ADNasa I de la parte inferior de la tapa y remuévalo suavemente para mezclar; no agite mediante el vórtex. Almacene la ADNasa I reconstituida entre –30 °C y –10 °C. No la congele y descongele más de 10 veces.

5.A. Preparación de muestras de tejido FFPE

Mantenga un entorno sin ARNasa durante el procesamiento. Utilice siempre puntas de pipeta resistentes a aerosoles y sin ARNasa. Cambie de guantes con frecuencia para reducir las posibilidades de contaminación por ARNasa. Consulte la sección 13 (Creación de un entorno sin ribonucleasa) para obtener más detalles.

Durante el desarrollo, se obtuvo un rendimiento óptimo del kit con un espesor total de hasta 20 µm en secciones de tejido FFPE. Se pueden combinar múltiples secciones en un mismo tubo de muestra para la extracción, con un espesor total combinado de secciones ≤80 µm. Las secciones de más de 20 µm de espesor interfieren con la digestión con proteinasa K y generan rendimientos bajos (ver Sección 12). El usuario debe optimizar la cantidad y el espesor de las secciones según los requisitos del análisis posterior.

Durante el desarrollo, se evaluaron muestras de tejido FFPE de mama, hígado y útero como ejemplos y se comprobó que ofrecían un rendimiento aceptable. Una gama más amplia de tipos de tejidos FFPE puede ser compatible con el Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit, pero el laboratorio debe evaluar el rendimiento de la extracción y la compatibilidad con los ensayos posteriores.

Preprocesamiento de las secciones de tejido FFPE

1. Coloque las secciones de tejido FFPE en un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml. Si utiliza secciones de tejido FFPE montadas en una barra corredera, raspe las secciones con una cuchilla limpia para retirarla.

Nota: Utilice una cuchilla nueva para cada muestra de tejido FFPE para evitar la contaminación cruzada.

2. Añada 500 µl de aceite mineral a los tubos de muestras. Mezcle en vórtex durante 10 segundos.
3. Caliente las muestras a 90 °C durante 5 minutos. Deje las muestras a temperatura ambiente mientras prepara la mezcla maestra como se describe en el paso 4.
4. Inmediatamente antes de usar, prepare una mezcla maestra de tampón para lisis, proteinasa K y colorante azul como se muestra a continuación.

Reactivo	Cantidad/reacción	Reacciones	
		(Número de muestras + 2)	Total
Tampón para lisis	224 µl	n + 2	224 µl × (n + 2)
Proteinasa K	25 µl	n + 2	25 µl × (n + 2)
Colorante azul	1 µl	n + 2	1 µl × (n + 2)

5. Añada 250 µl de mezcla maestra a cada tubo de muestras y mezcle en vórtex durante 5 segundos.
Nota: No almacene ningún resto de la muestra maestra que haya quedado sin utilizar.
6. Centrifugue los tubos de muestras a 10 000 × g por 20 segundos para separar las capas. Si hay un sedimento en la capa acuosa (capa inferior, de color azul), mézclela suavemente con una pipeta para dispersar el sedimento. Deje las dos fases, la de aceite mineral y la acuosa, en el tubo.
7. Transfiera los tubos de muestras al bloque calefactado a 56 °C e incúbelos durante 15 minutos.
8. Transfiera los tubos de muestras al bloque calefactado a 90 °C e incúbelos durante 1 hora.
9. Continúe a la sección 6 para la preparación del cartucho.

6. Preparación del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Cartridge

6.A. Preparación del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Cartridge

1. Cambie de guantes antes de manipular los Maxwell® CSC Cartridges (CSCR), los CSC/RSC Plungers y los Elution Tubes. Los cartuchos se colocan en las bandejas de plataforma fuera del Maxwell® Instrument, y las bandejas de plataforma que contienen los cartuchos y las muestras se transfieren al instrumento para la extracción. Coloque cada cartucho en la bandeja de plataforma con el pocillo n.º 1 (el pocillo de mayor tamaño del cartucho) lo más lejos posible de los Elution Tubes (Figura 1). Presione hacia abajo el cartucho para encajarlo en su sitio. Asegúrese de que los dos extremos del cartucho estén totalmente asentados en la bandeja de plataforma. Tire cuidadosamente del sistema de sellado para retirarlo por completo de la parte superior del cartucho. Asegúrese de haber eliminado toda la cinta de sellado del cartucho.



Precaución: Manipule los cartuchos con cuidado. Los bordes del sistema de sellado podrían estar afilados.

2. Coloque un émbolo en el pocillo n.º 8 de cada cartucho.
3. Coloque un Elution Tube vacío en la posición de Elution Tube de cada cartucho en las bandejas de plataforma.
Nota: Utilice únicamente los Elution Tubes suministrados en el Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit. Otros tubos de elución pueden no ser compatibles con los Maxwell® CSC Instruments y afectar al rendimiento de la extracción.
4. Añada 50 µl de Nuclease-Free Water en el fondo de cada Elution Tube. Mantenga los tubos de elución abiertos durante la extracción (Figura 1)
Nota: Utilice solamente la Nuclease-Free Water suministradas en el Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit. El empleo de otros tampones de elución puede afectar el rendimiento de la extracción o su uso posterior.
5. Continúe a la sección correspondiente que se indica debajo para obtener instrucciones específicas acerca del flujo de trabajo de cada extracción.

Tipo de extracción	Sección
ADN	6.B
ARN	6.C
Ácido nucleico total (TNA)	6.D
ADN/ARN secuencial	6.E

Notas sobre la preparación de la bandeja de plataforma



Los derrames de muestras o reactivos en cualquier parte de la bandeja de plataforma deberán limpiarse con una solución de agua y detergente y, posteriormente, con un spray o paño bactericida seguidos por agua. **No** utilice lejía en ninguna parte del instrumento.



Figura 1. Preparación y configuración de la bandeja de plataforma. Se añade Nuclease-Free Water a los Elution Tubes de la manera indicada. Abra los Elution Tubes antes de comenzar con un método de extracción.

6.B. Protocolo de extracción de ADN

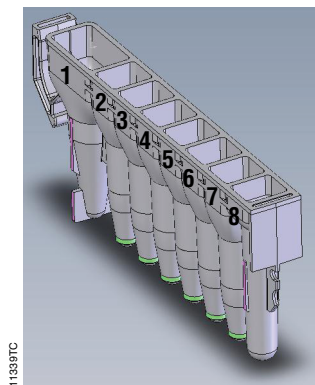
1. Luego de que un proceso de incubación de 1 hora finalice (Sección 5.A), transfiera la fase acuosa azul al pocillo n.º 1 del Maxwell® CSC Cartridge (CSCR). Use una punta de pipeta nueva para cada muestra para evitar la contaminación cruzada.

Notas:

- a. Si queda material sin digerir al final de la incubación, centrifugue los tubos de muestra a 10 000 $\times g$ por 20 segundos para sedimentarlo. Evite transferir el material sedimentado o no digerido al cartucho.
 - b. Transfiera la totalidad de la fase acuosa azul al cartucho evitando el material sin digerir y realizar la extracción dentro de los 30 minutos posteriores a la incubación.
 - c. El volumen de la fase acuosa azul en el tubo será diferente en función de la muestra de tejido FFPE utilizada y su composición.
2. Escanee el código de barras en el empaque del kit y luego seleccione el método Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA. Toque **Continuar** para continuar.
 3. Coloque la bandeja de plataforma en el Maxwell® Instrument, introduzca el cartucho y la información de seguimiento de muestra en la pantalla "Configuración de cartucho", confirme que se cumplió con los ítems que figuran en la lista de verificación para la extracción, y toque el botón de **Inicio** para comenzar la ejecución de la extracción.

Nota: Para obtener información detallada sobre las instrucciones de configuración, consulte la Sección 7.

6.B. Protocolo de extracción de ADN (continuación)



Adiciones del usuario a los pocillos:

1. Muestras preprocesadas
8. CSC/RSC Plunger

Figura 2. Maxwell® CSC Cartridge. La muestra FFPE preprocesada se añade al pocillo n.º 1, y un émbolo al pocillo n.º 8.

6.C. Protocolo de extracción de ARN

1. Luego de que un proceso de incubación de 1 hora finalice (Sección 5.A), transfiera la fase acuosa azul al pocillo n.º 1 del Maxwell® CSC Cartridge (CSCR). Use una punta de pipeta nueva para cada muestra para evitar la contaminación cruzada.

Notas:

- a. Si queda material sin digerir al final de la incubación, centrifugue los tubos de muestra a 10 000 × g por 20 segundos para sedimentarlo. Evite transferir el material sedimentado o no digerido al cartucho.
 - b. Transfiera la totalidad de la fase acuosa azul al cartucho evitando el material sin digerir y realizar la extracción dentro de los 30 minutos posteriores a la incubación.
 - c. El volumen de la fase acuosa azul en el tubo será diferente en función de la muestra de tejido FFPE utilizada y su composición.
2. Inmediatamente antes de usar, prepare una mezcla de $MnCl_2$ y ADNasa como se indica debajo:

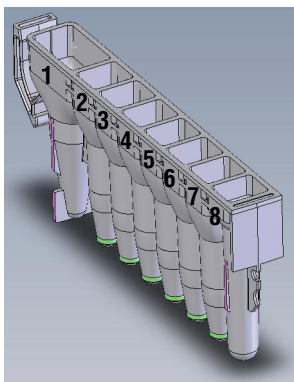
Reactivo	Cantidad/reacción	Reacciones (Número de muestras [n] + 2)	Total
$MnCl_2$, 0,09 M	17 μ l	n + 2	17 μ l × (n + 2)
ADNasa I (con colorante azul) ¹	10 μ l	n + 2	10 μ l × (n + 2)

¹ Almacene la ADNasa I reconstituida restante con colorante azul a entre -30 °C y -10 °C.

3. Añada 27 μ l de mezcla de ADNasa I en el pocillo n.º 7 de cada cartucho.
Nota: No almacene ningún resto de la mezcla de ADNasa I que haya quedado sin utilizar.
4. Añada 500 μ l de isopropanol al 100 % en el pocillo n.º 1.
5. Escanee el código de barras en el empaque del kit y luego seleccione el método Maxwell® CSC XtractAll FFPE RNA. Toque **Continuar** para continuar.

6. Coloque la bandeja de plataforma en el Maxwell® Instrument, introduzca el cartucho y la información de seguimiento de muestra en la pantalla “Configuración de cartucho”, confirme que se cumplió con los ítems que figuran en la lista de verificación para la extracción, y toque el botón de **Inicio** para comenzar la ejecución de la extracción.

Nota: Para obtener información detallada sobre las instrucciones de configuración, consulte la Sección 7.



Adiciones del usuario a los pocillos:

1. Muestras preprocesadas y 500 µl de isopropanol al 100 %
7. 27 µl de mezcla de ADNasa I
8. CSC/RSC Plunger

Figura 3. Maxwell® CSC Cartridge. La muestra de tejido FFPE preprocesada y el isopropanol se añaden al pocillo n.º 1, la mezcla de ADNasa I al pocillo n.º 7, y un émbolo al pocillo n.º 8.

6.D. Protocolo de extracción de ácido nucleico total

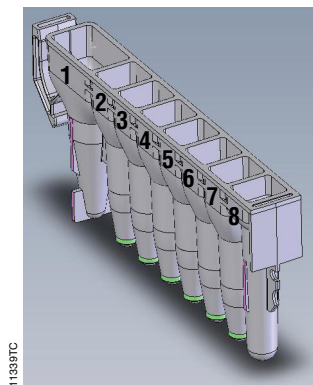
1. Luego de que un proceso de incubación de 1 hora finalice (Sección 5.A), transfiera la fase acuosa azul al pocillo n.º 1 del Maxwell® CSC Cartridge (CSCR). Use una punta de pipeta nueva para cada muestra para evitar la contaminación cruzada.

Notas:

- a. Si queda material sin digerir al final de la incubación, centrifugue los tubos de muestra a 10 000 × g por 20 segundos para sedimentarlo. Evite transferir el material sedimentado o no digerido al cartucho.
 - b. Transfiera la totalidad de la fase acuosa azul al cartucho evitando el material sin digerir y realizar la extracción dentro de los 30 minutos posteriores a la incubación.
 - c. El volumen de la fase acuosa azul en el tubo será diferente en función de la muestra de tejido FFPE utilizada y su composición.
2. Añada 500 µl de isopropanol al 100 % en el pocillo n.º 1.
 3. Escanee el código de barras en el empaque del kit y luego seleccione el método Maxwell® CSC XtractAll FFPE Total Nucleic Acid. Toque **Continuar** para continuar.
 4. Coloque la bandeja de plataforma en el Maxwell® Instrument, introduzca el cartucho y la información de seguimiento de muestra en la pantalla “Configuración de cartucho”, confirme que se cumplió con los ítems que figuran en la lista de verificación para la extracción, y toque el botón de **Inicio** para comenzar la ejecución de la extracción.

Nota: Para obtener información detallada sobre las instrucciones de configuración, consulte la Sección 7.

6.D. Protocolo de extracción de ácido nucleico total (continuación)



Adiciones del usuario a los pocillos:

1. Muestras preprocesadas y 500 µl de isopropanol al 100 %
8. CSC/RSC Plunger

Figura 4: Maxwell® CSC Cartridge. La muestra de tejido FFPE preprocesada y el isopropanol se añaden al pocillo n.º 1 y un émbolo al pocillo n.º 8.

6.E. Protocolo de extracción secuencial de ADN y ARN

Al seleccionar el método de extracción para ADN/ARN secuencial, el software Maxwell® realizará dos ejecuciones de extracción consecutivas, durante las cuales el usuario deberá añadir algunos reactivos a los cartuchos entre ambas ejecuciones. Para el método Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Sequential, el primer método extrae el ADN de la muestra de tejido FFPE lisada hacia el primer tubo de elución, mientras que el segundo método extrae el ARN de la misma muestra hacia un segundo tubo de elución, utilizando el mismo cartucho y émbolo. Debajo se indican las instrucciones para preparar los cartuchos para cada una de estas ejecuciones de extracciones.

Ejecución 1: Extracción de ADN

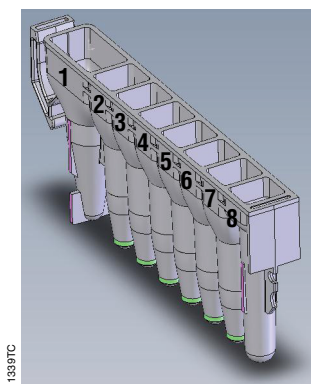
1. Luego de que un proceso de incubación de 1 hora finalice (Sección 5.A), transfiera la fase acuosa azul al pocillo n.º 1 del Maxwell® CSC Cartridge (CSCR). Use una punta de pipeta nueva para cada muestra para evitar la contaminación cruzada.

Notas:

- a. Si queda material sin digerir al final de la incubación, centrifugue los tubos de muestra a 10 000 × g por 20 segundos para sedimentarlo. Evite transferir el material sedimentado o no digerido al cartucho.
 - b. Transfiera la totalidad de la fase acuosa azul al cartucho evitando el material sin digerir y realizar la extracción dentro de los 30 minutos posteriores a la incubación.
 - c. El volumen de la fase acuosa azul en el tubo será diferente en función de la muestra de tejido FFPE utilizada y su composición.
2. Escanee el código de barras en el empaque del kit y luego seleccione el método Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Sequential y toque **Continuar** para continuar.

3. Coloque la bandeja de plataforma en el Maxwell® Instrument, introduzca el cartucho y la información de seguimiento de muestra en la pantalla “Configuración de cartucho”, confirme que se cumplió con los ítems que figuran en la lista de verificación para la extracción, y toque el botón de **Inicio** para comenzar la ejecución de la extracción.

Nota: Para obtener información detallada sobre las instrucciones de configuración, consulte la Sección 7.



Adiciones del usuario a los pocillos:

1. Muestras preprocesadas
8. CSC/RSC Plunger

Figura 5. Maxwell® CSC Cartridge. La muestra FFPE preprocesada se añade al pocillo n.º 1, y un émbolo al pocillo n.º 8.

Instrucciones a seguir entre ejecuciones

Entre la primera ejecución de extracción de ADN y la segunda ejecución de extracción de ARN a partir de tejido FFPE en el método secuencial de ADN/ARN, realice los siguientes pasos:

4. Para abrir la puerta, siga las instrucciones en pantalla que aparecen al final del método de extracción secuencial de ADN a partir de muestras de tejido FFPE. Al finalizar la ejecución, compruebe que los émbolos estén colocados en el pocillo n.º 8 de los cartuchos. Si no se han retirado los émbolos de la barra de émbolo, siga las instrucciones del Manual de uso correspondiente de su Maxwell® Instrument (consulte la tabla 1) para ejecutar el proceso Retirada de émbolos para descargar los émbolos. Para prepararse para la ejecución de la extracción secuencial de ARN a partir de muestras de tejido FFPE, aparecerá una nueva configuración de cartucho.
5. Tape y retire los Elution Tubes que contienen ADN inmediatamente después de la ejecución para evitar que los eluidos se evaporen.
6. Al finalizar la ejecución de la extracción secuencial de ADN a partir de muestras de tejido FFPE, la resina se deposita en el pocillo n.º 2 para preparar la ejecución de la extracción secuencial de ARN a partir de muestras de tejido FFPE.

Notas:

- a. No retire o deseche los cartuchos o émbolos de la bandeja de plataforma. Serán reutilizados para la extracción secuencial de ARN a partir de muestras de tejido FFPE.
- b. Proceda a la extracción secuencial de ARN a partir de muestras de tejido FFPE después de dos horas finalizada de la extracción secuencial de ADN a partir de muestras de tejido FFPE

6.E. Protocolo de extracción secuencial de ADN y ARN (continuación)

7. Aparecerá una pantalla de configuración de cartucho indicando las posiciones de las muestras y la información de seguimiento ingresada antes de la primera ejecución de extracción de ADN. De ser necesario, esta información puede editarse para indicar cualquier cambio en relación a los cartuchos que estén siendo procesados. Para eso, toque el botón **Activar edición**. Para más información, consulte la Sección 8.
8. Toque el botón **Continuar** para que aparezca la pantalla “Lista de comprobación de extracción”.

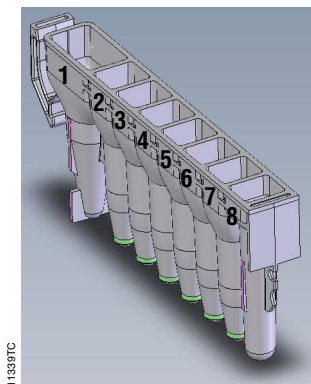
Ejecución 2: Extracción de ARN

9. Coloque un Elution Tube vacío en la posición de Elution Tube de cada cartucho en las bandejas de plataforma.
Nota: Utilice únicamente los Elution Tubes suministrados en el Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit. Otros tubos de elución pueden no ser compatibles con el Maxwell® CSC Instrument y afectar al rendimiento de la extracción de ARN.
10. Añada 50 µl de Nuclease-Free Water en el fondo de cada Elution Tube. Los Elution Tubes deben permanecer abiertos durante la extracción del ARN (Figura 7).
Nota: Utilice solamente la Nuclease-Free Water suministradas en el Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit. El empleo de otros tampones de elución puede afectar el rendimiento de la extracción del ARN o su uso posterior.
11. Inmediatamente antes de usar, prepare una mezcla de MnCl₂ y ADNasa como se indica debajo:

Reactivo	Cantidad/reacción	Reacciones (Número de muestras + 2)	Total
MnCl ₂ , 0,09 M	17 µl	n + 2	17 µl × (n + 2)
ADNasa I ¹ (con colorante azul)	10 µl	n + 2	10 µl × (n + 2)

¹ Almacene la ADNasa I reconstituida restante con colorante azul a entre -30 °C y -10 °C.

12. Añada 27 µl de mezcla de ADNasa I en el pocillo n.º 7 de cada cartucho.
Nota: No almacene ningún resto de la mezcla de ADNasa I que haya quedado sin utilizar.
13. Añada 500 µl de isopropanol al 100 % en el pocillo n.º 1.
14. Coloque la bandeja de plataforma en el Maxwell® Instrument, confirme que se cumplió con los ítems que figuran en la lista de verificación para la extracción, y toque el botón de **Inicio** para comenzar la segunda ejecución de extracción secuencial de ARN a partir de muestras de tejido FFPE.
Nota: Para obtener información detallada sobre las instrucciones de configuración, consulte la Sección 7.



Adiciones del usuario a los pocillos:

1. 500 µl de isopropanol al 100 % (Añadir a la muestra que se encuentra en el pocillo n.º 1)
7. 27 µl de mezcla de ADNasa I
8. CSC/RSC Plunger (el mismo émbolo usado durante la extracción de ADN secuencial a partir de muestras de tejido FFPE que ya debería estar en el pocillo n.º 8)

Figura 6. Maxwell® CSC Cartridge. Se añade isopropanol a la muestra presente en el pocillo n.º 1, mezcla de ADNasa I al pocillo n.º 7, y el mismo émbolo utilizado en la ejecución de la extracción secuencial de ADN a partir de muestras de tejido FFPE debería estar en el pocillo n.º 8.



Figura 7. Preparación y configuración de la bandeja de plataforma. Se añade Nuclease-Free Water a los Elution Tubes de la manera indicada. Abra los Elution Tubes antes de comenzar con el método de extracción.

7. Configuración y ejecución del Maxwell® Instrument

El Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA, RNA, TNA y los DNA/RNA Sequential Methods para el Maxwell® CSC Instrument se pueden descargar de:

www.promega.com/resources/software-firmware/maxwell-maxprep/maxwell-cscsoftware-firmware-methods/

El Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA, RNA, TNA y los DNA/RNA Sequential Methods para el Maxwell® CSC 48 Instrument se pueden descargar de: **www.promega.com/resources/software-firmware/maxwell-maxprep/maxwell-csc-48-methods/**

Nota: Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit solo es compatible con el software Maxwell® CSC versión 4.0.0 o superior o Maxwell® CSC 48 versión 4.1.1 o superior.

7. Configuración y ejecución del Maxwell® Instrument (continuación)

Si sospecha que su instrumento puede estar contaminado con ARNasa, límpielo antes de usarlo. Siga las instrucciones de la sección Limpieza y mantenimiento del manual de uso del *Maxwell® CSC Instrument IVD Mode #TM457* o del manual de uso del *Maxwell® CSC 48 Instrument IVD Mode #TM623*.

1. Encienda el Maxwell® Instrument y el Tablet PC. Regístrese en el Tablet PC e inicie el software del Maxwell® CSC IVD-mode tocando dos veces el ícono del escritorio. El instrumento realizará las autocomprobaciones y colocará todas las piezas en la posición de inicio.
2. Seleccione **Iniciar** en la pantalla "Inicio".
3. Escanee o introduzca el código de barras que figura en la esquina superior derecha de la etiqueta del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit (Figura 8).

Nota: Se requiere el código de barras del método del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit para la extracción en los Maxwell® CSC Instruments. La etiqueta del kit contiene dos códigos de barras. El código de barras del método se indica en la Figura 8. Si no puede escanearse el código de barras, póngase en contacto con Promega Technical Services. (techserv@promega.com).

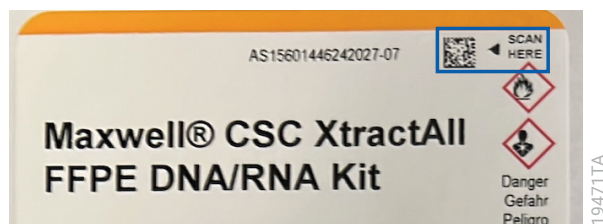


Figura 8. Etiqueta del kit que indica el código de barras que debe escanearse. El código de barras que debe escanearse para iniciar un método de extracción se muestra en el cuadro azul, en la esquina superior derecha de la etiqueta del kit.

4. En la pantalla de selección de método, seleccione el método que corresponda de acuerdo al flujo de trabajo que esté siendo procesado. Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA, Maxwell® CSC XtractAll FFPE RNA, Maxwell® CSC XtractAll FFPE Total Nucleic Acid o Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Sequential.

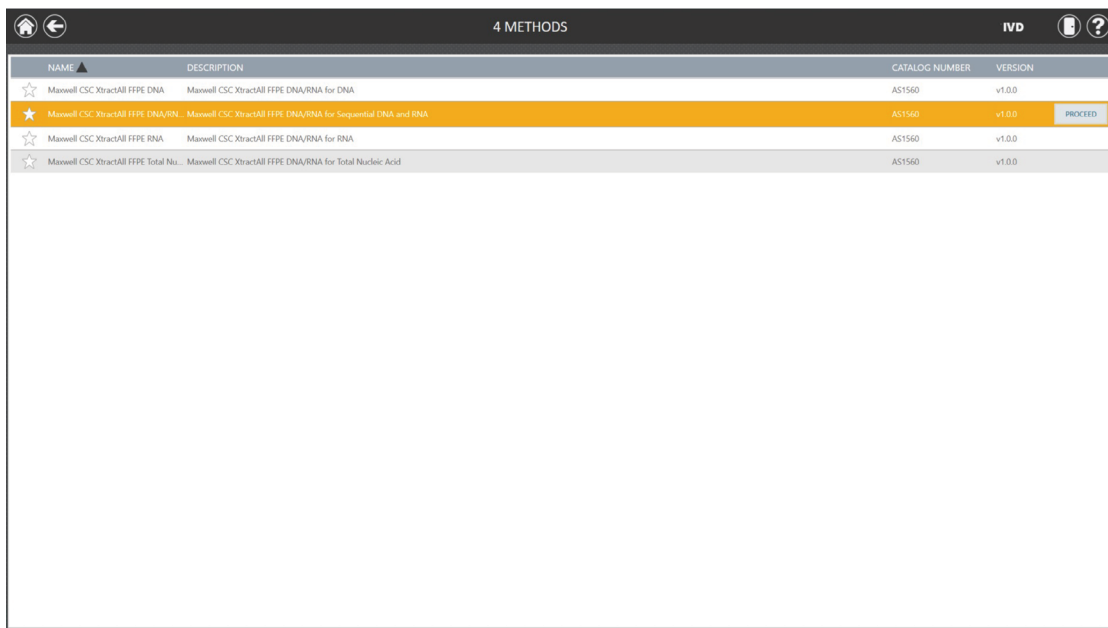


Figura 9. Pantalla de selección de método. Seleccione el método que corresponda de acuerdo al flujo de trabajo deseado.

5. Verifique haber seleccionado el método de extracción correcto y toque el botón **Continuar**.
6. En la pantalla "Configuración de cartucho", toque las posiciones de cartuchos para seleccionar cualquier posición que se utilizará para esta extracción o para anular su selección. Introduzca cualquier información de seguimiento de muestras necesaria y pulse el botón **Continuar** para seguir.

Nota: Al usar el Maxwell® CSC 48 Instrument, presione el botón **Parte frontal** o **Parte trasera** para seleccionar las posiciones de los cartuchos en cada bandeja de plataforma o anular su selección.

7. Configuración y ejecución del Maxwell® Instrument (continuación)

7. Una vez abierta la puerta, confirme que se hayan realizado todos los elementos de la lista de verificación para la extracción. Verifique que las muestras preprocesadas se hayan añadido al pocillo n.º 1 de los cartuchos, que el isopropanol se haya añadido al pocillo n.º 1 del cartucho (solo para flujos de trabajo de ARN, TNA y FFPE ARN secuencial), que la mezcla de ADNasa I haya sido añadida al pocillo n.º 7 (solo para flujos de trabajo de ARN y FFPE ARN secuencial), que los cartuchos estén cargados en el instrumento, que los tubos de elución sin tapar estén presentes con Nuclease-Free Water y que los émbolos estén en el pocillo n.º 8. Transfiera la bandeja de plataforma con los cartuchos preparados a la plataforma del Maxwell® Instrument.

Introducción de la bandeja de plataforma Maxwell®: Sostenga la bandeja de plataforma por los laterales para evitar que los cartuchos se salgan de esta. Asegúrese de que la bandeja de plataforma esté colocada en el Maxwell® Instrument con los tubos de elución próximos a la puerta. Dirija la parte posterior de la bandeja de plataforma hacia abajo y colóquela en el instrumento, de modo que esta toque la parte posterior de la plataforma del instrumento. Presione hacia abajo en la parte frontal de la bandeja de plataforma para asentar firmemente la bandeja de plataforma en la plataforma del instrumento. Si tiene dificultades para encajar la bandeja en la plataforma, compruebe que esta se encuentre en la orientación correcta. Asegúrese de que la bandeja de plataforma esté nivelada en la plataforma del instrumento y completamente asentada.

Nota: Verifique el identificador en las bandejas de la plataforma de 24 posiciones del Maxwell® CSC 48 para determinar si deben colocarse en la parte frontal o trasera del instrumento.

8. Confirme que se ha realizado todo el preprocesamiento indicado y pulse **Inicio** para cerrar la puerta del instrumento e iniciar el procesamiento.

Nota: Al utilizar el Maxwell® CSC 48 Instrument, si se ha activado el Vision System, las bandejas de plataforma se escanearán mientras se retrae la puerta. Cualquier error en la configuración de las bandejas de plataforma (por ejemplo, los émbolos no están en el pocillo n.º 8 o los tubos de elución no están presentes y abiertos) provocará que el software vuelva a la pantalla "Configuración de cartucho" y las posiciones con problemas se marcarán con un signo de exclamación en un círculo rojo. Toque el signo de exclamación para ver una descripción del error y resolver todos los estados de error. Vuelva a tocar el botón **Inicio** para repetir el escaneo de las bandejas de plataforma y comenzar la ejecución de extracción.



Advertencia: Peligro de aprisionamiento.

9. El Maxwell® Instrument iniciará de forma inmediata la ejecución de la extracción. La pantalla mostrará los pasos realizados y el tiempo aproximado restante.

Notas:

- a. Al tocar el botón **Cancelar**, se abandonará la ejecución. Se perderán todas las muestras de una ejecución cancelada.
- b. Si se cancela la ejecución antes de que finalice, puede que se le pida que compruebe si sigue habiendo émbolos cargados en la barra de émbolo. Si hay émbolos presentes en la barra de émbolo, debe ejecutar Retirada de émbolos cuando se le pida, siguiendo las instrucciones en el manual de uso del Maxwell® Instrument (ver Tabla 1). Si no hay émbolos presentes en la barra de émbolo, puede elegir omitir Retirada de émbolos cuando se le pida. Se perderán las muestras.

10. Cuando haya terminado la ejecución de la extracción (flujos de trabajo de ADN, ARN y TNA) o de la extracción secuencial de ADN y ARN, la interfaz de usuario mostrará un mensaje indicando que el método ha finalizado.

Fin de la ejecución

11. Para abrir la puerta, siga las instrucciones en pantalla que aparecen al final del método. Verifique que los émbolos se encuentren en el pocillo n.º 8 del cartucho al final de la ejecución. Si no se han retirado los émbolos de la barra de émbolo, siga las instrucciones del manual de uso de su Maxwell® Instrument (consulte la Tabla 1) para ejecutar el proceso Retirada de émbolos para descargar los émbolos.

12. Tape y retire los Elution Tubes que contienen ácido nucleico inmediatamente después de la ejecución para evitar que los eluidos se evaporen. Retire las bandejas de plataforma Maxwell® del instrumento.

Nota: Para extraer la bandeja de plataforma del instrumento, sujétela por los laterales. Asegúrese de que las muestras se retiren del instrumento antes de ejecutar un protocolo de desinfección por UV para evitar daños al ácido nucleico purificado. Las muestras de ADN pueden almacenarse durante un máximo de una semana a 4 °C y durante un máximo de un mes a -20 °C. Las muestras de ARN y TNA pueden almacenarse durante la noche a una temperatura de entre -30 °C a -10 °C, o a menos de -60 °C para almacenamiento a largo plazo.



13. Retire los cartuchos y los émbolos de las bandejas de plataforma Maxwell® y deséchelos como residuos peligrosos siguiendo los procedimientos institucionales. Los cartuchos y los émbolos están diseñados para utilizarse con una sola muestra de tejido FFPE en un solo flujo de trabajo, y los tubos de elución son productos de un solo uso. No reutilice Maxwell® CSC Cartridges, los CSC/RSC Plungers ni los Elution Tubes con más de una muestra.

8. Eficacia del flujo de trabajo

El flujo de trabajo DNA/RNA Sequential del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit combina el método de extracción de ADN solamente y el método de extracción de ARN solamente en un solo protocolo. Por lo tanto, al utilizar el flujo de trabajo DNA/RNA Sequential, primero se realiza la extracción de ADN y luego la de ARN a partir de la misma muestra de tejido FFPE. El flujo de trabajo DNA/RNA Sequential está únicamente diseñado para extraer ADN y ARN en tubos de elución separados mientras se conserva la información de seguimiento de la muestra, pero el seguimiento de la muestra es lo suficientemente flexible como para aceptar modificaciones entre las dos ejecuciones.

Flujos de trabajo disponibles en el método secuencial de ADN/ARN

Paso	ADN/ARN secuencial	Solo ADN	Solo ARN
Añadir muestras, cartuchos e información de seguimiento de muestras.	Añadir	Añadir	
Primera extracción (ADN) del método secuencial	X	X	
Eliminar eluidos de ADN del instrumento	X	X	
Modificar muestras, cartuchos e información de seguimiento de muestras	X	Eliminar	Añadir
Segunda extracción (ARN) del método secuencial	X		X
Eliminar eluidos de ARN del instrumento	X		X

9. Instrucciones para después de la extracción

Compruebe que el rendimiento y la pureza del ácido nucleico extraído cumplen con los requisitos de entrada del ensayo diagnóstico posterior antes de utilizarlo en dicho ensayo. El rendimiento del kit se evaluó mediante amplificación y cuantificación con colorantes fluorescentes de los ácidos nucleicos extraídos. Otros métodos de cuantificación, incluida la absorbancia, pueden no correlacionarse con la amplificación de ácidos nucleicos ni con la cuantificación basada en fluorescencia. Las lecturas de absorbancia de los ácidos nucleicos extraídos de muestras de tejido FFPE pueden sobreestimar el rendimiento; se recomienda utilizar métodos más específicos para determinar el rendimiento de ácidos nucleicos.

10. Evaluación del rendimiento analítico

El rendimiento analítico del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit se evaluó utilizando muestras de tejido FFPE humano procesadas en los Maxwell® CSC y Maxwell® CSC 48 Instruments. El rendimiento de la extracción de ADN se evaluó utilizando el flujo de trabajo Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Sequential, ya que el flujo de trabajo del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA es idéntico a la porción inicial de extracción de ADN del flujo de trabajo del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Sequential.

10.A. Cantidad, calidad y amplificabilidad del ADN

Tabla 2. Amplificación del ADN extraído usando el Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Sequential y flujos de trabajo del TNA. El ADN y el ácido nucleico total fueron extraídos de forma separada de seis réplicas individuales de tamaño típico de tejido FFPE de mama, hígado y útero utilizando respectivamente los flujos de trabajo del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Sequential y del TNA. El ADN y el ácido nucleico total extraídos se utilizaron en un ensayo de qPCR para amplificar RNasa P H1 (102 pb) y así evaluar la cantidad de ADN, así como el gen de la transcriptasa inversa de la telomerasa (TERT, por sus siglas en inglés) (164 pb) como un objetivo de ADN más largo para evaluar la calidad del ADN. Se muestra la concentración de ADN promedio para cada conjunto de réplicas. El rendimiento promedio de ADN a partir de todas las muestras de tejido FFPE fue de al menos 100 copias/μl de RNasa P H1 y al menos 25 copias/μl de TERT.

Flujo de trabajo del Maxwell® CSC XtractAll	Tipo de tejido FFPE	Promedio de concentración de ADN (copias/μl)	
		ARNasa P H1	TERT
DNA/RNA Sequential	Mama	5333	7162
	Hígado	10363	19609
	Útero	2762	936
TNA	Mama	1234	3815
	Hígado	3718	11894
	Útero	1173	894

Tabla 3. Escalabilidad del rendimiento de ADN utilizando los flujos de trabajo Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Sequential y TNA. El ADN y el ácido nucleico total fueron extraídos de forma separada de seis réplicas individuales de tamaño típico de tejido FFPE de mama, hígado y útero utilizando respectivamente los flujos de trabajo del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Sequential y del TNA. El ADN y el ácido nucleico total extraídos se utilizaron en un ensayo de qPCR para amplificar RNasa P H1 (102 pb) y así evaluar la cantidad de ADN, así como TERT (164 pb) como un objetivo génico más largo para evaluar la calidad del ADN. Se muestra la concentración de ADN promedio entre las dos secciones de tejido FFPE para cada conjunto de réplicas. La relación promedio de concentración de ADN extraído de dos secciones frente a una sección de muestras de tejido FFPE fue de al menos 1,4 tanto para RNasa P H1 como para TERT.

Flujo de trabajo del Maxwell® CSC XtractAll	Tipo de tejido FFPE	Relación promedio de concentración de ADN de dos secciones frente a una sola sección de tejido FFPE	
		ARNasa P H1	TERT
DNA/RNA Sequential	Mama	2,1	2,2
	Hígado	1,7	1,7
	Útero	2,1	2,3
TNA	Mama	1,9	2,0
	Hígado	2,1	2,2
	Útero	1,9	1,9

10.B. Cantidad, calidad y amplificabilidad del ARN

Tabla 4. Amplificación del ARN extraído usando los flujos de trabajo del Maxwell® CSC XtractAll FFPE RNA, DNA/RNA Sequential y TNA. El ARN y el ácido nucleico total fueron extraídos de seis réplicas individuales de tamaño típico de tejido FFPE de mama, hígado y útero. Para la extracción de ARN se utilizó el flujo de trabajo de Maxwell® CSC XtractAll FFPE RNA o DNA/RNA Sequential; para la extracción de TNA se utilizó el flujo de trabajo de Maxwell® CSC XtractAll FFPE TNA. El ARN y el ácido nucleico total extraídos se utilizaron en un ensayo de RT-qPCR para amplificar el ARN de hipoxantina fosforribosiltransferasa 1 (HPRT1, por sus siglas en inglés) (100 pb) para evaluar la cantidad de ARN, así como el ARN de β -actina (ACTB) (171 pb) como un objetivo de ARN más largo para evaluar la calidad del ARN. Se muestra la concentración de ARN promedio para cada conjunto de réplicas. El rendimiento promedio de ARN de todas las muestras de tejido FFPE fue de al menos 0,032 ng/ μ l para los objetivos de ARN HPRT1 y ACTB.

Flujo de trabajo del Maxwell® CSC XtractAll	Tipo de tejido FFPE	Concentración de ARN promedio (ng/ μ l)	
		HPRT1	ACTB
ARN	Mama	0,27	0,17
	Hígado	0,71	0,30
	Útero	0,91	0,30
DNA/RNA Sequential	Mama	0,52	0,21
	Hígado	0,76	0,21
	Útero	0,64	0,13
TNA	Mama	0,91	0,21
	Hígado	1,11	0,09
	Útero	1,45	0,28

Tabla 5. Escalabilidad del rendimiento de ARN utilizando los flujos de trabajo Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Sequential y TNA. El ARN y el ácido nucleico total fueron extraídos de seis réplicas individuales de tamaño típico de tejido FFPE de mama, hígado y útero. Para la extracción de ARN se utilizó el flujo de trabajo de Maxwell® CSC XtractAll FFPE RNA o DNA/RNA Sequential; para la extracción de TNA se utilizó el flujo de trabajo de Maxwell® CSC XtractAll FFPE TNA. El ARN y el ácido nucleico total extraídos se utilizaron en un ensayo de RT-qPCR para amplificar el ARN de HPRT1 (100 pb) para evaluar la cantidad de ARN, así como el ARN de ACTB (171 pb) como un objetivo de ARN más largo para evaluar la calidad del ARN. Se muestra la concentración de ARN promedio entre las dos secciones de tejido FFPE para cada conjunto de réplicas. La relación promedio de concentración de ARN extraído de dos secciones frente a una sección de muestras de tejido FFPE fue de al menos 1,4 tanto para HPRT1 como para ACTB.

Relación promedio de concentración de ARN de dos secciones frente a una sola sección de tejido FFPE

Flujo de trabajo del Maxwell® CSC XtractAll FFPE	Tipo de tejido FFPE	HPRT1	ACTB
RNA	Mama	1,6	1,4
	Hígado	1,7	1,5
	Útero	1,8	1,6
DNA/RNA Sequential	Mama	1,8	1,6
	Hígado	1,7	1,5
	Útero	2,1	2,0
TNA	Mama	1,4	1,6
	Hígado	2,6	2,2
	Útero	1,9	1,7

10.C. Cuantificación basada en tintes fluorescentes

Tabla 6. Cuantificación de ADN y ARN basada en colorante fluorescente utilizando los flujos de trabajo Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Sequential y RNA en muestras FFPE. El ADN y el ARN fueron extraídos de seis réplicas individuales de tamaño típico de tejido FFPE de mama, hígado y útero. Para la extracción de ADN se utilizó el flujo de trabajo de Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Sequential; el ARN fue extraído usando el flujo de trabajo del Maxwell® CSC XtractAll FFPE RNA o DNA/RNA Sequential. La cantidad de ADN extraído se evaluó con un colorante fluorescente específico para ADN de doble cadena, y la cantidad de ARN extraído se evaluó con un colorante fluorescente específico para ARN. Los rendimientos promedio de ADN y ARN para cada conjunto de réplicas se calcularon utilizando los volúmenes de elución recuperados y se muestran a continuación. El rendimiento promedio tanto de ADN como de ARN extraído de todas las muestras de tejido FFPE, cuantificado mediante un método basado en colorante fluorescente, fue de al menos 100 ng.

Flujo de trabajo del Maxwell® CSC			
Analito	XtractAll FFPE	Tipo de tejido FFPE	Rendimiento (ng)
DNA	DNA/RNA Sequential	Mama	279
		Hígado	367
		Útero	154
RNA	RNA	Mama	445
		Hígado	2199
		Útero	1153
	DNA/RNA Sequential	Mama	616
		Hígado	1330
		Útero	736

10.D. Reproducibilidad

Tabla 7: Reproducibilidad de la extracción de ácido nucleico total usando el flujo de trabajo del Maxwell® CSC XtractAll FFPE RNA, DNA/RNA Sequential y TNA. Para evaluar la reproducibilidad de la extracción de ácidos nucleicos, un único usuario realizó tres ejecuciones individuales de extracción para cada uno de los flujos de trabajo Maxwell® CSC XtractAll FFPE RNA, DNA/RNA Sequential y TNA utilizando muestras de tejido FFPE preprocesadas y agrupadas. Los eluidos se utilizaron en un ensayo de qPCR para determinar la cantidad de ADN, dirigidos a RNasa P H1 (102 pb), o en un ensayo de RT-qPCR para determinar la cantidad de ARN, dirigidos al ARN de HPRT1 (100 pb). Se calcularon el coeficiente de variación porcentual dentro de la ejecución y entre ejecuciones para las extracciones de ADN y ARN de los diferentes flujos de trabajo Maxwell® CSC XtractAll FFPE utilizando los volúmenes de elución recuperados, y se muestran a continuación. Todos los coeficientes porcentuales de variación obtenidos fueron menores al 15 %.

Analito	Flujo de trabajo del Maxwell® CSC XtractAll FFPE	Número de ejecución	Coeficiente porcentual de variación dentro de la ejecución	Coeficiente porcentual de variación entre ejecuciones
DNA	DNA/RNA Sequential	1	13 %	10 %
		2	8 %	
		3	7 %	
	TNA	1	12 %	11 %
		2	9 %	
		3	8 %	
RNA	RNA	1	14 %	12 %
		2	9 %	
		3	13 %	
	DNA/RNA Sequential	1	5 %	6 %
		2	6 %	
		3	8 %	
	TNA	1	14 %	11 %
		2	5 %	
		3	12 %	

10.E. Inhibición de la amplificación debida a sustancias que interfieren

Tabla 8: Evaluación de la inhibición de la amplificación del ADN extraído utilizando los flujos de trabajo del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Sequential y TNA. El ADN o el ácido nucleico total fue extraído de cuatro réplicas individuales de una o dos secciones de tamaño típico de tejido FFPE de mama, hígado y útero. Para la extracción de ADN se utilizó el flujo de trabajo de Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Sequential; para la extracción de TNA se utilizó el flujo de trabajo de Maxwell® CSC XtractAll FFPE TNA. Se utilizaron dos microlitros tanto de una muestra no diluida como de una dilución cuatro veces de cada uno de los mismos eluidos de ADN o ácido nucleico total en un ensayo de qPCR dirigido a RNasa P H1 (102 pb) para evaluar el efecto de cualquier sustancia interferente. Se compararon los valores de C_q de los eluidos no diluidos y diluidos cuatro veces para evaluar la inhibición dentro de los eluidos individuales, siendo un valor de ΔC_q de 2 ± 1 ciclos indicativo de que no hay inhibición. Los valores de ΔC_q para todos los eluidos de las muestras individuales oscilaron entre 1,9 y 2,5, lo que indica una inhibición indetectable en la amplificación de ADN utilizando el ADN o ácido nucleico total extraído con el Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit.

Tipo de tejido FFPE	Número de muestra	Número de secciones	Flujo de trabajo del TNA	Flujo de trabajo del DNA/RNA Sequential
Mama	1	1	2,1	2,0
	2		2,0	2,1
	3		2,1	2,1
	4		2,1	2,2
	1	2	2,1	2,3
	2		2,2	2,2
	3		2,2	2,4
	4		2,1	2,3
Hígado	1	1	2,0	2,1
	2		2,0	2,0
	3		2,0	2,2
	4		2,2	2,3
	1	2	1,9	2,1
	2		2,1	2,0
	3		2,1	2,3
	4		2,2	2,2

Tipo de tejido FFPE	Número de muestra	Número de secciones	Flujo de trabajo del TNA	Flujo de trabajo del DNA/RNA Sequential
Útero	1	1	2,3	2,5
	2		2,3	2,2
	3		2,2	2,3
	4		2,2	2,4
	1	2	2,1	2,2
	2		2,0	2,1
	3		2,0	2,0
	4		2,1	2,2

Tabla 9. Evaluación de la inhibición de la amplificación del ARN extraído utilizando los flujos de trabajo del Maxwell® CSC XtractAll FFPE RNA, DNA/RNA Sequential y TNA. El ARN o el ácido nucleico total fue extraído de cuatro réplicas individuales de una o dos secciones de tamaño típico de tejido FFPE de mama, hígado y útero. Para la extracción de ARN se utilizó el flujo de trabajo de Maxwell® CSC XtractAll FFPE RNA o DNA/RNA Sequential; para la extracción de TNA se utilizó el flujo de trabajo de Maxwell® CSC XtractAll FFPE TNA. Se utilizaron dos microlitros tanto de una muestra no diluida como de una dilución cuatro veces de cada uno de los mismos eluidos de ARN o ácido nucleico total en un ensayo de RT-qPCR dirigido a HPRT1 RNA (100 pb) para evaluar el efecto de cualquier sustancia interferente. Se compararon los valores de C_q de los eluidos no diluidos y diluidos cuatro veces para evaluar la inhibición dentro de los eluidos individuales, siendo un valor de ΔC_q de 2 ± 1 ciclos indicativo de que no hay inhibición. Los valores de ΔC_q para todos los eluidos de las muestras individuales oscilaron entre 1,2 y 2,7, lo que indica una inhibición indetectable en la amplificación de ARN utilizando el ARN o ácido nucleico total extraído con el Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit.

Tipo de tejido FFPE	Número de muestra	Número de secciones	Flujo de trabajo del RNA	Flujo de trabajo del TNA	Flujo de trabajo del DNA/RNA Sequential
Mama	1	1	2,7	1,7	2,4
	2		1,6	1,5	1,4
	3		2,0	1,4	1,5
	4		1,5	1,7	1,7
	1	2	1,4	1,5	1,6
	2		1,7	1,4	1,5
	3		1,8	2,3	2,1
	4		2,4	1,7	1,6

Tipo de tejido FFPE	Número de muestra	Número de secciones	Flujo de trabajo del RNA	Flujo de trabajo del TNA	Flujo de trabajo del DNA/RNA Sequential
Hígado	1	1	1,7	1,3	1,5
	2		1,6	2,2	1,6
	3		1,9	1,5	1,6
	4		1,9	1,5	2,1
	1	2	1,8	1,8	1,4
	2		1,3	1,5	1,9
	3		1,7	1,8	2,0
	4		1,9	2,1	1,2
Útero	1	1	1,8	1,7	2,1
	2		1,7	2,3	1,4
	3		2,0	2,0	1,9
	4		1,8	2,1	1,6
	1	2	2,0	2,2	1,8
	2		1,7	1,4	1,2
	3		1,9	1,5	1,6
	4		1,7	1,8	2,1

10.F. Contaminación cruzada

La contaminación cruzada se evaluó utilizando el Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit con los Maxwell® CSC Instruments, alternando las posiciones de los Maxwell® CSC Cartridges que contenían muestras de tejido FFPE humano y muestras de tejido FFPE de ratón en la bandeja de plataforma Maxwell® CSC/RSC durante una única ejecución de extracción. Los flujos de trabajo del Maxwell® CSC XtractAll FFPE RNA, DNA/RNA Sequential y TNA fueron evaluados. La presencia de ADN o ARN humano en las muestras de ratón, evaluada por qPCR o RT-qPCR, respectivamente, se utilizó para identificar cualquier posible contaminación cruzada proveniente de los Maxwell® CSC Cartridges vecinos. Todas las muestras de tejido FFPE de ratón procesadas en posiciones de la bandeja adyacentes a muestras de tejido FFPE humano presentaron valores de C_q superiores a los valores de C_q obtenidos para las concentraciones más bajas de ADN o ARN en la curva estándar correspondiente.

11. Evaluación de la eficacia clínica

Un laboratorio clínico externo realizó la evaluación del rendimiento clínico del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit con el uso del Maxwell® CSC 48 Instrument. Se extrajeron ADN, ARN y TNA de muestras de tejido FFPE humano utilizando los distintos métodos de extracción Maxwell® CSC XtractAll FFPE, y los ácidos nucleicos se amplificaron en un ensayo clínicamente relevante.

11.A. Flujo de trabajo de extracción de ADN

Se extrajo ADN de muestras de tejido FFPE humano de doce donantes individuales por un único operador, utilizando tanto el método Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA como el método estándar de purificación de ADN del laboratorio clínico externo como referencia. Los eluidos de ADN resultantes fueron analizados mediante un ensayo de qPCR utilizando el cobas® EGFR Mutation Test. Los resultados de la prueba basada en amplificación fueron concordantes entre las doce muestras de ADN extraídas con el Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit y el método de extracción de ADN de referencia del laboratorio.

11.B. Flujo de trabajo de extracción de ARN

Se extrajo ARN de muestras de tejido FFPE humano de doce donantes individuales por un único operador, utilizando tanto el método Maxwell® CSC XtractAll FFPE RNA como el método estándar de purificación de ARN del laboratorio clínico externo como referencia. Los eluidos de ARN resultantes fueron analizados mediante un ensayo de RT-qPCR con cebadores para la hipoxantina fosforribosiltransferasa 1 (HPRT1). Los resultados de la prueba basada en amplificación fueron concordantes entre las doce muestras de ARN extraídas con el Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit y el método de extracción de ARN de referencia del laboratorio.

11.C. Flujo de trabajo de extracción de ácido nucleico total

Se extrajo ácido nucleico total (TNA) de muestras de tejido FFPE humano de doce donantes individuales por un único operador, utilizando el método Maxwell® CSC XtractAll FFPE TNA. Se utilizaron secciones de las mismas doce muestras de tejido FFPE para que el mismo operador extrajera ADN y ARN por separado, utilizando los métodos de referencia del laboratorio clínico externo para la extracción de ADN y ARN, respectivamente.

Los eluidos de TNA resultantes del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit y los eluidos de ADN del método de extracción de ADN de referencia del laboratorio fueron analizados mediante un ensayo de qPCR utilizando la cobas® EGFR Mutation Test. Además, los eluidos de TNA del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit y los eluidos de ARN del método de extracción de ARN de referencia del laboratorio fueron analizados mediante un ensayo de RT-qPCR con cebadores para HPRT1. Los resultados de amplificación tanto de la EGFR Mutation como de la prueba HPRT1 demostraron concordancia entre todas las muestras de TNA extraídas con el Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit y el ADN o ARN extraído utilizando los respectivos métodos de referencia del laboratorio.

11.D. Flujo de trabajo de extracción de ADN/ARN secuencial

Se extrajeron ADN y ARN en eluidos separados de muestras de tejido FFPE humano de doce donantes individuales por dos operadores utilizando el método Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Sequential. Se utilizaron secciones de las mismas doce muestras de tejido FFPE para extraer ADN y ARN por separado, utilizando los métodos de referencia del laboratorio clínico externo para la purificación de ADN y ARN, respectivamente.

Los eluidos de ADN resultantes del sistema Maxwell® CSC y del método de extracción de ADN de referencia del laboratorio fueron analizados mediante un ensayo de qPCR utilizando la cobas® EGFR Mutation Test. Los resultados de amplificación demostraron concordancia entre todas las muestras de ADN extraídas con el Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit utilizando el flujo de trabajo DNA/RNA Sequential y el método de extracción de ADN de referencia del laboratorio, así como entre los dos operadores.

De manera similar, los eluidos de ARN resultantes del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit y el método de extracción de ARN de referencia del laboratorio fueron analizados en un ensayo de RT-qPCR utilizando cebadores para HPRT1. Los resultados de amplificación demostraron concordancia entre todas las muestras de ARN extraídas con el Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit utilizando el flujo de trabajo DNA/RNA Sequential y el método de extracción de ARN de referencia del laboratorio, así como entre los dos operadores.

12. Solución de problemas

En caso de que tenga alguna duda que no resuelva esta sección, póngase en contacto con su distribuidor o sucursal local de Promega. Puede obtener información de contacto en: **www.promega.com**. Correo electrónico: **techserv@promega.com**

Síntomas	Causas y comentarios
Concentración menor a la esperada de ácido nucleico en un eluido (una sección típica de tejido FFPE debería proporcionar ácido nucleico amplificable, dependiendo del tamaño del tejido, la celularidad, las condiciones de fijación con formalina y la manipulación)	<p>El rendimiento del kit ha sido evaluado aislando los ácidos nucleicos de hasta cuatro secciones de tejido FFPE con un espesor máximo de 20 µm. Utilice únicamente secciones que satisfagan la especificación con respecto al tamaño.</p> <p>El kit está diseñado para usarse con muestras de tejido FFPE. No está concebido para usarse con muestras de tejido no FFPE, por ejemplo, muestras de tejido frescas o congeladas. Se han comprobado los tiempos y las temperaturas de incubación para garantizar un rendimiento óptimo.</p> <p>El kit no se ha diseñado para usarse con muestras de tejido FFPE preparadas con fijadores distintos a la formalina tamponada neutra al 10 %. Consulte al laboratorio de patología o al proveedor para asegurarse de que no se haya empleado un fijador alternativo.</p> <p>El Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit no fue probado con portaobjetos o secciones de tejido FFPE teñidas. Repita la extracción con un portaobjetos o una sección sin teñir.</p> <p>El rendimiento del kit se evaluó mediante amplificación y cuantificación con colorantes fluorescentes de los ácidos nucleicos extraídos. Otros métodos de cuantificación, incluida la absorbancia, pueden no correlacionarse con la amplificación ni con la concentración basada en fluorescencia.</p> <p>Pueden haberse introducido ARNasas o ADNasas durante el procesamiento o la cuantificación de las muestras. Consulte la sección 13 para obtener información sobre la creación de un entorno sin ribonucleasa.</p> <p>La mezcla de ADNasa I fue añadida al cartucho para el flujo de trabajo incorrecto. La mezcla de ADNasa I solo debe añadirse al pocillo n.º 7 del cartucho para el flujo de trabajo de RNA y RNA Sequential.</p> <p>El isopropanol no fue añadido al cartucho para el flujo de trabajo correcto (RNA, TNA o RNA Sequential), o fue añadido a un pocillo donde no correspondía.</p> <p>No se utilizó el método de extracción Maxwell® correcto en el instrumento. Compruebe que el método de extracción Maxwell® utilizado se corresponde con la preparación del cartucho para el flujo de trabajo utilizado.</p>

12. Solución de problemas (continuación)

Síntomas	Causas y comentarios
Concentración menor a la esperada de ácido nucleico en un eluido (una sección típica de tejido FFPE debería proporcionar ácido nucleico amplificable, dependiendo del tamaño del tejido, la celularidad, las condiciones de fijación con formalina y la manipulación) (continuación)	No se añadió Nuclease-Free Water a los tubos de elución o no se añadió de la manera indicada. El kit fue probado con un volumen de elución de 50 µl.
Calidad menor de la esperada (el eluido contiene ácidos nucleicos altamente fragmentados o inhibidores para los ensayos posteriores)	<p>Las secciones de tejido FFPE usadas para la extracción pueden contener ácidos nucleicos fragmentados debido a las condiciones de fijación con formalina y la manipulación. Si se fragmentan los ácidos nucleicos totales antes de la extracción, el ácido nucleico fragmentado se purificará con este kit. Repita la extracción con una sección adyacente para evaluar si hay un problema con la sección de tejido FFPE o con el proceso de extracción.</p> <p>Algunos análisis basados en amplificación son especialmente sensibles a inhibidores. Las comprobaciones del ensayo posterior deberán identificar la presencia de un inhibidor de amplificación en el eluido. El usuario es el responsable de verificar la compatibilidad de este producto con todos los ensayos posteriores.</p> <p>La presencia de múltiples tipos de ácidos nucleicos (ADN y ARN) en un eluido pueden causar competencia en los ensayos posteriores. En caso de competición, optimice el ensayo para el analito de interés.</p>
ADN presente en eluidos de ARN que podrían interferir con ensayos posteriores	<p>La mezcla de ADNasa I no fue añadida al cartucho para el flujo de trabajo correcto (RNA o RNA Sequential), o fue añadido a un pocillo del cartucho donde no correspondía. La mezcla de ADNasa I solo debe añadirse al pocillo n.º 7 del cartucho.</p> <p>El Elution Tube no fue retirado de la bandeja de plataforma y reemplazado por uno nuevo y por un émbolo al ejecutar el flujo de trabajo DNA/RNA Sequential.</p>
ARN presente en eluidos de ADN que podrían interferir con ensayos posteriores	Los eluidos de ADN pueden tratarse con ARNasa para remover restos de ARN presentes en las muestras de ADN si las muestras de ARN no deberían estar ahí.
El método de ADN es accidental o intencionalmente cancelado durante el flujo de trabajo de ADN/ARN secuencial.	Las muestras de ARN pueden recuperarse ejecutando el método Maxwell® CSC XtractAll FFPE RNA.

Síntomas	Causas y comentarios
Arrastre de resina en los eluidos.	El tejido FFPE no digerido fue transferido al cartucho. Si queda tejido FFPE no digerido al final de una incubación de 1 hora (Sección 5.A), centrifugue los tubos de muestra a $10\,000 \times g$ por 20 segundos para sedimentarlo. Evite transferir el material sedimentado o no digerido al cartucho. Un poco de arrastre de resina es normal y no afecta al rendimiento posterior. Si fuera necesario, utilice un Elution Magnet (Cat.# AS4017, Cat.# AS4018, o ambos; disponibles por separado) para transferir el eluido a un nuevo tubo. Consulte la sección 14, Productos relacionados.
Manchas de resina marrón en las paredes de los tubos de elución.	Parafina residual o material de la muestra adherido a la pared del tubo durante el procesamiento. Las manchas son normales, varían de acuerdo a la composición de la muestra (por ejemplo, número de rizos, contenido de parafina), y no afectan la calidad del eluido ni el rendimiento en los ensayos posteriores.
El volumen de elución recuperado es muy pequeño o demasiado grande para su uso en ensayos posteriores.	Los volúmenes de elución de entre 30–100 µl fueron probados con el Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit dando buenos resultados.

Cualquier incidente grave ocurrido en relación con el dispositivo que haya provocado o pueda provocar la muerte o lesiones graves de un usuario o paciente debe notificarse inmediatamente al fabricante. Los usuarios ubicados en la Unión Europea también deben notificar cualquier incidente grave a la autoridad competente del Estado miembro en el que esté establecido el usuario y/o el paciente.

13. Creación de un entorno sin ribonucleasa

Las ribonucleasas son extremadamente difíciles de desactivar. Procure evitar que se produzca actividad de ARNasa en sus muestras de ARN durante y después del aislamiento. Esto es especialmente importante si el material de inicio solo está disponible en una cantidad limitada. Las siguientes indicaciones le ayudarán a evitar la contaminación accidental de sus muestras con ARNasa.

1. Dos de las fuentes más frecuentes de contaminación con ARNasa son las manos del usuario y las bacterias u hongos que puede haber en las partículas de polvo en suspensión. Para evitar la contaminación con estas fuentes, utilice una técnica aséptica cuando tenga que manipular los reactivos suministrados con este sistema. Utilice guantes en todo momento. Cambie de guantes siempre que pueda haber entrado en contacto con ribonucleasas.
2. Siempre que sea posible, utilice instrumentos de plástico estériles y desechables para manejar el ARN. Estos materiales suelen carecer de ARNasa y no necesitan pretratamiento para desactivarla.
3. Trate los instrumentos de vidrio y de plástico no estériles antes de usarlos para asegurarse de que carezcan de ARNasa. Caliente los instrumentos de vidrio en el horno a 200 °C durante toda la noche y enjuague a fondo los instrumentos de plástico con 0,1 N de NaOH y 1 mM de EDTA, seguido de agua sin ARNasa. También pueden emplearse productos de eliminación de ARNasa convencionales, siguiendo las instrucciones del fabricante.

13. Creación de un entorno sin ribonucleasa (continuación)

4. Trate las soluciones no suministradas con el sistema añadiendo pirocarbonato de dietilo (DEPC, por sus siglas en inglés) al 0,1 % en una campana extractora. Incúbelas durante toda la noche a temperatura ambiente en la campana extractora, removiendo cada cierto tiempo. Trátelas en el autoclave durante 30 minutos para eliminar cualquier resto de DEPC.

Precaución: El DEPC es un posible carcinógeno, por lo que solo debería usarse en una campana extractora para productos químicos. El DEPC reacciona rápidamente con las aminas y no puede utilizarse para tratar tampones de Tris.

Nota: Para todas las aplicaciones posteriores, es crucial que siga protegiendo sus muestras de ARN de las ARNasas.

14. Productos relacionados

Instrumentos y accesorios

Producto	Tamaño	Cat.#
Maxwell® CSC Instrument*	1 unidad	AS6000
Maxwell® CSC 48 Instrument*	1 unidad	AS8000
Maxwell® RSC/CSC Deck Tray	1 unidad	SP6019
Maxwell® RSC/CSC 48 Front Deck Tray	1 unidad	AS8401
Maxwell® RSC/CSC 48 Back Deck Tray	1 unidad	AS8402
Microtube, 1,5 ml	1000/paquete	V1231
Elution Magnet, 16 posiciones	1 unidad	AS4017
Elution Magnet, 24 posiciones	1 unidad	AS4018

* Producto sanitario para diagnóstico in vitro. Este producto solamente está disponible en algunos países.

Maxwell® CSC Reagent Kits

Visite www.promega.com para obtener una lista de los Maxwell® CSC Reagent Kits disponibles.

© 2025 Promega Corporation. Todos los derechos reservados.

Maxwell es una marca registrada de Promega Corporation

cobas es una marca registrada de Roche Diagnostics Operations, Inc.

Estos productos podrían estar protegidos mediante patentes emitidas o pendientes, o podrían tener algunas limitaciones. Para obtener más información, visite nuestro sitio web.

Todos los precios y especificaciones de este manual están sujetos a cambios sin previo aviso.

Las declaraciones sobre los productos están sujetas a cualquier cambio. Póngase en contacto con Promega Technical Services o acceda al catálogo en línea de Promega para obtener la información más actual sobre los productos Promega.