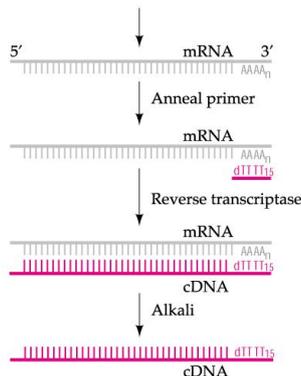


RETROTRANSCRIPCIÓN DE RNA

La transcripción reversa (RT-PCR) es una técnica que permite sintetizar DNA complementario (cDNA) a moléculas de RNA usando para ello la enzima transcriptasa reversa. El cDNA obtenido es la cadena complementaria de la cadena molde de RNA.



El kit High Capacity cDNA Reverse Transcription de la casa comercial Applied Biosystems utiliza una mezcla de cebadores de ocho nucleótidos con secuencias generadas al azar (random primers, en lugar del oligo oligo dT que se muestra en la figura) para iniciar la síntesis de la hebra de DNA complementario. El Kit permite retrotranscribir entre 0.02 y 2 µg de RNA total en un volumen final de 20µl utilizando la enzima Multiscribe. Los random primers aseguran que la primera hebra de síntesis se produzca eficientemente a partir de todas las moléculas de RNA presentes, tanto RNAm (mensajero) como RNAr (ribosómico).

Como traer las muestras al Servicio:

Los usuarios prepararán cada muestra en un tubo eppendorf de 0.2 ml y en un volumen final de 10 µl. Las muestras de RNA deberán tener una concentración aproximada de 100 ng/µl, que será verificada por el Técnico responsable de la QRT-PCR (PCR Cuantitativa en Tiempo Real)

El RNA no deberá estar degradado. Para comprobar el nivel de integridad de las muestras, éstas podrán ser analizadas empleando nano o picochips en el Bioanalizador 2100 de Agilent.

Para que el ensayo se lleve a cabo los usuarios del IIBm deberán indicar en el Servicio de Genómica el número de pedido del mismo tras solicitar el análisis a través de la web del Servicio de Compras y Almacén. No se llevarán a cabo los ensayos para los que no se haya realizado el pedido correspondiente.

Cuando las RTs se hayan realizado se enviará un email al usuario para que pase por el Servicio a recogerlas.