

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 818 569**

51 Int. Cl.:

C12M 1/34	(2006.01)
C12M 3/00	(2006.01)
C12Q 1/68	(2008.01)
A61B 5/15	(2006.01)
A61B 5/151	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.09.2016 PCT/US2016/051157**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **16.03.2017 WO17044887**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.09.2016 E 16845220 (9)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.07.2020 EP 3347448**

54 Título: **Métodos para la recopilación, estabilización y conservación de muestras**

30 Prioridad:

09.09.2015 US 201562216312 P
25.11.2015 US 201562260172 P
26.07.2016 US 201662367056 P
29.07.2016 US 201662368817 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.04.2021

73 Titular/es:

DRAWBRIDGE HEALTH, INC. (100.0%)
11535 Sorrento Valley Road, Suite 407
San Diego, CA 92121 , US

72 Inventor/es:

JACKSON, ALICIA;
CHAPMAN, ROWAN;
GLORIKIAN, HARRY y
MAICHIN, DIANA

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 818 569 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Métodos para la recopilación, estabilización y conservación de muestras

5 **Antecedentes de la divulgación**

Las pruebas de diagnóstico médico pueden salvar vidas; desafortunadamente, no siempre están fácilmente disponibles para todos. Los costes de la asistencia sanitaria, que cada vez aumentan más, y la disponibilidad de tratamientos pueden hacer que sea difícil que personas de todo el mundo reciban el tratamiento adecuado. Puede ser necesario que para realizar un simple perfil analítico sanguíneo haya que visitar al médico en varias ocasiones, primero para la recopilación de sangre y, después, para pruebas de control o adicionales. Los costes tangibles en aumento de la asistencia sanitaria pueden ser un inconveniente extra; muchos de los pacientes no se pueden permitir el tiempo y el coste de tantas visitas al médico, por lo que aplazan las pruebas hasta que experimentan síntomas con los que ya necesitan un tratamiento médico. Los nuevos paradigmas de tratamiento pueden abordar las necesidades del paciente reduciendo los problemas de tiempo, coste y disponibilidad. La mejora del acceso de los pacientes a los diagnósticos puede aumentar la posibilidad de realizar pruebas antes de que aparezcan los síntomas, lo que, a su vez, puede hacer que los pacientes reciban un tratamiento mucho antes de lo que era posible anteriormente. La detección precoz puede facilitar un tratamiento más rápido, lo que a su vez puede garantizar un mejor pronóstico para el paciente y una reducción general del coste del tratamiento.

En el presente documento se proporcionan soluciones mejoradas para permitir que un paciente recopile, prepare, almacene, detecte y analice sus propias muestras de sangre sin la ayuda de un facultativo o sin acceso a una instalación médica.

Los documentos WO 2014/172245 A1, WO 2015/108598 A2 y US 2014/234942 son documentos relevantes de la técnica anterior que reflejan el estado de la técnica.

Sumario de la divulgación

La presente divulgación se refiere, en general, a sistemas, dispositivos y métodos médicos y, más en particular, se refiere a un sistema y a los métodos para la recopilación, separación y estabilización de una muestra de sangre por parte del usuario. Específicamente, el sistema, dispositivo y los métodos divulgados en el presente documento proporcionan un dispositivo integrado que comprende un componente de obtención de muestras, un componente de separación de muestras y un componente de estabilización de sangre incorporado en su interior con un dispositivo integrado, configurado para recopilar sangre de un sujeto tras su accionamiento, y para estabilizar la sangre para su procesamiento adicional dentro o fuera del dispositivo.

Estos y otros ejemplos se describen en mayor detalle en la siguiente descripción relacionada con las figuras de dibujo adjuntas.

En un aspecto, se divulga un método. El método supone el empleo, con un sujeto, de un sistema de obtención y estabilización de muestras con una etiqueta, en donde el sistema incluye una unidad de recopilación de sangre, configurada para recopilar una muestra de sangre del sujeto, un módulo de separación opcional, para separar uno o más componentes de la muestra de sangre recopilada, y una matriz de estabilización, configurada para estabilizar dicho uno o más componentes de la muestra de sangre recopilada, en donde la etiqueta comprende un marcador asociado a un ensayo. El método supone además recopilar el sistema de obtención y estabilización de muestras etiquetadas empleado, llevar a cabo uno o más ensayos en dicho uno o más componentes estabilizados en función de la etiqueta y proporcionar un informe acerca de dicho uno o más ensayos realizados. El método puede suponer, además, la separación de la matriz de estabilización del sistema antes de una de las etapas del método mencionadas anteriormente. La etiqueta puede estar sobre la matriz de estabilización. Opcionalmente, cuando el módulo de separación está presente, la etiqueta puede estar sobre el módulo de separación opcional. La matriz de estabilización puede estar configurada para llevar a cabo varios ensayos. El método puede suponer, además, la identificación de los biocomponentes estabilizados de la muestra de sangre en función de la etiqueta presente en un sistema de obtención y estabilización de muestras empleado y, a partir de dicha identificación, determinar qué ensayo específico del componente estabilizado realizar. El sistema de obtención y estabilización de muestras se puede catalogar con un transmisor RFID, un marcador de color, un código de barras o un segundo marcador que sea distinto de la etiqueta de la muestra.

En otro aspecto, se divulga un método para llevar a cabo un análisis en uno o más biocomponentes de una biomuestra de un sujeto. El método supone la obtención de un dispositivo de muestreo que incluye un componente de obtención de muestras y una matriz de estabilización que incluye uno o más reactivos estabilizantes, configurados para estabilizar selectivamente, al menos, un biocomponente seleccionado del grupo que consiste en: ARN, ADN y proteína. El método supone, además, llevar a cabo uno o más ensayos en dicho al menos un biocomponente estabilizado del interior o sobre el dispositivo de muestreo en una ubicación remota con respecto a una de las etapas del método anteriormente mencionadas. Dicho uno o más reactivos de estabilización se pueden disponer sobre o están integrados en una matriz sólida y están en un estado sustancialmente seco. La matriz sólida se puede configurar

para estabilizar sustancialmente ARN durante, al menos, 11 días a 37 grados Celsius. Los ensayos realizados en el interior o sobre el dispositivo pueden incluir uno o más de: RCP, secuenciación de ADN, análisis de expresión del ARN y retrotranscripción asociada a RCP.

5 En otro aspecto, se divulga un método para llevar a cabo un análisis en uno o más biocomponentes a partir de una biomuestra de un sujeto. El método supone la obtención de un dispositivo de muestreo que incluye un componente de obtención de muestras y una matriz de estabilización que incluye uno o más reactivos estabilizantes, configurados para estabilizar selectivamente uno o más biocomponentes seleccionados del grupo que consiste en: ARN, ADN y proteína. El método supone, además, retirar del dispositivo de muestreo la matriz de estabilización con dicho uno o
10 más biocomponentes y llevar a cabo uno o más ensayos en la matriz de estabilización. La matriz de estabilización puede retirarse del dispositivo de muestreo en una ubicación remota con respecto a donde se lleva a cabo una de las etapas anteriormente mencionadas.

15 En otro aspecto, se divulga un método que supone la recepción, en condiciones ambientales, de una matriz sólida sustancialmente seca que comprende uno o más reactivos de estabilización que estabilizan selectivamente uno o más biocomponentes seleccionados del grupo que consiste en: ADN, ARN y proteína, y llevar a cabo uno o más ensayos directamente fuera de la matriz sólida seca para analizar dicho uno o más biocomponentes selectivamente estabilizados. El reactivo de estabilización puede incluir un sustrato sólido que comprende melecitosa en un estado sustancialmente seco con un contenido de agua de menos del 2 %. El reactivo de estabilización se puede acoplar a
20 un componente de obtención de muestras que incluye una matriz sólida para extraer y almacenar los ácidos nucleicos de la muestra biológica, en donde la matriz sólida tiene un número de integridad del ARN (RIN) de al menos 4.

25 En otro aspecto, en el presente documento se ilustran un dispositivo y ejemplos para la recopilación y estabilización *in situ* o autogestionada de una biomuestra. El dispositivo incluye un componente de obtención de muestras que comprende un cuerpo y un émbolo, en donde el cuerpo comprende un extremo proximal, un extremo distal, una superficie del cuerpo externa, que se extiende entre los extremos proximal y distal, una base, que comprende al menos una abertura y que está fijada al extremo distal, y una luz definida dentro de la superficie del cuerpo, en donde el émbolo está dispuesto dentro de la luz, en donde el émbolo comprende un extremo proximal, un extremo distal y, al menos, una aguja conectada a cualquier extremo, en donde dicha al menos una aguja está configurada para pasar a
30 través de dicha al menos una abertura de la base cuando se accione el émbolo. El dispositivo incluye un componente de estabilización de muestras que incluye un reactivo y un sustrato, configurado de forma que los componentes de una biomuestra se extraen y estabilizan a medida que la biomuestra migra a través de la matriz desde un punto de recopilación; en donde el componente de estabilización de muestras está dispuesto dentro de la luz del cuerpo, de modo que el accionamiento del émbolo impulse la biomuestra a través de la matriz, para así facilitar aun más la separación de la biomuestra.
35

40 En otro aspecto, se divulga un kit para recopilar y estabilizar una muestra. El kit incluye un componente de obtención de muestras con uno o más elementos perforadores, configurados para penetrar en la piel y sacar sangre, y un componente de estabilización de muestras, en donde el componente de estabilización de muestras comprende un sustrato sólido que comprende melecitosa en un estado sustancialmente seco. El sustrato sólido puede incluir uno o más de un reactivo de lisis y un reactivo estabilizante de biomoléculas. Opcionalmente, la melecitosa puede estar presente a una concentración en un intervalo del 10 al 30 %. El sustrato sólido puede estar configurado para conservar la actividad enzimática. El kit puede incluir, además, un componente de separación del plasma.

45 En otro aspecto, se divulga un kit para recopilar y estabilizar una muestra biológica. El kit incluye un componente de obtención de muestras con uno o más elementos perforadores, configurados para penetrar en la piel y sacar sangre, y un componente de estabilización de muestras, que comprende una matriz sólida para estabilizar selectivamente uno o más de los siguientes componentes: ARN, ADN y proteína. La matriz sólida puede estabilizar selectivamente el ARN y el ARN obtenido a partir de la matriz sólida puede tener un número RIN mayor de 4. El kit puede incluir, además, un
50 componente de separación del plasma. El ARN obtenido a partir de la matriz sólida puede tener un RIN de, al menos, 5 o de al menos 6, o de al menos 7, o tener un RIN de más de 7. La matriz sólida puede incluir, además, al menos un desnaturizante de proteínas presente en la matriz sólida en un estado seco. La matriz sólida puede incluir, además, al menos una sustancia de reducción en la matriz sólida en un estado seco. La matriz sólida puede incluir, además, al menos un protector de UV en la matriz sólida en un estado seco. La matriz sólida puede incluir, además, al menos un tampón presente en la matriz sólida en un estado seco. El tampón puede ser un reactivo tampón titulado con ácido que genere un intervalo de pH del 3 al 6. La matriz sólida puede comprender celulosa, acetato de celulosa, fibra de vidrio o una combinación de estos. La matriz sólida puede ser una matriz porosa. La matriz sólida puede ser un material sólido seco no disoluble. La matriz sólida puede estar configurada para proporcionar un pH ácido tras la hidratación. La matriz sólida puede estar configurada para extraer los ácidos nucleicos de una muestra y conservar los ácidos nucleicos en un estado sustancialmente seco a temperatura ambiente. El componente de obtención de muestras
60 puede conectarse al componente de estabilización de muestras.

65 En otro aspecto, se divulga un sistema para recopilar y estabilizar una muestra. El sistema incluye un componente de obtención de muestras con uno o más elementos perforadores, configurados para penetrar en la piel y sacar sangre, y un componente de estabilización de muestras acoplado al componente de obtención de muestras, en donde el componente de estabilización de muestras comprende un sustrato sólido que comprende melecitosa en un estado

sustancialmente seco con un contenido de agua de menos del 2 %. El sustrato sólido puede incluir un reactivo de lisis, uno o más reactivos estabilizantes de biomoléculas o una combinación de estos. La concentración de melecitosa puede estar presente en un intervalo del 10 al 30 %. El sustrato sólido puede estar configurado para conservar la actividad enzimática.

5 En otro aspecto, se divulga un sistema para recopilar y estabilizar una muestra biológica. El sistema incluye un componente de obtención de muestras con uno o más elementos perforadores, configurados para penetrar en la piel y sacar sangre, y un componente de estabilización de muestras acoplado al componente de obtención de muestras, que comprende una matriz sólida para extraer y almacenar un ácido nucleico de la muestra biológica, en donde el
10 ARN obtenido de la matriz sólida tiene un RIN de al menos 4. El ARN obtenido a partir de la matriz sólida puede tener un RIN de al menos 5, o de al menos 6, o de al menos 7, o tener un RIN de más de 7. La matriz sólida puede incluir, además, al menos un desnaturalizante de proteínas presente en la matriz sólida en un estado seco. La matriz sólida puede incluir, además, al menos una sustancia de reducción en la matriz sólida en un estado seco. La matriz sólida puede incluir, además, al menos un protector de UV en la matriz sólida en un estado seco. La matriz sólida puede
15 incluir, además, al menos un tampón dispuesto sobre o impregnado dentro de la matriz sólida, en donde la matriz sólida es sustancialmente seca con un contenido de agua de menos del 2 %. El tampón puede ser un reactivo tampón titulado con ácido que genere un intervalo de pH del 3 al 6. La matriz sólida puede comprender celulosa, acetato de celulosa, fibra de vidrio o una combinación de estos. La matriz sólida puede ser también una matriz porosa. La matriz sólida puede ser un material sólido seco no soluble. La matriz sólida puede estar configurada para proporcionar un
20 pH ácido tras la hidratación. La matriz sólida puede estar configurada para extraer un ácido nucleico de una muestra y conservar el ácido nucleico en un estado sustancialmente seco a temperatura ambiente. El componente de obtención de muestras puede conectarse al componente de estabilización de muestras.

25 En otro aspecto, se divulga un sistema para recopilar y estabilizar una muestra biológica. El sistema incluye un componente de obtención de muestras con uno o más elementos perforadores, configurados para penetrar en la piel y sacar sangre, y un componente de separación de muestras acoplado al componente de obtención de muestras, en donde el componente de obtención de muestras comprende dos o más membranas que se superponen parcialmente, configuradas para que un componente de la muestra biológica sea recopilado sobre una primera membrana y para que el resto de la muestra sea recopilado sobre una segunda membrana.

30 En otro aspecto, se divulga un método que supone el empleo de un sistema de obtención y estabilización de muestras etiquetadas con un sujeto, en donde el sistema incluye una unidad de recopilación de sangre, configurada para recopilar una muestra de sangre del sujeto, un módulo de separación opcional, para separar uno o más componentes de la muestra de sangre recopilada, y una matriz de estabilización, configurada para estabilizar uno o más
35 componentes de la muestra de sangre, en donde el sistema de obtención y estabilización de muestras etiquetadas comprende un marcador asociado a un ensayo. El método incluye además recopilar un sistema de obtención y estabilización de muestras etiquetadas empleado, llevar a cabo uno o más ensayos en dicho uno o más componentes estabilizados en función de la etiqueta y proporcionar un informe acerca de dicho uno o más ensayos realizados. El método puede suponer, además, la separación de la matriz de estabilización del sistema antes de una de las etapas del método mencionadas anteriormente. Opcionalmente, la etiqueta puede estar sobre la matriz de estabilización. Opcionalmente, cuando el módulo de separación está presente, la etiqueta puede estar sobre el módulo de separación opcional. La matriz de estabilización puede estar configurada para llevar a cabo varios ensayos. El método puede suponer, además, la identificación de los biocomponentes estabilizados de la muestra de sangre en función de la
40 etiqueta presente en un sistema de obtención y estabilización de muestras empleado y, a partir de dicha identificación, determinar qué ensayo específico del componente estabilizado realizar. El sistema de estabilización de muestras se puede catalogar con un transmisor RFID, un marcador de color, un código de barras o un segundo marcador que sea distinto de la etiqueta de la muestra.

50 En otro aspecto, se divulga un método para llevar a cabo un análisis en uno o más biocomponentes de una biomuestra de un sujeto. El método supone la obtención de un dispositivo de muestreo que incluye un componente de obtención de muestras y una matriz de estabilización que incluye uno o más reactivos estabilizantes, configurados para estabilizar selectivamente, al menos, un biocomponente seleccionado del grupo que consiste en: ARN, ADN y proteína. El método supone, además, llevar a cabo uno o más ensayos en los biocomponentes estabilizados del interior o sobre el dispositivo de muestreo en una ubicación remota de donde se lleva a cabo la primera etapa del
55 método. Dicho uno o más reactivos de estabilización se pueden disponer sobre o están integrados en una matriz sólida y pueden estar en un estado sustancialmente seco. La matriz sólida se puede configurar para estabilizar sustancialmente ARN durante, al menos, 11 días a 37 grados Celsius. Los ensayos se pueden realizar en el interior o sobre el dispositivo y pueden incluir uno o más de: RCP, secuenciación de ADN, análisis de expresión del ARN y retrotranscripción asociada a RCP.

60 En otro aspecto, se divulga un método para llevar a cabo un análisis en uno o más biocomponentes de una biomuestra de un sujeto. El método supone la obtención de un dispositivo de muestreo que incluye un componente de obtención de muestras y una matriz de estabilización que comprende uno o más reactivos estabilizantes, configurados para estabilizar selectivamente dicho uno o más biocomponentes seleccionados del grupo que consiste en: ARN, ADN,
65 proteína y una combinación de estos. El método supone, además, retirar del dispositivo de muestreo la matriz de estabilización con dicho uno o más biocomponentes y llevar a cabo uno o más ensayos en o directamente fuera de la

matriz de estabilización. La matriz de estabilización puede retirarse del dispositivo de muestreo en una ubicación remota con respecto a una de las etapas anteriormente mencionadas.

5 En otro aspecto, se divulga un método que supone la recepción, en condiciones ambientales, de una matriz sólida sustancialmente seca que comprende uno o más reactivos de estabilización que estabilizan selectivamente uno o más biocomponentes seleccionados del grupo que consiste en: ADN, ARN y proteína, y llevar a cabo uno o más ensayos directamente fuera de la matriz sólida seca para analizar los biocomponentes estabilizados de forma selectiva. El reactivo de estabilización puede incluir un sustrato sólido que comprende melecitosa en un estado sustancialmente seco con un contenido de agua de menos del 2 %. El reactivo de estabilización se puede acoplar al componente de obtención de muestras que incluye una matriz sólida para extraer y almacenar los ácidos nucleicos de la muestra biológica, en donde el ARN obtenido de la matriz sólida tiene un RIN de al menos 4.

15 En otro aspecto, se divulga un dispositivo para la recopilación y estabilización *in situ* o autogestionada de una muestra y los ejemplos se ilustran en el presente documento. El dispositivo incluye un componente de obtención de muestras que comprende un cuerpo y un émbolo, en donde el cuerpo comprende un extremo proximal, un extremo distal, una superficie del cuerpo externa, que se extiende entre los extremos proximal y distal, una base, que comprende al menos una abertura y que está fijada al extremo distal, y una luz definida dentro del cuerpo, en donde el émbolo está dispuesto dentro de la luz, en donde el émbolo comprende un extremo proximal, un extremo distal y, al menos, una aguja conectada a cualquier extremo, en donde dicha al menos una aguja está configurada para pasar a través de dicha al menos una abertura de la base cuando se accione el émbolo. El dispositivo incluye un componente de estabilización de muestras que comprende un reactivo y un sustrato, configurado de forma que los componentes de una biomuestra se extraen y estabilizan a medida que la biomuestra migra a través de la matriz desde un punto de recopilación, en donde el componente de estabilización de muestras está dispuesto dentro de la luz del cuerpo, de modo que el accionamiento del émbolo impulsa la biomuestra a través de la matriz, para así facilitar adicionalmente la separación de la biomuestra.

20 En otro aspecto, se divulga un kit para recopilar y estabilizar una muestra. El kit incluye un componente de obtención de muestras con uno o más elementos perforadores, configurados para penetrar en la piel y sacar sangre, y un componente de estabilización de muestras, en donde el componente de estabilización de muestras comprende un sustrato sólido que comprende melecitosa en un estado sustancialmente seco. El sustrato sólido puede incluir, además, uno o más de un reactivo de lisis y un reactivo estabilizante de biomoléculas. La melecitosa puede estar presente a una concentración en un intervalo del 10 al 30 %. El sustrato sólido puede estar configurado para conservar la actividad enzimática. El kit puede incluir, además, un componente de separación del plasma.

35 **Sumario de la invención**

De acuerdo con la presente invención, se proporciona un método para estabilizar uno o más componentes biológicos de una muestra biológica de un sujeto tal y como se define en la reivindicación 1. Además, otras realizaciones ventajosas se deducen de las reivindicaciones dependientes.

40 Las referencias a lo largo de la descripción a las "realizaciones" que no están dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas representan posibles ejemplos y, por lo tanto, no forman parte de la presente invención a no ser que el contexto claramente indique lo contrario. La invención se define en las reivindicaciones adjuntas.

45 **Breve descripción de los dibujos**

Las características de la invención se exponen, en particular, en las reivindicaciones adjuntas. Las características y ventajas de la presente invención se entenderán mejor haciendo referencia a la siguiente descripción detallada que expone las realizaciones ilustrativas, en las que se utilizan los principios de la invención y en cuyos dibujos adjuntos:

50 Las figuras 1A-C ilustran diferentes componentes de obtención de muestras y elementos perforadores.
La figura 2 ilustra un ejemplo de un componente de obtención de muestras.
La figura 3 es un diagrama de flujo que representa un método para extraer una muestra de sangre utilizando un torniquete.
55 La figura 4A-B ilustra un ejemplo del componente de separación.
La figura 5 ilustra otro ejemplo del componente de separación de muestras.
La figura 6 ilustra un componente de estabilización de muestras con una matriz de estabilización.
La figura 7 es una lista no limitante de las pruebas que se pueden realizar con la muestra.

60 **Descripción detallada de la divulgación**

Introducción

65 Una primera etapa para mejorar la disponibilidad del análisis de biomuestras y el análisis de diagnóstico puede suponer la creación de sistemas y métodos que permitan una rápida recopilación de muestras, la estabilización y la conservación de los componentes biológicos, como el ADN, ARN y/o las proteínas. Una vez estabilizados, dichos

biocomponentes se pueden transferir a los laboratorios que puedan realizar uno o más ensayos biológicos con los biocomponentes. La recopilación de muestras más sencilla puede ser particularmente beneficiosa para diagnosticar afecciones clínicas. También puede ser beneficioso que un sujeto recoja, prepare y opcionalmente analice su propia muestra de sangre sin ayuda de un facultativo o sin acceso a una instalación médica o que una persona sin formación recoja y establezca biomuestras de un sujeto. El desarrollo tecnológico en esta área puede valerle de al menos tres factores; en primer lugar, de los nuevos desarrollos que proporcionen herramientas sencillas para recopilar muestras biológicas, como la sangre; en segundo lugar, de nuevos sistemas, dispositivos y métodos para proporcionar mecanismos adaptados al usuario para separar, estabilizar y/o almacenar muestras recopiladas o componentes de las muestras; y de nuevos enfoques compatibles para analizar las muestras proporcionadas a través de estos nuevos métodos.

Las nuevas tecnologías pueden estar lo suficientemente adaptadas al usuario y ser lo suficientemente efectivas para que la obtención, recopilación, separación opcional y estabilización de la muestra las puedan realizar usuarios finales con formación y sin formación. En este documento se divulgan dispositivos, sistemas y métodos que solucionan las limitaciones actuales abordando algunos de los problemas anteriormente mencionados.

Los dispositivos, sistemas y métodos divulgados en el presente documento pueden proporcionar sistemas de recopilación de muestras más sencillos, con una recopilación de muestras adaptada al usuario y la separación opcional, estabilización y almacenamiento de las muestras. Así mismo, los dispositivos, sistemas y métodos pueden proporcionar enfoques y herramientas para que los laboratorios puedan recibir, preparar y analizar más fácilmente las muestras. En el presente documento se proporciona un conjunto compatible de métodos, herramientas y sistemas que pueden permitir recopilar, almacenar, pretratar y preparar fácilmente muestras para analizarlas, de modo que la detección de las muestras se pueda conseguir sin que el usuario, paciente o proveedor de muestras realice un esfuerzo excesivo. Los dispositivos, sistemas y métodos divulgados en el presente documento pueden reducir los problemas de análisis de diagnóstico simplificando el proceso de recopilación, separación opcional y estabilización de las biomuestras.

La simplificación del proceso para la recopilación de muestras de sangre puede suponer que los dispositivos, sistemas y métodos separen los componentes de la muestra. En algunos ejemplos, los métodos para recopilar sangre venosa pueden depender de que uno o más profesionales médicos especializados supervisen cada etapa del proceso de recopilación de sangre; desde la recopilación de las muestras hasta los procedimientos después de la recopilación, que pueden incluir etapas de separación que incluyen la centrifugación, seguida de la catalogación y el almacenamiento en frío para estabilizar las muestras hasta que se transfieran a un laboratorio para su análisis. En ejemplos alternativos, los sistemas y métodos divulgados en el presente documento pueden estar configurados de modo que un usuario final pueda autogestionar la recopilación de muestras de sangre y enviar una muestra estabilizada a una instalación de detección para su análisis.

Los sistemas, dispositivos y métodos presentados en el presente documento pueden comprender varios componentes que incluyen i) un componente de obtención de muestras (COM) para la recopilación sencilla de una o más biomuestras (por ejemplo, de sangre, orina o muestras ambientales, como de agua o tierra), ii) uno o más componentes de estabilización para estabilizar los bioanalitos de dicha una o más biomuestras (por ejemplo, ADN, ARN o proteína) y iii) opcionalmente, un componente de separación para separar uno o más componentes de la muestra (por ejemplo, el plasma o las células). Otro componente del sistema o método divulgado en el presente documento puede incluir uno o más kits, dispositivos, métodos y sistemas para procesar muestras y analizar las muestras proporcionadas por el usuario.

Los dispositivos, sistemas, métodos y kits pueden incluir un componente de obtención de muestras (COM) para obtener la muestra, así como un componente de estabilización de muestras (CEM) para transferir, recopilar y estabilizar la muestra. En algunos ejemplos, el componente de estabilización de muestras puede estar preparado además para separar uno o más componentes de la muestra antes de transferir la muestra a un sustrato sólido para su estabilización. Los COM pueden ser fáciles de utilizar, permitiendo que los profesionales sin formación recopilen muestras en una variedad de ubicaciones, desde la consulta hasta la casa u oficina del paciente. Los COM pueden incluso permitir que un donante recopile su propia muestra de sangre en casa, sin la necesidad de visitar una clínica médica o un punto de recopilación especializado donde la recopilación de las muestras la pueda realizar un profesional con o sin formación.

Los ejemplos no limitantes pueden incluir combinaciones integradas y no integradas de componentes para la obtención de muestras, separación de muestras y estabilización de muestras. Los ejemplos pueden incluir un solo dispositivo integrado con diferentes componentes internos para estabilizar los componentes de la muestra. Los dispositivos integrados adicionales pueden incluir una sola unidad o dos o más unidades para separar los componentes de la muestra antes de estabilizar selectivamente los componentes de la muestra. Otras realizaciones pueden proporcionar componentes no integrados dentro de un sistema o kit; componentes que pueden incluir un componente de obtención de muestras para obtener la muestra y un componente de recopilación de muestras separado para estabilizar y separar opcionalmente la muestra. El componente de estabilización de muestras puede incluir una matriz de estabilización sólida para estabilizar selectivamente y almacenar los componentes de la muestra, y este también puede presentar un componente para separar la muestra antes de su estabilización. En otros sistemas o kits adicionales no integrados,

un componente de estabilización de muestras puede estar separado de la unidad de separación de muestras. Otros ejemplos pueden proporcionar métodos, dispositivos, sistemas y kits para recibir, preparar y/o tratar las muestras estabilizadas después de haber obtenido y separado la muestra y que los componentes de la muestra hayan sido estabilizados selectivamente.

5 Los términos "biomuestra" y "muestra biológica" se pueden utilizar en el presente documento de forma intercambiable a lo largo de la memoria descriptiva. Una muestra biológica puede ser sangre o cualquier líquido de secreción. Los ejemplos no limitantes de la muestra biológica pueden incluir saliva, sangre, suero, líquido cefalorraquídeo, semen, heces, plasma, orina, una suspensión de células o una suspensión de células y virus. En un ejemplo no limitante, las
10 muestras biológicas pueden incluir muestras vegetales o fúngicas. Los presentes sistemas y métodos se pueden aplicar en cualquier muestra biológica a partir de cualquier organismo, incluidos los humanos. Las biomuestras obtenidas a partir de un organismo pueden ser sangre, suero, plasma, líquido sinovial, orina, tejido o fluidos linfáticos. Una muestra biológica puede contener células enteras, células lisadas, plasma, eritrocitos, células cutáneas, ácidos no nucleicos (por ejemplo, proteínas), ácidos nucleicos (por ejemplo, ADN/ARN) que incluyen ADN de tumoral
15 circulante (ADNct) y ADN sin células (ADNcf). Varios ejemplos pueden divulgar los métodos, dispositivos y sistemas para recopilar muestras de sangre; sin embargo, los sistemas y métodos divulgados en el presente documento no están pensados para estar limitados a obtener una biomuestra de un organismo. Por ejemplo, los ejemplos divulgados se pueden utilizar con muestras obtenidas del ambiente. Los ejemplos no limitantes de las muestras ambientales incluyen muestras de agua, tierra y aire. En algunos casos, una muestra utilizada en los métodos, composiciones, kits,
20 dispositivos o sistemas proporcionados en el presente documento no es una muestra biológica.

Con el fin de describir los dispositivos, métodos, sistemas y kits divulgados en el presente documento, cualquier persona que utilice los dispositivos, métodos, sistemas o kits para recopilar una muestra puede denominarse "usuario final". La persona, organismo o ambiente del que se obtiene la muestra se puede denominar "donante". Una vez que
25 la muestra se recopila, esta se puede emplear en otra instalación para analizarla. En la instalación, la muestra puede someterse a las etapas del tratamiento seleccionadas en función de los dispositivos, sistemas, métodos o kits que se utilizaron.

Componente de obtención de muestras (COM)

30 Los dispositivos, sistemas, métodos y kits descritos en el presente documento pueden incluir uno o más componentes de obtención de muestras (COM). Una muestra obtenida por un sistema proporcionado en el presente documento puede ser, por ejemplo, una muestra biológica de un organismo, por ejemplo, sangre, suero, orina, saliva, tejido, cabello, células cutáneas, semen o una muestra obtenida del ambiente, por ejemplo, una muestra de agua, petróleo
35 de un pozo o de alimentos, por ejemplo, leche. Las muestras pueden ser líquidas, sólidas o una combinación de uno o más líquidos y uno o más sólidos.

Los volúmenes de las muestras pueden ser fijados por los componentes de una unidad, incluyendo, pero no limitándose a la cámara de recopilación del dispositivo, las propiedades materiales del sistema de recopilación, las
40 configuraciones de la muestra determinadas por el usuario, las especificaciones establecidas durante la fabricación del dispositivo o cualquier combinación de estos.

Un COM puede incluir uno o más dispositivos para la extracción de sangre venosa o de sangre capilar. Para llevar a
45 cabo la extracción de sangre venosa o sangre capilar, el COM puede incluir uno o más elementos perforadores. Dicho uno o más elementos perforadores pueden ser huecos o sólidos, y dicho uno o más elementos perforadores pueden estar configurados para realizar una transferencia de muestras eficiente y sin dolor; las adaptaciones pueden suponer el uso de materiales con una composición específica, microestructura superficial, propiedades mecánicas, formas estructurales o una combinación de estas. Dicho uno o más elementos perforadores pueden incluir una o más agujas, microagujas o lancetas (incluyendo agujas activadas por presión o lancetas). El COM puede estar diseñado
50 opcionalmente para minimizar el dolor o incomodidad física que sienta el paciente. Un COM puede incluir la tecnología de microagujas mostrada en la figura 1A, que puede permitir su penetración poco profunda en la piel para generar el flujo de sangre. Los ejemplos de muestreo, por ejemplo, de recopilación de sangre, que se contemplan en el presente documento incluyen los descritos en el documento US 9033898. El COM puede ser de un solo uso. En algunos casos, el COM es reutilizable.

55 Un COM puede recopilar un volumen de, por ejemplo, < 1 ml. Por ejemplo, el COM puede estar configurado para recopilar un volumen de sangre, por ejemplo, de menos de 1 ml, 500 µl, 400 µl, 300 µl, 200 µl, 100 µl, 90 µl, 80 µl, 70 µl, 60 µl, 50 µl, 40 µl, 30 µl, 20 µm o 10 µm.

60 Un COM puede estar diseñado para recopilar un volumen de muestra de aproximadamente 1 ml a aproximadamente 10 ml o de aproximadamente 1 ml a aproximadamente 100 ml. Los ejemplos de COM incluyen un bote de orina, una pluma o dispositivos, como los descritos anteriormente, por ejemplo, en las Publicaciones de Estados Unidos n.º 20130211289 y 20150211967.

65 Un COM puede ser un componente de un dispositivo integrado diseñado para recopilar, estabilizar y almacenar una muestra. Un COM puede ser un componente separado que forma parte de un kit o un sistema. Un COM puede incluir

un vial para recopilar la muestra.

Un kit puede incluir uno o más de los siguientes (por ejemplo, cuando un COM no está integrado, pero forma parte de un kit): i) una o más unidades de separación de muestras, ii) una o más unidades de estabilización de muestras, iii) uno o más componentes de separación y/o estabilización de biomuestras. Un kit utilizado para las muestras de sangre puede comprender un tubo capilar o de transferencia para recopilar una gotita de sangre de un dedo pinchado o perforado y dispensar posteriormente la sangre sobre un dispositivo o unidad separada para estabilizar o separar y estabilizar los componentes de la muestra.

Algunos ejemplos del componente de obtención de muestras están ilustrados en la figura 1B, la figura 1C y la figura 2. Como se muestra en la figura 1B, el COM puede activarse gracias a un medio mecánico. La activación manual la puede realizar el donante o el usuario final. La figura 1C ilustra un COM que se puede activar con medios eléctricos. El COM, como se muestra, puede utilizar la vibración para inducir el flujo de sangre.

El COM puede utilizar un émbolo para crear un vacío que impulse la muestra hacia el interior de una o más cámaras del dispositivo. Como se muestra en la figura 2, el componente de obtención de muestras (COM) puede tener un extremo proximal, un extremo distal, una superficie externa y una luz definida con el cuerpo **215**. La base fijada al extremo distal del cuerpo puede comprender una cara externa, una cara interna y comprende una o más aberturas **240**. Adicionalmente, el dispositivo puede tener un émbolo **220** que comprende un extremo proximal y distal, estando el émbolo configurado para ser accionado por el usuario. Uno o más elementos perforadores **250** pueden estar fijados a la cara del émbolo, y cuando el usuario accione el COM desde el extremo proximal hasta el extremo distal del cuerpo del dispositivo, dicho uno o más elementos perforadores pueden pinchar la piel. Se puede crear un vacío tras la extracción de los elementos perforadores. La sangre se puede acumular a través de una o más aberturas **240** y dicha una o más aberturas pueden estar configuradas para llevar la muestra hacia el interior de la luz. La muestra puede moverse hacia el interior de la luz y del dispositivo, por ejemplo, a través de un flujo espontáneo impulsado por capilares. El flujo espontáneo impulsado por capilares también se puede utilizar para extraer el fluido de un charco o gotita sobre una superficie, tal como en la piel humana, para su reserva, o de otro canal microfluídico abierto. El flujo espontáneo impulsado por capilares puede utilizarse para recopilar la muestra del sitio que se ha pinchado; también se puede utilizar para manipular los fluidos de un depósito dentro del dispositivo o entre las etapas de recopilación y preparación de la muestra mediante el uso de canales microfluídicos abiertos complejos. En ejemplos alternativos, el flujo espontáneo impulsado por capilares puede combinarse con otros medios para mover la muestra a través del dispositivo. Las aberturas pueden estar adaptadas opcionalmente para o contener opcionalmente materiales o estructuras adaptados para atraer la muestra desde la piel penetrada hacia el interior del dispositivo. Por ejemplo, en un ejemplo, dicho uno o más elementos perforadores pueden retraerse parcialmente hacia dicha una o más aberturas, en donde las propiedades de dicho uno o más elementos perforadores en sí atraen la muestra a través de la abertura y hacia el interior de la cámara de muestras, o a través de dicho uno o más elementos perforadores si dicho uno o más elementos perforadores son huecos o sobre los laterales de dicho uno o más elementos perforadores si dicho uno o más elementos perforadores son sólidos. Los ejemplos de estos componentes se pueden hallar en la Publicación de Estados Unidos n.º 20130211289.

La recopilación de muestras se puede realizar a partir de una muestra acumulada en o por encima de la superficie de la piel, aunque también se puede recopilar opcionalmente a partir de uno o más depósitos bajo la piel. El COM puede crear, por ejemplo, un movimiento de punción que corta en pequeños capilares, aunque abundantes, el plexo vascular superficial bajo la epidermis, por ejemplo, a una profundidad de 0,3-0,6 mm desde la superficie de la piel. La divulgación proporciona un sistema para masajear mecánicamente un sitio de punción en otras ubicaciones corporales por medio de varios enfoques distintos, que incluyen hacer oscilar un anillo anular que rodea la herida para bombear la sangre que rodea la herida hacia la herida para extraerla con una aguja o tubo capilar o paletas oscilantes u otros elementos adyacentes a la herida, para así conseguir el flujo de sangre deseado. Así mismo, puede ser difícil llevar una gotita de sangre desde la piel de otras regiones del cuerpo, por ejemplo, el muslo, hasta una pequeña zona sobre un dispositivo de análisis. Un ejemplo alternativo de los descritos en el presente documento puede funcionar con la aguja en la herida y siendo manipulada la aguja mecánicamente para fomentar la formación de una muestra de fluido corporal en la aguja.

La muestra líquida puede recopilarse o acumularse en una cámara de recopilación, tras la cámara de recopilación o en vez de en una cámara de recopilación y la muestra se puede absorber opcionalmente a través de una o más partículas, materiales, estructuras o filtros con una porosidad y absorción optimizada para atraer la muestra hacia el interior del dispositivo. Los materiales para atraer la muestra hacia el interior de los dispositivos del presente documento pueden consistir en cualesquiera superficies absorbentes o adsorbentes o materiales con superficies modificadas; incluyendo los materiales opcionales, aunque no limitándose a, medios basados en papel, geles, microesferas, membranas, matrices basadas en polímeros o cualquier combinación de estos. Por ejemplo, en un ejemplo, el COM puede comprender un cuerpo que define una trayectoria de flujo de fluido desde una abertura de entrada, en donde la trayectoria de flujo incluye un lecho de un monolito de polímero poroso seleccionado para absorber las partículas biológicas o analitos de una matriz atraída o dispensada a través de la abertura de entrada y el lecho. El monolito de polímero poroso puede absorber partículas biológicas o analitos para las etapas de preparación posteriores. Los ejemplos de la recopilación de muestras sobre un monolito poroso se pueden hallar en la Publicación de Estados Unidos n.º US20150211967.

Los métodos para utilizar el componente de obtención de muestras (COM) pueden incluir perforar la piel con un COM, después de apretar o estrujar un dedo para extraer una muestra de sangre. El COM puede utilizarse con un torniquete u otros componentes para facilitar la obtención de muestras. Un torniquete, cinta de goma o material elástico se puede colocar alrededor del primer, segundo o tercer dedo de la mano de un sujeto. Los métodos se pueden elaborar para mejorar la calidad de la muestra. Como se representa en la figura 3, las etapas pueden incluir crear un torniquete sobre uno de los dedos del donante para aplicar presión **305** y pinchar el dedo para crear una incisión **310**. El método puede incluir también, opcionalmente, retirar la primera sangre que sale inmediatamente después del pinchazo mientras se sigue aplicando presión. La sangre se puede recoger de la incisión **315** sosteniendo un tubo capilar frente a una gotita de sangre formada en el sitio de incisión. La sangre recopilada en el tubo capilar se puede dispersar sobre un componente separado del sistema **320** y la parte separada del componente se puede emplear en una ubicación o instalación **325** diferente para su análisis. En ciertos ejemplos, el kit puede incluir componentes e instrucciones para facilitar la recopilación de sangre y la eficiencia. Los métodos pueden comprender, además, etapas para preparar la mano y el dedo y garantizar el flujo de sangre adecuado, incluyendo su temperatura y posición, métodos para aplicar el torniquete en el dedo, métodos de esterilización, punción y recopilación real de sangre. Los métodos para recopilar las muestras de sangre se divulgan, por ejemplo, en la Solicitud de Estados Unidos n.º 14/450585.

Componente de estabilización de muestras

Una muestra obtenida utilizando un componente de obtención de muestras, por ejemplo, un COM descrito en el presente documento, se puede transferir a un componente de estabilización de muestras (CEM). Un CEM puede ser cualquier dispositivo o sistema en el que se recopile o transfiera la muestra para su estabilización y almacenamiento. El dispositivo o sistema puede comprender canales y compartimentos para recopilar y transferir las muestras, y una o más unidades para separar y estabilizar la muestra.

En un sistema no integrado, el componente de obtención de muestras puede estar separado físicamente del componente de estabilización de muestras. En estos ejemplos, la transferencia del componente de obtención de muestras hacia el componente de estabilización de muestras puede realizarse a través de una variedad de medios que incluyen uno o más de: agujas, tubos capilares o a través de la transferencia directa de la muestra desde el sitio del donante hasta el componente de estabilización de muestras. En ejemplos en los que el componente de obtención de muestras es un componente separado del componente de estabilización de muestras, la aplicación de una muestra en un sustrato se puede conseguir utilizando un capilar de autollenado para su recopilación desde el componente de obtención de muestras, y después, se transfiere la muestra al sustrato.

El sistema de estabilización de muestras se puede integrar en el COM. La integración entre el componente de estabilización de muestras y el COM se puede producir a través de una interfaz ensamblada compartida. La muestra se puede mover desde el componente de obtención de muestras a través de canales, que incluyen microcanales, a través de flujo capilar espontáneo, a través del efecto mecha de materiales absorbentes u otros medios que permitan que la muestra fluya a través del componente de estabilización de muestras hacia o hacia el interior del sustrato con un esfuerzo mínimo por parte del usuario. Los microcanales se pueden construir a partir de una variedad de materiales con propiedades que incluyen formas adaptadas con microestructuras superficiales y propiedades materiales adaptadas para facilitar la acción capilar u otros medios de transferencia de muestras a través del dispositivo. Los microcanales pueden comprender cualquier medio de transferencia de muestras entre cámaras, incluyendo canales microfluídicos abiertos, optimizados para mover las muestras utilizando el flujo espontáneo capilar. En la Publicación de Estados Unidos n.º 20140038306 se pueden encontrar ejemplos de microcanales y dispositivos que comprendan microcanales.

El componente de estabilización de muestras puede incluir una estructura con varias capas. También puede tener una interfaz para posibilitar la transferencia hacia una o más capas o hacia un sustrato. El componente de estabilización de muestras puede estar configurado para recopilar una o más muestras, componentes separados de una muestra, estabilizar una o más muestras, o cualquier combinación de estos. El CEM puede comprender, además, una red de capas y canales capilares configurados para transferir la muestra entre varias capas y hacia el interior del sustrato, por ejemplo, como se sabe por las Solicitudes de Estados Unidos n.º US14/340693 y US14/341074.

El CEM puede acoplarse al sustrato de diversas maneras. El CEM puede acoplarse al sustrato de una manera que permita el contacto con una capa para transferir el fluido de la muestra desde el dispositivo integrado hasta el sustrato. El CEM puede configurarse de modo que el dispositivo pueda retirarse fácilmente del sustrato. El sistema puede comprender, además, una montura del sustrato que tenga una región configurada para recibir la muestra sobre el sustrato. El sustrato se puede fijar a la montura del sustrato de manera que sea fácil retirar el sustrato del sistema, y la montura del sustrato puede estar diseñada con un código de barras para permitir su procesamiento automático o semiautomático. El sistema puede estar acoplado, además, a un dispositivo externo, en donde el dispositivo externo comprende un dispositivo fluido, un instrumento analítico, o ambos. En uno o más ejemplos, el componente de estabilización de muestras se puede acoplar a un sustrato, en donde el CEM está configurado para transferir el fluido de la muestra hasta el sustrato. El sustrato puede comprender el sustrato o el componente de separación de muestras. El CEM puede estar fijado directamente al sustrato o a la montura del sustrato que sostiene el sustrato. En algunos ejemplos, el CEM puede acoplarse además a la montura del sustrato y a una tapa del sustrato. La montura del sustrato

y la tapa del sustrato pueden incluir características para facilitar la transferencia de fluido eficiente hacia el sustrato en una región de interés, por ejemplo, en el centro del sustrato. En algunos ejemplos, el CEM está embalado con un sustrato de almacenamiento de muestras, en donde el componente de estabilización de muestras está prefijado al sustrato de muestras. En algunos otros ejemplos, el CEM y el sustrato están embalados de forma separada, en donde el usuario puede ensamblar el sustrato y el CEM para la recopilación, transferencia, estabilización y almacenamiento de las muestras. El CEM puede embalsarse además con un componente de obtención de muestras (COM).

El CEM puede ser desechable o reutilizable. Por ejemplo, un CEM puede ser un dispositivo desechable de un solo uso, configurado para recopilar la muestra y transferir el fluido de la muestra hasta un sustrato y facilitar la carga de la muestra de fluido a través de las zonas convenientes del sustrato. El CEM puede estar configurado para un solo uso y así reducir o evitar la contaminación o propagación de infecciones a través de la muestra recopilada. El CEM puede estar configurado para la recopilación, transferencia y almacenamiento fiables y replicables de muestras biológicas.

Después de la recopilación y transferencia de la muestra biológica, el sustrato puede estar configurado para separar los componentes de la biomuestra antes de transferirlos a la matriz de estabilización para su almacenamiento.

Separación de muestras

El CEM puede incluir una unidad de separación de muestras que comprende uno o más sustratos, membranas o filtros para separar los componentes de la muestra. La unidad de separación de muestras puede estar integrada en el interior del componente de estabilización de muestras o puede estar fijada a o separada del componente de estabilización de muestras.

La separación de las muestras se puede realizar en diferentes puntos del proceso de recopilación de muestras. Por ejemplo, en un dispositivo integrado, la separación de las muestras puede producirse dentro del CEM, en los dispositivos no integrados, la separación de las muestras puede producirse fuera del CEM, antes de transferirlas al componente de estabilización de muestras. En otros ejemplos, la muestra se puede mover a través del COM y hacia el interior de la unidad de separación de muestras antes de ser transferida al CEM, que puede transferir la muestra separada hasta uno o más sustratos para su estabilización y almacenamiento.

La separación de las muestras se puede producir como una etapa intermedia entre la obtención de muestras y su transferencia a una matriz de estabilización de muestras. En algunos ejemplos, la preparación y estabilización de las muestras se puede producir en una etapa sin la necesidad de que intervenga el usuario. La separación de muestras puede producirse, además, de forma secuencial o simultánea a la estabilización de las muestras.

La obtención y estabilización de muestras puede requerir que el usuario actúe entre una o más fases del proceso de recopilación, separación opcional y estabilización de muestras. Un dispositivo integrado puede requerir que el usuario active la obtención de muestras y mueva la muestra entre la separación, estabilización y almacenamiento. De manera alternativa, se puede requerir que el usuario inicie la obtención de muestras, así como una o más etapas adicionales de la recopilación del proceso de recopilación, separación o estabilización de muestras. La acción del usuario puede incluir cualquier número de acciones, que incluyen pulsar un botón, golpear, agitar, romper partes internas, girar o rotar componentes del dispositivo, empujar la muestra a través de una o más cámaras, y cualquier otro mecanismo. El movimiento a través de las fases se puede producir a la vez que la recopilación de muestras, o se puede producir después de la recopilación de muestras. En cualquier momento durante o antes de las fases de procesamiento, la muestra completa o los componentes de la muestra se pueden someter a cualquier número de técnicas o estrategias de tratamiento para pretratar las células de los componentes biológicos de la muestra; este posible tratamiento incluye, aunque no se limita al tratamiento con reactivos, detergentes, técnicas de evaporación, tensión mecánica o cualquier combinación de estos.

Los dispositivos, métodos, sistemas y kits divulgados en el presente documento pueden comprender una o más unidades de separación de muestras. Las unidades de separación de muestras se pueden utilizar, por ejemplo, para separar el plasma de la sangre, las células de una muestra de agua o las células de los componentes sin células. En las muestras de sangre se pueden utilizar uno o más componentes para separar el plasma o células específicas de otros componentes de una muestra de sangre. De manera alternativa, los dispositivos de separación, métodos y sistemas pueden separar selectivamente cualquier número de componentes de la muestra, incluyendo células, plasma, plaquetas, tipos específicos de células, ADN, ARN, proteínas, materiales inorgánicos, fármacos o cualesquiera otros componentes.

Los ejemplos no limitantes de la unidad de estabilización de muestras pueden emplear componentes de separación de muestras para separar también otros componentes no plasmáticos. Los componentes de obtención de muestras pueden conectarse al componente de obtención de muestras, por ejemplo, a través de uno o más canales, que incluyen uno o más microcanales, a través del efecto mecha de materiales absorbentes u otros medios que permitan que la muestra fluya a través del dispositivo. Los sistemas y métodos para separar la muestra son casos de ejemplo y no limitantes.

Puede haber muchos métodos para llevar a cabo esta separación, algunos de los cuales utilizan el tamaño, la

- deformabilidad, la forma o cualquier combinación de estos. La separación se puede producir a través de una o más membranas, cámaras, filtros, polímeros u otros materiales. Las membranas, sustratos, filtros y otros componentes del dispositivo se pueden tratar de forma química para estabilizar selectivamente los componentes, facilitar el flujo de la muestra, secar la muestra, o cualquier combinación de estas acciones. Entre los mecanismos de separación
- 5
alternativos se pueden incluir la extracción de líquido-líquido, la extracción de sólido-líquido y la precipitación selectiva de elementos diana y no diana, la separación de la carga, la afinidad de unión o cualquier combinación de estos. La fase de separación puede comprender una o más etapas, dependiendo cada etapa de diferentes mecanismos para separar la muestra. Uno de estos mecanismos puede utilizar el tamaño, la forma o la deformación para separar los
- 10
componentes más grandes de los más pequeños. La separación celular se puede realizar a través de un clasificador que, por ejemplo, puede depender de uno o más filtros u otros métodos de exclusión de tamaño para separar los componentes de la muestra. La separación también se puede llevar a cabo mediante unión selectiva, en donde los componentes específicos se separan mediante acciones de unión mientras el eluyente no unido se mueve hacia el interior o a través de cámaras alternativas.
- 15
En algunos métodos, se puede utilizar una sola membrana para separar y recopilar uno o más componentes de muestra a partir de la muestra a granel. Los métodos con una sola membrana pueden utilizar un dispositivo en donde las muestras se pueden aplicar en un extremo de la membrana y, a medida que la muestra fluye a través de un primer componente de la muestra, por ejemplo, las células, se puede separar de un segundo componente de la muestra, por ejemplo, el plasma, en función del tamaño de los poros de las membranas. Después del funcionamiento del dispositivo,
- 20
la membrana que contiene el primer componente de la muestra, células en este ejemplo, se puede separar de la parte que contiene el segundo componente de la muestra, el plasma en este ejemplo, siendo necesaria una etapa adicional para cortar las membranas. En otro método, se pueden utilizar dos membranas separadas para separar y recopilar los componentes de las muestras; específicamente, una membrana para la separación de un componente, por ejemplo, eritrocitos, y una segunda membrana para la recopilación de otros componentes, por ejemplo, plasma. Estas
- 25
membranas se pueden disponer de forma que un extremo distal de la primera membrana haga contacto con un extremo proximal de la segunda membrana, para así facilitar la separación de un componente grande, por ejemplo, las células, con el uso de la primera membrana, y la recopilación de un segundo componente más pequeño, por ejemplo, el plasma, con el uso de la segunda membrana.
- 30
Las figuras 4A-B ilustran una unidad de separación de muestras que se puede utilizar para separar las muestras antes de estabilizarlas o a la vez que se estabilizan. Las unidades de separación de muestras pueden comprender una montura **400**, una membrana de separación **452** y una membrana de recopilación **454**. La montura puede incluir un lado interno, dispuesto cerca de una primera parte periférica de la montura. El lado interno **402** está formado a partir de una pluralidad de primeras ranuras de la montura **416**. La montura incluye, además, un lado externo **404** dispuesto rodeando, al menos, una parte de la pluralidad de primeras ranuras **416**. El lado externo **404** está formado a partir de una pluralidad de segundas ranuras de la montura **432**. Un extremo distal de la membrana de separación **420** está
- 35
dispuesto bajo el lado externo, y un extremo proximal de la membrana de recopilación está dispuesto bajo, al menos, uno del lado externo y el lado interno, de modo que el extremo proximal de la membrana de recopilación tiene una zona de contacto de superposición **428** con el extremo distal de la membrana de separación. Así mismo, el lado externo está configurado para aplicar presión sobre las membranas de separación y recopilación en torno a la zona de contacto de superposición. La montura **400**, la membrana de separación **452** y una membrana de recopilación **454**, pueden comprender materiales distintos. La montura **400** puede comprender un material polimérico como polipropileno, nailon (poliamida), polietileno de alta densidad (HDPE) y polieteretercetona (PEEK); y se puede fabricar mediante una técnica de moldeo por inyección y presenta un grosor uniforme. La membrana de separación **452** puede
- 40
incluir materiales apropiados, como celulosa, fibra de vidrio, acetato de celulosa, polivinil pirrolidona, polisulfona, poliétersulfona, poliéster o combinaciones de estos materiales; y puede estar diseñada para presentar una geometría compatible con la geometría de la montura **400**, específicamente, la geometría del lado interno **402** de la montura **400**. La membrana de recopilación **454** puede incluir materiales apropiados, como celulosa, fibra de vidrio, acetato de celulosa, polivinil pirrolidona, polisulfona, poliétersulfona, poliéster o combinaciones de estos materiales; y la membrana de recopilación puede estar tratada químicamente. Otros ejemplos y métodos pueden incluir la etapa de desplazar, por ejemplo, presionando hacia abajo **460**, un lado interno de la montura **402** para insertar un extremo distal
- 45
458 de una membrana de separación **452** bajo la segunda parte de extremo distal **436** del lado externo de la montura **404**, a través de una primera ranura intermedia **416b** del lado interno **402**. El método puede incluir, además, la etapa de desplazar los lados externo **404** e interno **402**, por ejemplo, aplicando presión empujando hacia abajo **466**, para así
- 50
insertar un extremo proximal **462** de una membrana de recopilación **454** bajo, al menos, uno de los lados externo e interno, a través de una segunda ranura intermedia del lado externo **432b**, de modo que el extremo proximal de la membrana de recopilación tiene una zona de contacto de superposición **468** con el extremo distal **458** de la membrana de separación **452**.
- 55
El equipo de separación puede ser opcional, por ejemplo, puede formar parte de un sistema modular, en donde el usuario o el fabricante puede insertar un cartucho dentro de la trayectoria de la muestra. En un posible ejemplo, la muestra se puede transferir desde cualquiera de los dispositivos de recopilación anteriormente mencionados hacia el interior de una cámara secundaria. La transferencia puede facilitarse con la acción del usuario o puede producirse espontáneamente sin la acción del usuario.
- 60
La unidad de separación de muestras puede utilizar una membrana de filtración para separar los componentes de la
- 65

muestra. La figura 5 ilustra una unidad de separación de muestras con una membrana de filtración que separa la fracción no celular de una muestra biológica. La membrana de filtración **502** puede tener una zona de aplicación de muestras **510** y una zona de transferencia **512**. La membrana de filtración puede estar en contacto directo con una matriz sólida **504** a través de la zona de transferencia **512**. Una muestra biológica puede aplicarse en la zona de aplicación de muestras **510** de la membrana de filtración y se puede filtrar a medida que se mueve a través de la membrana de filtración. La membrana de filtración puede incluir una pluralidad de poros. Cuando la muestra biológica pasa a través de la membrana de filtración, las células residentes intactas dentro de la muestra biológica pueden quedar retenidas en la membrana de filtración, por ejemplo, en su mayor parte, en la zona de aplicación de muestras **510**, y la fracción no celular puede pasar a través de los poros para alcanzar la zona de transferencia **512** y ser transferida y recopilada en la matriz sólida seca. Una membrana de filtración puede presentar unos tamaños de poro que oscilan de aproximadamente 0,01 micrómetros a aproximadamente 5 micrómetros. La membrana de filtración puede presentar un intervalo de tamaños de poro, por ejemplo, de entre aproximadamente 1 micrómetro a aproximadamente 2 micrómetros. El tamaño de los poros puede variar entre aproximadamente 0,22 micrómetros a aproximadamente 2 micrómetros. Cuando se utiliza una membrana de filtración de tamaño de poro de 1 micrómetro, cualquier otra célula eucariota circulante y/o célula patogénica con un diámetro de más de 1 micrómetro puede quedar retenida en la membrana de filtración y, de ese modo, no alcanzará la matriz sólida seca durante la filtración. Los componentes de separación adicionales se describen en la Publicación de Estados Unidos n.º 20150031035.

La filtración se puede realizar en diferentes puntos del proceso de recopilación de muestras. Por ejemplo, una fracción no celular de una muestra puede filtrarse de la muestra biológica en el propio punto de recopilación. La filtración se puede llevar a cabo sin tratar previamente la muestra biológica. Se puede realizar una filtración adicional en ausencia de cualquier reactivo estabilizante.

La membrana de filtración puede estar hecha con una variedad de materiales. Los materiales utilizados para formar la membrana de filtración pueden ser: un material natural, un material sintético o un material de producción natural modificado sintéticamente. Los materiales apropiados que se pueden utilizar para elaborar la membrana de filtración incluyen, pero no se limitan a, fibra de vidrio, fibra de vidrio unida a alcohol polivinílico, poliétersulfona, polipropileno, fluoruro de polivinilideno, policarbonato, acetato de celulosa, nitrocelulosa, poli(tetrafluoroetileno) hidrófilo expandido, óxido de aluminio anódico, policarbonato grabado con carriles, nanofibras electrohiladas o polivinilpirrolidona. En un ejemplo, la membrana de filtración está formada a partir de un filtro de fibra de vidrio unida a alcohol polivinílico (membrana MF1™, GE Healthcare). En otro ejemplo, la membrana de filtración está formada con polietersulfona asimétrica (Vivid™, Pall Corporation). En algunos ejemplos, la membrana de filtración puede formarse mediante una combinación de dos o más polímeros diferentes. Por ejemplo, la membrana de filtración puede formarse mediante una combinación de polietersulfona y polivinilpirrolidona (Primecare™, iPOC).

Tras la filtración, la fracción no celular separada puede recopilarse sobre una matriz sólida seca mediante interacción física. La fracción no celular separada puede recopilarse sobre la matriz sólida seca mediante adsorción o absorción.

Matriz de estabilización

El CEM puede utilizarse para transferir, estabilizar y almacenar los componentes objetivo de una biomuestra que puede comprender componentes objetivo como ácidos nucleicos, proteínas y fragmentos correspondientes de estos. El CEM puede recibir, extraer y estabilizar uno o más de estos analitos sobre un sustrato que puede estar acoplado a o alojado dentro del componente de estabilización de muestras. La figura 6 ilustra un ejemplo de un componente de estabilización de muestras **610** con un sustrato o matriz de muestras **615** para conservar o estabilizar la muestra. El sustrato **615** puede estar sostenido en su sitio sobre un lado del dispositivo gracias a una montura **620**. La muestra puede recopilarse y transferirse a través de un canal **625** hasta el sustrato de muestras montado.

El término "componentes objetivo", tal y como se utiliza en el presente documento, puede hacer referencia a una o más moléculas, por ejemplo, moléculas biológicas que pueden detectarse o analizarse en una prueba diagnóstica determinada. Puede ser necesario conservar y estabilizar adecuadamente los componentes objetivo de una prueba en particular para obtener unos resultados diagnósticos de buena calidad.

La naturaleza de la muestra puede depender, por ejemplo, de la fuente del material, por ejemplo, material biológico. Por ejemplo, la fuente puede ser una de un abanico de organismos biológicos que incluye, pero no se limita a, viral, bacteriana, vegetal y animal. La fuente puede ser un sujeto mamífero o un humano. En cuanto a las fuentes de mamífero y humano, la muestra se puede seleccionar del grupo que consiste en tejido, células, sangre, plasma, saliva y orina. En otro aspecto, la biomuestra se selecciona del grupo que consiste en biomoléculas, biomoléculas obtenidas sintéticamente, componentes celulares y fármacos biofarmacéuticos.

La composición, estabilidad y calidad de los componentes objetivo puede variar dependiendo de su fuente; por tanto, se pueden utilizar una variedad de sustratos para estabilizar los distintos componentes de la muestra y preparar la muestra para su análisis. La naturaleza química y las propiedades de los componentes objetivo pueden variar dependiendo del origen de la muestra, y el grado de estabilización de la muestra necesario puede depender del perfil analítico de diagnóstico para el que está pensado la muestra. Algunos perfiles analíticos, por ejemplo, pueden requerir una muestra de concentración alta y poca calidad, mientras que otros pueden requerir una muestra de concentración

baja y de gran calidad. Los resultados de las pruebas replicables de gran calidad pueden requerir muestras de gran calidad. La composición del sustrato, así como el sustrato y los métodos para estabilizar la muestra pueden ser distintos entre ensayos y entre componentes o analitos objetivo.

5 Ya que la naturaleza de los componentes objetivo puede ser distinta, la composición del sustrato o matriz también se puede seleccionar o estar configurada para unos componentes objetivo específicos. Las fuentes de muestra y/o las pruebas de diagnóstico pensadas para una muestra en particular también pueden ser variables que determinen la composición del sustrato o matriz. Por ejemplo, los resultados de una prueba de diagnóstico de gran calidad pueden requerir la estabilización efectiva o de gran calidad de los componentes objetivo. En algunos casos, la composición del sustrato o matriz de estabilización puede estar diseñada para estabilizar específicamente un componente objetivo en particular (por ejemplo, ADN, ARN o proteínas). La matriz puede estar configurada, además, para utilizarla en una prueba de diagnóstico en particular; por ejemplo, si la prueba requiere una concentración más alta de un tipo en particular de componente objetivo, entonces la matriz puede estar diseñada para liberar selectivamente dicho componente objetivo.

10
15 El procesamiento de las muestras se puede llevar a cabo teniendo en cuenta los distintos tipos de pruebas y composiciones de sustrato. Por ejemplo, un sustrato o matriz diseñada para un componente objetivo o prueba de diagnóstico específica puede tener un color o código que indique el tipo de ensayo para o con el que se puede utilizar. El sustrato también puede incorporar una o más etiquetas o marcadores, que incluyen códigos de barras, RFID u otros identificadores que permiten conectar las muestras o resultados obtenidos del sustrato con un usuario final o donante en particular.

20 El término "sustrato" o "matriz de estabilización" puede hacer referencia a cualquier matriz sólida que incluya un sustrato o al componente de separación de muestras descrito en el presente documento. El sustrato puede ser cualquier material sólido que incluya uno o más materiales absorbentes que puedan absorber una muestra fluida, por ejemplo, la sangre.

25 El sustrato o matriz de estabilización puede comprender uno o más componentes sólidos distintos. Los componentes sólidos pueden mantenerse en un estado sustancialmente seco de menos del 10 % en peso de hidratación. Entre los ejemplos de sustrato de matriz sólida se incluyen, aunque no se limitan a, un material natural, un material sintético o un material de producción natural modificado sintéticamente. El sustrato puede comprender celulosa, nitrocelulosa, nitrocelulosa porosa modificada o sustratos a base de celulosa, nitrocelulosa modificada con polietilenglicol, una membrana de acetato de celulosa, una membrana de éster mezclado con nitrocelulosa, una fibra de vidrio, una membrana de polietersulfona, una membrana de nailon, una membrana de poliolefina, una membrana de poliéster, una membrana de policarbonato, una membrana de polipropileno, una membrana de difluoruro de polivinilideno, una membrana de polietileno, una membrana de poliestireno, una membrana de poliuretano, una membrana de óxido de polifenileno, una membrana de poli(tetrafluoroetileno-co-hexafluoropropileno), membranas de fibra de vidrio, membranas de fibra de cuarzo o combinaciones de estas. Los materiales adecuados que pueden actuar como matriz sólida seca incluyen, pero no se limitan a, celulosa, acetato de celulosa, nitrocelulosa, carboximetilcelulosa, fibra de cuarzo, polímeros hidrófilos, politetrafluoroetileno, fibra de vidrio y cerámicas porosas. Los polímeros hidrófilos pueden ser polímeros de poliéster, poliamida o carbohidratos.

30 El sustrato o matriz puede comprender uno o más reactivos secos impregnados en su interior. Dicho uno o más reactivos secos pueden comprender reactivos estabilizantes de proteínas, reactivos estabilizantes de ácidos nucleicos, reactivos de lisis celular o combinaciones de estos. En un ejemplo, el sustrato está dispuesto sobre una montura de sustrato. Entre los ejemplos no limitantes del sustrato de muestras se pueden incluir un sustrato de muestras poroso, una tarjeta FTA™ de Whatman, una tarjeta de celulosa o combinaciones de estos. En algunos ejemplos, el sustrato puede incluir, al menos, un reactivo estabilizante que conserve al menos un analito de la muestra biológica para su transporte o almacenamiento. Entre los ejemplos no limitantes de reactivos apropiados para los medios de almacenamiento se pueden incluir una o más de una base débil, una sustancia quelante y, opcionalmente, ácido úrico o urato de sodio o la adición de una sal caotrópica, sola o en combinación con un tensioactivo.

35 En algunos casos, el sustrato puede comprender una matriz sólida seca que comprende celulosa. La matriz sólida seca a base de celulosa está desprovista de cualquier detergente. La matriz sólida seca a base de celulosa no puede estar impregnada con ningún reactivo. La matriz sólida seca a base de celulosa puede estar impregnada con una sal caotrópica. Los ejemplos de sales caotrópicas incluyen, pero no se limitan a, tiocianato de guanidina, cloruro de guanidina, hidrocloreto de guanidina, isotiocianato de guanidina, tiocianato de sodio y yoduro sódico. En algunos ejemplos, la matriz sólida seca a base de celulosa es FTA™ Elute (GE Healthcare). Los ejemplos de los componentes de estabilización de muestras se pueden hallar, por ejemplo, en las Publicaciones de Estados Unidos n.º US20130289265 y US20130289257.

40 El sustrato puede comprender una o más capas de material. El sustrato se puede disponer en una matriz sólida. Las capas se pueden disponer para extraer selectivamente componentes específicos de la biomuestra. La matriz sólida puede ser un solo material o puede comprender varios materiales.

65 Las unidades de estabilización de muestras pueden almacenarse en o fijarse a un solo componente de estabilización

de muestras. Una sola unidad de estabilización de muestras puede almacenarse en el componente de estabilización de muestras. De manera alternativa, dos o más unidades de estabilización de muestras se pueden unir para que uno o más componentes de la biomuestra se puedan mover a través de las distintas unidades. La matriz o sustrato de estabilización de muestras de cualquiera de los ejemplos anteriormente mencionados puede presentar una composición uniforme o variable. El sustrato, la unidad de estabilización de muestras o los componentes del sustrato o de la unidad de estabilización de muestras pueden estar etiquetados para indicar el tipo de componente(s) objetivo para el que están pensados y/o la(s) prueba(s) de diagnóstico para la(s) que está pensada una muestra.

El sustrato puede estar elaborado de tal manera que el procesamiento de la muestra pueda producirse dentro de o adyacente al componente de estabilización de muestras. En algunos ejemplos, una muestra puede moverse a través de una etapa de separación de muestras antes de quedar expuesta en una o más matrices de estabilización de muestras. En algunos ejemplos, las etapas de obtención, separación opcional y estabilización se producen a la vez.

Para los componentes objetivo que están presentes a concentraciones bajas, el sustrato puede estar configurado para optimizar su recogida. En estos casos, el sustrato sólido puede comprender al menos una superficie recubierta con una mezcla química que optimice la recogida de un material biológico de la superficie. La mezcla química puede comprender componentes seleccionados del grupo que consiste en polímero de vinilo y detergente no iónico, polímero de vinilo y proteína, polímero sintético no iónico y detergente no iónico, polímero sintético no iónico y proteína, polietilenimina (PEI) y detergente no iónico, detergente no iónico y proteína y polietilenimina (PEI) y proteína. El soporte sólido se puede seleccionar del grupo que consiste en papel, microfibra de vidrio y membrana. El soporte puede ser un papel, por ejemplo, un papel de celulosa que incluya una tarjeta STD neonatal 903. El soporte sólido puede comprender una membrana seleccionada del grupo que consiste en poliéster, poliéter sulfona (PES), poliamida (nylon), polipropileno, politetrafluoroetileno (PTFE), policarbonato, nitrato de celulosa, acetato de celulosa y óxido de aluminio. El polímero de vinilo puede ser polivinilpirrolidona (PVP). El detergente no iónico puede ser Tween 20. La proteína se puede seleccionar del grupo que consiste en albúmina y caseína. El polímero sintético no iónico puede ser poli-2-etil-2-oxazolina (PEOX). La mezcla química puede comprender cualquier combinación de polivinilpirrolidona (PVP), Tween 20, albúmina, poli-2-etil-2-oxazolina (PEOX), polietilenimina (PEI), polietilenimina (PEI) o caseína. En el presente documento también se proporcionan los métodos para recoger un material, por ejemplo, un material biológico de un soporte sólido, que comprenden las etapas de i) hacer contacto con una superficie de un soporte sólido, por ejemplo, como se ha descrito en el presente documento con una muestra que contiene un material biológico; ii) secar la muestra sobre la superficie del soporte sólido; iii) almacenar el soporte sólido; y iv) extraer el material, por ejemplo, el material biológico de la superficie. En otros aspectos, la etapa iii) comprende almacenar el soporte de papel a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 15 a 40 °C. El soporte de papel puede almacenarse a una temperatura inferior dependiendo de la estabilidad térmica del material biológico. Los métodos para crear el sustrato pueden comprender cubrir al menos una superficie del soporte con una solución de una mezcla química que optimice la recogida de un material biológico de la superficie, en donde la mezcla química es una mezcla seleccionada del grupo que consiste en polivinilpirrolidona (PVP) y Tween 20, polivinilpirrolidona (PVP) y albúmina, Tween 20 y albúmina, poli-2-etil-2-oxazolina (PEOX) y Tween 20, poli-2-etil-2-oxazolina (PEOX) y albúmina, polietilenimina (PEI) y Tween 20 y polietilenimina (PEI) y albúmina. El componente de estabilización de muestras puede proporcionar el uso de un soporte sólido como el descrito en el presente documento para optimizar la recogida de un material, por ejemplo, un material biológico de su superficie, en donde los componentes y métodos de estabilización divulgados se divulgan, por ejemplo, en las Publicaciones de Estados Unidos n.º US20130323723 y US2013330750.

El sustrato o matriz sólida puede estar configurado para conservar selectivamente los ácidos nucleicos, que incluyen el ARN, ADN y fragmentos de estos. Una matriz sólida para estabilizar selectivamente ácidos nucleicos puede comprender, al menos, un desnaturalizante de proteínas y, al menos, un reactivo tampón ácido o titulado con ácido impregnado y almacenado en un estado seco. La matriz puede estar configurada para proporcionar un pH ácido tras la hidratación, extraer los ácidos nucleicos de una muestra y/o conservar los ácidos nucleicos en un estado sustancialmente seco a temperatura ambiente.

Una matriz de estabilización para extraer y estabilizar ácidos nucleicos puede comprender cualquier combinación de reactivos, incluyendo un desnaturalizante de proteínas, una sustancia reductora, un tampón, un colector de radicales libres, una sustancia caotrópica, un detergente o un inhibidor de la RNasa en la matriz sólida en formato seco. El inhibidor de la RNasa puede comprender sal trifosfato, sal pirofosfato, un ácido o un reactivo tampón titulado con ácido. La matriz de estabilización puede impregnarse además con o en presencia de uno o más reactivos, incluyendo los inhibidores de enzimas, antioxidantes o sustancias quelantes. La matriz sólida puede comprender un desnaturalizante de proteínas, una sustancia reductora, un tampón y, opcionalmente, un colector de radicales libres o un inhibidor de la RNasa.

Uno o más reactivos pueden impregnarse y almacenarse en un estado seco. Uno o más reactivos secos pueden volver a hidratarse opcionalmente con la adición de un tampón, agua o una muestra. La matriz puede comprender, además, un desnaturalizante de proteínas débil o fuerte. En determinados aspectos, la matriz sólida es un papel poroso a base de celulosa, como el comercialmente disponible: 903, 31-ETF, o FTA Elute™. El rendimiento de este método permite el almacenamiento de ácidos nucleicos, por ejemplo, de ARN, que puede ser una biomolécula inestable para almacenar en formato seco (por ejemplo, sobre una matriz sólida) a temperatura ambiente. La matriz sólida puede estar configurada de modo que la hidratación de la matriz proporcione un pH ácido. Como se ha indicado, en uno o

más ejemplos, la calidad del ARN puede determinarse gracias a la electroforesis capilar del ARN extraído a través de un bioanalizador. La matriz sólida seca puede permitir el almacenamiento prolongado de uno o más biocomponentes, que comprenden ácidos nucleicos (por ejemplo, ARN, ADN) en formato seco en condiciones ambientales. En otros aspectos, una matriz sólida seca para la extracción ambiental y almacenamiento de ácidos nucleicos (por ejemplo, ARN, ADN) de una muestra comprende una sal tiocianato, una sustancia reductora, un tampón y, opcionalmente, un colector de radicales libres o un inhibidor de la RNasa presentes en una matriz sólida en formato seco. Una matriz sólida seca para la extracción y almacenamiento de ácidos nucleicos (por ejemplo, ARN, ADN) de una muestra comprende, al menos, una sal tiocianato metálica, en donde al menos una sal tiocianato metálica no es tiocianato de guanidinio (GuSCN), una sustancia reductora, un tampón y, opcionalmente, un colector de radicales libres o un inhibidor de la RNasa. Las matrices sólidas que pueden comprender ácidos nucleicos (por ejemplo, ARN, ADN) en formato seco pueden someterse a un proceso para liberar los ácidos nucleicos de la matriz sólida en un formato intacto que sea apropiado para analizar adicionalmente las muestras de ácidos nucleicos recopiladas.

La calidad del ARN puede cuantificarse con un número RIN, en donde el RIN se puede calcular mediante una valoración algorítmica de las cantidades de varios ARN presentes en el interior del ARN extraído. El ARN celular de gran calidad presenta un valor RIN de casi 10. En uno o más ejemplos, el ARN extraído de la matriz seca tiene un valor RIN de al menos 4. En algunos ejemplos, la matriz proporciona la extracción y estabilización ambiental de una biomuestra y produce ARN intacto de gran calidad con un valor RIN que oscila de aproximadamente 4 a aproximadamente 10 o, en algunos ejemplos, el valor RIN está en un intervalo de aproximadamente 5 a aproximadamente 8. La matriz puede ser un material seco poroso y no soluble, configurado para proporcionar un pH de entre aproximadamente 2 y aproximadamente 7 tras la hidratación para extraer el ARN. La matriz puede estabilizar el ARN extraído con un Número de Integridad del ARN (RIN) de al menos 4.

Los métodos para extraer y almacenar ácidos nucleicos de una muestra pueden comprender las etapas de proporcionar la muestra en una matriz sólida seca que comprenda un desnaturalizante de proteínas y un reactivo tampón ácido o titulado con ácido; generar un pH ácido tras la hidratación para la extracción de ácidos nucleicos de la muestra; secar la matriz que comprende los ácidos nucleicos extraídos; y almacenar los ácidos nucleicos extraídos sobre la matriz en un estado sustancialmente seco a temperatura ambiente. Los ejemplos de los componentes de estabilización de muestras anteriormente mencionados se pueden hallar, por ejemplo, en la Publicación de Estados Unidos n.º US20130338351.

Una unidad de estabilización de muestras puede incluir una matriz sólida para recopilar y estabilizar componentes que no son ácidos nucleicos, por ejemplo, proteínas. En estos casos, el sustrato puede estar configurado para extraer y estabilizar las proteínas o péptidos de una muestra biológica para conservarlos a temperatura ambiente. En un ejemplo de este tipo, el sustrato sólido para la recopilación, estabilización y elución de biomoléculas puede comprender un trisacárido en un estado sustancialmente seco. El trisacárido se puede seleccionar de: melecitosa, rafinosa, maltotriulosa, isomaltotriosa, nigerotriosa, maltotriosa, cetosa o combinaciones de estos. Uno o más ejemplos de un sustrato sólido pueden comprender, además, una melecitosa en un estado sustancialmente seco. La melecitosa puede ser un azúcar trisacárido no reductor, con un peso molecular de 504,44 g/mol. En uno o más ejemplos, el sustrato sólido puede comprender melecitosa, en donde una concentración de la melecitosa es una cantidad inferior al 30 %. La melecitosa se puede impregnar en el sustrato; el sustrato también puede recubrirse o modificarse covalentemente de forma pasiva con melecitosa. En uno o más ejemplos, el sustrato está impregnado también con uno o más reactivos, como uno o más reactivos de lisis, uno o más reactivos tampones o una o más sustancias reductoras. En algunos ejemplos, dicho uno o más reactivos impregnados comprenden reactivos líticos celulares, reactivos estabilizantes de biomoléculas, como reactivos estabilizantes de proteínas, químicos de almacenamiento de proteínas y combinaciones de estos, impregnados en un estado sustancialmente seco. Los ejemplos de los sistemas descritos anteriormente y otros ejemplos se divulgan, por ejemplo, en el documento n.º US20140234942.

Otros sustratos para estabilizar proteínas pueden comprender una matriz a base de papel sólido que comprende fibras de celulosa y/o fibras de vidrio y un polímero carbohidrato, ramificado, soluble al agua o hidrófilo. El peso de la superficie de la matriz de base sólida puede ser de 40-800 g/m². El polímero carbohidrato, ramificado, soluble al agua o hidrófilo puede ser un 4-30 % en peso de la matriz. El polímero carbohidrato, ramificado, soluble al agua o hidrófilo puede tener un peso molecular de 15-800 kDa, como de 20-500 kDa. El polímero carbohidrato ramificado puede incluir un dextrano. Los dextranos pueden ser glucanos unidos en (16) ramificados. El polímero carbohidrato ramificado puede comprender un copolímero de un mono o disacárido con un reactivo epóxido bifuncional. Dichos polímeros pueden estar muy ramificados debido a la multitud de grupos hidroxilos reactivos en cada mono/disacárido. Dependiendo de las condiciones de reacción utilizadas, el grado de ramificación puede oscilar de aproximadamente 0,2 hasta casi 1. El contenido de agua que puede extraerse en dicho papel puede ser del 0-25 % en peso, por ejemplo, 0,1-5 % en peso o 3-20 % en peso. Se pueden conseguir unas cantidades muy bajas de extraíbles cuando el polímero carbohidrato esté acoplado covalentemente a las fibras de papel y/o reticulado en sí mismo. En algunos ejemplos, el papel comprende grupos cargados negativa o positivamente de 5-300 micromol/g, por ejemplo, 5-50, 5-100 o 50-300 micromol/g. Los grupos cargados negativamente pueden ser, por ejemplo, grupos carboxilatos, grupos sulfonatos o grupos sulfatos, mientras que los grupos cargados positivamente pueden ser, por ejemplo, grupos de amonio cuaternario o amina. La presencia de estos grupos puede mejorar el efecto protector del polímero carbohidrato ramificado.

Los métodos para retirar la muestra pueden comprender una etapa de almacenamiento del papel seco con la muestra, por ejemplo, la muestra biológica, durante al menos una semana, tal como al menos un mes o al menos un año. En algunos ejemplos, el método comprende una etapa de extracción de, al menos, una proteína de dicho papel tras el almacenamiento y análisis de dicha proteína. La extracción se puede realizar, por ejemplo, perforando una pequeña parte del papel con muestra seca y sumergiéndolos en un líquido acuoso. En algunos ejemplos, la proteína se analiza en la etapa por medio de un inmunoensayo, mediante espectrometría de masas o un ensayo de actividad enzimática. Un ejemplo del sustrato divulgado anteriormente se divulga en, por ejemplo, la Solicitud de Estados Unidos n.º US20140302521.

El componente de estabilización de muestras puede comprender, al menos, una muestra seca, por ejemplo, al menos una muestra biológica seca, tal como una muestra de sangre seca. La sangre y otros materiales biológicos, por ejemplo, suero, plasma, orina, líquido cefalorraquídeo, médula ósea, biopsias, etc. pueden aplicarse en el componente de estabilización de muestras y secarse para su almacenamiento y posterior análisis, u otro uso. La muestra seca, por ejemplo, la muestra biológica, puede ser una formulación farmacéutica o un reactivo de diagnóstico que comprende, al menos, una proteína u otra biomolécula sensible. En otro aspecto, el componente de estabilización de muestras puede comprender una tarjeta de papel, con una o más zonas de aplicación de muestras impresas o indicadas de otra forma sobre la tarjeta. Puede haber tintes indicadores en estas zonas para mostrar si se ha aplicado o no una muestra no coloreada. El dispositivo también puede incluir un soporte de tarjetas, por ejemplo, para facilitar su manejo automático en los estantes, etc. y puede incluir varias formas de funciones de muestreo para facilitar la recopilación de la muestra.

Otros ejemplos de matriz de estabilización o componentes de estabilización que se pueden utilizar en los dispositivos del presente documento incluyen, aunque no se limitan a GenTegra-RNA, GenTegra-DNA (GenTegra, Pleasanton, California), como se ilustra adicionalmente en la patente de Estados Unidos n.º 8.951.719; DNA Stable Plus, como se ilustra adicionalmente en la patente de Estados Unidos n.º 8.519.125; RNAgard Blood System (Biomatria, San Diego, California).

En algunos ejemplos, la matriz sólida puede estabilizar selectivamente los componentes plasmáticos de la sangre. Los componentes plasmáticos pueden incluir ADN sin células, ARN sin células, proteínas, hormonas y otros metabolitos, que se pueden estabilizar selectivamente sobre la matriz sólida. Los componentes plasmáticos se pueden aislar de la sangre total y estabilizarse sobre una matriz sólida. Una matriz sólida puede superponerse o ser un componente de una variedad de dispositivos y técnicas diferentes. Los componentes plasmáticos pueden separarse de las muestras de sangre total utilizando una variedad de dispositivos y técnicas distintos. Las técnicas pueden incluir ensayos de flujo lateral, ensayos de flujo vertical y centrifugación.

Una matriz sólida puede estar integrada en o ser un componente de una variedad de dispositivos o técnicas de separación de plasma. Una matriz sólida puede superponerse o ser un componente de una variedad de dispositivos diferentes, como una membrana de separación del plasma, por ejemplo, la membrana de separación del plasma Vivid™. Una matriz sólida puede superponerse parcialmente a un dispositivo de separación del plasma, como una membrana de separación del plasma. Los ejemplos de dispositivos y técnicas para la separación del plasma se divulgan en las patentes o publicaciones de patente que incluyen el documento US 6.045.899; el documento US 5.906.742; el documento US 6.565.782; el documento US 7.125.493; el documento US 6.939.468; el documento EP 0.946.354; el documento EP 0.846.024; el documento US 6.440.306; el documento US 6.110.369; el documento US 5.979.670; el documento US 5.846.422; el documento US 6.277.281; el documento EP 1.118.377; el documento EP 0.696.935; el documento EP 1.089.077; el documento US 20130210078; el documento US 20150031035.

En varios dispositivos y técnicas, se puede utilizar una membrana de separación. La membrana de separación puede comprender policarbonato, fibra de vidrio u otros reconocidos por un experto habitual en la materia. Las membranas pueden comprender una matriz sólida. Las membranas pueden tener tamaños variables de poro. Las membranas de separación pueden tener diámetros de poro de aproximadamente 1 µm, aproximadamente 2 µm, aproximadamente 4 µm, aproximadamente 6 µm, aproximadamente 8 µm, aproximadamente 10 µm, aproximadamente 12 µm, aproximadamente 14 µm, aproximadamente 16 µm, aproximadamente 18 µm, aproximadamente 20 µm. Una membrana de separación puede tener poros con diámetros de aproximadamente 2 µm a aproximadamente 4 µm. Una membrana de separación puede tener poros de aproximadamente 2 µm de diámetro.

La separación del plasma se puede implementar en una gran variedad de volúmenes de muestra. Los volúmenes de muestra de plasma pueden variar dependiendo de la aplicación para la que se utiliza una matriz sólida. Los volúmenes de muestra pueden ser de más de aproximadamente 100 µl, aproximadamente 150 µl, aproximadamente 200 µl, aproximadamente 250 µl, aproximadamente 300 µl, aproximadamente 350 µl, aproximadamente 400 µl, aproximadamente 450 µl, aproximadamente 500 µl, aproximadamente 550 µl, aproximadamente 600 µl, aproximadamente 650 µl, aproximadamente 700 µl, aproximadamente 750 µl, aproximadamente 800 µl, aproximadamente 850 µl, aproximadamente 900 µl, aproximadamente 950 µl o aproximadamente 1.000 µl. Los volúmenes de muestra pueden oscilar de aproximadamente 250 µm a aproximadamente 500 µm.

65 Preparación de los biocomponentes

En algunos ejemplos, el usuario u operario puede retirar los componentes del sistema para su análisis, por ejemplo, antes de enviar la muestra a una instalación para su análisis. La instalación puede ser una instalación certificada CLIA, un laboratorio, una consulta médica o una instalación especializada externa. En la instalación, las muestras se pueden utilizar en cualquier prueba de diagnóstico que incluye, pero no se limita a perfiles analíticos habituales, pruebas de

5 tiroides, pruebas para el diagnóstico de cáncer, pruebas y cribados para enfermedades cardiovasculares, análisis de enfermedades genéticas/prenatales y enfermedades infecciosas. Con estos archivos se incluye en el presente documento, en la figura 7, una lista no limitante de pruebas aplicables.

10 Los dispositivos y sistemas para obtener, recopilar, separar y estabilizar muestras pueden ser modulares; lo que quiere decir que comprenden diferentes compartimentos o componentes. Los distintos componentes pueden o no retirarse o separarse fácilmente. Los componentes separables o retirables pueden incluir el sustrato de la muestra o un componente de separación de muestras.

15 Los dispositivos del presente documento (por ejemplo, los componentes de obtención de muestras y el componente de estabilización de muestras) pueden transportarse de forma conjunta a un laboratorio para el posterior análisis, por ejemplo, de los biocomponentes. De manera alternativa, el componente de estabilización (por ejemplo, el sustrato o sustrato) pueden enviarse sin un componente de obtención de muestras a un laboratorio para el posterior análisis de los biocomponentes. En algunos casos, el tratamiento y el análisis se pueden realizar en el dispositivo, sistemas o sustrato empleados, y bien el componente de estabilización o un componente del dispositivo o sistema se puede

20 transportar a un profesional sanitario o a otra parte interesada en los resultados de la prueba. Cuando la biomuestra es recibida en la ubicación en la que se analiza, el sustrato o los componentes del componente de separación de muestras se pueden retirar. Estos componentes pueden estar etiquetados y/o catalogados para indicar la composición o el componente objetivo que está estabilizado en la matriz. Mediante el uso de la etiqueta como identificador, las membranas o sustratos pueden clasificarse y prepararse para la prueba objetivo.

25 Los sistemas y procesos para recibir y procesar las muestras pueden variar dependiendo de la identidad, estabilidad, fuente y otras características de las muestras empleadas. La calidad de un componente de la biomuestra puede afectar directamente a la calidad, reproducibilidad y fiabilidad del resultado de una prueba de diagnóstico. Los sistemas, dispositivos y métodos anteriormente mencionados para la obtención, recopilación, estabilización y separación

30 opcional de la muestra pueden afectar a la composición, estabilidad, concentración y procesamiento de la muestra. Por ejemplo, el volumen, tamaño, cantidad, estabilidad y pureza de una biomuestra puede variar dependiendo de la fuente de la muestra y de los componentes utilizados para recopilar la muestra. La calidad de las muestras y, por extensión, la calidad de los resultados diagnósticos puede ser específica de los kits, sistemas, dispositivos y métodos para obtener la muestra; por lo tanto, los métodos, kits y sistemas también se divulgan para recibir, procesar, tratar

35 y/o preparar los componentes de la biomuestra antes de su análisis.

40 Los componentes procesados de la muestra pueden incluir, aunque no se limitan a, ADN/ARN que incluye ADN sin células y ADN tumoral circulante, proteínas, antígenos, anticuerpos, lípidos que incluyen HDL/LDL y cualquier combinación de estos. La biomuestra o componentes objetivo pueden extraerse utilizando cualquier método de extracción convencional de ácidos nucleicos. Entre los ejemplos no limitantes de extracción se pueden incluir, aunque

45 no se limitan a, electroelución, extracción de gelatina, extracción de microesferas de sílice o vidrio, extracción de solución de guanidina-tiocianato-fenol, extracción a base de ácido de guanidinio tiocianato, centrifugación a través de yoduro sódico o un gradiente similar, centrifugación con tampón o extracción a base de fenol-cloroformo. Para el análisis de ácidos nucleicos, la etapa de extracción puede ayudar a eliminar las impurezas, como las proteínas, y a concentrar los ácidos nucleicos circulantes. Los ácidos nucleicos circulantes extraídos se pueden examinar mediante métodos como la electroforesis en gel de agarosa, espectrofotometría, fluorometría o cromatografía líquida.

50 El ADN o los nucleótidos extraídos de la muestra se pueden preparar en una instalación de laboratorio utilizando diversos métodos para reducir los errores y producir una señal significativa con un tamaño de muestra limitado. Las muestras de ácidos nucleicos pueden tratarse o someterse a diversos métodos para amplificar de forma eficiente el ácido nucleico objetivo deseado (por ejemplo, la "plantilla de ADN" o la "plantilla de ácido nucleico"). Los cebadores modificados pueden estar diseñados para minimizar o evitar la producción de cebadores-dímeros no deseados y

55 productos quiméricos observados con otros métodos y kits de amplificación de ácidos nucleicos. Los nuevos métodos de diseño de cebadores pueden evitar la producción de productos de amplificación de ácidos nucleicos falsos. Los métodos y kits descritos, utilizados para analizar la muestra, pueden comprender "ATGenomiPhi". ATGenomiPhi puede utilizar hexámeros modificados de la fórmula general: +N+N(atN)(atN)(atN)*N, en donde "+" va delante de una base de LNA, como se describió anteriormente, y (atN) representa una mezcla aleatoria de 2-amino-dA, dC, dG y 2-tio-dT. Otros hexámeros pueden comprender la fórmula (atN)(atN)(atN)(atN)(atN)*N, en donde las anotaciones son

60 coherentes entre estos dos diseños de hexámeros. El uso de estos hexámeros en las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos pueden abordar, minimizar o eliminar los problemas asociados a la producción de formaciones de cebadores-dímeros y de ácidos nucleicos quiméricos observada en los métodos tradicionales, mediante la inhibición de la capacidad de los hexámeros aleatorios para hibridarse entre sí, aumentando la fusión T_m de los cebadores, mediante la mejora de la eficiencia de unión del hexámero al ácido nucleico objetivo añadiendo LNA y 2-amino-dA en los cebadores, y evitando la hibridación del ADN objetivo en sí mismo mediante la incorporación de 2-tio-dT en los

65 hexámeros aleatorios. Así mismo, las modificaciones de los cebadores pueden aumentar su resistencia de unión al ácido nucleico objetivo y permitir la utilización de tampones de hibridación más restrictivos que minimicen aún más la

probabilidad de producción de cebadores-dímeros y productos de ácidos nucleicos quiméricos. Estos y otros métodos de amplificación de ADN se pueden hallar, por ejemplo, la Solicitud de Estados Unidos n.º US20130210078.

5 El ADN obtenido de una muestra se puede analizar utilizando uno o más métodos para generar círculos de ADN monocatenarios a partir de una muestra biológica. El laboratorio que analice la muestra puede utilizar un método que comprenda las etapas de: tratar la muestra biológica con un disolvente de extracción para liberar los ácidos nucleicos, formando así una mezcla de muestra; neutralizar el disolvente de extracción; desnaturalizar los ácidos nucleicos liberados para generar ácidos nucleicos monocatenarios; y hacer que los ácidos nucleicos monocatenarios entren en contacto con una ligasa que sea capaz de unirse de forma intramolecular independientemente de la plantilla de una
10 secuencia de ADN monocatenario para generar los círculos de ADN monocatenario. Las etapas del método se pueden llevar a cabo sin aislamiento de ningún ácido nucleico intermedio o purificación del ácido nucleico. En ciertos ejemplos, las etapas se pueden llevar a cabo de forma consecutiva en un solo recipiente de reacción. En ciertos ejemplos, los círculos de ADN monocatenario se pueden amplificar para permitir el análisis posterior de la muestra biológica. En ciertos ejemplos, la mezcla de la muestra puede secarse sobre la matriz sólida antes de la etapa de neutralización. En
15 ciertos ejemplos, el daño en el ADN se puede reparar de forma enzimática antes de la etapa de desnaturalización. En otros aspectos, se proporciona un método para analizar una muestra, por ejemplo, una muestra biológica. De esta forma, los círculos de ADN monocatenario generados según determinados ejemplos del método se amplifican y se analiza el producto de amplificación. El análisis se puede realizar, por ejemplo, mediante secuenciación dirigida del producto amplificado. En otro aspecto, se proporciona un método para detectar las interrupciones en la reordenación cromosómica de una muestra biológica. De esta forma, se amplifican los círculos de ADN monocatenario generados según determinados ejemplos descritos en el presente documento y el producto de amplificación se analiza, por ejemplo, mediante secuenciación. Cualquier interrupción en la reordenación cromosómica se puede identificar comparando las secuencias con una secuencia de referencia conocida. En otro aspecto más, se puede proporcionar un kit que comprende un disolvente de extracción para tratar una muestra biológica para liberar ácidos nucleicos; un
20 reactivo para neutralizar el disolvente de extracción; y una ligasa que es capaz de unirse de forma intramolecular independientemente de la plantilla de una secuencia de ADN monocatenario. Estos y otros métodos de amplificación de ADN se pueden hallar, por ejemplo, en la Solicitud PCT n.º WO US2015/50760.

30 Los métodos para generar un círculo de ADN monocatenario a partir de ADN lineal se pueden utilizar en la muestra recopilada. Los métodos pueden comprender las etapas para proporcionar un ADN lineal, reparar los extremos del ADN lineal incubándolo con un polinucleótido quinasa en presencia de un donante de fosfato para generar una secuencia de ADN ligable, con un grupo fosfato en el extremo 5' y un grupo hidróxilo en el extremo 3', y llevar a cabo una unión intramolecular de la secuencia de ADN ligable reparada con una ligasa, para así crear el círculo de ADN monocatenario. Las etapas se pueden llevar a cabo en un solo recipiente de reacción sin aislamiento de intervención o etapas de purificación. El donante de fosfato puede ser guanosín trifosfato (GTP), citidina trifosfato (CTP), uridina trifosfato (UTP), desoxitimidina trifosfato (dTTP) o una combinación de estos. El ADN lineal puede ser ADN bicatenario o monocatenario. El ADN puede ser un segmento de ADN fragmentado, tal como ADN circulante. Es posible que, si el ADN ligable está en forma bicatenaria, tenga que desnaturalizarse antes de la reacción de unión intramolecular. Para esta reacción de unión puede emplearse una ligasa adenilada previamente que sea capaz de unirse de forma intramolecular independientemente de la plantilla de las secuencias de ADN monocatenario. En otros ejemplos, el método para generar un círculo de ADN monocatenario a partir de un ADN lineal puede emplear una etapa de adenilación previa del ADN antes de la etapa de unión intramolecular. El ADN lineal puede incubarse opcionalmente con un polinucleótido quinasa en presencia de adenosín trifosfato (ATP) para generar una secuencia de ADN ligable que comprenda un grupo fosfato en el extremo 5' y un grupo hidróxilo en el extremo 3'. La creación de una secuencia de ADN ligable a partir del ADN lineal puede ser conveniente si el ADN lineal presenta una forma muy fragmentada. Después, el ADN lineal o la secuencia de ADN ligable puede incubarse con una enzima adenilante en presencia de ATP para generar una secuencia de ADN adenilada en 5'. La secuencia de ADN adenilada en 5' puede incubarse con una ligasa no adenilada, que es capaz de unirse de forma intramolecular independientemente de la plantilla de la secuencia de ADN adenilado en 5' para crear el círculo de ADN monocatenario. Todas las etapas del método se pueden llevar a cabo en un solo recipiente de reacción sin aislamiento de intervención o etapas de purificación. El ATP se puede eliminar de la mezcla de reacción (por ejemplo, tratando la mezcla de reacción con una fosfatasa) antes de la reacción de unión intramolecular si la ligasa no adenilada es una ligasa dependiente de ATP. Si el ADN adenilado en 5' está en forma bicatenaria, puede ser necesario desnaturalizarlo antes de la reacción de unión intramolecular. Estos y otros métodos de circularización de ADN se pueden hallar, por ejemplo, en la Solicitud de Estados Unidos
55 n.º US20150031086.

El tratamiento de la muestra puede conllevar el uso de etapas para preparar el ARN para su análisis. Los métodos pueden conllevar la producción de una estructura de ácido nucleico y su uso posterior en la purificación y amplificación del ácido nucleico. Los métodos pueden requerir una secuencia de ADN que comprenda una región bicatenaria y una
60 región monocatenaria. La región monocatenaria puede ser complementaria a la secuencia de ARN de interés. Después, la secuencia de ARN se puede hibridar en la región monocatenaria de la secuencia de ADN y, así, las dos secuencias se pueden unir para producir una molécula de ARN-ADN. Los métodos pueden incluir las etapas mediante las que el extremo 3' del ARN se une a un oligonucleótido de ADN bicatenario que contiene una secuencia promotora. Este oligonucleótido de ADN bicatenario puede contener un promotor de la polimerasa de ARN dentro de la región bicatenaria que vaya seguido de un segmento de ADN monocatenario que forme un saliente en 3'. Cuando el saliente en 3' contiene una hebra de restos de timidina, la parte monocatenaria del ADN bicatenario puede hibridarse en el

extremo 3' de las colas poli(A) del ARN mensajero (ARNm). Tras la adición de la ligasa, el ARNm puede presentar una hebra de secuencia de ADN bicatenaria unida al extremo 3'. Cuando se añade una polimerasa de ARN, las moléculas híbridas de ARN-ADN pueden transcribirse de forma eficiente para sintetizar el ARNc. Ya que las reacciones de transcripción con el uso de ARN polimerasa pueden transcribir cada plantilla varias veces, este método puede permitir la amplificación efectiva del ARN. Otro método similar al descrito anteriormente puede conllevar la unión del oligonucleótido del ADN al ARN, como se ha descrito. Sin embargo, el oligonucleótido de ADN puede fijarse a un soporte sólido o contener un marcador de afinidad. Esto puede permitir la fijación covalente y/o la captura de moléculas de ARN muy eficiente, lo que se puede utilizar para cualquiera de una variedad de objetivos. Los métodos adicionales pueden utilizar la unión y posterior transcripción para crear ARN complementario que contenga una secuencia definida por el usuario en el extremo 5' del ARNc. Este "marcador" de secuencia se puede colocar entre el promotor de ARN polimerasa y el extremo 3' de la molécula de ARN unida. La secuencia definida por el usuario se puede utilizar para purificar o identificar el ARNc o manipular de otra forma la secuencia del ARNc. El producto de ARNc se une y amplifica posteriormente según el método descrito, pudiendo ser el producto resultante dos veces amplificado "de sentido" con respecto a la plantilla de sentido original, y este nuevo producto puede presentar dos secuencias definidas por el usuario separadas ubicadas en los extremos 5'. Estas secuencias se pueden utilizar para la síntesis del ARNc, permitiendo la síntesis de longitud completa y la clonación direccional. Los expertos en la materia entenderán que bien con o sin las secuencias definidas por el usuario, este método de amplificación doble puede proporcionar un aumento significativo de la cantidad de ARN, permitiendo analizar muestras que anteriormente eran demasiado pequeñas para su estudio. Estos y otros métodos de amplificación de fragmentos de ADN se pueden hallar, por ejemplo, en la Solicitud de Estados Unidos n.º US20080003602.

Los métodos adicionales para el análisis de la biomuestra pueden estar enfocados en los ácidos nucleicos presentes en una región de interés de una muestra biológica y proporcionar la información de expresión de proteínas de muchas proteínas, así como agregar información a la secuencia de ADN. Los métodos adicionales para el análisis de las muestras pueden centrarse en una subsección homogénea de una muestra heterogénea. Las subpoblaciones específicas de células dentro de las poblaciones mixtas pueden identificarse de forma precisa a partir de criterios de selección predeterminados y analizarse. Se pueden identificar las mutaciones, que pueden ser útiles para diagnosticar y/o pronosticar o investigar adicionalmente las dianas del fármaco. Estos y otros métodos de circularización de ADN se pueden hallar, por ejemplo, en la Solicitud de Estados Unidos n.º US2015/50760.

30 Elución de ácidos nucleicos

En algunos casos, los ácidos nucleicos, por ejemplo, el ADN o ARN, de una muestra (por ejemplo, una muestra biológica), se aplican en una matriz de estabilización (por ejemplo, una matriz de estabilización de ácidos nucleicos), la muestra se seca opcionalmente sobre la matriz de estabilización y los ácidos nucleicos de la matriz de estabilización, por ejemplo, el ADN o ARN, se eluyen de la matriz de estabilización. En algunos casos, una muestra biológica seca se estabiliza sobre una matriz de estabilización capaz de estabilizar un ácido nucleico, por ejemplo, como se describe en el presente documento. En algunos casos, un método comprende las etapas de: a) poner en contacto, por ejemplo, colocar una muestra, por ejemplo, una muestra biológica que comprende un ácido nucleico, por ejemplo, ADN o ARN, sobre una matriz de estabilización de ácidos nucleicos, b) secar opcionalmente la muestra, por ejemplo, la muestra biológica, sobre la matriz de estabilización de ácidos nucleicos, c) poner en contacto, opcionalmente, la matriz de estabilización de ácidos nucleicos que comprende el ácido nucleico con un tampón de lisis, d) poner en contacto la matriz de estabilización de ácidos nucleicos que comprende el ácido nucleico con un tampón de unión de ácidos nucleicos (que contiene opcionalmente un disolvente orgánico), por ejemplo, sumergiendo la matriz de estabilización de ácidos nucleicos que comprende el ácido nucleico en el tampón de unión; e) poner en contacto, opcionalmente, la matriz de estabilización de ácidos nucleicos que comprende el ácido nucleico con un tampón de lavado, por ejemplo, sumergiendo la matriz de estabilización de ácidos nucleicos en el tampón de lavado, y f) poner en contacto la matriz de estabilización de ácidos nucleicos que comprende el ácido nucleico con un tampón de elución, por ejemplo, sumergiendo la matriz de estabilización de ácidos nucleicos que comprende el ácido nucleico en el tampón de elución, para así eluir el ácido nucleico de la matriz de estabilización.

En algunos casos, el ácido nucleico, por ejemplo, el ARN o ADN, puede extraerse de una matriz de estabilización, por ejemplo, una matriz de estabilización de papel, por ejemplo, utilizando un tampón de extracción. El ácido nucleico extraído, por ejemplo, el ARN o ADN, puede unirse a una segunda matriz, por ejemplo, a un segundo soporte sólido, por ejemplo, microesferas, por ejemplo, microesferas magnéticas. Esta unión a una segunda matriz, por ejemplo, a un segundo soporte sólido, por ejemplo, microesferas, por ejemplo, microesferas magnéticas, se puede producir en un tampón de unión. El ácido nucleico, por ejemplo, el ARN o ADN, sobre la segunda matriz se puede lavar con uno o más tampones de lavado. El ácido nucleico sobre la segunda matriz se puede tratar con una solución enzimática que comprende, por ejemplo, una DNasa, RNasa o proteasa, para degradar un tipo específico de molécula (por ejemplo, ARN, ADN o proteínas). El ácido nucleico sobre la matriz sólida puede eluirse de la matriz sólida utilizando, por ejemplo, un tampón de elución.

La elución se puede llevar a cabo sobre al menos una parte de la matriz de estabilización que comprende una muestra, por ejemplo, una muestra biológica seca. En algunos casos, una parte de la matriz de estabilización se puede separar del resto de la matriz de estabilización, por ejemplo, una parte de la matriz de estabilización puede perforarse de la matriz de estabilización y se pueden eluir los ácidos nucleicos de esta parte separada. Las perforaciones pueden ser

de aproximadamente 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, o 60 mm de diámetro. Las perforaciones pueden ser de aproximadamente 10 a aproximadamente 60, de aproximadamente 10 a aproximadamente 50, de aproximadamente 10 a aproximadamente 40, de aproximadamente 10 a aproximadamente 30, de aproximadamente 10 a aproximadamente 20, de aproximadamente 1 a aproximadamente 10, de aproximadamente 2 a aproximadamente 9, de aproximadamente 3 a aproximadamente 8, de aproximadamente 4 a aproximadamente 7, de aproximadamente 5 a aproximadamente 6, de aproximadamente 3 a aproximadamente 6, de aproximadamente 1 a aproximadamente 4, de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 o de aproximadamente 1 a aproximadamente 2 mm de diámetro. En algunos casos, la matriz de estabilización que comprende el ácido nucleico no se separa en partes antes de eluir el ácido nucleico de la matriz de estabilización.

En algunos casos, la matriz de estabilización de ácidos nucleicos que comprende el ácido nucleico puede entrar en contacto con un tampón de lisis. En algunos casos, la unión y retención de un ácido nucleico en una matriz de estabilización puede optimizarse con el contacto de la matriz de estabilización con un tampón de unión. En algunos casos, una parte de la matriz de estabilización entra en contacto con un tampón de unión a ácidos nucleicos. En algunos casos, el tampón de unión a ácidos nucleicos puede comprender microesferas. En algunos casos, la matriz de estabilización entra en contacto con un tampón de lavado, por ejemplo, para eliminar las impurezas. En algunos casos, el ácido nucleico se puede eluir haciendo que la matriz de estabilización entre en contacto con un tampón de elución.

En algunos casos, el tampón de lisis de ácidos nucleicos, tampón de unión, tampón de lavado o tampón de elución pueden comprender un tampón disponible en el mercado. Por ejemplo, un tampón puede comprender TRIzol® fabricado por ThermoFisher®, Buffer RLT fabricado por Qiagen®, Buffer RLN fabricado por Qiagen®, RNA Lysis Buffer (RLA) fabricado por Promega, PureYield™ Cell Lysis Solution (CLA) fabricada por Promega, PureYield™ Endotoxin Removal Wash fabricado por Promega, reactivo de aislamiento de ARN PureZOL™ (Bio-Rad™), RNA Lysis Buffer o DNA/RNA Binding Buffer fabricado por Zymo Research Corp o RNA Capture Buffer fabricado por Pierce™.

En algunos casos, el tampón de lisis de ácidos nucleicos, tampón de unión, tampón de lavado o tampón de elución pueden comprender una o más sustancias tamponadoras (o tampón de pH), una o más sales, una o más sustancias reductoras, uno o más quelantes, uno o más tensioactivos, una o más enzimas, uno o más desnaturalizantes de proteínas, uno o más reactivos de bloqueo, uno o más disolventes orgánicos o cualquier combinación de estos. Por ejemplo, el tampón de lisis de ácidos nucleicos, el tampón de unión, el tampón de lavado o el tampón de elución pueden comprender uno o más desnaturalizantes de proteínas y una o más sustancias reductoras. El tampón de lisis de ácidos nucleicos, el tampón de unión, el tampón de lavado o el tampón de elución pueden comprender uno o más desnaturalizantes de proteínas, una o más sustancias reductoras y una o más enzimas. El tampón de lisis de ácidos nucleicos, el tampón de unión, el tampón de lavado o el tampón de elución pueden comprender uno o más sales y uno o más tampones. El tampón de lisis de ácidos nucleicos, el tampón de unión, el tampón de lavado o el tampón de elución pueden comprender una o más sales, uno o más tampones o uno o más disolventes orgánicos. El tampón de lisis de ácidos nucleicos, el tampón de unión, el tampón de lavado o el tampón de elución pueden comprender uno o más tampones y una o más enzimas. El tampón de lisis de ácidos nucleicos, el tampón de unión, el tampón de lavado o el tampón de elución pueden comprender uno o más tampones y una o más sustancias quelantes. El tampón de lisis de ácidos nucleicos, el tampón de unión, el tampón de lavado o el tampón de elución pueden comprender uno o más tampones, una o más sustancias quelantes y uno o más disolventes orgánicos.

Dicha una o más sustancias tamponadoras pueden ser, por ejemplo, solución salina, citrato, fosfato, solución salina tamponada con fosfato, acetato, glicina, (tris) clorhidrato de tris(hidroximetil)aminometano, solución salina tamponada con tris (TBS), ácido 3-[[1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)propan-2-il]amino]propano-1-sulfónico (TAPS), bicina, tricina, ácido 3-[[1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)propan-2-il]amino]-2-hidroxi-propano-1-sulfónico (TAPSO), ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinetanosulfónico (HEPES), ácido piperazin-N,N'-bis(2-etanosulfónico) (PIPES), ácido 3-(N-morfolino)propanosulfónico (MOPS), ácido 2-(N-morfolino)etanosulfónico (MES), ácido 2-[[1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)propan-2-il]amino]etanosulfónico (TES), cacodilato, glicina, carbonato o cualquier combinación de estos. Dicha una o más sustancias tamponadoras pueden estar presentes en una concentración de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 500, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 400 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 300 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 200 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 100 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 50 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 25 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 20 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 15 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 10 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 5 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 4 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 3 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 2 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 1 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 0,9 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 0,8 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 0,7 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 0,6 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 0,5 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 0,4 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 0,3 mM o de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 0,2 mM. La sustancia tamponadora puede estar presente a una concentración de menos de 500 mM, de menos de 400 mM, de menos de 300 mM, de menos de 200 mM, de menos

de 100 mM, de menos de 50 mM, de menos de 25 mM, de menos de 20 mM, de menos de 15 mM, de menos de 10 mM, de menos de 5 mM, de menos de 4 mM, de menos de 3 mM, de menos de 2 mM, de menos de 1 mM, de menos de 0,9 mM, de menos de 0,8 mM, de menos de 0,7 mM, de menos de 0,6 mM, de menos de 0,5 mM, de menos de 0,4 mM, de menos de 0,3 mM, de menos de 0,2 mM o de menos de 0,1 mM. La sustancia tamponadora puede estar presente a una concentración de más de 500 mM, de más de 400 mM, de más de 300 mM, de más de 200 mM, de más de 100 mM, de más de 50 mM, de más de 25 mM, de más de 20 mM, de más de 15 mM, de más de 10 mM, de más de 5 mM, de más de 4 mM, de más de 3 mM, de más de 2 mM, de más de 1 mM, de más de 0,9 mM, de más de 0,8 mM, de más de 0,7 mM, de más de 0,6 mM, de más de 0,5 mM, de más de 0,4 mM, de más de 0,3 mM, de más de 0,2 mM o de más de 0,1 mM.

Dicha una o más sales pueden ser, por ejemplo, cloruro sódico, acetato sódico, bicarbonato sódico, bisulfato sódico, bromuro sódico, cloruro de potasio, acetato de potasio, bicarbonato de potasio, bisulfato de potasio, bromato de potasio, bromuro de potasio o carbonato de potasio. Dicha una o más sales pueden estar a una concentración de aproximadamente 0,1 mM, 5 mM, 10 mM, 25 mM, 50 mM, 100 mM, 250 mM, 500 mM, 750 mM o 1.000 mM en un tampón. Dicha una o más sales pueden estar a una concentración de menos de 0,1 mM, 5 mM, 10 mM, 25 mM, 50 mM, 100 mM, 250 mM, 500 mM, 750 mM o 1.000 mM en un tampón. Dicha una o más sales pueden estar a una concentración de al menos 0,1 mM, 5 mM, 10 mM, 25 mM, 50 mM, 100 mM, 250 mM, 500 mM, 750 mM o 1.000 mM.

Dicha una o más sustancias reductoras pueden ser, por ejemplo, beta-mercaptoetanol (BME), 2-aminoetanol (2MEA-HCl (cisteamina-HCl)), ditiotreitól (DTT), glutatión (GSH), tris(2-carboxietil)fosfina (TCEP) o cualquier combinación de estos. La concentración de dicha una o más sustancias reductoras puede ser de aproximadamente 0,1 mM, 0,5 mM, 1 mM, 10 mM, 50 mM, 100 mM, 250 mM o 500 mM. La concentración de dicha una o más sustancias reductoras puede ser de menos de 0,5 mM, 1 mM, 10 mM, 50 mM, 100 mM, 250 mM o 500 mM. Por ejemplo, la concentración de DTT puede ser de aproximadamente 0,05 mM a aproximadamente 100 mM, de aproximadamente 0,5 mM a aproximadamente 50 mM o de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 10 mM. La concentración de TCEP puede ser de aproximadamente 0,05 mM a aproximadamente 50 mM, de aproximadamente 0,5 mM a aproximadamente 50 mM o de aproximadamente 0,5 mM a aproximadamente 5 mM. La concentración de BME puede ser de aproximadamente el 0,05 % a aproximadamente el 10 %, de aproximadamente el 0,5 % a aproximadamente el 5 % o de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 10 %. La concentración de GSH puede ser de aproximadamente 0,05 mM a aproximadamente 25 mM, de aproximadamente 0,5 mM a aproximadamente 10 mM o de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 10 mM. La concentración de dicha una o más sustancias reductoras puede ser de aproximadamente 1 mM, 10 mM, 50 mM, 100 mM, 250 mM o 500 mM.

Dicho uno o más quelantes pueden ser, por ejemplo, un carbohidrato; un lípido; un esteroide; un aminoácido o un compuesto relacionado; un fosfato; un nucleótido; un tetrapirrol; una ferrioxamina; un ionóforo; un fenólico; o un quelante sintético, como 2,2'-bipiridilo, dimercaptopropanol, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido etilendioxidietileno-dinitrilo-tetraacético, ácido etilenglicol-bis(2-aminoetil)-N,N,N',N'-tetraacético (EGTA), un ácido nitrilotriacético metálico (NTA), ácido salicílico o trietanolamina (TEA). La concentración de dicha una o más sustancias quelantes en un tampón puede ser de aproximadamente 0,1 mM, 1 mM, 5 mM, 10 mM, 20 mM o 25 mM. La concentración de dicha una o más sustancias quelantes en un tampón puede ser de menos de 0,1 mM, 1 mM, 5 mM, 10 mM, 20 mM o 25 mM. La concentración de dicha una o más sustancias quelantes en un tampón puede ser de más de 0,1 mM, 1 mM, 5 mM, 10 mM, 20 mM o 25 mM.

Dicho uno o más tensioactivos pueden ser, por ejemplo, de tipo aniónico, catiónico, no iónico o anfotérico. Dicho uno o más tensioactivos pueden ser alcoholes polietoxilados; polioxietilen sorbitano; octoxinol, como Triton X 100™ (polietilen glicol p-(1,1,3,3-tetrametilbutil)-fenil éter); polisorbatos como Tween™ 20 (por ejemplo, polisorbato 20) o Tween™ 80 (polisorbato 80); dodecil sulfato sódico; lauril sulfato sódico; nonilfenol etoxilato, como Tergitol™; ciclodextrinas; o cualquier combinación de estos. Dicho uno o más tensioactivos pueden estar presentes a una concentración de menos del 0,001 %, menos del 0,005 %, menos del 0,01 %, menos del 0,015 %, menos del 0,02 %, menos del 0,025 %, menos del 0,03 %, menos del 0,035 %, menos del 0,04 %, menos del 0,045 %, menos del 0,05 %, menos del 0,055 %, menos del 0,06 %, menos del 0,065 %, menos del 0,07 %, menos del 0,075 %, menos del 0,08 %, menos del 0,085 %, menos del 0,09 %, menos del 0,095 %, menos del 0,1 %, menos del 0,15 %, menos del 0,2 %, menos del 0,25 %, menos del 0,3 %, menos del 0,35 %, menos del 0,4 %, menos del 0,45 %, menos del 0,5 %, menos del 0,55 %, menos del 0,6 %, menos del 0,65 %, menos del 0,7 %, menos del 0,75 %, menos del 0,8 %, menos del 0,85 %, menos del 0,9 %, menos del 0,95 % o menos del 0,1 % en volumen con respecto al volumen total del tampón de elución. Dicho uno o más tensioactivos pueden estar a una concentración de aproximadamente el 0,01 %, el 0,05 %, el 0,1 %, el 0,5 %, el 1 %, el 5 % o el 10 %. Dicho uno o más tensioactivos pueden estar a una concentración de menos del 0,01 %, el 0,05 %, el 0,1 %, el 0,5 %, el 1 %, el 5 % o el 10 %. Dicho uno o más tensioactivos pueden estar a una concentración de más del 0,01 %, el 0,05 %, el 0,1 %, el 0,5 %, el 1 %, el 5 % o el 10 %.

Dicho uno o más desnaturizantes de proteínas pueden ser, por ejemplo, una sustancia caotrópica, por ejemplo, una sal caotrópica. Una sustancia caotrópica puede ser butanol, etanol, cloruro de guanidina, hidrocloreto de guanidina, isotiocianato de guanidina, perclorato de litio, acetato de litio, cloruro de magnesio, fenol, propanol, yoduro sódico, tiocianato sódico, tiourea, urea o cualquier combinación de estos. La concentración de la sustancia caotrópica en un tampón puede ser de aproximadamente 0,1 mM, 1 mM, 10 mM, 100 mM, 1 M, 6 M u 8 M. La concentración de la sustancia caotrópica en un tampón puede ser de al menos 0,1 mM, 1 mM, 10 mM, 100 mM, 1 M, 6 M u 8 M. La

concentración de la sustancia caotrópica en un tampón puede ser de menos de 0,1 mM, 1 mM, 10 mM, 100 mM, 1 M, 6 M u 8 M.

5 El tampón de lisis de ácidos nucleicos, tampón de unión, tampón de lavado o tampón de elución pueden comprender, además, una o más enzimas. Un tampón de lisis, tampón de unión, tampón de lavado o tampón de elución pueden comprender Dnasa o RNasa en cantidades suficientes para eliminar las impurezas de ADN o ARN, respectivamente, de cada uno. Un tampón de lisis, tampón de unión, tampón de lavado o tampón de elución pueden comprender enzimas de lisis, tal como la lisozima de clara de huevo de gallina, lisozima T4 u otras, así como enzimas tales como carbohidrasas, fitasas y proteasas, tales como tripsina, proteinasa K, pepsina, quimotripsina, papaína, bromelaína, 10 subtilisina o elastasa. Una proteasa puede ser una proteasa de serina, una proteasa de cisteína, una proteasa de treonina, una proteasa aspártica, una proteasa glutámica o una metaloproteasa o una asparagina péptido liasa.

15 El tampón de lisis de ácidos nucleicos, tampón de unión, tampón de lavado o tampón de elución puede ser una solución acuosa con un pH de aproximadamente 2 a aproximadamente 10, de aproximadamente 2 a aproximadamente 9, de aproximadamente 2 a aproximadamente 8, de aproximadamente 2 a aproximadamente 7, de aproximadamente 2 a aproximadamente 6, de aproximadamente 2 a aproximadamente 5, de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 o de aproximadamente 2 a aproximadamente 3. El tampón de lisis de ácidos nucleicos, tampón de unión, tampón de lavado o tampón de elución puede ser una solución acuosa con un pH de aproximadamente 6 a aproximadamente 8, de aproximadamente 6 a aproximadamente 7,9, de entre aproximadamente 6 a aproximadamente 7,8, de entre 20 aproximadamente 6 a aproximadamente 7,7, de entre aproximadamente 6 a aproximadamente 7,6, de entre aproximadamente 6 a aproximadamente 7,5, de entre aproximadamente 6 a aproximadamente 7,4, de entre aproximadamente 6 a aproximadamente 7,3, de aproximadamente 6 a aproximadamente 7,2, de aproximadamente 6 a aproximadamente 7,1, de aproximadamente 6 a aproximadamente 7, de aproximadamente 6 a aproximadamente 6,9, de aproximadamente 6 a aproximadamente 6,8, de aproximadamente 6 a aproximadamente 6,7, de 25 aproximadamente 6 a aproximadamente 6,6, de aproximadamente 6 a aproximadamente 6,5, de aproximadamente 6 a aproximadamente 6,4, de aproximadamente 6 a aproximadamente 6,3, de aproximadamente 6 a aproximadamente 6,2 o de aproximadamente 6 a aproximadamente 6,1. El tampón de lisis de ácidos nucleicos, tampón de unión, tampón de lavado o tampón de elución puede ser una solución acuosa con un pH de al menos aproximadamente 3, al menos aproximadamente 4, al menos aproximadamente 5, al menos aproximadamente 6, al menos aproximadamente 7, al 30 menos aproximadamente 8, al menos aproximadamente 9 o al menos aproximadamente 10.

El tampón de lisis de ácidos nucleicos, tampón de unión, tampón de lavado o tampón de elución pueden comprender, además, uno o más ingredientes adicionales. Por ejemplo, un tampón de lisis, tampón de unión, tampón de lavado o 35 tampón de elución puede comprender una sustancia de bloqueo de proteínas que minimice la unión no específica, tal como albúmina de suero bovino, suero fetal bovino y otros. Un tampón de lisis, tampón de unión, tampón de lavado o tampón de elución puede comprender ácidos nucleicos adicionales (para incluir ADN o ARN) de un organismo diferente al del sujeto, como ADN bacteriano, ADN bacteriano, ADN de levadura, ARN de levadura, ácidos nucleicos de mamíferos, que incluyen ácidos nucleicos de primates, tales como ADN de humano o chimpancé, o ácidos nucleicos de no mamíferos, que incluyen ácidos nucleicos de peces como el ADN de arenque, caballa, kril o salmón, y otros.

40 Un tampón de lisis, tampón de unión, tampón de lavado o tampón de elución puede comprender una cantidad de uno o más disolventes orgánicos, por ejemplo, para optimizar la unión de un ácido nucleico a la matriz de estabilización. Dicho uno o más disolventes orgánicos pueden ser metanol, etanol, DMSO, DMF, dioxano, tetrahidrofurano, propanol, isopropanol, butanol, t-butanol o pentanol, acetona y otros. En algunos casos, un tampón de unión puede comprender 45 menos del 0,01 %, menos del 0,05 %, menos del 0,1 %, menos del 0,15 %, menos del 0,2 %, menos del 0,25 %, menos del 0,3 %, menos del 0,35 %, menos del 0,4 %, menos del 0,45 %, menos del 0,5 %, menos del 0,55 %, menos del 0,6 %, menos del 0,65 %, menos del 0,7 %, menos del 0,75 %, menos del 0,8 %, menos del 0,85 %, menos del 0,9 %, menos del 0,95 %, menos del 1 %, menos del 1,5 %, menos del 2 %, menos del 2,5 %, menos del 3 %, menos del 3,5 %, menos del 4 %, menos del 4,5 %, menos del 5 %, menos del 5,5 %, menos del 6 %, menos del 6,5 %, 50 menos del 7 %, menos del 7,5 %, menos del 8 %, menos del 8,5 %, menos del 9 %, menos del 9,5 %, menos del 10 %, menos del 11 %, menos del 12 %, menos del 13 %, menos del 14 %, menos del 15 %, menos del 16 %, menos del 17 %, menos del 18 %, menos del 19 %, menos del 20 %, menos del 25 %, menos del 30 %, menos del 35 %, menos del 40 %, menos del 45 %, menos del 50 %, menos del 55 %, menos del 60 %, menos del 65 %, menos del 70 %, menos del 75 %, menos del 80 %, menos del 85 %, menos del 90 %, menos del 95 %, menos del 99 % o el 55 100 % de un disolvente orgánico en volumen con respecto al volumen total de la solución. El disolvente orgánico puede estar a una concentración de, al menos, el 0,1 %, el 1 %, el 10 %, el 50 %, el 75 % o el 100 %. El disolvente orgánico puede estar a una concentración de aproximadamente el 0,1 %, el 1 %, el 10 %, el 50 %, el 75 % o el 100 %.

60 La matriz de estabilización o parte de la matriz de estabilización puede entrar en contacto con un volumen del tampón de unión a ácidos nucleicos, el tampón de lavado o el tampón de elución de menos de 5 µl, menos de 10 µl, menos de 15 µl, menos de 20 µl, menos de 25 µl, menos de 30 µl, menos de 35 µl, menos de 40 µl, menos de 45 µl, menos de 50 µl, menos de 55 µl, menos de 60 µl, menos de 65 µl, menos de 70 µl, menos de 75 µl, menos de 80 µl, menos de 85 µl, menos de 90 µl, menos de 95 µl, menos de 100 µl, menos de 110 µl, menos de 120 µl, menos de 130 µl, menos de 140 µl, menos de 150 µl, menos de 160 µl, menos de 170 µl, menos de 180 µl, menos de 190 µl, menos de 200 µl, menos de 250 µl, menos de 300 µl, menos de 350 µl, menos de 400 µl, menos de 450 µl, menos de 500 µl, 65 menos de 550 µl, menos de 600 µl, menos de 650 µl, menos de 700 µl, menos de 750 µl, menos de 800 µl, menos de

850 µl, menos de 900 µl, menos de 950 µl, menos de 1.000 µl, menos de 1,5 ml, menos de 2 ml, menos de 2,5 ml, menos de 3 ml, menos de 3,5 ml, menos de 4 ml, menos de 4,5 ml, menos de 5 ml, menos de 5,5 ml, menos de 6 ml, menos de 6,5 ml, menos de 7 ml, menos de 7,5 ml, menos de 8 ml, menos de 8,5 ml, menos de 9 ml, menos de 9,5 ml o menos de 10 ml. La matriz de estabilización o parte de la matriz de estabilización puede entrar en contacto con
 5 aproximadamente 0,1 ml, 0,2 ml, 0,5 ml, 0,7 ml, 1 ml, 2 ml, 5 ml, 7 ml o 10 ml de tampón. La matriz de estabilización o parte de la matriz de estabilización puede entrar en contacto con al menos 0,1 ml, 0,2 ml, 0,5 ml, 0,7 ml, 1 ml, 2 ml, 5 ml, 7 ml o 10 ml de tampón.

El volumen del tampón de unión, tampón de lavado o tampón de elución en contacto con la matriz de estabilización
 10 puede depender del área de superficie de la matriz de estabilización. La cantidad de tampón de unión, tampón de lavado o tampón de elución puede ser de menos de 1 µl/mm², menos de 2 µl/mm², menos de 3 µl/mm², menos de 4 µl/mm², menos de 5 µl/mm², menos de 6 µl/mm², menos de 7 µl/mm², menos de 8 µl/mm², menos de 9 µl/mm², menos de 10 µl/mm², menos de 12 µl/mm², menos de 14 µl/mm², menos de 16 µl/mm², menos de 18 µl/mm², menos de 20 µl/mm², menos de 25 µl/mm², menos de 30 µl/mm², menos de 35 µl/mm², menos de 40 µl/mm², menos de
 15 45 µl/mm², menos de 50 µl/mm², menos de 55 µl/mm², menos de 60 µl/mm², menos de 65 µl/mm², menos de 70 µl/mm², menos de 75 µl/mm², menos de 80 µl/mm², menos de 85 µl/mm², menos de 90 µl/mm², menos de 95 µl/mm², menos de 100 µl/mm², menos de 150 µl/mm², menos de 200 µl/mm², menos de 250 µl/mm², menos de 300 µl/mm², menos de 350 µl/mm², menos de 400 µl/mm², menos de 450 µl/mm², menos de 500 µl/mm², menos de 550 µl/mm², menos de 600 µl/mm², menos de 650 µl/mm², menos de 700 µl/mm², menos de 750 µl/mm², menos de
 20 800 µl/mm², menos de 850 µl/mm², menos de 900 µl/mm², menos de 950 µl/mm² o de menos de 1.000 µl/mm². En algunos casos, la cantidad de tampón de unión, tampón de lavado o tampón de elución puede ser de aproximadamente 10 µl/mm² a aproximadamente 1.000 µl/mm², de aproximadamente 10 µl/mm² a aproximadamente 900 µl/mm², de aproximadamente 10 µl/mm² a aproximadamente 800 µl/mm², de aproximadamente 10 µl/mm² a aproximadamente 700 µl/mm², de aproximadamente 10 µl/mm² a aproximadamente 600 µl/mm², de aproximadamente 10 µl/mm² a aproximadamente
 25 500 µl/mm², de aproximadamente 10 µl/mm² a aproximadamente 400 µl/mm², de aproximadamente 10 µl/mm² a aproximadamente 300 µl/mm², de aproximadamente 10 µl/mm² a aproximadamente 200 µl/mm², de aproximadamente 10 µl/mm² a aproximadamente 100 µl/mm², de aproximadamente 10 µl/mm² a aproximadamente 90 µl/mm², de aproximadamente 10 µl/mm² a aproximadamente 80 µl/mm², de aproximadamente 10 µl/mm² a aproximadamente
 30 70 µl/mm², de aproximadamente 10 µl/mm² a aproximadamente 60 µl/mm², de aproximadamente 10 µl/mm² a aproximadamente 50 µl/mm², de aproximadamente 10 µl/mm² a aproximadamente 40 µl/mm², de aproximadamente 10 µl/mm² a aproximadamente 30 µl/mm² o de aproximadamente 10 µl/mm² a aproximadamente 20 µl/mm².

La lisis, unión, lavado o elución del ácido nucleico se pueden realizar en presencia o ausencia de agitación desde una
 35 fuente de agitación. Una fuente de agitación puede ser un balancín, mezclador de vórtice, mezcladora, agitador y otros. En algunos casos, una fuente de agitación puede configurarse a una velocidad constante. La velocidad puede ser de menos de 1 rotación por minuto (rpm), menos de 5 rpm, menos de 10 rpm, menos de 15 rpm, menos de 20 rpm, menos de 25 rpm, menos de 30 rpm, menos de 35 rpm, menos de 40 rpm, menos de 45 rpm, menos de 50 rpm, menos de 55 rpm, menos de 60 rpm, menos de 65 rpm, menos de 70 rpm, menos de 75 rpm, menos de 80 rpm, menos de
 40 85 rpm, menos de 90 rpm, menos de 95 rpm, menos de 100 rpm, menos de 150 rpm, menos de 200 rpm, menos de 250 rpm, menos de 300 rpm, menos de 350 rpm, menos de 400 rpm, menos de 450 rpm, menos de 500 rpm, menos de 550 rpm, menos de 600 rpm, menos de 650 rpm, menos de 700 rpm, menos de 750 rpm, menos de 800 rpm, menos de 850 rpm, menos de 900 rpm, menos de 950 rpm, menos de 1.000 rpm, menos de 1.500 rpm, menos de 2.000 rpm, menos de 2.500 rpm, menos de 3.000 rpm, menos de 3.500 rpm, menos de 4.000 rpm, menos de 4.500 rpm, menos de
 45 5.000 rpm, menos de 5.500 rpm, menos de 6.000 rpm, menos de 6.500 rpm, menos de 7.000 rpm, menos de 7.500 rpm, menos de 8.000 rpm, menos de 8.500 rpm, menos de 9.000 rpm, menos de 9.500 rpm o de menos de 10.000 rpm. La velocidad puede ser de aproximadamente 50 rpm, 100 rpm, 200 rpm, 300 rpm, 400 rpm, 500 rpm, 600 rpm, 700 rpm, 800 rpm, 900 rpm, 1.000 rpm, 1.500 rpm o 5.000 rpm. La velocidad puede ser de al menos 50 rpm, 100 rpm, 200 rpm, 300 rpm, 400 rpm, 500 rpm, 600 rpm, 700 rpm, 800 rpm, 900 rpm, 1.000 rpm, 1.500 rpm o
 50 5.000 rpm.

La unión, lavado o elución se puede realizar a una temperatura de aproximadamente 0 °C, de menos de 1 °C, de menos de 2 °C, de menos de 3 °C, de menos de 4 °C, de menos de 5 °C, de menos de 6 °C, de menos de 7 °C, de menos de 8 °C, de menos de 9 °C, de menos de 10 °C, de menos de 11 °C, de menos de 12 °C, de menos de 13 °C,
 55 de menos de 14 °C, de menos de 15 °C, de menos de 16 °C, de menos de 17 °C, de menos de 18 °C, de menos de 19 °C, de menos de 20 °C, de menos de 21 °C, de menos de 22 °C, de menos de 23 °C, de menos de 24 °C, de menos de 25 °C, de menos de 26 °C, de menos de 27 °C, de menos de 28 °C, de menos de 29 °C, de menos de 30 °C, de menos de 31 °C, de menos de 32 °C, de menos de 33 °C, de menos de 34 °C, de menos de 35 °C, de menos de 36 °C, de menos de 37 °C, de menos de 38 °C, de menos de 39 °C, de menos de 40 °C, de menos de 45 °C, de menos de 50 °C, de menos de 55 °C, de menos de 60 °C, de menos de 65 °C, de menos de 70 °C, de menos de 75 °C, de menos de 80 °C, de menos de 85 °C, de menos de 90 °C, de menos de 95 °C o de aproximadamente 100 °C. En algunos casos, la unión, el lavado o elución se puede realizar a una temperatura de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 100 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 95 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 90 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 85 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente
 60 80 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 75 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 70 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 65 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 60 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 55 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 50 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 45 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 40 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 35 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 30 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 25 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 20 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 15 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 10 °C o de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 5 °C.
 65

aproximadamente 60 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 55 °C o de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 50 °C. En algunos casos, la lisis, unión, lavado o elución se puede realizar a una temperatura de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 50 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 48 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 46 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 44 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 42 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 40 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 38 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 36 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 34 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 32 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 30 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 28 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 26 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 24 °C o de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 22 °C. La temperatura puede ser de aproximadamente 10 °C, 20 °C, 25 °C, 30 °C, 37 °C, 50 °C o 65 °C.

La lisis, unión, lavado o elución puede llevarse a cabo durante menos de 1, menos de 5, menos de 10, menos de 15, menos de 20, menos de 25, menos de 30, menos de 35, menos de 40, menos de 45, menos de 50, menos de 55 o menos de 60 minutos. La unión, lavado o elución puede llevarse a cabo durante menos de 0,5, menos de 1, menos de 1,5, menos de 2, menos de 2,5, menos de 3, menos de 3,5, menos de 4, menos de 4,5, menos de 5, menos de 5,5, menos de 6, menos de 6,5, menos de 7, menos de 7,5, menos de 8, menos de 8,5, menos de 9, menos de 9,5, menos de 10, menos de 10,5, menos de 11, menos de 11,5 o menos de 12 horas, menos de 18 horas, menos de 1 día, menos de 1,5 días, menos de 2 días, menos de 2,5 días, menos de 3 días, menos de 3,5 días, menos de 4 días, menos de 4,5 días, menos de 5 días, menos de 5,5 días, menos de 6 días, menos de 6,5 días o menos de 7 días. La lisis, unión, lavado o elución puede llevarse a cabo durante aproximadamente 0,25 horas, 0,5 horas, 1 hora, 2 horas, 5 horas, 10 horas, 12 horas, 18 horas, 24 horas, 3 días o 1 semana o más. La lisis, unión, lavado o elución puede llevarse a cabo durante al menos 0,25 horas, 0,5 horas, 1 hora, 2 horas, 5 horas, 10 horas, 12 horas, 18 horas, 24 horas, 3 días o 1 semana.

El ácido nucleico eluido puede transferirse a un depósito para su almacenamiento o procesamiento posterior, o puede transferirse a un recipiente de ensayo para su caracterización.

Elución de proteínas

Las proteínas se pueden eluir de una matriz, por ejemplo, una matriz descrita en el presente documento. Una muestra, por ejemplo, una muestra biológica, se puede estabilizar sobre una matriz de estabilización capaz de estabilizar una proteína, por ejemplo, como se describe en este documento, antes de la elución. La elución puede comprender que la matriz de estabilización entre en contacto con un tampón de elución. El contacto puede comprender incubar (por ejemplo, con agitación) la matriz de estabilización en el tampón de elución para eluir la proteína de la matriz de estabilización. Antes de la elución, la matriz de estabilización puede entrar en contacto con un tampón de unión o lavado.

La elución se puede llevar a cabo sobre al menos una parte de la matriz de estabilización que comprende una muestra, por ejemplo, una muestra biológica seca. En algunos casos, una parte de la matriz de estabilización se puede separar del resto de la matriz de estabilización y utilizarse para su procesamiento posterior. En algunos casos, la parte es de más del 5 %, del 15 %, del 25 %, del 35 %, del 45 %, del 55 %, del 65 %, del 75 %, del 85 % o del 95 % de la matriz de estabilización. En algunos casos, la parte es de menos del 5 %, del 15 %, del 25 %, del 35 %, del 45 %, del 55 %, del 65 %, del 75 %, del 85 % o del 95 % de la matriz de estabilización. Una parte de la matriz de estabilización puede perforarse de la matriz de estabilización y se pueden eluir las proteínas de esta parte separada. La parte separada para su procesamiento posterior puede comprender el 100 %, o aproximadamente el 90 %, el 80 %, el 70 %, el 60 %, el 50 % o menos de una muestra que se aplicó en la matriz. Las perforaciones pueden ser de aproximadamente 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, o 60 mm de diámetro. Las perforaciones pueden ser como máximo de 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, o 60 mm de diámetro. Las perforaciones pueden ser de aproximadamente 10 a aproximadamente 60, de aproximadamente 10 a aproximadamente 60, de aproximadamente 10 a aproximadamente 60, de aproximadamente 10 a aproximadamente 30, de aproximadamente 10 a aproximadamente 20, de aproximadamente 1 a aproximadamente 10, de aproximadamente 2 a aproximadamente 9, de aproximadamente 3 a aproximadamente 8, de aproximadamente 4 a aproximadamente 7, de aproximadamente 3 a aproximadamente 6, de aproximadamente 4 a aproximadamente 5, de aproximadamente 1 a aproximadamente 4, de aproximadamente 1 a aproximadamente 3, de aproximadamente 0 de aproximadamente 1 a aproximadamente 2 mm de diámetro. En algunos casos, una matriz de estabilización que comprende proteína no se separa en partes antes de eluir el ácido nucleico de la matriz de estabilización.

La proteína se puede eluir de la matriz de estabilización o de una parte de la matriz de estabilización al entrar en contacto la matriz de estabilización o una parte de la matriz de estabilización con un tampón de elución apropiado. El tampón de elución puede comprender una o más sustancias tamponadoras, uno o más tensioactivos, uno o más polioles, una o más sales, una o más sustancias de bloqueo, una o más sustancias reductoras, uno o más disolventes orgánicos, una o más sustancias quelantes, una o más sales, por ejemplo, descritas en el presente documento, o cualquier combinación de estos. Por ejemplo, el tampón de elución puede comprender uno o más tampones y uno o más polioles. El tampón de elución puede comprender uno o más tampones y uno o más tensioactivos. El tampón de elución puede comprender uno o más tampones y una o más sales. El tampón de elución puede comprender uno o

más tampones y una o más sustancias reductoras. El tampón de elución puede comprender uno o más tampones, uno o más tensioactivos y uno o más polioles. El tampón de elución puede comprender uno o más tampones, uno o más tensioactivos y una o más sales. El tampón de elución puede comprender uno o más tampones, una o más sales y una o más sustancias reductoras. El tampón de elución puede comprender uno o más tampones, uno o más tensioactivos y una o más sustancias quelantes. El tampón de elución puede comprender uno o más tampones, una o más sales, una o más sustancias reductoras, una o más sustancias quelantes, uno o más tensioactivos y uno o más polioles.

Dicha una o más sustancias tamponadoras pueden ser, por ejemplo, solución salina, citrato, fosfato, solución salina tamponada con fosfato (PBS), acetato, glicina, (tris) clorhidrato de tris(hidroximetil)aminometano, solución salina tamponada con tris (TBS), ácido 3-[[1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)propan-2-il]amino]propano-1-sulfónico (TAPS), bicina, tricina, ácido 3-[[1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)propan-2-il]amino]-2-hidroxi-propano-1-sulfónico (TAPSO), ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinetanosulfónico (HEPES), ácido piperazin-N,N'-bis(2-etanosulfónico) (PIPES), ácido 3-(N-morfolino)propanosulfónico (MOPS), ácido 2-(N-morfolino)etanosulfónico (MES), ácido 2-[[1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)propan-2-il]amino]etanosulfónico (TES), cacodilato, glicina, carbonato o cualquier combinación de estos. La sustancia tamponadora puede estar presente a una concentración de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 500, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 400 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 300 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 200 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 100 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 50 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 25 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 20 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 15 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 10 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 5 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 4 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 3 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 2 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 1 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 0,9 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 0,8 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 0,7 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 0,6 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 0,5 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 0,4 mM, de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 0,3 mM o de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 0,2 mM. La sustancia tamponadora puede estar presente a una concentración de menos de 500 mM, de menos de 400 mM, de menos de 300 mM, de menos de 200 mM, de menos de 100 mM, de menos de 50 mM, de menos de 25 mM, de menos de 20 mM, de menos de 15 mM, de menos de 10 mM, de menos de 5 mM, de menos de 4 mM, de menos de 3 mM, de menos de 2 mM, de menos de 1 mM, de menos de 0,9 mM, de menos de 0,8 mM, de menos de 0,7 mM, de menos de 0,6 mM, de menos de 0,5 mM, de menos de 0,4 mM, de menos de 0,3 mM, de menos de 0,2 mM o de menos de 0,1 mM. La sustancia tamponadora puede estar presente a aproximadamente 0,1 mM, 1 mM, 10 mM, 25 mM o 50 mM. La sustancia tamponadora puede estar presente a al menos 0,1 mM, 1 mM, 10 mM, 25 mM o 50 mM.

Uno o más tensioactivos pueden ser, por ejemplo, de tipo aniónico, catiónico, no iónico o anfotérico. Dicho uno o más tensioactivos pueden ser, por ejemplo, alcohol polietoxilado; polioxietilen sorbitano; octoxinol, como Triton X 100™ (polietilen glicol p-(1,1,3,3-tetrametilbutil)-fenil éter); polisorbatos como Tween™ 20 (por ejemplo, polisorbato 20) o Tween™ 80 (polisorbato 80); dodecil sulfato sódico; lauril sulfato sódico; nonilfenol etoxilato, como Tergitol™; ciclodextrinas; o cualquier combinación de estos. Cada uno de dicho uno o más tensioactivos puede estar presente a una concentración de menos del 0,001 %, menos del 0,005 %, menos del 0,01 %, menos del 0,015 %, menos del 0,02 %, menos del 0,025 %, menos del 0,03 %, menos del 0,035 %, menos del 0,04 %, menos del 0,045 %, menos del 0,05 %, menos del 0,055 %, menos del 0,06 %, menos del 0,065 %, menos del 0,07 %, menos del 0,075 %, menos del 0,08 %, menos del 0,085 %, menos del 0,09 %, menos del 0,095 %, menos del 0,1 %, menos del 0,15 %, menos del 0,2 %, menos del 0,25 %, menos del 0,3 %, menos del 0,35 %, menos del 0,4 %, menos del 0,45 %, menos del 0,5 %, menos del 0,55 %, menos del 0,6 %, menos del 0,65 %, menos del 0,7 %, menos del 0,75 %, menos del 0,8 %, menos del 0,85 %, menos del 0,9 %, menos del 0,95 %, menos del 0,1 %, menos del 1 %, menos del 2 %, menos del 3 % o en volumen con respecto al volumen total del tampón de elución. Dicho uno o más tensioactivos pueden estar presentes a una concentración de aproximadamente el 0,01 %, el 0,05 %, el 0,1 %, el 0,5 %, el 1 %, el 5 % o el 10 %. Dicho uno o más tensioactivos pueden estar presentes a una concentración de al menos el 0,01 %, el 0,05 %, el 0,1 %, el 0,5 %, el 1 %, el 5 % o el 10 %. Dicho uno o más tensioactivos pueden estar presentes a una concentración de aproximadamente el 0,01 % al 1 %, de aproximadamente el 0,05 % al 1 %, de aproximadamente el 0,1 % al 1 %, de aproximadamente el 0,15 % al 1 %, de aproximadamente el 0,2 % al 1 %, de aproximadamente el 0,25 % al 1 %, de aproximadamente el 0,3 % al 1 %, de aproximadamente el 0,35 % al 1 %, de aproximadamente el 0,4 % al 1 %, de aproximadamente el 0,45 % al 1 %, de aproximadamente el 0,5 % al 1 %, de aproximadamente el 0,55 % al 1 %, de aproximadamente el 0,6 % al 1 %, de aproximadamente el 0,65 % al 1 %, de aproximadamente el 0,7 % al 1 %, de aproximadamente el 0,75 % al 1 %, de aproximadamente el 0,8 % al 1 %, de aproximadamente el 0,85 % al 1 %, de aproximadamente el 0,9 % al 1 % o de aproximadamente el 0,95 % al 1 %.

El tampón de elución puede ser una solución acuosa con un pH de aproximadamente 2 a aproximadamente 10, de aproximadamente 2 a aproximadamente 9, de aproximadamente 2 a aproximadamente 8, de aproximadamente 2 a aproximadamente 7, de aproximadamente 2 a aproximadamente 6, de aproximadamente 2 a aproximadamente 5, de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 o de aproximadamente 2 a aproximadamente 3. El tampón de elución puede ser una solución acuosa con un pH de aproximadamente 6 a aproximadamente 8, de aproximadamente 6 a aproximadamente 7,9, de aproximadamente 6 a aproximadamente 7,8, de aproximadamente 6 a aproximadamente

7,7, de aproximadamente 6 a aproximadamente 7,6, de aproximadamente 6 a aproximadamente 7,5, de aproximadamente 6 a aproximadamente 7,4, de aproximadamente 6 a aproximadamente 7,3, de aproximadamente 6 a aproximadamente 7,2, de aproximadamente 6 a aproximadamente 7,1, de aproximadamente 6 a aproximadamente 7, de aproximadamente 6 a aproximadamente 6,9, de aproximadamente 6 a aproximadamente 6,8, de aproximadamente 6 a aproximadamente 6,7, de aproximadamente 6 a aproximadamente 6,6, de aproximadamente 6 a aproximadamente 6,5, de aproximadamente 6 a aproximadamente 6,4, de aproximadamente 6 a aproximadamente 6,3, de aproximadamente 6 a aproximadamente 6,2 o de aproximadamente 6 a aproximadamente 6,1. El tampón de elución puede ser una solución acuosa con un pH de al menos aproximadamente 3, al menos aproximadamente 4, al menos aproximadamente 5, al menos aproximadamente 6, al menos aproximadamente 7, al menos aproximadamente 8, al menos aproximadamente 9 o al menos aproximadamente 10. El pH puede ser de aproximadamente 6, 6,5, 7, 7,5, 8 u 8,5.

En algunos casos, dicho uno o más polioles pueden ser un glicol, tal como etilenglicol o propilenglicol, o un polímero glicol, tal como polietilenglicol (PEG) de varios pesos, tal como PEG300, PEG400, PEG600, PEG1000, PEG3000 y PEG6000. En algunos casos, dicho uno o más polioles pueden ser azúcar. En algunos casos, el azúcar puede ser sacarosa, glucosa, fructosa, trehalosa, maltosa, galactosa, lactosa o cualquier combinación de estos. En algunos casos, dicho uno o más polioles pueden ser alcohol de azúcar. En algunos casos, el alcohol de azúcar puede ser glicerol, eritritol, treitol, xilitol, sorbitol y otros.

Dicha una o más sales pueden ser cloruro sódico, acetato sódico, bicarbonato sódico, bisulfato sódico, bromuro sódico, cloruro de potasio, acetato de potasio, bicarbonato de potasio, bisulfato de potasio, bromato de potasio, bromuro de potasio o carbonato de potasio. Dicha una o más sales pueden estar a una concentración de aproximadamente 0,1 mM, 5 mM, 10 mM, 25 mM, 50 mM, 100 mM, 250 mM, 500 mM o 750 mM. Dicha una o más sales pueden estar a una concentración de menos de 0,1 mM, 5 mM, 10 mM, 25 mM, 50 mM, 100 mM, 250 mM, 500 mM o 750 mM. Dicha una o más sales pueden estar a una concentración de al menos 0,1 mM, 5 mM, 10 mM, 25 mM, 50 mM, 100 mM, 250 mM, 500 mM, 750 mM o 1.000 mM.

Dicha una o más sustancias de bloqueo pueden ser albúmina de suero bovino, suero fetal bovino y otros.

Dicho uno o más disolventes orgánicos pueden ser, por ejemplo, metanol, etanol, DMSO, DMF, dioxano, tetrahidrofurano, propanol, isopropanol, butanol, t-butanol o pentanol, acetona y otros. El tampón de elución puede comprender menos del 0,01 %, menos del 0,05 %, menos del 0,1 %, menos del 0,15 %, menos del 0,2 %, menos del 0,25 %, menos del 0,3 %, menos del 0,35 %, menos del 0,4 %, menos del 0,45 %, menos del 0,5 %, menos del 0,55 %, menos del 0,6 %, menos del 0,65 %, menos del 0,7 %, menos del 0,75 %, menos del 0,8 %, menos del 0,85 %, menos del 0,9 %, menos del 0,95 %, menos del 1 %, menos del 1,5 %, menos del 2 %, menos del 2,5 %, menos del 3 %, menos del 3,5 %, menos del 4 %, menos del 4,5 %, menos del 5 %, menos del 5,5 %, menos del 6 %, menos del 6,5 %, menos del 7 %, menos del 7,5 %, menos del 8 %, menos del 8,5 %, menos del 9 %, menos del 9,5 %, menos del 10 %, menos del 11 %, menos del 12 %, menos del 13 %, menos del 14 %, menos del 15 %, menos del 16 %, menos del 17 %, menos del 18 %, menos del 19 %, menos del 20 %, menos del 25 %, menos del 30 %, menos del 35 %, menos del 40 %, menos del 45 %, menos del 50 %, menos del 55 %, menos del 60 %, menos del 65 %, menos del 70 %, menos del 75 %, menos del 80 %, menos del 85 %, menos del 90 %, menos del 95 %, menos del 99 % o el 100 % de un disolvente orgánico en volumen con respecto al volumen total de la solución. La concentración de dicho uno o más disolventes orgánicos en el tampón de elución puede ser de al menos el 1 %, el 5 %, el 10 %, el 50 %, el 75 % o el 100 %. La concentración de dicho uno o más disolventes orgánicos en el tampón de elución puede ser de aproximadamente el 1 %, el 5 %, el 10 %, el 50 %, el 75 % o el 100 %.

La matriz de estabilización o parte de la matriz de estabilización puede entrar en contacto con un volumen del tampón de elución de aproximadamente, o menos de 5 μ l, menos de 10 μ l, menos de 15 μ l, menos de 20 μ l, menos de 25 μ l, menos de 30 μ l, menos de 35 μ l, menos de 40 μ l, menos de 45 μ l, menos de 50 μ l, menos de 55 μ l, menos de 60 μ l, menos de 65 μ l, menos de 70 μ l, menos de 75 μ l, menos de 80 μ l, menos de 85 μ l, menos de 90 μ l, menos de 95 μ l, menos de 100 μ l, menos de 110 μ l, menos de 120 μ l, menos de 130 μ l, menos de 140 μ l, menos de 150 μ l, menos de 160 μ l, menos de 170 μ l, menos de 180 μ l, menos de 190 μ l, menos de 200 μ l, menos de 250 μ l, menos de 300 μ l, menos de 350 μ l, menos de 400 μ l, menos de 450 μ l, menos de 500 μ l, menos de 550 μ l, menos de 600 μ l, menos de 650 μ l, menos de 700 μ l, menos de 750 μ l, menos de 800 μ l, menos de 850 μ l, menos de 900 μ l, menos de 950 μ l, menos de 1.000 μ l, menos de 1,5 ml, menos de 2 ml, menos de 2,5 ml, menos de 3 ml, menos de 3,5 ml, menos de 4 ml, menos de 4,5 ml, menos de 5 ml, menos de 5,5 ml, menos de 6 ml, menos de 6,5 ml, menos de 7 ml, menos de 7,5 ml, menos de 8 ml, menos de 8,5 ml, menos de 9 ml, menos de 9,5 ml o menos de 10 ml. La matriz de estabilización o parte de la matriz de estabilización puede entrar en contacto con aproximadamente 0,1 ml, 0,2 ml, 0,5 ml, 0,7 ml, 1 ml, 2 ml, 5 ml, 7 ml o 10 ml o más del tampón de elución. La matriz de estabilización o parte de la matriz de estabilización puede entrar en contacto con al menos 0,1 ml, 0,2 ml, 0,5 ml, 0,7 ml, 1 ml, 2 ml, 5 ml, 7 ml o 10 ml del tampón de elución.

El volumen de elución en contacto con la matriz de estabilización puede depender del área de superficie de la matriz de estabilización. La cantidad de tampón de elución puede ser de menos de 1 μ l/mm², menos de 2 μ l/mm², menos de 3 μ l/mm², menos de 4 μ l/mm², menos de 5 μ l/mm², menos de 6 μ l/mm², menos de 7 μ l/mm², menos de 8 μ l/mm², menos de 9 μ l/mm², menos de 10 μ l/mm², menos de 12 μ l/mm², menos de 14 μ l/mm², menos de 16 μ l/mm², menos

de 18 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 20 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 25 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 30 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 35 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 40 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 45 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 50 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 55 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 60 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 65 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 70 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 75 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 80 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 85 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 90 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 95 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 100 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 150 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 200 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 250 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 300 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 350 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 400 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 450 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 500 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 550 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 600 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 650 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 700 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 750 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 800 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 850 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 900 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, menos de 950 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$ o de menos de 1.000 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$. En algunos casos, la cantidad de tampón de elución puede ser de aproximadamente 10 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$ a aproximadamente 1.000 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, de aproximadamente 10 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$ a aproximadamente 900 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, de aproximadamente 10 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$ a aproximadamente 800 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, de aproximadamente 10 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$ a aproximadamente 700 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, de aproximadamente 10 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$ a aproximadamente 600 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, de aproximadamente 10 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$ a aproximadamente 500 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, de aproximadamente 10 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$ a aproximadamente 400 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, de aproximadamente 10 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$ a aproximadamente 300 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, de aproximadamente 10 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$ a aproximadamente 200 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, de aproximadamente 10 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$ a aproximadamente 100 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, de aproximadamente 10 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$ a aproximadamente 90 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, de aproximadamente 10 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$ a aproximadamente 80 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, de aproximadamente 10 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$ a aproximadamente 70 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, de aproximadamente 10 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$ a aproximadamente 60 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, de aproximadamente 10 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$ a aproximadamente 50 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, de aproximadamente 10 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$ a aproximadamente 40 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$, de aproximadamente 10 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$ a aproximadamente 30 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$ o de aproximadamente 10 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$ a aproximadamente 20 $\mu\text{l}/\text{mm}^2$.

La proteína puede eluirse de la matriz de estabilización incubando la matriz de estabilización en el tampón de elución en presencia o ausencia de agitación procedente de una fuente de agitación. Una fuente de agitación puede ser un balancín, mezclador de vórtice, mezcladora, agitador y otros. En algunos casos, una fuente de agitación puede configurarse a una velocidad constante. La velocidad puede ser de menos de 1 rotación por minuto (rpm), menos de 5 rpm, menos de 10 rpm, menos de 15 rpm, menos de 20 rpm, menos de 25 rpm, menos de 30 rpm, menos de 35 rpm, menos de 40 rpm, menos de 45 rpm, menos de 50 rpm, menos de 55 rpm, menos de 60 rpm, menos de 65 rpm, menos de 70 rpm, menos de 75 rpm, menos de 80 rpm, menos de 85 rpm, menos de 90 rpm, menos de 95 rpm, menos de 100 rpm, menos de 150 rpm, menos de 200 rpm, menos de 250 rpm, menos de 300 rpm, menos de 350 rpm, menos de 400 rpm, menos de 450 rpm, menos de 500 rpm, menos de 550 rpm, menos de 600 rpm, menos de 650 rpm, menos de 700 rpm, menos de 750 rpm, menos de 800 rpm, menos de 850 rpm, menos de 900 rpm, menos de 950 rpm, menos de 1.000 rpm, menos de 1.500 rpm, menos de 2.000 rpm, menos de 2.500 rpm, menos de 3.000 rpm, menos de 3.500 rpm, menos de 4.000 rpm, menos de 4.500 rpm, menos de 5.000 rpm, menos de 5.500 rpm, menos de 6.000 rpm, menos de 6.500 rpm, menos de 7.000 rpm, menos de 7.500 rpm, menos de 8.000 rpm, menos de 8.500 rpm, menos de 9.000 rpm, menos de 9.500 rpm o de menos de 10.000 rpm. La velocidad puede ser de aproximadamente 50 rpm, 100 rpm, 200 rpm, 300 rpm, 400 rpm, 500 rpm, 600 rpm, 700 rpm, 800 rpm, 900 rpm, 1.000 rpm, 1.500 rpm o 5.000 rpm. La velocidad puede ser de al menos 50 rpm, 100 rpm, 200 rpm, 300 rpm, 400 rpm, 500 rpm, 600 rpm, 700 rpm, 800 rpm, 900 rpm, 1.000 rpm, 1.500 rpm o 5.000 rpm.

La elución se puede realizar a una temperatura de aproximadamente 0 °C, de menos de 1 °C, de menos de 2 °C, de menos de 3 °C, de menos de 4 °C, de menos de 5 °C, de menos de 6 °C, de menos de 7 °C, de menos de 8 °C, de menos de 9 °C, de menos de 10 °C, de menos de 11 °C, de menos de 12 °C, de menos de 13 °C, de menos de 14 °C, de menos de 15 °C, de menos de 16 °C, de menos de 17 °C, de menos de 18 °C, de menos de 19 °C, de menos de 20 °C, de menos de 21 °C, de menos de 22 °C, de menos de 23 °C, de menos de 24 °C, de menos de 25 °C, de menos de 26 °C, de menos de 27 °C, de menos de 28 °C, de menos de 29 °C, de menos de 30 °C, de menos de 31 °C, de menos de 32 °C, de menos de 33 °C, de menos de 34 °C, de menos de 35 °C, de menos de 36 °C, de menos de 37 °C, de menos de 38 °C, de menos de 39 °C, de menos de 40 °C, de menos de 45 °C, de menos de 50 °C, de menos de 55 °C, de menos de 60 °C, de menos de 65 °C, de menos de 70 °C, de menos de 75 °C, de menos de 80 °C, de menos de 85 °C, de menos de 90 °C, de menos de 95 °C o de aproximadamente 100 °C. La elución se puede llevar a cabo a una temperatura de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 100 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 95 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 90 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 85 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 80 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 75 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 70 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 65 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 60 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 55 °C, de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 50 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 50 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 48 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 46 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 44 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 42 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 40 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 38 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 36 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 34 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 32 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 30 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 28 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 26 °C, de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 24 °C o de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 22 °C. La elución se puede realizar a aproximadamente 10 °C, 20 °C, 25 °C, 30 °C, 37 °C, 50 °C o 65 °C.

La elución (por ejemplo, agitación) puede llevarse a cabo durante menos de 1, menos de 5, menos de 10, menos de 15, menos de 20, menos de 25, menos de 30, menos de 35, menos de 40, menos de 45, menos de 50, menos de 55

o menos de 60 minutos. La elución puede llevarse a cabo durante menos de 0,5, menos de 1, menos de 1,5, menos de 2, menos de 2,5, menos de 3, menos de 3,5, menos de 4, menos de 4,5, menos de 5, menos de 5,5, menos de 6, menos de 6,5, menos de 7, menos de 7,5, menos de 8, menos de 8,5, menos de 9, menos de 9,5, menos de 10, menos de 10,5, menos de 11, menos de 11,5 o menos de 12 horas. La elución puede llevarse a cabo durante menos de 0,1 días, menos de 0,2 días, menos de 0,3 días, menos de 0,4 días, menos de 0,5 días, menos de 0,6 días, menos de 0,7 días, menos de 0,8 días, menos de 0,9 días, menos de 1 día, menos de 1,5 días, menos de 2 días, menos de 2,5 días, menos de 3 días, menos de 3,5 días, menos de 4 días, menos de 4,5 días, menos de 5 días, menos de 5,5 días, menos de 6 días, menos de 6,5 días o menos de 7 días. La elución (por ejemplo, la agitación) se puede llevar a cabo durante aproximadamente 0,25 horas, 0,5 horas, 1 hora, 2 horas, 5 horas, 10 horas, 12 horas, 18 horas, 24 horas, 3 días o 1 semana. La elución (por ejemplo, la agitación) se puede llevar a cabo durante al menos 0,25 horas, 0,5 horas, 1 hora, 2 horas, 5 horas, 10 horas, 12 horas, 18 horas, 24 horas, 3 días o 1 semana. La Tabla 1 enumera los ejemplos de tampones de elución de proteínas.

Tabla 1: Ejemplos de tampones de elución de proteínas

Tampón 1	TBS		0,1 % Triton X-100	10 mM de DTT	0,5 mM de EDTA
Tampón 2	TBS		0,1 % Triton X-100		
Tampón 3	TBS				0,5 mM de EDTA
Tampón 4	TBS			10 mM de DTT	
Tampón 5	25 mM de tris pH 7,0	100 mM de KCl	0,1 % Triton X-100		
Tampón 6	25 mM de tris pH 7,5	50 mM de NaCl		10 mM de DTT	0,5 mM de EDTA
Tampón 7	25 mM de tris pH 7,6		0,1 % Triton X-100		
Tampón 8	25 mM de tris pH 8,0			10 mM de DTT	
Tampón 9	25 mM de HEPES	100 mM de KCl	0,05 % Tween 20		
Tampón 10	25 mM de HEPES	50 mM de NaCl			
Tampón 11	10 mM de HEPES		0,1 % Tween 80		
Tampón 12	10 mM de HEPES				
Tampón 13	PBS		0,05 % Tween 20		
Tampón 14	PBS			10 mM de DTT	
Tampón 15	PBS				0,5 mM de EDTA
Tampón 16	PBS		0,1 % Tween 80		
Tampón 17	50 mM de tris pH 7,5	25 mM de KCl	0,05 % Tween 20		
Tampón 18	50 mM de tris pH 7,0	25 mM de KCl	0,1 % Tween 80		
Tampón 19	50 mM de tris pH 8,0	100 mM de NaCl			0,5 mM de EDTA
Tampón 20	50 mM de tris pH 8,5	150 mM de NaCl			

La proteína eluida puede transferirse a un depósito para su almacenamiento o procesamiento posterior, o puede transferirse a un recipiente de ensayo para su caracterización.

Uso de matrices

Una muestra se puede aplicar en una matriz (por ejemplo, una capa). Una muestra se puede aplicar en una matriz superior y, al menos, parte de la muestra puede entrar en contacto con una segunda matriz, por ejemplo, una segunda matriz por debajo de la matriz superior. Las matrices pueden estar apiladas, por ejemplo, con aproximadamente o al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 50 o 100 capas. La pila puede comprender la misma matriz, por ejemplo, cada matriz de la pila puede tener la misma composición. La pila puede comprender matrices con distintas composiciones, por ejemplo, una matriz configurada para estabilizar un ácido nucleico puede estar en la parte superior de una matriz configurada para estabilizar la proteína, o viceversa. Los tipos de matrices de la pila pueden estar alternados; por ejemplo, una matriz configurada para estabilizar una proteína, una matriz configurada para estabilizar un ácido nucleico, después una matriz configurada para estabilizar una proteína, etc. El volumen aplicado en la matriz superior puede pasar a través de, al menos, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 capas de matrices. El uso de varias matrices puede aumentar la eficacia de recogida de una biomolécula deseada, por ejemplo, un ácido nucleico o polipéptido.

Una muestra puede pasar a través de una pluralidad de matrices, pero las matrices no están en contacto entre sí. Por ejemplo, una muestra se puede aplicar en una matriz configurada para estabilizar un ácido nucleico, el ácido nucleico se puede eluir de la matriz configurada para estabilizar el ácido nucleico y aplicarse en una matriz configurada para estabilizar una proteína. La matriz configurada para estabilizar la proteína se puede utilizar, por ejemplo, para eliminar contaminantes, por ejemplo, contaminantes proteicos del ácido nucleico. Una muestra se puede aplicar en una matriz configurada para estabilizar una proteína, y la proteína puede eluirse de la matriz configurada para estabilizar la proteína y aplicarse en una matriz configurada para estabilizar un ácido nucleico. La matriz configurada para estabilizar el ácido nucleico se puede utilizar, por ejemplo, para eliminar contaminantes, por ejemplo, contaminantes de ácido nucleico de la proteína.

Ejemplos

EJEMPLO 1: Métodos y kits para la recopilación y preparación de muestras etiquetadas

Los componentes de obtención y estabilización de muestras son empleados por los usuarios finales. Los componentes de estabilización de muestras están configurados específicamente para un conjunto diseñado de pruebas de diagnóstico; en particular, están configurados para un componente objetivo específico. Por ejemplo, los componentes objetivo ADN, ARN y proteína tienen cada uno diferentes composiciones de sustrato y color identificativo. Las pruebas configuradas para un componente objetivo ARN presentan una matriz de estabilización roja, las pruebas configuradas para el ADN presentan una matriz de estabilización verde y las pruebas configuradas para un componente objetivo de proteína presentan una matriz de estabilización azul. Así mismo, cada sistema empleado tiene un único código de barras; este código de barras se utiliza para clasificar y separar las muestras por tipo (ARN/ADN/proteína) y agrupar las muestras en lotes, y para así vincular los resultados de la muestra con la información identificativa correspondiente al donante del que es la muestra. Los componentes de estabilización de muestras tienen varios marcadores de códigos de barras, una que queda fijada permanentemente al componente de estabilización de muestras y varios marcadores adhesivos retirables para procesarlos de forma sencilla. Los marcadores presentan el código de barras único asociado al sistema empleado. Después de que el sistema de estabilización y obtención de muestras se haya utilizado para obtener la muestra, el sistema se devuelve a la instalación de donde se recogió. El código de barras fijo se utiliza para separar mecánicamente los sistemas recibidos por tipo de sustrato. Por ejemplo, todos los componentes de estabilización de muestras con matriz de estabilización roja se recopilan juntos y ensamblan en lotes de 96. Los ensayos se realizan en función del color de la etiqueta de la muestra. Se recopila un lote de 96 muestras rojas, dos marcadores de cada una de las muestras se transfieren a dos conjuntos de 96 tubos sin RNasa ensamblados en orden según el orden en el que se escanearon. Cada estante de 96 tubos de muestra catalogados está configurado y organizado de forma idéntica. Los componentes de estabilización de muestras para cada una de las 96 muestras se abren en el orden en el que se escanearon y el sustrato de color rojo se retira y se coloca, como un filtro, sobre un reborde dispuesto dentro de los tubos de muestra sin RNasa con el correspondiente marcador de código de barras de muestra. Esto se realiza hasta que el sustrato de cada una de las 96 muestras esté en los 96 tubos de muestra correspondientes correctamente catalogados. Se abre un "kit rojo" diseñado para los componentes objetivo del sustrato rojo, dejando a la vista los recipientes con tapa roja de los tampones de RCP sin RNasa, reactivos y otros componentes moleculares. Los botes también tienen, cada uno, números de etapa, de modo que se puedan utilizar fácil y rápidamente para llevar a cabo las diferentes etapas para las muestras rojas. Se añade una parte alícuota del "reactivo rojo de etapa 1" en la parte superior del sustrato de color rojo en cada uno de los 96 tubos catalogados, se cierran los tubos y los reactivos se dejan en remojo durante unos minutos en el sustrato. Después de que los reactivos y tampones se hayan remojado, la muestra se centrifuga, conduciendo los contenidos del sustrato hacia la solución líquida que se forma en el fondo del tubo de muestra. Otra parte alícuota del "reactivo rojo de etapa 1" se añade de nuevo en la parte superior del sustrato y se repite la centrifugación. Los tubos se abren y el sustrato sólido se retira de cada muestra; después, se añade a la solución líquida una parte alícuota del "reactivo rojo de etapa 2", que comprende una solución tamponada que contiene moléculas de ADN que son parcialmente bicatenarias, con una región monocatenaria que es complementaria al componente objetivo ARN. Los tubos se cierran y colocan en una máquina de RCP a una temperatura que estimula el movimiento browniano sin inducir la desnaturalización de la molécula de ADN bicatenaria; a esta temperatura, el ARN del sustrato se hibridiza con la región monocatenaria de la molécula de ADN. La molécula de ADN tiene un promotor de la ARN polimerasa dentro de la región bicatenaria y el saliente en 3' de la región monocatenaria presenta una hebra de restos de timidina. Las colas poli(A) del extremo 3' del ARN mensajero (ARNm) del sustrato rojo se hibridizan con los salientes de restos de timina de la molécula de ADN. Después, los tubos se abren y se añade al tubo una parte alícuota del "reactivo rojo de etapa 3", que comprende enzimas ligasa y tampón. Las muestras se calientan y se produce la unión entre el ARNm y la molécula de ADN bicatenaria, formando una molécula de ARN-ADN bicatenaria con todo el ARNm incorporado como una hebra de la molécula. El tubo se abre y se añade, en cada uno de los 96 tubos, una parte alícuota del "reactivo rojo de etapa 4", que comprende ARN polimerasa, se cierran los tubos y se ejecutan 32 ciclos de RCP de desnaturalización e hibridación repetidas en la muestra para amplificar las plantillas de ARN y producir una genoteca de ARNc antisentido. Una parte alícuota del producto de RCP del ARNc se transfiere a cada uno de los 96 tubos de muestra correspondientes catalogados y vacíos, y una parte alícuota del "reactivo rojo de etapa 1" se añade al segundo estante de 96 tubos catalogados vacíos. Las etapas 2-4 se repiten, produciendo la unión y polimerización, en este caso, de las hebras sentido del ARNm resultantes. Después, estas hebras sentido se secuencian utilizando protocolos de secuenciación estándar, los resultados se analizan utilizando los métodos habituales de perfil de expresión genético y el número del código de barras se utiliza como identificador para determinar el donante asociado a los resultados

determinados.

También hay disponibles otros kits para crear lotes similares de análisis; los kits verdes funcionan para los componentes de sustrato verde que estabilizan selectivamente el ADN y los kits azules funcionan para los componentes de sustrato azul que estabilizan selectivamente las proteínas. Se utilizan diversos métodos para tratar las muestras de cada uno de estos sustratos diferentes.

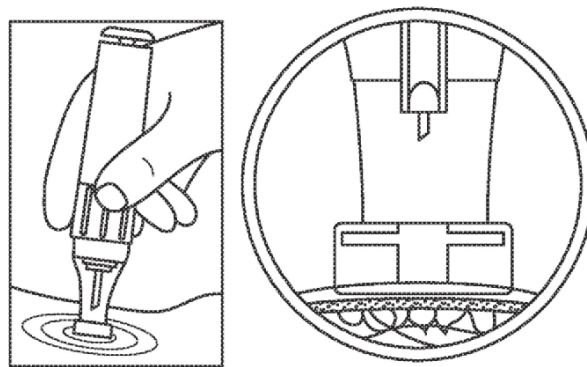
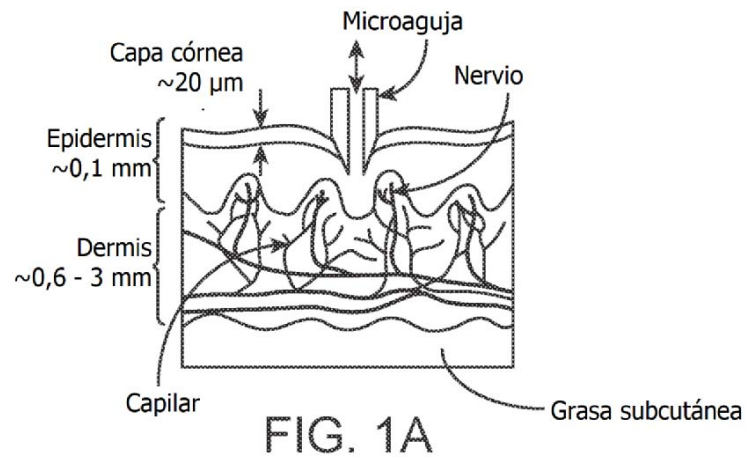
EJEMPLO 2: Kit con lanceta y torniquete con componente de separación de muestras

10 El kit se emplea con un usuario final o donante. El kit comprende una bolsa activada por cristalinos para calentar las manos, una lanceta, un torniquete, algodones con alcohol, gasas, una lanceta activada por presión, un capilar de autollenado y un componente de estabilización de muestras con una unidad de separación de muestras y la matriz de estabilización de muestras integradas. El usuario final calienta las manos del donante para estimular el flujo de sangre antes de realizar la punción; esto se consigue activando una bolsa activada por cristalinos que sirve para calentar las manos y sosteniéndola entre los dedos de la mano. Las manos del donante se relajan y colocan por debajo del corazón y los músculos, mientras que el donante se sienta cómodamente en una silla con sus manos y brazos colocados relajadamente sobre el brazo de la silla. Se realiza un torniquete en la mano no dominante del donante y se selecciona un sitio en el dedo corazón del donante. Se enrolla un torniquete de cinta de goma alrededor del último dedo y, después, se retuerce para continuar con el lazo alrededor del dedo varias veces, creando un torniquete. El lazo queda dispuesto para ser retirado fácilmente. La presión se acumula en la punta del dedo y esta engorda y se enrojece ligeramente. Se realiza la esterilización del sitio de donde se va a sacar la muestra; primero, se elige un lado de la punta del dedo y, después, se pasa un algodón con alcohol por la zona antes de secarla con un trozo de gasa estéril. El donante sostiene y tira del lazo libre del torniquete durante la punción. El proceso de punción puede depender del tipo y fuente de lanceta proporcionada. El capuchón protector de la lanceta se retira y esta se coloca mirando hacia el dedo esterilizado. La lanceta se coloca evitando el centro de la punta del dedo, que es una zona callosa y contiene una mayor densidad de terminaciones nerviosas. La lanceta se presiona hacia abajo hasta que el resorte de esta se activa y se oye un "clic", que indica que se ha perforado la piel. La primera gota de sangre se retira inmediatamente después de la punción y se aplica una leve presión, aunque constante, sobre el dedo. Un capilar de autollenado se sostiene horizontal frente al sitio de incisión y toca la gotita de sangre formada (utilizando, por ejemplo, el capilar de autollenado Microsafe®, Safe-Tec Clinical Products, LLC, Ivyland, Pensilvania), el capilar se autollena hasta una línea negra impresa sobre el eje de plástico y, después, se detiene. Hay una ampolla de plástico que no se presiona durante la etapa de llenado. Cuando la sangre recopilada alcanza la línea negra y el llenado se detiene, se retira la presión del dedo y el lazo libre de la cinta de goma se libera para reducir la presión del torniquete del dedo. La sangre se dispensa en el componente de estabilización de muestras; el componente de estabilización de muestras se coloca sobre una superficie plana y la sangre fuera del capilar se seca con una gasa limpia estéril. El capilar lleno se sostiene vertical sobre la parte inferior del componente de estabilización de muestras y la muestra recogida se dispensa lenta y uniformemente presionando sobre la ampolla de plástico del capilar lleno. El capilar se fija en su sitio sobre la parte inferior del componente de estabilización de muestras mientras se realiza la dispensación. El capilar se deshecha cuando se ha dispensado toda la sangre sobre el componente de estabilización de muestras. Después del procedimiento, el componente de muestreo de sangre se deja reposar mientras se quita por completo el torniquete y se limpia el sitio de punción. Se aplica presión en la incisión utilizando una gasa estéril para hacer que pare de sangrar y la mano se eleva por encima del pecho para ayudar a que se coagule. El componente de estabilización de muestras se deja reposar durante aproximadamente 5-10 minutos después del procedimiento y se observa para determinar si la gota de sangre sigue arriba sobre el filtro y si el filtro sigue pareciendo "húmedo". En este caso, se utiliza un componente de separación, de modo que se observa la gotita elevada "húmeda" de sangre y, después, el plasma de color pajizo comienza a aparecer sobre la parte superior del componente de separación de muestras. El aspecto de la separación de la muestra se utiliza para indicar que la muestra se puede volver a colocar en un depósito de almacenamiento. El componente de muestreo de sangre se cataloga utilizando un marcador de código de barras y se deja a temperatura ambiente. El depósito de almacenamiento se sella y deposita en el lugar de envío.

50 Si bien se han mostrado y descrito en el presente documento realizaciones preferidas de la presente invención, será obvio para los expertos en la materia que tales realizaciones se proporcionan solo a modo de ejemplo. A los expertos en la materia se les ocurrirán numerosas variantes, cambios y sustituciones sin desviarse de la invención. Debe entenderse que las diversas alternativas a las realizaciones de la invención descritas en el presente documento se pueden emplear poniendo en práctica la invención. Las siguientes reivindicaciones definen el alcance de la invención.

REIVINDICACIONES

1. Un método para estabilizar uno o más componentes biológicos de una muestra biológica de un sujeto, comprendiendo el método
- 5 obtener un dispositivo de obtención de muestras y estabilización de muestras integrado que comprende: i) un componente de obtención de muestras, en donde el componente de obtención de muestras comprende uno o más elementos perforadores; y ii) más de una matriz de estabilización de papel, en donde dichas una o más matrices de estabilización de papel están apiladas, y en donde dichas más de una matrices de estabilización de papel no
- 10 entran en contacto entre sí; y mover la muestra biológica de una abertura en el componente de obtención de muestras, a través de un canal, sobre dichas más de una matrices de estabilización de papel, en donde dicho uno o más componentes biológicos de la muestra biológica se estabilizan sobre dichas más de una matrices de estabilización de papel.
- 15 2. El método de la reivindicación 1, en donde dichas más de una matrices de estabilización de papel comprenden uno o más reactivos estabilizantes, en donde dicho uno o más reactivos estabilizantes comprenden un trisacárido, en donde dichas más de una matrices de estabilización de papel están configuradas para estabilizar selectivamente dicho uno o más componentes biológicos seleccionados del grupo que consiste en ARN, ADN y proteína.
- 20 3. El método de la reivindicación 2, en donde dicho uno o más reactivos estabilizantes se disponen sobre o se integran en dichas más de una matrices de estabilización de papel, y dichas más de una matrices de estabilización de papel están en un estado sustancialmente seco de menos de un 10 % en peso de hidratación.
- 25 4. El método de la reivindicación 2, en donde el trisacárido comprende melecitosa, rafinosa, maltotriulosa, isomaltotriosa, nigerotriosa, maltotriosa o cualquier combinación de estos.
- 30 5. El método de la reivindicación 1, que comprende, además, retirar del dispositivo de obtención de muestras y estabilización de muestras integrado dichas más de una matrices de estabilización de papel que comprenden dicho uno o más componentes biológicos seleccionados del grupo que consiste en ARN, ADN y proteína.
- 35 6. El método de la reivindicación 1, en donde dichas más de una matrices de estabilización de papel se obtienen en condiciones ambientales.
7. El método de la reivindicación 1, en donde dicho uno o más componentes biológicos comprenden proteína.
- 40 8. El método de la reivindicación 1, en donde el dispositivo de obtención de muestras y estabilización de muestras integrado comprende, además, un componente de separación del plasma.
9. El método de la reivindicación 1, en donde dichas más de una matrices de estabilización de papel son matrices porosas que comprenden celulosa, acetato de celulosa, fibra de vidrio o una combinación de estos.
- 45 10. El método de la reivindicación 1, en donde dichas más de una matrices de estabilización de papel están sustancialmente secas, con un contenido de agua de menos del 2 %.
11. El método de la reivindicación 1, que comprende, además, eluir dicho uno o más componentes biológicos de dichas más de una matrices de estabilización de papel.
- 50 12. El método de la reivindicación 4, en donde el trisacárido comprende melecitosa.
13. El método de la reivindicación 1, en donde el canal comprende un microcanal.
- 55 14. El método de la reivindicación 1, en donde mover la muestra biológica desde una abertura en el componente de obtención de muestras, a través de un canal, sobre dichas más de una matrices de estabilización de papel comprende el flujo capilar espontáneo, a través del efecto mecha de materiales absorbentes, a través de la aplicación de vacío o una combinación de estos.
- 60 15. El método de la reivindicación 1, en donde la muestra biológica comprende un volumen de menos de 500 uL.
16. El método de la reivindicación 1, en donde la muestra biológica es sangre.
17. El método de la reivindicación 1, en donde dichas más de una matrices de estabilización de papel comprenden una matriz superior y una matriz por debajo de la matriz superior, y en donde al menos parte de la muestra biológica entra en contacto con la matriz superior y la matriz por debajo de la matriz superior.



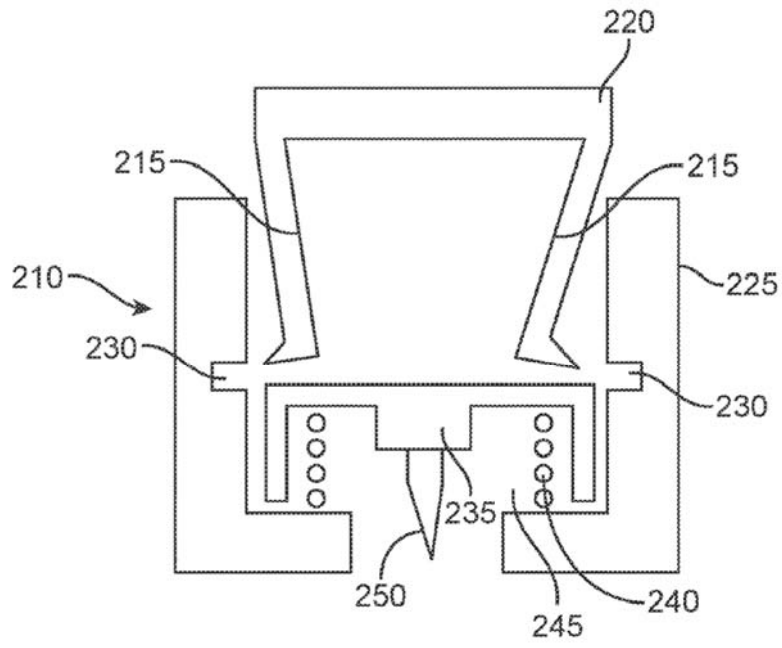


FIG. 2

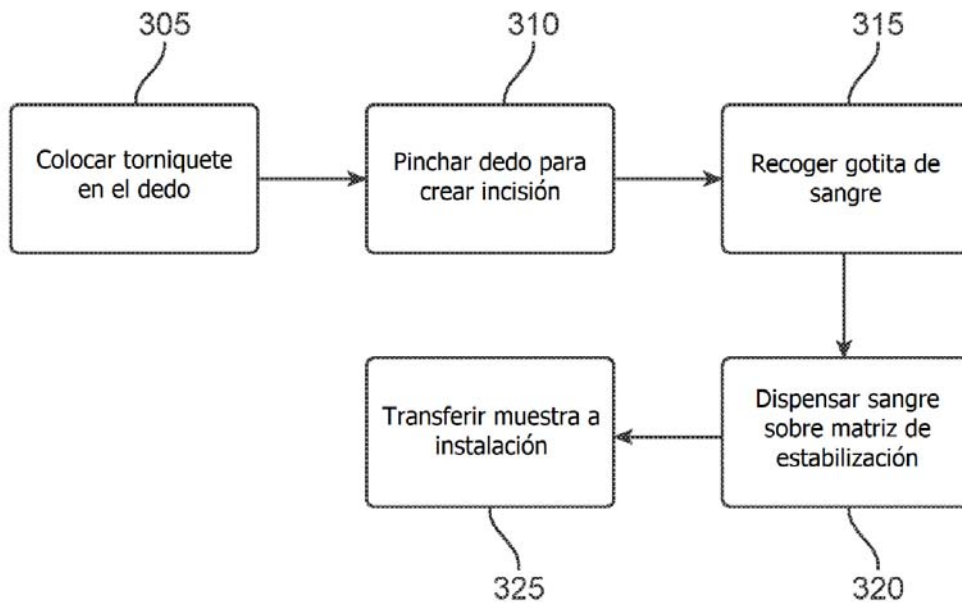


FIG. 3

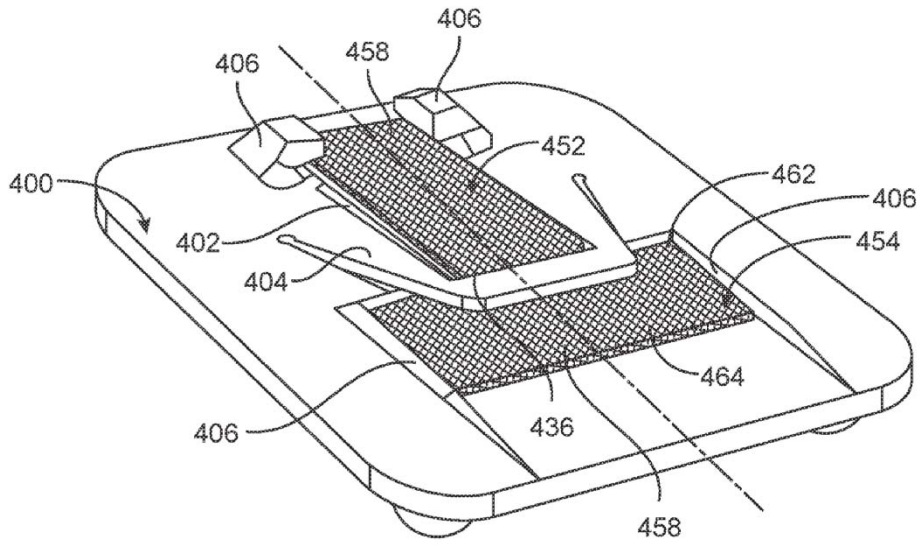


FIG. 4A

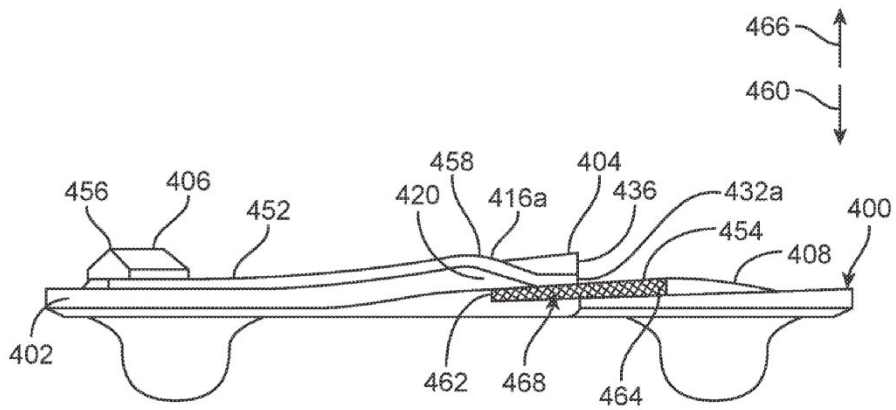


FIG. 4B

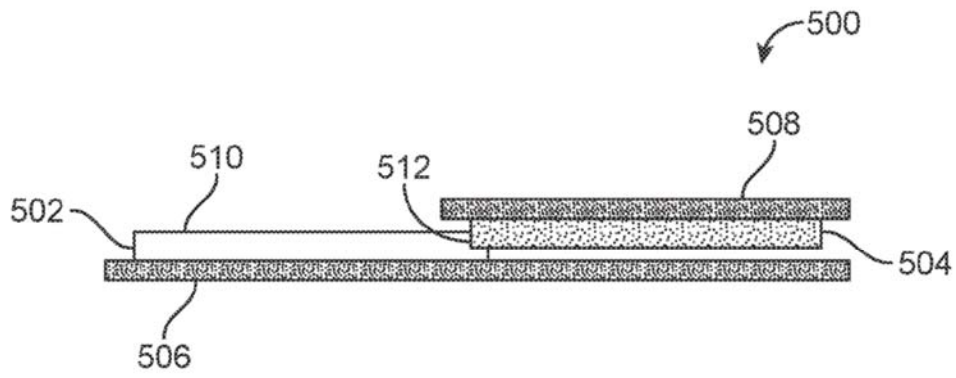


FIG. 5

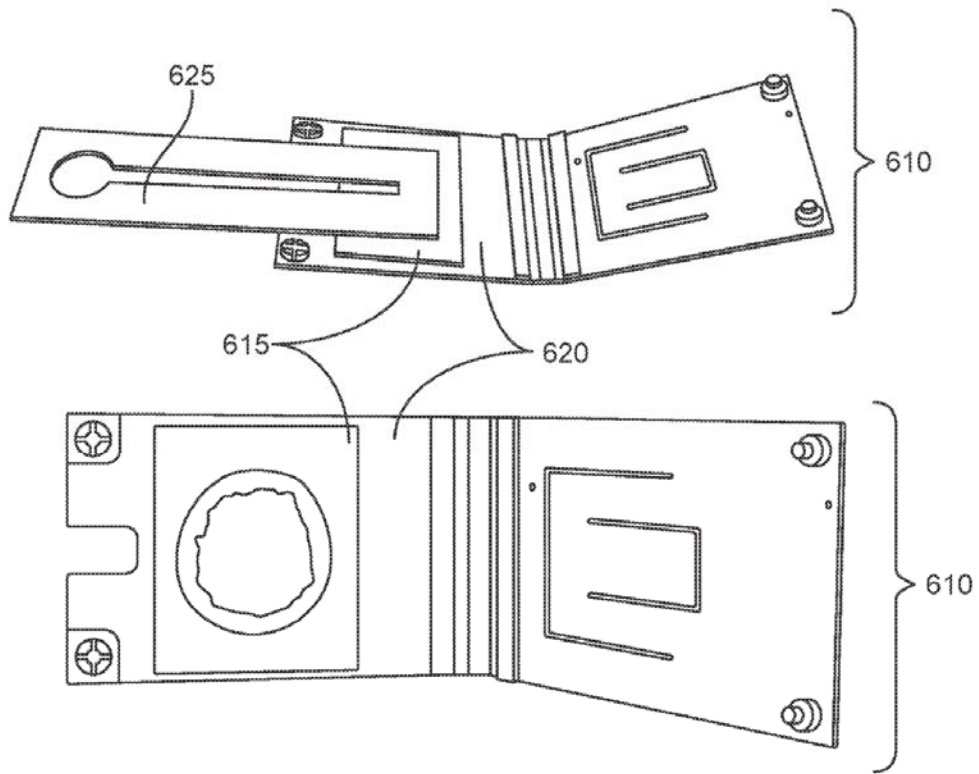


FIG. 6

FIG. 7

Pruebas aplicables
RMN LipoProfile con marcadores IR
Fibrosis hepática, perfil analítico FibroTest-ActiTest
Trimipramina, suero
Imipramina y desipramina, suero
Desipramina, suero
Nortriptilina, suero
Doxepina y nordoxepina, suero
Amitriptilina y nortriptilina, suero
Perfil analítico de anticuerpos de enfermedades transmitidas por garrapatas, suero
Perfil analítico de anticuerpos de ehrlichia, suero
Clomipramina, suero
Opiáceos, suero o plasma, cuantitativo
Análisis del gen de la alfa-globina
ROMA (algoritmo del riesgo de malignidad ovárica)
Tiopurina metiltransferasa (TPMT), eritrocitos
Ácidos biliares, orina
Gen VHL, análisis genético completo
Gen CASR, análisis genético completo
Gen SDHB, análisis genético completo
Gen SDHC, análisis genético completo
SDHB, SDHC, Perfil analítico del gen SDHD
Gen SDHD, análisis genético completo
Gen VHL, análisis de mutación de la eritrocitosis
Metilación del promotor MGMT, tumor
Rufinamida, suero
Mucopolisacaridosis IIIB, análisis genético completo
Síndrome de Hurler, análisis genético completo
Mucopolisacaridosis VI, análisis genético completo
Deficiencia de sulfatasa múltiple, análisis genético completo
Gen UBE3A, análisis genético completo
Deficiencia de acil CoA-deshidrogenasa de cadena muy larga, análisis genético completo
Enfermedad de Wilson, análisis genético completo
Gen FTCD, análisis genético completo
Gen progranulina (GRN), análisis genético completo
Enfermedad de Tay-Sachs, Gen HEXA, análisis genético completo
Gen MAPT, análisis de secuencias, perfil analítico de cribado de exón 7
Análisis genético completo de la deficiencia de acil CoA-deshidrogenasa de cadena media (MCAD)

Pruebas aplicables
Aciduria metilmalónica y homocistinuria, tipo cblC, análisis genético completo
Aciduria metilmalónica y homocistinuria, tipo cblD, análisis genético completo
Mucopolisacaridosis IIIA, análisis genético completo
Análisis de mutación (G170R) en alanina: glioxilato aminotransferasa (AGXT), sangre
Gen CDKN1C, análisis genético completo
Déficit de carnitina palmitoiltransferasa II, análisis genético completo
Enfermedad de Fabry, análisis genético completo
Gen de la ferroquelatasa (FECH), análisis genético completo
Enfermedad de Pompe, análisis genético completo
Gen GALT, análisis genético completo
Gen MLH1, análisis genético completo
Gen MSH2, análisis genético completo
Gen MSH6, análisis genético completo
Gen APC, análisis genético completo
Gen MLYCD, análisis genético completo
Gen MECP2, análisis genético completo
Gen GNPTAB, análisis genético completo
Enfermedad de Niemann-Pick tipo C, análisis genético completo
Gen PMS2, análisis genético completo
Gen SEPT9, cribado de mutación
Adrenoleucodistrofia ligada a X, análisis genético completo
Genes MLH1/MSH2, análisis genético completo
Deficiencia de biotinidasa, análisis genético completo de BTB
Deficiencia de carnitina-acilcarnitina translocasa, análisis genético completo
Gen CFTR, análisis genético completo
Enfermedad de Krabbe, Análisis genético completo y delección grande (30 kb), RCP
Enfermedad de Gaucher, análisis genético completo
Gen GRHPR, análisis genético completo
Análisis de mutación en HOXB13 (G84E)
Síndrome de Hunter, análisis genético completo
Gen AGXT, análisis genético completo
Poliquistosis renal autosómica recesiva (PQRAR), análisis genético completo
Gen ARSA, análisis genético completo

(Figura 7 continuación)

Pruebas aplicables
Síndrome de Prader-Willi/Angelman, análisis molecular
Micromatriz cromosómica, tumor, reciente o congelada utilizando Cytoscan HD de Affymetrix
Micromatriz cromosómica, autopsia, productos de la concepción o muerte fetal
Micromatriz cromosómica, tumor, FFPE
Gen DMD de la distrofia muscular de Becker/Duchenne, deleción grande y análisis de duplicación
Perfil analítico de pancreatitis hereditaria
Mutación familiar, análisis dirigido
Detección de aneuploidía en recién nacidos, FISH
Detección de aneuploidía prenatal, FISH
Trastorno proliferativo de las células plasmáticas (PCPD), FISH
X frágil, análisis de seguimiento
Gen TNFRSF1A, análisis genético completo
Gen de la beta-globina, duplicación/deleción grande
45,X conocido, análisis del reflejo de mosaicismo, FISH
Protooncogén RET, análisis genético completo
Deficiencia de acil CoA-deshidrogenasa de cadena corta (SCAD), análisis genético completo
Enfermedad de Niemann-Pick, tipos A y B, análisis genético completo
Análisis de hipermetilación de MLH1, sangre
Análisis molecular del síndrome de Beckwith-Wiedemann (BWS)/síndrome de Russell-Silver (RSS)
C9orf72, análisis de seguimiento
Rabdomiosarcoma alveolar mediante RCP con transcriptasa inversa (RCP-TI)
Tumor desmoplásico de células pequeñas y redondas mediante RCP con transcriptasa inversa (RCP-TI)
Sarcoma de Ewing, mediante RCP con transcriptasa inversa (RCP-TI)
Sarcoma sinovial mediante RCP con transcriptasa inversa (RCP-TI)
Condrosarcoma mesenquimal, mediante RCP con transcriptasa inversa (RCP-TI)
Gen CTSC, análisis genético completo
Gen FLG, análisis de mutación
Gen SPINK1, análisis genético completo
Inestabilidad del microsatélites (MSI)/Inmunohistoquímica (IHC) de perfil Lynch/cribado del cáncer colorrectal hereditario no polipósico (HNPCC)
Inmunohistoquímica única de las proteínas reparadoras de discordancias (MMR), tumor

Pruebas aplicables
Perfil analítico del gen dirigido RAS/RAF mediante secuenciación de nueva generación, tumor
Análisis de mutación de GNAQ/GNA11, melanoma maligno uveal
Hipermetilación de MLH1 y análisis de mutación de BRAF, tumor
Análisis de hipermetilación de MLH1, tumor
Inestabilidad del microsatélites (MSI), tumor
Repetición del hexanucleótido en C9orf72, análisis molecular
Análisis de mutación de KRAS, perfil analítico mutacional de 7, colorrectal
Análisis de mutación de KRAS, perfil analítico mutacional de 7, otros (no colorrectales)
Gen EGFR, análisis de mutación, perfil analítico mutacional de 29, tumor
Cáncer de pulmón, EGFR con reflejo ALK, tumor
Síndrome de Birt-Hogg-Dubé, análisis genético completo
Identificación de la fuente de la muestra
Análisis de mutación en BRAF (V600E), tumor
Ensayo para el cáncer de colon hereditario (CCH)
Revisión del portaobjetos en genética molecular (solo facturación)
MLH-1, inmunotinción (solo facturación)
MSH-2, inmunotinción (solo facturación)
MSH-6, inmunotinción (solo facturación)
PMS-2, inmunotinción (solo facturación)
Atrofia muscular espinobulbar (enfermedad de Kennedy), análisis molecular
Análisis de mutación en BRAF (V600), melanoma
Perfil analítico de genes cancerosos dirigido a tumores sólidos mediante secuenciación de nueva generación
Beta-catenina, fibromatosis, análisis de mutación
Gen MEFV, análisis genético completo
Gen PRSS1, análisis genético completo
Análisis de BRAF (solo facturación)
Análisis de hipermetilación de MLH1 (solo facturación)
IDH1/2, análisis de mutación
FOXL2, tumor de células de la granulosa, análisis de mutación en c.402C->G
Perfil analítico del gen dirigido a melanoma mediante secuenciación de nueva generación, tumor
Perfil analítico del gen dirigido a GIST mediante secuenciación de nueva generación, tumor
Gen PTEN, análisis genético completo
Gen SMAD4, análisis genético completo
Gen STK11, análisis genético completo
Mucopolisacaridosis HID, análisis genético completo
Exón 18 de PDFGRA, análisis de mutación

(Figura 7 continuación)

Pruebas aplicables
Exón 14 de PDFGRA, análisis de mutación
Exón 12 de PDFGRA, análisis de mutación
Exón 17 de KIT, análisis de mutación
Exón 13 de KIT, análisis de mutación
Síndrome de Bloom, Análisis de mutación, 2281 delATCTGAinsTAGATTC (2281del6/ins7)
Gen TTR, análisis genético completo
Gen de apolipoproteína A-II (APOA2), análisis genético completo
Gen de apolipoproteína A-I (APOA1), análisis genético completo
Gen MLH3, análisis genético completo
Gen TP53, análisis genético completo
Porfiria aguda, perfil analítico multigénico
Gen PPOX, análisis genético completo
Análisis cromosómico, intercambio de cromátidas hermanas (ICH) para el síndrome de Bloom, sangre
Enfermedad de Gaucher, Análisis de mutación, GBA
Gen lisozima (LYZ), análisis genético completo
Gen gelsolin (GSN), análisis genético completo
Disautonomía familiar, análisis de mutación, IVS20(+6T->C) y R696P
Análisis de mutación de anemia de Fanconi C, IVS4(+4)A->T y 322delG
Enfermedad de Canavan, análisis de mutación, ASPA
Perfil analítico multigénico para cáncer de colon hereditario
Gen CPOX, análisis genético completo
Gen CHEK2, análisis genético completo
Micromatriz cromosómica, prenatal, muestreo de líquido amniótico/vellosidad coriónica
Micromatriz cromosómica, trastornos hematológicos
Deficiencia de esteroide sulfatasa, deleción Xp22.3, FISH
Mieloma, FISH, células fijas
Análisis cromosómico, autopsia, productos de la concepción o muerte fetal
Deleción CHIC2 (4q12) (fusión FIP1L1 y PDGFRA), FISH
XX/XY en trasplante de médula ósea del sexo opuesto, FISH
Modelo Mayo para la estratificación del mieloma y la terapia adaptada al riesgo
Trastornos hematológicos, retención de hibridación fluorescente <i>in situ</i> (FISH), médula ósea o sangre periférica
Trastornos hematológicos, retención cromosómica, médula ósea o sangre periférica

Pruebas aplicables
Análisis cromosómico, reordenación en ataxia telangiectasia, sangre
Gen AXIN2, análisis genético completo
Gen BMPR1A, análisis genético completo
Gen CDH1, análisis genético completo
Análisis del gen de la atrofia dentato-rubro-pálido-Luisiana
Análisis de mutación (A282V) en isovaleril-CoA deshidrogenasa (IVD)
Microdeleciones en el cromosoma Y, detección molecular
Micromatriz cromosómica, congénita, sangre
Análisis familiar cromosómico por micromatrices (CMA), FISH
Preparación de muestras parentales para análisis de micromatriz prenatal
Disomía uniparental
Gen HMBS, análisis genético completo
Análisis del gen MYH para adenoma múltiple, Y165C y G382D
Análisis del gen de la alfa-globina
Enfermedad de Huntington, análisis molecular
Gen fibrinógeno cadena alfa (FGA), análisis genético completo
Genotipificación de la apolipoproteína E, sangre
Cáncer de pulmón, reordenación ALK (2p23), FISH, tejido
Melanoma, FISH, tejido
Amplificación de FGFR1 (8p11.2), FISH, tejido
Amplificación de MDM2 (12q15), liposarcoma bien diferenciado/ tumor lipomatoso atípico, FISH, tejido
Meduloblastoma, FISH, tejido
MET (7q31), FISH, tejido
Análisis de cigosidad (varios partos)
Extracción de ADN, Hematología metabólica
Sarcoma sinovial (SS), reordenación de 18q11.2 (SS18 o SYT), FISH, tejido
Detección de aneuploidías en productos de la concepción (POC), FISH, Tejido integrado en parafina
Angiosarcoma, amplificación de MYC (8q24), FISH, tejido
Deleción 1p/19p en gliomas, FISH, tejido
Amplificación HER2 asociada a cáncer gastroesofágico, FISH, tejido
Amplificación HER2, tumor misceláneo, FISH, tejido

(Figura 7 continuación)

Pruebas aplicables
Amplificación HER2 asociada a carcinoma urotelial, FISH, tejido
Amplificación HER2 asociada a cáncer de mama, FISH, tejido
Síndrome de X frágil, análisis molecular
Análisis del gen HFE (hemocromatosis), sangre
Mucopolidosis tipo IV, análisis de mutación, IVS3(-2)A->G y de 16.4kb
Enfermedad de Niemann-Pick, tipos A y B, análisis de mutación
Enfermedad de Tay-Sachs, análisis de mutación, HEXA
Análisis del gen de la galactosemia (perfil analítico mutacional de 14)
Contaminación celular materna, análisis molecular
Análisis de ADN, sangre
Linfoma periférico de células T (LPCT), Reordenación de TP63 (3q28), FISH, tejido
Tumores del estroma endometrial (TEE), 7p15 (JAZF1), 6p21.32 (PHF1), reordenación de 17p13.3 (YWHAE), FISH, tejido
Linfoma de células T, FISH, tejido
Perfil analítico de análisis de mutación judía Ashkenazi sin fibrosis quística (FQ)
Análisis de mutación de fibrosis quística, perfil analítico mutacional de 106
Deleción/duplicación 22q11.2, FISH
Síndrome de Williams, deleción 7q11.23, FISH
Sarcoma de parte blanda alveolar (SPBA)/carcinoma de células renales (CCR), Xp11.23 (TFE3), FISH, tejido
Traslocación PDGFRB/TEL (5; 12) para leucemia mielomonocítica crónica (LMMC), FISH
Traslocación BCR/ABL1 (9;22), FISH
Deleción 15q, caracterización de tipo I y tipo II, síndromes de Prader-Willi/Angelman, FISH
Detección de aneuploidía en X e Y, frotis bucal, FISH
Análisis cromosómico, líquido amniótico
Análisis cromosómico, fluidos corporales
Análisis cromosómico, muestreo de vellosidades coriónicas
Análisis cromosómico, tejido linfático
Análisis cromosómico, tumores sólidos
Análisis cromosómico, biopsia de piel
Cultivo de líquido amniótico para análisis genético
Cultivo de fibroblastos para análisis genético

Pruebas aplicables
Duplicación 15q 11.2, FISH
Sarcoma de Ewing (EWS), reordenación de 22q12 (EWSR1), FISH, tejido
Linfoma de células B, FISH, tejido
Reordenación de MAML2 (11q21), carcinoma mucoepidermoide (MEC), FISH, tejido
PDGFB (22q13), dermatofibrosarcoma protuberans/fibroblastoma de células gigantes, FISH, tejido
USP6 (17p13), quiste óseo aneurismático y fascitis nodular, FISH, tejido
Cáncer de pulmón, reordenación RET (10q11), FISH, tejido
Trastorno proliferativo de las células plasmáticas, FISH, tejido
Sarcoma mielóide, FISH, tejido
Linfoma cutáneo anaplásico de células grandes, reordenación 6p25.3 (DUSP22 o IRF4), FISH, tejido
Tumor de células germinales (TCG), isocromosoma 12p, FISH, tejido
Sarcoma fibromixóide de grado bajo (SFMGB), reordenación de 16p11.2 (FUS o TLS), FISH, tejido
Rabdomiosarcoma alveolar (RMSA), reordenación de 13q14 (FOXO1 o FKHR), FISH, tejido
Anomalías de la región subtelomérica, FISH
Síndrome de Wolf-Hirschhorn, deleción 4p16.3, FISH
Inactivación de X (XIST), deleción Xq13.2, FISH
melanoma uveal, monosomía del cromosoma 3, FISH, tejido
reordenación MYB (6q23), FISH, tejido
Cáncer de pulmón, Reordenación de ROS1 (6q22), FISH, tejido
Análisis cromosómico, trastornos hematológicos, sangre
Síndromes de Smith-Magenis/Potocki-Lupski, deleción/duplicación 17p11.2, FISH
Síndrome de Kallmann, deleción Xp22.3, FISH
Síndrome de Miller-Dieker, deleción 17p13.3, FISH
Síndrome de microdeleción 1p36.3, FISH
Detección de aneuploidías en productos de la concepción (POC), FISH, tejido fresco
Región determinante del sexo Y, deleción Yp11.3, FISH

(Figura 7 continuación)

Pruebas aplicables
Síndrome de maullido de gato, delección 5p, FISH
Análisis cromosómico, trastornos hematológicos, médula ósea
Análisis cromosómico, trastornos congénitos, sangre
Linfoma linfocítico pequeño, FISH, Tejido
Determinación del cromosoma sexual, FISH, Tejido
Liposarcoma mixoide/de células redondas, reordenación de 12q13 (DDIT3 o CHOP), FISH, Tejido
Neuroblastoma, amplificación de 2p24 (MYCN), FISH
Tumores miofibroblásticos inflamatorios (TMI), reordenación de 2p23 (ALK), FISH, Tejido
Reordenación de FGFR1 (8p 11.2), FISH
Genes sensibles al mesilato de imatinib, FISH
Neuroblastoma, amplificación de 2p24 (MYCN), FISH, sangre o médula ósea
Leucemia linfoblástica aguda de células B (LLAB), FISH
UroVysion para la detección del cáncer de vejiga, orina
Células tumorales circulantes (CTC) para cáncer prostático de CellSearch, sangre
Células tumorales circulantes (CTC) para cáncer colorrectal de CellSearch, sangre
Células tumorales circulantes (CTC) para cáncer de pecho de CellSearch, sangre
Leucemia linfoblástica aguda de células T (LLAT), FISH
Síndrome mielodisplásico (SMD), FISH
Linfoma de células T, FISH, sangre o médula ósea
Leucemia linfocítica crónica (LLC), FISH
Linfoma de células B, FISH, sangre o médula ósea
Leucemia mieloide aguda (LMA), FISH
Exón 8 de KIT, análisis de mutación
Exón 11 de KIT, análisis de mutación
Exón 9 de KIT, análisis de mutación
Insulina, libre y total, suero
Oxisteroles, manchas de sangre
Anticuerpos IgG de neumonitis por hipersensibilidad, suero
<i>Thennoactinomyces vulgaris</i> , anticuerpos IgG, suero
Adenosin deaminasa, líquido pericárdico
Adenosin deaminasa, líquido peritoneal
Adenosin deaminasa, líquido pleural

Pruebas aplicables
Actividad A2 de la fosfolipasa asociada a lipoproteína, suero
Anticuerpos del receptor A2 de la fosfolipasa, suero
Receptor A2 de la fosfolipasa, ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas, suero
Receptor A2 de la fosfolipasa, Ensayo de inmunofluorescencia indirecta, suero
Secuenciación de nueva generación (NGS) OncoHeme, neoplasias hematológicas
Anticuerpo a la <i>Anaplasma phagocytophilum</i> (ehrlichiosis humana granulocítica), suero
Tinción tricrómica soluble al agua (solo facturación)
Examen muscular, fuera del portaobjetos (solo facturación)
examen muscular, con Prof USS (solo facturación)
examen muscular, con Rvw complejo de Hx (solo facturación)
Examen muscular, con prep. de portaobjetos (solo facturación)
Tinción de la deshidrogenasa NADH (solo facturación)
Tinción de aceite rojo O (solo facturación)
Tinción de ácido peryódico de Schiff (solo facturación)
Tinción de fosforilasa (solo facturación)
Tinción de deshidrogenasa succínica (solo facturación)
Tinción de ATPasa TB (solo facturación)
Tinción de fosfatasa ácida (solo facturación)
Tinción de carmín de alizarina (solo facturación)
Tinción de alfa-naftil (solo facturación)
Tinción de esterasa inespecífica de acetato (solo facturación)
Tinción de ATPasa ácido-alcalino (solo facturación)
Tinción de rojo congo (solo facturación)
Tinción de citocromo oxidasa (solo facturación)
Músculo, examen de nivel IV (solo facturación)
Tinción de alfa-glicerofosfato (solo facturación)
Tinción de diastasa PAS (solo facturación)
Tinción de fosfofructoquinasa
Tinción de lactato deshidrogenasa
Tinción de aldolasa
AMP desaminasa ST
Cuantificación de ARN del VIH-1, plasma
Tinción inmunofluorescente del receptor A2 de la fosfolipasa (PLA2R), renal
Barbitúricos, cribado, orina
Cafeína, suero
Ácido valproico, libre, suero
Ácido valproico, libre y total, suero
Benzodiazepinas, cribado, orina
Amikacina, mínimo, suero
Amikacina, máximo, suero
Amikacina, aleatorio, suero

(Figura 7 continuación)

Pruebas aplicables
10,11-epóxido de carbamazepina, suero
Perfil de carbamazepina, suero
Procainamida y N-acetilprocainamida, suero
N-acetilprocainamida, suero
Carbamazepina, libre, suero
Carbamazepina, libre y total, suero
Etanol, cribado, orina
Procainamida + NAPA, suero
Anfetaminas, cribado, orina
Etanol, suero
Cocaína, cribado, orina
Fenitoína, total y libre, suero
Fenitoína, total y grupo fenobarbital, suero
Fenitoína, libre, suero
Primidona, suero
Primidona y fenobarbital, suero
Etosuximida, suero
Lidocaína, suero
Quinidina, suero
Tetrahidrocannabinol, cribado, orina
Fenciclidina, cribado, orina
Opiáceos, cribado, orina
Metotrexato, suero
Gentamicina, aleatorio, suero
Vancomicina, máximo, suero
Vancomicina, mínimo, suero
Vancomicina, aleatorio, suero
Tobramicina, mínimo, suero
Ácido valproico, total, suero
Tobramicina, máximo, suero
Salicilato, suero
Tobramicina, aleatorio, suero
Teofilina, suero
Gentamicina, mínimo, suero
Litio, suero
Fenitoína, total, suero
Gentamicina, máximo, suero
Carbamazepina, total, suero
Fenobarbital, suero
Cuantificación del ARN del VIH-1 con reflejo a la resistencia genotípica al fármaco del VIH-1, plasma
Acetaminofeno, suero
Detección y cuantificación del ARN del VIH-1, plasma
Proteasa genotípica del VIH-1 y resistencia al fármaco inhibidor de la transcriptasa inversa, plasma
Anticuerpo IgG al toxoide de la difteria, suero

Pruebas aplicables
Anticuerpo IgG al toxoide tetánico, suero
Panel de anticuerpos a la difteria/tétanos, suero
Metadona y metabolitos, suero