

Chip genético (ADN *array*): el futuro ya está aquí

X. Busquets y A.G.N. Agustí*

Unidad de Investigación y *Servicio de Neumología. Hospital Universitari Son Dureta. Palma de Mallorca.

Introducción

Una fría noche del mes de febrero de 1869, Dimitri Mendeleiev se despertó sobresaltado en su habitación de San Petersburgo. Durante meses, el físico ruso había estado intentando desarrollar un método que le permitiese predecir las propiedades de los distintos elementos químicos. Esa noche encontró la solución: clasificarlos en una tabla ordenada (*array*) de acuerdo con el peso atómico de cada uno de ellos.

La investigación biomédica actual también necesita una tabla que exponga de manera ordenada (según su función) todos los genes que se expresan (o reprimen) en un tejido determinado (receptores, hormonas, factores de transcripción, citocinas, etc.), en un momento y condiciones experimentales determinadas. Al igual que la tabla periódica de los elementos en 1869, esta tabla de genes es, hoy día (2001), una realidad: el ADN *array*^{1,2}. El desarrollo del ADN *array* ha sido posible gracias a la combinación de dos factores clave: la secuenciación de todo el genoma humano y el desarrollo de tecnologías avanzadas (nanochips) que han permitido la implementación práctica de estos conocimientos genéticos básicos.

En este artículo se expone qué es un ADN *array*, se revisa brevemente su metodología y se discuten algunas de sus posibles aplicaciones en el ámbito de la investigación biomédica. En la tabla I se recogen las principales abreviaturas y definiciones utilizadas en el texto. Se remite al lector interesado en ampliar los conceptos básicos sobre "terminología molecular" a un artículo publicado en ARCHIVOS DE BRONCONEUMOLOGÍA³.

¿Qué es un ADN *array*?

Un ADN *array* (también denominado ADN *microarray*, ADN *chip*, *oligonucleotide array* o *gene chip*) consiste en múltiples fragmentos de ADNc (cada uno de

los cuales representa un gen diferente) adheridos a un soporte físico concreto (vidrio, plástico, silicona, etc.) y agrupados de manera ordenada (filas y columnas) según su función (receptores, hormonas, factores de transcripción, citocinas, etc.). Los ADN *arrays* hoy en uso incluyen entre 9.000 y 40.000 fragmentos de ADNc (genes) por cm². Por tanto, disponen virtualmente de la expresión de todo el genoma humano.

¿Para qué sirve un ADN *array*?

Un ADN *array* sirve para determinar la expresión genética completa de un tejido en un momento determinado. Esta "foto genética transversal" de un tejido concreto se denomina "transcriptoma". El transcriptoma, al contrario que el genoma (conjunto de todos los genes existentes en una célula), cambia continuamente en respuesta a cambios en las condiciones microambientales celulares o tisulares (temperatura, pH, PO₂, citocinas, hormonas, etc.). Por tanto, la interpretación del transcriptoma objeto de estudio requiere necesariamente de su comparación con el de un tejido "control". El ADN *array* permite esta comparación, que se conoce con el nombre de *differential display*^{1,2}.

TABLA I

Principales abreviaturas y definiciones utilizadas en el texto

| |
|---|
| <i>Array</i> : disposición en forma de tabla ordenada |
| <i>ADN</i> : ácido desoxirribonucleico (genes) |
| <i>ADN array</i> : fragmentos de ADNc (cada uno representa a un gen) o ADN genómico adheridos a un soporte de manera ordenada y agrupados según su función |
| <i>ADNc</i> : molécula de ADN sintetizada a partir de ARNm |
| <i>Differential display</i> : comparación entre los transcriptomas de un tejido control y su homólogo objeto de estudio experimental |
| <i>Gen</i> : unidad funcional del ADN que contiene la información necesaria para dar lugar a una proteína |
| <i>HAL</i> : ordenador inteligente de la serie 9.000 que controla todas las funciones de la nave Discovery en su misión a Júpiter, en la película <i>2001, una odisea del espacio</i> |
| <i>ARNm</i> : ARN mensajero. Molécula de ARN que sirve de modelo para la síntesis de proteínas en el ribosoma |
| <i>Regulón</i> : conjunto de genes que se expresan conjuntamente y de manera coordinada |
| <i>ARN</i> : ácido ribonucleico |
| <i>Transcriptoma</i> : el conjunto de la expresión de los genes (ARNm) en un tejido y en un momento determinados |

Trabajo subvencionado, en parte, por ABEMAR.

Correspondencia: Dr. A.G.N. Agustí.
 Servei Pneumologia. Hospital Universitari Son Dureta.
 Andrea Doria, 55. 07014 Palma de Mallorca.
 Correo electrónico: aagusti@hsd.es

Recibido: 9-1-01; aceptado para su publicación: 23-1-01.

(Arch Bronconeumol 2001; 37: 394-396)

Metodología del ADN array

El procedimiento para comparar el transcriptoma del tejido objeto de estudio con el transcriptoma del tejido control es relativamente simple (fig. 1). En primer lugar, se debe aislar el ARNm de ambos tejidos y, a partir de cada uno de ellos, obtener sus correspondientes ADNc. Estas moléculas de ADNc deben marcarse con un compuesto fluorescente, que será diferente en el tejido objeto de estudio y el tejido control^{1,2}. En general, el ADNc del tejido objeto de estudio se marca con el compuesto fluorescente Cy3 (que emite fluorescencia a una longitud de onda de 588 nm, lo que en el espectro correspondería a un color cercano al rojo) y el del tejido control con el compuesto Cy5 (que emite fluorescencia a una longitud de onda de 680 nm, lo que en el espectro correspondería a un color entre naranja y amarillo).

A continuación, se mezclan ambos ADNc marcados y se incuban juntos en el array, para que cada especie de ADNc hibride (se una) específicamente a su ADNc complementario inmovilizado en el array. Cuanto mayor sea la hibridación de una especie determinada de ADNc marcado con el ADNc del array, mayor será la expresión tisular original del ARNm correspondiente (expresoma)^{1,2}. Pero, ¿cómo se evalúa la “cantidad” de hibridación existente? Se calcula determinando la longitud de onda emitida por cada uno de los dos ADNc incubados. Para ello, el sistema lector del ADN array asigna un código informático de colores a la cantidad de fluorescencia emitida. Si hay mayor hibridación del ADNc de la condición patológica (rojo), el componente rojo de la emisión predominará, y viceversa, cuando sea mayor la hibridación del ADNc de la condición control, el componente amarillo de la emisión será el que predomine (fig. 1). Cuando la hibridación del ADNc de los dos tejidos estudiados sea similar, el programa informático asignará un código de color verde (fig. 1). Hay que tener en cuenta que esta diferencia de emisión debe evaluarse en cada uno de los pocillos del ADN array (es decir, para cada uno de los ADNc [genes] evaluados). De esta manera, se compara la expresión de todos los genes representados en el ADN array (hasta 40.000) en el tejido estudio frente al tejido control (*differential display*)^{1,2}.

¿Cómo interpretar la información proporcionada por un ADN array?

El ADN array proporciona información sobre los genes que han variado su expresión (tanto en el sentido de su sobreexpresión como en el de su represión) en respuesta a unas condiciones experimentales o fisiopatológicas determinadas. En definitiva, el ADN array nos proporciona el transcriptoma característico de dichas condiciones. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la alteración en la expresión de estos genes puede ser causa o consecuencia de la enfermedad estudiada. El investigador deberá, entonces, elaborar nuevas hipótesis de trabajo para diferenciar ambas posibilidades. Por consiguiente, la tecnología del ADN array debe considerarse como una tecnología “generadora de hipótesis” y no como una tecnología capaz de cerrar definitiva-

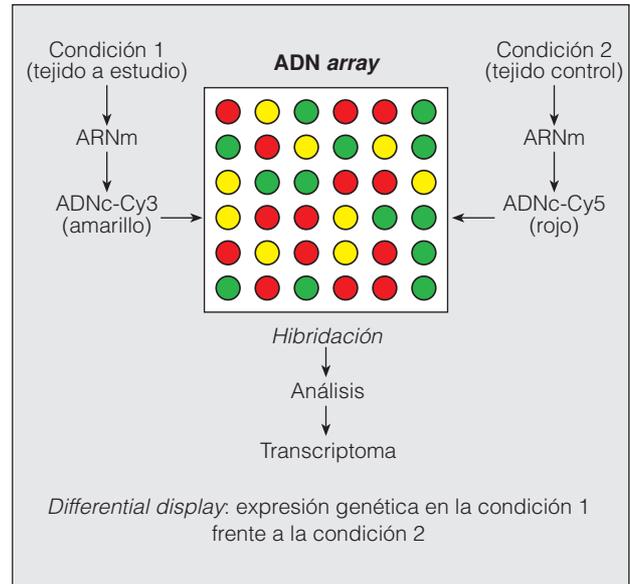


Fig. 1. Metodología básica de un ADN array. Véase texto para más explicaciones. Abreviaturas en la tabla I.

mente cuestiones pendientes^{1,2}. No obstante, permite que dichas hipótesis se concreten sobre un número reducido de genes y, lo que es más importante, que dichas hipótesis se basen sobre datos objetivos (el transcriptoma específico para esas condiciones experimentales), y no sobre la interpretación de la bibliografía científica o en las preferencias subjetivas de cada investigador.

Aplicaciones potenciales de un ADN array

Ésta es una tecnología tan reciente que todavía se encuentra circunscrita al ámbito de la investigación. Sus aplicaciones clínicas están en fase de desarrollo. Sin embargo, cabe especular con algunas posibles aplicaciones futuras. Por ejemplo, esta tecnología puede cambiar radicalmente los parámetros pronósticos de muchas enfermedades (p. ej., el cáncer) al estudiar el transcriptoma completo de un tejido (tumor) determinado⁴. Por otra parte, este tipo de tecnología puede influir de manera muy notable en el tratamiento clínico de los pacientes del futuro, pasando de una medicina terapéutica a una profiláctica. En este contexto, se recomienda al lector interesado en el tema la lectura atenta de un “caso clínico hipotético en el año 2010” publicado recientemente en el *New England Journal of Medicine*⁵. Finalmente, el ADN array es una herramienta ideal para el desarrollo de nuevos fármacos y, sobre todo, la adaptación de estos fármacos a condiciones patológicas individuales (farmacogenética)^{6,7}. De hecho, esta tecnología ha creado una nueva rama de la biología o medicina: la “genómica funcional”⁸. Esta rama estudia la función de los genes en su conjunto (no uno aislado). En otras palabras, estudia la regulación coordinada de la expresión genética. De esta disciplina nace un nuevo concepto: el “regulón”. Un regulón es un conjunto de genes regulado de forma coordinada. El estudio concreto de los ge-

nes que componen el regulón puede contribuir a determinar las causas moleculares de una enfermedad o dianas moleculares potenciales de un fármaco.

Conclusiones

Cuando en 1968 se estrenó la famosa película de Stanley Kubrick *2001, una odisea del espacio* (basada en una novela de Arthur C. Clarke titulada *The Centinel*), se sugería que, en pocos años, existirían grandes estaciones espaciales permanentes, viajes interplanetarios rutinarios y ordenadores inteligentes, como el traidor HAL (para aquellos que no se hayan percatado, HAL son las letras que preceden en el alfabeto a la secuencia IBM). La realidad es que, 30 años después del estreno de la película, salvo la relativamente pequeña estación espacial internacional, hoy día en construcción orbital, los viajes interplanetarios están en sus inicios y faltan décadas para los primeros ordenadores verdaderamente inteligentes. Sin embargo, en el campo de la biología, los avances han sido enormes. Tan grandes que, en apenas 50 años hemos pasado de identificar el ADN como la molécula fundamental de la información genética, a secuenciar completamente el ADN de más de 30 organismos (incluido el humano), a la clonación y la manipulación genética de la mayoría de espe-

cies comerciales y, ahora, a determinar los transcriptomas y regulones mediante el empleo de ADN *arrays*. Querámoslo o no, la genómica funcional, el transcriptoma, el regulón y el ADN *array* son conceptos nuevos (obsérvese que la bibliografía utilizada para este artículo comprende trabajos fundamentalmente publicados en 1999 o 2000), de extraordinaria importancia potencial, a los que deberemos acostumbrarnos para poder trabajar con ellos, en un futuro que ya está aquí.

BIBLIOGRAFÍA

1. Albelda SM, Sheppard D. Functional genomics and expression profiling: be there or be square. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000; 23: 265-269.
2. Lockhart DJ, Winzeler EA. Genomics, gene expression and DNA arrays. *Nature* 2000; 405: 827-836.
3. Busquets X, Agustí AGN. La biología molecular en el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades respiratorias. *Arch Bronconeumol* 1998; 34: 256-265.
4. Berlangieri SU, Scott AM. Metabolic staging of lung cancer. *N Engl J Med* 2000; 343: 290-292.
5. Collins FS. Medical and societal consequences of the human genome project. *N Engl J Med* 1999; 341: 28-37.
6. Roses AD. Pharmacogenetics and the practice of medicine. *Nature* 2000; 405: 857-865.
7. Roses AD. Pharmacogenetics and future drug development and delivery. *Lancet* 2000; 355: 1358-1361.
8. Weinstein JN. Pharmacogenomics – Teaching old drugs new tricks. *N Engl J Med* 2000; 343: 1408-1409.