

## UNIDAD DE SECUENCIACIÓN HOSPITAL UNIVERSITARIO SANT JOAN DE DEU

La Unidad de secuenciación del Hospital Universitario Sant Joan de Déu, es una unidad de reciente creación que nace con el objetivo de prestar servicios en secuenciación automática de DNA y análisis de fragmentos a los grupos de investigación de la Fundación Sant Joan de Déu, así como a otros laboratorios públicos o privados. La unidad de secuenciación está ubicada en el Servicio de Diagnóstico de laboratorio de este Hospital.

### **Equipamiento**

La unidad de secuenciación dispone de un analizador genético avanzado, *AbiPrism 3730xl DNA analyzer* de Applied Biosystem. Este instrumento, dotado de 16 capilares, automatiza el proceso desde la carga de la muestra hasta su análisis posterior mediante software específico. Dependiendo de la calidad de la muestra es posible obtener secuencias de hasta 950 pb.

### **Servicios ofrecidos**

#### ***-Secuenciación de ADN purificado por el usuario.***

Trabajamos a partir del producto de la reacción de secuenciación una vez purificado. El sistema de electroinyección del secuenciador es altamente sensible a impurezas (sales, EDTA, ARN, restos de nucleótidos, enzimas de la reacción de PCR, etc). Los productos no purificados adecuadamente provocan el deterioro de los capilares y disminuyen la calidad de la secuencia. El usuario es responsable de la purificación adecuada del producto a secuenciar. Esta previsto en un futuro que la unidad asuma esta fase de purificación.

#### ***- Análisis de fragmentos***

Se realiza la cuantificación del tamaño de los fragmentos de ADN en relación a estándares internos suministrados por el usuario

### **Preparación y envío de muestras**

1.- Se ha de rellenar la hoja de solicitud de estudio (Anexo1). En esta hoja se debe indicar fecha de entrega de las muestras, nº de muestras entregadas, nombre y código del usuario, grupo de investigación, centro de facturación y tipo de estudio (secuenciación de DNA o análisis de fragmentos). Si se trata de secuenciación se debe añadir si son secuencias cortas o largas, BigDye utilizado y sistema de purificación. La hoja de solicitud acompañará a las muestras siendo muy conveniente su envío adicional por email.

2 - Hasta un total de 48 muestras se pueden enviar con tubos eppendorff. Cada eppendorff debe ir rotulado con el código de usuario (iniciales del nombre y apellidos del usuario) seguido de números consecutivos. Ejemplo: CEA1, CEA2, CEA3, CEA4 ..

3 - A partir de 48 muestras, es preferible enviar en formato de placa de 96 pocillos (Applied Biosystems). Las muestras han de colocarse por columnas.

#### EJEMPLO

|   | 1   | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-----|------|------|------|------|------|------|------|---|----|----|----|
| A | MA1 | MA9  | MA17 | MA25 | MA33 | MA41 | MA50 | MA58 |   |    |    |    |
| B | MA2 | MA10 | MA18 | MA26 | MA34 | MA42 | MA51 | MA59 |   |    |    |    |
| C | MA3 | MA11 | MA19 | MA27 | MA35 | MA43 | MA52 |      |   |    |    |    |
| D | MA4 | MA12 | MA20 | MA28 | MA36 | MA44 | MA53 |      |   |    |    |    |
| E | MA5 | MA13 | MA21 | MA29 | MA37 | MA45 | MA54 |      |   |    |    |    |
| F | MA6 | MA14 | MA22 | MA30 | MA38 | MA46 | MA55 |      |   |    |    |    |
| G | MA7 | MA15 | MA23 | MA31 | MA39 | MA47 | MA56 |      |   |    |    |    |
| H | MA8 | MA16 | MA24 | MA32 | MA40 | MA48 | MA57 |      |   |    |    |    |

Cada color es una carrera ya que el secuenciador consta de 16 capilares. A la entrega de la placa, se debe entregar la plantilla correspondiente indicando lo que hay en cada posición, utilizando la nomenclatura del código de usuario seguido de la serie de números consecutivos.

5.- El volumen de muestra debe ser de 15-20µl o enviado como “pellet” seco, según el tipo de purificación utilizado.

#### Dirección de entrega de las muestras

Los productos de secuenciación purificados o el amplicón para análisis de fragmentos deben enviarse refrigerados a la siguiente dirección:

Departamento de Microbiología Molecular, Unidad de Secuenciación  
Laboratorio Clinic, edificio consultas externas, 1ª planta  
Hospital Universitario Sant Joan de Déu  
Pº Sant Joan de Déu,nº2  
08950 Esplugues, Barcelona

El horario de recogida de las muestras es de lunes a viernes de 8 a 14.30h.

### **Entrega de resultados**

1.- El plazo de entrega habitual es de 2 días hábiles desde la fecha de recepción de las muestras. (Muestras recibidas antes de las 12h,un día mas para las muestras recibidas a partir de esta hora).

2.- Los resultados serán los obtenidos en crudo por el secuenciador. Es responsabilidad de cada usuario la interpretación de resultados por lo que necesitarán programas específicos para la lectura de los archivos.

Existen diferentes programas gratuitos en la web (Editview, Chromas, etc) que pueden ser utilizados en la interpretación.

3.- Los resultados se envían por email a los investigadores externos a la fundación Sant Joan de Déu. Los investigadores de la Fundación Sant Joan de Déu tendrán acceso a los resultados mediante la intranet del Hospital, quedando ubicados en la carpeta “Estudios secuenciación”. En esta carpeta cada usuario tendrá una subcarpeta con sus resultados. Se enviará, además un email avisando que ya están disponibles los resultados.

### **Repeticiones**

Las secuencias fallidas se facturan excepto en el caso que el fallo sea debido a la actividad realizada en la Unidad de Secuenciación. Las causas mas frecuentes de fallo en la reacción de secuenciación suelen ser derivadas de las características del DNA problema, cantidad insuficiente de DNA, mala purificación del producto o iniciadores no optimizados.

### **Alta como usuario**

Para darse de alta como usuario se ha de cumplimentar la hoja de registro de usuario (anexo 2) y enviarla por email a la siguiente dirección

[cma@hsjdbcn.org](mailto:cma@hsjdbcn.org)

En la hoja de registro se indicará el nombre o nombres de usuario, responsable y dirección del grupo de investigación y datos de facturación. La Unidad dará de alta a los diferentes usuarios, facilitándoles su código de identificación.

### **Contacto e información adicional sobre tarifas**

Dra. Carmen Muñoz-Almagro

Responsable Departamento

de Microbiología Molecular

Tfno:932805569

Fax:932803626

email: [cma@hsjdbcn.org](mailto:cma@hsjdbcn.org)

Dr.Bonaventura Ruíz

Director Servei

de Diagnostic de laboratorio

Tfno:932532107

Fax:932803626

Email: [bruiz@hsjdbcn.org](mailto:bruiz@hsjdbcn.org)

## UNIDAD DE SECUENCIACIÓN -HOSPITAL UNIVERSITARIO SANT JOAN DE DEU

### HOJA DE SOLICITUD

| FECHA RECEPCIÓN | Nº MUESTRAS | CÓDIGO USUARIO | NOMBRE USUARIO | GRUPO INVESTIGACIÓN | CENTRO FACTURACIÓN | SECUENCIACIÓN |   |        |          | AF | P / V |
|-----------------|-------------|----------------|----------------|---------------------|--------------------|---------------|---|--------|----------|----|-------|
|                 |             |                |                |                     |                    | C             | L | B. dye | Purific. |    |       |
|                 |             |                |                |                     |                    |               |   |        |          |    |       |
|                 |             |                |                |                     |                    |               |   |        |          |    |       |
|                 |             |                |                |                     |                    |               |   |        |          |    |       |
|                 |             |                |                |                     |                    |               |   |        |          |    |       |
|                 |             |                |                |                     |                    |               |   |        |          |    |       |
|                 |             |                |                |                     |                    |               |   |        |          |    |       |
|                 |             |                |                |                     |                    |               |   |        |          |    |       |

S: Secuencias cortas; L: Secuencias largas

Purific. Tipo de purificación realizado

A/F: Análisis de fragmentos

P/V: P (envío de pellet seco). V:muestra suspendida

**UNIDAD DE SECUENCIACIÓN  
HOSPITAL UNIVERSITARIO SANT JOAN DE DEU**

**HOJA DE REGISTRO DE USUARIO**

|                                                |  |
|------------------------------------------------|--|
| <b>Nombre y apellidos</b>                      |  |
| <b>Nombre del Grupo o Laboratorio adscrito</b> |  |
| <b>Responsable científico</b>                  |  |
| <b>Dirección postal</b>                        |  |
| <b>Localidad</b>                               |  |
| <b>Código postal</b>                           |  |
| <b>País</b>                                    |  |
| <b>email</b>                                   |  |
| <b>Teléfono</b>                                |  |
| <b>FAX</b>                                     |  |

**DATOS DE FACTURACIÓN**

|                                   |  |
|-----------------------------------|--|
| <b>Nombre entidad Facturación</b> |  |
| <b>Dirección postal</b>           |  |
| <b>Localidad</b>                  |  |
| <b>Código postal</b>              |  |
| <b>País</b>                       |  |
| <b>email</b>                      |  |
| <b>Teléfono</b>                   |  |
| <b>FAX</b>                        |  |

**CÓDIGO DE USUARIO (FACILITADO POR LA UNIDAD DE SECUENCIACIÓN)**

