



Promega

Technical Manual

DNA IQ™ Casework Pro Kit for Maxwell® 16

INSTRUCCIONES PARA UTILIZAR LOS PRODUCTOS ASI240 Y
DC6745.



www.promega.com

DNA IQ™ Casework Pro Kit for Maxwell® 16

Toda la bibliografía técnica está disponible en Internet, en el sitio www.promega.com/protocols/. Visite el sitio web para asegurarse de estar utilizando la versión más actualizada de este manual técnico. Comuníquese con el servicio técnico de Promega si tiene alguna pregunta acerca del uso de este sistema. Correo electrónico: techserv@promega.com

1.	Descripción	1
2.	Componentes del producto y condiciones de almacenamiento	3
3.	Configuración de hardware y firmware del instrumento Maxwell® 16 Instrument	4
4.	Preprocesamiento de muestras	4
	A. Muestras en medios sólidos	5
	B. Muestras líquidas	6
	C. Muestras de extracciones diferenciales	7
5.	Protocolo de purificación automatizada de ADN con Maxwell® 16	9
	A. Preparación de muestras para los cartuchos Maxwell® 16 LEV Cartridges	9
	B. Configuración de los instrumentos AS2000 Maxwell® 16 Instruments	10
	C. Configuración de los instrumentos AS3060 Maxwell® 16 Forensic Instruments	12
	D. Almacenamiento de ADN eluido	13
6.	Resolución de problemas	14
7.	Opciones de buffer de extracción	15
8.	Productos relacionados	16

1. Descripción

El DNA IQ™ Casework Pro Kit for Maxwell® 16^(a) se utiliza con el Maxwell® 16 Instrument (N.º de cat. AS2000, N.º de cat. AS3060) configurado en un volumen de elución bajo (LEV) y está diseñado específicamente para la óptima extracción de ADN de muestras de casos forenses. Entre dichas muestras se incluyen manchas de sangre o de semen, cabellos, colillas de cigarrillos, muestras de tejidos y muestras de ADN “táctil”, que son las que habitualmente se utilizan en el análisis del ADN con fines forenses.

El Casework Extraction Kit se creó para mejorar la eficacia en la extracción de ADN de un amplio rango de tipos de muestras (figura 1). En este protocolo se describe el uso del Casework Extraction Kit (N.º de cat. DC6745) para preprocesar muestras antes de la extracción de ADN con el DNA IQ™ Casework Pro Kit for Maxwell® 16.

1. Descripción (continuación)

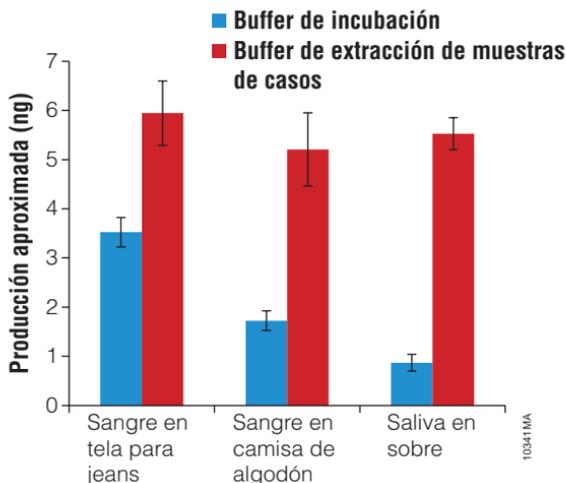


Figura 1. Se extrajo el ADN de diferentes tipos de muestras de prueba utilizando el buffer de incubación (del Tissue and Hair Extraction Kit, N.º de cat. DC6740) o el buffer de extracción de casos, y se aisló con el DNA IQ™ Casework Pro Kit for Maxwell® 16.

La extracción realizada a partir de ciertos tipos de muestras (por ejemplo, células de espermatozoides), tradicionalmente, requiere el uso de ditiotretitol (DTT) como parte del método de extracción. El Casework Extraction Kit incluye 1-Tioglicerol, que, a diferencia del DTT, se puede almacenar a 2-10 °C y tiene un rendimiento en la extracción comparable con el del DTT. Este manual técnico brinda instrucciones sobre cómo utilizar el 1-Tioglicerol para el preprocesamiento de muestras.

El instrumento Maxwell® 16 LEV Instrument se suministra con procedimientos preprogramados de purificación de ADN, utiliza cartuchos de reactivo llenados previamente y eluye muestras de ADN en volúmenes pequeños. Este instrumento puede procesar hasta 16 muestras en aproximadamente 30 minutos.

El DNA IQ™ Casework Pro Kit for Maxwell® 16 utiliza la DNA IQ™ Resin para purificar el ADN y, de esta manera, maximiza la producción y la pureza del ADN que se utilizará en el análisis STR. Maxwell® 16 Instrument es un instrumento de manipulación mediante partículas magnéticas que transporta eficazmente la resina DNA IQ™ Resin a través de reactivos de purificación en cartuchos prellenados (figura 2) y así combina la resina con los reactivos durante el procesamiento. La metodología paramagnética con partículas evita los problemas comunes que se presentan con otros sistemas automatizados, como puntas obstruidas o transferencia parcial de reactivos, que pueden conducir a una purificación de ADN de calidad inferior a la óptima.

2. Componentes del producto y condiciones de almacenamiento

Producto	Tamaño	N.º de cat.
DNA IQ™ Casework Pro Kit for Maxwell® 16	48 prep.	AS1240

No debe ser utilizado para diagnóstico médico. Material suficiente para realizar 48 aislamientos a partir de muestras de casos forenses. Incluye:

- 48 cartuchos Maxwell® 16 LEV Cartridges (MCB)
- 50 émbolos LEV
- 50 tubos de elución de 0,5 ml
- 20 ml de buffer de elución
- 32 ml de buffer de lisis

A la venta por separado

Producto	Tamaño	N.º de cat.
Casework Extraction Kit	100 reactivos	DC6745

No debe ser utilizado para diagnóstico médico. Suficiente para 100 reacciones de 400 µl cada una. Incluye:

- 50 ml de buffer de extracción de muestras de casos
- 2 × 10 mg de proteinasa K
- 900 µl de 1-Tioglicerol
- 1,25 ml de agua libre de nucleasas

Condiciones de almacenamiento: Almacenar el DNA IQ™ Casework Pro Kit for Maxwell® 16 y el buffer de extracción de muestras de casos a una temperatura de 15 a 30 °C. Almacenar el 1-Tioglicerol a una temperatura de 2 a 10 °C.

Almacenar la proteinasa K a una temperatura de -30 a -10 °C. Almacenar el agua libre de nucleasas a temperaturas inferiores a 30 °C.

Información de seguridad: Los cartuchos reactivos contienen sustancias inflamables, como el etanol y el isopropanol, y la peligrosa sustancia tiocianato de guanidina. El 1-Tioglicerol es una sustancia tóxica.



Contenido de los pocillos

1. Buffer de lisis
2. DNA IQ™ Resin
3. Buffer de lisis
4. Buffer de lavado
5. Buffer de lavado
6. Buffer de lavado
7. Vacío
8. Vacío

El usuario agrega:

Muestra

Émbolo

86927B

Figura 2. Cartucho Maxwell® 16 LEV Cartridge.

3. Configuración de hardware y firmware del instrumento Maxwell® 16 Instrument

Es necesario que el Maxwell® 16 Instrument (N.º de cat. AS2000) o el Maxwell® 16 Forensic Instrument (N.º de cat. AS3060) estén configurados con un volumen de elución bajo (LEV) para poder utilizarlos con el DNA IQ™ Casework Pro Kit for Maxwell® 16. Los usuarios que cuenten con el Maxwell® 16 Instrument configurado con un volumen de elución estándar (SEV) deberán reconfigurar el instrumento con el Maxwell® 16 LEV Hardware Kit (N.º de cat. AS1250). La reconfiguración del instrumento es rápida y fácil. Para conocer las instrucciones de configuración del instrumento, consultar el manual técnico de *Maxwell® 16 Instrument* N.º TM295 para N.º de cat. AS2000 o el manual técnico de *Maxwell® 16 Forensic Instrument* N.º TM321 para N.º de cat. AS3060.

La primera vez que se encienda el instrumento Maxwell® 16 Instrument, aparecerán algunas instrucciones en el navegador de LCD. El DNA IQ™ Casework Pro Kit for Maxwell® 16 está diseñado para ser utilizado con volúmenes de elución bajos (LEV) y con el método forense en el instrumento. Una vez que se configure el método forense en el instrumento, los encendidos posteriores mostrarán automáticamente una configuración predeterminada de acuerdo con la configuración inicial.

4. Preprocesamiento de muestras

Según el tipo de muestra, existen distintos pasos de preprocesamiento que se deben llevar a cabo antes de ejecutar el proceso automatizado en Maxwell® 16 Instrument.

Para maximizar la cantidad de ADN purificado a partir de materiales de casos forenses, utilizar el protocolo adecuado según el tipo de muestra. Entre los protocolos se encuentran: muestras en medios sólidos (sección 4.A), muestras líquidas (sección 4.B) o muestras de extracciones diferenciales (sección 4.C). Todos los protocolos incluyen un tratamiento con proteinasa K, necesario para maximizar la recuperación y la producción de una gran variedad de tipos de muestras, incluso de pequeñas cantidades de muestra en una matriz sólida, como un hisopo o una tela. El ADN purificado mediante un tratamiento con proteinasa K, por lo general, presenta un mejor equilibrio entre locus en el análisis STR posterior.

Nota: Los protocolos de preprocesamiento utilizan el buffer de extracción de muestras de casos incluido en el Casework Extraction Kit (N.º de cat. DC6745) para la digestión de la proteinasa K. Si con fines comparativos se utiliza otro buffer en la digestión de proteinasa K, la concentración de SDS debe ser inferior al 0,5 %; de lo contrario, es posible que se forme un precipitado cuando se agregue el buffer de lisis.

4.A. Muestras en medios sólidos

Este protocolo de preprocesamiento permite una extracción óptima de ADN a partir de muestras que se encuentran en un medio sólido, como hisopos o tela, mediante la incubación de la proteinasa K.

Materiales que deberá suministrar el usuario

- Calentador de bloque o baño María a 56 °C
- Microtubos con tapa *ClickFit* de 1,5 ml (N.º de cat. Treff 96.7514.9.01)
- Canastas perforadas DNA IQ™ Spin Baskets (N.º de cat. V1221)
- Casework Extraction Kit (N.º de cat. DC6745)
- Puntas para pipetas resistentes a los aerosoles

Preparación de solución estándar de proteinasa K para el preprocesamiento de la muestra

Colocar 556 µl de agua libre de nucleasas en un tubo de proteinasa K liofilizada e invertir suavemente para disolver. La concentración final de proteinasa K debe ser de 18 mg/ml. Almacenar la solución de proteinasa K a -20 °C.

Extracción de muestras a partir de medios sólidos

1. Colocar el sustrato sólido (por ejemplo, tela o extremo de hisopo) en la parte inferior de un microtubo con tapa *ClickFit* etiquetado de 1,5 ml y agregar a la muestra 386 µl del buffer de extracción de casos, 10 µl de la solución de proteinasa K y 4 µl del 1-Tioglicerol.
Nota: El 1-Tioglicerol es viscoso. Tomar lentamente con la pipeta.
2. Tapar el tubo, agitar la muestra a alta velocidad durante 5 segundos e incubarla a 56 °C durante 30 minutos.
3. Colocar una columnita perforada DNA IQ™ Spin Basket en un microtubo con tapa *ClickFit* etiquetado de 1,5 ml. Transferir la muestra a la columnita perforada DNA IQ™ Spin Basket utilizando pinzas y asegurarse de colocar el hisopo o la tela en la parte inferior de la columnita perforada. Transferir el lisado desde el tubo de incubación hacia la columnita perforada y cerrar el tubo.
4. Centrifugar a temperatura ambiente durante 2 minutos, a la velocidad máxima de la microcentrifugadora. Quitar con cuidado la canasta DNA IQ™ Spin Basket.
5. Agregar 200 µl del buffer de lisis en el microtubo con tapa *ClickFit* que contiene el extracto.
6. Agitar la muestra durante 5-10 segundos.
7. Cerrar la tapa del tubo y reservar hasta que esté listo para la extracción automatizada de ADN con el instrumento Maxwell® 16 LEV Instrument. Consultar la sección 5 para conocer la preparación del cartucho y la configuración del instrumento.

Nota: Almacenar la muestra preprocesada a temperatura ambiente (15-30 °C) durante toda la noche si es necesario.

4.B. Muestras líquidas

Este protocolo de preprocesamiento da como resultado una lisis óptima a partir de muestras en solución acuosa utilizando un tratamiento con proteinasa K.

Materiales que deberá suministrar el usuario

- Calentador de bloque o baño María a 56 °C
- Microtubos con tapa *ClickFit* de 1,5 ml (N.º de cat. Treff 96.7514.9.01)
- Casework Extraction Kit (N.º de cat. DC6745)
- Puntas para pipetas resistentes a los aerosoles

Preparación de solución estándar de proteinasa K para el preprocesamiento de la muestra

Colocar 556 µl de agua libre de nucleasas en un tubo de proteinasa K liofilizada e invertir suavemente para disolver. La concentración final de proteinasa K debe ser de 18 mg/ml. Almacenar la solución de proteinasa K a -20 °C.

Extracción de muestras líquidas

1. Con una pipeta, colocar la muestra líquida en el fondo de un microtubo con tapa *ClickFit* etiquetado de 1,5 ml, y agregar 10 µl de solución de proteinasa K, 4 µl de 1-Tioglicerol y buffer de extracción de casos hasta alcanzar un volumen total de 400 µl.



No superar un volumen final de 400 µl.

Nota: El 1-Tioglicerol es viscoso. Tomar lentamente con la pipeta.

2. Tapar el tubo, agitar la muestra a alta velocidad durante 5 segundos e incubarla a 56 °C durante 30 minutos.
3. Agregar a cada muestra 200 µl del buffer de lisis.
4. Agitar la muestra durante 5-10 segundos.
5. Cerrar la tapa del tubo y reservar hasta que esté listo para la extracción automatizada de ADN con el instrumento Maxwell® 16 LEV Instrument. Consultar la sección 5 para conocer la preparación del cartucho y la configuración del instrumento.

Nota: Almacenar la muestra preprocesada a temperatura ambiente (15-30 °C) durante toda la noche si es necesario.

4.C. Muestras de extracciones diferenciales

La extracción diferencial es el método clásico para lograr la lisis de células epiteliales con proteinasa K en ausencia de DTT para evitar la lisis de espermatozoides. Este proceso separa una muestra forense en dos fracciones: esperma y epitelial. Se recomienda llevar a cabo protocolos de preprocesamiento individuales para las fracciones de esperma y la epitelial.



Este manual técnico no incluye protocolos para separar las fracciones de esperma y epiteliales, pero sí incluye un protocolo para procesar dichas fracciones con DNA IQ™ Casework Pro Kit for Maxwell® 16. El protocolo que se presenta a continuación incluye un pretratamiento de la muestra con proteinasa K.

Protocolo para la fracción de esperma

Materiales que deberá suministrar el usuario

- Microtubos con tapa *ClickFit* de 1,5 ml (N.º de cat. Treff 96.7514.9.01)
- Agua libre de nucleasas (N.º de cat. P1193)
- Puntas para pipetas resistentes a los aerosoles
- 1 M de DTT

Preparación de 1 M de DTT

1. Agregar 32,4 ml de agua libre de nucleasas a 5 g de DTT y agitar brevemente hasta disolver.
2. Administrar 1 M de DTT en alícuotas más pequeñas que reflejen el uso y almacenar a -20 °C.

Preparación del buffer de lisis

1. Determinar el volumen total del buffer de lisis preparado que se utilizará.
2. Agregar 1 µl de 1 M DTT por cada 100 µl de buffer de lisis.
Opcionalmente, agregar 1 µl de 1-Tioglicerol por cada 400 µl de buffer de lisis.

Nota: El 1-Tioglicerol es viscoso. Tomar lentamente con la pipeta.

Extracción de ADN a partir de la fracción de esperma

1. Agregar 400 µl del buffer de lisis preparado a la fracción de esperma (por lo general, un sedimento o volumen líquido inferior a 100 µl) en un tubo etiquetado de microcentrifugadora de 1,5 ml.
2. Agitar la muestra durante 5-10 segundos.
3. Reservar hasta que esté listo para la extracción automatizada de ADN con el instrumento Maxwell® 16 Instrument. Consultar la sección 5 para conocer la preparación del cartucho y la configuración del instrumento.

Nota: Almacenar la muestra preprocesada a temperatura ambiente (15-30 °C) durante toda la noche si es necesario.

4.C. Muestras de extracciones diferenciales (continuación)

Extracción de ADN a partir de la fracción epitelial

1. A una fracción epitelial de hasta 400 μl , agregar 200 μl del buffer de lisis.
2. Agitar la muestra durante 5-10 segundos.
3. Reservar la muestra hasta que esté lista para la extracción automatizada de ADN con el instrumento Maxwell[®] 16 LEV Instrument. Consultar la sección 5 para conocer la preparación del cartucho y la configuración del instrumento.

Nota: Almacenar la muestra preprocesada a temperatura ambiente (15-30 °C) durante toda la noche si es necesario.

5. Protocolo de purificación automatizada de ADN con Maxwell® 16

5.A. Preparación de muestras para los cartuchos Maxwell® 16 LEV Cartridges

1. Cambiarse los guantes antes de manipular los cartuchos, los émbolos LEV y los tubos de elución. Colocar los cartuchos que serán utilizados en la gradilla Maxwell® 16 LEV Cartridge Rack (N.º de cat. AS1251). Colocar cada cartucho en la gradilla con el lado de la etiqueta en dirección opuesta a los tubos de elución. Presionar el cartucho hasta encajarlo en la posición correcta. Con cuidado retirar el sello para extraer todo el plástico de la parte superior del cartucho. Asegurarse de extraer toda la cinta selladora y cualquier resto de adhesivo antes de colocar los cartuchos en el instrumento.

Notas:

1. Si se procesan menos de 16 muestras, colocar los cartuchos en el centro de la plataforma.
2. Limpiar los derrames de muestra o reactivo que se encuentren sobre cualquier parte de la gradilla Maxwell® 16 LEV Cartridge Rack utilizando una solución de agua y detergente, luego, etanol al 70 % y luego agua. No utilizar blanqueadores sobre ninguna de las piezas del instrumento.
2. Colocar un émbolo LEV en el pocillo N.º 8 de cada cartucho. El pocillo N.º 8 es el más cercano al tubo de elución.
3. Colocar los tubos de elución en la parte delantera de la gradilla Maxwell® 16 LEV Cartridge Rack. Agregar 50 µl del buffer de elución en la parte inferior de cada tubo de elución.



Notas:

1. Asegurarse de que el buffer de elución se encuentre en la parte inferior del tubo. Si el buffer de elución se encuentra en uno de los lados del tubo, es posible que la elución no sea óptima.
2. Utilizar únicamente los tubos de elución suministrados con el kit. Es posible que otros tubos no funcionen con el Maxwell® 16 Instrument.
3. Utilizar únicamente el buffer de elución suministrado con el DNA IQ™ Casework Pro Kit for Maxwell® 16; otros buffer pueden tener un efecto negativo sobre el análisis posterior (por ejemplo, perfiles STR de mala calidad).

5.A. Preparación de muestras para los cartuchos Maxwell® 16 LEV Cartridges (continuación)

4. Transferir el lisado de muestra al pocillo N.º 1 del cartucho. El pocillo N.º 1 es el más cercano a la etiqueta del cartucho y el más alejado del tubo de elución.



5. Avanzar a la sección 5.B para conocer los instrumentos N.º de cat. AS2000 o a la sección 5.C para conocer los instrumentos N.º de cat. AS3060.

5.B. Configuración de los instrumentos AS2000 Maxwell® 16 Instruments

Consultar el manual de operación del instrumento *Maxwell® 16 Instrument* N.º TM295 para obtener información más detallada.

Para ejecutar el protocolo “Casework” (casos), es necesario tener la versión 4.0 o una versión superior del firmware Maxwell® 16 instalada en el instrumento.

1. Encender Maxwell® 16 Instrument. El instrumento se encenderá, indicará el número de versión de firmware, hará una autocomprobación automática y controlará todas las piezas móviles.
2. Verificar que el instrumento indique una configuración de hardware “LEV” y el modo de funcionamiento “Fncs” (Forense).
3. Seleccionar “Run” (Ejecutar) en la pantalla Menu (Menú) y presionar el botón Run/Stop (Ejecutar/Detener) para iniciar el proceso.
4. Seleccionar “DNA” (ADN) en la pantalla Menu (Menú), luego, seleccionar “OK” (Aceptar) en la pantalla de verificación.
5. Abrir la puerta cuando se indique en la pantalla. Presionar el botón Run/Stop (Ejecutar/Detener) para extender la plataforma.



Advertencia: Riesgo de pellizcos.

6. Colocar la gradilla Maxwell® 16 LEV Cartridge Rack que contiene los cartuchos preparados dentro de la plataforma de Maxwell® 16 Instrument. Asegurarse de que la gradilla esté colocada en Maxwell® 16 Instrument con los tubos de

elución más próximos a la puerta. La gradilla entra en el instrumento únicamente en esta posición. Si se presentan dificultades para colocar la gradilla en la plataforma, verificar que esté en la posición correcta. Asegurarse de que la gradilla para cartuchos esté nivelada dentro de la plataforma del instrumento.

Nota: Tomar por los lados la gradilla Maxwell® 16 LEV Cartridge Rack para evitar que los cartuchos se salgan de la gradilla.

7. Verificar que las muestras se hayan agregado al pocillo N.º 1 de los cartuchos, que los tubos de elución estén presentes y con 50 µl del buffer de elución, y que los émbolos LEV se encuentren en el pocillo N.º 8.
8. Presionar el botón Run/Stop (Ejecutar/Detener). La plataforma se retraerá. Cerrar la puerta.



Advertencia: Riesgo de pellizcos.

9. Maxwell® 16 Instrument comenzará inmediatamente el ciclo de purificación. La pantalla mostrará los pasos realizados y el tiempo restante aproximado del ciclo.

Notas:

1. Si se presiona el botón Run/Stop (Ejecutar/Detener) o se abre la puerta, se pausará el ciclo.
 2. Si se abandona el ciclo antes de completarlo, el instrumento limpiará las partículas de los émbolos y expulsará los émbolos al pocillo N.º 8 de los cartuchos. Sin embargo, el ADN de muestra permanecerá en las partículas y se podrá recuperar fácilmente, ya sea colocando nuevamente los émbolos en el pocillo N.º 8 y ejecutando nuevamente la purificación, o vaciando el contenido del pocillo y terminando manualmente el proceso de aislamiento, tal como se indica en el boletín técnico *DNA IQ™ System – Small Sample Casework Protocol* N.º TB296.
10. Una vez completada la ejecución de la purificación automatizada, la pantalla LCD mostrará un mensaje que indicará que el proceso ha finalizado.

Final del ciclo

11. Para abrir la puerta, seguir las instrucciones que aparecen en pantalla una vez finalizado el proceso. Verificar que los émbolos estén ubicados en el pocillo N.º 8 de los cartuchos. Si los émbolos no se han desprendido de la barra magnética para émbolos, empujarlos suavemente y a mano para quitarlos.
12. Presionar el botón Run/Stop (Ejecutar/Detener) para extender la plataforma hacia fuera del instrumento.
13. Extraer del instrumento la gradilla Maxwell® 16 LEV Cartridge Rack. Extraer los tubos de elución que contienen ADN y cerrarlos.

Nota: Es posible que haya algunas partículas paramagnéticas en el tubo de elución; dichas partículas se podrán eliminar capturándolas con el imán Maxwell® 16 LEV Magnet (N.º de cat. AS1261) o con el soporte MagneSphere® Technology Magnetic Separation Stand de 0,5 ml (N.º de cat. Z5341) y transfiriendo el ADN hacia un nuevo tubo.

5.B. Configuración de los instrumentos AS2000 Maxwell® 16 Instruments (continuación)

14. Quitar los cartuchos y émbolos de la gradilla Maxwell® 16 LEV Cartridge Rack y desecharlos como residuos peligrosos. No reutilizar los cartuchos de reactivo, los émbolos LEV ni los tubos de elución.

5.C. Configuración de los instrumentos AS3060 Maxwell® 16 Forensic Instruments

Consultar el manual técnico del instrumento *Maxwell® 16 Forensic Instrument #TM321* for detailed information.

1. Encender el instrumento Maxwell® 16 Forensic Instrument. El instrumento se encenderá, indicará el número de versión de firmware, hará una autocomprobación automática y controlará todas las piezas móviles.
2. Verificar que en la pantalla de inicio se lea "LEV" y que el hardware de LEV esté presente. Presionar "Run" (Ejecutar) para continuar.
3. Introducir el usuario y el PIN si la opción está habilitada.
4. En la pantalla Protocolos, seleccionar "Casework" (Casos).
5. En la pantalla siguiente, verificar que se hayan seleccionado el método y el usuario correctos. Seleccionar "Run/Stop" (Ejecutar/Detener) para continuar.
6. Abrir la puerta cuando se indique en la pantalla, luego, seleccionar "Run/Stop" (Ejecutar/Detener).



Advertencia: Riesgo de pellizcos.

7. Seguir las instrucciones que aparecen en pantalla para introducir información mediante el lector de código de barras si la opción está habilitada.
8. Colocar la gradilla Maxwell® 16 LEV Cartridge Rack con los cartuchos preparados dentro de la plataforma de Maxwell® 16 Instrument. Asegurarse de que la gradilla esté colocada en Maxwell® 16 Instrument con los tubos de elución más próximos a la puerta. La gradilla entra en el instrumento únicamente en esta posición. Si se presentan dificultades para colocar la gradilla en la plataforma, verificar que esté en la posición correcta. Asegurarse de que la gradilla esté nivelada dentro de la plataforma del instrumento.
Nota: Tomar por los lados la gradilla Maxwell® 16 LEV Cartridge Rack para evitar que los cartuchos se salgan de la gradilla.
9. Verificar que las muestras se hayan agregado al pocillo N.º 1 de los cartuchos, que los cartuchos de la gradilla estén cargados en el instrumento, que los tubos de elución estén presentes y con 50 µl del buffer de elución, y que los émbolos LEV se encuentren en el pocillo N.º 8.

10. Presionar el botón Run/Stop (Ejecutar/Detener). La plataforma se retraerá. Cerrar la puerta.



Advertencia: Riesgo de pellizcos.

Maxwell® 16 Forensic Instrument comenzará inmediatamente el ciclo de purificación. La pantalla mostrará los pasos realizados y el tiempo restante aproximado del ciclo.

Notas:

1. Si se presiona el botón Run/Stop (Ejecutar/Detener) o se abre la puerta, se pausará el ciclo.
 2. Si se abandona el ciclo antes de completarlo, el instrumento limpiará las partículas de los émbolos y expulsará los émbolos al pocillo N.º 8 del cartucho. Sin embargo, el ADN de muestra permanecerá en las partículas y se podrá recuperar fácilmente, ya sea colocando nuevamente los émbolos en el pocillo N.º 8 y ejecutando nuevamente la purificación, o vaciando el contenido del pocillo y terminando manualmente el proceso de aislamiento, tal como se indica en el boletín técnico *DNA IQ™ System – Small Sample Casework Protocol* N.º TB296.
11. Una vez completado el ciclo de purificación automatizada, seguir las instrucciones que aparecen en la pantalla para realizar la transferencia de datos. Para conocer instrucciones detalladas, consultar el manual técnico de *Maxwell® 16 Forensic Instrument #TM321* and *Maxwell® Sample Track Software Technical Manual #TM314*.

Final del ciclo

12. Para abrir la puerta, seguir las instrucciones que aparecen en pantalla una vez finalizado el proceso. Verificar que los émbolos estén ubicados en el pocillo N.º 8 de los cartuchos. Si los émbolos no se han desprendido de la barra magnética para émbolos, empujarlos suavemente y a mano para quitarlos.
13. Presionar el botón Run/Stop (Ejecutar/Detener) para extender la plataforma hacia fuera del instrumento.

14. Extraer del instrumento la gradilla Maxwell® 16 LEV Cartridge Rack. Extraer los tubos de elución que contienen ADN y taponarlos.

Nota: Es posible que haya algunas partículas paramagnéticas en el tubo de elución; dichas partículas se podrán eliminar capturándolas con el imán Maxwell® 16 LEV Magnet (N.º de cat. AS1261) o con el soporte MagneSphere® Technology Magnetic Separation Stand de 0,5 ml (N.º de cat. Z5341) y transfiriendo el ADN hacia un nuevo tubo.

15. Quitar los cartuchos y émbolos de la gradilla para cartuchos y desecharlos como residuos peligrosos. No reutilizar los cartuchos de reactivo, los émbolos LEV ni los tubos de elución.

Nota: Asegurarse de que se hayan quitado las muestras antes de aplicar el tratamiento con luz ultravioleta para evitar daños al ácido nucleico.

5.D. Almacenamiento de ADN eluido

Si el ADN eluido no se analiza inmediatamente, se puede almacenar en hielo o a 4 °C por hasta 24 horas. Para un almacenamiento más prolongado, consultar las pautas del laboratorio. Se ha demostrado que congelar las muestras a -20 °C o -70 °C sirve para conservar el ADN por períodos más largos.

6. Solución de problemas

Si tiene preguntas que no se hayan resuelto aquí, comuníquese con su oficina local de Promega o con su distribuidor. La información de contacto está disponible en www.promega.com. Correo electrónico: techserv@promega.com

Síntomas	Causas y comentarios
Baja producción de ADN	La muestra procesada es insuficiente. Agregar más material de inicio para el preprocesamiento con el fin de aumentar la producción.
	La muestra procesada es excesiva. El aislamiento de ADN con cartuchos® 16 LEV Cartridge es más efectivo cuando hay < 800 µl en el pocillo N.º 1. Se pueden procesar volúmenes mayores, pero pueden disminuir la eficiencia del aislamiento.
	Buffer de lisis insuficiente. Administrar un volumen de buffer de lisis equivalente al volumen de la muestra durante el paso de fijación en el pocillo N.º 1. Se debe colocar un mínimo de 200 µl de buffer de lisis en el cartucho Maxwell® 16 LEV Cartridge.
	Lisis insuficiente de células de esperma luego de la extracción diferencial. Las muestras de esperma, por lo general, requieren la extracción con proteinasa K.
Error de calibración del instrumento	Verificar que no haya nada bloqueando físicamente el movimiento de la plataforma, la barra de émbolos o la varilla magnética.
	Apagar y luego encender la máquina para reiniciar la alimentación. El instrumento volverá solo al inicio. Si el error de calibración ocurre nuevamente luego de reiniciar la alimentación, comunicarse con Promega para recibir atención.
	Apagar y luego encender la máquina para reiniciar la alimentación. Luego de reiniciar la alimentación, ejecutar en modo "Demo" (Demostración) sin ningún cartucho dentro de la máquina. Si ocurre otro error de calibración durante el modo "Demo" (Demostración), comunicarse con Promega para recibir atención.

Síntomas	Causas y comentarios
	<p>Asegurarse de que el Maxwell® 16 LEV Hardware Kit (N.º de cat. AS1250) esté instalado.</p> <hr/> <p>Los cartuchos no se asentaron totalmente en la plataforma. Asegurarse de que los cartuchos estén ajustados firmemente en su lugar.</p> <hr/> <p>Se utilizó un tubo de elución incorrecto. Utilizar únicamente el tubo de elución de 0,5 ml suministrado con DNA IQ™ Casework Pro Kit for Maxwell® 16. Otros tubos pueden tener dimensiones diferentes.</p>
Arrastre de resina durante la elución	<p>Hubo una pequeña cantidad de resina visible en el tubo de elución. La presencia de partículas de resina no afecta la concentración final de ADN ni las aplicaciones posteriores. Si se desea, se puede realizar un paso adicional de captura de resina con el imán Maxwell 16® LEV Magnet (N.º de cat. AS1261) o con el soporte MagneSphere® Technology Magnetic Separation Stand (N.º de cat. Z5341) de 0,5 ml.</p> <hr/> <p>Utilizar la varilla magnética Maxwell® 16 High Strength LEV Magnetic Rod y el adaptador de la barra de émbolos Plunger Bar Adaptor (N.º de cat. SP1070) para mejorar significativamente la recuperación de partículas de resina en cada paso y disminuir la cantidad de resina presente en el tubo de elución.</p>

7. Opciones de buffer de extracción

Existen otros buffer de extracción compatibles con DNA IQ™ Casework Pro Kit for Maxwell® 16. El buffer de extracción de casos suministrado como parte del Casework Extraction Kit (N.º de cat. DC6745) es el recomendado, pero distintos laboratorios han informado resultados satisfactorios con el Bone Incubation Buffer.

Bone Incubation Buffer

10 mM Tris
 100 mM NaCl
 50 mM EDTA
 0,5 % SDS

Nota: Algunos usuarios finales prefieren procesar muestras de referencia en el buffer de lisis DNA IQ™ Lysis Buffer calentado. Nosotros **no** recomendamos este método para las muestras de casos.

8. Productos relacionados

Producto	Tamaño	N.º de cat.
Kit de hardware Maxwell® 16 LEV Hardware Kit	1 cada uno	AS1250
Gradilla Maxwell® 16 LEV Cartridge Rack	1 cada uno	AS1251
Kit DNA IQ™ Reference Sample Kit for Maxwell® 16*	48 prep.	AS1040
Differex™ System**	50 muestras	DC6801
	200 muestras	DC6800
Proteínasa K	100 mg	V3021
Imán Maxwell® 16 LEV Magnet	1 cada uno	AS1261
Varilla magnética Maxwell® 16 High Strength LEV Magnetic Rod y adaptador de barra de émbolos Plunger Bar Adaptor	1 cada uno	SP1070
Soporte MagneSphere® Technology Magnetic Separation Stand (doce posiciones)	1 cada uno	Z5341

* Únicamente para uso en investigación. No debe utilizarse en procedimientos de diagnóstico.

** No debe utilizarse para diagnóstico médico.

©U.S. Pat. Nos. 6,027,945, 6,368,800 and 6,673,631, Japanese Pat. No. 4425513, European Pat. Nos. 1 204 741 and 1 367 137 and other patents pending.

© 2010, 2011 Promega Corporation. All Rights Reserved.

MagneSphere and Maxwell are registered trademarks of Promega Corporation. Differex and DNA IQ are trademarks of Promega Corporation.

Products may be covered by pending or issued patents or may have certain limitations. Please visit our Web site for more information.

All prices and specifications are subject to change without prior notice.

Product claims are subject to change. Please contact Promega Technical Services or access the Promega online catalog for the most up-to-date information on Promega products.