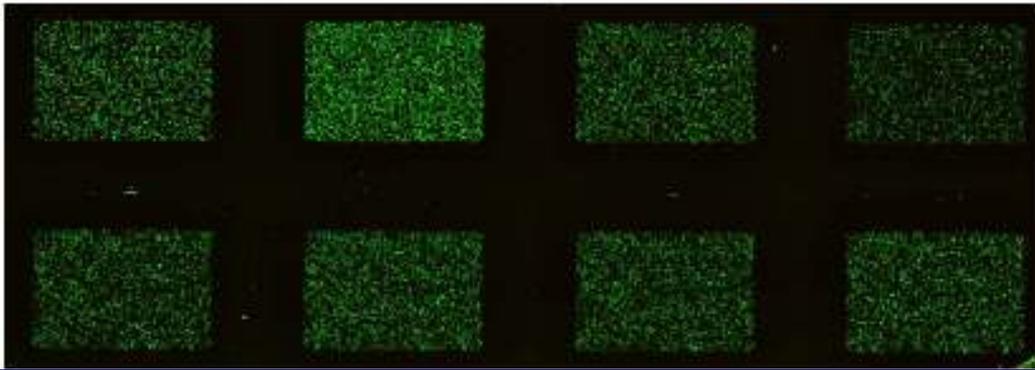


ANÁLISIS COMPARADO DE LA EXPRESIÓN de microRNAs UTILIZANDO miRNA MICROARRAYS DE AGILENT TECHNOLOGIES



Agilent miRNA microarray (8 x 15K slide format)

Para el análisis de la expresión de microRNAs utilizando [miRNA microarrays de Agilent](#), el usuario ha de aportar RNA total de las muestras a comparar.

Se considera **servicio** al proceso que va desde el RNA total (que recibimos del usuario) hasta los datos brutos.

En la Unidad de Genómica se llevarán a cabo los siguientes pasos:

- procesamiento de las muestras
- hibridación del microarray
- lectura del microarray en el escáner
- cuantificación de la imagen

A la finalización del estudio se entregará al solicitante copia de las imágenes de los microarrays (.tif) y los datos brutos.

El preprocesamiento y normalización de los datos puede también solicitarse como parte del servicio.

Más allá de la normalización de los datos, y en caso de que exista interés por parte del usuario, se puede llevar a cabo un análisis más elaborado de los datos, bien en base a un a colaboración científica, bien como servicio. En el primero de los casos es imprescindible establecer una reunión previa con personal de la U. de Genómica: el apoyo necesario para un adecuado

análisis de los datos comienza contribuyendo en el diseño de los experimentos.

Un apropiado diseño experimental es de crucial importancia para la obtención de resultados válidos. Pese a la simplicidad teórica de la técnica, el proceso, que abarca desde la obtención de las muestras hasta la verificación y significación de los resultados, es largo y costoso.

Para cursar una solicitud se rellenará y se seguirán las instrucciones del impreso de solicitud correspondiente (**ver formulario de solicitud**).

Cantidad de RNA requeridas por muestra:

500 ng de RNA total en 10 μ l de agua libre de RNasas

Preparación del RNA de las muestras

La calidad del RNA es un factor decisivo para el resultado final. Es muy importante tanto la integridad como la pureza del RNA.

La preparación del RNA total de las muestras la realizan los usuarios. Puesto que a menudo es el investigador el que conoce la mejor manera de extraer RNA a partir de sus muestras, puede utilizar el método de extracción que considere más adecuado, aunque siempre procesando las muestras a comparar de la misma manera y en paralelo. Es también muy importante que no se utilicen métodos de extracción o limpieza que puedan eliminar los RNAs de pequeño tamaño ("small RNAs") (ver "RNA extraction recommendations").

Puesto que la pureza e integridad del RNA de partida es clave para el éxito del experimento, es imprescindible que el RNA a analizar cumpla con unos requisitos de calidad:

- que las bandas 28S y 18S ribosomales aparezcan en un gel de agarosa como bandas discretas y aprox. en una proporción 2:1 respectivamente.
- que no haya contaminación con DNA genómico
- que el ratio OD 260/280 se encuentre entre 1,8 y 2,1.

Para controlar la calidad del RNA total también se puede utilizar el Bioanalyzer 2100 de Agilent Technologies como alternativa al método clásico de gel de agarosa.

En el caso de que los RNAs no cumplan con los requisitos de calidad necesarios, se notificará al investigador responsable a la mayor brevedad posible para que subsane el defecto.

NOTA IMPORTANTE 1: Debido al formato de los arrays de miRNA de Agilent, 8 x 15k, pueden analizarse 8 muestras por cristal. Es por tanto aconsejable que el nº de RNAs a analizar sea múltiplo de 8, de lo contrario se pierden arrays que se facturan (100 €/array no hibridado).

NOTA IMPORTANTE 2: La entrega de resultados es dependiente del volumen de muestras y del trabajo acumulado en la unidad. En casos excepcionales se contactará directamente con el usuario.

NOTA IMPORTANTE 3: En el caso de que las muestras a procesar no se encuentren a la concentración requerida habrá un cargo adicional de un mínimo de 5 €/muestra correspondiente a la preparación de las muestras.

Envío del RNA de las muestras

Los RNAs a procesar se envían congelados a través de mensajero en una caja de corcho blanco y con nieve carbónica (una caja con capacidad suficiente para que el hielo seco dure el tiempo de traslado de las muestras y que este tiempo no abarque un fin de semana).

Enviad un email a genomica@cnic.es cuando se haya hecho el envío para estar sobre aviso, incluyendo, a ser posible, el nº de envío para su seguimiento.

Dirección de envío:

Unidad de Genómica
CNIC
Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares
C/ Melchor Fernández Almagro, 3
28029 Madrid
Tel.: 91 453 12 00