

SENSIBILIDAD DE GENOSENSOR VPH BASADO EN BIOIMPEDANCIA

Alejandro Corzo-Cruz^{1,2}, Virginia Sanchez-Monroy¹, Jacobo E. Munguia-Cervantes³ y Cesar A. Gonzalez-Diaz^{1*}, Instituto Politecnico Nacional (1. Escuela Superior de Medicina, 3. Centro de Nanociencias y Micro Nanotecnología), Centro Militar de Ciencias de la Salud (2. Escuela Militar de Graduados de Sanidad), Ciudad de Mexico C.P. 11340, * ofiuorz@gmail.com

Palabras clave: Bioimpedancia; ADN, Técnicas Libres de Marcadores, Tecnología Accesible, VPH, Cáncer de Próstata

Introducción. Las pruebas diagnósticas en medicina se utilizan para demostrar condiciones patológicas en un paciente. La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) es el estándar de oro para detectar ADN. La Espectroscopía de Bioimpedancia Eléctrica (EBI) es una técnica de bajo costo y no invasiva que examina las propiedades eléctricas de materiales biológicos. El VPH es un virus que se asocia a Cáncer Cervicouterino, recientemente se ha detectado que podría ser un factor de riesgo en el Cáncer de Próstata (CaP). El objetivo de este estudio es evaluar la sensibilidad de un genosensor libres de marcado basado en EBI para la detección del fragmento GP 5+/6+ del gen L1+ de VPH en pacientes con CaP.

Metodología. Se seleccionaron 22 muestras de tejido prostático de pacientes con diagnóstico de CaP embebidos en parafina, se desparafinaron por el método fenol/cloroformo/alcohol para la extracción de ADN; se amplificaron por PCR los fragmentos GP5+6+ (150pb) del gen L1 de VPH con Taq DNA Polimerasa y dNTPs en un volumen de 50µL a través de PCR. Se realizaron mediciones de EBI a 8 frecuencias en el rango 5 kHz a 10MHz por triplicado a través de un genosensor basado en bioimpedancia diseñado en nuestro laboratorio, las mediciones se realizaron en la solución maestra previa a la amplificación del gen y en los productos finales de PCR. Se compararon los resultados de la magnitud EBI antes de la amplificación del gen (Basal) y posterior a la reacción PCR (amplificado). Adicionalmente; se corrió un gel de agarosa para constatar la amplificación de fragmentos con peso molecular correspondiente a un control positivo.

Resultados. En la fig. 1 se muestran los espectros de la magnitud EBI en condiciones Basal y Amplificado. La observación a priori es el incremento de la magnitud EBI fundamentalmente a bajas frecuencias. La fig. 2 muestra la reacción de electroforesis en geles de agar del producto final de PCR (Amplificado), resulta evidente la presencia de amplicones a 150 pb (de manera coherente con el control positivo) para todos los casos, con excepción de la muestra 7.

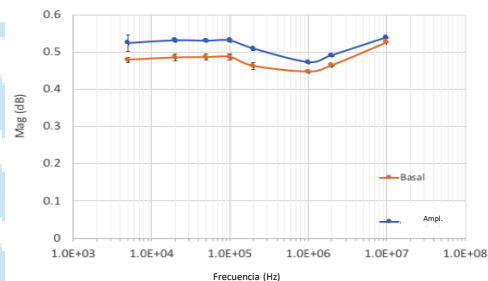


Fig. 1. Espectros de magnitud EBI antes de la amplificación del gen (Basal) y posterior a la reacción PCR (amplificado).

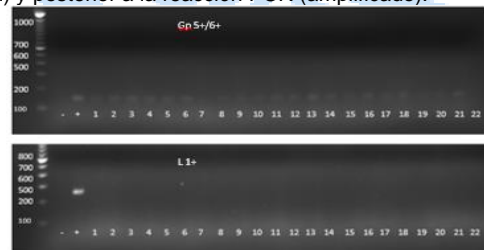


Fig. 2. Amplificación de los fragmentos Gp 5+/6+ y L1+ del Gen L1 del VPH de muestras de tejido de pacientes con CaP.

Conclusiones. El sistema genosensor basado en mediciones EBI, presenta sensibilidad para distinguir la presencia del fragmento GP5+6+ del gen L1 de VPH en muestras de ADN humano libre de marcado. La sensibilidad observada podría tener relevancia para la detección oportuna de VPH en el campo clínico. Se requieren estudios adicionales para constatar las observaciones.

Agradecimiento. Proyecto financiado a través de la Secretaría de Investigación y Posgrado del Instituto Politécnico Nacional-MÉXICO con No. Proyecto: SIP 20230467.

- Bibliografía.** Keddie S., Baerenbold O., Keogh R., Bradley J., (2023) *BMC Med. Res. Meth.* Vol (1): 23-58
- Ames-Lastra G., Sánchez V., Sacristán-Rock E., Gómez-López M., Pérez Vielma N., Hernández-Nava A., González-Díaz C. A., (2021) BioimpedanceSpectroscopy as a potential technique to detect label-free PCR products. *4th Latin American Conference on Bioimpedance 2021.* CLABIO 2021. Guadalajara Méx. Octubre 2021.
- Pérez-Soto E., Medel-Flores M. O., Fernández-Martínez E., Oros-Pantoja R., Miranda-Covarrubias J. C., Sánchez-Monroy V. (2022) *antioxidants.* Vol. (11): 1051