

Memoria Técnica de la Unidad de Genómica del IBMCC.

La Unidad de Genómica del IBMCC ofrece los siguientes servicios:

- **Secuenciación** de ADN contenido en plásmidos o de fragmentos de PCR utilizando un secuenciador **ABI-3130 xl** (Applied Biosystems). Este sistema permite también el genotipado y análisis de SNPs. El precio sólo incluye los primers universal y/o reverso.
- Sistema **BioAnalyzer** de Agilent que permite un estudio cuantitativo y cualitativo de muestras de RNA, DNA y proteínas. Su uso para RNA da una estimación exacta de la concentración, grado de degradación y grado de contaminación.
- **Extracción de ADNs** y purificación de productos de PCR automatizada empleando el Biorobot 3000 de QIAGEN.
- **Impresión de microarrays** en portas de vidrio usando el arrayer **MGII** (Biorobotics). Las muestras a imprimir deben ser proporcionadas por el usuario. El servicio incluye la generación de ficheros para el posterior ajuste y análisis de datos.
- **Hibridación y lavado automático** de hasta 12 chips mediante el sistema robotizado hs4800pro de Tecan. El uso de este equipamiento da resultados muy reproducibles y backgrounds más reducidos y homogéneos que la hibridación manual. El usuario suministra los chips y las muestras marcadas.

Se ofrece el **escaneado** de chips de vidrio hibridados usando el scanner **GenePix4000B** (Axon) e integración de datos posterior (ajuste de la red y extracción de datos en crudo) mediante el software GenePix 4.0.

- **Servicios con tecnología Affymetrix.** Éstos incluyen los siguientes módulos de trabajo:

1 • Análisis completo de expresión génica diferencial utilizando el sistema GeneChip de Affymetrix en diferentes organismos:

- Gene Chip Human Genome U133 Plus 2.0
- Gene Chip Mouse Genome 430 2.0
- Gene Chip Rat Genome 230 2.0 Array
- Gene Chip Arabidopsis ATH1 Genome Array
- Gene Chip Drosophila Genome 2.0 Array
- Gene Chip Yeast Genome 2.0 Array

Más información sobre estos chips se puede encontrar en www.affymetrix.com

El cliente tendrá que suministrar el **RNA total** (en función del tipo de array seleccionado se requerirá una cantidad u otra). Recomendamos el uso del kit "**RNAeasy**" (Qiagen Cat # 74104 o similar). No se recomienda la obtención de RNA usando el método de Trizol o similares (si se ha purificado con Trizol, se necesita una segunda purificación con RNAeasy). Nuestra unidad se encarga de todo lo demás.

El precio incluye:

- 1) Análisis de cantidad y calidad de los RNA suministrados usando el BioAnalyzer (Agilent).
- 2) Síntesis de cDNA.
- 3) Síntesis de cRNA biotinilado.
- 4) Hibridación con chips humanos, de ratón u otros.

5) Integración informática de los resultados obtenidos.

6) El cliente recibe los datos tanto en papel como en CD en un formato compatible con su uso en otros programas informáticos de análisis genómicos. Los datos que se suministrarán contendrán el listado total de genes con su detección (Presencia/Ausencia) y su señal.

El servicio tarda por lo general 2-3 semanas si el cliente avisa con antelación del suministro de las muestras.

En el CIC, a través de su **Unidad de Bioinformática**, puede también realizar, a petición del usuario, análisis estadísticos y de anotación funcional de los resultados obtenidos. Más información sobre este servicio adicional, que no se incluye en el precio de los chips dados en este catálogo, puede encontrarse en la página web: <http://ubioinfo.cicancer.org>

2 • Otros servicios que se ofrecen en la Unidad del Genómica del CIC

Gene Array System

- Gene Chip Human Gene 1.0 ST Array
- Gene Chip Mouse Gene 1.0 ST Array
- Gene Chip Rat Gene 1.0 ST Array
- Clariom S Arrays Human/Mouse
- Clariom D Arrays Human/Mouse
- Human transcriptome Array
- Mouse transcriptome Array
- Prime View Array

Versión de arrays para estudios de expresión diferencial más completo y económico que los clásicos GeneChip Arrays. Más información sobre estos chips puede encontrarse en la página web: www.affymetrix.com

• El cliente debe suministrar el RNA Total (en función del tipo de array seleccionado se requerirá una cantidad u otra). Recomendamos el uso del kit "RNAeasy" (Qiagen Cat # 74104 o similar). No se recomienda la obtención de RNA usando el método de Trizol o similares (si se ha purificado con Trizol, se necesita una segunda purificación con RNAeasy). Nuestra unidad se encarga de todo lo demás.

El precio incluye:

- 1) Análisis de cantidad y calidad de los RNA suministrados usando el BioAnalyzer (Agilent).
- 2) Síntesis de cDNA.
- 3) Síntesis de cRNA
- 4) Síntesis de la cadena DNA con sentido DNA SS (+)
- 5) Hidrólisis y limpieza del DNA SS(+)
- 6) Fragmentación del DNA SS(+)
- 7) Marcaje del DNA SS (+) fragmentado
- 8) Hibridación con chips humanos, de ratón u otros
- 9) Escaneado de los arrays (archivo .CEL)
- 10) El cliente recibe los datos tanto en papel como en CD en un formato compatible con su uso en otros programas informáticos de análisis genómicos

NOTA: Desde la Unidad de Genómica sólo podemos ofrecer los datos en crudo (es decir los archivos .CEL). El usuario deberá realizar el estudio final en su laboratorio o, alternativamente, contactar con la Unidad de Bioinformática del CIC (<http://ubioinfo.cicancer.org>).

Exon Array System

- Gene Chip Human Exon 1.0 ST Array
- Gene Chip Mouse Exon 1.0 ST Array
- Gene Chip Rat Exon 1.0 ST Array

Permiten analizar expresión diferencial y splicing alternativo de genes.

Para más información ver www.affymetrix.com

- El cliente debe suministrar el RNA Total (aproximadamente 5 µl a una concentración de 400 ng/µl). Recomendamos el uso del kit “**RNAeasy**” (Qiagen Cat # 74104 o similar). No se recomienda la obtención de RNA usando el método de Trizol o similares (si se ha purificado con Trizol, se necesita una segunda purificación con RNAeasy). Nuestra unidad se encarga de todo lo demás.

El precio incluye:

- 1) Análisis de cantidad y calidad de los RNA suministrados usando el BioAnalyzer (Agilent).
- 2) Reducción RNA ribosomal
- 3) Análisis del RNA reducido usando el BioAnalyzer (Agilent).
- 4) Síntesis de cDNA
- 5) Síntesis de cRNA
- 6) Síntesis de la cadena DNA con sentido DNA SS (+)
- 7) Hidrólisis y limpieza del DNA SS(+)
- 8) Fragmentación del DNA SS(+)
- 9) Marcaje del DNA SS (+) fragmentado
- 10) Hibridación con chips humanos, de ratón u otros
- 11) Escaneado de los arrays (archivo .CEL)
- 12) El cliente recibe los datos tanto en papel como en CD en un formato compatible con su uso en otros programas informáticos de análisis genómicos

NOTA IMPORTANTE: Desde la Unidad de Genómica sólo podemos ofrecer los datos en crudo (es decir los archivos .CEL).

El usuario deberá realizar el estudio final en su laboratorio o, alternativamente, contactar con la Unidad de Bioinformática del CIC; <http://ubioinfo.cicancer.org>

Tiling Array System

- Gene Chip *S.pombe* Tiling 1.0 FR Array
- Gene Chip *S.cerevisiae* Tiling 1.0 FR Array

Arrays para la identificación de zonas promotoras reguladoras a nivel genómico mediante inmunoprecipitación (**ChIP-on-chip**). Como cubren todo el genoma de la levadura *S. pombe*, también sirven para muchos otros tipos de estudios de hibridación a nivel del genoma completo.

Más información en www.affymetrix.com

- El cliente debe suministrar el RNA Total(7 µg, en 7µl)

Recomendamos el uso del kit “**RNAeasy**” (Qiagen Cat # 74104 o similar). No se recomienda la obtención de RNA usando el método de Trizol o similares (si se ha purificado con Trizol, se necesita una segunda purificación con RNAeasy). Nuestra unidad se encarga de todo lo demás.

El precio incluye:

- 1) Análisis de cantidad y calidad de los RNA suministrados usando el BioAnalyzer (Agilent).
- 2) Síntesis del cDNA
- 3) Fragmentación del cDNA
- 4) Marcaje del cDNA fragmentado
- 5) Hibridación con chips humanos, de ratón u otros
- 6) Escaneado de los arrays (archivo .CEL)
- 7) El cliente recibe los datos tanto en papel como en CD en un formato compatible con su uso en otros programas informáticos de análisis genómicos

NOTA: Desde la Unidad de Genómica sólo podemos ofrecer los datos en crudo (es decir los archivos .CEL).

El usuario deberá realizar el estudio final en su laboratorio o, alternativamente, contactar con la Unidad de Bioinformática del CIC; <http://ubioinfo.cicancer.org>

miRNA Array System

Arrays para el estudio de microRNAs de distintos organismos.
Más información en www.affymetrix.com

El usuario suministra aproximadamente 1.5 µg de RNA total a unos 150 ng/µl
Este RNA total debe estar purificado mediante alguno de los siguientes kits, ya que es necesario preservar los RNAs de bajo peso molecular:

- Marligen Vantage kits
- Applied Biosystems miRVana kits
- Qiagen miRNeasy kits

El precio incluye:

- 1) Análisis de cantidad y calidad de los RNA suministrados usando el BioAnalyzer (Agilent).
- 2) Tailing PolyA
- 3) Ligación con Flash Tag kit
- 4) Ensayo de calidad del marcaje (ELOSA)
- 5) Hibridación miRNA Arrays
- 6) Escaneado de los arrays (archivo .CEL)
- 7) El cliente recibe los datos tanto en papel como en CD en un formato compatible con su uso en otros programas informáticos de análisis genómicos

NOTA: Desde la Unidad de Genómica sólo podemos ofrecer los datos en crudo (es decir los archivos .CEL).

El usuario deberá realizar el estudio final en su laboratorio o, alternativamente, contactar con la Unidad de Bioinformática del CIC; <http://ubioinfo.cicancer.org>

Servicio completo de genotipado-SNPs y CNV Gene Chip Human Mapping 250K

- Nspl/Styl arrays,
- Genome-Wide Human SNP 6.0 Arrays,
- CytoScan 750k arrays
- CytoScan HD arrays

La Unidad de Genómica ofrece el servicio completo de genotipado-SNPs y CNV con la plataforma de Affymetrix. El empleo de Genome-Wide Human SNP 6.0 y CytoScan arrays también permite detectar pérdida de heterocigosidad (LOH) y Disomía Uniparental en un único ensayo. Para más información <https://www.affymetrix.com>.

El servicio incluye todos los pasos de procesamiento, desde la recepción de muestras de ADN genómico hasta la obtención de datos de señal de cada microarray. Todo ello con los controles de calidad necesarios para verificar que el proceso ha sido correcto y los datos satisfactorios.

El usuario deberá suministrar 500 ng de ADN genómico para estudios con Gene Chip Human Mapping 250K Nspl/Styl, Genome-Wide Human SNP 6.0 Arrays, y 250 ng si se va a emplear CytoScan arrays. El ADN debe estar no degradado y sin contaminantes, resuspendido en "reduced TE-EDTA buffer", o en su defecto en agua.

En el procesamiento de muestras el ADN genómico es inicialmente digerido con enzimas de restricción, posteriormente ligado a un adaptador con T4 DNA ligasa y amplificado por PCR. Los productos de PCR una vez purificados y normalizados, son fragmentados (DNAsal) y finalmente marcados usando deoxynucleotidil transferasa, para posteriormente hibridar en el correspondiente array.

Al cliente se le entrega un informe en papel y un DVD con todos los ficheros obtenidos, incluyendo los generados mediante el uso del software AGCC y ChAS.

NOTA: Desde la Unidad de Genómica sólo podemos ofrecer los datos en crudo (es decir los archivos .CEL). El usuario deberá realizar el estudio final en su laboratorio o, alternativamente, contactar con la Unidad de Bioinformática del CIC (<http://ubioinfo.cicancer.org>).

Servicio OncoScan. Es un ensayo de arrays a nivel de todo el genoma para la investigación en citogenética molecular y análisis de alta resolución de variación en el número de copias de ADN. Emplea la tecnología MIP (Molecular Inversion Probe) para capturar los alelos de ~220,000 SNPs de localizaciones génomicas cuidadosamente seleccionadas, distribuidos homogéneamente en todo el genoma y con mayor densidad en ~900 genes relacionados con cáncer.

Para la realización de todos estos servicios en la Unidad contamos con la siguiente infraestructura:

- 1) Secuenciador automático ABI-3100, Applied Biosystems
- 2) Bioanalyzer System 2100 de Agilent.
- 3) Microarrayer (Microgrid II, Biorobotics) para la fabricación de chips a la carta.
- 4) Hibridador/lavador automático de chips de vidrio (HS 4800 Pro de TECAN).
- 5) Scanner para leer los chips hibridados (GenePix4000B, Axon).
- 6) Plataforma "GeneChip®System 3000 Node de Affymetrix" para análisis genómicos compuesto por:

1.- Horno de hibridación: Hybridization Oven 645:

El horno de hibridación permite un preciso control de la temperatura y la rotación de los arrays, asegurando una agitación continua, para obtener resultados consistentes en las diferentes aplicaciones realizadas con los GeneChip Arrays. El GeneChip® Hybridization Oven 645 asegura la correcta hibridación de hasta **64 GeneChip arrays al mismo tiempo.**

El GeneChip Hybridization Oven 645, tiene un diseño ergonómico en su panel frontal que indica el estado de cada uno de los pasos de la hibridación y permite ajustar la temperatura y velocidad de rotación que se requieren para las diferentes aplicaciones. El panel frontal además incluye una pantalla que permite visualizar y monitorizar cada uno de los pasos de la hibridación.

El GeneChip Hybridization Oven incluye 8 cestillas, cada una de ellas permite acomodar hasta 8 GeneChip arrays, lo que permite hibridar hasta 64 GeneChip arrays al mismo tiempo.

Para facilitar el manejo de los arrays y asegurar su correcta manipulación sin error, cada uno de los arrays (y las bandejas del horno de hibridación), incluyen códigos de barras, para ser monitorizados automáticamente. Además los GeneChip arrays están insertados en un cartucho, que además de incluir el código de barras para cada array, es asimétrico, de manera que no se pueda producir ningún error al introducir los GeneChip arrays en el GeneChip Hybridization Oven.

Especificaciones:

Dimensiones	48cm alto x 46 cm ancho x 38 cm profundo
Peso	22.7 Kg
Requerimientos de potencia	190v-264V@47Hz-65Hz (220V). Menos de 100 VA (110V, 220V)
Condiciones	15QC a 30 Q(15% a 85% humedad relativa)
Requerimientos de funcionamiento	Velocidad rotación carrusel:- 0.80 RPM Rango temperatura de trabajo del horno-ambiente+5 °C hasta 70 °C. Precisión de temperatura- 0.4 °C del punto de calibración. Seguridad de temperatura-2.0 °C del rango de temperatura mostrado en el display, desde 30 °C a 60 °C
Requerimientos de regulación	CSA Estándares para Note América IEC estándares de seguridad. Directrices LVD y EMC para la unión Europea y marca CE (EN 61000-4-4:EFT/B, EN 61010-1, bajo voltaje)

2.- Estación de fluidos:GeneChip® Fluidics Station 450:

La estación de fluidos está diseñada para facilitar la manipulación de los GeneChip Arrays, de manera que se incremente la eficiencia en el manejo de los arrays, *automatizando el proceso de tinción y la conjunción de los anticuerpos necesarios para poder detectar las señales fluorescentes en el escáner.*

La GeneChip® Fluidics Station 450 permite procesar como promedio de 16 arrays diarios.

Especificaciones:

Fluidics Scripts	Fluidics Station 450 scripts diseñados en Microarray Suite by suffix 450
Dimensiones	40.2cm largo x 41.0 cm profundo , x 71.1cm ancho
Peso	Aproximadamente 36Kg
Especificaciones eléctricas	Voltaje: 100-240 V, Corriente: 3A, Potencia: 300W.

3.- Ordenador con procesador Quad Xeon.

El GeneChip®System 3000 Node incluye una estación de trabajo que controla el sistema y posibilita el análisis de los datos con los distintos paquetes informáticos. El

ordenador incluido con el Sistema es un ordenador Dell, con sistema operativo Window XP, la configuración mínima es de un procesador Quad Core Xeon, 4 GB RAM, 2 discos duros{500GB y 1TB) Incluye un monitor plano de 20 pulgadas.