

Los arreglos de ADN: explorando la expresión génica del cerebro



Los arreglos de ADN son una de las más modernas y poderosas herramientas utilizadas por los biólogos moleculares. Hoy, esta técnica se utiliza para explorar qué genes se encuentran activos en las neuronas del sistema nervioso.

Magdalena Guerra-Crespo, Jean-Louis Charli
y Leonor Pérez-Martínez

INTRODUCCIÓN

En las células de los organismos vivos, los genes son las unidades que contienen la información para la fabricación (síntesis) de proteínas, compuestos responsables de la forma y función de todas las células. Los genes están constituidos por ADN (ácido desoxirribonucleico), larga molécula formada por dos cadenas trenzadas en una doble hélice. Cada cadena es un polímero lineal donde el monómero es un desoxinucleótido, compuesto por una base nitrogenada, un azúcar (desoxirribosa) y un grupo fosfato. La información genética es dictada por el arreglo de los distintos tipos de nucleótidos, definidos por la base nitrogenada, que puede ser de dos tipos: purina (adenina o guanina) o pirimidina (citosina o timina). El apareamiento entre las dos cadenas se realiza por enlaces conocidos como “puentes de hidrógeno”, que ocurren siempre entre una adenina y una timina o entre una guanina y una citosina, por lo que se dice que las cadenas son complementarias (Figura 1).

La expresión génica es el proceso altamente regulado por el cual la información contenida en esa estructura se transmite inicialmente mediante el proceso de transcripción a productos de ARN (ácido ribonucleico). El ARN es un polímero lineal de ribonucleótidos similar al ADN, pero de una sola cadena, cuyas bases nitrogenadas pueden aparearse con bases complementarias del ADN, proceso conocido como *hibridación*. Finalmente, la secuencia de las bases del ARN es leída durante la síntesis de proteínas (*traducción*).

La vida en sus diversas formas proviene en gran parte de la compleja expresión coordinada de miles de genes y de sus productos (proteínas). En una célula, los niveles del ARN definen en parte la cantidad de cada proteína, y por consiguiente, el impacto que tiene ésta en la fisiología celular. Por tanto, determinar los

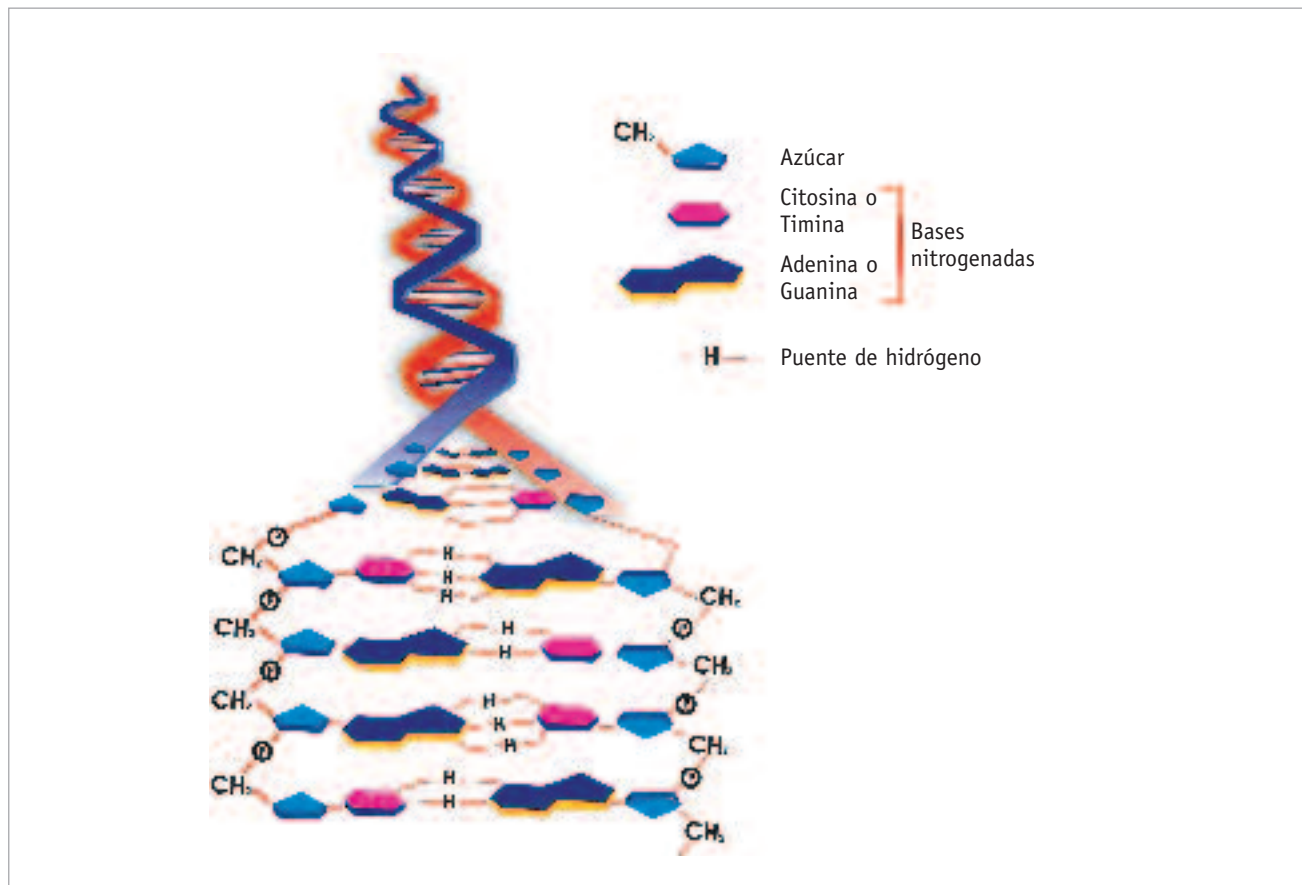


Figura 1. Estructura del ADN. La molécula de ADN es una doble hélice constituida por dos cadenas de nucleótidos (una base nitrogenada, un azúcar y un grupo fosfato) complementarias entre sí y unidas por puentes de hidrógeno que constituyen el eje de la hélice. Toda la información genética es leída como si fuera un alfabeto de cuatro letras (las cuatro bases nitrogenadas) cuyo orden dicta la producción de distintas proteínas. Las cadenas permanecen unidas a través de puentes de hidrógeno. La parte exterior de la doble hélice está formada por grupos fosfato y azúcares, a los cuales están unidas las bases nitrogenadas.

niveles de ARN y cómo cambian en respuesta al medio interno o externo (regulación) o en respuesta a distintas patologías, ha sido una actividad importante para los biólogos en las últimas décadas. Durante la segunda mitad del siglo XX, el análisis de la regulación y expresión de genes a nivel del ARN se realizaba a través de los métodos tradicionales de la biología molecular. La limitante principal, durante esta época, fue que el análisis se restringía a un número reducido de genes por experimento. En la década pasada, sin embargo, este paradigma cambió debido a dos factores principales: la secuenciación completa del genoma de diferentes organismos, incluyendo el humano,

y el desarrollo de tecnologías para análisis génico en masa, como los *arreglos de ADN*, que permiten monitorear el nivel de expresión de miles de genes a la vez. Nace entonces una nueva área en la ciencia: la *genómica funcional*, que permite el estudio global de los genomas y de sus funciones, por lo que hoy en día es posible identificar cambios globales a nivel de ARN que ocurren en diferentes procesos biológicos normales y patológicos.

Los arreglos de ADN consisten en general de una matriz sólida muy pequeña, de dimensiones similares a las de un portaobjetos para microscopio óptico (1.3 x 1.3 centímetros). A esta matriz están unidos miles de fragmentos de ADN de una sola cadena, que de manera individual corresponden a parte de la secuencia de un gen específico. Sobre esta matriz, cada tipo de fragmento de ADN está localizado en una posición conocida, separado de otros por distancias minúsculas pero suficientes para

distinguirlos. Esto permite (gracias a la complementariedad de las bases de los ácidos nucleicos, como se explica más adelante), determinar de manera paralela y cuantitativa los niveles de ARN o ADN presentes en una muestra biológica. Aunque las aplicaciones son muy amplias, las más usuales corresponden al análisis de los cambios temporales y espaciales de expresión génica en distintos tipos de células, tejidos y organismos. En el ámbito clínico se han utilizado en investigaciones toxicológicas y en el diagnóstico de enfermedades. Esta nueva tecnología ha permitido que la expresión de prácticamente todos los genes de humano pueda ser examinada en enfermedades como el cáncer. Lo más impresionante ha sido la demostración de la existencia de patrones de expresión génica distintos entre tumores de diferente origen anatómico, lo que permitió definir nuevos subgrupos de cáncer con apariencia histológica similar. Varias compañías biotecnológicas e institutos de investigación en todo el mundo se encuentran actualmente en busca de marcadores moleculares (ARN o proteínas) que permitan la detección de enfermedades y el desarrollo de nuevas drogas para su tratamiento farmacológico. Se espera que en el futuro dichos tratamientos lleguen a ser personalizados, de acuerdo al perfil de expresión de genes presentado por un tipo específico de enfermedad, de manera que sean más efectivos y menos tóxicos que los actuales.

TIPOS DE ARREGLOS DE ADN

A los arreglos de ADN se les puede clasificar, con base en la densidad de fragmentos de ADN presentes en la matriz, como macro o microarreglos (Freeman y colaboradores, 2000). En la actualidad se hace referencia a ellos de manera general e indistinta como microarreglos o *chips* de ADN. Hasta ahora se han desarrollado dos tipos de plataformas: arreglos de ADN complementario (ADNc) y arreglos de oligodesoxinucleótidos (también llamados arreglos de oligonucleótidos).

El ADNc es una cadena de ADN que fue copiada a partir de un molde de ARN, algo como la copia de la secuencia transcrita de un gen; este copiado se llama *transcripción inversa*. En los arreglos de ADNc, cada tipo de ADNc se deposita sobre filtros de náilon o laminillas de vidrio (Figura 2). Asimismo, estos arreglos también pueden ser contruidos agrupando genes cuya expresión depende de un contexto o tipo de célula específico (por ejemplo, un linfocchip contiene fragmentos de ADN sintetizados a partir de la secuencia de genes importantes en la biología del linfocito). La gran ventaja de este tipo de arreglo es que puede

generarse en cualquier laboratorio de biología molecular con un bajo costo. Sin embargo, desde el punto de vista práctico, trabajar con un número grande de ADNc para generar un arreglo de alta calidad puede resultar complicado. Actualmente, es posible adquirir arreglos de ADNc manufacturados por diferentes compañías en los Estados Unidos.

Los oligonucleótidos son pequeñas cadenas de ADN sintetizadas químicamente de acuerdo a la información de la secuencia de un gen. Existen dos tipos de arreglos de oligonucleótidos: aquellos en los que se depositan oligonucleótidos previamente sintetizados sobre una matriz, de manera análoga a como se efectúa para los de ADNc, o bien los que se basan en un método que, concertando la química combinatoria (fabricación de múltiples productos en un número limitado de pasos) con la fotolitografía (impresión de un producto en un área específica) permite, de manera automatizada, la síntesis de oligonucleótidos (hasta 300 mil tipos) directamente sobre una superficie de silicio (Figura 3). Esta tecnología genera arreglos conocidos como *genechips*, con cientos de miles de oligonucleótidos empacados con alta densidad, por lo que es posible el análisis de gran parte de un genoma utilizando muestras muy pequeñas de ARN.



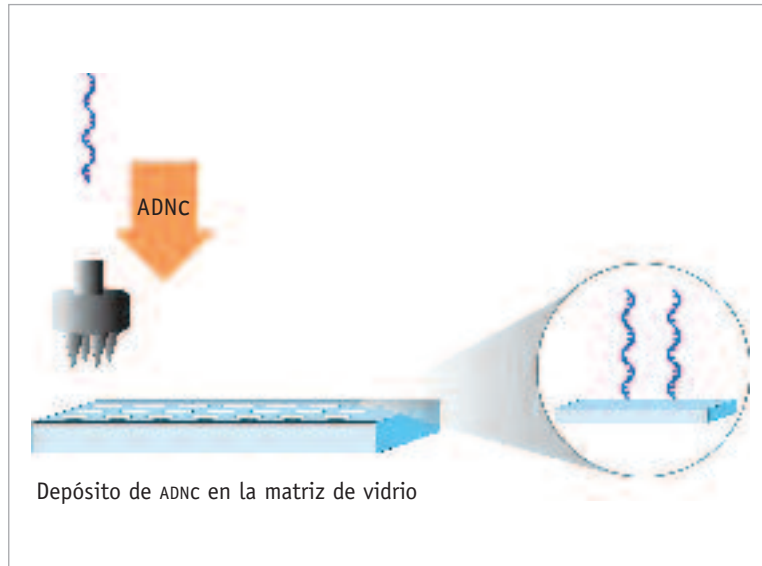


Figura 2. Manufactura de microarreglos de ADN complementario. Los ADN complementarios (ADNC) son tomados en pequeñas cantidades con el uso de brazos robóticos para ser depositados sobre una superficie de vidrio, cubierta con un compuesto cargado positivamente que permite la unión del ADN cargado negativamente. Pueden imprimirse simultáneamente réplicas de cada arreglo a gran velocidad y tratarlas posteriormente para inmovilizar el ADN sobre la matriz.

El ADNC es una cadena de ADN que fue copiada a partir de un molde de ARN, algo como la copia de la secuencia transcrita de un gen; este copiado se llama *transcripción inversa*

A diferencia de los arreglos de ADNc, el *genechip* es altamente específico, ya que cada gen está representado por hasta 20 diferentes secuencias cortas obtenidas de toda la región codificadora de ese gen, que al hibridar en forma paralela dan mayor validez al ensayo. Hasta hace poco, el diseño de oligonucleótidos había estado limitado por la disponibilidad de las secuencias, pero ahora con el conocimiento de las secuencias completas del genoma humano y de otros genomas resultará más eficiente y sistemático. La compañía Affymetrix es pionera en esta tecnología y ha generado diferentes *genechips* disponibles comercialmente que incluyen gran parte del geno-

ma de organismos como el humano, la rata, el ratón y plantas como *Arabidopsis*. Estos microarreglos representan el mayor número de genes en comparación a cualquier otro arreglo, lo que los hace sumamente útiles, pero sin duda, presentan la desventaja de su alto costo, que restringe significativamente su empleo en investigación básica en países como el nuestro.

REALIZACIÓN DE UN EXPERIMENTO CON MICROARREGLOS DE ADN

El poder de los arreglos de ADN como herramientas experimentales proviene del principio de la complementariedad de las cadenas de ácidos nucleicos (ADN y ARN) a través del apareamiento de bases o *hibridación*.

La preparación de la muestra de interés (blanco) para hibridar el arreglo requiere la síntesis de ADNc a partir de ARN purificado de tejido o de células. El marcado del blanco y el paso de hibridación dependen del tipo de arreglo en uso. Los arreglos de ADNc son hibridados simultáneamente con dos blancos de ADNc, uno generado a partir de ARN de la muestra de interés y otro de una muestra control que se utiliza como base de comparación. Estos blancos son sintetizados independientemente por transcripción inversa en presencia de nucleótidos unidos a dos distintos fluoróforos (moléculas que al ser excitadas con luz ultravioleta emiten fluorescencia), pero hibridados en conjunto sobre un solo arreglo, lo cual permite la cuantificación, con un detector de fluorescencia asistido por computadora, de los cambios en la expresión génica reportando los datos como la

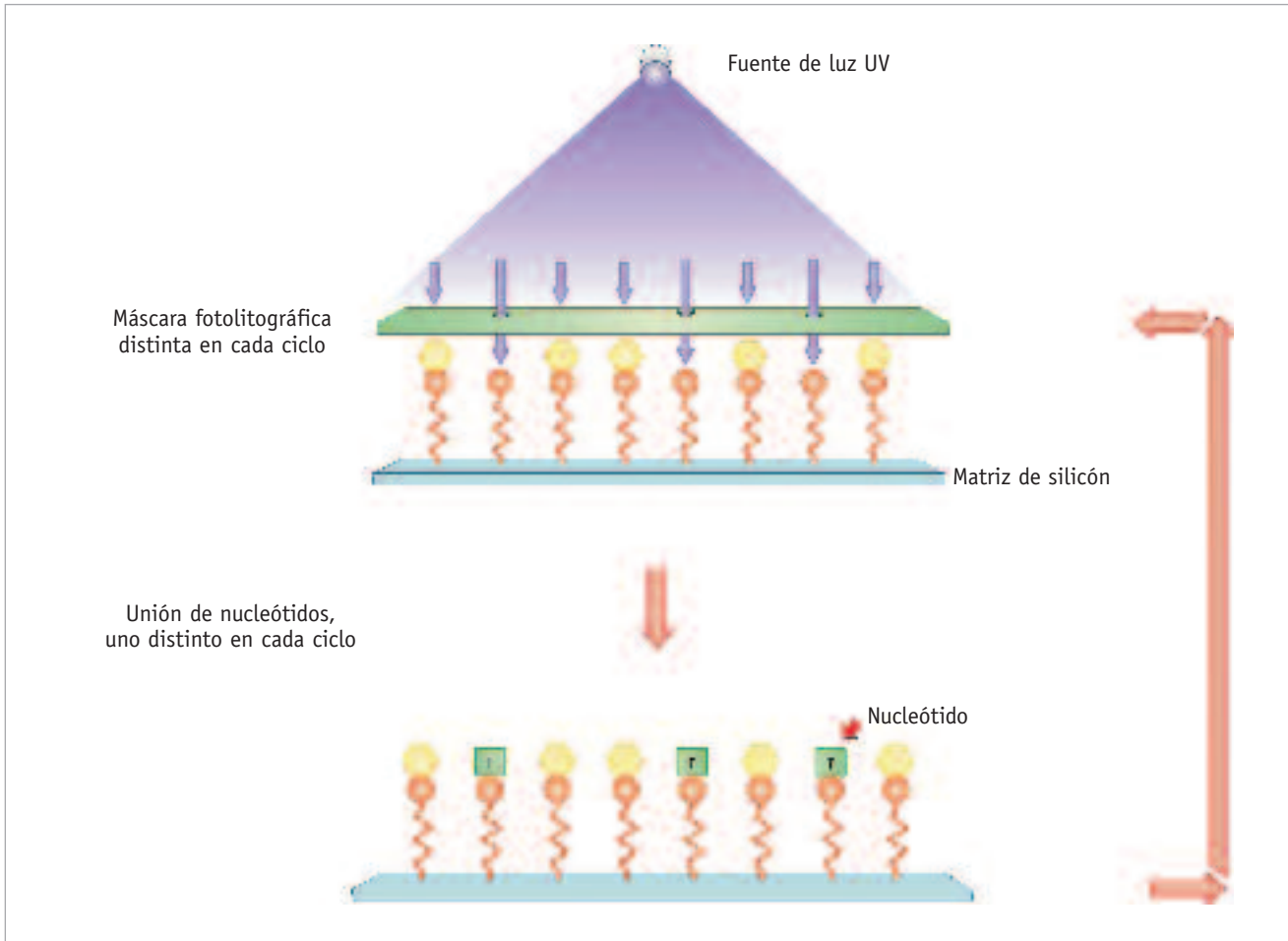


Figura 3. Manufactura de microarreglos de oligonucleótidos (*genechips*). Los arreglos de oligonucleótidos consisten en una matriz que contiene moléculas que sirven de base para el anclaje de nucleótidos provistos con un grupo protector removible por acción de la luz. La síntesis de las sondas se realiza en forma paralela a través de la adición progresiva de nucleótidos a cada cadena de oligonucleótido. Para definir qué cadena recibirá el nucleótido en cada ciclo, se coloca sobre la matriz una máscara que contiene orificios muy pequeños. La incidencia de luz ultravioleta a través de los orificios durante un paso de síntesis remueve el componente fotosensible y permite la unión de un nucleótido. En el siguiente paso de síntesis, una segunda máscara es aplicada para desproteger otras áreas sobre la superficie, permitiendo que otro nucleótido se acople a esas zonas. Este proceso se repite hasta que las sondas alcanzan una longitud definida (usualmente de 25 nucleótidos).

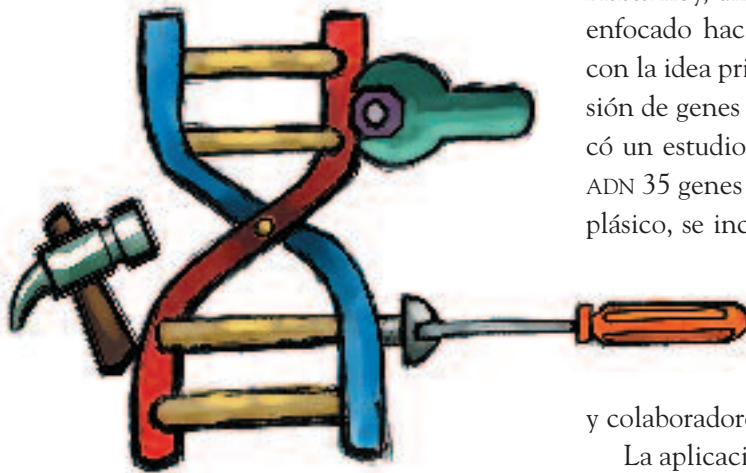
relación entre los valores de los dos fluoróforos (Figura 4 A). Alternativamente, los arreglos de oligonucleótidos son hibridados con ARNc (cadena copiada a partir de ADNc) proveniente de una sola muestra y marcado con un solo fluoróforo. En este caso, se sintetiza ADNc a partir de ARN y se introduce al mismo tiempo un sitio de reconocimiento para la enzima que sintetiza ARN (llamada polimerasa de ARN). Esto permite la síntesis posterior de ARNc en una reacción de transcripción en presencia de ribonucleótidos unidos a biotina. Posteriormente, el ARNc de la muestra de interés y el del control se hibridan con *chips* independientes, lo que permite que cada ARNc se una a su se-

cuencia específica en el arreglo. La hibridación se detecta a través de la unión de estreptavidina a la biotina presente en el ARNc. Esta unión se reconoce gracias a que la estreptavidina está acoplada a ficoeritrina, un fluoróforo que emite luz roja. Finalmente, se cuantifica con un detector de fluorescencia asistido por computadora la intensidad de la señal fluorescente generada por cada ARN al hacer incidir un rayo láser en el *genechip* (Figura 4B). En los dos casos, los datos son introducidos en programas

que analizan la intensidad de la señal y proporcionan una lectura que generalmente está acoplada a un mapa de imágenes, en el cual la intensidad de cada punto correspondiente a un gen individual indica su nivel de expresión.

ANÁLISIS DE DATOS

Los estudios de expresión génica utilizando la tecnología de arreglos de ADN permiten evaluar la expresión de casi todo un genoma a partir de una sola muestra biológica. Normalmente esta expresión se compara con la de muestras de control. Para este efecto, se requiere de la informática, es decir, de bases de datos almacenados y de programas diseñados específicamente para el análisis de la gran cantidad de información generada. Existen en el mercado de la bioinformática diversos programas especializados en analizar resultados a gran escala cuyo fin común es calcular la tasa de variación de expresión génica entre las muestras que están siendo comparadas. Este nivel de cambio proporciona una estimación de las cantidades relativas de una especie de ARN dada en una condición particular. Este tipo de análisis funciona cuando se requiere identificar si la expresión de los genes de interés se incrementa o disminuye.



Sin embargo, cuando es necesario identificar patrones de expresión génica, es decir, reconocer grupos de genes cuya expresión aumenta o disminuye de manera similar bajo condiciones normales o de experimentación, el estudio exigirá otras herramientas computacionales divididas en dos tipos generales: agrupamientos jerárquicos y mapas auto-organizados (Eisen y colaboradores, 1998). Estos análisis utilizan fórmulas matemáticas o algoritmos para predecir diferentes probabilidades de agrupamiento. Cada algoritmo aporta capacidades de análisis muy diferentes, por lo que su selección dependerá de las necesidades del estudio a realizar. Los sistemas jerárquicos permiten el análisis de datos con base en algún patrón de interés. De esta manera se identificaron, por ejemplo, los genes que tenían la máxima o mínima expresión en cada una de las fases del ciclo celular de la levadura.

Los resultados obtenidos jerárquicamente son normalmente representados en forma similar a la de un árbol filogenético, donde la longitud de cada rama indica el grado de relación entre los grupos. El inconveniente de este sistema es que considera sólo ciertos grupos de genes, lo que causa que los resultados generados puedan no necesariamente reflejar lo que ocurre en la totalidad del genoma analizado, sino más bien depender de decisiones específicas de análisis impuestas por el programa. Esto condujo a la creación de los mapas auto-organizados, también llamados redes neurales, que identifican patrones inesperados (al azar) a partir de todos los datos originales, sin imponer la estructura rígida de análisis observada en las formas jerárquicas, por lo que son hoy en día los más utilizados.

APLICACIONES ACTUALES DE LOS ARREGLOS DE ADN

Hasta hoy, una parte del uso de los microarreglos de ADN se ha enfocado hacia la investigación y el tratamiento del cáncer, con la idea principal de clasificar tumores con base en la expresión de genes específicos. Por ejemplo, recientemente se publicó un estudio en el que se identificaron con microarreglos de ADN 35 genes cuya expresión, conforme avanza el proceso neoplásico, se incrementa en muestras de tejido cervical canceroso a partir de niveles indetectables o muy bajos en el tejido normal. Por tanto, los autores proponen el uso de estos genes como marcadores de este tipo particular de cáncer (Chen y colaboradores, 2003).

La aplicación de los microarreglos de ADN al sistema nervioso se ha visto retrasada con respecto a otras disciplinas, dada la

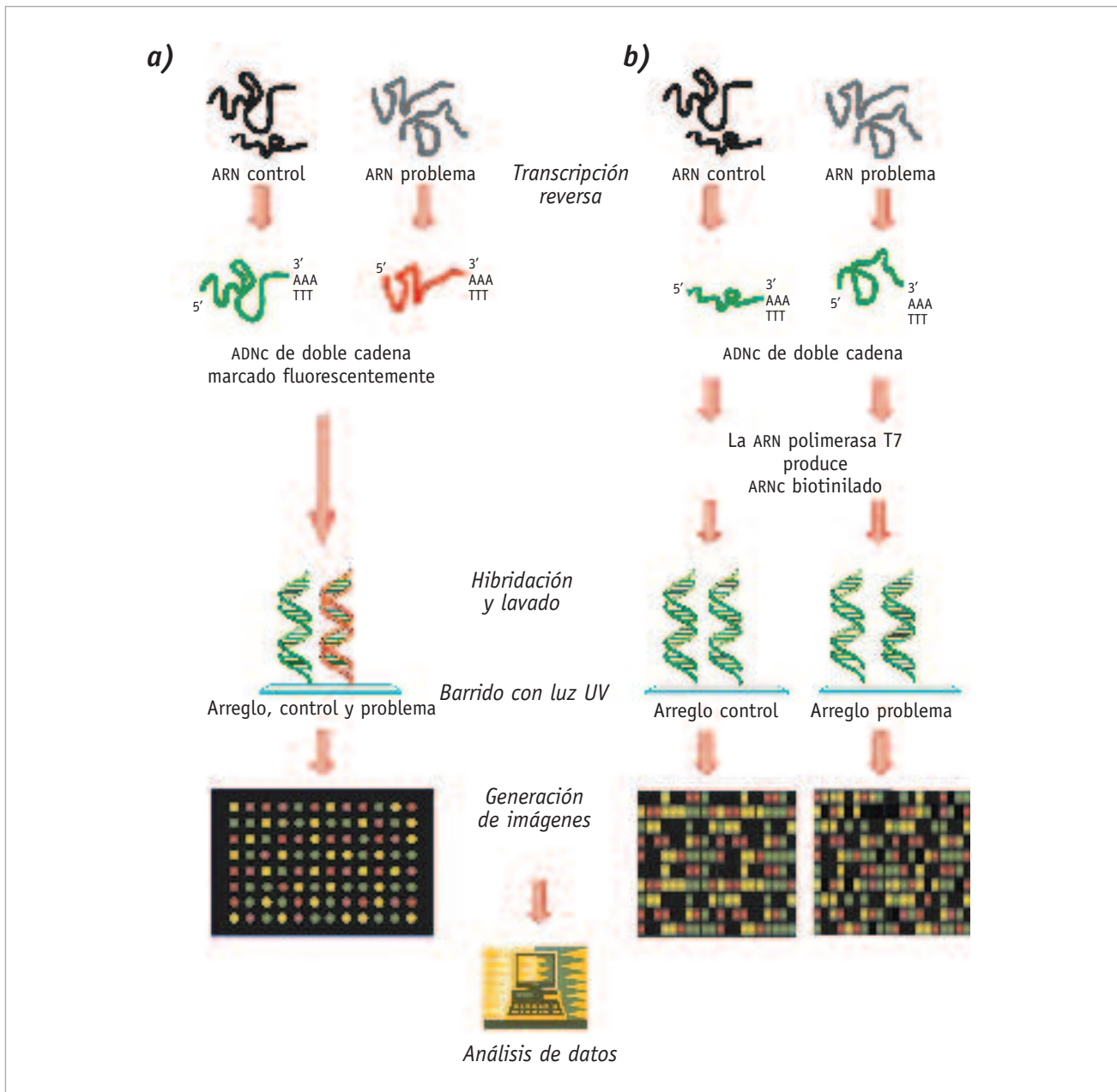


Figura 4. Generación del blanco, hibridación y análisis de microarreglos de ADN. Los microarreglos se hibridan con blancos generados a partir de ARN que proviene de una muestra control y de la muestra a analizar (ARN problema). **a)** *Microarreglos de ADNc.* A partir de los ARNs, se generan por separado, en el paso de transcripción inversa, ADNcs que incorporan colorantes fluorescentes que emiten luz de diferente color. Los blancos son hibridados juntos en un solo arreglo de ADN; inmediatamente después, la matriz es lavada con una solución que elimina el material unido inespecíficamente. El paso de un rayo láser sobre la superficie del arreglo genera señales fluorescentes independientes, y la superposición de ambas fluorescencias produce una imagen para análisis. Si la expresión de un gen es más alta en la muestra problema, la señal se representará como un punto en color verde; si es mayor en la muestra control la señal será roja, mientras que se observará en color amarillo cuando resulten similares en ambas muestras. Los programas de análisis de estos mapas de expresión en color calculan, entre otros datos, la magnitud de la diferencia de expresión de cada ARN entre las muestras comparadas. **b)** *Microarreglos de oligonucleótidos.* El ADNc generado a partir de cada ARN (problema y control) es procesado para generar ARNc marcado con biotina. Las muestras son hibridadas de manera independiente en arreglos distintos y posteriormente detectadas con un fluoróforo (ficoeritrina) unido a avidina. La intensidad de la señal fluorescente generada por cada ARN al hacer incidir un rayo láser sobre el arreglo es cuantificada con un detector de fluorescencia asistido por computadora. Como en **a)**, los datos son introducidos en programas que analizan la intensidad de color de cada punto correspondiente a un gen individual, con lo que es posible calcular la magnitud de la diferencia de expresión de cada ARN entre las muestras comparadas.

gran variedad de tipos y redes neuronales existentes. Dentro de los organismos vivos, el cerebro posee la mayor diversidad de expresión génica respecto a cualquier otro órgano del cuerpo; para su estudio es normalmente subdividido en regiones, con base en la morfología y fisiología. Un objetivo de la neurobiología moderna es identificar qué genes determinan un tipo celular específico, o fenotipo, y cómo este órgano alcanza su elevada capacidad plástica y cognitiva. Los microarreglos de ADN representan una herramienta potencial para identificar cuáles son los genes que participan en estos procesos. Los resultados obtenidos de esta manera complementarán los generados con las técnicas actuales, basadas en la localización anatómica y las propiedades electrofisiológicas y bioquímicas de un tipo celular específico.

Recientemente, a través del uso de microarreglos de ADN, investigadores interesados en

Dentro de los organismos vivos, el cerebro posee la mayor diversidad de expresión génica respecto a cualquier otro órgano del cuerpo

el estudio de la respuesta del cerebro a diferentes condiciones de estrés (como una infección viral o un estrés emocional) mostraron que el cerebro no responde de la misma manera a cada condición, sino que existen grupos de genes regulables de manera específica. Lo anterior es el inicio en la búsqueda de marcadores moleculares que definan los diferentes tipos de estrés. Esta información permitirá eventualmente el desarrollo de drogas más específicas para recuperar la homeostasis del organismo en situaciones de estrés (Reyes y colaboradores, 2003).

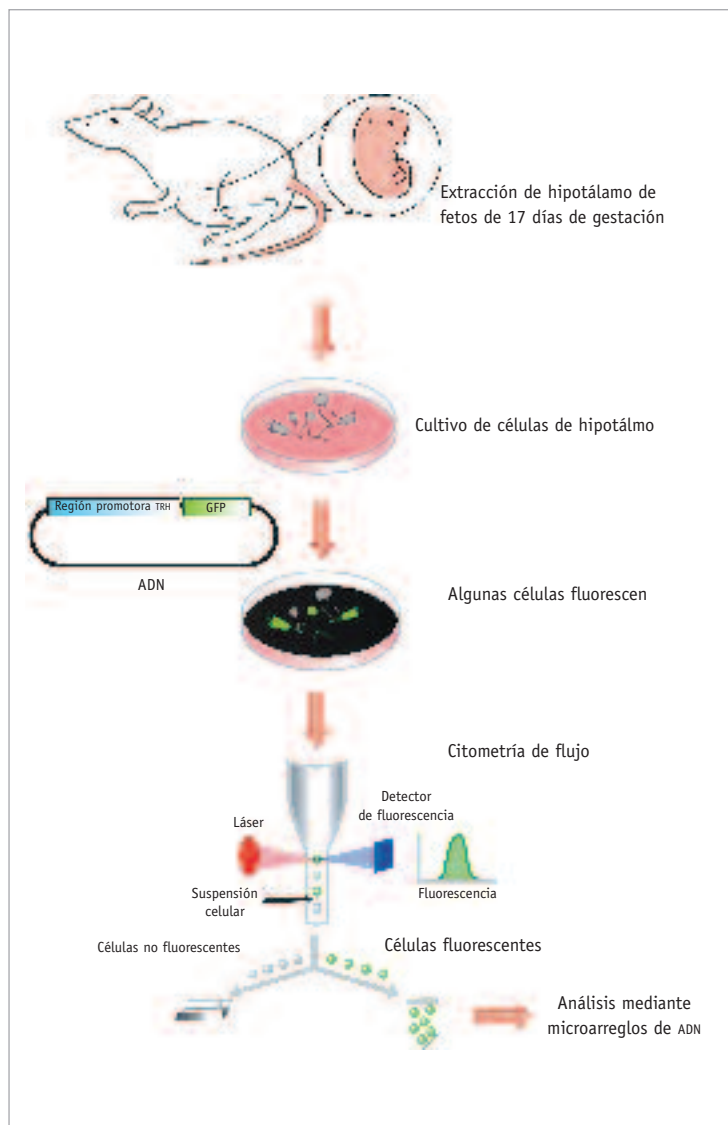
CARACTERIZACIÓN DEL PERFIL TRANSCRIPCIONAL DE UN TIPO DE NEURONAS UTILIZANDO ARREGLOS DE ADN

Nuestro laboratorio ha estudiado por varios años el metabolismo de la hormona liberadora de tirotropina (TRH), un mensajero intercelular en el sistema nervioso central y la adenohipófisis. Algunas neuronas del hipotálamo (una región localizada en la base del cerebro de los mamíferos) producen hormona liberadora de tirotropina para controlar múltiples funciones, incluyendo algunas de las secreciones de la glándula adenohipófisis y el sistema autónomo. En el laboratorio nos interesa entender cómo se sintetiza la hormona liberadora de tirotropina y cómo los sistemas nervioso y endócrino regulan este proceso durante el desarrollo y en el animal adulto.

Uno de nuestros objetivos es identificar algunos de los marcadores moleculares que son específicos de las neuronas TRHérgicas (células que sintetizan y secretan la hormona liberadora de tirotropina) fetales. Para estudiar bajo condiciones controladas los mecanismos que inician la biosíntesis y expresión de la hormona liberadora de tirotropina utilizamos cultivos de hipotálamo fetal de rata. Estos cultivos contienen diversas poblaciones celulares, entre ellas células gliales, endoteliales y diferentes tipos de neuronas que expresan múltiples neuropéptidos y neurotransmisores. Las células TRHérgicas son una pequeña proporción de las células presentes en las placas de cultivo, lo que representa una limitante para su estudio bioquímico. Para alcanzar nuestro objetivo, decidimos aislar a las células TRHérgicas de la población total, con la idea de caracterizar su perfil de expresión génica utilizando arreglos de ADN. Para seleccionar las células TRHérgicas, se introdujo a los cultivos hipotalámicos una molécula de ADN que permite la expresión de una proteína que emite luz verde únicamente en las neuronas TRHérgicas. Así, solamente las células que producen hormona liberadora de tirotropina emiten luz verde al ser observadas bajo

un microscopio de luz ultravioleta. Esto nos ayudó a seleccionarlas por citometría de flujo, técnica que permite separar las células verdes del resto, ya que sólo éstas emiten fluorescencia cuando un rayo láser incide sobre ellas. Hemos generado ARNC a partir de estas células y lo hemos utilizado como blanco para hibridar un *genechip* (Figura 5) que nos permite evaluar la expresión de 7 mil genes conocidos del genoma de rata.

La caracterización de la expresión génica de las células TRHérgicas hipotalámicas fetales permitirá a corto plazo identificar algunos de los ARNm que se expresan preferentemente en estas neuronas, lo que nos pudiera dar información valiosa sobre los genes que participan de manera específica en el proceso de diferenciación del fenotipo TRHérgico.



PERSPECTIVAS

Para algunos investigadores, entre los que destaca Erick Lander, la genómica es considerada para las ciencias biológicas como el equivalente a la tabla periódica para la química, al generar un inventario de genes (Lander, 1999). Esta idea resume la importancia del impacto de la tecnología de microarreglos de ADN en nuestro tiempo. Sin embargo, es indudable que a pesar de lo impresionante de su crecimiento, su aplicación está en sus inicios y se espera que llegará a tener en poco tiempo un impacto aún más profundo.

Un aspecto importante para este crecimiento no sólo se concentra en la creación de formas novedosas de manufactura de microarreglos de ADN o en la mejoría de cada componente de esta metodología, sino también en obtener la mayor información posible del análisis de expresión global, con la ayuda de un gran número de herramientas matemáticas. Es necesario, por tanto, diseñar nuevos algoritmos para la organización de los datos y desarrollar mejores métodos computacionales que ofrezcan manipular, analizar y representar los resultados producidos en forma expedita y sencilla (tablas o gráficas). En nuestro país, la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) cuenta con la primera unidad de microarreglos

Figura 5. Procedimiento para la purificación de neuronas expresando la hormona liberadora de tirotropina a partir de cultivos de hipotálamo fetal de rata. Los hipotálamos de fetos de 17 días de gestación son extraídos, y las células dispersadas y mantenidas en cultivo. Un día después de su siembra, se introduce en las células un ADN que dirige la expresión de una proteína que emite fluorescencia en verde a partir del promotor de la hormona liberadora de tirotropina. Dos días después, las células que expresan esta proteína emiten fluorescencia. Esta fluorescencia puede ser detectada al pasar las células por el rayo láser de un citómetro de flujo, lo que permite seleccionar las células fluorescentes y recolectarlas simultáneamente. Estas células son almacenadas en una solución que estabiliza el ARN que se emplea para generar el blanco que se hibrida con el arreglo de ADN.

de México donde, al igual que diferentes compañías en los Estados Unidos, se está trabajando en la creación de nuevos algoritmos para el análisis de datos.

Otro factor a considerar para el mejoramiento del manejo de los datos es el relacionado con la forma en que la información está depositada en las páginas públicas de resultados en internet. Los sitios o páginas que la almacenan lo hacen en archivos que sólo muestran un compendio de los genes estudiados, sin permitir al usuario definir ningún tipo de relación entre ellos, por lo que se precisa de la creación de programas que transfieran la información contenida en las bases públicas a programas en los que sea posible un análisis más detallado para interpretar los datos en forma de imágenes y texto.

Todas estas mejoras permitirán simplificar y agilizar el estudio de los genomas, así como proponer modelos de redes funcionales o de asociación de genes biológicamente significativos en diferentes procesos biológicos normales y patológicos.

Agradecimientos:

Los autores agradecen la revisión minuciosa al manuscrito que hicieron los doctores Agustín López y Federico Sánchez. La investigación mencionada en este manuscrito fue apoyada parcialmente por los donativos IN223599 e IN227002 de la DGAPA-UNAM.



Bibliografía

- Chen, Y., C. Miller, R. Mosher, X. Zhao, J. Deeds, M. Morrissey, B. Bryant, D. Yang, R. Meyer, F. Cronin, B.S. Gostout, K. Smith-McCune, y R. Schlegel (2003), "Identification of cervical cancer markers by cDNA and tissue microarrays", *Cancer Res.*, 63, 1927-1935.
- Eisen, M. B., P. T. Spellman, P. O. Brown y D. Botstein (1998), "Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95, 14863-14868.
- Freeman, W. M., D. J. Robertson y K. E. Vrana (2000), "Fundamentals of DNA hybridization arrays for gene expression analysis", *Biotechniques*, 29, 1042-1055.
- Lander, E. S. (1999), "Array of hope", *Nature Genetics*, 21, 3-4.
- Reyes, T. M., J. R. Walker, C. DeCino, J. B. Hogenesch, y P. E. Sawchenko (2003), "Categorically distinct acute stressors elicit dissimilar transcriptional profiles in the paraventricular nucleus of the hypothalamus", *J. Neuroscience*, 23, 5607-5616.

Para saber más

- Brown, P. O., y D. Botstein (1999), "Exploring the new world of the genome with DNA microarrays", *Nature Genetics*, 21, 33-37.
- Burgess, J. K. (2001), "Gene expression studies using microarrays", *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 28, 321-328.
- Véase www.genesifter.net para el análisis de datos de microarreglos.

Magdalena Guerra-Crespo obtuvo el grado de doctora en ciencias bioquímicas en el Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Actualmente es investigadora en la Universidad de California, campus Irvine, EUA, donde estudia el efecto de factores tróficos en la regeneración del sistema nervioso central en modelos de embolia cerebral, Parkinson y Alzheimer en rata. magdagmx@hotmail.com

Jean-Louis Charli es doctor en ciencias de la naturaleza por la Universidad de París VI. Realiza investigación en el campo de la neurobiología molecular y celular. Es autor de alrededor de 70 artículos de investigación en revistas de circulación internacional. Es investigador en el Instituto de Biotecnología de la UNAM, miembro del Sistema Nacional de Investigadores y de la Academia Mexicana de Ciencias. charli@iby.unam.mx

Leonor Pérez-Martínez obtuvo el grado de doctora en filosofía en la Universidad de Basilea, Suiza. Es investigadora en el Instituto de Biotecnología de la UNAM y miembro del Sistema Nacional de Investigadores. Su interés principal de investigación consiste en entender los procesos moleculares que controlan el desarrollo del sistema nervioso y la regeneración neuronal. leonor@ibt.unam.mx

