

UNIDAD DE GENÓMICA CABIMER

Guía del usuario de bioanalyzer 2100



El Bioanalyzer Agilent 2100 está diseñado para determinar la calidad de ácidos nucleicos (RNA y DNA) y la cantidad de una forma más fiable y rigurosa que los sistemas tradicionales. Consiste en un sistema de microelectroforesis mediante el uso de nanocapilares. Es por ello, que este sistema minimiza la cantidad de RNA/DNA que se usa para este control, además del tiempo empleado en ello. Actualmente este equipo ha pasado a ser un requerimiento imprescindible en la determinación de la calidad de muestras de RNA y DNA dada su mayor fiabilidad frente a los clásicos geles de poliacrilamida y agarosa. Además, minimiza la cantidad de material necesario para su análisis (1 μ L). Además, en el caso concreto de muestras de RNA, el software del Bioanalyzer

incorpora un algoritmo denominado RIN (RNA Integrity Number), que permite determinar la calidad de las muestras de RNA eucariótico total en base a un rango numérico del 1 al 10, siendo 1 el valor para una muestra de RNA totalmente degradada y 10 el valor obtenido para una muestra intacta.

El servicio **ofrece**:

- Medida de cantidad de RNA/DNA mediante Espectrofotometría (Nanodrop®) y/o Fluorimetría (Qubit).
- Análisis de calidad y tamaño de RNA /DNA (Bioanalyzer).
- Cálculo RIN (RNA).
- Resultados de la electroforesis nanocapilar en archivo [*.PDF](#) para determinar visualmente la integridad del RNA, ausencia de DNA genómico contaminante, rango de tamaños, etc...

Actualmente existen varias posibilidades para el **Análisis de RNA y de DNA** utilizando este sistema siendo las que a continuación se detallan las usadas en esta unidad:

- Para **Análisis de RNA y mRNA**:
 - **RNA 6000 Nano**. Para **concentraciones medias** de RNA total.
 - Rango cualitativo: 5-500 ng/ μ l de RNA total, 25-250 ng/ μ l de mRNA.
 - Rango cuantitativo: 25-500 ng/ μ l de RNA total, 25-250 ng/ μ l de mRNA.
 - **RNA 6000 Pico**. Para **concentraciones bajas** de RNA total.
 - Rango cualitativo: 50-5000 pg/ μ l de RNA total, 250-5000 pg/ μ l de mRNA.
 - Para **Análisis de DNA y Librerías de DNA**:
 - **High Sensitivity DNA**. Para concentraciones bajas de dsDNA.
 - Rango cualitativo desde 5 pg/ μ l (5-5000 pg/ μ l).
 - Rango cuantitativo: 5-500 pg/ μ .
 - Rango de tamaños: 50-7000bp.
- 11 muestras en 30 min.

NOTA: es muy importante para este uso tener bien cuantificado el ADN. Si es ADN genómico es suficiente con cuantificar por Nanodrop; si el ADN proviene de una purificación, CHIP o rescate, debe estar cuantificado fluorimétricamente o solicitar esta cuantificación a la unidad.


Para el uso de otros chips (RNA, DNA y Proteínas) o cualquier otra duda, contactar con el personal a través de las siguientes direcciones de correo electrónico, Eloisa Andujar, Mónica Pérez o en el teléfono 954 467 828.

Para más información sobre los kits comercializados por Agilent, visite <http://www.chem.agilent.com/en-US/Products/Instruments/lab-on-a-chip/2100bioanalyzer/Pages/default.aspx>.

➤ **Requisitos de las muestras**

- a. Aislamiento de RNA mediante el uso de Trizol (Invitrogen cat: **155596-026**) y/o columnas de purificación de Qiagen RNeasy(Qiagen RNeasy, cat: **74104**).
- b. Cantidad de RNA:
 - Entre 50 ng mínimo y 1000 ng/ µl de RNA en un volumen NO inferior a 2 µl de **Agua libre de RNasas** (dilución mínima de 25 ng/µl para RNA total o mRNA en el caso de RNA 6000 Nano).

Cantidad de DNA:

- Se requiere el envío de AL MENOS 2 µl a una concentración de mínima de 10 pg/µl para DNA o librerías de DNA en **Agua libre de DNasas**.
- c. Todas las muestras deben estar identificadas correctamente y acorde con la **Hoja de Solicitud** adjunta y debidamente cumplimentada. 
 - d. Requisitos experimentales:
 - Si no hay la suficiente cantidad de RNA/DNA medido por Nanodrop® o Fluorimetría, no se procederá al estudio de su calidad.
 - Las muestras deben estar eludias en Agua mili-Q o Low TE, libre de contaminantes (EDTA, Glucógeno, enzimas, etc...)

➤ **Envío de muestras**

Los RNAs/DNAs para análisis de calidad, una vez purificados por columna y disueltos en **Agua libre de RNasas/DNasas, en tubos eppendorf de 1,5 mL** y congelados en nieve carbónica, junto con el formulario cumplimentado correctamente, pueden ser enviados por correo a la siguiente dirección:

Unidad de Genómica
Centro Andaluz de Biología Molecular y
Medicina Regenerativa (Cabimer)
Avda. Américo Vespucio nº 24.
Parque Tecnológico Cartuja 93
41.092 SEVILLA

Horario de recepción de muestras: 9:00 h a 16:00 h (9:00h a 14:00h Julio y Agosto)

El envío de las muestras debe ser comunicado previamente por teléfono (954-467828) o por e-mail (eloisa.andujar@cabimer.es/monica.perez@cabimer.es).

Por su parte, la Unidad de Genómica comunicará vía e-mail la recepción de las mismas, así como cualquier problema que pueda surgir tras los controles de calidad realizados sobre éstas.

Previo al análisis se procederá a la cuantificación de las muestras y si no hay suficiente cantidad, se notificará al usuario junto con algunas recomendaciones para la obtención de muestras adecuadas. NO se examinará su integridad.

➤ **Entrega de los resultados**

Una vez finalizado el experimento, se le comunicará al usuario vía email y se adjuntarán:

- Los resultados en un archivo [*.pdf](#) con los resultados del análisis (concentración, relación 28S/18S, RIN), las imágenes (gel, electroferogramas) correspondientes a la migración de las muestras.
- Una guía para la Interpretación de los de Análisis de Calidad de muestras de ARN mediante Bioanalyzer 2100 de Agilent.

➤ **Tarifas**

Consultar con la Unidad.

➤ **Información de interés**

- Schroeder A, Mueller O, Stocker S, Salowsky R, Leiber M, Gassmann M, Lightfoot S, Menzel W, Granzow M and Ragg T. [The RIN: an RNA integrity number for assigning integrity values to RNA measurements](#). BMC Molecular Biology 2006, 7:3 (31 Jan 2006)
- Imbeaud S, Graudens E, Boulanger V, Barlet X, Zaborski P, Eveno E, Mueller O, Schroeder A, and Auffray C. [Towards standardization of RNA quality assessment using user-independent classifiers of microcapillary electrophoresis traces](#), Nucl. Acids Res. 2005 33: e56.
- [Tissue Microarrays Reach New Markets](#)
- RNA Integrity Number (RIN)- [Standardization of RNA Quality Control](#)  PDF(0.5 MB)
- [Bioanalyzer 2100](#). Agilent Technologies

Analytical specifications	RNA 6000 Nano Kit		RNA 6000 Pico Kit	
	total RNA	mRNA	total RNA	mRNA
Quantitative range	25 - 500 ng/µL	25 - 250 ng/µL	-	-
Qualitative range	5 - 500 ng/µL	5 - 250 ng/µL	50 - 5000 pg/µL in water	250 - 5000 pg/µL in water
Sensitivity (S/N>3)	5 ng/µL in water	25 ng/µL in water	50 pg/µL in water or 200 pg/µL in TE	250 pg/µL in water or 500 pg/µL in TE
Quantitation reproducibility (within a chip)	10% CV	10% CV	20% CV	20% CV
Quantitation accuracy¹	20%	20%	30%	-
Maximum sample buffer strength	100 mM Tris 0.1 mM EDTA or 125 mM NaCl 15 mM MgCl ₂	100 mM Tris 0.1 mM EDTA or 125 mM NaCl 15 mM MgCl ₂	50 mM Tris 0.1 mM EDTA or 50 mM NaCl 15 mM MgCl ₂	50 mM Tris 0.1 mM EDTA or 50 mM NaCl 15 mM MgCl ₂
Physical specifications				
Analysis time	30 minutes	30 minutes	30 minutes	30 minutes
Samples per chip	12	12	11	11
Sample volume	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL
Kit stability	=4 months at 4°C	=4 months at 4°C	=4 months at 4°C	=4 months at 4°C
Kit size	25 chips	25 chips	25 chips	25 chips
	12 samples/chip = 300 samples/kit	12 samples/chip = 300 samples/kit	11 samples/chip = 275 samples/kit	11 samples/chip = 275 samples/kit

¹Determined analyzing the RNA ladder as sample

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.