

b+obanko

euskal biobankoa
biobanco vasco

b+oef

berrikuntza + ikerketa + osasuna eusko fundazioa
fundación vasca de innovación e investigación sanitarias

CARTERA DE SERVICIOS

SERVICIOS OFERTADOS POR EL BIOBANCO VASCO

El Biobanco Vasco, como plataforma del ámbito hospitalario para la gestión de muestras biológicas concebidas con fines de investigación biomédica, ofrece sus herramientas y su conocimiento a la comunidad científica en forma de servicios tanto del ámbito molecular como del ámbito anatomopatológico.

Los servicios se llevarán a cabo siguiendo nuestra política de calidad, con el máximo rigor.

SOLICITUD DE SERVICIO

Los servicios deberán ser solicitados a través de la página web de O+EHUN (<http://www.biobancovasco.org>), pulsando en la opción "Solicitud de Servicios"



Una vez recibida la solicitud, le indicaremos los pasos a seguir, le enviaremos los plazos de entrega de los resultados y un presupuesto ajustado al servicio que usted solicita, que deberá aceptar para dar comienzo al servicio.

CONDICIONES

En aquellos casos en los que la muestra no haya sido recogida por el Biobanco Vasco, éste no se hará responsable de los resultados obtenidos si las muestras entregadas no cumplen los estándares de calidad exigidos (p.ej: muestras de sangre hemolizadas, recogidas en anticoagulantes no adecuados, bloques de tejido fracturados, etc.).

Las muestras entregadas por el Biobanco Vasco son exclusivamente para su uso en estudios *in vitro*. En ningún caso, las muestras entregadas por el Biobanco Vasco podrán ser utilizadas en ensayos clínicos y/o en práctica clínica.

Es responsabilidad del solicitante el envío de las muestras biológicas en los contenedores apropiados para evitar derrames, rotura de tubos, contaminación o evaporación de las muestras

En caso de recepción incorrecta de la muestra el Biobanco lo notificará de inmediato al solicitante.

La calidad de los servicios realizados está estrechamente relacionada con las condiciones de manipulación y almacenamiento de las muestras previo a su envío y procesamiento en el Biobanco. Asimismo es importante cumplir las condiciones de envío establecidas.

CONTACTO

Si tiene cualquier duda, puede localizarnos en:

BIOBANCO VASCO

Torre del BEC (Bilbao Exhibition Centre)

Ronda de Azkue, 1 48902 Barakaldo Tfno:

944 536 890 biobancovasco@bioef.org

www.biobancovasco.org

Informe elaborado por:

Raquel Coya

Oihana Belar

Clara Rodríguez

Amaia Del Villar

Lucía Iglesias

INDICE

TECNICAS MOLECULARES

- *Extracción de ADN (sangre, buffy coat y células mononucleares)*
- *Extracción de ADN a partir de saliva*
- *Extracción de ADN a partir de tejido*
- *Extracción de ADN a partir de FTA*
- *Automatización de la extracción de ADN (AutoGenFlex STAR)*
- *Cuantificación de ADN por Picogreen*
- *Cuantificación de ácidos nucleicos por Nanodrop*
- *Amplificación de genoma total*
- *Extracción de ARN a partir de sangre periférica*
- *Extracción de ARN (incluyendo miRNA) (sangre periférica, células mononucleares, tejido, suero, plasma)*
- *Análisis de la integridad de las muestras de ARN (Bioanalizador Agilent)*
- *Análisis de la integridad de las muestras de ARN (geles agarosa)*
- *Análisis de la integridad del ADN*

TÉCNICAS CELULARES

- *Aislamiento de células mononucleares de sangre periférica*
- *Inmortalización de Linfocitos B*
- *Aislamiento de eritrocitos*

AISLAMIENTO DE COMPONENTES SANGUÍNEOS

- *Aislamiento de suero*
- *Aislamiento de plasma*

RECOGIDA, PROCESAMIENTO Y ALMACENAJE DE MUESTRAS DE TEJIDO

- *Procesamiento de tejidos y confección de bloques de parafina*

- *Congelación de tejido en fresco*

PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA Y TINCIÓN

- *Cortes histológicos a partir de muestras incluidas en parafina*
- *Cortes histológicos a partir de muestras incluidas en OCT*
- *Tinción con hematoxilina-eosina*
- *Inmunofluorescencia*
- *Inmunohistoquímica*

DISEÑO Y CONFECCIÓN DE TISSUE MICROARRAYS

DIGITALIZACIÓN Y ANÁLISIS DE IMAGEN

- *Captura de imágenes histológicas en alta definición*
- *Análisis inmunohistoquímico de la imagen*
- *Análisis del marcaje fluorescente de la imagen*
- *Escaneo y cuantificación automática de portas TMA con marcaje inmunohistoquímico o fluorescente*

TARIFAS

TÉCNICAS MOLECULARES

Extracción de ADN (sangre, buffy coat y células mononucleares)

La extracción de ADN genómico a partir de sangre total, buffy coat y células mononucleares se realiza con el kit comercial *Flexigen* siguiendo las instrucciones del fabricante.

Este método de extracción de ADN se basa en:

- Lisis celular

Desnaturalización de proteínas mediante sales caotrópicas y degradación por proteasas,

- Recuperación del ADN por precipitación con alcohol.

Servicio de Extracción de ADN a partir de sangre, Buffy coat		
Tipo de muestra a enviar	Sangre total en tubo con anticoagulante (preferiblemente EDTA) Buffy coat	
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas	
Condiciones de envío	Tiempo tras extracción (T) T<24 horas	Sangre: Temperatura ambiente Células: -80° C (Nieve carbónica)
	24 horas <T> 72 horas	Sangre: 2-8° C Células: -80° C (Nieve carbónica)
	T>72 horas	-80° C (Nieve carbónica)
Cantidad o volumen mínimo requerido	Sangre	1 ml
	Buffy coat	300 µl
	Células mononucleares	2x10⁶
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org	
Entrega de las muestras procesadas	Se enviarán por mensajería congeladas en nieve carbónica	
Control de calidad	Nanodrop Electroforesis en gel de agarosa	

Extracción de ADN a partir de saliva

El Biobanco Vasco realiza la extracción de ADN a partir de saliva recogida con los kits Oragene-DNA. El kit comercial utilizado es el *Oragene DNA Saliva 2 Extraction-AGF* de AutoGen. El procesamiento se basa en:

- Lisis y desproteización no orgánica de las muestras
- Recuperación del ADN por precipitación con alcohol

Servicio de Extracción de ADN a partir de saliva	
Tipo de muestra a enviar	Saliva recogida en kits Oragene
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas
Condiciones de envío	En función de cómo se encuentren almacenadas: 2-8 ° C / -80° C (nieve carbónica)
Cantidad o volumen mínimo requerido	500 µl
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org
Entrega de las muestras procesadas	Se enviarán por mensajería congeladas en nieve carbónica
Control de calidad	Nanodrop Electroforesis en gel de agarosa

Extracción de ADN a partir de tejido

El Biobanco Vasco realiza la extracción de ADN tanto a partir de tejido fresco como congelado (seco, en OCT o, RNA later) y, procesado en parafina.

El kit comercial que utiliza es el *Tissue DNA extraction kit-AGF* de AutoGen. El principio de este método es:

- Lisis del tejido con proteinasa K
- Desproteización orgánica de las muestras
- Recuperación del ADN por precipitación con alcohol.

Servicio de Extracción de ADN a partir de tejido

Tipo de muestra a enviar	Tejido congelado (seco, OCT, RNA later) Tejido en parafina Cortes de tejido en OCT y parafina	
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas	
Condiciones de envío	Tejido congelado y cortes OCT	-80° C (Nieve carbónica)
	Cortes parafina	Temperatura ambiente
Cantidad o volumen mínimo requerido	Bloque tejido	De 30 a 50 mg
	Cortes OCT y parafina	5 cortes de 10 µm
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org	

Entrega de las muestras procesadas	Se enviarán por mensajería congeladas en nieve carbónica
Control de calidad	Nanodrop Electroforesis en gel de agarosa

Extracción de ADN a partir de FTA

La extracción de ADN a partir de manchas de sangre almacenadas en tarjetas FTA se realiza con el kit comercial QiAamp DNA mini kit (Qiagen) basado en:

- Lisis y tratamiento de las muestras con proteinasa
- Retención del ADN en columna con una membrana de sílica en presencia de una alta concentración de sales
- Elución del ADN

La solicitud del servicio requiere la recogida de las muestras de sangre correctamente identificadas en papel FTA (Whatmann) y su envío al Biobanco a temperatura ambiente.

Servicio de Extracción de ADN a partir de FTA	
Tipo de muestra a enviar	Sangre almacenada en tarjetas FTA
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas
Condiciones de envío	Temperatura ambiente
Cantidad o volumen mínimo requerido	3 punch de 3mm de diámetro
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org
Entrega de las muestras procesadas	Se enviarán por mensajería congeladas en nieve carbónica
Control de calidad	Nanodrop Electroforesis en gel de agarosa

Automatización de la extracción ADN (AutoGenFlex STAR)

El equipo AutoGenFlex STAR, disponible en el Biobanco Vasco, permite la automatización total del proceso de extracción de ADN garantizando la

reproducibilidad del proceso. En este robot pueden ser procesados diversos tipos de muestras biológicas (sangre total, buffy coat, células mononucleares, saliva, tejidos). El ADN genómico obtenido es de una calidad excelente tanto a nivel de integridad, pureza y tamaño y puede ser utilizado en cualquier tipo de aplicación posterior o ser almacenado durante años sin degradarse.

El alto rendimiento del equipo permite el procesamiento de hasta 80 muestras diarias.

Cuantificación ADN por Picogreen

El reactivo de cuantificación de dsDNA de PicoGreen es un fluorocromo comercial ultra-sensitivo que se intercala en el ADN de doble cadena y permite su cuantificación en solución. Sus principales ventajas frente a otros métodos de cuantificación de ADN son:

- 1.- La presencia de nucleótidos, ADN de hebra simple, ARN u otras sustancias contaminantes de ADN como sales, etanol, cloroformo o proteínas no afectan a su resultado.
- 2.- Su alta sensibilidad capaz de detectar ADN de muestras muy diluidas. Su rango de detección va de 25 pg/ml-1000 ng/ml.

El análisis del ADN se realiza según las instrucciones del kit. (Quant.iT™ PicoGreen® Assay kit de Molecular Probes). La fluorescencia se determina usando un espectrofluorímetro (Fluoroscanner ascent) con un filtro de excitación de 485 nm y un filtro de emisión de 530 nm.

Servicio de Cuantificación de ADN por Picogreen	
Tipo de muestra a enviar	ADN
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas
Condiciones de envío	En función de cómo estén almacenadas: 2-8° C / -80 ° C (nieve carbónica)
Cantidad o volumen mínimo requerido	2 µl de ADN
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org
Entrega de resultados	Documento Excel

Cuantificación ácidos nucleicos por Nanodrop

La cuantificación de ácidos nucleicos por Nanodrop permite conocer la concentración de una muestra de ADN/ARN y su calidad medida por los ratios 260/280 y 260/230, con un volumen mínimo de muestra (1-2 µl) y sin necesidad de utilizar cubetas.

Servicio de Cuantificación de ADN por Nanodrop	
Tipo de muestra a enviar	ADN ARN
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas
Condiciones de envío	ARN -80 ° C (Nieve carbónica)
	ADN En función de estén cómo almacenadas: 2-8° C/ -80° C
Cantidad o volumen mínimo requerido	2 µl (una medición) 4 µl (medición por duplicado) Enviar diluyente en el que están resuspendidas las muestras
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org
Entrega de resultados	Documento Excel Documento Power Point

Amplificación de genoma total

La amplificación del genoma total se realiza empleando el kit de amplificación *Genomiphi™* (GE Healthcare Life Sciences) siguiendo las instrucciones del propio fabricante. Esta tecnología (amplificación por desplazamiento múltiple) está basada en la amplificación exponencial de ADN lineal o circular de cadena sencilla o doble mediante el uso de la ADN polimerasa del bacteriófago $\Phi 29$ y *random primers* en la reacción.

Se recomienda utilizar ADN de un tamaño no inferior a 20 kDa.

Servicio de amplificación de genoma total	
Tipo de muestra a enviar	ADN en agua o TE
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas

Condiciones de envío	En función de cómo se encuentren almacenadas: 2-4° C / -80° C (Nieve carbónica)
Cantidad o volumen mínimo requerido	3 µl de ADN a una concentración de 20 ng/µl Indicar concentración, tamaño y calidad (260/280 y 260/230) ADN
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org
Entrega de las muestras procesadas	Se enviarán por mensajería congeladas en nieve carbónica
Control de calidad	Picogreen; Electroforesis gel agarosa

Extracción de ARN a partir de sangre periférica

La extracción de ARN a partir de sangre periférica se realiza con el kit comercial *QiAamp RNA blood mini kit* (Qiagen) basado en la purificación del ARN en columnas con membrana de sílica.

Tratamiento con DNAsa (optativo)

Servicio de Extracción de ARN (sin miRNA) a partir de sangre			
Tipo de muestra a enviar	Sangre total en tubo con anticoagulante (EDTA, citrato, heparina)		
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas		
Condiciones de envío	<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 60%;">Tiempo tras extracción (T) T < 24 (tiempo óptimo)</td> <td style="text-align: center; width: 40%;">2-8° C</td> </tr> </table>	Tiempo tras extracción (T) T < 24 (tiempo óptimo)	2-8° C
Tiempo tras extracción (T) T < 24 (tiempo óptimo)	2-8° C		
Cantidad o volumen mínimo requerido	1,5 ml sangre total		
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org		
Entrega de las muestras procesadas	Se enviarán por mensajería congeladas en nieve carbónica		
Control de calidad	Nanodrop Electroforesis en gel de agarosa Bioanalizador (Agilent)		

Extracción de ARN (incluyendo miRNA) (sangre periférica, células mononucleares, tejido, suero, plasma)

La extracción de ARN a partir de células mononucleares se realiza con el kit comercial *miRNeasy mini* (Qiagen) basado en una combinación de:

- Lisis con fenol-guanidinio
- Purificación del ARN en columnas con membrana de sílica
- Tratamiento con DNAsa (optativo)

Este sistema permite la extracción de ARN total incluyendo

Servicio de Extracción de ARN incluyendo miRNA

Tipo de muestra a enviar	Bloque de tejido congelado (RNA later, OCT, seco) Plasma Suero Células mononucleares (recogidas en RNA later) Sangre total recogida en tubos con anticoagulante		
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas		
Condiciones de envío	Bloque de tejido (en RNA later)	Muestras congeladas	-80° C (Nieve carbónica)
		Muestras almacenadas a 4° C sumergidas en RNA later hasta 2 semanas	2-8° C
	Bloque tejido seco y OCT	-80° C (Nieve carbónica)	
	Células mononucleares (almacenadas en RNA later)	Muestras congeladas	-80° C
		Muestras almacenadas a 4° C sumergidas en RNA later hasta 24 horas	2-8° C
	Plasma/Suero	T<6 horas	2-8° C
		T>6 horas	-80° C
	Sangre	2-8° C	

	Tejido en parafina	Temperatura ambiente
	Tejido OCT	-80° C (Nieve carbónica)
Cantidad o volumen mínimo requerido	Bloque tejido: De 10 a 50 mg (100 mg de tejido adiposo) Cortes parafina: 5 cortes de 10 µm Cortes OCT: 10 cortes de 10 µm Sangre: 5 ml Plasma: 250 µl Células: 10 ⁷	
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org	
Entrega de las muestras procesadas	Se enviarán por mensajería congeladas en nieve carbónica	
Control de calidad	Nanodrop Electroforesis en gel de agarosa Bioanalizador (Agilent)	

Análisis de la integridad de las muestras de ARN (Bioanalizador Agilent)

La integridad de las muestras de ARN se determina mediante el Bioanalizador 2100 de Agilent basado en la tecnología de microfluidos Lab on a chip. Entre las ventajas que este equipo ofrece están el rápido control de la calidad de las muestras, alta precisión y reproducibilidad, mínimo consumo de muestra y la obtención del RIN (número de integridad del ARN). Este número (del 1 al 10, de menor a mayor integridad) nos da un control universal de la calidad de las muestras haciendo posible la comparación entre ellas.

Servicio de análisis integridad ARN (Bioanalizador Agilent 2100)	
Tipo de muestra a enviar	ARN
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas
Condiciones de envío	-80 ° C (nieve carbónica) Muestras diluidas en agua
Cantidad o volumen mínimo requerido	2,5 µl Concentración mínima ARN total: 50 pg/µl
Entrega de resultados	Documento Excel Documento pdf (imágenes de gel y electroferogramas)
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org

Análisis de la integridad de las muestras de ARN (geles agarosa)

La electroforesis de muestras de ARN en geles de agarosa (0,8 %) permite visualizar las bandas 18S y 28S además de comprobar la posible existencia de contaminación de las muestras con ADN genómico.

Servicio de análisis integridad ARN (geles agarosa)	
Tipo de muestra a enviar	ARN
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas
Condiciones de envío	-80 ° C (nieve carbónica)
Cantidad o volumen mínimo requerido	6 µl Concentración óptima: 100 ng/µl
Entrega de resultados	Documento Power Point (imagen gel)
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org

Análisis de la integridad del ADN

El análisis de la integridad del ADN genómico se realizará mediante electroforesis de las muestras en geles de agarosa al 0,6%.

Servicio de análisis integridad ADN (geles agarosa)	
Tipo de muestra a enviar	ADN
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas
Condiciones de envío	En función de cómo se encuentren almacenadas: 2-8° C/ -80 ° C (Nieve carbónica)
Cantidad o volumen mínimo requerido	6 µl Concentración óptima: 100 ng/µl
Entrega de resultados	Documento Power Point (imagen gel)
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org

Aislamiento de células mononucleares de sangre periférica

En función de las necesidades del solicitante, el Biobanco Vasco llevará a cabo el aislamiento de células mononucleares a partir de sangre total fresca mediante: gradiente de Ficoll que permite eliminar eritrocitos, plaquetas y neutrófilos o, lisis de eritrocitos de forma selectiva con un buffer hipotónico. El proceso de separación celular se realiza en laboratorios de seguridad biológica, de manera que se garantiza la esterilidad de las muestras.

Factores como el número de leucocitos presentes en la sangre, tiempo transcurrido desde la extracción y, condiciones de conservación y envío de las muestras, afectan al número y viabilidad de las células mononucleares obtenidas tras la separación celular.

Servicio de aislamiento de células mononucleares		
Tipo de muestra a enviar	Sangre total en tubo con anticoagulante	
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas	
Condiciones de envío	Tiempo tras extracción T<24 horas	Cultivo celular: Temperatura ambiente ARN: 2-8° C
	<i>No superar este tiempo para extraer células como fuente de ARN</i>	
	Tiempo tras extracción 24<T<48 horas	Cultivo celular: Temperatura ambiente
Cantidad o volumen mínimo requerido	5 ml (células para ARN) 10 ml (células para cultivo)	
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org	
Entrega de las muestras procesadas	Se enviarán por mensajería congeladas en nieve carbónica en: 10% DMSO+SBF (células para cultivo) RNA later (células para ARN)	
Control de calidad	Cuantificación nº células (hemocitómetro) Ensayo de viabilidad (trypan blue)	

El número y viabilidad de las células mononucleares obtenidas de una muestra de sangre depende del número de leucocitos presentes en la sangre, del tiempo transcurrido tras la extracción de la muestra y de las condiciones de almacenamiento y transporte de las mismas. Para garantizar un número óptimo de células viables tras la separación celular, la solicitud de este servicio requiere que el tiempo de envío desde la extracción hasta la recepción en el Biobanco no supere las 24 horas.

Inmortalización de linfocitos B

La inmortalización de linfocitos se realiza mediante infección con el virus Epstein-Barr (EBV). De esta manera se obtiene una fuente inagotable de ADN para estudios de investigación, y resulta especialmente útil para el mantenimiento de muestras biológicas importantes, bien sea por su rareza, o bien por la dificultad o imposibilidad de conseguirlas en el futuro.

El proceso de inmortalización de linfocitos con EBV se realiza en laboratorios de seguridad biológica nivel II, de manera que se garantiza la total esterilidad de las muestras.

El número y viabilidad de las células mononucleares obtenidas de una muestra de sangre depende del número de leucocitos presentes en la sangre, del tiempo transcurrido tras la extracción de la muestra y de las condiciones de almacenamiento y transporte de las mismas. Para garantizar un número óptimo de células viables tras la separación celular, la solicitud de este servicio requiere que el tiempo de envío desde la extracción hasta la recepción en el Biobanco no supere las 24 horas

Servicio de inmortalización de linfocitos B		
Tipo de muestra a enviar	Sangre total en tubo con anticoagulante	
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas	
Condiciones de envío	Tiempo tras extracción (T) T<24	Temperatura ambiente Condiciones óptimas
	24<T<48	Temperatura ambiente
	No se recomienda superar las 48 horas para el envío de muestras	
Cantidad o volumen mínimo requerido	10 ml sangre total	
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org	

Entrega de las muestras procesadas	Se enviarán por mensajería congeladas en nieve carbónica
------------------------------------	--

Aislamiento de eritrocitos

El aislamiento de eritrocitos se realiza por centrifugación de la muestra de sangre total retirada del plasma y células mononucleares y sucesivos lavados con una solución salina del concentrado de eritrocitos.

Servicio de aislamiento de eritrocitos	
Tipo de muestra a enviar	Sangre total en tubo con anticoagulante (EDTA, heparina, citrato)
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas
Condiciones de envío	Tiempo tras extracción (T): T < 24 horas Temperatura ambiente
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org
Entrega de las muestras procesadas	Se enviarán por mensajería congeladas en nieve carbónica

ASLAMIENTO DE COMPONENTES SANGUÍNEOS

Aislamiento de suero

El Biobanco realiza la extracción de suero por centrifugación a partir de muestras de sangre recogidas en tubos sin anticoagulante.

Servicio de aislamiento de suero

Tipo de muestra a enviar	Sangre total en tubo sin anticoagulante	
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas	
Condiciones de envío	Tiempo tras extracción (T): T < 24 horas (tiempo óptimo 1 hora 30 minutos)	
	Suero	Almacenamiento desde su extracción y envío: 2-8° C
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org	
Entrega de las muestras procesadas	Se enviarán por mensajería congeladas en nieve carbónica	

Aislamiento de plasma

El Biobanco realiza la extracción de plasma rico o pobre en plaquetas mediante la centrifugación de las muestras de sangre total (con anticoagulante) a 4° C o temperatura ambiente, respectivamente.

Servicio de aislamiento de plasma		
Tipo de muestra a enviar	Sangre total en tubo con anticoagulante (EDTA, heparina, citrato)	
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas	
Condiciones de envío	Tiempo tras extracción (T): T < 24 horas (tiempo óptimo 30 minutos)	
	Para plasma rico en plaquetas	Almacenamiento desde su extracción y envío: 2-8° C
	Para plasma pobre en plaquetas	Almacenamiento desde su extracción y envío: Temperatura ambiente
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org	
Entrega de las muestras procesadas	Se enviarán por mensajería congeladas en nieve carbónica	

RECOGIDA, PROCESAMIENTO Y ALMACENAJE DE MUESTRAS DE TEJIDO

Los tejidos recogidos son fijados, deshidratados, e incluidos en parafina. La fijación se realiza en formol tamponado y consiste en inmovilizar las estructuras celulares y tisulares en un estado lo más próximo posible al estado in vivo, no creando artefactos y asegurando una imagen fiel a la estructura real. Mediante la deshidratación en alcoholes se consigue eliminar el agua que hay en ellos, para permitir posteriormente la inclusión del tejido en una matriz de soporte sólido e hidrofóbica como la parafina. La inclusión consiste en hacer penetrar la parafina lo más íntimamente posible en el tejido a estudiar dando ese soporte sólido que permitirá dividir el tejido en secciones muy finas. El procesamiento será realizado en un procesador automático.

Para realizar un óptimo procesamiento de los tejidos, el tiempo desde la extracción de la muestra hasta su procesamiento no debe ser, en ningún caso, superior a 30 minutos. A partir de este tiempo, la arquitectura del tejido se puede ver alterada.

Servicio de Procesamiento de tejidos y confección de bloques de Parafina		
Tipo de muestra a enviar	Tejido fresco o inmerso en formol	
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas	
Condiciones de envío	Tiempo tras extracción (T) T<30 minutos	Temperatura ambiente
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org	
Entrega de las muestras procesadas	Se enviarán por mensajería a temperatura ambiente	
Control de calidad	Tinción Hematoxilina/eosina	

Congelación de tejido en Criomolde

Los tejidos recogidos son incluidos rápidamente en el medio OCT y almacenados a -80°C hasta su utilización. El OCT, "Optimal Cutting Temperature" es el nombre utilizado del compuesto preservador frente la congelación. El OCT preserva ultraestructuras y preserva al tejido de la deshidratación y degradación, y actúa como un aislante sobre las variaciones de temperatura, minimizando la formación de cristales. Es especialmente útil para la conservación de tejido fresco congelado que debe ser seccionado para su diagnóstico.

Servicio de Congelación de tejido en Criomolde		
Tipo de muestra a enviar	Tejido fresco	
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas	
Condiciones de envío	Tiempo tras extracción (T) T<30 minutos	Temperatura ambiente o a 4°C
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org	
Entrega de las muestras procesadas	Se enviarán por mensajería en nieve carbónica	
Control de calidad	Tinción Hematoxilina/eosina	

Congelación de tejido en fresco

La congelación de los tejidos es una manera rápida de endurecerlos sin necesidad de inclusión, por lo que la preservación molecular es máxima. Pero para preservar correctamente la estructura del tejido ha de ser una congelación muy rápida, por ello, las muestras son introducidas en un recipiente de isopentano, sustancia que permite la congelación rápida del tejido evitando la formación de

cristales de hielo que deterioran las estructuras celulares. Una vez congelados, los tejidos son almacenados en un *eppendorf* a -80°C hasta su próxima utilización.

Servicio de Congelación de tejido en fresco			
Tipo de muestra a enviar	Tejido fresco		
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas		
Condiciones de envío	<table border="1"> <tr> <td>Tiempo tras extracción (T)</td> <td>Temperatura ambiente o a 4°C T<30 minutos</td> </tr> </table>	Tiempo tras extracción (T)	Temperatura ambiente o a 4°C T<30 minutos
Tiempo tras extracción (T)	Temperatura ambiente o a 4°C T<30 minutos		
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org		
Entrega de las muestras procesadas	Se enviarán por mensajería en nieve carbónica		
Control de calidad	Impronta del tejido		

PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA Y TINCIÓN

Cortes histológicos a partir de muestras incluidas en parafina

Se realizan cortes con el micrótopo para su posterior visualización realización de técnicas histológicas y/o para obtener muestras de RNA/DNA. En el caso de ser muestras para técnicas histológicas se realizarán cortes de $3\ \mu\text{m}$ de grosor en portas sin tratamiento o en portas de polyisina, según la necesidad del investigador. Para muestras cuya finalidad sea la obtención de RNA/DNA, se realizarán 5 cortes de $10\ \mu\text{m}$ que se entregarán en un *eppendorff*.

Este servicio será realizado en un microtopo semiautomático (Leica RM2255).

Servicio cortes histológicos de tejido en parafina

Tipo de muestra a enviar	Tejido incluido en parafina
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas
Condiciones de envío	Temperatura ambiente
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org
Entrega de las muestras procesadas	Se enviarán por mensajería a temperatura ambiente
Control de calidad	Tinción Hematoxilina/eosina

Cortes histológicos a partir de muestras incluidas en OCT

Se realizan cortes con el criostato para su posterior tinción y visualización (se fija la muestra en el porta con etanol 96%) y/o para obtener cortes que proporcionen muestras de RNA/DNA (se efectuarán 5 cortes a 10µm cada uno). En el caso de ser muestras para técnicas histológicas se realizarán cortes de 3 µm de grosor, fijando la muestra en el porta con etanol 96%. Para muestras cuya finalidad sea la obtención de RNA/DNA, se realizarán 5 cortes de 10 µm que se entregarán en un eppendorff.

Este servicio será realizado en un criostato semiautomático.

Servicio de Cortes histológicos de tejido en OCT	
Tipo de muestra a enviar	Tejido incluido en parafina

Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas
Condiciones de envío	-80° C (Nieve carbónica)
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org
Entrega de las muestras procesadas	Se enviarán por mensajería en nieve carbónica
Control de calidad	Tinción Hematoxilina/eosina

Tinción con hematoxilina-eosina

Se realizan tinciones de hematoxilina-eosina de forma manual o automática a partir de cortes de tejidos incluidos en parafina y/o en OCT.

Servicio de Tinción con hematoxilina - eosina	
Tipo de muestra a enviar	Cortes de tejido incluido en parafina
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas
Condiciones de envío	OCT: -80° C (Nieve carbónica)
	Parafina: Temperatura ambiente
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org
Entrega de las muestras procesadas	Se enviarán los portas y el CD con las imágenes por mensajería a temperatura ambiente

Inmunofluorescencia

Se realiza la puesta a punto y/o marcaje manual mediante el anticuerpo fluorescente deseado de la región histológica a estudio. El análisis de la fluorescencia será realizado con el Microscopio Olympus BX61 y el software Ariol.

Servicio de Inmunofluorescencia
--

Tipo de muestra a enviar	Cortes de tejido incluido en parafina
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas
Condiciones de envío	Temperatura ambiente
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org
Entrega de las muestras procesadas	Se enviarán el CD con los resultados y los portas en caja oscura, por mensajería a 4°C.
Control de calidad	Tinción Hematoxilina/eosina, Control negativo y positivo para el anticuerpo, marcaje DAPI

Inmunohistoquímica

Se realiza la puesta a punto y/o marcaje mediante el anticuerpo específico, previamente marcado mediante un enlace químico con una enzima que puede transformar un sustrato en visible, de la región histológica a estudio. Esta técnica se realiza de forma manual (controlando y variando las condiciones de todos los pasos según la necesidad) utilizando el kit Vectastain ABC kit y revelando con el cromógeno DAB, o de forma manual o automática con el sistema de visualización EnVision de DAKO.

Servicio de Inmunohistoquímica	
Tipo de muestra a enviar	Cortes de tejido incluido en parafina
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas
Condiciones de envío	Temperatura ambiente
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org
Entrega de las muestras procesadas	Se enviarán los portas y el CD con los resultados por mensajería a temperatura ambiente
Control de calidad	Tinción Hematoxilina/eosina, Control negativo y positivo para el anticuerpo

Se realiza el diseño y confección de arrays de tejido (TMA) a partir de muestras fijadas en formol e incluidas en parafina. Para ello, contamos con el Manual Tissue Arrayer Model MTA-1 de Beecher. En un solo bloque se pueden agrupar muestras de diversos órganos, patologías y donantes para la posterior utilización de técnicas histológicas.

Servicio de Diseño y confección de Tissue Microarrays	
Tipo de muestra a enviar	Bloques de tejido incluido en parafina
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas. Se adjuntará el diseño deseado para la disposición de las muestras en el TMA.
Condiciones de envío	Temperatura ambiente
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org
Entrega de las muestras procesadas	Se enviará el bloque de TMA por mensajería a temperatura ambiente
Control de calidad	Tinción Hematoxilina/eosina

DIGITALIZACIÓN Y ANÁLISIS DE IMAGEN

Captura de imágenes histológicas en alta definición

Se realiza la digitalización de cortes de tejidos con tinción hematoxilina-eosina, marcaje inmunohistoquímico e inmunofluorescencia a diferentes aumentos: 1.25X, 5X, 20X, y 40X, seleccionando el área de interés. Para ello contamos con el Microscopio Olympus BX61 y el software Ariol, que permite programar la captura de ocho portadas a la vez.

Las imágenes se podrán entregar en formato jpeg, bmp o tiff.

Servicio de Captura de imágenes histológicas en alta definición	
Tipo de muestra a enviar	Cortes de tejido incluido en parafina u OCT con la tinción o marcaje deseado
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas.
Condiciones de envío	Temperatura ambiente
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org
Entrega de las muestras procesadas	Se enviarán las imágenes en CD por mensajería

Análisis inmunohistoquímico de la imagen

El sistema Ariol permite obtener objetividad y precisión en el análisis IHQ del tejido a estudiar. Permite medir el color, intensidad y morfología de las estructuras nucleares, citoplasmáticas y membrana subcelular. Así mismo, cuantifica la tinción con alta resolución dando los resultados de forma numérica (o porcentajes) o con la puntuación tradicional 0, 1+, 2+, 3+.

Los resultados serán exportados en una tabla excell.

Servicio de Análisis inmunohistoquímico de la imagen	
Tipo de muestra a enviar	Cortes de tejido incluido en parafina
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas.
Condiciones de envío	Temperatura ambiente
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org
Entrega de las muestras procesadas	Se enviarán las imágenes y el informe del análisis en CD por mensajería

Análisis del marcaje fluorescente de la imagen

Se realiza la captura de la imagen a diferentes aumentos, permitiendo seleccionar el área de interés y cuantificarla. Además, el software Ariol presenta la opción *slide-link* que permite sincronizar directamente la región seleccionada con la región de hematoxilina-eosina o inmunohistoquímica previamente escaneada, permitiendo la comparación entre los distintos tipos de tinciones y análisis de las imágenes sincronizadas simultáneamente.

Asimismo, el microscopio Olympus BX61 permite obtener la captura simultánea de diferentes fluorocromos junto con el DAPI. Además, la opción *Z-Stack multi-layer*, optimiza la localización e intensidad de las señales a diferentes planos. Con el fin de mejorar los resultados se puede programar la captura y el análisis basándonos en el tamaño y forma de la célula.

Los resultados serán exportados en una tabla excell.

Servicio de Análisis del marcaje fluorescente de la imagen	
Tipo de muestra a enviar	Cortes de tejido incluido en parafina, con marcaje de inmunofluorescencia, dentro de una caja oscura
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas.

Condiciones de envío	Envío a la mayor brevedad	Temperatura ambiente
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org	
Entrega de las muestras procesadas	Se enviarán las imágenes y el informe del análisis en CD por mensajería	

Escaneo y cuantificación automática de portas TMA con marcaje inmunohistoquímico o fluorescente

Una vez procesados los TMAs y marcados o teñidos histológicamente, se podrá obtener una imagen general del TMA y/o imágenes de cada una de las muestras incorporadas en el TMA. Así mismo, las muestras que componen el TMA podrán ser cuantificadas al mismo tiempo de forma objetiva.

Las imágenes de cada core (x20) serán guardadas en formato jpeg, tiff o bmp, y los resultados obtenidos serán exportados en una tabla excell indicando a que core corresponden.

Servicio de Escaneo y cuantificación de TMA		
Tipo de muestra a enviar	Corte de hematoxilina-eosina, marcaje de inmunohistoquímica o inmunofluorescencia a partir de bloques de TMA	
Identificación de las muestras	Todas las muestras deberán ir correctamente identificadas. Se adjuntará mapa de la disposición de las muestras en el TMA.	
Condiciones de envío	Cortes con tinción HE y marcaje inmunohistoquímico	Temperatura ambiente
	Cortes con marcaje de inmunofluorescencia	Dentro de una caja oscura a 4°C, antes de medio día
Solicitud del servicio al Biobanco	A través de la web: www.biobancovasco.org	
Entrega de las muestras procesadas	Se enviarán las imágenes y el informe del análisis en CD por mensajería	

TIPO DE SERVICIO	ORIGEN MUESTRA	CANTIDAD MUESTRA ENTREGADA	TARIFA 1	TARIFA 2	TARIFA 3
Tejido en parafina en cristal + tinción inmunohistoquímica manual (no incluido coste anticuerpos)	Tejido en parafina	1 cristal	34,12 €	31,74 €	21,84 €
Tejido en parafina en cristal + tinción inmunohistoquímica automatizada (no incluido coste anticuerpos)	Tejido en parafina	1 cristal	29,17 €	26,79 €	21,84 €
Tissue microarray (TMA) coste/core	Tejido en parafina	1 TMA	16,19 €	14,68 €	4,78 €
ADN	Sangre periférica (5-10ml)	100% de la muestra obtenida manualmente	42,79 €	41,96 €	41,96 €
ADN	Sangre periférica (5-10ml)	100% de la muestra obtenido por método automatizado	60,14 €	37,22 €	37,22 €
ADN	Buffy coat (capa de leucocitos)	100% de la muestra obtenida manualmente	42,79 €	42,21 €	42,21 €
ADN	Buffy coat (capa de leucocitos)	100% de la muestra obtenido por método automatizado	60,60 €	37,47 €	37,47 €
ADN	PBMC (células mononucleares de sangre periférica)	100% de la muestra obtenida manualmente	51,08 €	50,52 €	50,52 €
ADN	Coágulo de suero	100% de la muestra obtenida manualmente	48,25 €	47,17 €	47,17 €
ADN	Saliva	100% de la muestra obtenida manualmente	59,48 €	56,47 €	56,47 €
ADN	Saliva	100% de la muestra obtenido por método automatizado	74,76 €	49,00 €	49,00 €

ADN	Tarjeta FTA	100% de la muestra obtenida manualmente	19,59 €	18,90 €	18,90 €
ADN	Tejido congelado	100% de la muestra obtenida manualmente	27,55 €	25,97 €	25,97 €
ADN	Tejido en parafina	100% de la muestra obtenida manualmente	29,35 €	27,63 €	27,63 €
ADN	Tejido congelado en OCT	100% de la muestra obtenida manualmente	28,98 €	27,14 €	27,14 €
ADN	Tejido congelado	100% de la muestra obtenido por método automatizado	47,08 €	23,36 €	23,36 €
ADN	Tejido en parafina	100% de la muestra obtenido por método automatizado	47,74 €	23,89 €	23,89 €
ADN	Tejido congelado en OCT	100% de la muestra obtenido por método automatizado	48,06 €	24,08 €	24,08 €
ADN	Heces	100% de la muestra obtenida manualmente	16,94 €	16,39 €	16,39 €
ARN	Sangre fresca	100% de la muestra obtenida manualmente	25,62 €	25,02 €	25,02 €
ARN	Sangre fresca	100% de la muestra obtenido por método automatizado	23,66 €	23,37 €	23,37 €
ARN	Heces	100% de la muestra obtenida manualmente	22,03 €	21,49 €	21,49 €
ARN	PBMC obtenidas mediante ficoll	100% de la muestra obtenida manualmente	37,45 €	36,49 €	36,49 €
ARN	PBMC obtenidas por lisis osmótica	100% de la muestra obtenida manualmente	35,85 €	35,17 €	35,17 €

ARN	Sangre en tubo PAXgene	100% de la muestra obtenido por método automatizado	24,18 €	23,91 €	23,91 €
ARN	Tejido fresco congelado	100% de la muestra obtenida manualmente	21,88 €	21,37 €	21,37 €
ARN	Tejido congelado en OCT	100% de la muestra obtenida manualmente	23,99 €	23,26 €	23,26 €
RNA	Tejido en parafina	100% de la muestra obtenida manualmente	24,26 €	23,57 €	23,57 €
ADN y ARN de la misma muestra	Tejido congelado en OCT	100% de la muestra de ADN y ARN obtenida manualmente	37,02 €	36,56 €	36,56 €
ADN y ARN de la misma muestra	Tejido en parafina	100% de la muestra de ADN y ARN obtenida manualmente	32,88 €	29,95 €	29,95 €

Los tipos de tarifas aplicados corresponden a:

- Tarifa 1: aplicado a organismos con ánimo de lucro
- Tarifa 2: aplicado a organismos sin ánimo de lucro
- Tarifa 3: aplicado a personal de Osakidetza como principal integrante del estudio.

Para presupuestos no indicados en esta tabla, consúltenos en la dirección de correo solicitudes.biobancovasco@bioef.org