

EVALUACIÓN EN UN ESTUDIO MULTICÉNTRICO DE LA INFLUENCIA DE LA EXTRACCIÓN Y PROCESAMIENTO MEDIANTE LA DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD Y CANTIDAD DE ADN Y ARN

Andrea García-Jérez^{1,2}, Alicia Luengo-Rodríguez^{1,2}, José Manuel Valdivielso³, Laura Calleros-Basilio^{1,2} y Manuel Rodríguez-Puyol¹.

¹Departamento de Biología de Sistemas. Facultad de Medicina. Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, Madrid

². Biobanco REDInREN. Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, Madrid. ³ IRBLLeida, Lleida.

INTRODUCCIÓN:

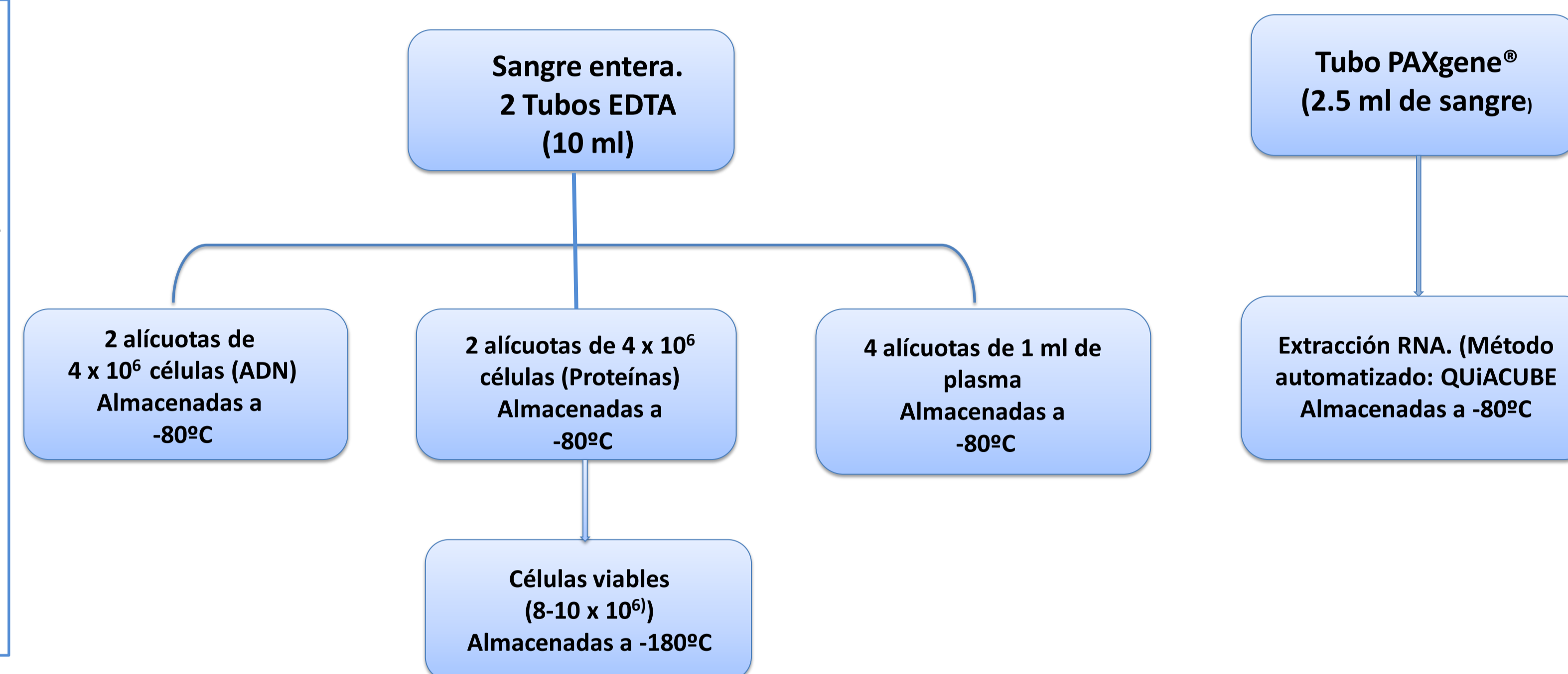
El proyecto Nefrona es un estudio observacional y multicéntrico (en todo el territorio español), de pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) en distintos estadios.

La misión principal del Biobanco de REDInREN ha sido centralizar las muestras de dichos pacientes procedentes de diferentes centros aplicando una serie de procesamientos mediante protocolos estandarizados y obtener una amplia colección de muestras de alto valor biológico.

El objetivo de éste trabajo fue comparar la eficacia de la extracción y traslado de muestras realizadas en los diferentes centros por el personal de Nefrona y el correcto procesamiento de esas muestras extraídas en el Biobanco.

MATERIALES Y METODOS:

- **Aislamiento de PBMCs:** Fueron aislados a partir de sangre periférica mediante centrifugación por gradiente (Ficoll). Para éste estudio se han utilizado muestras de pacientes y de distintos centros.
- **Extracción de ARN:** Mediante el *PAXgene Blood RNA System* aislado a partir de el *PAXgene® Blood RNA Kit* de manera automatizada con el robot *QUIACUBE* (Quiagen).
- **Extracción de ADN:** Se extrajo de manera automatizada con el robot *QUIACUBE* (Quiagen) a partir de *PBMC*.
- **Calidad del ARN y del ADN:** Se han analizado y controlado parámetros concretos como:
 - Pureza y Concentración (mediante espectrofotometría)
 - Determinación del ARN Integrity Number (RIN)



RESULTADOS:



Figura 1. Poblaciones en las que se ha llevado a cabo la recogida de muestras para el estudio.

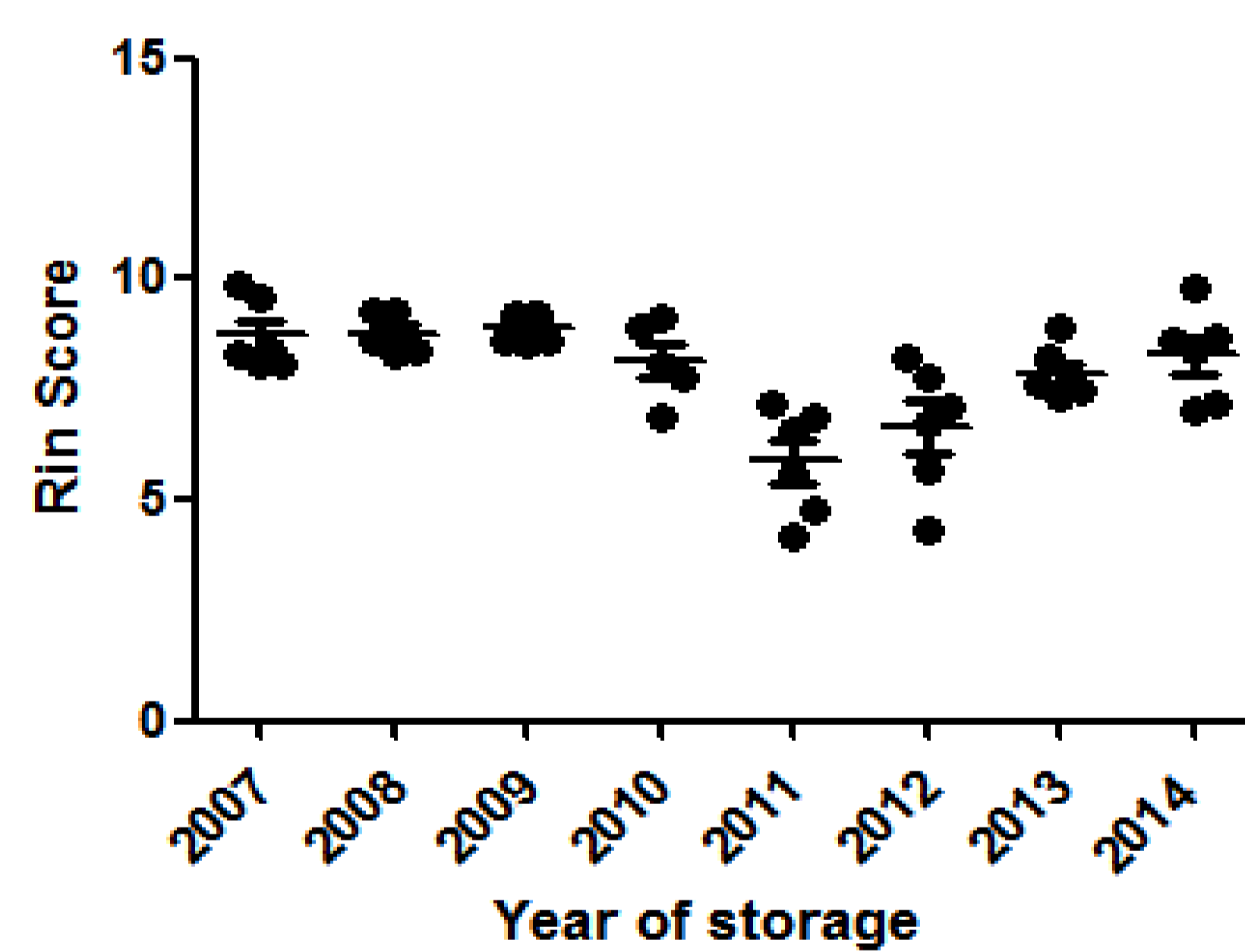


Figura 2. Valores de RIN (RNA Integrity Number) en función de los años de almacenamiento en el biobanco.

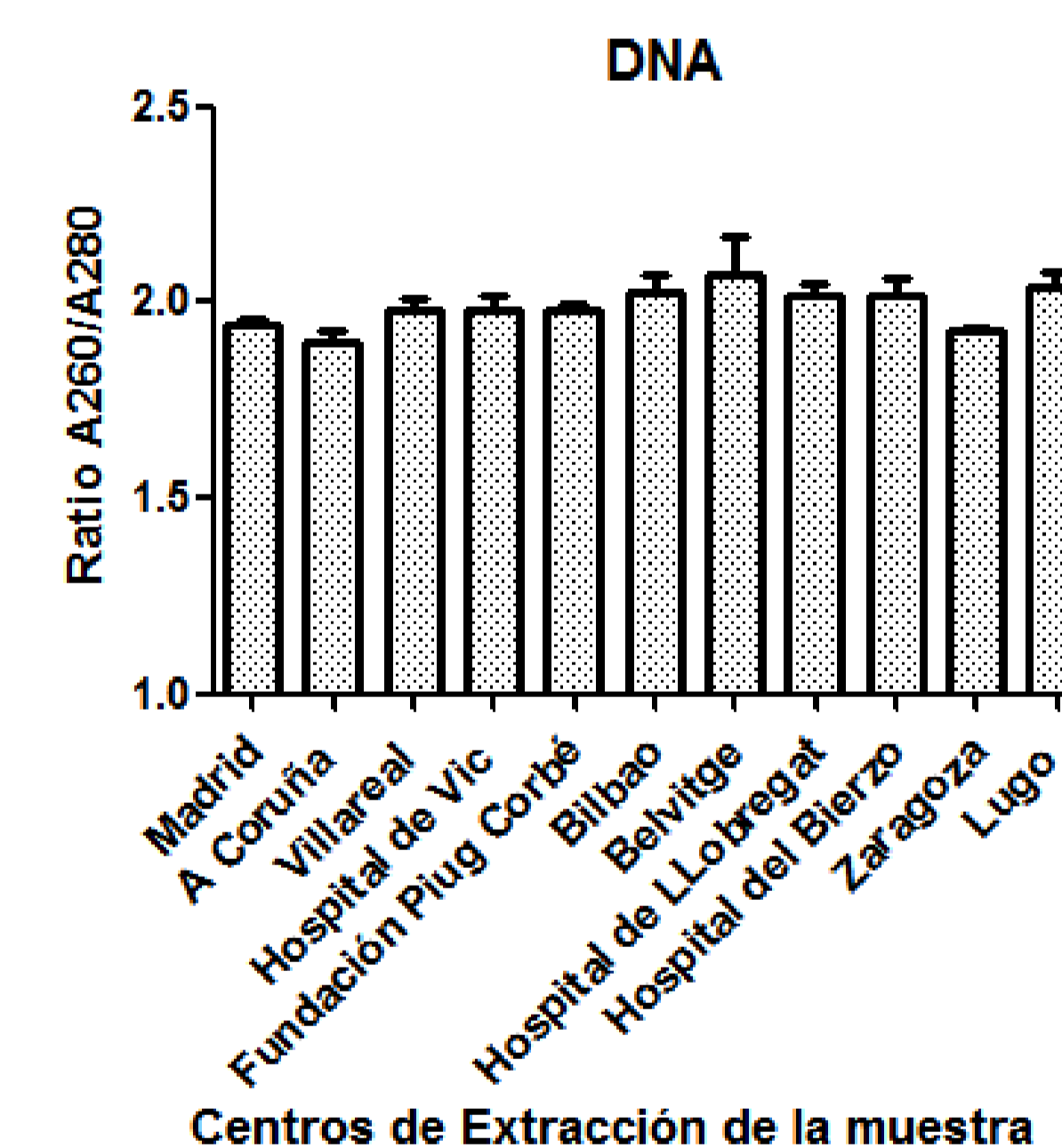
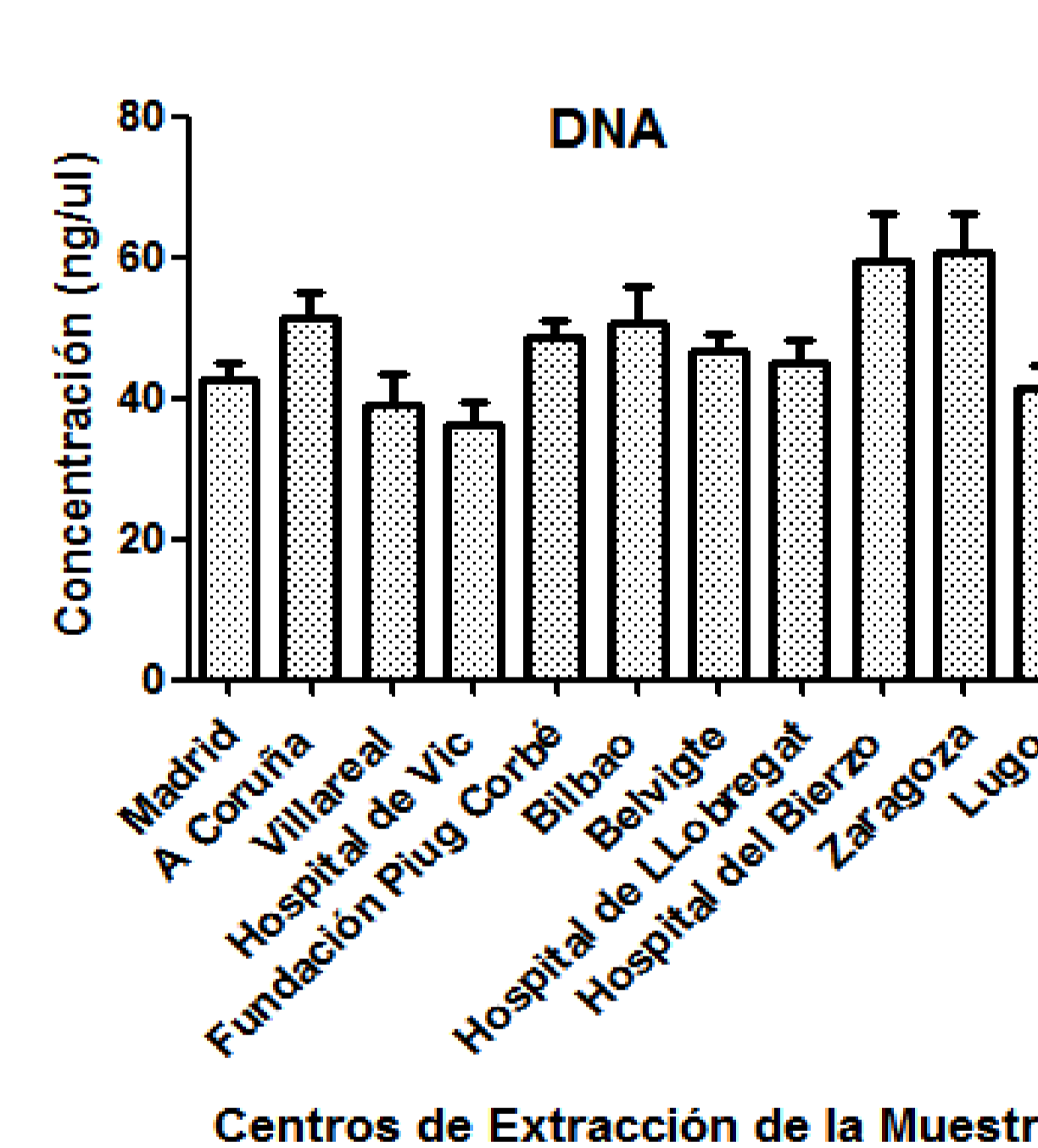


Figura 4. Calidad de la Extracción de DNA en 11 centros del proyecto, se muestra que no hay diferencias significativas con respecto a los ratios A260/A280, cuya media global ha sido $1,96 \pm 0,01$, ni en los valores de concentración obtenidos. Figura 5. Calidad de la Extracción de RNA en 11 centros del proyecto, como en la situación anterior no se muestran diferencias significativas en los ratios A260/A280 obtenidos cuya media es $2,043 \pm 0,01$. Con respecto a la concentración se obtienen valores óptimos, aunque si ha alguna diferencia significativa entre un centro u otro.

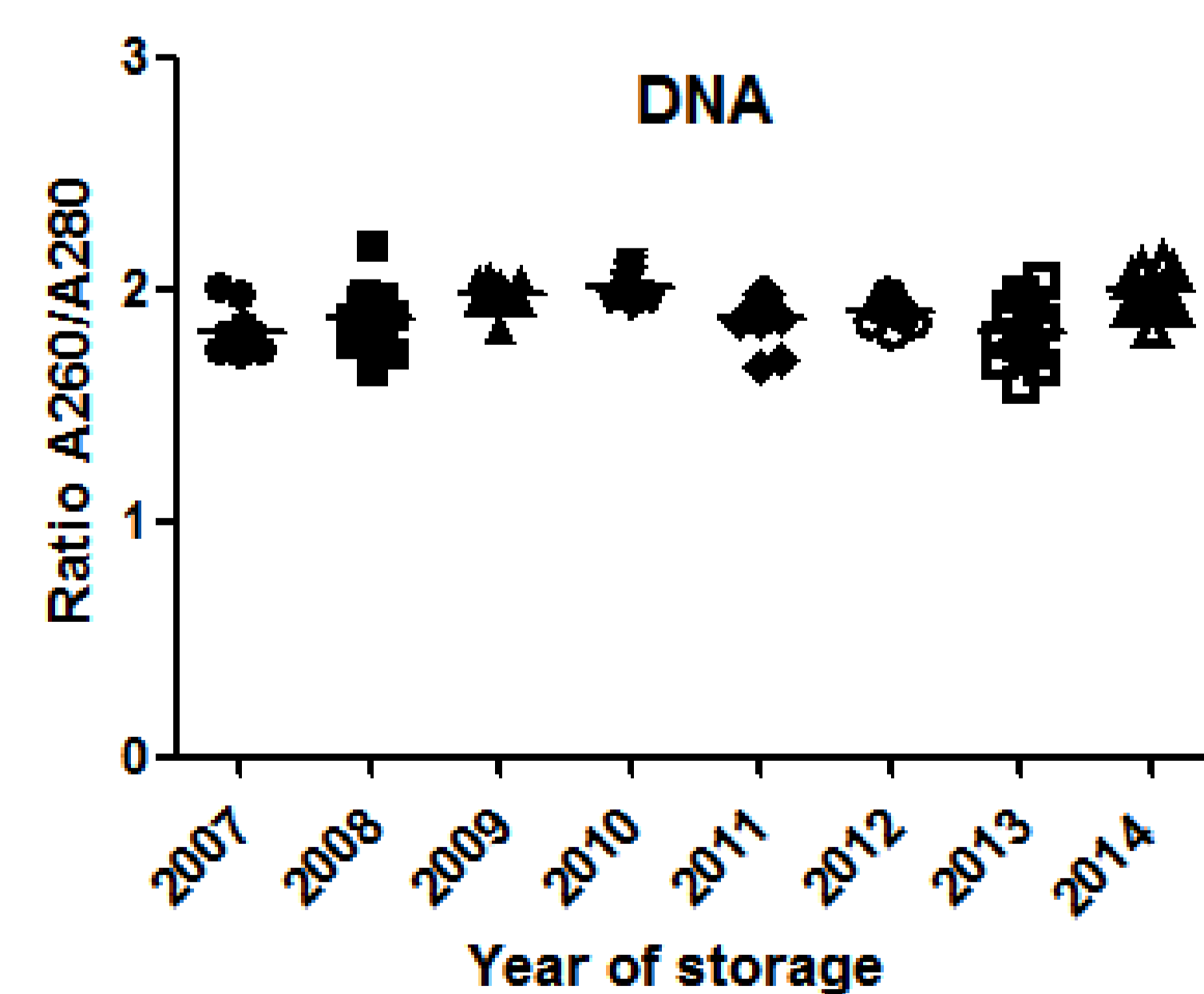
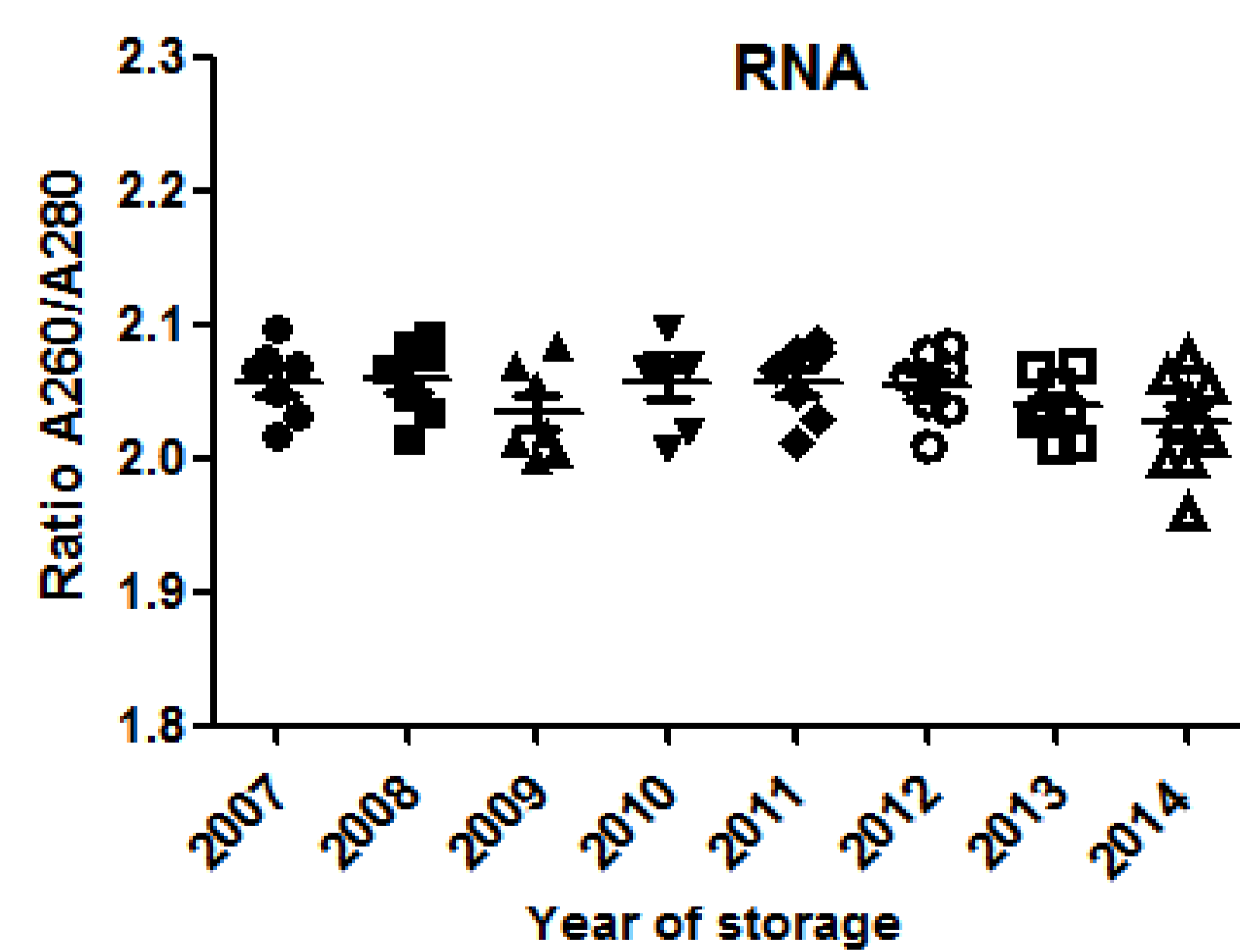
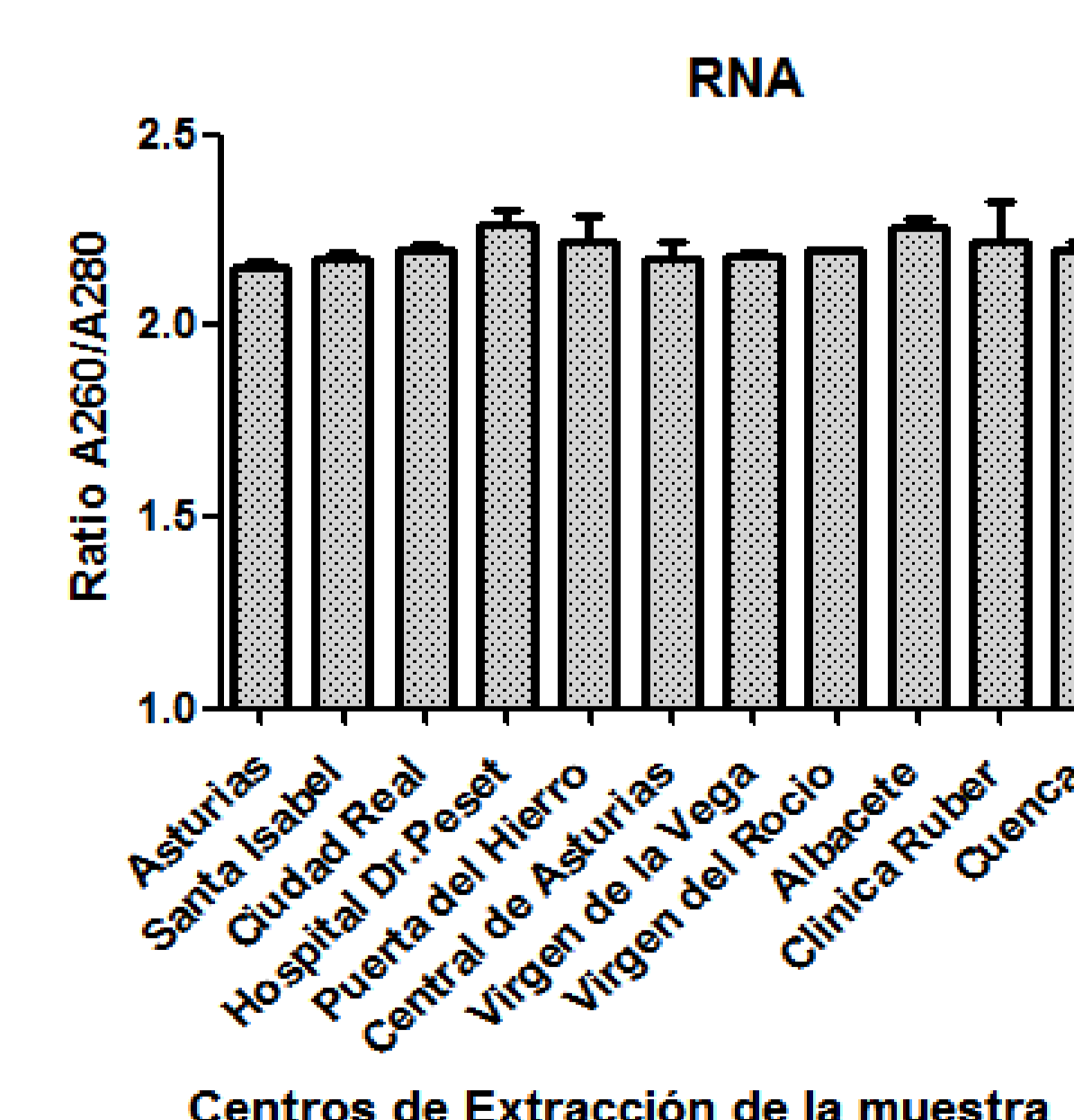
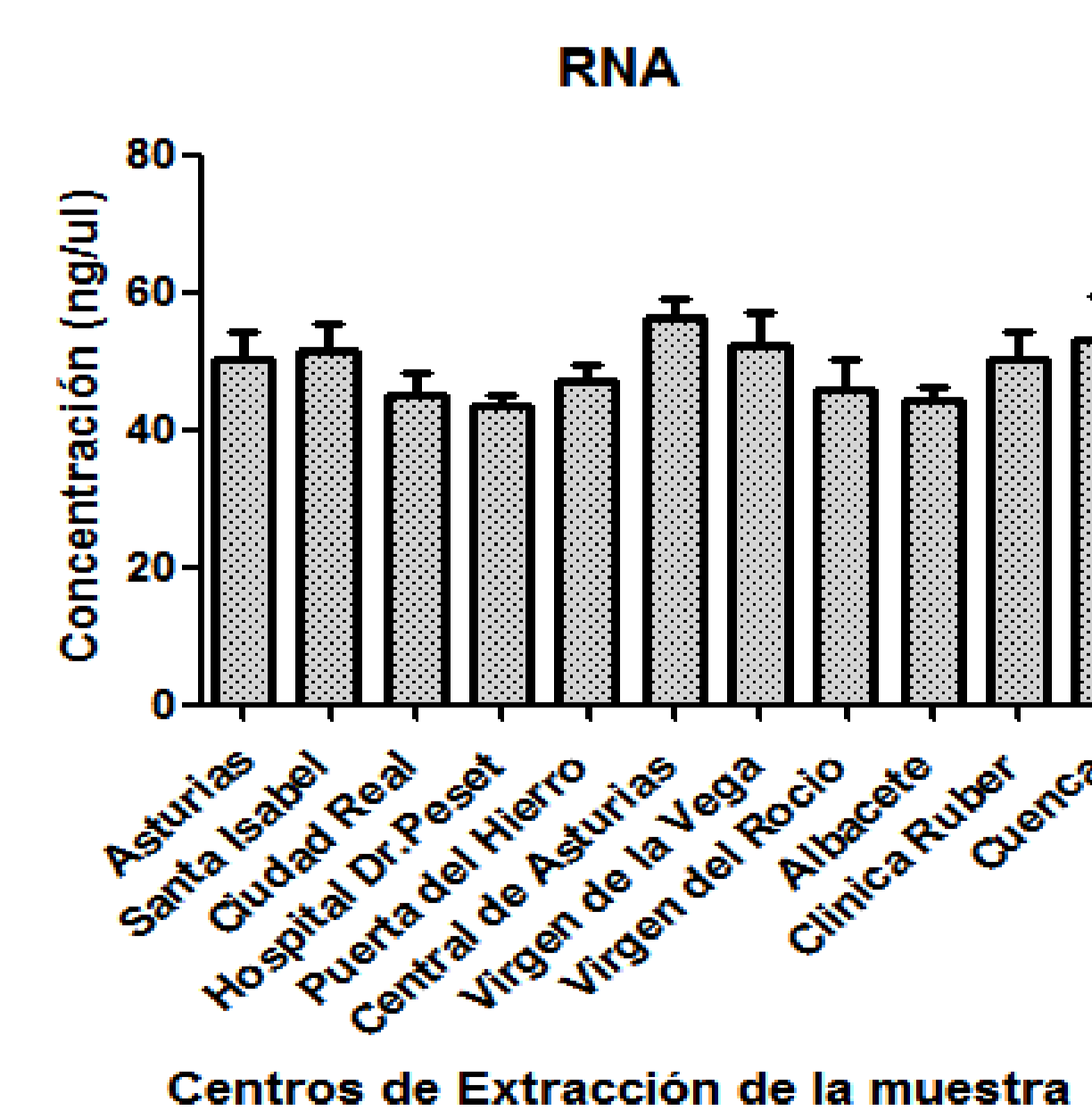


Figura 3. Calidad del Almacenamiento: Valores obtenidos de los ratios A260/A280 en función de los años de almacenamiento: en la imagen se muestra que se consigue mantener la calidad del almacenamiento de las muestras ya que los valores del ratio de A260/A280 no presentan diferencias significativas al compararlos.



CONCLUSIÓN:

La sistematización de los controles de calidad que se realizan en el Biobanco de REDInREN nos ha permitido valorar como ha podido afectar la extracción realizada en el centro de origen y su posterior traslado en la obtención del material biológico, concluyendo que la metodología de trabajo desarrollada por los miembros del proyecto Nefrona y el biobanco consiguen ser efectiva y permitiendo almacenar un producto biológico de calidad y útil.