



GUÍA PARA EL PROCESAMIENTO DE ARRAYS DE EXPRESIÓN AFFYMETRIX

-Contactar con el personal de la Sección encargado del procesamiento de los arrays y establecer qué tipo de estudio se va a llevar a cabo.

Persona de contacto: M^a José López Andreo

Teléfono de contacto: 868-887295/868-888330

e-mail de contacto: majoloan@um.es

-Antes de comenzar un estudio hay que establecer claramente:

1º-El objetivo del experimento.

2º-Las condiciones experimentales que se van a estudiar y los controles más apropiados para el caso.

3º-El nº de réplicas por condición experimental (*se recomienda un mínimo de 3 réplicas biológicas*).

4º-El tipo de array más adecuado para nuestros intereses.

La información de todos los arrays de expresión de Affymetrix se puede encontrar en:

<http://www.affymetrix.com>

Una vez definido el estudio y establecido con el personal de la Sección cuándo se va a comenzar el procesamiento de las muestras, el usuario debe rellenar la hoja de solicitud correspondiente y traerla (o enviarla) a la Sección junto con las muestras a procesar.

Si las muestras se van a enviar por mensajero, es necesario mantenerlas congeladas en nieve carbónica durante todo el proceso de envío.

Se recomienda contactar previamente con el personal de la Sección para asegurarse de que la recepción de las muestras se va a producir en las condiciones adecuadas.

Para comodidad de los investigadores a la hora de publicar los resultados de sus experimentos con microarrays, el formulario de solicitud se ha establecido teniendo en cuenta los parámetros del código MIAME (minimum information about a microarray experiment). De cualquier forma, siempre se pueden incluir datos con posterioridad.

Requerimientos de las muestras:

Las muestras a procesar, que serán de **ARN purificado resuspendido en agua libre de RNasas**, deben cumplir una serie de requisitos de calidad y de cantidad.

Calidad:

Es importante tanto la pureza de la muestra como su integridad.

Para establecer la pureza de la muestra, se medirá la relación de Abs260/280 que debe estar entre **1.7 y 2.1**.

La integridad de la muestra se comprobará con electroforesis en gel de agarosa desnaturalizante o con análisis microfluídico en un chip de bioanalizador.

Cantidad:

La cantidad mínima de la muestra a procesar debe ser **≥500 ng de ARN total**.

Según el tipo de array, la concentración mínima requerida será:

Tipo de array	Concentración mínima	Concentración recomendada
3' IVT	50 ng/μl	100 ng/μl
Gene o Exon	100 ng/μl	200 ng/μl

* No supondrá problema alguno el envío de mayor cantidad de muestra o a mayor concentración de la mínima requerida siempre que se indique.

Una vez recepcionadas las muestras en la Sección se procederá a comprobar el estado en el que han llegado como paso previo al procesamiento de los arrays (se analizarán mediante nanodrop y bioanalizador).

Si alguna muestra no cumple con las características de calidad o cantidad requeridas, se contactará con el usuario para decidir la mejor opción.

Tanto si se continúa con la muestra como si se elimina del estudio, se facturará el coste correspondiente al procesado de la muestra hasta ese momento.

Con las muestras que presenten las características establecidas se procederá al marcaje, hibridación en arrays y posterior lectura de los resultados en el escáner.

Para la **obtención de los arrays que se vayan a emplear y los reactivos necesarios** para su procesamiento se podrán seguir dos vías;

-Si el array requerido aparece ofertado en las tarifas de la Sección, todo el material necesario para su procesamiento se podrá adquirir en la Sección.

-Si el array a emplear no se oferta oficialmente en las tarifas de la Sección, el usuario podrá comprarlo directamente a Affymetrix y únicamente se facturarán los reactivos necesarios para su procesamiento.

-En cualquier caso, si el usuario lo prefiere, podrá comprar directamente a Affymetrix tanto los arrays, como los kits de reactivos necesarios para su procesamiento.

-Al precio establecido para el procesamiento de cada muestra (array y reactivos y lectura en escáner) se le sumará el importe correspondiente al fungible genérico empleado.

-Una vez procesadas las muestras, se emitirá un **informe final** en el que se incluirán los pertinentes controles de calidad realizados a lo largo del procesamiento de las muestras y los datos de intensidad brutos y normalizados con los algoritmos correspondientes.