INTRODUCCIÓN

* Adicciones
* DRD2
* Splicing alternativo
* Polimorfismos
* Manhattan plot

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA



HIPÓTESIS

Es posible eliminar el RNA del SFB sin afectar su función en el cultivo celular

OBJETIVO GENERAL

Obtener SFB libre de RNA que conserve su funcion en el cultivo celular.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

* Diseñar un método que permita eliminar el RNA del SFB
* Comprobar que se haya eliminado el RNA
* Comprobar si el tratamiento para eliminar el RNA del SFB realizado afecta la viabilidad de las células en cultivo

MÉTODOS

* Tratamientos al SFB
* Extracción de RNA total
* Cuantificación de RNA total (Qubit)
* Cuantificación de RNAs pequeños (Bioanalyzer)
* Análisis de nanopartículas (Nanosight)
* Proliferación y viabilidad celular

RESULTADOS

* Resumen de los tratamientos y porqué se escogió pH alto y calor
* Qubit.
  + Se cuantificó RNA total para saber si los tratamientos realizados al SFB afectaban su concentración.
  + De los tratamientos realizados, tres logran disminuir la concentración de RNA total por debajo del límite de detección de la técnica
* Bioanalyzer.
  + El límite de detección del Qubit es alto, era necesario un método más sensible y que permitiera cuantificar RNAs pequeños.
  + Se analizaron los tres tratamientos que disminuyen la concentración de RNA por debajo del límite de detección del Qubit para saber si también disminuían la concentración de RNAs pequeños por debajo del límite de detección del Bioanalyzer.
  + Estos tratamientos disminuyen la concentración de RNAs pequeños en las muestras, pero aun es detectable.
* Nanosight.
  + Una parte del RNA circulante esta contenido dentro de vesículas extracelulares, para eliminar completamente el RNA hay que actuar sobre ellas.
  + El NTA se realizó para saber si el tratamiento realizado al SFB tenía algún efecto sobre las vesículas extracelulares
  + El tratamiento podría ocasionar la desorganización de los lípidos que forman las vesículas, que al reestructurarse forman otras de menor tamaño

Bib

* Proliferación y viabilidad celular
  + El tratamiento realizado podría afectar la viabilidad del SFB
  + Se comparó la viabilidad de células en medio suplementado con SFB, SFB tratado y medio sintético libre de SFB, se esperaban diferencias significativas al comparar contra medio sintético y un porcentaje de viabilidad similar al comparar contra SFB sin tratamiento
  + El tratamiento realizado al SFB no afectó la proliferación ni la viabilidad de las células en cultivo.

DISCUSIÓN

* ¿Cuál es el efecto de cada tratamiento sobre el SFB? (calor, pH, ultracentrifugación, RNasa A), ¿por qué estos tratamientos individuales no eliminaron completamente el RNA del SFB?
* ¿Por qué el RNA del SFB no se degrada? (vesículas extracelulares y complejos nucleoproteícos)
* ¿Los tratamientos actúan de igual manera sobre RNAs largos y RNAs pequeños?
* ¿Qué sucedió en el SFB al tratarlo con calor + pH + neutralización?
* ¿Cuál es el efecto de los tratamientos sobre vesículas extracelulares?
* ¿Por qué el SFB conserva su viabilidad después del tratamiento? ¿El tratamiento pudo haber afectado otros componentes del SFB, esenciales para el crecimiento celular?

CONCLUSIONES

* El método diseñado no elimina completamente el RNA pero si disminuye su concentración sin afectar la viabilidad de las células en cultivo.

PERSPECTIVAS

Dado que el método diseñado disminuyó la concentración del RNA sin afectar la viabilidad del SFB podrían hacerse algunas variaciones al tratamiento para intentar eliminar el RNA por completo.