

3.4 How can we study the effect of viruses on cell pathways?

3.4 ¿Cómo podemos conocer el efecto de los virus en las rutas celulares?

Bienvenido a un nuevo video sobre diagnóstico vírico. Seguro que sabes que cuando un virus infecta a una célula, produce en ella una serie de desequilibrios moleculares, que hacen que la célula sintetice moléculas en respuesta a la infección, bien como defensa o bien para informar a otras células sobre la infección. En este video vamos a hablar de microarrays, una técnica que se emplea para conocer qué rutas celulares se ven afectadas por la infección vírica.

Los microarrays, micromatrices, microchips o chips de ADN, que todos son sinónimos, tienen múltiples aplicaciones en investigación, por ejemplo, para desarrollar fármacos, estudiar la expresión de genes relacionados con la patogenicidad vírica, etc. Pero hay otros microchips que se pueden emplear en diagnóstico, para identificar nuevos virus, monitorizar pacientes tratados con antivirales, o controlar la calidad de vacunas y confirmar que se hallan exentas de microorganismos contaminantes. Así que, como ves, los usos son innumerables. Por cierto, los que están diseñados para diagnosticar muchos virus se llaman virochips.

Constan de una membrana, que puede ser de nailon, silicona o un simple portaobjetos de vidrio. En esta membrana se inmoviliza el ADN de muchos genes, ordenados según un patrón específico. Estos fragmentos de ADN, que se conocen como sondas u oligos, se disponen en puntos o spots microscópicos. Cuando un virus infecta a una célula, se disparan una serie de señales que llegan al núcleo y activan a determinados genes. El resultado es la síntesis de ARNm que sale al citoplasma. Pues bien, este ARNm (o tras retrotranscribirse en ADN complementario) es el que hibrida con el ADN unido a la matriz sólida.

Two-channel microarrays

La técnica típica consiste en extraer el ARNm de células infectadas y de células no infectadas. Con la enzima RT, que vimos en los videos anteriores, los ARNm se retrotranscriben en cDNA, utilizando dNTPs marcados con diferente color para las células infectadas y sin infectar, para que así queden marcados con distinta fluorescencia. Cuando estos cDNAs se añaden a la matriz con miles de secuencias de ADN, en las condiciones adecuadas, si es que esta existe complementariedad entre la sonda de la micromatriz y el cDNA, ambos hibridan. Al tener diferente color, se puede determinar con qué sondas hibrida el cDNA procedente de la célula infectada y de la no infectada, y determinar así la expresión de qué genes ha disparado la infección vírica. No olvides que en el microchip hay miles de sondas, por lo que en el mismo experimento se puede ver la expresión de muchos genes diferentes, que se identifican por su posición en el soporte. Aunque parezca complicado, las micromatrices se pueden personalizar en función del objetivo para el que se vayan a utilizar. Y no te asustes, que no se leen manualmente: hay lectores de micromatrices y programas especializados para interpretar las señales fluorescentes.

One-channel microarrays

También se puede emplear un solo color de fluorocromo, especialmente si queremos cuantificar la cantidad de ARNm, porque así veremos valores absolutos, que compararemos con la intensidad de la fluorescencia que aporta un ADN diluido a concentraciones conocidas. De esta forma, se pueden comparar los resultados de diferentes laboratorios u obtenidos en diferentes momentos.

En este video hemos visto una introducción a los microarrays, una tecnología muy potente y con muchas aplicaciones. Seguro que te han surgido muchas preguntas. En el material adicional hay un video en inglés que te resolverá muchas de las mismas.
<https://www.jove.com/video/2536/using-pan-viral-microarray-assay-virochip-to-screen-clinical-samples>

Además, como con esto acaba la sección de diagnóstico a través de ácidos nucleicos, no te olvides de hacer los ejercicios correspondientes.