

RESUMEN

La determinación de biomarcadores genéticos es cada vez más extensa y popular, estando incluso comercializándose kits para medicina personalizada. Establecer las variaciones en el genotipo específicas de cada paciente, como los polimorfismos de un solo nucleótido (*SNP*) podría ser una herramienta fundamental en el campo de diagnóstico, pronóstico y selección de la terapia. Sin embargo, el uso de pruebas de ADN no se encuentra completamente implementado en la atención médica general, principalmente debido a las barreras técnicas y económicas asociadas a las tecnologías actuales, limitadas solamente a centros especializados y grandes hospitales.

En esta tesis, el objetivo principal fue superar estos obstáculos mediante el desarrollo de sistemas de genotipado *point-of-care* (*POC*), más simples, rápidos y asequibles. La discriminación alélica se logró mediante el uso de reacciones enzimáticas isotermas, como la amplificación de la recombinasa polimerasa (*RPA*), la ligación de oligonucleótidos y la amplificación isotérmica mediada por bucle (*LAMP*). Estos procesos se integraron a indicadores colorimétricos y ensayos inmunoenzimáticos en formato de micromatriz. Utilizando discos compactos y chips de policarbonato como plataforma de ensayo, se ha logrado la detección por dispositivos electrónicos de consumo, como un lector de discos, escáner documental y teléfono móvil. Para demostrar sus capacidades, los sistemas resultantes se aplicaron a la identificación de *SNPs* en muestras humanas, asociados a terapias para adicción al tabaco, depresión y enfermedades relacionadas con la coagulación de la sangre.

Tras seleccionar las condiciones adecuadas, todas las estrategias estudiadas discriminaron *SNPs* en muestras conteniendo tan solo 100 copias de ADN genómico, con una tasa de error inferior al 15%. Más importante, los

métodos desarrollados han reducido los tiempos de ensayo a valores entre 70 y 140 minutos, a un coste similar a un análogo convencional basado en la reacción en cadena de la polimerasa (*PCR*), pero manteniendo o aumentando la eficiencia de amplificación y eliminando la necesidad de termocicladores y escáneres de fluorescencia.

En conclusión, los biosensores basados en reacciones isotérmicas y dispositivos de electrónica de consumo mejoran en gran medida la competitividad del análisis *POC* de ADN. Se ha demostrado que las tecnologías desarrolladas en esta tesis podrían apoyar los ensayos de genotipado en áreas de recursos escasos, como centros de atención primaria y países emergentes. A través de esta democratización de las pruebas genéticas y realización estudios de asociación adecuados, el diagnóstico molecular y las prácticas en medicina personalizada podrían extender su aplicación a la rutina clínica estándar.