

UNIDAD DE GENÓMICA
CABIMER

Guía de usuario de Microarray Affymetrix (CITOGÉNÉTICA)

La Unidad de Genómica ofrece el Servicio de Cariotipo Molecular mediante Hibridación de Genómica Comparativa en formato de Microarrays (CNV y SNPs), técnica basada en la utilización de FISH con sondas específicas de cromosomas.

Esta es una herramienta diagnóstica, de uso pre y postnatal, que está permitiendo un cambio extraordinario en el diagnóstico de distintas patologías que escapan al análisis convencional. Es una alternativa mucho más precisa, económica e informativa al FISH y cariotipo tradicional para la detección de cambios cromosómicos estructurales submicroscópicos.

Al estudiar no sólo de CNV sino SNPs, aumenta la precisión en más de un 99% para detectar deleciones o inserciones: CNVs, LOH, Mosaicismo de Bajo Nivel, Disomía Uniparental (UDP), etc... Además, al usar ADN como material biológico de ensayo se hace innecesario realizar cultivos celulares, sacrificado de linfoblastos o bandeo cromosómico con tripsina/giemsá. Esto reduce considerablemente los tiempos de espera para obtener el resultado respecto al cariotipado convencional.

Las principales **ventajas** de esta Metodología por tanto son:

- Resultados en 1-2 días.
- No es necesario el mantenimiento de un cultivo celular
- Constituye la tecnología genética de mayor precisión diagnóstica
- Capacidad de identificar nuevas patologías no detectables por ninguna otra técnica genética actual: p.ej. retraso mental, etc.
- Procedimiento automatizable

Son numerosos los estudios que avalan su aplicación como **primera elección** en la detección de alteraciones postnatales en pacientes que sufren discapacidad intelectual y/o anomalías congénitas (Miller et al., 2010).

Affymetrix ofrece varias soluciones para aplicaciones citogenética:

Análisis	Microarray	Aplicación
Citogenética Molecular (SNPs/CNVs) LOH, Mosaicism, Polidy variation,...	CytoScan [®] HD	<ul style="list-style-type: none"> • Postnatal and hematological Cancer • Desordenes Constitucionales y Cáncer
	CytoScan [®] 750	<ul style="list-style-type: none"> • Postnatal and hematological Cancer • Desordenes Constitucionales y Cáncer
	CytoScan [®] Optima	<ul style="list-style-type: none"> • PreNatal, POC
OncoScan Assays LOH, Mosaicism, Polidy variation,...	OncoScan FFPE	<ul style="list-style-type: none"> • CNV, LOH, en 900 Genes Cáncer • 74 Mutaciones Somáticas en 9 genes
	OncoScan FFPE CNV	<ul style="list-style-type: none"> • CNV, LOH, en 900 Genes Cáncer

Estos Microarrays son líderes en cobertura genómica, rendimiento y flujo de trabajo. Dicho rendimiento supera las normas de la industria en cuanto a la especificidad, sensibilidad y resolución. Seguridad en la identificación de aberraciones cromosómicas.

La solución completa CytoScan® y OncoScan® incluye microarrays, reactivos y software para análisis de resultados Chromosome Analysis Suite (ChAS), de muy fácil uso. Además, Affymetrix pone a disposición su **Comunidad para la Investigación en Citogenética**, donde aprender, encontrar y compartir información sobre avances en investigación de citogenética constitucional y de cáncer. La Comunidad ofrece presentaciones educativas, información sobre las herramientas Affymetrix para la investigación en citogenética y publicaciones científicas, entre otros contenidos. Acceda haciendo click en Affymetrix Cytogenetics Research Community.

➤ **EL SERVICIO INCLUYE**

Para realizar un análisis completo de Microarrays se **incluyen los siguientes puntos y servicios:**

- Asesoramiento respecto al diseño experimental.
- “Análisis de calidad de RNA” (Bioanalyzer 2100) o de DNA según corresponda. Si no cumplen los requisitos de Calidad/Cantidad se comunicará al usuario vía email.
- Microarrays
- Amplificación y marcaje de la muestra (biotinilado).
- Hibridación y lavados de Microarrays.
- Lectura de los arrays mediante el Scanner modelo "3000 7G".
- Análisis de la imagen, Control de calidad y Cuantificación de datos de fluorescencia con el software específico AGCC (datos brutos *.CEL).
- Para los arrays de citogenética se incluye el análisis de los datos mediante el software gratuito de Affymetrix ChAS (*Chromosome Analysis Suite*) para la detección de las distintas aberraciones/alteraciones cromosómicas, así como su comparación con bases de datos “sanos” y OMIMs.



➤ **REQUISITOS DE LAS MUESTRAS**

a. **Requerimientos y Recomendaciones de las muestras.**

- Es imprescindible que el usuario obtenga un de un **ADN de alta calidad y pureza**. Realizar Preferiblemente la **purificación utilizando columnas** (Qiagen o similares). Si se escoge otro método, eliminar completamente las trazas de cualquier contaminante (Etanol, fenol, etc...) ya que interfieren en los pasos de preparación de las muestras. Los métodos recomendados por Affymetrix son QIAGEN – Genra Puregene Kit, 5 PRIME – PerfectPure DNA Blood Kit.
- Proporcionar la cantidad requerida **resuspendida en agua libre de nucleasas o lowTE. 250 ng totales a una dilución mínima de 50 ng/µl**. Cuantificar la muestra mediante Espectrofotometría (i.e.: NanoDrop) A260/280 ≥ 1,8; A260/230 ≥ 1,5. Estos datos deben ser anotados en el Formulario de Solicitud en el lugar indicado para ello.
- **Bicatenario y Sin contaminantes:** RNA, Hemo, quelantes (i.e.EDTA), sales, ADN de otras fuentes/organismos. **MUY IMPORTANTE que no contengan trazas de TRizol. Buffers siempre Bajo en EDTA.**
- **No degradado.** Siempre que sea posible, realizar una electroforesis en gel de agarosa (0.8-1%) de las muestras para **confirmar la integridad de las mismas** (Proporcionar la imagen). El DNA genómico e íntegro debe observarse como una única banda >10-12 kb.

Para cualquier duda puede ponerse en contacto con el Servicio de Genómica a través de las siguientes direcciones de correo electrónico, [Eloisa Andujar](mailto:Eloisa.Andujar@cabimer.es), [Mónica Pérez](mailto:Monica.Perez@cabimer.es), o en el teléfono 954 467 828.

➤ **ENVÍO DE MUESTRAS**

Las muestras de DNA, una vez purificadas y en las concentraciones indicadas en los apartados anteriores se enviarán congeladas en nieve carbónica **en tubos Eppendorf® de 1,5 mL en Agua libre de RNAsas**, junto con una copia original impresa del **Formulario de Solicitud** cumplimentado correctamente.  PDF

Si por algún motivo ajeno a la Unidad, una vez realizada la solicitud, el usuario cancelara la misma, el material fungible correspondiente le será facturado.

La dirección a la cual pueden ser remitidas es:

Unidad de Genómica
Centro Andaluz de Biología Molecular y
Medicina Regenerativa (Cabimer)
Avda. Américo Vespucio s/n
Parque Tecnológico Cartuja´93
41.092 SEVILLA

Horario de recepción de muestras: 9:00 h a 17:00 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.

➤ **ENTREGA DE LOS RESULTADOS**

Una vez terminado el experimento y obtenidos los datos de su análisis, los resultados se le enviarán al usuario vía e-mail o ftp junto con un informe final (*.pdf) explicando el procedimiento empleado técnica y analíticamente, así como la evaluación de los controles de calidad del experimento y procesamiento y normalización de datos.

Se les enviará los ficheros *.CEL (*raw data*) y *.cyCHP (*normalized data*) que contienen toda la información de cada microarray

Esta información se ofrece en un **plazo máximo de 15 días desde su comienzo** (salvo excepciones) desde el comienzo del análisis, el cual será comunicado al usuario vía email.

➤ **TARIFAS**

Consultar con la Unidad.

➤ **INFORMACIÓN DE INTERÉS**

[Affymetrix](http://www.affymetrix.com)

<http://www.affymetrix.com>

[CytoScan HD®](#)

http://www.affymetrix.com/estore/catalog/prod520004/AFFY/CytoScan+HD+Array+Kit+and+Reagent+Kit+Bundle#1_1

CytoScan® 750K

http://www.affymetrix.com/estore/catalog/prod930003/AFFY/CytoScan+750K+Array+Kit+and+Reagent+Kit+Bundle#1_1

CytoScan® Optima Suite

http://www.affymetrix.com/estore/catalog/prod570043/AFFY/CytoScan%26%23174%3B+Optima+Suite#1_1

OncoScan Assays

http://www.affymetrix.com/estore/browse/level_three_category_and_children.jsp?category=35599&categoryIdClicked=35599&expand=true&parent=35923

Chromosome Analysis Suite (ChAS)

http://www.affymetrix.com/estore/browse/level_seven_software_products_only.jsp?categoryIdClicked=&productId=131408#1_1