

Métodos de obtención de ADN, ARN y proteínas y validación de su calidad.

El Biobanco procesa de forma adecuada muestras de tejido congeladas, fijadas en formalina tamponada, o muestras celulares, y emplea columnas con filtros de sílice para la adsorción y posterior purificación de ADN y ARN y proteínas. Mediante el empleo de distintos kits comerciales que utilizan esta tecnología, es posible obtener ADN genómico, ARN total y eventualmente proteínas totales de la muestra biológica, en cantidad suficiente para el desarrollo de las investigaciones, si bien en el caso de las proteínas la eficiencia depende de la técnica subsiguiente.

La concentración y pureza del ADN y el ARN se estudia mediante espectrofotometría en el rango ultravioleta y posteriormente se verifica su integridad mediante electroforesis en gel de agarosa.

Las proteínas se entregan normalmente precipitadas, de forma que cada investigador las resuspende en la solución tampón más adecuada para su ensayo particular. En el caso de estudios en de inmunolectrotransferencia (*western-blot*), parece que la resuspensión es más segura (proteínas y grupos fosfato conservados) y en el caso de uso en ensayos con condiciones no desnaturizantes, como en paneles de anticuerpos en membrana (“*arrays* de proteínas”), enzimoimmunoensayos (EIA) o inmunoprecipitación (IP), estamos trabajando en asegurar el método. Como alternativa para estos últimos ensayos, las proteínas pueden obtenerse directamente a partir de cortes en congelación del tejido, asegurando durante toda la metodología la presencia de inhibidores de proteasas y fosfatasas.

BIOBANCO HOSPITALARIO CHUA, fecha de elaboración: 21 febrero de 2011
Autor: Ángel Arriaga Aragón (Biólogo-Técnico del Biobanco CHUA).