

## UNIDAD DE BIOLOGÍA MOLECULAR



La Unidad de Biología Molecular (UBM) del Hospital Universitari i Politècnic La Fe centra su actividad asistencial en la identificación de alteraciones moleculares necesarias para el diagnóstico, establecimiento del riesgo individual, predicción de la respuesta al tratamiento o monitorización de la respuesta al mismo, ayudando a establecer una medicina personalizada en diversas patologías de interés en el ámbito hospitalario.

La creciente demanda de estudios moleculares promueve que la UBM esté en constante actualización metodológica para cubrir los requerimientos de la medicina actual, incorporando plataformas de alto rendimiento como los analizadores de secuenciación masiva e incorporando aproximaciones ultrasensibles como la PCR digital para el estudio de biopsias líquidas.



## CONTACTO

### Unidad de Biología Molecular (UBM)

Torre A, 4ª planta.

Hospital Universitario y Politècnic la Fe  
Avda de Fernando Abril Martorell, 106  
46026 Valencia (Spain)

Teléfono +34 961 244 710



## LÍNEAS DE TRABAJO

### PREDISPOSICIÓN HEREDITARIA AL CÁNCER DE MAMA Y OVARIO



La UBM es centro de referencia para la detección de mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2*, responsables del síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario, incluido en el Programa de Consejo Genético en Cáncer Hereditario de la Comunidad Valenciana.<sup>1,2</sup>

### ONCOHEMATOLOGÍA



La UBM incluye en su cartera de servicios más de 30 biomarcadores para la caracterización molecular de las leucemias. Es referente en la detección cuantitativa de los reordenamientos *PML-RARA* y *BCR-ABL*, que se precisan para establecer el diagnóstico, respuesta al tratamiento y monitorización de enfermedad mínima residual en la leucemia promielocítica aguda y leucemia mieloide crónica, respectivamente.

### TUMOR SÓLIDO DEL ADULTO



La UBM contribuye con la medicina de precisión mediante el establecimiento de biomarcadores en diversos tipos de tumores que ayudan a decidir el manejo más adecuado para el paciente oncológico. Es centro pionero en la determinación de los mismos y referente en plataformas diagnósticas de ámbito autonómico y nacional.

### OTRAS PATOLOGÍAS



La UBM es centro de referencia para el estudio molecular de talasemias y hemoglobinopatías, y centro de diagnóstico molecular del Programa de Cribado Neonatal de Anemia Falciforme de la Comunidad Valenciana.<sup>3</sup>



## PROFESIONALES

### Facultativos especialistas

Dra. Eva Barragán

Dra. Sarai Palanca

Dra. Inmaculada de Juan

### Titulado superior

Dra. Marta Llop

### Técnicos especialistas de Laboratorio

Nuria Martín

Alicia Fortea

Amparo Aranda

Pilar López

M<sup>a</sup> Ángeles Martínez

Gabriela Pérez

### Auxiliar

Andrés León

### Investigadores predoctorales

Claudia Sargas

Javier Simarro

### Personal Investigador (TEL)

Gema Pérez

José Vicente Gil

Olaya Jiménez





Estudio Molecular	Tipo de muestra	Días naturales Rta.
<b>ESTUDIOS MOLECULARES EN CÁNCER HEREDITARIO</b>		
Cribado de mutaciones puntuales y grandes reordenamientos genómicos de <i>BRCA1</i> y <i>BRCA2</i> mediante secuenciación masiva	SP	45
Estudio puntual mutaciones patogénicas en <i>BRCA1</i> o <i>BRCA2</i>	SP	15
Estudio puntual de grandes reordenamientos genómicos de <i>BRCA1</i> o <i>BRCA2</i>	SP	15
<b>ESTUDIOS MOLECULARES EN HEMATOLOGÍA</b>		
Cuantificación de la expresión de <i>PML-RARα</i>	MO/SP	7
Cuantificación de la expresión de <i>CBFβ-MYH11</i>	MO/SP	7
Cuantificación de la expresión de <i>AML1-ETO</i>	MO/SP	7
Cuantificación de la expresión de <i>BCR-ABL</i>	MO/SP	15
Detección cualitativa de los transcritos atípicos de <i>BCR-ABL</i>	MO/SP	15
Detección de mutaciones en el dominio TK de <i>BCR-ABL</i>	MO/SP	20
Cuantificación de la expresión de <i>TEL-AML1</i>	MO/SP	15
Cuantificación de la expresión de <i>MLL-AF4</i>	MO/SP	15
Detección cualitativa de los reordenamientos de <i>MLL</i> ( <i>MLL-ELL</i> , <i>MLL-ENL</i> , <i>MLL-AF6</i> , <i>MLL-AF9</i> , <i>MLL-AF10</i> )	MO/SP	15
Detección cualitativa de <i>TEL-PDGFRB</i>	MO/SP	15
Detección cualitativa de <i>FIP1L1-PDGFR</i>	MO/SP	15
Detección cualitativa de otros reordenamientos de baja incidencia en la LMA ( <i>PLZ-RARA</i> , <i>OTT-MAL</i> , <i>MOZ-CBP</i> , etc)	MO/SP	15
Cuantificación de la expresión de <i>EVI1</i>	MO/SP	15
Duplicaciones internas en tándem (ITD) de <i>FLT3</i>	MO/SP	7
Mutaciones puntuales (D835) de <i>FLT3</i>	MO/SP	7
Mutaciones de <i>NPM1</i>	MO/SP	7
Cuantificación de la expresión de <i>NPM1</i> mutado	MO/SP	15
Mutaciones de <i>CEBPA</i>	MO/SP	20
Mutaciones de <i>DNMT3A</i>	MO/SP	15
Mutaciones de <i>IDH1</i> e <i>IDH2</i>	MO/SP	7
Cuantificación de la expresión de <i>WT1</i>	MO/SP	15
Mutaciones en los exones 8 y 17 de <i>C-KIT</i>	MO/SP	15
Estudio de biomarcadores por secuenciación masiva (ADN y ARN)	MO/SP	20

Estudio Molecular	Tipo de muestra	Días naturales Rta.
<b>ESTUDIOS MOLECULARES EN ONCOLOGÍA</b>		
Mutaciones de <i>EGFR</i>	TP	7
Mutaciones de <i>K-RAS</i>	TP	7
Mutaciones de <i>N-RAS</i>	TP	7
Mutaciones de <i>BRAF</i>	TP	7
Mutaciones de <i>PIK3CA</i>	TP	7
Metilación del promotor de <i>MGMT</i>	TP	15
Mutaciones de <i>IDH1</i> e <i>IDH2</i>	TP	15
Mutaciones del promotor de <i>TERT</i>	TP	15
Mutaciones de <i>C-KIT</i> (GIST)	TP	15
Mutaciones de <i>PDGFR-A</i>	TP	15
Metilación del promotor de <i>MLH1</i>	SP	15
Mutaciones de <i>MTHFR</i>	SP	15
Mutaciones de beta-catenina ( <i>CTNNB1</i> )	TP	15
Estudio de biomarcadores mediante secuenciación masiva	TP	15
Estudio de biomarcadores en biopsia líquida	BL	7
<b>ESTUDIO MOLECULAR EN LAS HEMOGLOBINOPATIAS</b>		
α-talasemias deleción 3.7	SP	15
α-talasemias (otras deleciones del gen)	SP	15
β-talasemias (mut CD-6, CD-39, CD37, IVSI-1, IVSI-6, IVSI-110)	SP	15
β -talasemias (secuenciación completa del gen)	SP	15
δ β -talasemias Spanish	SP	15
δ β -talasemias Hemoglobina Lepore	SP	15
Drepanocitosis	SP	15
<b>HEMOCROMATOSIS HEREDITARIA</b>		
Mutaciones C282Y y H63D en el gen <i>HFE</i>	SP	15
<b>ESTUDIO MOLECULAR DE LA TROMBOFILIA</b>		
Polimorfismo G20210A en el gen de la protrombina ( <i>FII</i> )	SP	15
Polimorfismo G1691A en el gen del Factor V Leiden ( <i>FVL</i> )	SP	15
Polimorfismo C677T en el gen <i>MTHFR</i>	SP	15
<b>SÍNDROME DE GILBERT</b>		
Polimorfismo UGTA1*28 en el gen <i>UGTA1</i>	SP	15

MO: Médula ósea

SP: Sangre periférica

TP: Tumor en parafina

BL: Biopsia líquida (SP en tubo de tapón nacarado)



## CONDICIONES DE OBTENCIÓN Y ENVÍO DE LAS MUESTRAS



Las muestras remitidas a la UBM deberán estar correctamente identificadas e ir acompañadas de la **solicitud o volante**, que debe incluir :

- Nombre y apellidos
- SIP (si no tiene SIP, incluir el NIF e Historia clínica)
- Tipo de muestra, sospecha diagnóstica y momento
- Determinaciones moleculares que se solicitan



Es responsabilidad del médico peticionario que el paciente firme el **consentimiento informado**

Sangre  
periférica  
o  
Médula ósea

- Cantidad mínima SP: **5 mL**
- Cantidad mínima MO: **2-3 mL**
- Contenedor: **tubo de K2-EDTA (tapón morado)**
- Recepción: antes de 48 h tras la extracción



Biopsia  
líquida

- Cantidad mínima SP: **8mL**
- Contenedor: tubo de **K2-EDTA (tapón nácar)**
- Recepción: antes de **2h** desde su extracción
- Recomendación: El orden de uso de los tubos durante la extracción es importante para prevenir la contaminación, aconsejándose que el tubo para la biopsia líquida nunca sea el primero en utilizarse



Muestras  
tumores

**Muestras tumorales FFPE:** pieza quirúrgica/biopsia

- Requisitos: mínimo 300 cél. tumorales y 50 % cél. tumorales por sección (siempre  $\geq 10\%$ )
- Requerimientos: ADN (3 cortes de 5  $\mu\text{m}$ ) - ARN (3 cortes de 15  $\mu\text{m}$ )

**Citologías/Bloque celular/Laminillas:**

- Requisitos: mínimo 500 cél. tumorales y 50 % cél. tumorales por sección (siempre  $\geq 10\%$ )
- Recomendación: realizar macrodissección de la muestra marcando las agrupaciones tumorales sobre el cubreobjetos

TODAS las solicitudes de marcadores moleculares deben ir acompañada del **Informe de Anatomía patológica**, indicándose:

- ✓ **Recuento de células tumorales totales**
- ✓ **Porcentaje (%) de celularidad tumoral**





## APLICACIÓN DE UNA TECNOLOGÍA DE VANGUARDIA

La UBM está en **constante innovación metodológica y tecnológica** para poder abordar con calidad y eficiencia el estudio de biomarcadores relevantes tanto en la **asistencia clínica** como en el ámbito de la **investigación traslacional**.

Actualmente la UBM cuenta con diferentes plataformas de alto rendimiento entre las que destacan:

Sistema automatizado de extracción de ácidos nucleicos

*QIASymphony SP*

Sistema automatizado de pipeteo

*epMotion 5070*

Sistemas para la preparación de librerías y *template* (NGS)

*Ion Chef  
One Touch 2/ES*

Secuenciadores de alto rendimiento (NGS)

*Ion Torrent PGM  
Ion Torrent S5*

PCR ultrasensible

*Droplet digital PCR*

Análisis integrado de datos moleculares

*Ion Reporter  
OncoPrint Knowledgebase Reporter*



### PROYECTOS VIGENTES EN 2017

- Análisis metabólico de muestras clínicas para identificar biomarcadores de respuesta y mecanismos de resistencia adquirida a las nuevas terapias dirigidas contra el cáncer de pulmón. PI17/01282.
- Evaluación de la tecnología de secuenciación masiva (NGS) para la detección de reordenamientos de ALK en CPNM. Nº Ref: 2017/070.
- Detection of epidermal growth factor receptor (EGFR) T790M mutation by ultrasensitive PCR assay before treatment with tyrosine-kinase inhibitors (TKI) and assessment of the role of T790M mutation to predict resistance mechanism at progression in stage IV non-small cell lung cancer (NSCLC) patients. Beca GIDO proyecto de investigación 2016 y AstraZeneca Spain. Nº Ref: 2016/0129.
- Caracterización histológica y molecular de las lesiones serradas de colon: desarrollo de un perfil de riesgo individual aplicable al cribado de cáncer colorrectal. IIS La Fe – Bancaja (IISLaFe 2016).
- Mecanismos moleculares implicados en la expresión aberrante del gen hTERT en el melanoma maligno. Papel de la telomerasa en el fenómeno de regresión. PI16/01559.
- Implicación de la telomerasa en la regresión espontánea del melanoma maligno. Estudio de microRNAs reguladores del gen TERT y su relación con la actividad telomérica. GV/2016/064.
- Implicación de la telomerasa en la regresión espontánea del melanoma maligno. Estudio de microRNAs reguladores del gen TERT. EUROMELANOMA 2016.
- Perfil genómico y metabólico para abordar la caracterización molecular de la Leucemia Mieloide Aguda y buscar nuevas dianas terapéuticas. PS16/0665.
- Impacto pronóstico de mutaciones genéticas en pacientes con leucemia aguda linfoblástica infantil tratados según el protocolo sehop-pethema 2013. Fundación Uno entre Cien mil.
- Implementación de la medicina personalizada en CPNM mediante la utilización de la secuenciación masiva. Roche Farma mediante - IIS La Fe (2015/0713).
- Sistema de detección de biomarcadores oncológicos para tratamiento personalizado del cáncer colorrectal. RTC-2015-3625-1.
- Identificación y traslación clínica de biomarcadores moleculares mediante una aproximación de biología de sistemas en el melanoma maligno. IIS La Fe – Bancaja (IISLaFe 2014/0370).
- Secuenciación masiva de paneles de genes y análisis del transcriptoma en la leucemia mieloide aguda. Fundación Española de Hematología y Hemoterapia. Programa Promoción de la Investigación FEHH 2017.

### PUBLICACIONES 2017

- Early Radiological Response as predictor of Overall Survival in Non Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Patients with EGFR Mutations. Journal of Thoracic Disease. 2017(accepted with revisions).
- Recombinase polymerase amplification for mutation analysis of PIK3CA gene. Anal Biochem 2017. (doi.org/10.1016/j.ab.2017.12.013).
- Aberrant DNA methylation is associated with aggressive clinicopathological features and poor survival in cutaneous melanoma. Br J Dermatol. 2017 Dec 26. (doi: 10.1111/bjd.16254).
- Towards Personalized Medicine in Melanoma: Implementation of a Clinical Next-Generation Sequencing Panel. Scientific Reports 2017; 7(495)
- NEDD9, an independent good prognostic factor in intermediate-risk acute myeloid leukemia patients. Oncotarget. 2017;8(44):76003-76014.
- Comparative genomic analysis of PML and RARA breakpoints in paired diagnosis/relapse samples of patients with acute promyelocytic leukemia treated with all-trans retinoic acid and chemotherapy. Leuk Lymphoma. 2017 Aug 24:1-3.
- Mutations in TP53 and JAK2 are independent prognostic biomarkers in B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia. Br J Cancer. 2017;117(2):256-265.
- Wilms Tumor 1 gene expression levels improve risk stratification in AML patients. Results of a multicentre study within the Spanish Group for Molecular Biology in Haematology. Br J Haematol 2017.