



## **Tecnologías bioelectroanalíticas para determinar metilaciones a nivel global y regional en ácidos nucleicos**

### **Breve descripción**

---

Las tecnologías desarrolladas permiten la determinación individual o simultánea de las principales bases metiladas en ADN (5-metilcitosina, 5-mC; 5-hidroximetilcitosina, 5-hmC; 5-formilcitosina, 5-fC; y 5-carboxil-citosina, 5-caC) y ARN (N6-metiladenosina, m6A), tanto a nivel global como regional, de forma rápida, fiable y sencilla.

### **¿Cómo funciona?**

---

Las tecnologías se basan en la implementación de formatos de afinidad y marcaje enzimático con la enzima peroxidasa de rábano (HRP) sobre micropartículas magnéticas (MBs) comerciales y en la transducción amperométrica sobre electrodos impresos desechables.

Para la determinación a nivel regional, el ADN o ARN metilado diana se captura selectivamente sobre MBs modificadas con una sonda sintética de ADN biotinilada y se detecta empleando un anticuerpo selectivo a la base metilada diana que se marca enzimáticamente con HRP (Proteína A-polyHRP80).

Para la determinación a nivel global, se emplean formatos de inmunoensayo de tipo competitivo directo sobre los inmunoconjugados en los que el ADN o ARN diana metilado compite por los limitados sitios de unión de los anticuerpos inmovilizados sobre las MBs con un oligómero de ADN o ARN biotinilado sintético que porta una única base metilada y que se marca con la enzima HRP (conjugado de estreptavidina-HRP).

En todos los casos, las MBs modificadas se capturan magnéticamente sobre la superficie de electrodos (o arrays de electrodos) desechables y se realiza la transducción amperométrica empleando el sistema HRP/hidroquinona (HQ)/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> obteniéndose una variación de corriente catódica que puede relacionarse con la concentración de la base metilada diana.

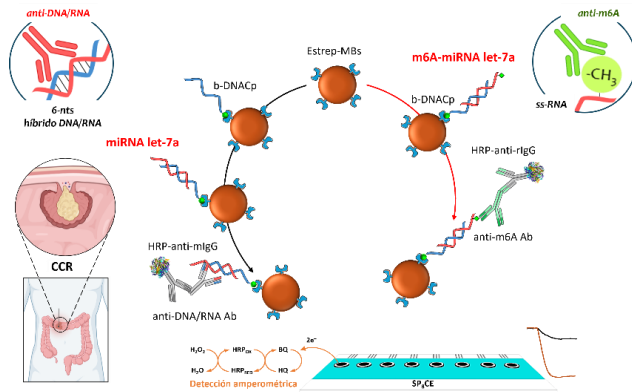
### **¿Qué problema resuelve?**

---

Los resultados obtenidos confirman unas excelentes prestaciones para realizar determinaciones fiables en células y biopsias humanas de distinta naturaleza (sólidas y líquidas). Se ha confirmado, asimismo, el prometedor potencial de estas bioplataformas para:

- discriminar entre individuos sanos y afectados por cáncer mediante la determinación del nivel global de 5-mC y 5-hmC en ADN genómico extraído de tejidos o 5-mC a nivel regional directamente en muestras de suero;
- evaluar las capacidades metastásicas de las células cancerosas e identificar tejidos tumorales y su estadio canceroso analizando simultáneamente el contenido total de un miRNA y su fracción metilada (Figura 1);
- confirmar la completa resección del tumor tras la cirugía e identificar diferentes tipos de cáncer interrogando a nivel global 5mC, 5-hmC, 5-fC y 5-caC en ADN genómico de tejidos;
- caracterizar la agresividad de las células tumorales detectando m6A a nivel global en extractos de ARN total sin necesidad de enriquecimiento o fragmentación.

En las determinaciones en células y tejidos humanos, la cantidad de ADN genómico o de ARN celular empleado por determinación está comprendida entre 10 y 100 ng.



**Figura 1.** Tecnología bioelectroanalítica para determinar simultáneamente el contenido total de un miRNA y de su fracción metilada.

## ¿Qué productos futuros resultarán?

La incorporación a la rutina clínica de estas tecnologías bioelectroanalíticas, que proporcionan resultados consistentes con los suministrados por las convencionales (RT-PCR), conllevaría ventajas importantes en términos de sencillez, rapidez, coste, portabilidad y multiplexado, fiabilidad para el diagnóstico temprano y el pronóstico de enfermedades prevalentes y mejora de la eficiencia de la terapia y de la supervivencia y calidad de vida de los pacientes.

## Ventajas competitivas frente a otras investigaciones

Entre las ventajas competitivas de las tecnologías desarrolladas destacan:

- Fácilmente trasladables a la determinación individual o múltiple de otras epimarcas de interés.
- Implementación sencilla en dispositivos de diagnóstico en el punto de atención (POC).
- Sensibilidad a nivel de una única base sin necesidad de emplear etapas de amplificación de ácidos nucleicos.
- Proporcionar resultados cuantitativos en tiempos inferiores a 2 h y con coste muy asequible (< 2 € / determinación).

## ¿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 (Grupo GEBE-UCM, Referencia 910319) y en colaboración con investigadores y clínicos del Instituto de Salud Carlos III (Grupo ProteoFun-ISCI).

## Y además...

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

## Responsable de la investigación

Susana Campuzano Ruiz: [susanacr@quim.ucm.es](mailto:susanacr@quim.ucm.es); José M. Pingarrón Carrazón: [pingarro@quim.ucm.es](mailto:pingarro@quim.ucm.es); María Pedrero Muñoz: [mpedrero@quim.ucm.es](mailto:mpedrero@quim.ucm.es); Rebeca M. Torrente-Rodríguez: [rebecamt@ucm.es](mailto:rebecamt@ucm.es); Víctor Ruiz-Valdepeñas Montiel: [vrvmontiel@ucm.es](mailto:vrvmontiel@ucm.es)

Departamento: Química Analítica

Facultad: Ciencias Químicas