

Validación de la técnica Whole Genome Amplification: diferencias entre DNA genómico y amplificado

Ahicart A. ¹, Mazcuñán T. ², García-Casado Z. ², Ramírez M. ², Sifres L. ¹, Bonora-Centelles A. ¹, López-Guerrero J.A. ², Martínez J. ^{1,3}.

¹ Biobanco para la Investigación Biomédica y en Salud Pública de la Comunidad Valenciana (Biobanco IBSP-CV); ² Laboratorio de Biología Molecular del Instituto Valenciano de Oncología (IVO); ³ Red Valenciana de Biobancos (RVB)

Introducción

Durante el año 2016 se inició la validación de la metodología Whole Genome Amplification (WGA) para su aplicación en biobancos en aquellos casos en los que se disponía de muestras de gran valor en investigación pero con un escaso volumen de DNA, como ocurre en la Colección Cáncer Hereditario de la Comunidad Valenciana. Los resultados más relevantes fueron un rendimiento del kit muy por debajo del rendimiento teórico y, esto, derivó en una mala amplificación en diversos exones de los genes *BRCA1* y *BRCA2* no solo en la generación y ausencia de variantes, sino también en la fragmentación de DNA. Se hipotetizó que podía haber sido generado por una polimerasa defectuosa o por una inexperiencia en el manejo del kit.

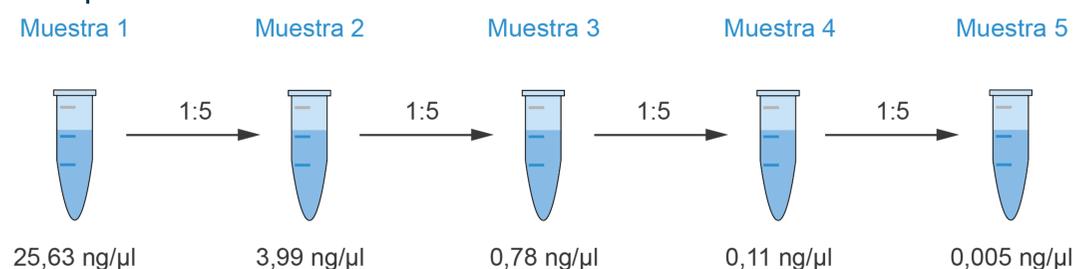
Objetivos

El objetivo principal es la repetición de la amplificación por parte de la casa comercial y el análisis de los resultados para descartar/confirmar las hipótesis del anterior trabajo con el fin de poder optimizar la puesta a punto del servicio.

Materiales y métodos

Tras la amplificación de las muestras por parte de la casa comercial del kit, se ha realizado una cuantificación por fluorometría para evaluar el rendimiento y, posteriormente, se ha realizado el análisis de variantes mediante secuenciación masiva para comprobar la efectividad, comparándola con la secuenciación del producto inicial.

1) Antes de amplificar



2) Se envían a SYGNIS las muestras 1, 3 y 5

3) SYGNIS hace la amplificación WGA por duplicado de la siguiente manera:



4) Análisis del rendimiento de la amplificación mediante cuantificación por fluorometría

5) Análisis de la variabilidad mediante secuenciación masiva

Resultados y conclusiones

Los resultados obtenidos tras la comparación de las secuencias de gDNA y el DNA amplificado mediante WGA nos permite concluir que la metodología WGA puede ser una buena técnica a emplear por los biobancos para amplificar muestras de las que se disponga poca cantidad de DNA, siempre teniendo en cuenta que dicha tecnología conlleva la introducción de un nuevo tipo de DNA que presenta diferencias importantes respecto al gDNA.

	Biobanco IBSP-CV	SYGNIS
M1	1:8	1:306000
M3	1:117	1:74160
M5	1:15486	1:201840

Tabla 1. Comparación en el rendimiento obtenido en la amplificación en el laboratorio del biobanco y en el laboratorio de SYGNIS