

RECOMENDACIONES MUESTRAS BIOLÓGICAS PARA SERVICIOS DE TÉCNICAS MOLECULARES

El rendimiento en la extracción de ácidos nucleicos depende de las condiciones preanalíticas de cada muestra.

Todas las solicitudes deberán incluir de un documento en el que aparezca el número de muestra con el código identificativo de cada una de ellas para poder comprobarlo en la recepción de las mismas.

Para poder garantizar la calidad de los ácidos nucleicos obtenidos es necesario que se cumplan las condiciones de extracción, conservación y envío de las muestras que se detallan a continuación.

El programa completo de control de calidad de muestras de ADN y ARN engloba diferentes técnicas que aportan una información objetiva sobre la concentración de las muestras, pureza, integridad y funcionalidad garantizando en todo momento la trazabilidad de las mismas.

EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS NUCLÉICOS

En el biobanco se dispone de varios equipos para la extracción automatizada de ácidos nucleicos.

1. Tecnología de Promega (Bolitas magnéticas)

- ✓ Dos equipos Maxwell 16 Instrument (Promega)
- ✓ Un equipo Maxwell RSC de 48 muestras (Promega)

<https://www.promega.es/products/lab-automation/automated-dna-rna-extraction-purification-maxwell/>

2. Tecnología Qiagen (membrana de sílice)

- ✓ Qiacube

<https://www.qiagen.com/us/products/discovery-and-translational-research/dna-rna-purification/instruments-equipment/qiacube-connect/>

CUANTIFICACIÓN Y CONTROL DE CALIDAD

En el Biobanco tenemos disponible la lectura mediante fluorimetría y espectrofotometría. La fluorimetría la recomendamos para estudios de secuenciación masiva.

- ✓ Fluorimetría: Quantus (Promega)

<https://www.promega.es/products/microplate-readers-fluorometers-luminometers/fluorometers/quantus-fluorometer/?catNum=E6150#overview>

- ✓ Espectrofotometría: Epoch (Agilent)

<https://www.biotek.com/products/detection-microplate-readers/epoch-microplate-spectrophotometer/>

Referencias:

- 260/280 and 260/230 Ratios. NanoDrop. Technical Support Bulletin. (<https://www.nhm.ac.uk/content/dam/nhmwww/our-science/dpts-facilities-staff/Coreresearchlabs/nanodrop.pdf>).
- Collaborative Design for Automated DNA Storage That Allows for Rapid, Accurate, Large-Scale Studies. Scott Mahan, Kristin G. Ardlie, Kevin F. Krenitsky, Gary Walsh and Graham Clough. ASSAY and Drug Development Technologies Volume 2, Number 6, 2004.
- 260/280 and 260/230 Ratios. NanoDrop. Technical Support Bulletin. (<https://www.nhm.ac.uk/content/dam/nhmwww/our-science/dpts-facilities-staff/Coreresearchlabs/nanodrop.pdf>).
- DNA/ RNA extraction & Qualification. Quality Control Platform of the CIT Program (Carte d'Identité de Tumeurs). (https://cit.ligue-cancer.net/CIT_Public/images/stories/CIT/pdf/WebSite%20CIT-%20QC%20PF%20Saint-Louis%207%20avril%2009.pdf).
- The Significance of the 260/230 Ratio in Determining Nucleic Acid Purity. Hillary Luebbehusen, 2010. The Significance of the 260/230 Ratio in Determining Nucleic Acid Purity. (<http://www.bcm.edu/mcfweb/?PMID=3100>).

ESPECIFICACIONES DE LAS MUESTRAS

1. HECES/CONTENIDO INTESTINAL

- Cantidad recomendada entre 200 y 500 mg**
- Tubos pequeños o medianos tipo eppendorf. Evitar en la medida de lo posible, frascos/recipiente tipo duquesita.
- Todas las muestras deben de venir identificadas individualmente.
- es recomendable que todas las muestras lleguen en las mismas condiciones de transporte (congeladas/refrigeradas/Tª ambiente).

2. TEJIDO CONGELADO/RNA LATER

- Cantidad recomendada entre 50 y 100 mg. En el caso de punch 3 de 0.6mm de diámetro en tubo tipo eppendorf**.
- Tubos pequeños o medianos tipo eppendorf.
- Todas las muestras deben venir identificadas individualmente.
- Condiciones de recepción: es recomendable que todas las muestras lleguen en las mismas condiciones de transporte (congeladas/refrigeradas/Tª ambiente).

3. TEJIDO EN PARAFINA

- Mínimo 3 Secciones de 5-10 micras de tejido**.
- Tubos eppendorf de 1,5mL.
- Todas las muestras deben de venir identificadas individualmente.
- Condiciones de recepción: temperatura ambiente

4. LÍQUIDOS BIOLÓGICOS (Capa blanca, exudados, saliva, etc.)

- Cantidad recomendada entre 200 y 500uL**.
- Tubos pequeños o medianos tipo eppendorf.
- Todas las muestras deben venir identificadas individualmente.

- es recomendable que todas las muestras lleguen en las mismas condiciones de transporte (congeladas/refrigeradas/Tª ambiente).

5. CÉLULAS

- Cantidad recomendada**: mínimo 5 millones de células resuspendido en un máximo de 400uL de PBS o Medio de cultivo
- Tubos pequeños o medianos tipo eppendorf.
- Todas las muestras deben venir identificadas individualmente.
- Es recomendable que todas las muestras lleguen en las mismas condiciones de transporte (congeladas/refrigeradas/Tª ambiente).

OBSERVACIONES:

**Para otras cantidades o condiciones específicas consultar con biobanco.

Es necesario informar al biobanco de los requerimientos mínimos de la calidad y concentración demandados para la realización de los estudios posteriores.

ESTUDIOS DE MICROBIOTA:

Sera imprescindible indicar si se requiere extracción para análisis de virus y hongos.

EXTRACCIÓN DE cfDNA (biopsia líquida)

a) PLASMA

- Cantidad recomendada entre 1.5 y 8mL**.
- Todas las muestras deben venir identificadas individualmente.
- Es recomendable que todas las muestras lleguen en las mismas condiciones de transporte (congeladas/refrigeradas/Tª ambiente).Requisito: 1 h y 30 min desde la toma de la muestra sanguínea hasta la recepción en el laboratorio, salvo tubos con conservante específico.

b) SUERO

- Cantidad recomendada entre 1.5 y 8mL**.
- Todas las muestras deben venir identificadas individualmente.
- Es recomendable que todas las muestras lleguen en las mismas condiciones de transporte (congeladas/refrigeradas/Tª ambiente).

Requisito: 1 h y 30 min desde la toma de la muestra sanguínea hasta la recepción en el laboratorio, salvo tubos con conservante específico.