

Tecnologías bioelectroanalíticas para determinar mirnas

Breve descripción

Las tecnologías desarrolladas permiten determinar de forma fiable, selectiva y sensible microRNAs (miRNAs o miRs), biomarcadores de diagnóstico precoz de cáncer, en RNA total (RNAt) extraído de muestras clínicas complejas de una forma rápida, sencilla y sin necesidad de llevar a cabo etapas adicionales de amplificación o retrotranscripción a DNA complementario.

¿Cómo funciona?

Las tecnologías se basan en el desarrollo de distintos formatos de afinidad sobre la superficie de partículas magnéticas (MBs) comerciales, marcaje enzimático con la enzima peroxidasa de rábano (HRP) y transducción de la señal mediante amperometría empleando electrodos serigrafiados desechables.

Las metodologías desarrolladas consisten en la hibridación selectiva del miRNA diana con una sonda complementaria sintética modificada con biotina, en disolución o previamente inmovilizada sobre la superficie de MBs comerciales debidamente funcionalizadas (Figura 1). Los híbridos formados en disolución son capturados por biorreceptores de elevada selectividad (proteína viral p19, proteína de dedo de zinc o anticuerpo selectivo a heterohíbridos de DNA/RNA), previamente inmovilizados de manera efectiva sobre MBs comerciales funcionalizadas y se marcan enzimáticamente con un polímero de estreptavidina-HRP en una última etapa a través de la interacción biotina-estreptavidina, mientras que los híbridos formados sobre la superficie de MBs comerciales funcionalizadas de forma conveniente son reconocidos y marcados enzimáticamente por una mezcla de biorreceptores específicos (proteína viral p19 o anticuerpo selectivo a heterohíbridos de DNA/RNA y anticuerpos secundarios marcados con HRP). Independientemente de la estrategia de ensayo empleada, las MBs modificadas se atrapan magnéticamente sobre la superficie de los transductores desechables empleados para llevar a cabo la monitorización de la respuesta amperométrica empleando el sistema H_2O_2 /HRP/hidroquinona (HQ), que permite establecer la relación entre la magnitud de la intensidad de corriente obtenida y la concentración del miRNA diana objetivo presente en la muestra.

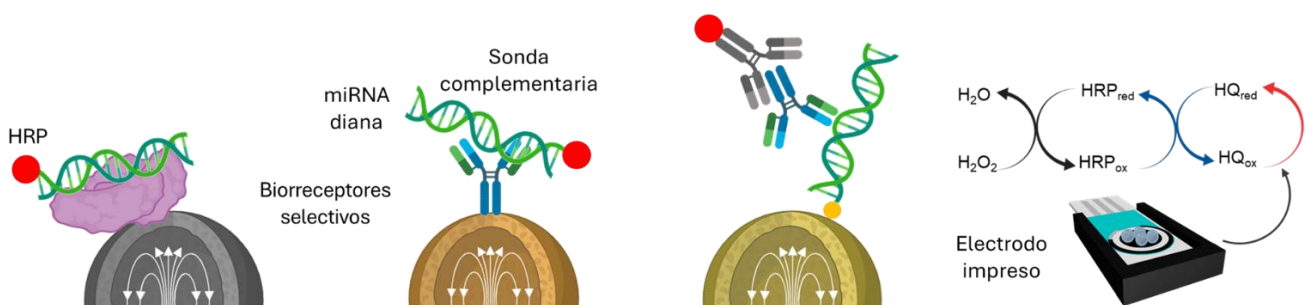


Figura 1. Ejemplos representativos de las tecnologías bioelectroanalíticas disponibles para determinar miRNAs y diagrama esquemático del proceso de detección amperométrica.

¿Qué problema resuelve?

Las tecnologías desarrolladas se han aplicado satisfactoriamente a la determinación de diversos miRNAs maduros relevantes para el diagnóstico y pronóstico de cáncer de mama y colorrectal en RNAt extraído de líneas celulares, de tejidos frescos o embebidos en parafina y de citologías mamarias, empleando cantidades de muestra significativamente inferiores (100–1000 ng) a las requeridas por otras metodologías más convencionales, y en tiempos de ensayo comprendidos entre 75–120 minutos, que pueden reducirse a tan sólo 15 minutos, sin comprometer significativamente la sensibilidad.



La elevada selectividad que caracteriza a las biotecnologías desarrolladas, evaluada frente a miRNAs con secuencias no complementarias y frente a miRNAs sintéticos con una única base desapareada, asegura la obtención de resultados fiables y precisos, requisito imprescindible para llevar a cabo el análisis de este tipo de biomarcadores considerando la elevada homología existente entre secuencias de distintos miRNAs que pueden coexistir en una misma muestra. Además, la versatilidad de las tecnologías propuestas permite su traslado a la determinación de cualquier miRNA, así como el análisis multiplexado de paneles de miRNAs que permitan la identificación de perfiles únicos de expresión de estos biomarcadores, a nivel tisular y celular, inherentes a cada tipo de cáncer y estadio de la enfermedad, permitiendo su clasificación y caracterización molecular y la selección/aplicación del tratamiento más apropiado en cada caso.

¿Qué productos futuros resultarán?

La integración de estas tecnologías bioelectroanalíticas, de coste asequible, rápidas, simples y fiables y compatibles con portabilidad a la práctica clínica y hospitalaria promete beneficios sustanciales para mejorar la fiabilidad del diagnóstico temprano y el pronóstico y mejorar la eficiencia de los programas terapéuticos aplicados a pacientes con enfermedades crónicas de elevada prevalencia mundial, como el cáncer, lo que impactará de forma positiva en su supervivencia y calidad de vida.

Ventajas competitivas frente a otras investigaciones

Entre las ventajas que ofrecen estas tecnologías, destacan:

- Aplicación sencilla a la detección de cualquier miRNA y otros RNAs de interés en RNA extraído de cualquier tipo de muestra biológica o directamente en muestras de biopsias líquidas.
- Fácil implementación en dispositivos de diagnóstico de aplicación en el punto de atención empleando instrumentación sencilla y de bajo coste.
- Sensibilidad adecuada para la detección directa de miRNAs en ausencia de etapas previas adicionales de transcripción reversa, amplificación y purificación.
- Capacidad de multiplexado y posibilidad de automatización.
- Tiempos y costes por ensayo inferiores a los de la estrategia convencional de análisis de miRNAs por qRT-PCR.
- Obtención de resultados cuantitativos fiables.
- Eficiencia comparable en el análisis de muestras de tejidos frescos y parafinados.

¿Dónde se ha desarrollado?

Estas bioplataformas se han desarrollado en el Grupo de Electroanálisis y (Bio)sensores Electroquímicos de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Complutense de Madrid, en colaboración con los Grupos de Farmacología Molecular del CIB-CSIC y ProteoFun del ISCIII, y de la empresa CANNAN RESEARCH & INVESTMENT S.L.

Y además...

Página web con información adicional: <https://gebeucm.wordpress.com/>.

Responsable de la investigación

Susana Campuzano Ruiz: susanacr@quim.ucm.es; **José M. Pingarrón Carrazón:** pingarro@quim.ucm.es; **Rebeca M. Torrente-Rodríguez:** rebecamt@ucm.es

Departamento: **Química Analítica**

Facultad: **Ciencias Químicas**
