

MANUALE TECNICO

Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit

Istruzioni per l'uso del prodotto
AS1560

Attenzione: maneggiare le cartucce con attenzione; i bordi del sigillo possono essere taglienti.

Nota: il kit Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit è compatibile solo con il software Maxwell® CSC versione 4.0.0 o superiore o con il software Maxwell® CSC 48 versione 4.1.1 o superiore.



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover, Germania



ISTRUZIONI PER
L'USO DEL PRODOTTO
AS1560



Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit

Tutta la letteratura tecnica è disponibile via Internet all'indirizzo: www.promega.com/protocols/
 Visitare il sito web per verificare che la versione in uso del presente manuale tecnico sia quella più aggiornata.
 In caso di domande sull'utilizzo del prodotto, contattare i Promega Technical Services all'indirizzo e-mail: techserv@promega.com

1. Descrizione	2
2. Componenti del prodotto e condizioni di conservazione	3
3. Finalità prevista/uso previsto del prodotto	5
4. Limitazioni all'utilizzo del prodotto	5
5. Prima di iniziare	6
5.A. Preparazione di campioni di tessuto FFPE	6
6. Preparazione della Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Cartridge	8
6.A. Preparazione della Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Cartridge	8
6.B. Protocollo di estrazione del DNA	9
6.C. Protocollo di estrazione dell'RNA	10
6.D. Protocollo di estrazione dell'acido nucleico totale	11
6.E. Protocollo di estrazione sequenziale di DNA e RNA	12
7. Impostazione ed esecuzione del Maxwell® Instrument	15
8. Efficienza del flusso di lavoro	19
9. Istruzioni post-estrazione	20
10. Valutazione delle prestazioni analitiche	20
10.A. Quantità, qualità e amplificabilità del DNA	20
10.B. Quantità, qualità e amplificabilità dell'RNA	22
10.C. Quantificazione basata su un colorante fluorescente	24
10.D. Riproducibilità	25
10.E. Inibizione dell'amplificazione a causa di sostanze interferenti	26
10.F. Contaminazione crociata	28
11. Valutazione delle prestazioni cliniche	29
11.A. Flusso di lavoro per l'estrazione del DNA	29
11.B. Flusso di lavoro per l'estrazione dell'RNA	29
11.C. Flusso di lavoro per l'estrazione dell'acido nucleico totale	29
11.D. Flusso di lavoro per l'estrazione sequenziale di DNA/RNA	30

12. Risoluzione dei problemi.....	31
13. Creazione di un ambiente privo di ribonucleasi	33
14. Prodotti correlati	34

Il Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit è disponibile solo in alcuni paesi.

1. Descrizione

Il Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit viene utilizzato in combinazione con i Maxwell® Instruments specificati nella Tabella 1 per fornire un metodo semplice per l'estrazione efficiente e automatizzata di DNA, RNA o acido nucleico totale (TNA), o sia DNA che RNA in sequenza da campioni di tessuto fissati in formalina e inclusi in paraffina (FFPE).

I Maxwell® CSC Instruments sono progettati per essere utilizzati con le cartucce di reagenti predosati e con reagenti aggiuntivi forniti nel kit. I metodi di estrazione preprogrammati massimizzano la semplicità e la comodità d'uso dei Maxwell® CSC Instruments. I Maxwell® CSC Instruments possono processare da uno al numero massimo di campioni consentito in modo efficiente con l'estrazione automatica di DNA, RNA e acido nucleico totale (TNA) in circa 30 minuti ed estrazioni sequenziali di DNA e RNA in meno di 1 ora. Il DNA, l'RNA o l'acido nucleico totale estratti possono essere utilizzati direttamente nei saggi di amplificazione a valle.

Tabella 1. Strumenti supportati.

Strumento	Cat.#	Manuale tecnico	Numero massimo di campioni
Maxwell® CSC	AS6000	TM457	16
Maxwell® CSC 48	AS8000	TM623	48

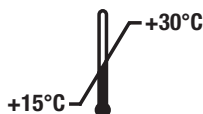
Principio del metodo: il Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit estrae acido nucleico utilizzando particelle paramagnetiche, che forniscono una fase solida mobile per ottimizzare la cattura del campione, il lavaggio e l'estrazione di DNA, RNA o acido nucleico. Opzionalmente, sia il DNA che l'RNA possono essere estratti in sequenza dallo stesso campione di tessuto FFPE senza dover dividere il lisato. I Maxwell® CSC Instruments sono strumenti per la gestione delle particelle magnetiche. Il sistema consente un legame efficiente dell'acido nucleico alle particelle paramagnetiche nella prima camera di una cartuccia preriempita e sposta le particelle paramagnetiche attraverso le camere della cartuccia. Questo approccio alla cattura magnetica evita problemi frequenti quali puntali coagulati o trasferimenti di reagente parziali, che con altri sistemi automatizzati comunemente usati portano ad un'elaborazione dell'estrazione non ottimale.

Considerazioni sul campione: l'estrazione dell'acido nucleico da campioni di tessuto FFPE può essere difficile a causa delle caratteristiche del tessuto come la fibrosità, la composizione lipidica, il contenuto della nucleasi e il numero di cellule disponibili nella sezione di tessuto. Inoltre, la variabilità nel modo in cui il tessuto viene trattato prima e durante il fissaggio, compresa la durata dell'esposizione del tessuto alla formalina durante il processo di fissaggio del tessuto, influenza notevolmente il grado di crosslinking e frammentazione dell'acido nucleico nel tessuto FFPE. Questi attributi possono influenzare la qualità e la quantità di acido nucleico amplificabili che può essere estratto dalle sezioni di tessuto FFPE. Durante lo sviluppo, il Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit è stato valutato con diversi tipi di tessuto umano FFPE per estrarre il DNA, l'RNA o l'acido nucleico totale amplificabile disponibile.

2. Componenti del prodotto e condizioni di conservazione

PRODOTTO	QUANTITÀ	CAT.#
Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit	48 prep	AS1560

Per uso diagnostico in vitro. Esclusivamente ad uso professionale. Sufficiente per 48 isolamenti automatici di campioni di tessuto FFPE. Le Maxwell® CSC Cartridges possono essere utilizzate solo con un singolo campione.



Include:

- 35 ml Olio minerale
- 20 ml Tampone di lisi
- 2 x 1 ml Proteinasi K
- 2 x 100 µl Colorante blu
- 2 x 1 ml MnCl₂, 0,09 M
- 3 fiale DNasi I (liofilizzata)
- 48 Maxwell® CSC Cartridges (CSCR)
- 50 CSC/RSC Plungers
- 2 x 50 Elution Tubes (0,5 ml)
- 25 ml Nuclease-Free Water

Condizioni di conservazione: conservare Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit a temperatura ambiente (tra +15 e +30°C). Conservare la DNasi I reidratata tra -30°C e -10°C. **Non congelare-scongelerare più di 10 volte.**



Informazioni sulla sicurezza: le cartucce contengono etanolo e isopropanolo. Queste sostanze devono essere considerate infiammabili, pericolose e irritanti.



I componenti del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit sono progettati per essere utilizzati con sostanze potenzialmente infettive. Indossare dispositivi di protezione individuale (p. es., guanti e occhiali sicurezza) durante la manipolazione di sostanze infettive. Attenersi alle linee guida della propria struttura per la gestione e lo smaltimento di tutte le sostanze infettive utilizzate con questo sistema.

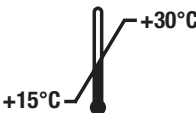


Attenzione: maneggiare le cartucce con attenzione; i bordi del sigillo possono essere taglienti.

2. Componenti del prodotto e condizioni di conservazione (continua)

Informazioni aggiuntive: i componenti del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit sono qualificati e comprovati per funzionare insieme. Non mescolare i componenti di un kit tra lotti di kit differenti. Usare solo i componenti forniti nel kit. Non utilizzare le cartucce se il sigillo della cartuccia non è intatto al momento della ricezione.

Legenda dei simboli

Simbolo	Spiegazione	Simbolo	Spiegazione
	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Rappresentante autorizzato
	Conservare a una temperatura da +15°C a +30°C.		Fabbricante
	Attenzione		Irritante
	Rischio per la salute		Contenuto sufficiente per "n" test
	Conformità alle normative europee		Avvertenza. Rischio biologico.
	Avvertenza. Pericolo di schiacciamento.		Numero catalogo
	Numero lotto		Non riutilizzare

3. Finalità prevista/uso previsto del prodotto

Il Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA kit è destinato all'uso, in combinazione con gli strumenti Maxwell® CSC e i metodi Maxwell® CSC XtractAll, come dispositivo medico diagnostico in vitro (IVD) per eseguire l'isolamento automatico del solo DNA, del solo RNA, sia del DNA che dell'RNA in sequenza, o dell'acido nucleico totale da campioni di tessuto umano fissati in formalina e inclusi in paraffina (FFPE). Il DNA, l'RNA o l'acido nucleico totale estratti sono adatti per l'impiego in analisi diagnostiche in vitro basate sull'amplificazione.

Il Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit è previsto per un impiego ad una temperatura da 15°C a 30°C. L'impiego al di fuori di questi valori può comportare risultati non ottimali. I campioni di tessuto FFPE preparati con formalina 10% neutra tamponata possono essere impiegati con il Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit.

Il Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit è destinato a un uso esclusivamente professionale. I risultati diagnostici ottenuti utilizzando DNA, RNA o acido nucleico totale estratti grazie a questo sistema devono essere interpretati congiuntamente ad altri esami clinici o di laboratorio.

4. Limitazioni all'utilizzo del prodotto

Il Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit è destinato esclusivamente all'uso con campioni di tessuto FFPE. Non è destinato all'uso con campioni di tessuto diversi dai FFPE, come ad esempio campioni di tessuto freschi o congelati. Le caratteristiche di prestazione non sono state stabilite utilizzando campioni di tessuto FFPE preparati con fissativi diversi dalla formalina 10% neutra tamponata.

L'idoneità dell'acido nucleico estratto con il Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit per l'uso nel Next-Generation Sequencing (NGS) è stata dimostrata durante lo sviluppo del prodotto ma non è stata convalidata.

L'utente è responsabile della definizione delle caratteristiche delle prestazioni necessarie per le applicazioni diagnostiche a valle. Qualsiasi applicazione diagnostica a valle che utilizzi DNA, RNA o acido nucleico totale estratto con il Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit deve includere idonei controlli.

5. Prima di iniziare

Fornitura materiali a cura dell'utente

- microcentrifuga
- agitatore da banco
- pipette e puntali per la pre-elaborazione e il trasferimento del campione nelle cartucce preriempite di reagente
- provette da 1,5–2,0 ml per l'incubazione dei campioni (p. es., Microtubes, 1,5 ml; Cat.# V1231)
- blocchi di riscaldamento regolati a 56°C e a 90°C
- campioni di tessuto FFPE (**nota:** i campioni devono essere conservati a temperatura ambiente [15–30°C])
- isopropanolo, ≥99,5% grado di biologia molecolare (per flussi di lavoro sequenziali con RNA, TNA e DNA/RNA)
- lamette da barba (**nota:** fare attenzione durante l'utilizzo delle lamette per raschiare il campione di tessuto FFPE dal vetrino)

Ricostituire al bisogno una fiala di DNasi I liofilizzata con 275 µl di Nuclease-Free Water 15 µl di colorante blu.

Rovesciare la fiala per recuperare la DNasi da sotto al tappo I e girare delicatamente per mescolare; non mescolare con l'agitatore. Conservare la DNasi I ricostituita tra –30°C e –10°C. Non congelare-scongelerare più di 10 volte.

5.A. Preparazione di campioni di tessuto FFPE

Mantenere l'ambiente privo di RNasi durante l'elaborazione. Usare sempre puntali ART (Aerosol Resistant Tips) e privi di RNasi. Cambiare spesso i guanti per ridurre le possibilità di contaminazione con RNasi. Vedere la Sezione 13, Creazione di un ambiente privo di ribonucleasi, per maggiori informazioni.

Durante lo sviluppo, le prestazioni ottimali del kit sono state ottenute con sezioni di tessuto FFPE di spessore totale fino a 20 µm. È possibile combinare più sezioni in una provetta per l'estrazione con uno spessore massimo delle sezioni combinate ≤80 µm. Sezioni più spesse di 20 µm interferiscono con la digestione della proteinasi K e danno luogo a basse rese (vedi Sezione 12). L'utente deve ottimizzare il numero di sezioni e lo spessore delle sezioni in base ai requisiti dell'analisi a valle.

Nel corso dello sviluppo, i campioni di tessuto FFPE proveniente da mammella, fegato e utero sono stati valutati come esemplari e le loro prestazioni sono risultate accettabili. Un'ampia gamma di tipi di tessuto FFPE può essere compatibile con il Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit, ma le prestazioni relative all'estrazione e la compatibilità con le analisi downstream devono essere valutate dal laboratorio.

Pre-elaborazione delle sezioni di tessuto FFPE

1. Porre la/e sezione/i di tessuto FFPE in una provetta per microcentrifuga da 1,5 ml. Se si impiegano sezioni di tessuto FFPE montate su vetrino, raschiarle dai vetrini tramite una lametta da barba pulita.
Nota: utilizzare una nuova lametta da barba pulita per i diversi campioni di tessuto FFPE per evitare la contaminazione crociata dei campioni.
2. Aggiungere 500 µl di olio minerale alle provette del campione. Mescolare tramite agitatore per 10 secondi.
3. Scaldare i campioni a 90°C per 5 minuti. Riporre i campioni a temperatura ambiente durante la preparazione della master mix come descritto nel Passaggio 4.
4. Immediatamente prima dell'uso, preparare una master mix di tampone di lisi, Proteinasi K e colorante blu come mostrato di sotto:

Reagente	Quantità/reazione	Reazioni	
		(Numero di campioni + 2)	Totale
Tampone di lisi	224 µl	n + 2	224 µl × (n + 2)
Proteinasi K	25 µl	n + 2	25 µl × (n + 2)
Colorante blu	1 µl	n + 2	1 µl × (n + 2)

5. Aggiungere 250 µl di master mix a ciascuna provetta di campione e mescolare tramite agitatore per 5 secondi.
Nota: non conservare la master mix rimasta inutilizzata.
6. Centrifugare le provette di campione a 10.000 × g per 20 secondi per separare gli strati. Se lo strato acquoso (strato blu inferiore) contiene un pellet, mescolare delicatamente con un puntale per dissipare il pellet. Lasciare nella provetta sia l'olio minerale che gli strati acquosi.
7. Trasferire le provette di campione nel blocco di riscaldamento a 56°C e incubare per 15 minuti.
8. Trasferire le provette di campione nel blocco di riscaldamento a 90°C e incubare per 1 ora.
9. Procedere alla Sezione 6 per la preparazione della cartuccia.

6. Preparazione della Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Cartridge

6.A. Preparazione della Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Cartridge

1. Cambiare guanti prima di maneggiare Maxwell® CSC Cartridges (CSCR), CSC/RSC Plungers ed Elution Tubes (0,5 ml). Le cartucce vengono preparate nell'apposito vassoio esterno allo strumento Maxwell® e i vassoi che contengono le cartucce ed i campioni vengono trasferiti nello strumento per l'estrazione. Porre ciascuna cartuccia nel vassoio con la camera n.1 (la camera più ampia nella cartuccia) al massimo della distanza dalle Elution Tubes (Figura 1). Premere sulla cartuccia fino a quando non scatta in posizione. Assicurarsi che ambedue le estremità della cartuccia siano completamente inserite nel vassoio. Staccare delicatamente il sigillo per rimuoverlo completamente dalla parte superiore della cartuccia. Assicurarsi che il nastro sigillante sia stato rimosso dalla cartuccia.



Attenzione: maneggiare le cartucce con attenzione. I bordi del sigillo possono essere taglienti.

2. Posizionare uno stantuffo nella camera n.8 di ciascuna cartuccia.
3. Porre nell'apposita posizione una Elution Tube vuota per ciascuna cartuccia del vassoio.

Nota: usare esclusivamente le provette di eluizione a corredo del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit. Altre provette di eluizione possono non essere compatibili con i Maxwell® CSC Instruments e interferire con le prestazioni di estrazione.

4. Aggiungere 50 µl di Nuclease-Free Water sul fondo di ciascuna Elution Tube. Mantenere aperte le provette di eluizione durante l'estrazione (Figura 1).

Nota: usare esclusivamente Nuclease-Free Water a corredo del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit. L'uso di altri tamponi di eluizione può influire sulle prestazioni di estrazione o sull'uso a valle.

5. Procedere alla sezione appropriata elencata di seguito per le istruzioni specifiche di ciascun flusso di lavoro di estrazione.

Tipo di estrazione	Sezione
DNA	6.B
RNA	6.C
Acido nucleico totale (TNA)	6.D
DNA/RNA Sequential	6.E

Note sulla preparazione del vassoio



Eventuali fuoriuscite di campione o reagente su qualunque parte del vassoio devono essere pulite con una soluzione a base d'acqua e detergente, per applicare poi uno spray battericida, oppure strofinando e lavando nuovamente con acqua. **Non** usare candeggina su nessuna parte dello strumento.



Figura 1. Preparazione e allestimento del vassoio. Nuclease-Free Water viene aggiunta alle Elution Tubes come indicato. Aprire le Elution Tubes prima di iniziare un metodo di estrazione.

6.B. Protocollo di estrazione del DNA

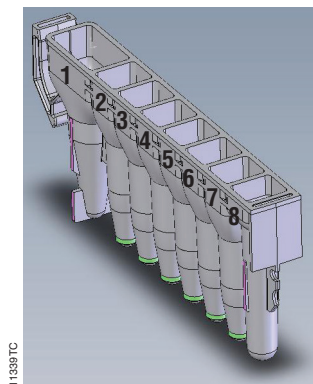
1. Al termine dell'incubazione di 1 ora (Sezione 5.A), trasferire la fase blu acquosa nella camera n.1 della Maxwell® CSC Cartridge (CSCR). Utilizzare un nuovo puntale per ogni campione per evitare la contaminazione crociata.

Note:

- a. Se al termine dell'incubazione rimane del materiale non digerito, centrifugare le provette a $10.000 \times g$ per 20 secondi per pellettizzare il materiale non digerito. Non trasferire nella cartuccia materiale in pellet o non digerito.
 - b. Trasferire l'intero volume della fase blu acquosa alla cartuccia evitando il materiale non digerito ed estrarre entro 30 minuti dal termine dell'incubazione.
 - c. Il volume della fase blu acquosa nella provetta varia in base al campione di tessuto FFPE immesso e alla composizione.
2. Scansionare il codice a barre sulla scatola del kit e selezionare il metodo Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA. Toccare **Procedi** per continuare.
 3. Posizionare il vassoio nello strumento Maxwell®, inserire le informazioni sulla cartuccia e sulla tracciabilità del campione nella schermata "Impostazioni cartuccia", confermare che le voci della lista di controllo dell'estrazione sono state eseguite e toccare il pulsante **Avvia** per iniziare il ciclo di estrazione.

Nota: per istruzioni dettagliate sull'impostazione dello strumento, consultare la Sezione 7.

6.B. Protocollo di estrazione del DNA (continua)



Componenti aggiunti dall'utente alle camere:

1. Campioni pre-elaborati
8. CSC/RSC Plunger

Figura 2. Maxwell® CSC Cartridge. Il campione di tessuto FFPE pre-elaborato viene aggiunto alla camera n.1; uno stantuffo viene aggiunto alla camera n.8.

6.C. Protocollo di estrazione dell'RNA

1. Al termine dell'incubazione di 1 ora (Sezione 5.A), trasferire la fase blu acquosa nella camera n.1 della Maxwell® CSC Cartridge (CSCR). Utilizzare un nuovo puntale per ogni campione per evitare la contaminazione crociata.

Note:

- a. Se al termine dell'incubazione rimane del materiale non digerito, centrifugare le provette a $10.000 \times g$ per 20 secondi per pelletizzare il materiale non digerito. Non trasferire nella cartuccia materiale in pellet o non digerito.
- b. Trasferire l'intero volume della fase blu acquosa alla cartuccia evitando il materiale non digerito ed estrarre entro 30 minuti dal termine dell'incubazione.
- c. Il volume della fase blu acquosa nella provetta varia in base al campione di tessuto FFPE immesso e alla composizione.
2. Immediatamente prima dell'uso, preparare un cocktail di $MnCl_2$ e DNasi I come indicato di seguito:

Reagente	Quantità/reazione	Reazioni (Numero di campioni [n] + 2)	Totale
$MnCl_2$, 0,09 M	17 μ l	n + 2	17 μ l $\times$ (n + 2)
DNasi I (con colorante blu) ¹	10 μ l	n + 2	10 μ l $\times$ (n + 2)

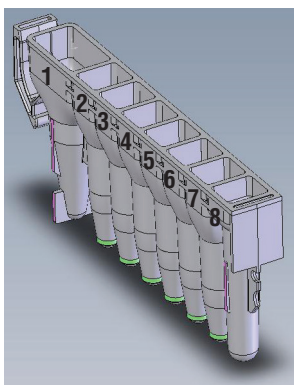
¹Conservare la DNasi I ricostituita rimanente con colorante blu tra -30 e -10°C .

3. Aggiungere 27 μ l di cocktail di DNasi I alla camera n.7 di ciascuna cartuccia.

Nota: non conservare il cocktail di DNasi I rimasto inutilizzato.

4. Aggiungere 500 µl di isopropanolo al 100% alla camera n.1.
5. Scansionare il codice a barre sulla scatola del kit e selezionare il metodo Maxwell® CSC XtractAll FFPE RNA. Toccare **Procedi** per continuare.
6. Posizionare il vassoio nello strumento Maxwell®, inserire le informazioni sulla cartuccia e sulla tracciabilità del campione nella schermata "Impostazioni cartuccia", confermare che le voci della lista di controllo dell'estrazione sono state eseguite e toccare il pulsante **Avvia** per iniziare il ciclo di estrazione.

Nota: per istruzioni dettagliate sull'impostazione dello strumento, consultare la Sezione 7.



Componenti aggiunti dall'utente alle camere:

1. Campioni pre-elaborati e 500 µl di isopropanolo al 100%
7. 27 µl di cocktail di DNasi I
8. CSC/RSC Plunger

Figura 3. Maxwell® CSC Cartridge. Il campione di tessuto FFPE pre-elaborato e l'isopropanolo vengono aggiunti alla camera n.1, il cocktail di DNasi I alla camera n. 7 e uno stantuffo viene aggiunto alla camera n.8.

6.D. Protocollo di estrazione dell'acido nucleico totale

1. Al termine dell'incubazione di 1 ora (Sezione 5.A), trasferire la fase blu acquosa nella camera n.1 della Maxwell® CSC Cartridge (CSCR). Utilizzare un nuovo puntale per ogni campione per evitare la contaminazione crociata.

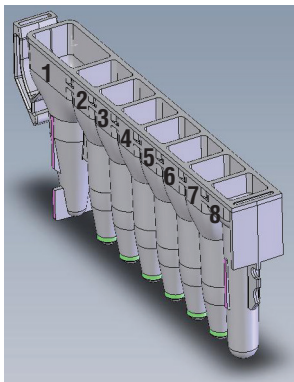
Note:

- a. Se al termine dell'incubazione rimane del materiale non digerito, centrifugare le provette a $10.000 \times g$ per 20 secondi per pellettizzare il materiale non digerito. Non trasferire nella cartuccia materiale in pellet o non digerito.
 - b. Trasferire l'intero volume della fase blu acquosa alla cartuccia evitando il materiale non digerito ed estrarre entro 30 minuti dal termine dell'incubazione.
 - c. Il volume della fase blu acquosa nella provetta varia in base al campione di tessuto FFPE immesso e alla composizione.
2. Aggiungere 500 µl di isopropanolo al 100% alla camera n.1.
 3. Scansionare il codice a barre sulla scatola del kit e selezionare il metodo Maxwell® CSC XtractAll FFPE Total Nucleic Acid. Toccare **Procedi** per continuare.

6.D. Protocollo di estrazione dell'acido nucleico totale (continua)

4. Posizionare il vassoio nello strumento Maxwell®, inserire le informazioni sulla cartuccia e sulla tracciabilità del campione nella schermata "Impostazioni cartuccia", confermare che le voci della lista di controllo dell'estrazione sono state eseguite e toccare il pulsante **Avvia** per iniziare il ciclo di estrazione.

Nota: per istruzioni dettagliate sull'impostazione dello strumento, consultare la Sezione 7.



Componenti aggiunti dall'utente alle camere:

1. Campioni pre-elaborati e 500 µl di isopropanolo al 100%
8. CSC/RSC Plunger

Figura 4. Maxwell® CSC Cartridge. Il campione di tessuto FFPE pre-elaborato e l'isopropanolo vengono aggiunti alla camera n.1 e uno stantuffo viene aggiunto alla camera n.8.

6.E. Protocollo di estrazione sequenziale di DNA e RNA

Quando si seleziona il metodo di estrazione sequenziale di DNA/RNA, il software Maxwell® procederà a due distinti cicli di estrazione in successione con l'aggiunta di alcuni reagenti alle cartucce tra un ciclo e l'altro. Per il metodo Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Sequential, il primo metodo estrae il DNA dal campione di tessuto FFPE lisato nella prima provetta di eluizione, mentre il secondo metodo estrae l'RNA dallo stesso campione in una seconda provetta di eluizione utilizzando la stessa cartuccia e lo stesso stantuffo. Di seguito sono riportate le istruzioni per la preparazione delle cartucce per ciascuno di questi cicli di estrazione.

Ciclo 1: estrazione del DNA

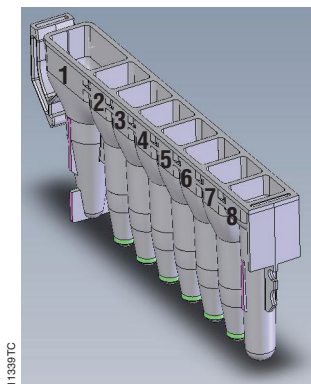
1. Al termine dell'incubazione di 1 ora (Sezione 5.A), trasferire la fase blu acquosa nella camera n.1 della Maxwell® CSC Cartridge (CSCR). Utilizzare un nuovo puntale per ogni campione per evitare la contaminazione crociata.

Note:

- a. Se al termine dell'incubazione rimane del materiale non digerito, centrifugare le provette a 10.000 × g per 20 secondi per pellettizzare il materiale non digerito. Non trasferire nella cartuccia materiale in pellet o non digerito.
- b. Trasferire l'intero volume della fase blu acquosa alla cartuccia evitando il materiale non digerito ed estrarre entro 30 minuti dal termine dell'incubazione.
- c. Il volume della fase blu acquosa nella provetta varia in base al campione di tessuto FFPE immesso e alla composizione.

2. Scansionare il codice a barre sulla scatola del kit, poi selezionare il metodo Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Sequential e toccare **Procedi** per continuare.
3. Posizionare il vassoio nello strumento Maxwell®, inserire le informazioni sulla cartuccia e sulla tracciabilità del campione nella schermata "Impostazioni cartuccia", confermare che le voci della lista di controllo dell'estrazione sono state eseguite e toccare il pulsante **Avvia** per iniziare il ciclo di estrazione.

Nota: per istruzioni dettagliate sull'impostazione dello strumento, consultare la Sezione 7.



Componenti aggiunti dall'utente alle camere:

1. Campioni pre-elaborati
8. CSC/RSC Plunger

Figura 5. Maxwell® CSC Cartridge. Il campione di tessuto FFPE pre-elaborato viene aggiunto alla camera n.1; uno stantuffo viene aggiunto alla camera n.8.

Istruzioni tra un ciclo e l'altro

Tra la prima estrazione di DNA FFPE e la seconda estrazione di RNA FFPE per il metodo sequenziale DNA/RNA, eseguire le seguenti operazioni:

4. Seguire le istruzioni a schermo al termine del metodo di estrazione sequenziale del DNA FFPE per aprire lo sportello. Verificare che gli stantuffi si trovino nella camera n.8 delle cartucce al termine del ciclo. Se gli stantuffi non vengono rimossi dalla barra, seguire le istruzioni del manuale d'uso del Maxwell® Instrument in uso (vedere la Tabella 1) per eseguire un processo di Rimozione stantuffi per scaricare gli stantuffi. Per preparare il ciclo di estrazione sequenziale di RNA FFPE, viene visualizzata una nuova schermata di impostazioni della cartuccia.
5. Tappare e rimuovere le Elution Tubes contenenti DNA subito dopo la corsa per evitare l'evaporazione degli eluiti.
6. Al termine del ciclo di estrazione sequenziale del DNA FFPE, la resina viene depositata nella camera n.2 per preparare l'estrazione sequenziale dell'RNA FFPE.

Note:

- a. Non rimuovere o smaltire le cartucce o gli stantuffi dal vassoio. Saranno riutilizzati per l'estrazione sequenziale dell'RNA FFPE.
- b. Procedere all'estrazione sequenziale dell'RNA FFPE entro 2 ore dal completamento dell'estrazione sequenziale del DNA FFPE.

6.E. Protocollo di estrazione sequenziale di DNA e RNA (continua)

7. Viene visualizzata una schermata di impostazioni della cartuccia, che indica le posizioni dei campioni e le informazioni di tracciamento inserite prima del primo ciclo di estrazione del DNA. Se necessario, è possibile modificare queste informazioni per riflettere eventuali modifiche alle cartucce in elaborazione toccando il pulsante **Abilita modifica**. Per ulteriori informazioni, consultare la Sezione 8.
8. Toccare il pulsante **Procedi** per visualizzare la schermata "Lista di controllo estrazione".

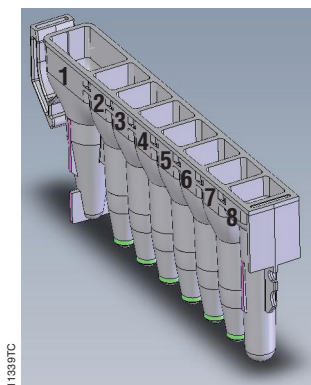
Ciclo 2: estrazione dell'RNA

9. Porre nell'apposita posizione una Elution Tube vuota per ciascuna cartuccia del vassoio.
Nota: usare esclusivamente le Elution Tubes a corredo del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit. Altre provette di eluizione possono non essere compatibili con Maxwell® CSC Instrument e interferire con l'estrazione dell'RNA.
10. Aggiungere 50 µl di Nuclease-Free Water sul fondo di ciascuna Elution Tube. Le Elution Tubes devono rimanere aperte durante la purificazione dell'RNA (Figura 7).
Nota: usare esclusivamente Nuclease-Free Water a corredo del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit. L'uso di altri tamponi di eluizione può influire sulle prestazioni di estrazione dell'RNA o sull'uso a valle.
11. Immediatamente prima dell'uso, preparare un cocktail di $MnCl_2$ e DNasi I come indicato di seguito:

Reagente	Quantità/reazione	Reazioni (Numero di campioni + 2)	Totale
$MnCl_2$, 0,09 M	17 µl	n + 2	17 µl × (n + 2)
DNasi I ¹ (con colorante blu)	10 µl	n + 2	10 µl × (n + 2)

¹Conservare la DNasi I ricostituita rimanente con colorante blu tra -30 e -10°C.

12. Aggiungere 27 µl di cocktail di DNasi I alla camera n.7 di ciascuna cartuccia.
Nota: non conservare l'eventuale cocktail di DNasi I rimasto inutilizzato.
13. Aggiungere 500 µl di isopropanolo al 100% alla camera n.1.
14. Posizionare il vassoio nello strumento Maxwell®, confermare che le voci della lista di controllo dell'estrazione sono state eseguite e toccare il pulsante **Avvia** per iniziare il secondo ciclo di estrazione sequenziale dell'RNA FFPE.
Nota: per istruzioni dettagliate sull'impostazione dello strumento, consultare la Sezione 7.



Componenti aggiunti dall'utente alle camere:

1. 500 µl di isopropanolo al 100% (aggiungere il campione esistente alla camera n.1)
7. 27 µl di cocktail di DNasi I
8. CSC/RSC Plunger (lo stesso stantuffo utilizzato durante l'estrazione con FFPE DNA/RNA Sequential che dovrebbe essere già presente nella camera n.8)

Figura 6. Maxwell® CSC Cartridge. L'isopropanolo viene aggiunto al campione esistente nella camera n.1, il cocktail di DNasi I nella camera n.7 e lo stesso stantuffo utilizzato per l'estrazione sequenziale del DNA FFPE dovrebbe essere presente nella camera n.8.



Figura 7. Preparazione e allestimento del vassoio. Nuclease-Free Water viene aggiunta alle Elution Tubes come indicato. Aprire le Elution Tubes prima di iniziare il metodo di estrazione.

7. Impostazione ed esecuzione del Maxwell® Instrument

I Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA, RNA, TNA e DNA/RNA Sequential Methods per il Maxwell® CSC Instrument possono essere scaricati all'indirizzo:

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

I Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA, RNA, TNA e DNA/RNA Sequential Methods per il Maxwell® CSC 48 Instrument possono essere scaricati all'indirizzo:

www.promega.com/resources/software-firmware/maxwell-maxprep/maxwell-csc-48-methods/

Nota: il kit Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit è compatibile solo con il software Maxwell® CSC versione 4.0.0 o superiore o con il software Maxwell® CSC 48 versione 4.1.1 o superiore.

7. Impostazione ed esecuzione del Maxwell® Instrument (continua)

Se si ritiene che lo strumento possa essere stato contaminato da RNasi, pulirlo prima dell'utilizzo. Seguire le istruzioni nell'apposita sezione di pulizia e manutenzione del *Manuale d'uso n.TM457 per il Maxwell® CSC Instrument IVD Mode* o il *Manuale d'uso n.TM623 per il Maxwell® CSC 48 Instrument IVD Mode*.

1. Accendere il Maxwell® Instrument e il tablet PC. Accedere al tablet PC e avviare il software Maxwell® CSC IVD-mode toccando due volte l'icona sul desktop. Lo strumento procederà a un'auto-verifica e tutte le parti mobili verranno portate nella posizione base.
2. Selezionare **Avvia** nella schermata iniziale.
3. Leggere o digitare il codice a barre nell'angolo in alto a destra dell'etichetta del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit (Figura 8).

Nota: il codice a barre del metodo del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit è necessario per l'estrazione con i Maxwell® CSC Instruments. L'etichetta del kit contiene due codici a barre. Il codice a barre del metodo è indicato nella Figura 8. Se il codice a barre non è leggibile, contattare i Promega Technical Services (techserv@promega.com).

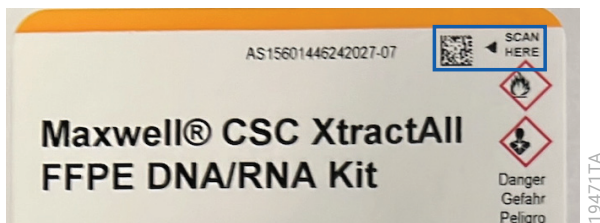


Figura 8. Etichetta del kit con l'indicazione del codice a barre da leggere. Il codice a barre da leggere per avviare un metodo di estrazione è indicato nella casella blu nell'angolo in alto a destra dell'etichetta del kit.

- Nella schermata di selezione del metodo, selezionare il metodo corrispondente al flusso di lavoro da elaborare: 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.

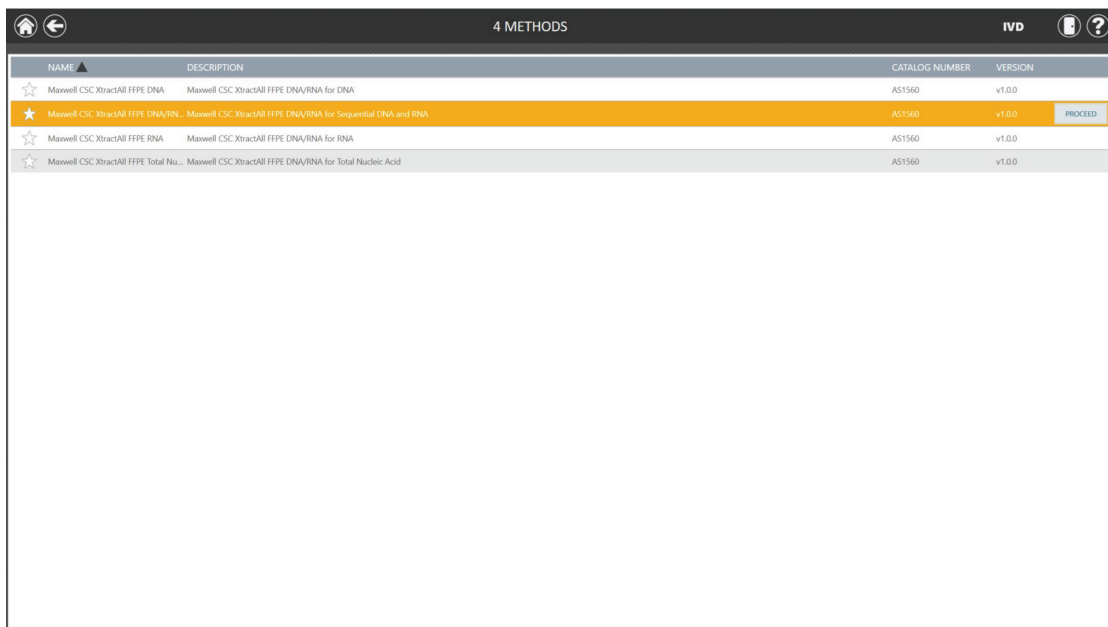


Figura 9. Schermata di selezione del metodo. Selezionare il metodo corrispondente al flusso di lavoro desiderato.

- Verificare che sia stato selezionato il metodo di estrazione corretto e premere il pulsante **Procedi**.
- Nella schermata "Impostazioni cartuccia" toccare le posizioni della cartuccia per selezionare/deselezionare le posizioni da usare per il ciclo di estrazione. Immettere eventuali informazioni di tracciabilità richieste per il campione e toccare il pulsante **Procedi** per continuare.
Nota: Quando si usa il Maxwell® CSC 48 Instrument, toccare il pulsante **Anteriore** o **Posteriore** per selezionare o deselezionare le posizioni delle cartucce su ciascun vassoio.
- Una volta aperto lo sportello dello strumento, confermare che tutte le voci della lista di controllo estrazione sono state eseguite. Verificare che i campioni pre-elaborati siano stati aggiunti alla camera n.1 delle cartucce, che l'isopropanolo sia stato aggiunto alla camera n.1 della cartuccia (solo per i flussi di lavoro sequenziali per RNA, TNA e RNA FFPE), che il cocktail di DNasi I sia stato aggiunto alla camera n.7 della cartuccia (solo per i flussi di lavoro sequenziali di RNA e RNA FFPE), che le cartucce siano caricate sullo strumento, che siano presenti provette di eluizione stappate con Nuclease-Free Water e che gli stantuffi siano nella camera n.8. Trasferire il vassoio contenente le cartucce preparate sulla piattaforma del Maxwell® Instrument.

7. Impostazione ed esecuzione del Maxwell® Instrument (continua)

Inserimento del vassoio Maxwell®: tenere il vassoio dai lati per evitare di spostare le cartucce dal vassoio. Assicurarsi che il vassoio sia posizionato nel Maxwell® Instrument con le provette di eluizione il più vicino possibile allo sportello. Inclinare la parte posteriore del vassoio verso il basso e inserirla dentro lo strumento in modo che la parte posteriore del vassoio sia a contatto con la parte posteriore della piattaforma dello strumento. Premere la parte frontale del vassoio per fissarlo saldamente sulla piattaforma dello strumento. Se si riscontrano difficoltà nel posizionare il vassoio sulla piattaforma, verificare che il vassoio sia orientato correttamente. Accertarsi che il vassoio sia a livello con la piattaforma dello strumento e ben posizionato.

Nota: controllare l'identificativo sui vassoi Maxwell® CSC 48 a 24 posizioni per stabilire se devono essere posizionati nella parte anteriore o posteriore dello strumento.

8. Confermare che tutti i passaggi di pre-elaborazione sono stati eseguiti e toccare **Avvia** per chiudere lo sportello dello strumento e avviare l'elaborazione.

Nota: quando si usa un Maxwell® CSC 48 Instrument, se è stato abilitato il Vision System i vassoi saranno letti quando lo sportello si ritrae. Qualsiasi errore nella configurazione dei vassoi (p. es., stantuffi non nella camera n.8, provette di eluizione non presenti e aperte) causerà il ritorno del software alla schermata "Impostazioni cartuccia" e le posizioni problematiche saranno contrassegnate con un punto esclamativo racchiuso in un cerchio rosso. Toccare il punto esclamativo per visualizzare la descrizione dell'errore e risolvere tutti gli stati di errore. Toccare di nuovo il pulsante **Avvia** per ripetere la lettura dei vassoi e iniziare il ciclo di estrazione.



Avvertenza: pericolo di schiacciamento.

9. Il Maxwell® Instrument inizierà immediatamente il ciclo di estrazione. La schermata visualizzerà i passaggi eseguiti e una stima del tempo rimanente per la fine della corsa.

Note:

- Toccando il pulsante **Interrompi** il ciclo sarà abbandonato. Tutti i campioni di un ciclo interrotto andranno persi.
 - Se il ciclo viene interrotto prima che sia completato, potrebbe essere richiesto di controllare se gli stantuffi sono ancora caricati nell'apposita barra. Se nella barra sono presenti degli stantuffi, è necessario eseguire la Rimozione stantuffi quando richiesto seguendo le istruzioni del Manuale d'uso per il Maxwell® Instrument (vedi Tabella 1). Se non ci sono stantuffi nell'apposita barra, si può scegliere di saltare la Rimozione stantuffi quando richiesto. I campioni andranno persi.
10. Quando il ciclo di estrazione (flussi di lavoro DNA, RNA, TNA) o entrambi i cicli di estrazione sequenziale di DNA/RNA sono completati, l'interfaccia utente visualizza un messaggio di completamento del metodo.

Fine del ciclo

11. Seguire le istruzioni a schermo al termine del metodo per aprire lo sportello. Verificare che gli stantuffi si trovino nella camera n.8 della cartuccia al termine del ciclo. Se gli stantuffi non vengono rimossi dalla barra, seguire le istruzioni del manuale d'uso del Maxwell® Instrument in uso (vedere la Tabella 1) per eseguire un processo di Rimozione stantuffi per cercare di scaricare gli stantuffi.
12. Tappare e rimuovere le Elution Tubes contenenti l'acido nucleico subito dopo la corsa per evitare l'evaporazione degli eluiti. Rimuovere il vassoio Maxwell® dallo strumento.
Nota: per rimuovere il vassoio dalla piattaforma dello strumento, tenerlo ai lati. Assicurarsi che i campioni vengano rimossi dallo strumento prima di eseguire un protocollo di igienizzazione UV per evitare di danneggiare l'acido nucleico estratto. I campioni di DNA possono essere conservati per una settimana a 4°C e per un mese a -20°C. I campioni di RNA e TNA possono essere conservati per la notte tra -30 e -10°C o a lungo termine a temperature inferiori a -60°C.
-  13. Rimuovere le cartucce e gli stantuffi dal vassoio Maxwell® e smaltirli come rifiuti pericolosi secondo le procedure in vigore per la propria struttura. Le cartucce e gli stantuffi sono destinati all'uso con un singolo campione di tessuto FFPE nell'ambito di un unico flusso di lavoro, mentre le provette di eluizione sono destinate a un unico uso. Non riutilizzare Maxwell® CSC Cartridges, CSC/RSC Plungers o Elution Tubes con più di un campione.



8. Efficienza del flusso di lavoro

Il flusso di lavoro DNA/RNA Sequential del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit combina il metodo di estrazione del solo DNA e il metodo di estrazione del solo RNA in un unico protocollo. Pertanto, quando si utilizza il flusso di lavoro DNA/RNA Sequential, si esegue prima l'estrazione del DNA e poi quella dell'RNA dallo stesso campione di tessuto FFPE. Il flusso di lavoro DNA/RNA Sequential è progettato in modo unico per estrarre il DNA e l'RNA in provette di eluizione separate, conservando le informazioni di tracciamento del campione, ma il tracciamento del campione è abbastanza flessibile da accettare modifiche tra i due cicli.

Flussi di lavoro disponibili nel metodo DNA/RNA Sequential

Passaggio	DNA/RNA Sequential	Solo DNA	Solo RNA
Aggiunta di campioni, cartucce e informazioni sulla tracciabilità dei campioni	Aggiunta	Aggiunta	
Prima estrazione (DNA) del metodo sequenziale	X	X	
Rimuovere gli eluiti di DNA dallo strumento	X	X	
Modificare i campioni, le cartucce e le informazioni sulla tracciabilità dei campioni	X	Rimozione	Aggiunta
Seconda estrazione (RNA) del metodo sequenziale	X		X
Rimuovere gli eluiti di RNA dallo strumento	X		X

9. Istruzioni post-estrazione

Assicurarsi che la resa e la purezza dell'acido nucleico estratto siano conformi ai requisiti di ingresso dell'analisi diagnostica a valle prima di impiegarlo in tale analisi. Le prestazioni del kit sono state valutate in base all'amplificazione e alla quantificazione basata su un colorante fluorescente degli acidi nucleici estratti. Altri metodi di quantificazione, tra cui l'assorbanza, possono non essere correlati all'amplificazione degli acidi nucleici o alla quantificazione basata sulla fluorescenza. Le letture di assorbanza per gli acidi nucleici di campioni di tessuto FFPE purificate possono sovrastimare la resa; si raccomanda l'utilizzo di metodi più specifici per la determinazione della resa degli acidi nucleici.

10. Valutazione delle prestazioni analitiche

Le prestazioni analitiche di Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit sono state valutate utilizzando campioni di tessuto FFPE umano processati sui Maxwell® CSC e Maxwell® CSC 48 Instruments. Le prestazioni dell'estrazione del DNA sono state valutate utilizzando il flusso di lavoro Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Sequential, poiché il flusso di lavoro Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA è identico alla parte iniziale dell'estrazione del DNA del flusso di lavoro Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Sequential.

10.A. Quantità, qualità e amplificabilità del DNA

Tabella 2. Amplificazione del DNA estratto con i flussi di lavoro Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Sequential e TNA.

Il DNA e l'acido nucleico totale sono stati estratti separatamente da sei replicati di campioni singoli di sezioni di dimensioni tipiche di tessuti FFPE di mammella, fegato e utero utilizzando rispettivamente i flussi di lavoro Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Sequential e TNA. Il DNA e l'acido nucleico totale estratti sono stati utilizzati in un'analisi qPCR per l'amplificazione della RNasi P H1 (102bp) per valutare la quantità di DNA e del gene della telomerasi trascrittasi inversa (TERT) (164bp) come target di DNA più lungo per valutare la qualità del DNA. È riportata la concentrazione media di DNA per ciascun set di replicati. La resa media di DNA da tutti i campioni di tessuto FFPE è stata di almeno 100 copie per µl di RNasi P H1 e di almeno 25 copie per µl di TERT.

Flusso di lavoro Maxwell® CSC XtractAll	Tipo di tessuto FFPE	Concentrazione media DNA (copie per µl)	
		RNasi P H1	TERT
DNA/RNA Sequential	Mammella	5333	7162
	Fegato	10363	19609
	Utero	2762	936
TNA	Mammella	1234	3815
	Fegato	3718	11894
	Utero	1173	894

Tabella 3. Scalabilità della resa del DNA con i flussi di lavoro Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Sequential e TNA.

Il DNA e l'acido nucleico totale sono stati estratti separatamente da sei replicati di campioni singoli di una e due sezioni di dimensioni tipiche di tessuti FFPE di mammella, fegato e utero utilizzando rispettivamente i flussi di lavoro Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Sequential e TNA. Il DNA e l'acido nucleico totale estratti sono stati utilizzati in un'analisi qPCR per l'amplificazione della RNasi P H1 (102bp) per valutare la quantità di DNA e del TERT (164bp) come target del gene più lungo per valutare la qualità del DNA. È riportato il rapporto medio della concentrazione di DNA tra una e due sezioni di tessuto FFPE per ogni set di replicati. Il rapporto medio tra la concentrazione di DNA estratto da due sezioni rispetto a una sezione di campioni di tessuto FFPE è stato di almeno 1,4 sia per la RNasi P H1 che per il TERT.

Flusso di lavoro Maxwell® CSC XtractAll	Tipo di tessuto FFPE	Rapporto medio tra la concentrazione di DNA di due sezioni di tessuto FFPE e quella di una singola sezione	
		RNasi P H1	TERT
DNA/RNA Sequential	Mammella	2,1	2,2
	Fegato	1,7	1,7
	Utero	2,1	2,3
TNA	Mammella	1,9	2,0
	Fegato	2,1	2,2
	Utero	1,9	1,9

10.B. Quantità, qualità e amplificabilità dell'RNA

Tabella 4. Amplificazione dell'RNA estratto con i flussi di lavoro Maxwell® CSC XtractAll FFPE RNA, DNA/RNA Sequential e TNA. L'RNA e l'acido nucleico totale sono stati estratti da sei replicati di singole sezioni di dimensioni tipiche di tessuti FFPE di mammella, fegato e utero. Per l'estrazione dell'RNA sono stati utilizzati i flussi di lavoro Maxwell® CSC XtractAll FFPE RNA o DNA/RNA Sequential; per l'estrazione dell'acido nucleico totale è stato utilizzato il flusso di lavoro Maxwell® CSC XtractAll FFPE TNA. L'RNA e l'acido nucleico totale estratti sono stati utilizzati in un'analisi RT-qPCR per l'amplificazione dell'RNA dell'ipoxantina fosforibosiltransferasi 1 (HPRT1) (100bp) per valutare la quantità di RNA e dell'RNA della β -actina (ACTB) (171bp) come target di RNA più lungo per valutare la qualità dell'RNA. È riportata la concentrazione media di RNA per ciascun set di replicati. La resa media di RNA da tutti i campioni di tessuto FFPE è stata di almeno 0,032 ng/ μ l per entrambi i target HPRT1 e RNA ACTB.

Flusso di lavoro Maxwell® CSC XtractAll	Tipo di tessuto FFPE	Concentrazione di RNA (ng/ μ l)	
		HPRT1	ACTB
RNA	Mammella	0,27	0,17
	Fegato	0,71	0,30
	Utero	0,91	0,30
DNA/RNA Sequential	Mammella	0,52	0,21
	Fegato	0,76	0,21
	Utero	0,64	0,13
TNA	Mammella	0,91	0,21
	Fegato	1,11	0,09
	Utero	1,45	0,28

Tabella 5. Scalabilità della resa dell'RNA con i flussi di lavoro Maxwell® CSC XtractAll FFPE RNA, DNA/RNA Sequential e TNA. L'RNA e l'acido nucleico totale sono stati estratti da sei replicati di una o due sezioni di dimensioni tipiche di tessuti FFPE di mammella, fegato e utero. L'RNA è stato estratto utilizzando i flussi di lavoro Maxwell® CSC XtractAll FFPE RNA o DNA/RNA Sequential; l'acido nucleico totale è stato estratto utilizzando il flusso di lavoro Maxwell® CSC XtractAll FFPE TNA. L'RNA e l'acido nucleico totale estratti sono stati utilizzati in un'analisi RT-qPCR per l'amplificazione dell'RNA HPRT1 (100bp) per valutare la quantità di RNA e dell'RNA ACTB (171bp) come target di RNA più lungo per valutare la qualità dell'RNA. È riportato il rapporto medio della concentrazione di RNA tra una e due sezioni per ogni set di replicati. Il rapporto medio tra la concentrazione di RNA estratto da due sezioni rispetto a una singola sezione di campioni di tessuto FFPE era di almeno 1,4 per entrambi i target HPRT1 e ACTB.

Flusso di lavoro Maxwell® CSC XtractAll FFPE	Tipo di tessuto FFPE	Rapporto medio tra la concentrazione di RNA di due sezioni di tessuto FFPE e quella di una singola sezione	
		HPRT1	ACTB
RNA	Mammella	1,6	1,4
	Fegato	1,7	1,5
	Utero	1,8	1,6
DNA/RNA Sequential	Mammella	1,8	1,6
	Fegato	1,7	1,5
	Utero	2,1	2,0
TNA	Mammella	1,4	1,6
	Fegato	2,6	2,2
	Utero	1,9	1,7

10.C. Quantificazione basata su un colorante fluorescente

Tabella 6. Quantificazione del DNA e dell'RNA basata su un colorante fluorescente con i flussi di lavoro the Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Sequential e RNA. Il DNA e l'RNA sono stati estratti da sei replicati di singole sezioni di dimensioni tipiche di tessuti FFPE di mammella, fegato e utero. Il DNA è stato estratto con il metodo Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Sequential; l'RNA è stato estratto con i flussi di lavoro Maxwell® CSC XtractAll FFPE RNA o DNA/RNA Sequential. La quantità di DNA estratto è stata valutata con un colorante fluorescente specifico per il DNA a doppio filamento e la quantità di RNA estratto è stata valutata con un colorante fluorescente specifico per l'RNA. Le rese medie di DNA e RNA per ogni set di replicati sono state calcolate utilizzando i volumi di eluizione recuperati e sono riportate di seguito. La resa media del DNA e dell'RNA estratti da tutti i campioni di tessuto FFPE, quantificati con un metodo basato su coloranti fluorescenti, è stata di almeno 100 ng.

Analita	Flusso di lavoro Maxwell® CSC XtractAll FFPE	Tipo di tessuto FFPE	Resa (ng)
DNA	DNA/RNA Sequential	Mammella	279
		Fegato	367
		Utero	154
RNA	RNA	Mammella	445
		Fegato	2.199
		Utero	1.153
	DNA/RNA Sequential	Mammella	616
		Fegato	1.330
		Utero	736

10.D. Riproducibilità

Tabella 7. Riproducibilità dell'estrazione di acido nucleico con i flussi di lavoro Maxwell® CSC XtractAll FFPE RNA, DNA/RNA Sequential e TNA. Per valutare la riproducibilità dell'estrazione di acido nucleico, un singolo utente ha eseguito tre singoli cicli di estrazione per ciascuno dei flussi di lavoro Maxwell® CSC XtractAll FFPE RNA, DNA/RNA Sequential e TNA utilizzando campioni di tessuto FFPE pre-elaborati raggruppati. Gli eluiti sono stati utilizzati in un'analisi qPCR per determinare la quantità di DNA mirato alla RNasi P H1 (102bp) o in un'analisi RT-qPCR per determinare la quantità di RNA mirato all'RNA HPRT1 (100bp). Il coefficiente di variazione percentuale di un ciclo e tra più cicli è stato calcolato per le estrazioni di DNA e RNA per diversi flussi di lavoro Maxwell® CSC XtractAll FFPE utilizzando i volumi di eluizione recuperati e sono riportati di seguito. Tutti i coefficienti di variazione percentuale risultanti erano inferiori al 15%.

Analita	Flusso di lavoro Maxwell® CSC XtractAll FFPE	Numero ciclo	Coefficiente di variazione percentuale all'interno del ciclo	Coefficiente di variazione percentuale tra cicli
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. Inibizione dell'amplificazione a causa di sostanze interferenti

Tabella 8. Valutazione dell'inibizione dell'amplificazione del DNA estratto con i flussi di lavoro Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Sequential e TNA. Il DNA e l'acido nucleico totale sono stati estratti da quattro replicati di una o due sezioni di dimensioni tipiche di tessuti FFPE di mammella, fegato e utero. Per l'estrazione del DNA è stato utilizzato il flusso di lavoro Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Sequential; per l'estrazione dell'acido nucleico totale è stato utilizzato il flusso di lavoro Maxwell® CSC XtractAll FFPE TNA. Due microlitri di ciascun eluito di DNA o di acido nucleico totale sia non diluito che diluito quattro volte sono stati utilizzati in un'analisi qPCR mirata alla RNasi P H1 (102bp) per valutare l'effetto di eventuali sostanze interferenti. Sono stati confrontati i valori C_q degli eluiti non diluiti e degli eluiti con una diluizione di quattro volte per valutare l'inibizione nei singoli eluiti, con un valore ΔC_q di 2 ± 1 cicli, a indicare l'assenza di inibizione. I valori ΔC_q per tutti gli eluiti dei singoli campioni variavano da 1,9 a 2,5, indicando un'inibizione non rilevabile nell'amplificazione del DNA utilizzando il DNA o l'acido nucleico totale estratto con il Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit.

Tipo di tessuto FFPE	Numero di campioni	Numero di sezioni	Flusso di lavoro TNA	Flusso di lavoro DNA/RNA Sequential
Mammella	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
Fegato	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 di tessuto FFPE	Numero di campioni	Numero di sezioni	Flusso di lavoro TNA	Flusso di lavoro DNA/RNA Sequential
Utero	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

Tabella 9. Valutazione dell'inibizione dell'amplificazione dell'RNA estratto con i flussi di lavoro Maxwell® CSC XtractAll FFPE RNA, DNA/RNA Sequential e TNA. L'RNA e l'acido nucleico totale sono stati estratti da quattro replicati di una o due sezioni di dimensioni tipiche di tessuti FFPE di mammella, fegato e utero. Per l'estrazione dell'RNA sono stati utilizzati i flussi di lavoro Maxwell® CSC XtractAll FFPE RNA o DNA/RNA Sequential; per l'estrazione dell'acido nucleico totale è stato utilizzato il flusso di lavoro Maxwell® CSC XtractAll FFPE TNA. Due microlitri di un eluito di RNA o di acido nucleico totale sia non diluito che diluito quattro volte sono stati utilizzati in un'analisi RT-qPCR mirata all'RNA HPRT1 (100bp) per valutare l'effetto di eventuali sostanze interferenti. Sono stati confrontati i valori C_q degli eluiti non diluiti e degli eluiti con una diluizione di quattro volte per valutare l'inibizione nei singoli eluiti, con un ΔC_q di 2 ± 1 cicli, a indicare l'assenza di inibizione. I valori ΔC_q per tutti gli eluiti dei singoli campioni variavano da 1,2 a 2,7, indicando un'inibizione non rilevabile nell'amplificazione dell'RNA utilizzando l'RNA o l'acido nucleico totale estratto con il Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit.

Tipo di tessuto FFPE	Numero di campioni	Numero di sezioni	Flusso di lavoro RNA	Flusso di lavoro TNA	Flusso di lavoro DNA/RNA Sequential
Mammella	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 di tessuto FFPE	Numero di campioni	Numero di sezioni	Flusso di lavoro RNA	Flusso di lavoro TNA	Flusso di lavoro DNA/RNA Sequential
Fegato	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
Utero	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. Contaminazione crociata

La contaminazione crociata è stata valutata utilizzando il Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit con gli strumenti Maxwell® CSC alternando le posizioni delle cartucce Maxwell® CSC contenenti campioni di tessuto FFPE umano e campioni di tessuto FFPE murino sul vassoio Maxwell® CSC/RSC in un singolo ciclo di estrazione. Sono stati testati i flussi di lavoro Maxwell® CSC XtractAll FFPE RNA, DNA/RNA Sequential e TNA. La presenza di DNA o RNA umano nei campioni murini, valutata rispettivamente mediante qPCR o RT-qPCR, è stata utilizzata per identificare qualsiasi potenziale contaminazione crociata da Maxwell® CSC Cartridges adiacenti. Tutti i campioni di tessuto FFPE murino che sono stati processati in posizioni dei vassoi adiacenti a campioni di tessuto FFPE umano avevano valori di C_q superiori ai valori di C_q ottenuti per le concentrazioni più basse di DNA o RNA della rispettiva curva standard.

11. Valutazione delle prestazioni cliniche

Le prestazioni cliniche del Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit sono state valutate da un laboratorio clinico esterno usando il Maxwell® CSC 48 Instrument. Il DNA, l'RNA e l'acido nucleico totale (TNA) sono stati estratti da campioni di tessuto FFPE umano utilizzando i diversi metodi di estrazione Maxwell® CSC XtractAll FFPE e gli acidi nucleici sono stati amplificati in un test clinicamente rilevante.

11.A. Flusso di lavoro per l'estrazione del DNA

Il DNA è stato estratto da campioni di tessuto FFPE umano provenienti da dodici donatori individuali da un singolo tester utilizzando sia il metodo Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA che il metodo di purificazione del DNA standard del laboratorio clinico esterno come riferimento. Gli eluiti di DNA risultanti sono stati analizzati con un'analisi qPCR utilizzando il cobas® EGFR Mutation Test. I risultati del test basato sull'amplificazione hanno mostrato concordanza tra tutti i dodici campioni di DNA estratti con il Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit e il metodo di estrazione del DNA di riferimento del laboratorio.

11.B. Flusso di lavoro per l'estrazione dell'RNA

L'RNA è stato estratto da campioni di tessuto FFPE umano provenienti da dodici donatori individuali da un singolo tester utilizzando sia il metodo Maxwell® CSC XtractAll FFPE RNA che il metodo di purificazione dell'RNA standard del laboratorio clinico esterno come riferimento. Gli eluiti di RNA risultanti sono stati analizzati mediante un'analisi RT-qPCR con primer per l'ipoxantina fosforibosiltransferasi 1 (HPRT1). I risultati dell'analisi di amplificazione hanno mostrato concordanza in tutti i dodici campioni di RNA estratti con il Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit e con il metodo di estrazione dell'RNA di riferimento del laboratorio.

11.C. Flusso di lavoro per l'estrazione dell'acido nucleico totale

L'acido nucleico totale (TNA) è stato estratto da campioni di tessuto FFPE umano provenienti da dodici donatori individuali da un singolo tester utilizzando il metodo Maxwell® CSC XtractAll FFPE TNA. Le sezioni degli stessi dodici campioni di tessuto FFPE sono state utilizzate dallo stesso tester per estrarre separatamente il DNA e l'RNA utilizzando i metodi di riferimento del laboratorio clinico esterno, rispettivamente per l'estrazione di DNA e RNA.

Gli eluiti di TNA ottenuti dal Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit e gli eluiti di DNA ottenuti con il metodo di estrazione del DNA di riferimento del laboratorio sono stati analizzati con un'analisi qPCR utilizzando il cobas® EGFR Mutation Test. Inoltre, gli eluiti di TNA ottenuti dal Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit e gli eluiti di RNA ottenuti con il metodo di estrazione dell'RNA di riferimento del laboratorio sono stati testati con un'analisi RT-qPCR con primer HPRT1. I risultati dell'amplificazione di entrambi i test EGFR Mutation e HPRT1 hanno mostrato una concordanza tra tutti i campioni di TNA estratti con il Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit e il DNA o l'RNA estratti con i rispettivi metodi di riferimento del laboratorio.

11.D. Flusso di lavoro per l'estrazione sequenziale di DNA/RNA

Il DNA e l'RNA sono stati estratti in eluiti separati da campioni di tessuto FFPE umano di dodici donatori individuali da due tester utilizzando il metodo Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Sequential. Le sezioni degli stessi dodici campioni di tessuto FFPE sono state utilizzate per estrarre separatamente il DNA e l'RNA utilizzando i metodi di riferimento del laboratorio clinico esterno, rispettivamente per la purificazione di DNA e RNA.

Gli eluiti di DNA ottenuti dal sistema Maxwell® CSC e dal metodo di estrazione del DNA di riferimento del laboratorio sono stati testati con un'analisi qPCR utilizzando il test cobas® EGFR Mutation Test. I risultati dell'amplificazione hanno mostrato la concordanza tra tutti i campioni di DNA estratti con il Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit utilizzando il flusso di lavoro DNA/RNA Sequential e il metodo di estrazione del DNA di riferimento del laboratorio, nonché tra i due tester.

Allo stesso modo, gli eluiti di RNA ottenuti dal Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit e dal metodo di estrazione dell'RNA di riferimento del laboratorio sono stati testati con un'analisi RT-qPCR utilizzando i primer HPRT1. I risultati dell'amplificazione hanno mostrato la concordanza tra tutti i campioni di RNA estratti con il Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit utilizzando il flusso di lavoro DNA/RNA Sequential e il metodo di estrazione dell'RNA di riferimento del laboratorio, nonché tra i due tester.

12. Risoluzione dei problemi

Per domande non specificamente trattate nel presente manuale, rivolgersi alla filiale o al distributore Promega locale. Le informazioni relative ai contatti sono disponibili all'indirizzo: www.promega.com. E-mail: techserv@promega.com

Sintomi	Cause e commenti
Concentrazioni di acido nucleico nell'eluato inferiori alle attese (una sezione di tessuto FFPE tipica deve produrre acido nucleico amplificabile in funzione di: dimensioni e cellularità del tessuto, condizioni di fissaggio in formalina e maneggiamento)	Le prestazioni del kit sono state valutate isolando acidi nucleici da un massimo di quattro sezioni di tessuto FFPE con uno spessore massimo di 20 µm. Utilizzare solo le sezioni che soddisfano le specifiche delle dimensioni. Il kit è stato progettato per l'uso con campioni di tessuto FFPE. Non è stato destinato all'uso con campioni di tessuto diversi dai FFPE, come ad esempio campioni di tessuto freschi o congelati. La durata dell'incubazione e le temperature sono stati testati per garantire una resa di acido nucleico ottimale. Il kit non è stato progettato per l'uso con campioni di tessuto FFPE che siano stati preparati con fissativi diversi dalla formalina 10% neutra tamponata. Controllare con il laboratorio di patologia o con il venditore che non siano stati utilizzati fissativi alternativi. Il Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit non è stato testato con vetrini o sezioni di tessuto FFPE colorati. Ripetere l'estrazione con vetrini o sezioni non colorati. Le prestazioni del kit sono state valutate in base all'amplificazione e alla quantificazione basata su un colorante fluorescente degli acidi nucleici estratti. Altri metodi di quantificazione, tra cui l'assorbanza, possono non essere correlati alle concentrazioni basate sull'amplificazione e sulla fluorescenza. RNasi o DNasi possono essere state introdotte durante l'elaborazione o la quantizzazione del campione. Vedere la Sezione 13 per informazioni su come creare un ambiente privo di ribonucleasi. Il cocktail di DNasi I è stato aggiunto alla cartuccia per il flusso di lavoro non corretto. Il cocktail di DNasi I deve essere aggiunto solo alla camera n.7 della cartuccia per i flussi di lavoro RNA e RNA Sequential. L'isopropanolo non è stato aggiunto alla cartuccia per il flusso di lavoro appropriato (RNA, TNA o RNA Sequential), oppure è stato aggiunto alla camera sbagliata della cartuccia. Sullo strumento è stato utilizzato un metodo di estrazione Maxwell® non corretto. Verificare che il metodo di estrazione Maxwell® utilizzato corrisponda alla preparazione della cartuccia per il flusso di lavoro utilizzato. Non è stata aggiunta Nuclease-Free Water o è stato aggiunto un volume errato alle provette di eluizione. Il kit è stato testato con un volume di eluizione di 50 µl.

12. Risoluzione dei problemi (continua)

Sintomi	Cause e commenti
Qualità inferiore alle attese (l'eluato contiene acido nucleico fortemente frammentato o inibitori dell'analisi a valle)	Le sezioni di tessuto FFPE utilizzate per l'estrazione possono contenere acidi nucleici frammentati a causa delle condizioni di fissaggio in formalina o del maneggiamento. Se gli acidi nucleici sono frammentati prima del metodo di estrazione, gli acidi nucleici frammentati saranno purificati con questo kit. Ripetere l'estrazione su una sezione adiacente per stabilire se il problema è inerente alla sezione di tessuto FFPE o al processo di estrazione. Alcune analisi sull'amplificazione sono particolarmente sensibili agli inibitori. I controlli delle analisi a valle dovranno identificare la presenza di un inibitore di amplificazione nell'eluato. È responsabilità dell'utente verificare la compatibilità di questo prodotto con tutte le analisi a valle di interesse. La presenza di più tipi di acidi nucleici (DNA e RNA) in un eluito può causare una competizione nelle analisi a valle. In caso di competizione, ottimizzare l'analisi per l'analita di interesse.
Presenza di DNA negli eluiti di RNA, che può interferire con le analisi a valle	Il cocktail di DNasi I non è stato aggiunto alla cartuccia per il flusso di lavoro appropriato (RNA o RNA Sequential), oppure è stato aggiunto alla camera sbagliata della cartuccia. Il cocktail di DNasi I deve essere aggiunto solo alla camera n.7 della cartuccia. L'Elution Tube non è stata rimossa dal vassoio e sostituita con una nuova provetta di eluizione e con il tampone di eluizione durante l'esecuzione del flusso di lavoro DNA/RNA Sequential.
Presenza di RNA negli eluiti di DNA, che può interferire con le analisi a valle	Gli eluiti di DNA possono essere trattati con RNasi per rimuovere l'eventuale RNA presente nei campioni di DNA se è necessario un DNA privo di RNA.
Il metodo DNA viene interrotto accidentalmente o intenzionalmente durante il flusso di lavoro DNA/RNA Sequential	I campioni di RNA possono essere recuperati facendo funzionare la cartuccia con il metodo Maxwell® CSC XtractAll FFPE RNA.
Carryover della resina negli eluiti	Il tessuto FFPE non digerito è stato trasferito nella cartuccia. Se al termine dell'incubazione di 1 ora (Sezione 5.A) rimane del tessuto FFPE non digerito, centrifugare le provette a 10.000 × g per 20 secondi per pelletizzare il materiale non digerito. Non trasferire nella cartuccia materiale in pellet o non digerito. Un parziale carryover della resina è normale e non influisce sulla resa downstream. Se necessario, utilizzare un Elution Magnet ([Cat.# AS4017, Cat.# AS4018 o entrambi]; disponibili separatamente) per trasferire l'eluato in una nuova provetta. Vedere la Sezione 14, Prodotti correlati.

Sintomi	Cause e commenti
Macchie di resina marrone sulle pareti delle provette di eluizione	Residui di paraffina o materiale del campione aderito alla parete della provetta durante l'elaborazione. Queste macchie sono normali, variano in base alla composizione del campione (ad esempio, numero di riccioli, contenuto di paraffina) e non influiscono sulla qualità dell'eluato o sulle prestazioni a valle.
Il volume di eluizione recuperato è troppo piccolo o troppo grande per essere utilizzato nelle analisi a valle	Volumi di eluizione di 30-100 µl sono stati testati con il Maxwell® CSC XtractAll FFPE DNA/RNA Kit e hanno dato buoni risultati.

Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo che ha portato, o potrebbe portare, alla morte o a lesioni gravi di un utente o di un paziente deve essere immediatamente segnalato al fabbricante. Gli utenti con sede nell'Unione Europea devono inoltre segnalare qualsiasi incidente grave all'Autorità competente dello Stato membro in cui è stabilito l'utente e/o il paziente.

13. Creazione di un ambiente privo di ribonucleasi

È estremamente difficile disattivare le ribonucleasi. Assicurarsi di evitare di introdurre attività RNasi nei propri campioni di RNA durante e dopo l'isolamento. Ciò è particolarmente importante se il materiale di partenza è disponibile solo in quantità limitate. Le note seguenti possono aiutare ad evitare una contaminazione accidentale dei campioni con RNasi.

1. Due delle più frequenti fonti di contaminazione con RNasi sono le mani dell'utilizzatore e i batteri o le muffe che possono essere presenti in particelle di polvere trasportate dall'aria. Per evitare la contaminazione da tali fonti, utilizzare tecniche di asepsi nel maneggiare i reagenti forniti con questo sistema. Indossare sempre i guanti. Cambiare i guanti ogni volta che si possa aver toccato ribonucleasi.
2. Quando possibile, usare oggetti in plastica usa e getta sterili per maneggiare RNA. Questi materiali sono generalmente privi di RNasi e non richiedono pretrattamenti di disattivazione delle RNasi.
3. Trattare prima dell'utilizzo oggetti in vetro e in plastica non sterili per assicurarsi che siano privi di RNasi. Porre gli oggetti in vetro in forno a 200°C per la notte e sciacquare accuratamente le plastiche con NaOH 0,1 N, EDTA 1 mM, quindi con acqua priva di RNasi. Possono anche essere impiegati prodotti di rimozione delle RNasi commercialmente disponibili, seguendo le istruzioni del fabbricante.
4. Trattare le soluzioni non a corredo del sistema aggiungendo DEPC (dietil pirocarbonato) a 0,1% in una cappa chimica. Incubare tutta la notte agitando a temperatura ambiente nella cappa chimica. Autoclavare per 30 minuti per rimuovere qualunque residuo di DEPC.

Attenzione: DEPC è un possibile cancerogeno e deve essere usato solo in una cappa chimica. DEPC reagisce rapidamente con le amine e non può essere utilizzato per trattare i tamponi Tris.

Nota: per tutte le applicazioni a valle, è essenziale continuare a proteggere i campioni di RNA dalle RNasi.

14. Prodotti correlati

Strumento e accessori

Prodotto	Quantità	Cat.#
Maxwell® CSC Instrument*	1 cadauno	AS6000
Maxwell® CSC 48 Instrument*	1 cadauno	AS8000
Maxwell® RSC/CSC Deck Tray	1 cadauno	SP6019
Maxwell® RSC/CSC 48 Front Deck Tray	1 cadauno	AS8401
Maxwell® RSC/CSC 48 Back Deck Tray	1 cadauno	AS8402
Microtube, 1,5 ml	1.000/conf.	V1231
Elution Magnet, 16 posizioni	1 cadauno	AS4017
Elution Magnet, 24 posizioni	1 cadauno	AS4018

*Per uso diagnostico in vitro. Questo prodotto è disponibile solo in alcuni Paesi.

Kit Maxwell® CSC Reagent

Visitare **www.promega.com** per l'elenco dei kit reagente Maxwell® CSC disponibili.

© 2025 Promega Corporation. Tutti i diritti riservati.

Maxwell è un marchio registrato di Promega Corporation

cobas è un marchio registrato di Roche Diagnostics Operations, Inc.

I prodotti possono essere coperti da brevetti già rilasciati o in corso di rilascio o possono essere soggetti a determinate limitazioni. Per ulteriori informazioni visitare il nostro sito web.

Specifiche e prezzi sono soggetti a modifica senza preavviso.

Le descrizioni dei prodotti sono soggette a modifica. Per informazioni aggiornate sui prodotti Promega rivolgersi al Promega Technical Services oppure consultare il catalogo Promega online.