

Tecnología de microarreglos aplicada a la plataforma GeneTitan®*

González-García TK

RESUMEN

En octubre del 2015 se llevó a cabo la Primera Reunión de Medicina Genómica del ISSSTE: Avances y Perspectivas, donde se dio a conocer la adquisición de una nueva plataforma con tecnología de punta para análisis de genotipificación y expresión de genes aplicada a la investigación genómica clínica. La presente revisión muestra las características y aplicaciones de este equipo con la finalidad de darlo a conocer a toda la red del ISSSTE y pueda ser utilizada con el mayor provecho posible en beneficio de los pacientes.

Palabras clave: GeneTitan, microarreglos, genotipificación, expresión de genes, farmacogenómica

Microarray technology applied to the GeneTitan™ platform

ABSTRACT

The First Reunion of Genomic Medicine of ISSSTE: Advances and Perspectives, was placed in October 2015. There was announced the acquisition of a new leading-edge technology system for genotyping and gene expression analysis focused on clinical genomics research. This review tells about the characteristics, features and applications of this equipment in order to share them with the whole ISSSTE network and enough advantage can be taken of it in benefit of the patients.

Keywords: GeneTitan, microarrays, genotyping, gene expression, pharmacogenomics.

*Conferencia dictada el 7 de octubre del 2015 en Chautla, Puebla.

Este artículo debe citarse como

González-García TK. Tecnología de microarreglos aplicada a la plataforma GeneTitan®. Rev Esp Med Quir 2015;20:335-339.

INTRODUCCIÓN

Del 7 al 9 de octubre del 2015 se llevó a cabo con gran éxito la Primera Reunión de Medicina Genómica del ISSSTE: Avances y Perspectivas. Dentro de ésta se habló, entre muchos avances importantes, de una de las acciones de gran relevancia que ha llevado a cabo el ISSSTE a través del Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos, específicamente la Unidad de Medicina Genómica dirigida por la Dra. Martha Eunice Rodríguez Arellano: la adquisición de un equipo llamado GeneTitan® (Figura 1) que permite realizar estudios de genoma completo a nivel de secuencia de genes y a nivel de su expresión de forma rápida, sencilla y automatizada.¹ Este sistema es único en México y es el primero adquirido en Latinoamérica, de forma que pone al ISSSTE a la vanguardia en clínica genómica con tecnología de punta para un mejor diagnóstico y tratamiento de los derechohabientes.

El conocimiento detallado del ADN es una parte muy importante de la investigación biológica que se ha tornado de vital importancia para otras disciplinas, incluyendo medicina, biotecnología, forense, etcétera.² El auge de esta ciencia comenzó desde mediados de los años 90 del siglo pasado cuando se secuenció a *Haemophilus influenzae*, momento a partir del cual se tuvo

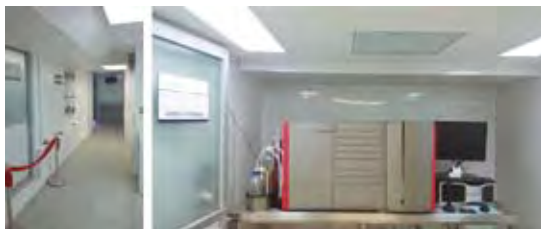


Figura 1. Equipo GeneTitan® en Laboratorio de Microarreglos. Único en México para una gran diversidad de estudios genómicos en beneficio de los derechohabientes.

como objetivo hacer lo mismo para la mayor cantidad de organismos posibles, incluyendo por supuesto el humano.³

El Proyecto Genoma Humano tenía como objetivo determinar la secuencia completa del genoma humano, hecho que culminó y fue publicado hacia inicios de los años 2000.⁴ Uno de los resultados más sorprendentes derivado de este tipo de estudios fue el hecho de que, debido a que el ADN entre seres humanos es 99.9% idéntico, sólo 0.1% es el que nos hace diferentes; diferencias entre etnias y rasgos o características, pero también, por ende y de manera muy importante, diferencias relacionadas con enfermedades, respuesta a fármacos, etcétera.⁴

Con todo lo anterior se ha buscado determinar la relación entre el genoma, secciones de éste y el ambiente, dando como resultado a lo que se conoce actualmente como Genómica. Además, ha ocurrido un inmenso progreso tecnológico enfocado a desarrollar cada vez más esta área, ampliar el conocimiento del genoma humano y dirigir los esfuerzos a un nuevo enfoque terapéutico para una medicina personalizada.

GENOTIPIFICACIÓN

Uno de los estudios genómicos que resulta sumamente importante en estos días es la genotipificación, proceso por el cual se realiza la determinación de las variantes genéticas de un genoma, ya sea visto de forma individual o colectiva (de un cierto grupo, población).⁵ Dentro del 0.1% en que difiere el ADN entre humanos, las variantes de un solo nucleótido entre genomas de individuos de la misma especie, conocidas como polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) (Figura 2) han sido muy estudiadas debido a que pueden brindar información relevante acerca de antepasados, fenotipo, riesgo de enfermedades, además de eficacia y efectos adversos de medicamentos.⁶



Figura 2. Un SNP es una variación en un solo nucleótido en cierta región del genoma que ocurre en más de 1% de la población. Pueden incluir también inserciones o deleciones de un solo nucleótido. Aunque un SNP particular puede no causar algún desorden, muchos de ellos sí están asociados con enfermedades.

ESTUDIOS DE EXPRESIÓN GÉNICA

Además de los estudios de genotipificación también son de gran importancia aquellos en donde se determina la expresión de los genes a nivel transcripcional o de ARNm, es decir, en donde se determina cuáles de ellos están “prendidos” o “apagados” y qué tanto respecto a una condición control, ya que esto determinará en gran medida que esa información se vea reflejada como fenotipo, patología, etcétera (Figura 3). Estudiar la expresión permite tener información más específica de lo que ocurre a lo largo de un proceso biológico y de qué pasa entre que se tiene la información codificada en el ADN hasta que llega a proteína, teniendo así más blancos terapéuticos.⁷

Tecnología de punta para estudios genómicos: plataforma GeneTitan®

La plataforma GeneTitan®, recientemente inaugurada en el laboratorio de Medicina Genómica del Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos, permite realizar todos los tipos de estudio de gran relevancia antes mencionados con alto rendimiento y de forma robusta y confiable, mediante la tecnología de microarreglos.

Microarreglos de ADN

Los microarreglos son una colección ordenada de secuencias microscópicas de ADN unidas a una superficie sólida. Cada una de esas sondas o secuencias específicas o secciones cortas de un gen u otro elemento de ADN se emplea para hibridar a una muestra de cADN o cARN (blanco) de manera específica bajo condiciones de alta astringencia (Figura 4).¹

Los microarreglos utilizados con el GeneTitan® tienen la ventaja de poder hacer la detección de miles o hasta millones de marcadores de manera masivamente paralela, lo que permite obtener gran cantidad de información relevante para la salud que de otra forma resultaría inasequible.¹

Las sondas unidas a la superficie sólida son en realidad sintetizadas *in situ*, esto mediante la

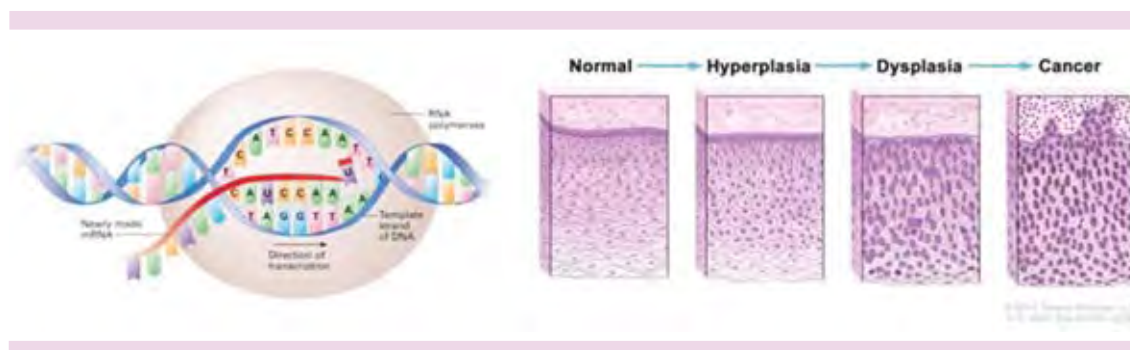


Figura 3. Proceso de transcripción. La expresión diferencial de genes lleva a diferentes condiciones fisiológicas o patológicas dependiendo de los diferentes estímulos presentes.

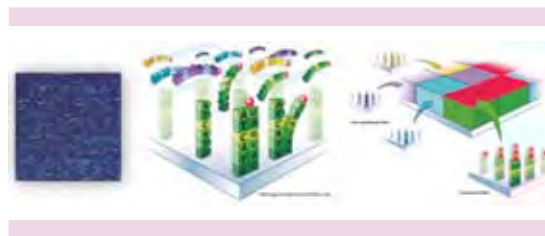


Figura 4. Detección de secuencias específicas mediante fluorescencia a través de microarreglos de alta densidad.

técnica de fotolitografía, lo que le da la enorme ventaja a estos arreglos de que no exista pérdida aleatoria de marcadores entre lotes, hecho que pueda ser confundido con falsos negativos o positivos, brindando así resultados más confiables.¹

Tipos de microarreglo

El sistema GeneTitan® es compatible con gran cantidad de microarreglos en placa (Figura 5) con cobertura de todo el genoma que, en general, se pueden dividir en 2 tipos: de genotipificación y de expresión.¹

De genotipificación

Considera placas de 96 o 384 arreglos que pueden realizarse de forma simultánea sin problema.¹



Figura 5. Placa de 96 microarreglos.

*Axiom® Arrays: son arreglos diseñados para tener una máxima cobertura de variantes en los diferentes tipos de poblaciones: europeos, asiáticos, africanos y latinos (LAT), lo que permite realizar estudios más específicos en nuestra población y con menos sesgo. El arreglo Axiom LAT® puede detectar aproximadamente 900,000 variantes poniendo especial énfasis en sondas relacionadas con patologías del sistema inmunitario e inflamación, MHC, cáncer, enfermedades cardiovasculares y marcadores de farmacogenómica: absorción, distribución, metabolismo y excreción de fármacos (ADME). Todos estos marcadores enfocados es estudios que permitan una medicina predictiva, preventiva, participativa y personalizada.¹

*miRNA Target Site Arrays®: son arreglos que interrogan 230,000 SNP e indels a lo largo de las vías de acción de los miARN que afectan la función de un gen, incluyendo sus sitios blanco y maquinaria de silenciamiento.¹

*Biobank Genotyping Arrays®: arreglos diseñados para genotipificación de amplia cobertura de grandes y variadas colecciones de muestras como las encontradas en biobancos, centros genómicos y laboratorios de referencia muy grandes. Cuenta, además de las sondas ya establecidas, con espacio para incluir sondas de interés específico del proyecto para el cual se estén utilizando.¹

De expresión

Considera placas de 16, 24 o 96 arreglos.¹ Arreglos para estudios en humano, rata, ratón, otros organismos modelo para investigación y otras muy diversas especies animales y vegetales.¹

*miARN Arrays: los arreglos para miARN que pueden ser procesados en el GeneTitan® incluyen sondas para todos los miARN conocidos hasta el momento en todas las especies; ade-

más puede detectar snoARN y scaARN, lo que permite tener un mejor panorama de su papel e importancia en todas aquellas enfermedades donde participan.¹

MyDesign® Arrays: en caso de que ninguno de los arreglos compatibles con la plataforma GeneTitan® satisfaga las necesidades del proyecto a realizar, esta tecnología permite utilizar arreglos personalizados. El diseño se realiza en conjunto con gente especializada en bioinformática y diseño, y puede ocurrir a partir de la modificación de un arreglo prefabricado o completamente *de novo*.¹

En general, el GeneTitan® permite procesar de 16 a 192 muestras/microarreglos por semana con un flujo de trabajo sencillo, desde la preparación de la muestra hasta la obtención de los resultados, incluyendo el análisis mediante *software* especializado.¹

Dentro del mismo equipo se encuentran los sistemas necesarios para el procesamiento de los microarreglos: el sistema de hibridación de muestras, estación de lavados y sistema de escaneo, además el paso de las muestras y consumibles entre los diferentes módulos se realiza de forma automatizada. Debido a esto

se reduce considerablemente para el usuario el número de pipeteos y el tiempo dedicado a estar pendiente del proceso optimizando así el trabajo en laboratorio.¹

Con todas las ventajas que brinda la plataforma GeneTitan® en conjunto con las ideas y la visión de los integrantes de la Unidad de Medicina Genómica y colaboradores de toda la red del ISSSTE, se llevan y seguirán llevando a cabo proyectos enfocados a mejorar la salud de los derechohabientes.

REFERENCIAS

1. Affymetrix (2015). Microarray solutions.[<http://www.affymetrix.com>]
2. Genomics in Theory and Practice (2015) [<http://www.genomic.org.uk/>]
3. Fleischmann RD et al. Whole-genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenzae* Rd. Science 1995; 269(5223):496-512
4. National Human Genome Research Institute (2015). Human Genome Project [<http://www.genome.gov>]
5. Coriell Institute for Medical Research (2015) What's genotyping and Expression Profiling? [<http://www.coriell.org>]
6. Ramírez J, Chávez L, Santillán JL y Guzmán S. Microarreglos de DNA. Mensaje Bioquímico. UNAM. 2003: 97-120
7. Alberts B, Johnson A. Lewis J, Raff, Roberts K y Walter P. Molecular Biology of the Cell. 4a.ed. Nueva York, 2002; capítulo 8