

## AUTENTIFICACIÓN DE LÍNEAS CELULARES MURINAS MEDIANTE ANÁLISIS DE MICROSATÉLITES

Para estandarizar el análisis de STRs para la autenticación de líneas celulares murinas se recomienda (The Assay Guidance Manual (AGM), Almeida and Korch (2023)) el análisis de 18 STRs específicos de ratón además de la detección sexual de la muestra (SRY) y la amplificación de dos marcadores humanos (D4S2408/D8S1106) para descartar posibles contaminaciones.

La identificación y autenticación de líneas celulares murinas se realiza utilizando el análisis de 18 STRs (microsatélites) de loci específicos de ratón. Estos loci se amplifican y se marcan con diferentes fluorocromos por PCR de forma simultánea según lo publicado en Almeida et al. (2019). El producto obtenido se resuelve en el sistema de análisis genético capilar ABI3730XL de Applied Biosystems y se analiza mediante el software GeneMarker (Softgenetics). El perfil obtenido se compara con los publicados para esa línea celular en la base de datos de Cellosaurus.

Los STRs murinos que se analizan con este sistema son:

STR Marker	Repeat Motif	Known Allele Range	Fragment Length Range (bp)
1-1	[ATAC] <sub>n</sub>	10-19	330-366
1-2	[TAGA] <sub>n</sub> [TGAT] <sub>n</sub> [AGAT] <sub>n</sub>	12-30.1	104-178
2-1	[ATAC] <sub>n</sub>	8-17.1	124-162
3-2	[TATC] <sub>n</sub>	9-25	430-495
4-2	[GATA] <sub>n</sub> [GATG] <sub>n</sub> [ATAG] <sub>n</sub>	13-23.3	204-264
5-5	[TATC] <sub>n</sub>	11-22	324-369
6-4	[AGAT] <sub>n</sub> [GATA] <sub>n</sub>	12.2-21	275-309
6-7	[CTAT] <sub>n</sub>	11-26	327-388
7-1	[ATCT] <sub>n</sub> [TTAT] <sub>n</sub> [N1] <sub>14</sub> [TC] <sub>n</sub> [N2] <sub>6</sub> [ATTT] <sub>n</sub>	19.2-33.2	183-239
8-1	[TATG] <sub>n</sub>	6-19	503-555
11-2	[ATCT] <sub>n</sub>	12-26.2	407-466
12-1	[AGAT] <sub>n</sub> [GATA] <sub>n</sub>	15-24.1	264-302
13-1	[TCTA] <sub>n</sub>	11-20.1	511-549
15-3	[TAGA] <sub>n</sub>	12-31.3	178-258
17-2	[CTAT] <sub>n</sub>	11-22	188-232
18-3	[ATCT] <sub>n</sub>	13-28	136-197
19-2	[CTAT] <sub>n</sub>	10-16	532-557
X-1	[ATAG] <sub>n</sub> [ATGA] <sub>n</sub> [TAGA] <sub>n</sub>	15.2-37	385-472

### Cómo traer las muestras al Servicio:

El laboratorio llevará a cabo la extracción de DNA genómico de las células utilizando el extractor QIAcube, cuantificará el DNA obtenido mediante fluorimetría, y llevará a cabo el análisis antes descrito.

Para la extracción de DNA se traerá al Servicio un pellet seco equivalente a  $1-2 \cdot 10^6$  de células en un tubo de 2.0 ml. Si el usuario trae el DNA ya extraído, se necesitará un volumen de 50ul a una concentración de 50ng/ul (medido en Nanodrop).

Los usuarios recibirán por correo electrónico los perfiles obtenidos en formato pdf y un archivo Excel que incluirá el perfil de los diferentes microsatélites y el resultado de identificación de la muestra en las bases de datos.

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.

GENOMICA IIBm