

MANUAL TÉCNICO

# OncoMate™ 5C Matrix Standard

Instrucciones de uso del producto  
**MD3850**



INSTRUCCIONES DE  
USO DEL PRODUCTO  
**MD3850**



Rev 0  
TM597



**PROMEGA**  
2800 Woods Hollow Rd.  
Madison, WI USA



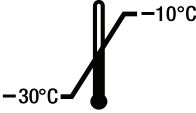












MDSS GmbH  
Schiffgraben 41  
30175 Hannover, Alemania

# OncoMate™ 5C Matrix Standard

1. Nombre del producto .....	3
2. Uso previsto .....	3
3. Resumen y explicación.....	3
4. Principio de la prueba .....	3
5. Componentes del producto y condiciones de almacenamiento.....	4
5.1 Materiales proporcionados.....	4
5.2 Almacenamiento y manipulación .....	4
5.3 Materiales no proporcionados .....	5
6. Requisitos del instrumento de electroforesis capilar .....	6
7. Preparación del instrumento de electroforesis capilar .....	6
8. Análisis del Matrix Standard .....	7
9. Interpretación de resultados .....	9
10. Solución de problemas .....	10
11. Productos relacionados .....	13

**Leyenda de símbolos**

Símbolo	Explicación	Símbolo	Explicación
	Producto sanitario para diagnóstico in vitro		Número de lote
	Se debe almacenar a temperaturas entre -30 °C y -10 °C.		Fabricante
	No reutilizar		Irritante
	Número de catálogo		Válido para "n" pruebas
	Fecha de caducidad		Proteger de la luz
	Consulte las instrucciones de uso		Representante autorizado
	Conformidad europea		

## 1. Nombre del producto

### **OncoMate™ 5C Matrix Standard**

N.º de referencia MD3850

## 2. Uso previsto

El OncoMate™ 5C Matrix Standard está concebido para el diagnóstico in vitro como accesorio del dispositivo médico intravenoso utilizado con el OncoMate™ MSI Dx Analysis System (N.º de cat. MD3140). El estándar se utiliza para la calibración espectral de instrumentos de electroforesis capilar previa a los análisis de productos de amplificación generados con el OncoMate™ MSI Dx Analysis System. Este producto está concebido solo para uso profesional.

## 3. Resumen y explicación

El OncoMate™ MSI Dx Analysis System utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) múltiple para generar fragmentos de ADN etiquetados con tres tintes fluorescentes diferentes: fluoresceína, JOE y TMR-ET. Durante el análisis de electroforesis capilar, el instrumento separa y detecta los fragmentos de ADN etiquetados con tintes junto al Size Standard 500 etiquetado con tinte WEN. Antes del análisis, se debe calibrar el instrumento de electroforesis capilar con el OncoMate™ 5C Matrix Standard para distinguir las señales fluorescentes de los tintes específicos empleados en el análisis. El OncoMate™ 5C Matrix Standard<sup>(a,b)</sup> consta de fragmentos de ADN etiquetados con cinco tintes fluorescentes diferentes (fluoresceína, JOE, TMR-ET, CXR-ET y WEN) en un tubo. La calibración espectral se lleva a cabo según las instrucciones del fabricante del instrumento.

Siga el manual del usuario proporcionado por el fabricante del instrumento para seguir los procedimientos de mantenimiento pertinentes para su instrumento. Por ejemplo, se debe realizar una nueva calibración espectral tras llevar a cabo un proceso importante de mantenimiento en el sistema de electroforesis capilar, como cambiar el origen de la excitación (por ejemplo, láser), calibrar o sustituir la cámara CCD o cambiar el tipo de polímero o el conjunto de capilares. Asimismo, se debe realizar una nueva calibración espectral si se observan picos de intensidad de fluorescencia que interfieran en los análisis de datos.

## 4. Principio de la prueba

Durante la parte de la recopilación de datos de un análisis del instrumento de electroforesis capilar, los fragmentos de ADN etiquetados con tintes fluorescentes se exponen a una fuente de luz y emiten luz de distintas longitudes de onda. La cámara integrada se encarga de capturar estas emisiones para futuros análisis. Los múltiples tintes fluorescentes se utilizan para permitir la detección simultánea de fragmentos de ADN de tamaños parecidos.

Cada tinte fluorescente utilizado por el OncoMate™ MSI Dx Analysis System cuenta con una emisión de luz máxima en una longitud de onda única, pero emite luz sobre distintas longitudes de onda. Si se solapan las emisiones espectrales de estos tintes, se frustrará la identificación de la fuente de tinte de la emisión, lo que interfiere en los análisis de datos. Por ello, para analizar los datos de microsatélites procedentes del uso de varios tintes fluorescentes, el software de análisis del instrumento debe distinguir los espectros de emisión de tintes.

#### 4. Principio de la prueba (continuación)

Un estándar de calibración espectral o de matriz consta de fragmentos de ADN etiquetados con tintes fluorescentes analizados durante una calibración espectral. El software de recopilación de datos de electroforesis capilar analiza los espectros de emisión de estos fragmentos etiquetados con tintes para caracterizar los solapamientos espectrales y crear una matriz de deconvolución de varios componentes que sea específica para cada capilar del conjunto calibrado. La matriz de deconvolución se aplica de forma automática a datos de muestras sin procesar en análisis posteriores para aislar y atribuir la fluorescencia observada a las fuentes de tintes individuales.

#### 5. Componentes del producto y condiciones de almacenamiento

##### 5.1 Materiales proporcionados

Este producto contiene suficientes reactivos para realizar cinco calibraciones espectrales. Vienen incluidos los siguientes materiales:

COMPONENTE	TAMAÑO	N.º DE REFERENCIA
<b>5C Matrix Mix</b>	<b>150 µl</b>	<b>MD430A</b>

Incluye: Fragmentos de ADN etiquetados con tintes fluorescentes

**Condiciones de almacenamiento:** Área de posamplificación;   $-30^{\circ}\text{C}$  antes del uso;   $2^{\circ}\text{C}$  después del primer uso. Proteger de la luz.

COMPONENTE	TAMAÑO	N.º DE REFERENCIA
<b>Matrix Dilution Buffer</b>	<b>5 × 200 µl</b>	<b>MD191A</b>

Incluye: Búfer basado en Tris-EDTA

**Condiciones de almacenamiento:** Área de posamplificación;   $-30^{\circ}\text{C}$  antes del uso;   $2^{\circ}\text{C}$  después del primer uso.

##### 5.2 Almacenamiento y manipulación

Almacene el OncoMate™ 5C Matrix Standard con reactivos de posamplificación. Cuando los reciba, almacene todos los componentes en un intervalo de  $-30^{\circ}\text{C}$  y  $-10^{\circ}\text{C}$  en un refrigerador que no sea No Frost y protegidos de la luz. No almacene los reactivos en la puerta del refrigerador, pues ahí la temperatura puede variar. Tras el primer uso, almacene los componentes del OncoMate™ 5C Matrix Standard a  $2-10^{\circ}\text{C}$ , protegidos de la luz durante 3 meses como máximo. El OncoMate™ 5C Matrix Standard es sensible a la luz; diluya 5C Matrix Mix en el Matrix Dilution Buffer en el tubo ámbar proporcionado. Almacene el 5C Matrix Mix diluido a  $2-10^{\circ}\text{C}$  durante 6 días como máximo.

**Nota:** No vuelva a congelar los componentes del OncoMate™ 5C Matrix Standard.

### 5.3 Materiales no proporcionados

#### Reactivos de laboratorio

- Hi-Di™ Formamide (por ejemplo, Applied Biosystems n.º cat. 4404307)

Se debe utilizar Hi-Di™ Formamide para la calibración espectral mediante el OncoMate™ 5C Matrix Standard. Congele la formamida en alícuotas a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Múltiples ciclos congelación-descongelación o el almacenamiento a largo plazo a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  pueden provocar la descomposición de la formamida.



La formamida es un irritante y teratógeno; se debe evitar la inhalación y el contacto con la piel. Lea la etiqueta de advertencia y tome las precauciones pertinentes cuando manipule esta sustancia. Lleve guantes, indumentaria protectora y gafas de seguridad cuando lleve a cabo los protocolos a continuación.

Si no se siguen los protocolos recomendados para almacenar los reactivos de calibración espectral, realizar la calibración espectral, o aceptar o rechazar los resultados de la calibración espectral puede provocar picos de artefactos de intensidad de fluorescencia (de tipo “pull-up”) durante el análisis de electroforesis capilar de los productos de amplificación del OncoMate™ MSI Dx Analysis System. Los picos de intensidad de fluorescencia pueden ocultar los resultados de los análisis o complicar interpretación de los datos.

#### Equipo de laboratorio

- Conjunto de pipetas de precisión calibradas capaces de distribuir entre  $1\text{ }\mu\text{l}$  y  $1000\text{ }\mu\text{l}$
- Puntas de pipetas resistentes a aerosoles (entre  $10\text{ }\mu\text{l}$  y  $1000\text{ }\mu\text{l}$ )
- Tubos de microcentrífuga de 1,5 ml
- Centrifugado compatible con placas de 96 pocillos (por ejemplo, “centrifugado de miniplacas”)
- Gradillas para tubos de microcentrífuga
- Agitador vórtex
- Refrigerador sin la opción No Frost en un intervalo de  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Refrigerador en un intervalo de  $2\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$

#### Instrumentos y accesorios

- El instrumento de electroforesis capilar y los suministros asociados, incluidos polímero, conjunto, búferes, agua y artículos de mantenimiento recomendados por el fabricante.
- MicroAmp® Optical 96-Well Reaction Plate (por ejemplo, ThermoFisher n.º cat. 4306737)

## 6. Requisitos del instrumento de electroforesis capilar

Los productos de amplificación del OncoMate™ MSI Dx Analysis System se separan y se analizan mediante la electroforesis capilar tras la calibración espectral con el OncoMate™ 5C Matrix Standard. El rendimiento del OncoMate™ 5C Matrix Standard y del OncoMate™ MSI Dx Analysis System se evaluó mediante el Applied Biosystems® 3500 Dx Genetic Analyzer con la configuración de Fragment Analysis (Análisis de fragmentos) y configurado con POP-7® Polymer y un conjunto de capilares de 50 cm. Los instrumentos compatibles con el OncoMate™ MSI Dx Analysis System y el OncoMate™ 5C Matrix Standard compartirán las siguientes especificaciones:

Número de tintes detectados:  $\geq 5$

Longitud del conjunto de capilares: longitudes aptas para la resolución de una base, incluida la de 50 cm

Matriz de separación: POP-7® Polymer o equivalente


Longitud de onda de excitación (aproximada): entre 480 nm y 520 nm

Óptica de detección: los tintes de Promega requieren una captura de emisión de entre 500 nm y 630 nm aproximadamente

Intervalo de resolución: resolución de 1 bp de entre 60 bp y  $\geq 300$  bp

Precisión de dimensionado (repetibilidad, expresada como desviación estándar):  $\leq 0,15$  bp en un intervalo de entre 60 bp y  $\geq 300$  bp


## 7. Preparación del instrumento de electroforesis capilar

 Siga las instrucciones de uso y mantenimiento del fabricante del instrumento de electroforesis capilar seleccionado. La calibración espectral se debe realizar mediante el tipo de polímero de electroforesis capilar y el mismo conjunto utilizado para análisis posteriores de los productos de amplificación del OncoMate™ MSI Dx Analysis System.

1. Asegúrese de que el polímero y búferes del instrumento no han vencido y de que hay suficientes muestras o inyecciones disponibles para completar la calibración.
2. Si procede, precaliente el horno de electroforesis capilar según las instrucciones del fabricante durante 30 minutos como mínimo antes de iniciar un análisis.
3. Es necesario realizar una calibración espacial del instrumento antes de llevar a cabo una calibración espectral. Si desea más información, consulte la guía del usuario del instrumento seleccionado. Si el instrumento de electroforesis capilar requiere una calibración espacial y nunca ha realizado una, llévela a cabo.

**Nota:** Se recomienda el uso de un nuevo conjunto de capilares, así como polímero y búfer nuevos para obtener los mejores resultados.

## 8. Análisis del Matrix Standard

- 
1. Cuando lo utilice por primera vez, descongele completamente el 5C Matrix Mix y el Matrix Dilution Buffer. Tras el primer uso, almacene los reactivos en un intervalo de 2 y 10 °C, protegidos de la luz.
  2. Agite el 5C Matrix Mix durante 10-15 segundos a máxima velocidad. Añada 10 µl de 5C Matrix Mix a un tubo del Matrix Dilution Buffer. Agítelo durante 10-15 segundos a máxima velocidad. Grabe en el tubo la fecha de la dilución.

**Nota:** El 5C Matrix Mix diluido se puede almacenar a 2-10 °C durante 6 días como máximo.

3. Añada 10 µl de 5C Matrix Mix diluido (preparado en el paso 2) a los 500 µl de Hi-Di™ Formamide. Agítelo durante 10-15 segundos a máxima velocidad.
4. Añada 15 µl de la mezcla de Formamide y Matrix Mix (preparada en el paso 3) a todos los pocillos donde se vaya a muestrear el conjunto de capilares durante la calibración espectral. El número de pocillos necesarios para la calibración espectral depende del instrumento y del conjunto específicos seleccionados para los análisis finales de los productos de amplificación del OncoMate™ MSI Dx Analysis System.
5. Cubra la placa según las instrucciones del fabricante del instrumento y centrifugue brevemente la placa para llevar la mezcla a la parte inferior de cada pocillo y para eliminar las burbujas de aire.



**Nota:** No caliente por desnaturalización la placa de 96 pocillos que contiene la mezcla de Formamide y Matrix Mix. Deseche cualquier mezcla de Formamide y Matrix Mix.

6. Cargue la placa en el instrumento de electroforesis capilar seleccionado y realice la calibración espectral según las instrucciones proporcionadas en la guía del usuario del instrumento. La tabla 1 incluye la configuración del instrumento utilizada para la calibración espectral con el OncoMate™ 5C Matrix Standard. Puede que algunos parámetros descritos en la tabla 1 no se puedan aplicar a todas las plataformas del instrumento de electroforesis capilar. Consulte la guía del usuario del instrumento de electroforesis capilar, póngase en contacto con su oficina local o distribuidor de Promega, o escriba un correo electrónico a [genetic@promega.com](mailto:genetic@promega.com) para obtener más información.

**Nota:** Deberá crear un nuevo Dye Set (Conjunto de tintes) antes de completar su primera calibración espectral con el OncoMate™ 5C Matrix Standard. Use de plantilla un Dye Set (Conjunto de tintes) específico para los tintes utilizados en el Matrix Standard (fluoresceína, JOE, TMR-ET, CXR-ET y WEN) o bien uno genérico, por ejemplo, “AnyDye” (Cualquier Tinte) o equivalente. El uso de un Dye Set (Conjunto de tintes) inadecuado para la calibración espectral puede reducir el equilibrio entre la altura de los picos y la intensidad entre los fragmentos detectados durante el análisis de fragmentos.



**Tabla 1. Configuración utilizada para la calibración espectral con el OncoMate™ 5C Matrix Standard.**

<b>Categoría</b>	<b>Configuración</b>
Número de tintes (es decir, colores)	5
Dye Set (Conjunto de tintes)	De tinte específico <sup>1</sup> , AnyDye (Cualquier Tinte) o equivalente
Dye Order (Orden de tintes)	1, naranja; 2, rojo; 3, amarillo; 4, verde; 5, azul
Minimum Quality Value (Valor de calidad mínimo)	0,95
Maximum Condition Number (Número de condición máxima)	8,0
Sensitivity (Sensibilidad)	0,4
Locate Start Point After Scan (Buscar punto de partida tras el análisis)	300
Locate Start Point Before Scan (Buscar punto de partida antes del análisis)	5000
Limit Scans to (Limitar análisis a)	6500

<sup>1</sup>Conjunto de tintes diseñado específicamente para fluoresceína, JOE, TMR-ET, CXR-ET y WEN

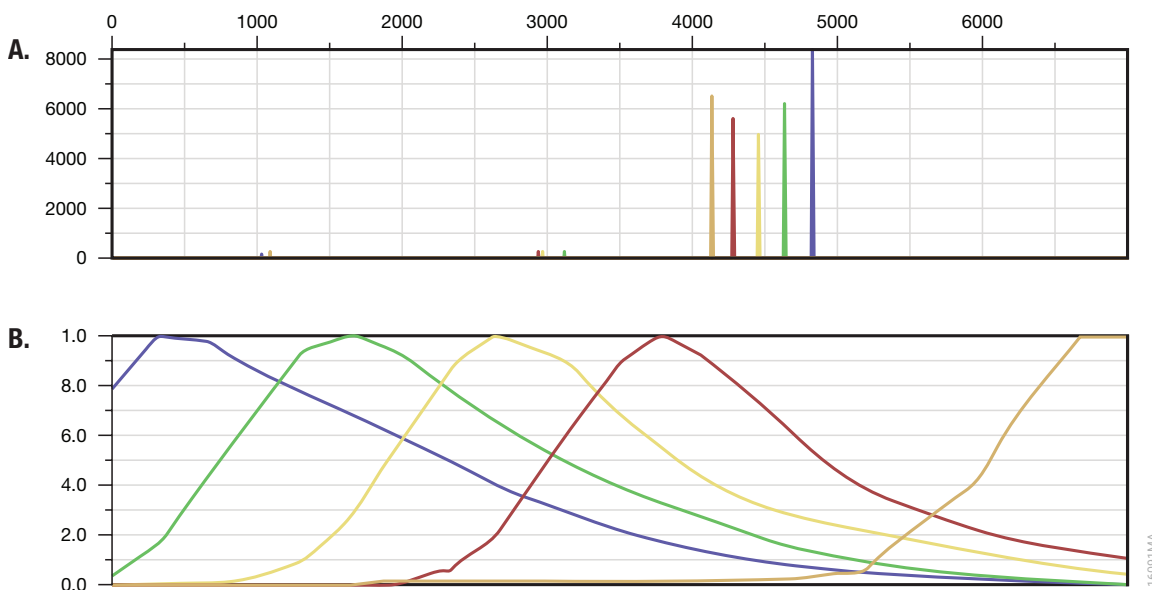
## 9. Interpretación de resultados

- Una vez realizada la calibración espectral, revise los resultados. Por cada capilar, compruebe los valores Quality Value (Valor de calidad) y Condition Number (Número de condición) de la calibración espectral e inspeccione los datos de emisión espectral que se muestran. Los capilares aptos tendrán un valor Quality Value (Valor de calidad) de  $\geq 0,95$  y un valor Condition Number (Número de condición) de  $\leq 8,0$ . Asegúrese de que el orden (de izquierda a derecha) de los picos de fragmentos distinguibles en la pantalla de intensidad y número de análisis sea naranja, rojo, amarillo, verde y azul (figura 1, panel A). Asegúrese de que el orden (de izquierda a derecha) de las señales de tintes en la pantalla de espectros de emisiones sea azul, verde, amarillo, rojo y naranja (figura 1, panel B).

**Nota:** El valor Quality Value (Valor de calidad) de cada capilar para una calibración espectral apta suele ser de  $\geq 0,98$ .

- Si todos los capilares son aptos y los datos de emisiones correspondientes se han mostrado correctamente, acepte la calibración espectral. De lo contrario, rehace la calibración espectral y consulte la sección 10 (Solución de problemas).

**Nota:** Si se ha utilizado la opción “Borrowing” (Préstamo) durante la calibración espectral, consulte la guía del usuario del instrumento de electroforesis capilar para ver el número necesario de capilares aptos.



**Figura 1. Datos representativos del OncoMate™ 5C Matrix Standard. Panel A.** Picos de fragmentos distinguibles. **Panel B.** Espectros de emisiones de tintes.



## 10. Solución de problemas

Si tiene preguntas que no se han planteado aquí, consulte la guía del usuario del instrumento de electroforesis capilar o póngase en contacto con su oficina local o distribuidor de Promega. Puede obtener información de contacto en: [www.promega.com](http://www.promega.com). Correo electrónico: [genetic@promega.com](mailto:genetic@promega.com).

### Síntomas

Error detectado en el pico de la señal de electroforesis capilar o en el orden de los tintes

### Causas y comentarios

Había contaminantes o restos de cristal en el polímero. Asegúrese de que el polímero recién añadido alcanza la temperatura ambiente según las instrucciones del fabricante. Repita la calibración espectral. Si es necesario, sustituya el polímero.

Había burbujas en los fluidos del instrumento. Consulte el manual del instrumento de electroforesis capilar para determinar cómo eliminar las burbujas del fluido y, luego, repita la calibración espectral.

Fallo de calibración espectral o señal no detectada

Se ha producido un error en el ordenador del sistema. Reinicie el instrumento de electroforesis capilar y el ordenador del instrumento según las instrucciones del fabricante. Repita la calibración espectral.

El instrumento no se ha precalentado adecuadamente. Si es necesario, asegúrese de que el horno del instrumento se haya precalentado a 60 °C durante 30 minutos como mínimo antes de la calibración. Repita la calibración espectral.

Los consumibles del instrumento han expirado o se ha perjudicado la calidad. Para obtener los mejores resultados de calibración espectral, use búferes y polímero nuevos, y un conjunto de capilares con menos de 100 inyecciones.

Se ha seleccionado un Dye Set (Conjunto de tintes) inadecuado para la calibración espectral o la configuración de la calibración espectral del Dye Set (Conjunto de tintes) se ha programado de forma incorrecta. Asegúrese de que se ha utilizado un Dye Set (Conjunto de tintes) de 5 colores y de que la configuración de análisis del Dye Set (Conjunto de tintes) de 5 colores está programada de forma precisa (consulte la tabla 1).

**Síntomas**

Fallo de calibración espectral o señal no detectada (continuación)

**Causas y comentarios**

Se han detectado muy pocos picos de fragmentos o picos incorrectos durante la calibración espectral. Hay restos de inyecciones anteriores o los reactivos de la matriz han expirado o no se han almacenado correctamente. Repita la calibración espectral mediante reactivos almacenados o sin expirar, si procede. Es posible que sea necesario realizar una inyección total (solo Hi-Di™ Formamide) antes de repetir la calibración espectral.

El OncoMate™ 5C Matrix Standard no se ha preparado de forma correcta. Prepare el nuevo 5C Matrix Mix diluido como se explica en la sección 8 y realice una nueva calibración espectral.

El OncoMate™ 5C Matrix Standard ha expirado o se ha degradado debido a un almacenamiento incorrecto. Verifique la fecha de expiración y las condiciones de almacenamiento del Matrix Standard. Si es necesario, repita la calibración espectral mediante reactivos sin expirar y almacenados correctamente.

Se han bloqueado uno o más capilares. Rellene el conjunto de capilares y repita la calibración espectral. Instale un nuevo conjunto de capilares si es necesario.

El Matrix Standard se ha diluido demasiado. El Matrix Standard que se ha diluido demasiado reducirá la altura de los picos de calibración espectral, lo que puede provocar un fallo en la calibración. Repita la calibración espectral y asegúrese de que el 5C Matrix Mix se ha agitado lo suficiente antes de usarlo y de que se ha utilizado la proporción adecuada de 5C Matrix Mix diluido en Hi-Di™ Formamide. Si es necesario, aumente el volumen de 5C Matrix Mix diluido que se ha añadido a la formamida durante la preparación de la muestra.

## 10. Solución de problemas (continuación)

### Síntomas

Fallo de calibración espectral o señal no detectada (continuación)

### Causas y comentarios

El Matrix Standard se ha concentrado demasiado. El Matrix Standard que se ha concentrado demasiado dará como resultado alturas excesivas de los picos de calibración espectral. Las alturas excesivas de los picos pueden favorecer la intensidad de fluorescencia o la sustracción excesiva en otros colores de tintes y fallos en la calibración espectral. Si es necesario, disminuya el volumen de 5C Matrix Mix diluido que se ha añadido a la formamida durante la preparación de la muestra. Repita la calibración espectral y asegúrese de que el 5C Matrix Mix se ha agitado lo suficiente antes de usarla y de que se ha utilizado la proporción adecuada de 5C Matrix Mix en Hi-Di™ Formamide. Se ha utilizado formamida de mala calidad. La calidad de la formamida es fundamental. Use únicamente Hi-Di™ Formamide con el OncoMate™ 5C Matrix Standard. Tras el primer uso, congele la formamida en alícuotas a -20 °C. Múltiples ciclos congelación-descongelación o el almacenamiento a largo plazo a 4 °C pueden provocar la descomposición de la formamida. La formamida de mala calidad y la formamida expuesta a ciclos congelación-descongelación contienen iones que compiten con el ADN durante la inyección. De este modo, se reducen la sensibilidad y la altura de los picos durante la electroforesis capilar.

Las puntas de los capilares no estaban en contacto con el Matrix Standard. Asegúrese de que los 15 µl de la mezcla de Formamide y Matrix Mix se han añadido a cada pocillo de la placa de 96 pocillos y de que esta se ha centrifugado lo suficiente antes de iniciar la calibración espectral.

## 11. Productos relacionados

<b>Producto</b>	<b>Tamaño</b>	<b>N.º de cat.</b>
OncoMate™ MSI Dx Analysis System	100 reacciones	MD3140

<sup>(a)</sup> Número de patente de EE. UU. 9.139.868, número de patente europea 2972229 y otras patentes pendientes.

<sup>(b)</sup> Los tintes TMR-ET, CXR-ET y WEN están patentados.

© 2019 Promega Corporation. Todos los derechos reservados.

OncoMate es una marca registrada de Promega Corporation.

Applied Biosystems es una marca registrada de Applied Biosystems. Hi-Di es una marca registrada de Applied Biosystems. MicroAmp y POP-7 son marcas registradas de Thermo Fisher Scientific.

Estos productos están protegidos mediante patente solicitada o pendiente, o pueden incluir algunas limitaciones. Para obtener más información, visite nuestro sitio web. Todos los precios y especificaciones de este manual están sujetos a cambios sin previo aviso.

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