

id

investigación y desarrollo

innovación
tecnológica
para
laboratorio

Rafer



introducción

Hasta hace pocos años la investigación era un campo desarrollado por pequeños grupos que realizaban su tarea con pocos recursos. Gracias a su gran labor y los avances tecnológicos de los últimos años ha permitido que el número de grupos haya aumentado de manera vertiginosa. Este incremento no solo se ha visto en departamentos de universidad sino incluso en hospitales y empresas en las que ven en la investigación una herramienta de crecimiento y desarrollo.

Comercial Rafer, S. L. ha sido participe de este crecimiento. Trabajar con tecnologías punteras y novedosas del mercado, nos ha permitido estar muy cerca de los investigadores apoyando diferentes proyectos afines a nuestras metas y yendo mas allá de la mera comercialización de un producto.

Gracias a nuestro personal especializado tanto en el campo de la genómica como la proteomica ofrecemos no solo un servicio de venta sino de post-venta, ayudando al usuario a poner las técnicas en marcha y asesorándolo en el momento que lo necesite.

Es difícil poder recopilar toda nuestra linea de trabajo en tan solo este catálogo. Esperamos que con esta pequeña pincelada podamos atraer su interés y poder ampliar toda esta información de manera personalizada.

investigación y desarrollo

Índice

Introducción

Tecnología multiparamétrica

Genotipado de SNPs

MicroRNA

Factores Trascricpción

Biomarcadores

Biología molecular

PCR a tiempo real

Tecnología DGGE

Proteómica

Electroforesis

Endopeptidasas

Purificación proteínas.

Procesos extracción

Extracción DNA/RNA

Purificación de producto



tecnología
multiparamétrica

Tecnología multiparamétrica

Todos los avances que se han alcanzado en la investigación biomédica han provocado que un mayor número de parámetros o factores necesiten ser analizados a la hora de estudiar o investigar enfermedades o respuestas de fármacos.

Toda esta información nos permite conocer muchos aspectos de enfermedades que hasta ahora se desconocían traduciéndose en avances en el tratamiento de las mismas.

Para poder trabajar con tantos parámetros a la vez necesitamos de nuevas tecnologías que sean capaces de dar el máximo número de resultados con la mínima cantidad de muestra. La tecnología xMAP de **Luminex** se adapta perfectamente a estas necesidades. Esta tecnología combina la citometría, uso de microesferas, procesamiento digital y químico tradicional, obteniendo una gran variedad de bioensayos de manera rápida, sensible y eficaz.

Basado en un proceso que marca internamente las microesferas con 2 fluorocromos distintos y en distintas cantidades. Usando las proporciones adecuadas podemos obtener hasta 100 grupos de esferas distintas cada una de ellas con su patrón único de color; identificable por láser. Cada una de estas microesferas se conjuga con un reactivo específico del bioensayo en cuestión. El analizador automático desarrollado por **Luminex** es capaz de detectar cada una de las microesferas y detectar la fluorescencia asociada a cada bioensayo.



Todo ello resultando en un ensayo que permite analizar en una misma muestra y un mismo pocillo hasta 100 parámetros.

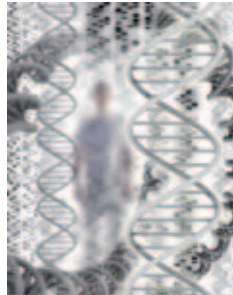
Aplicaciones posibles: Diagnóstico inmunológico y molecular, expresión de proteínas, estudio HLA, factores de transcripción, genotipaje, enfermedades infecciosas, neurobiología, endocrinología, cardiología, oncología.



Rafer

Genotipado de SNPs

Marligen a través de sus productos Signet" Genotyping ofrece ensayos para genotipado cuyas aplicaciones permiten estudiar variaciones en metabolismo de drogas, marcadores relacionados a enfermedades y estudios étnicos. El estudio de las variantes del cromosoma Y nos permiten establecer unos marcadores biológicos para cada etnia. Un método rápido que mediante una amplificación asimétrica obtenemos muchos resultados en breve espacio de tiempo.



Paneles de genotipado en el campo de la nutrigenómica, farmacogenética y toxicogenómica son algunas de las aplicaciones que también ofrece Marligen.

Ensayos multiplex que detectan polimorfismos y variantes asociados a la salud y condiciones nutricionales incluyendo enfermedades de corazón y huesos, insulina, inflamación y Alzheimer. Todos ellos usando una metodología de extensión de primers que se caracteriza por su alta discriminación alelica y sensibilidad.

Marligen también ofrece un servicio en el que diseña paneles a medida de las necesidades de los usuarios, desarrollando kits basados en tecnología **Luminex**.

MicroRNA

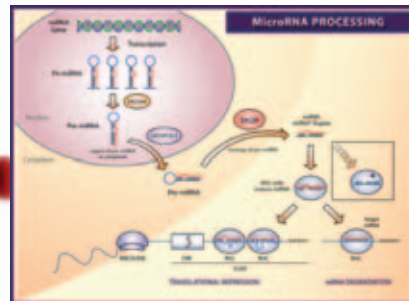
En los últimos 2 años los estudios en microRNA han aumentado de manera extremadamente rápido.

El microRNA tiene una función reguladora de la expresión de los genes. De manera que su influencia biológica interviene en mantenimiento y muerte celular, diferenciación de líneas celulares, infecciones virales, carcinogenesis, entre otras.

Aunque su principal campo de desarrollo ha sido en oncología, se ha conseguido identificar una serie de microRNA para cada tipo de cáncer: pulmón, hígado, colon, leucemias... de manera que tenemos una herramienta para clasificar mejor los tumores.

Luminex gracias a su tecnología dispone de un sistema multiparamétrico que nos permite analizar de manera rápida y sencilla los 320 microRNA descritos en la base de datos de Sanger y desarrollados todos ellos en un mismo kit. Un proceso que requiere biliar el RNA total, hibridar a las sondas de microRNA prefijadas en los beads, lavar y adicionar el conjugado para poder llevar a cabo la detección en el equipo. Todo ello con una alta sensibilidad gracias al empleo de las sondas *LNA*.

Posibilidad de realizar también estudios e microRNA en rata y ratón usando esta misma tecnología.



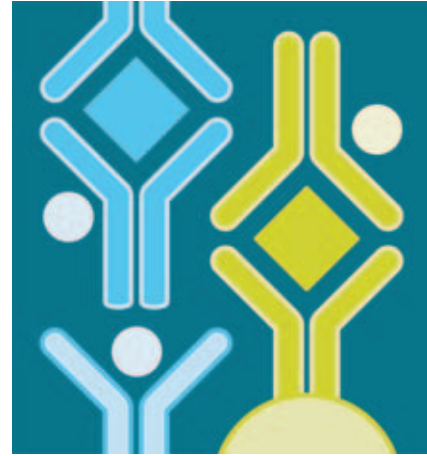
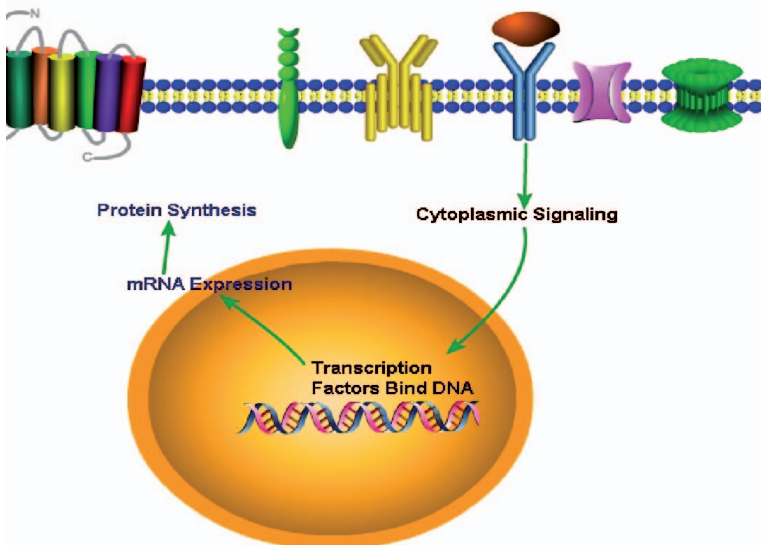
Factores de transcripción

Otro de los factores que intervienen en la regulación génica son los factores de transcripción.

Marligen, tras años de experiencia trabajando en el campo de los factores de transcripción en placa de quimiluminiscencia ha aplicado sus conocimientos a la tecnología *xMAP*, obteniendo unos resultados espectaculares comparándolos con técnicas tradicionales como EMSA o ELISA. Su principal ventaja es que podemos hacer ensayos de hasta 20-50 factores a la vez y en tan solo 4 horas. Algo inalcanzable por métodos anteriores.

Gracias al uso de sondas de DNA en lugar de proteínas para hacer la hibridación obtenemos un producto que es compatible tanto en humanos como especies animales como rata, ratón, cerdo o monos.

Marligen ofrece un servicio de análisis en sus laboratorios para facilitar la puesta en marcha de diferentes proyectos, dando unos resultados precisos en poco espacio de tiempo.



Biomarcadores

MILLIPLEX Map de **Millipore** ofrece una amplia selección de analitos en áreas terapéuticas. En un mismo catálogo obtenemos soluciones multiparamétricas en oncología, endocrinología, metabolismo de huesos, síndrome metabólico, señal celular y más.

En los diferentes paneles de beads se fijan anticuerpos de la máxima calidad y en los que se demuestra la consistencia de producto lote a lote gracias a que en todos ellos se incluyen controles para verificar dichas características, siendo fundamental en estudios que se desarrollan en un largo periodo de tiempo.

No es posible introducir todos los paneles en este catálogo pero en términos generales podemos trabajar con biomarcadores como: Citoquinas, fosfoproteínas, adipoquinas, adipositos, hormonas, tiroides, marcadores de cáncer y metabolismo de hueso.



biología
molecular

Desde que Kary Banks Mullis desarrolló la tecnología de la PCR se inició una revolución en la investigación biológica y médica. Tras el paso de los años la tecnología se ha mejorado de manera que su realización es más sencilla y precisa. Todos estos avances han permitido sacar otras nuevas tecnologías que basadas en la PCR mejoran los resultados en términos de producción y sensibilidad.

*Desde el principio **Rafer** ha ofrecido los productos para poder desarrollar estas técnicas. Y al igual que la técnica también hemos aumentado nuestro portafolio de productos en función de la demanda.*

PCR Cuantitativa

La sencillez y sensibilidad de esta técnica ha desencadenado que en un número muy elevado de laboratorios que trabajan en biología molecular hayan incorporado la QPCR como herramienta de trabajo.

No solo vamos a encontrar estos equipos en los laboratorios más avanzados tecnológicamente sino que son también usados en la industria alimentaria, análisis de aguas, bodegas entre otros.

Ha sido importante el desarrollo de los equipos que permiten realizar este tipo de reacciones pero también las mejoras en los propios reactivos han permitido aplicarlas en diferentes ámbitos.

Rafer a través de la marca **Abgene** viene ofreciendo kits para QPCR en los que se incluye la ThermoStart DNA polimerasa, una enzima químicamente modificada que se activa al estar durante 10 minutos a 95° C , eliminando cualquier problema de reacciones inespecíficas.

Por otra parte en función de las necesidades del usuario ofrecemos kits basados en sondas específicas o bien en SYBRgreen, con patrones internos para asegurar su funcionamiento.

Disponemos de las placas, tapas y tapones necesarias para poder trabajar con marcas como **4titude**, en las que aseguramos la máxima transparencia y el mejor sellado.

En el campo de microbiología de alimentación y aguas trabajamos con **PIKA** . Una compañía que desarrolla sus kits listos para trabajar con protocolos sencillos que permiten ser usados por personal no cualificado.

Salmonella Enterica, Listeria, Escherichia Coli, Saccharomyces cerevisiae, lactobacillus, Legionella y coliformes son algunos de los kits ya desarrollados.



Tecnología DGGE

DGGE (electroforesis en gel de gradiente desnaturalizante) permite detección del 100% de mutaciones.

Ingeny posee 2 sistemas para la aplicación de esta tecnología. Por un lado tenemos el tradicional sistema de electroforesis vertical pero con una especial característica: su espaciador en U que permite la carga del gel de forma sencilla y completamente libre de fugas.

Su capacidad de trabajar hasta con 96 muestras a la vez hacen de él un equipo muy útil para realizar el screenig de mutaciones o alteraciones antes de llevarlas a un secuenciador, eligiendo solo aquellas de interés.

Para aquellos laboratorios que tienen un alto volumen de muestras Ingeny dispone de un sistema automático que integra el proceso de amplificación, marcado, separación y detección en un simple capilar.

Para ambos equipos las aplicaciones son múltiples:

- Estudios de biodiversidad de distintos tipos de muestra
- Identificación de DNA mitocondrial en muestra forenses
- Tipificación en plantas
- Detección de mutaciones en genes humanos:
Entre ellos, BRCA 1, BRCA2, MLH 1, MSH2, MSH 6, CFTR y TP53.
- Ecología microbiana



Gracias al sistema diseñado por Ingeny podemos procesar en una misma carrera hasta 4 fragmentos en una misma calle. Esto permite un alto rendimiento del equipo.





proteómica y
procesos de extracción

Proteómica

*La proteómica se ha convertido
en la llave que nos abre
las puertas del complejo laberinto
que representa el mundo de las proteínas*



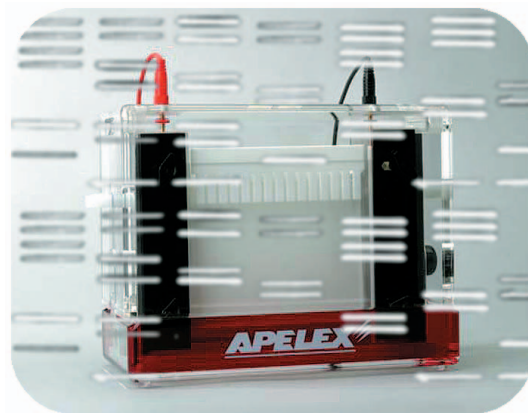
El espectacular desarrollo que recientemente ha experimentado la Espectrometría de Masas aplicada a las proteínas, junto con el desarrollo de la Bioinformática han hecho posible la aparición de la “Proteómica”. Como resultado podemos actualmente de una forma sencilla y rápida identificar nuestra proteína acudiendo a una base de datos existente, o bien identificar una proteína “de novo” si nuestra secuencia no está incluida en la base de datos.

Uno de los primeros pasos a realizar en el estudio de las proteínas es el análisis por electroforesis en gel de poliacrilamida SDS-PAGE, que se suele combinar con la separación previa de las proteínas en base a su punto isoeléctrico. Una vez tenemos el gel procedemos a la documentación y análisis de la imagen con cámaras especializadas, y posteriormente y tras previos ensayos de purificación, digestión, etc., pasaremos a analizar en el espectrómetro de masas (MALDI-TOF) que junto a la base de datos nos permiten la identificación de la proteína analizada.

Electroforesis

Apelex dispone de un amplio rango de sistemas para la electroforesis horizontales de ácidos nucleicos, vertical para proteínas, tanques para electro-blot líquido y semiseco, soluciones para preparación de geles, geles prefabricados, etc...

Una vez preparados los geles, **Wako Chemical** nos facilita la tinción de los mismos con una serie de reactivos de alta sensibilidad, como el Quick-CBB-Plus, que presenta ventajas adicionales frente al Coomassie Brilliant Blue tradicional, el Silver Stain MS Kit, el Negative Gel Stain MS Kit, etc...



Endopeptidasas

Dentro del campo de la Proteómica un paso importante, una vez aislada la proteína en un gel bidimensional, es su digestión con el fin de obtener fragmentos más cortos para su posterior estudio.

Desde hace mucho tiempo se vienen usando para este fin las endopeptidasas, la tripsina principalmente, pero se está trabajando mucho en conseguir enzimas cada vez más puras y con alta actividad catalítica.

Las endopeptidasas de **Princeton Separations** son enzimas recombinantes altamente purificadas aptas para la secuenciación tanto manual como automática. Su principal característica es que están modificadas químicamente y esto permite obtener un producto mucho más resistente a la autólisis y de mayor estabilidad durante los largos procesos de digestión.

Princeton Separations dispone de un amplio rango de endopeptidasas para ajustarse a todas las necesidades:

Arginina-C, Aspártico-N, Quimiotripsina (bovina), Glutámico-C, Lisina-C y Tripsina (porcina).

WAKO recoge más recientemente entre otros productos también para la investigación en proteómica, la incorporación de la Lysyl endopeptidasa, que usada en combinación con la tripsina habitual mejora considerablemente la especificidad y la eficiencia.

Purificación de proteínas

Un factor crucial para asegurarnos el éxito en la identificación de las proteínas es la calidad de los datos obtenidos en el MALDI-TOF.

Para ello contamos con las placas de 96 pocillos de **ABgene** de purificación de proteínas en gel SDS-PAGE, que elimina la necesidad de pipeteo manual de los pocillos, la proteína pura es automáticamente eluida a través de pequeños poros en los pocillos.

Esto facilita digestiones de péptidos consistentes y reproducibles, ayudándonos a conseguir junto con los ensayos posteriores MALDI-TOF y similares un correcto aislamiento, purificación e identificación de un gran número de proteínas.

La pureza de nuestra muestra puede suponer la obtención de buenos resultados en etapas posteriores



Extracción DNA/RNA

Las necesidades en un laboratorio de Biología Molecular en la extracción de DNA/ RNA son muy diversas.

La naturaleza de la muestra determina el tipo de tratamiento que hay que realizar. El volumen de muestra determinará el formato del kit. Y el número de muestras que procese un laboratorio determinará la necesidad de usar equipos automáticos.

Muchas son las químicas que se pueden usar. En métodos manuales trabajamos con reactivos por precipitación salina de la casa **Wako Chemical** principalmente usados en el campo forense o extracción de DNA mitocondrial.

Para muestras más comunes como sangre, plasma, tejido animal o vegetal, disponemos de kits basados en la tecnología de bolas magnéticas de la compañía **Chemagen**. Todos ellos basados en los mismos fundamentos: sencillez de protocolo, alto rendimiento y excelente calidad.

El número de muestras que se procesan en los laboratorios va siendo cada vez mayor, por lo que en muchos de ellos se está demandando cada vez más la necesidad de instalar extractores automáticos tanto de DNA como de RNA.

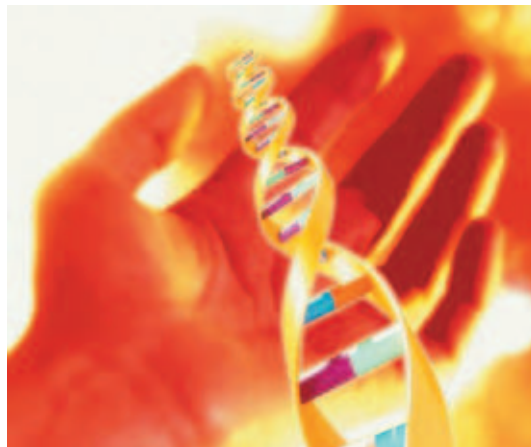
Los equipos que **Rafer** ofrece se basan en bolas magnéticas, ya que a la hora de automatizar una extracción los expertos indican que este es el mejor sistema, obteniendo alto rendimiento y calidad. Marcas tan establecidas en el mercado como **PSS** y **Chemagen** nos han permitido cubrir este mercado.

En función de las necesidades podemos ofrecer equipos para laboratorios con un nivel de muestras intermedio. Hasta 12 muestras de pequeño volumen se pueden procesar de manera automática en tan solo 30 minutos.

Para laboratorios cuyo número de muestras es elevado ofrecemos equipos que permiten realizar la extracción de DNA de hasta 96 muestras a la vez en placa.

Para aquellos usuarios que necesiten trabajar con grandes volúmenes tenemos equipos que permiten trabajar hasta con tubos primarios de 5, 7 ó 10 ml.

Según sus necesidades, Rafer le ofrece la mejor solución.



Purificación de producto

Princeton Separations va desarrollando diferentes productos especializados en separación molecular.

Basados en métodos de columna de gel conseguimos eliminar contaminantes de nuestras muestras que pueden provocar malos resultados.

Purificación de productos PCR, productos para llevar a secuenciación o purificación de plásmidos son algunos de los que podemos ofrecer.



Sede Central:

Uncastillo, 19 - 50008 ZARAGOZA - España

Tel.: 976 237 400 - Fax: 976 217 152

www.rafer.es - rafer@rafer.es

Almacén / Servicio Técnico:

Argualas, 40, Políg. El Greco, nave 5

50012 ZARAGOZA - España

Tel.: 976 306 571 - Fax: 976 306 572