

FINANCIAMIENTO DE BECAS DE INVESTIGACIÓN (SEGUNDA CONVOCATORIA)

Evaluación de niveles de miRNA en muestras biológicas – ICBM, Universidad de Chile

Facultad de Ciencias Químicas – Universidad Nacional de Asunción, Paraguay

Christa Burgos – burgoslepel@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Los microRNA (miRNAs) son RNA no codificantes implicados en la regulación de la expresión génica mediante la degradación de RNA mensajeros (mRNA), afectando los niveles de proteínas, por lo que intervienen en procesos biológicos como apoptosis, ciclo celular e inmunidad, entre otros.

En los últimos años han sido objeto de estudio debido a que su expresión desregulada favorece la patogénesis de diversas enfermedades que incluyen varios tipos de cáncer, enfermedades cardiovasculares y reumáticas así como desórdenes neurológicos; por lo que cambios en la expresión de miRNA, o la correlación de perfiles de expresión de miRNA con parámetros clínicos pueden servir como biomarcadores clínicamente relevantes.

La determinación de los niveles de expresión de estas moléculas es técnicamente demandante porque los miRNA maduros poseen una secuencia de nucleótidos corta (22 nucleótidos de longitud en promedio), lo que vuelve inefectivas las herramientas de amplificación convencionales debido a la incapacidad de los cebadores a hibridar con secuencias tan cortas, por ello, es necesario el desarrollo de un protocolo que optimice la amplificación de secuencias de nucleótidos cortas y que genere productos estables, con lo que se busca obtener una alta sensibilidad y especificidad en la cuantificación y aumentar la eficiencia de su análisis

OBJETIVOS

1. Recibir entrenamiento en técnicas de análisis de expresión de miRNA que permitan realizar transferencia tecnológica en el país.
2. Determinar los niveles de miRNA de interés en líneas celulares y muestras biológicas utilizando técnicas aprendidas durante el entrenamiento.
3. Establecer contacto con investigadores de alto nivel que permitirá la cooperación, con miras a potenciales proyectos y/o redes de investigación.

APORTES DE LA INVESTIGACIÓN

1. Esta estancia de investigación contribuyó a la implementación de una nueva metodología en nuestro país para análisis de expresión de miRNA y a la generación de colaboraciones con investigadores del ICBM.
2. La estancia realizada aporta al fortalecimiento de la línea de investigación desarrollada en la FCQ denominada “Bases moleculares y celulares que controlan los procesos inflamatorios y autoinmunes”.
3. Con la capacitación y transferencia tecnológica adquirida en esta estancia se cuenta con una nueva herramienta que será aplicada para la evaluación de miRNA en patologías inflamatorias y autoinmunes.

ACTIVIDADES REALIZADAS

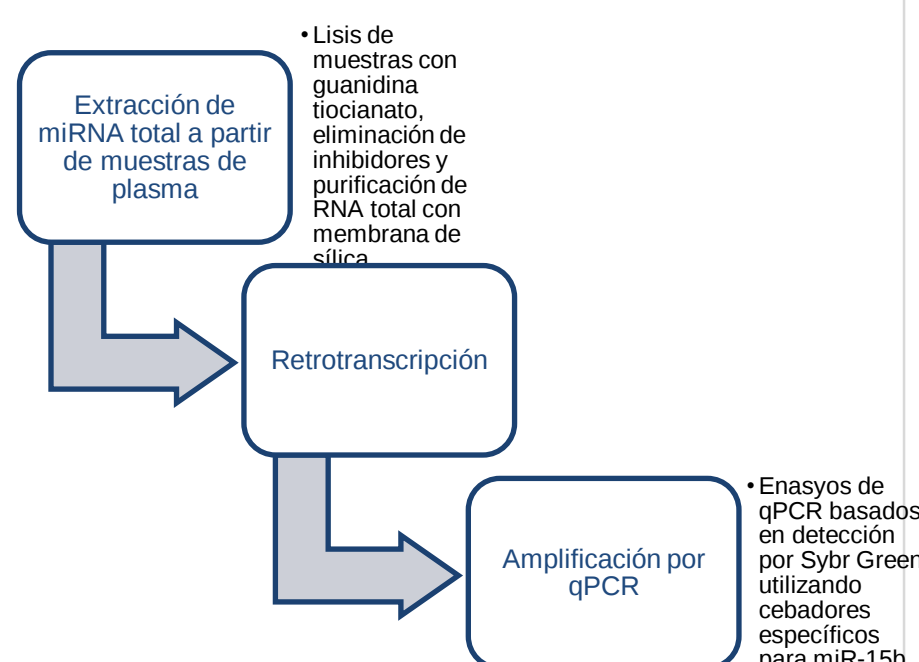


Fig. 1: Etapas de procesamiento de las muestras testadas

RESULTADOS OBTENIDOS

Muestras	Cuantificación (ng/uL)	Ct miR-39 (Spike in)	Ct miR-15b (interés)
1	4.70	26.89	27.12
2	3.58	26.92	26.39
3	3.04	26.51	24.98
4	4.72	25.27	24.85

*Muestras 1 y 2: Controles

*Muestras 3 y 4: Tratados

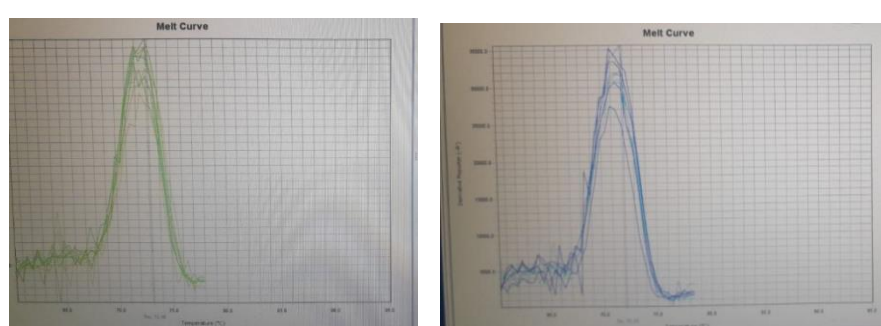


Fig. 2: Análisis de curvas de t melting de las reacciones de amplificación.

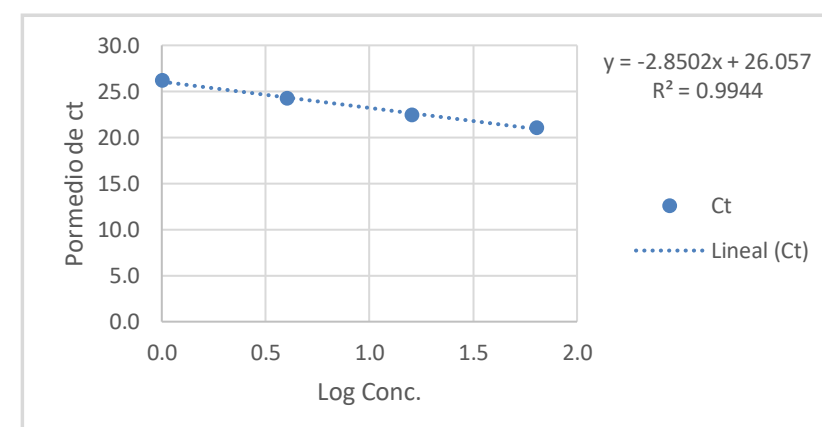


Fig. 3: Curva estándar de miR-15b

Cálculo de eficiencia

$$E = 10^{(-1/m)}$$

$$E = 2.24312033$$

$$2^{-(2.24312033 \times x)}$$

$$X = 112.156017 \%$$

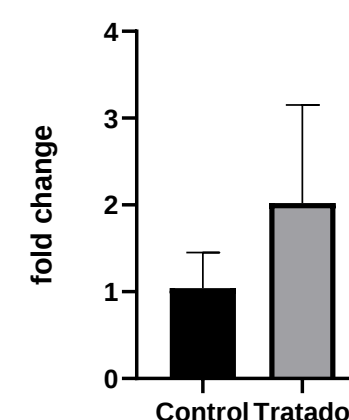


Fig. 4: Cambio de expresión de miR-15b entre grupo control y tratado, calculado mediante el método ddCt

VISIÓN Y PLANES FUTURO

El entrenamiento obtenido y la transferencia tecnológica lograda se aplicará directamente para el logro de los objetivos propuestos en el proyecto de iniciación de investigación titulado “Análisis de miRNA de importancia en Lupus Eritematoso Sistémico como posibles biomarcadores séricos para el monitoreo de la enfermedad” adjudicado (Res. N° 649/2023).

“Esta estancia de investigación fue cofinanciada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) con recursos del FEEI”