

## 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 la plantilla de listado de muestras 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)**

- ✓ Un equipo 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%20%20avril%202009.pdf](https://cit.ligue-cancer.net/CIT_Public/images/stories/CIT/pdf/WebSite%20CIT-%20QC%20PF%20Saint-Louis%20%20avril%202009.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**

- **Todas las muestras deben venir en tubos de 1,5 o 2 mL tipo eppendorf. Evitar en la medida de lo posible frascos/recipientes tipo duquesita.**
- **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) y que cumplan los criterios IATA (UN3373/UN1845) para envío de muestras biológicas.**

### **1. ESTUDIOS DE MICROBIOTA**

- Para muestras sólidas: Cantidad recomendada entre 200 y 500 mg\*\*
- Para muestras líquidas: Cantidad recomendada a partir de 300uL.

**IMPORTANTE:** Indicar si se van a realizar estudios posteriores de Hongos y levaduras.

### **2. TEJIDO CONGELADO/CONSERVANTE**

- Cantidad recomendada entre 50 y 100 mg. En el caso de punch 3 de 0.6mm de diámetro en tubo tipo eppendorf\*\*. **IMPORTANTE:** El medio conservante debe venir en las proporciones indicadas por la casa comercial para asegurar la eficacia del mismo. En el caso de no ser RNA later indicar de qué conservante se trata.

### **3. TEJIDO EN PARAFINA**

- Mínimo 3 Secciones de 5-10 micras de tejido\*\*.

### **4. LÍQUIDOS BIOLÓGICOS (Sangre periférica, exudados, saliva, etc.)**

- Cantidad recomendada entre 200 y 500uL\*\*.
  - i. Tiempo óptimo para extracción de ADN: se recomienda no superar 24 horas a 4°C.

- ii. Tiempo óptimo para extracción de ARN: procesamiento en menos de 30 minutos desde la extracción a temperatura ambiente o máximo 24 horas a 4°C. Siempre que sea posible, utilizar tubos con estabilizadores de la expresión génica tipo PAXgene™.

## 5. **CÉLULAS**

- Cantidad recomendada\*\*:

  - ARN: Consultar con Biobanco el medio de transporte.

### **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.

## **EXTRACCIÓN DE cfDNA (biopsia líquida)**

### **a) PLASMA**

- Cantidad recomendada entre 1.5 y 8mL\*\*.
- 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\*\*.

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

Referencias:

- PNT\_PISCIII\_BB\_OBTENCIÓN, PROCESADO Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS DE SANGRE TOTAL. PLATAFORMA ISCIII BIOBANCOS Y BIOMODELOS (2022).