DNA TXIP TEKNOLOGIA, ARO BERRI BAT MEDIKUNTZAN

Asier Fullaondo

DNAren teknologiak eta oro har genetikak, azken urteetan izugarrizko aurrerapausoak izan ditu, eta horietako askok medikuntzan erabilgarritasun nabarmena baldin bazuten ere (gaixotasunen diagnostikoan batez ere), ikerketa-mailako aplikazioa izan dute aurkikuntzok nagusiki. Eguneroko medikuntzan ez dira erabili teknikoki nahiko korapilatsuak zirelako, edo diagnostiko osteko tratamendu-hobekuntzarik ez baitzuen suposatzen.

Zitogenetika (kromosomen azterketaz arduratzen den genetikaren atala) izan da antzinatik medikuntzan erabili den genetikaren arlo nagusiena, akats zitogenetikoei lotuta baitaude gaitz genetiko eta sindrome arruntenak: Down sindromea, besteak beste.

Azterketa genetikoak egiteko mugetariko bat lagin-kantitateak finkatzen zuen, edota analisiak egiteko denbora luzeak behar izateak. Horri gehitu behar zitzaion hainbat gaitz genetikoren sortzaile ziren geneak ezezagunak zitzaizkigula. Giza genomaren sekuentziazioak sortutako informazioak eta Polimerasaren Erreakzio Kateatuaren (PCR) teknologiak, urrats garrantzitsua bilakatu dira medikuntzan hainbat generen azterketa baimentzen dutelako. PCR teknikak aurreko bi muga nagusiak (lagin-kantitatea eta denbora) gainditu zituen eta giza genomaren sekuentziazioak informazio-hutsunea bete egin zuen.

Are gehiago, sekuentziazio-prozeduretatik eratorritako informazioak eta PCR teknikak, hainbat gaixotasun berriren diagnostikoa ahalbidetu zuten eta aldez aurretik aztertzen ziren gaitz monogenikoen azterketa eta diagnostikoa nabarmen erraztu zuten. Genetikaren tresna berri hauek nagusiki eroaleen detektzioan eta zenbait kasutan jaio aurretiko diagnostikoetan erabili dira. Hau horrela izan bada ere, gaixotasun monogenikoen maiztasun txikiak, teknika hauen erabilgarritasuna gaixo-kopuru murritz bati onurak ekarri dizkio.

Gaixotasun genetikoak banaka aztertuz, maiztasun txikikoak dira denak eta ez da erreza 1:1000ko baino maiztasun altuagoko gaixotasun genetikoak aurkitzea. Hala ere, badira eragile genetikoa duten gaixotasunak eta oso arruntak direnak, minbizia besteak beste. Minbizia nolabaiteko paradoxa da, gaitza genetikoa izanik, hau da, geneen arazo batek sortua, kasu heredagarriak ez dute % 5 inguru baino suposatzen eta hainbat minbizi-motatan balio hau nabarmen azpitik dago. Honen arrazoia minbizia zelula somatikoen gaixotasuna dela da, hots indibiduo baten zelula gutxi batzuk dira gaixoak (minbizi-zelulak) eta hauek dira indibiduo osoa gaixotzen dutenak. Minbizia sorrarazten duten aldaketa genetikoak gehienetan ez dire-

nez leinu germin
eta beraz, aldak

Minbizia gai
gene desberdinel
mutazio desberd
genetikoa oso ko
tan aurrerapauso

DNA txip tek
ziaren ulermen,
honek konplexut
nologia honen e
dugu adibide gisa

Bularreko m
horietan BRCA1 e
nak (Szabo et al.
goiztiarra eta ga
mutazioak, kasue
zio guztiak ez dir
keen 600 mutazi
beste hainbeste
ere. Hauek bularr
pronostikoa eta
batzuk ezagunak
BRCAx, LKB1, PTE

Minbiziaren
tzean mutazio de
tasuna areagotze
arazoa ez dela ku
lea. Zenbait kasu
duktu gehiago ed

DNA txip tek
arazoari aurre egi
berdinen azterket

DNA txip tek
behar dira, DNAre

DNA txip tek
tik sortu zen. 90e
izan zuten, konpo
posatu fluoreszer
bidez egiten da. T
zuen eta laserrak
Oinarrian DNA ko
molekula hau kitz
fluoreszentzia det

nez leinu germinalean agertzen, aldaketa horiek zelula somatikoetan agertzen dira, eta beraz, aldaketa horiek ez dira gehienetan ondorengoetara igarotzen.

Minbizia gaixotasun-talde zabala da ikuspuntu genetikotik begiratuta, hainbat gene desberdinek eragin baitezakete minbizia. Are gehiago, gene beraren hainbat mutazio desberdinek minbizi bera eragin dezakete, beraz, minbiziaren azterketa genetikoa oso konplexua da. Eta hauxe da hain zuzen ere, medikuntzaren arlo honetan aurrerapausoen geldotasunaren arrazoietako bat: aniztasun genetikoa.

DNA txip teknologiak medikuntzan eragina izango badu, hain zuzen ere minbiziaren ulermen, diagnostiko, pronostiko eta tratamenduan izango du. Teknologia honek konplexutasun genetikoak ebazteko ahalmena izan dezakeelako. Beraz, teknologia honen ekarpenak errazago ulertzeko, minbizi-mota ezagun bat erabiliko dugu adibide gisa: Bularreko minbizia.

Bularreko minbizien portzentaje txiki bat, % 5 inguru, kasu familiarrak dira eta horietan BRCA1 eta BRCA2 geneak dira zuzenki erlazionatutako gene garrantzitsuenak (Szabo et al. 1997). Heredagarriak diren bularreko minbizi gehienek agerpen goiztiarra eta garapen bilaterala dute, eta hauetan BRCA1 edo BRCA2 geneetan mutazioak, kasuen % 87an behatzen dira (Szabo et al. 1997). Behatzen diren mutazio guztiak ez dira berdinak, egia esan BRCA1 genean minbizi-sortzaile izan daitezkeen 600 mutazio desberdin deskribatu dira. BRCA1 eta 2 geneetaz gain badaude beste hainbeste gene minbizi honen sorreran inplikaturik daudenak zeharka bada ere. Hauek bularreko minbizia garatzeko arriskua handitzen dute, edota minbiziaren pronostikoa eta tratamendu terapeutikoa baldintza dezakete; gene horietako batzuk ezagunak dira, TP53 eta ATM adibidez, baina beste zenbait ez hainbeste, BRCAx, LKB1, PTEN, MLH1/MSH2, CHK2, etab. (Polyak ,K. 2002)

Minbiziaren garapenarekin erlazionaturiko gene-kopuru zabalari, gene bakoitzean mutazio desberdinek minbizia eragin dezaketela gehitu behar diogu. Eta zailtasuna areagotzen duen beste elementu bat gehitu diezaiokegu: zenbait kasutan arazoa ez dela kualitatiboa, hots proteina mutatu berri bat ez dela minbizi-sortzailea. Zenbait kasutan minbiziaren arrazoia kuantitatiboa da, hots, beharrezko produktu gehiago edo gutxiagoren agerpenak finkatzen du minbiziaren garapena.

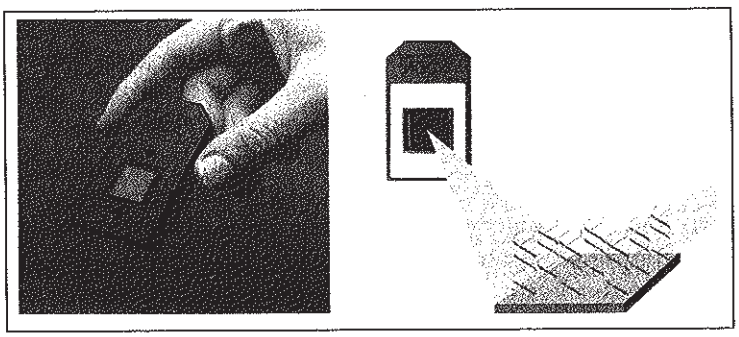
DNA txip teknologiak badu ahalmena honelako konplexutasun genetikoa duen arazoari aurre egiteko. Berak posible egiten duelako gene askoren eta mutazio desberdinen azterketa, aldi berean eta modu kuantitatiboan.

DNA txip teknologia nola garatu den ulertzeko bi aurrerakuntza tekniko ulertu behar dira, DNAren hibridazio-teknika eta konposatu fluoreszenteen erabilera.

DNA txip teknologia DNAren sekuentziazio-teknologiaren moldapen batengatik sortu zen. 90eko hamarkadan sekuentziazio-sistemek izugarrizko aurrerapausoa izan zuten, konposatu fluoreszenteak erabiltzearen eraginez. Sekuentziazioan konposatu fluoreszente ezberdinak erabiltzen dira eta hauen detektzioa laser baten bidez egiten da. Teknologia honek DNA *kolore* desberdinez markatzea baimentzen zuen eta laserrak marka honen detekzio erraz eta sentikorra ahalbidetzen zuen. Oinarrian DNA konposatu fluoreszente batez markatzen da eta ondoren laserrak molekula hau kitzikatzen du, eta sentsore batek molekula kitzikatuak igortze duen fluoreszentzia detektatzen du.

Detekzio-sistema honek antzinako teknika baten berpiztea eragin zuen, hibridazio-teknikarena hain zuzen ere. 80. hamarkadan DNAren hibridazioak jarri ziren martxan. Hibridazio-analisiak DNA desnaturalizatzeko eta berrasoziatzeko duen gaitasunean oinarritzen da. DNA kate bikoitza da, bi kateak osagarriak direlarik. Aspalditik ezaguna da DNA kateak banatu daitezkeela eta bere berrasoziazio-zinetika kontrola daitekeela. Ohiko hibridazio-esperimentuetan aztertu nahi den DNA (lagina) desnaturalizatu egiten da eta nitrozelulosa edo nylonezko mintz bati lotzen zaio. Mintz honi hibridazioko soluzioa gehitzen zaio, eta soluzio honetan, aztertu nahi dugun DNAren sekuentziarekiko osagarria den DNA kate bakar markatua (zunda) dago. Zunda markatu egiten da, fosforo isotopo erradiaktiboa erabiliz. Mintza eta hibridazio-soluzioa elkarrekin inkubatu ondoren, garbitu eta mintza plaka erradiografiko batekin esposatzen da. Esposizioa bukatutakoan errebelatu egiten da, eta hibridazioa positiboa izan bada seinalea ikusiko dugu eta bestela ez.

DNA txip teknologia hibridazio-teknika honen moldapen bat baino ez da. Batetik zundak hibridazio soluzioan gehitu beharrean, gaur egun beirazko porta baten gainean sintetizatzen dira edo nylonezko mintz bati kobalenteki lotzen zaizkio (bigarren aukera honek gero eta erabilera gutxiago dauka) (1 eta 2. irudiak).



1.-2. irudiak. DNA txip baten argazkia, eta DNA molekulen kokapena. (www.affymetrix.com).

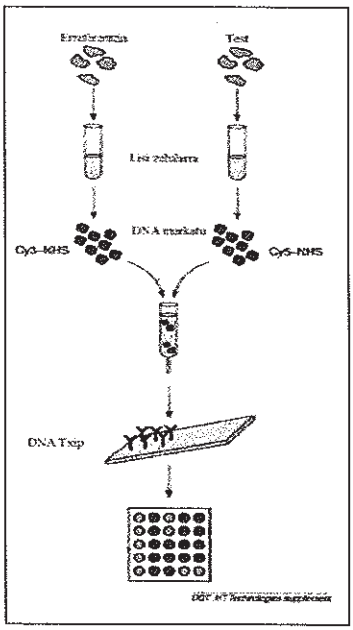
Hibridazio-soluzioan gehitzen dena, laginaren DNA markatua da. Modu honetan analisi bakarrean lagin baten hainbat sekuentzia aztertu daitezke. DNA markatzeko hibridazio-analisi klasikoetan isotopo erradiaktiboak erabiltzen baziren ere, DNA txip teknologian DNA konposatu fluoreszenteak erabiltzen dira. Eta hauen detekzioa egiteko, errebelatu beharrean laser bidezko detekzioa egiten da. Bi moldapen tekniko hauek miniaturizazio-prozesua baimentzen dute.

Teknikaren prozeduraren eskema 3. irudian ikus daiteke.

DNA txipean aztertu nahi diren sekuentzia zehatzak sintetizatzen dira eta beraz gene beraren mutazio posible guztiak azter daitezke, edo gene desberdin askoren sekuentzia. Era berean, laginaren izaera aldatuz elementu ezberdinak azter ditzakegu, batetik DNA erabiliz genomaren aldakortasuna aztertu dezakegu, eta bestetik RNAtik sortutako DNA erabiliz, hau da, cDNA, adierazten diren geneak azter ditzakegu. Geneen adierazpena edo genomaren azterketa, kualitatiboaz gain kuantitati-

boa izan daiteke, seinalea ez dugulako detektatzen soilik, baizik eta bere intentsitatea ere neur baitezakegu. Are gehiago, bi lagin ezberdin analisi bakarrean azter ditzakegu batera, bakoitza kolore batez markatuz gero. Modu honetan minbizi-zelulek eta zelula normalek duten adierazpen genetiko diferentziala azter daiteke analisi bakarrean .

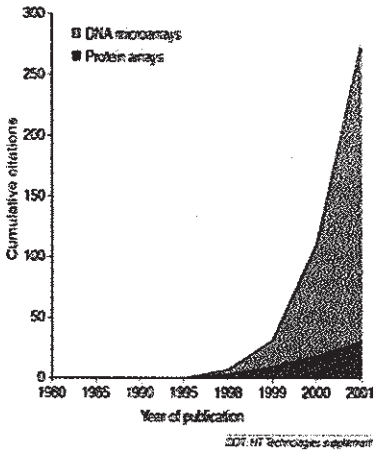
Teknologia honek izugarrizko aurrerapausoa suposatu du, analisi bakarrean 30.000 genetik gora azter genezakeelako eta beraz, indibiduo bat guztiz genotipatu. Teknologia honek bestelako beharrak sortu ditu, orain arte ez bezala, aldi berean izugarrizko informazio-kantitatea prozesatu behar dugu, informazio hori prozesatzeko eta bertatik eratorri daitekeen onura guztiak lortzeko bioinformatika beharrezkoa da. DNA txip teknologia garatzen ari direnak eta bioinformatikariak elkarlanean ari dira DNA txipen ahalmena guztiz erabiltzeko.



3. irudia. DNA txip teknologiaren laburpena (Lal et al, 2002).

Oraindik ere teknologia hau hastapenetan dago eta eguneroko medikuntzan ez du erabilera gehiegirik, baina analisi hauek garatzen hasi dira, adibidez, gaixotasun genetiko konkretu batzuetan DNA txipek ezagutzen diren mutazio guztiak detektatzeko gaitasuna dute, hiperkolesterolemia, BRCA1, eta BRCA2 besteak beste.

Orain arte, gizakiaren azterketara mugatu bagara ere, iker daitekeen lagina edozein DNA edo RNA izan daiteke, beraz, birus eta bakterioak genotipatzeko modu oso errazak izan daitezke. Erabilera horietako bat meningitiskasuetan dago. Teknika honen bidez pazientea zein patogenok infektatzen duen identifikatzea oso modu azkarrean lor daiteke.



4. irudia. DNA txip proteina txi aipamenen koprurua aldizkari zientifikoetan Lal et al, 2002).

DNA txip teknologia honek izugarrizko aurrerakuntza suposatu du, eta aurrerantzean gero eta garrantzi gehiago izango du (3. irudia). Badira herri batzuk zeinetan indibiduo guztien profil genetikoa garatzen ari den. Ikerketa hauek gaixotasun multifaktorialen (Alzheimer, hipertentsioa, minbizia, etab.en) eragileak diren geneak identifikatzeko aukera ematen dute. Are gehiago, profil genetikoetan oinarriturik profil bakoitzari egokien doitzen zaion tratamendua eskaintzeko aukera egongo da. Enpresa farmazeutikoak diru-pila ari dira jartzen teknologia honetan, horrek hemendik urte batzuetara farmako indibidualen aroa suposatuko duelako.

BIBLIOGRAFIA

Szabo CI and King MC. (1997): *Population Genetics of BRCA1 and BRCA2* . Am. J. Hum Genet. 60: 1013-20.

Polyak K. (2002): Breast Cancer gene discovery. Exp. Rev. Mol. Med. (http://www.expertreviews.org/0200491Xh.htm).

Lal SP, Christopherson RI, and Remedios CG (2002): *Antybody arrays: an embrionic but rapidly growin technology.* DDT 18:143-149

Web orrialde interesgarriak:

http:// www.microarrays.org

http:// www.affymetrix.com

GERRI-DISTR
DIAGNOSTIK
TEKNOLOGIA

Amets Saenz

Genetika mol
tasun neuromusku
rogeneotasuna del
aldaketa nabarmer

Distrofia mus
Duchenne, Landou
hiru talde nagusiak
kularren entitate
fazioeskapulohume
Emile Becker-ek Du
kribatu zuen, bikie
tasunaren eboluzio

1954. urtean,
erabiliz eta eritasu
egiten saiatu ziren.
batetik X kromoson
ker-en distrofia eq
douzy eta Dejérine
eredu autosomiko

Ondorengo u
dira, deskribaturik
mota desberdin ha
Hauetariko bakoitz
gia sorrarazten dut
tariko asko handia
rrak autosomiko g
daitezke. Autosom
(LGMD1A-H), baina
gene guztiak ez da
ere ezezaguna izan

Gure ikerketa-
ki, eta beronen eza