

Estudio comparativo de los métodos de aptahistoquímica e inmunohistoquímica para la detección de HAT1.

Sandra Bargiela Cuevas^a, María Gabaldón Ojeda, Esther Palacios Gómez, Paula Granado Cano, Alfonso Esteban Lasso, Cristina Martínez Toledo, José Ignacio Klett Mingo, Miguel Ángel Ortega Núñez, Ignacio García-Tuñón

Inari Biotech, Dpto. Biomedicina UAH, Dpto. Medicina y Especialidades Médicas UAH.

a. inaribiotech@gmail.com

VIII Congreso de Señalización Celular, SECUAH 2022.

21 a 24 de marzo, 2023. Universidad de Alcalá. Alcalá de Henares, Madrid. España.

Palabras clave: HAT1; aptahistoquímica; aptámero; inmunohistoquímica

Resumen

Los aptámeros son secuencias de RNA o DNA de cadena sencilla que reconocen a una molécula diana de forma específica y con alta afinidad. Se han comparado con los anticuerpos y se han utilizado como sustitutos de estos en los métodos de inmunodetección (apthistoquímica). Todavía son escasos los estudios empleando aptahistoquímica y todos ellos destacan sus ventajas en términos de sensibilidad y especificidad. El objetivo de este trabajo fue comparar los métodos de inmunohistoquímica y aptahistoquímica para la detección de histona acetiltransferasa 1 (HAT1). Se empleó un anticuerpo policlonal anti-HAT1 (GeneTex) y dos aptámeros anti-HAT1 (AptHAT610 y AptHAT63T) conjugados con digoxigenina (facilitados por el grupo de aptámeros del Hospital Ramon y Cajal). Se analizaron muestras de pacientes con glioblastomas, oligodendrogliomas y tejido cerebral no tumoral procedente de necropsias e incluidos en parafina. La localización de la señal en los distintos tejidos estudiados fue similar, aunque los aptámeros proporcionaron una mayor intensidad de marcaje que los anticuerpos. Para ambos métodos fue necesaria la recuperación antigénica mediante calor y presión (tratamiento en olla exprés). Además, comprobamos que, a diferencia del anticuerpo empleado, tiempos de incubación de 2h proporcionaban una señal similar a la obtenida tras 18h a las mismas concentraciones, lo que facilita el poder realizar la aptahistoquímica en un solo día. Para la detección del aptámero se empleó un anticuerpo anti-digoxigenina marcado con peroxidasa, revelado con DAB. Sin embargo, para la detección de la señal empleando el anticuerpo fue necesario un sistema de amplificación de señal basado en polímeros, lo que apunta a una mayor sensibilidad de los aptámeros. En todos los casos, la relación señal/ruido fue superior con el empleo de aptámeros. Aumentando la concentración de los aptámeros se observó la saturación de la señal sin ruido de fondo, mientras que incrementando la concentración del anticuerpo también aumentaba la señal inespecífica. En conclusión, la aptahistoquímica para la detección HAT1 es sensible y específica, en general no requiere puentes de amplificación lo que acorta el proceso y abarata costes y se puede realizar en un solo día. HAT1 se ha implicado en patologías como el cáncer, infecciones virales y enfermedades inflamatorias y se ha propuesto como un nuevo biomarcador. En este contexto, los métodos de aptahistoquímica desarrollados suponen una alternativa más sensible y específica a la inmunolocalización de HAT1. Inari agradece a la CAM la concesión de ayudas del programa Investigo.

Cita: Bargiela Cuevas, Sandra; Gabaldón Ojeda, María; Palacios Gómez, Esther; Granado Cano, Paula; Esteban Lasso, Alfonso; Martínez Toledo, Cristina; Klett Mingo, José Ignacio; Ortega Núñez, Miguel Ángel; García-Tuñón, Ignacio (2023) Estudio comparativo de los métodos de aptahistoquímica e inmunohistoquímica para la detección de HAT1. Actas del VIII Congreso de Señalización Celular, SECUAH 2022. 21 a 24 de marzo, 2023. Universidad de Alcalá. Alcalá de Henares, Madrid. España. *dianas* 12 (1): e202303av01. ISSN 1886-8746 (electronic) journal.dianas.e202303av01 <https://dianas.web.uah.es/journal/e202303av01>. URI <http://hdl.handle.net/10017/15181>

Copyright: © Bargiela-Cuevas S, Gabaldón-Ojeda M, Palacios-Gómez E, Granado-Cano P, Esteban-Lasso A, Martínez-Toledo C, Klett-Mingo JI, Ortega-Núñez M, García-Tuñón I. Algunos derechos reservados. Este es un artículo open-access distribuido bajo los términos de una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>