

PLATEX: una herramienta bioinformática para la conversión de datos en el estudio genético de la arteriosclerosis

O. Coltell^{a,c}, D. Corella^{b,c}, E. Shyong Tai^c, M. Guillén^{b,c}, R. Chalmeta^a y J.M. Ordovás^c

^aGrupo de Integración y Re-Ingeniería de Sistemas, Departamento de Lenguajes y Sistemas Informáticos. Universitat Jaume I. Castellón. España.

^bUnidad de Epidemiología y Genética Molecular. Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública. Universitat de València. Valencia. España.

^cNutrition and Genomics Laboratory. JM-USDA-Human Nutrition Research Center on Aging at Tufts University. Boston, Massachusetts. Estados Unidos.

Fundamento. La investigación en genómica funcional de la arteriosclerosis y otras enfermedades cardiovasculares requiere del desarrollo de herramientas bioinformáticas que faciliten la gestión de información y, al mismo tiempo, que sean fácilmente accesibles a la comunidad científica. Con este objetivo, este trabajo pretende ofrecer una solución sencilla que resuelva los problemas de comunicación entre distintos instrumentos de laboratorio, relacionados con la amplificación y la secuenciación de ADN, y el análisis de polimorfismos. Y además, que facilite la preparación de datos para los estudios estadísticos ulteriores.

Métodos. Se ha utilizado como instrumento principal un analizador genético ABI PRISM[®] 3100, que es un sistema de electroforesis capilar automático que puede manejar hasta 16 capilares de fragmentos de ADN al mismo tiempo. El desarrollo se ha llevado a cabo mediante las macros de Microsoft Excel[™], utilizando un libro del mismo como interfaz y área de trabajo. Las macros se han codificado con Microsoft Visual Basic[™].

Resultados. Se ha obtenido un conjunto de macros asociado a un libro de Excel[™], denominado PLATEX, que permite fundamentalmente la conversión de datos de muestras de ADN para su secuenciación y análisis por herramientas de software de ABI PRISM[®] 3100. El tiempo medio de proceso con macros es de 30 s, frente a las 2,5 h que puede costar el proceso manual.

Conclusiones. La herramienta desarrollada acelera determinados procesos de laboratorio en un factor de 300, se basa en Microsoft Excel[™] y es fácil de modificar y adaptar para otros instrumentos y estructuras de datos.

Palabras clave:

Herramienta bioinformática. Genómica funcional. Comunicación de instrumental de laboratorio. Macroinstrucciones. Conversión de datos genéticos.

PLATEX: A BIOINFORMATIC TOOL FOR DATA CONVERSION IN THE GENETIC STUDY OF ARTERIOSCLEROSIS

Background. Research on the functional genomics of arteriosclerosis and other cardiovascular diseases requires bioinformatic tools to facilitate data management and, which, simultaneously, would be easily accessible to the scientific community. Accordingly, this work aims to offer a simple solution to communication problems between different laboratory instruments, those used for DNA amplification and sequencing, and polymorphism analysis. Moreover, this solution should facilitate data preparation for further statistical studies.

Este trabajo está financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia de España, becas PR2002-0116 (O. Coltell) y PR2002-0115 (D. Corella) y parcialmente financiado por CICYT (DPI 2000-1058).

Correspondencia: Dr. O. Coltell Simón.
Departamento de Lenguajes y Sistemas Informáticos.
Universitat Jaume I.
Campus de Riu Sec, s/n. 12071 Castellón. España.
Correo electrónico: coltell@lsi.uji.es

Recibido el 6 de febrero de 2003 y aceptado el 29 de abril de 2004.

Methods. The main instrument used is a Genetic Analyser ABI PRISM® 3100, an automatic system of capillary electrophoresis able to simultaneously manage up to 16 capillaries of DNA fragments. The bioinformatic tools was develop by means of Microsoft Excel™ macros using an Excel™ book as interface and work area; macros were implemented with Microsoft Visual Basic™.

Results. A macro set associated with an Excel™ book, named PLATEX, was obtained, which mainly allows DNA sample data conversion for sequencing and analysis by software tools of the ABI PRISM® 3100. The average processing time with macros was 30 seconds compared with 2.5 hours spent with the manual process.

Conclusions. The developed tool accelerates certain laboratory processes in a ratio of 300, it is based on Microsoft Excel™, and is easy to modify and adapt for other instruments and data structures.

Key words:

Bioinformatics tool. Functional genomics. Laboratory instrument communication. Macroinstructions. Genetic data conversion.

Introducción

La genética funcional es una disciplina relativamente nueva que ha experimentado un espectacular desarrollo a raíz de los avances en el Proyecto del Genoma Humano y con la ayuda de la ingeniería médica. La investigación en esta disciplina, así como en otras muchas relacionadas con la medicina, se basa en el manejo eficiente de instrumentos de laboratorio que ejecutan amplificaciones y cuantificaciones de ADN y análisis de secuencias y polimorfismos genéticos. En la actualidad, estos

instrumentos tienen un rendimiento tan alto y manejan tal cantidad de información que deben estar controlados por un *software* “incrustado” que asuma las funciones principales para la gestión de la información necesaria y producida por los procesos químicos y físicos que tienen lugar en el laboratorio. Normalmente los instrumentos de laboratorio proceden de proveedores distintos y sus sistemas de *software* de control se han desarrollado para diferentes plataformas estándar, pero puede ocurrir que, incluso en el mismo instrumento, no todos sus procesos estén interconectados para que se puedan trasvasar los datos.

Por ello, los investigadores en genómica necesitan soluciones rápidas y simples que ayuden a perfeccionar la gestión de la información y su transvase entre procesos e instrumentos. En este sentido, hay varias alternativas. Algunas de ellas son demasiado complejas o costosas de desarrollar; otras son difíciles de manejar. La bioinformática, al haber avanzado en la introducción de nuevas tecnologías y metodologías, permite la construcción de herramientas simples y potentes basadas en productos de *software* estándar.

El objetivo de este trabajo ha sido la resolución de la falta de comunicación en línea entre ficheros que contenían los códigos y las posiciones de placas de análisis de secuenciación de 96 o 384 pocillos y el *software* para la colección de datos del Analizador Genético ABI PRISM® modelo 3100¹. Este programa utiliza un registro de placa para asignar a cada placa códigos de muestra (ID), colores del conjunto de muestras (*dye*), módulos de ejecución y módulos de análisis (fig. 1). Por otra parte, los capilares de fragmentos de ADN etiquetados con fluorescencia se recogen en una estructura que se denomina rejilla PCR y se maneja mediante una hoja de cálculo (fig. 2).



Figura 1. Estructura de datos del registro de placa de fragmentos de ADN. En la columna Well, cada letra (A, B, C, etc.) designa uno de los pocillos de la placa. En la columna “Color Number”, se incluyen los colores del conjunto “Dye”, (hasta 5). Las columnas “Sample Name” y “Color Info” contienen información inespecífica.

Figura 2. Estructura de datos de los fragmentos de ADN etiquetados químicamente que contiene la hoja de cálculo de la rejilla de PCR (son 8 filas de 12 columnas, es decir, 96 muestras como máximo, aunque puede haber "faltas" representadas por "-").

Los datos producidos por electroforesis se muestran en forma de electroforetograma y, a continuación, se analizan y se guardan como ficheros de texto simples mediante el subsistema de autoextracción. A cada conjunto de muestras (*dye*), que puede tener hasta 5 colores, se le asigna un código de muestra basado en el registro de placa de fragmentos. Estos ficheros son las entradas para el *software* de análisis como *Gene scan analysis*, *Sequence analysis* y *Genotyper*. Igual que antes, los códigos de muestra se basan en el registro de placa de fragmentos (fig. 3).

En el caso concreto del instrumento ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer, su manual de usuario¹ recomienda varios métodos para crear registros de placa de fragmentos. Algunos de ellos son automáticos, pero están basados en programas o bases de datos obsoletos; el resto no lo son e implican el uso de hojas de cálculo y ficheros de texto libre o delimitados por tabuladores.

En particular, uno de los más recomendados es el método 3 descrito de la forma siguiente (fig. 4):

"1) ábrase el fichero de texto delimitado por tabuladores provisto mediante Microsoft® Excel™ como una nueva hoja de cálculo; 2) modifíquense los datos de placa de fragmentos y de muestras, y 3) ciérrese el fichero guardando los cambios realizados como un fichero de texto delimitado por tabuladores".

Los analizadores genéticos utilizan a menudo etiquetas de registros de muestras correspondientes a placas de 96 o 384 pocillos en otras hojas de cálculo de Microsoft® Excel™. Sin embargo, la estructura del registro de datos de estas hojas de cálculo es completamente distinta de la de los ficheros de texto requeridos por el *software* de captación de datos para crear el registro de placa de fragmentos. La modificación de los datos de placa y los de muestra comporta una gran cantidad de operaciones manuales repetitivas debido al enorme volumen de datos para buscar, copiar, pegar y revisar por cada una de las etiquetas de placa. Por tanto, el riesgo de error es bastante alto.

La propuesta de los autores consiste en un conjunto de macros adjuntas a un libro Microsoft® Ex-

Figura 3. Estructura de datos del fichero de placa que es leído por los programas de secuenciación de ADN y análisis de polimorfismos. Las columnas "Sample Name" y "Color Info" contienen información relativa a las etiquetas de cada muestra. El valor "99999" indica "faltas" en los pocillos.

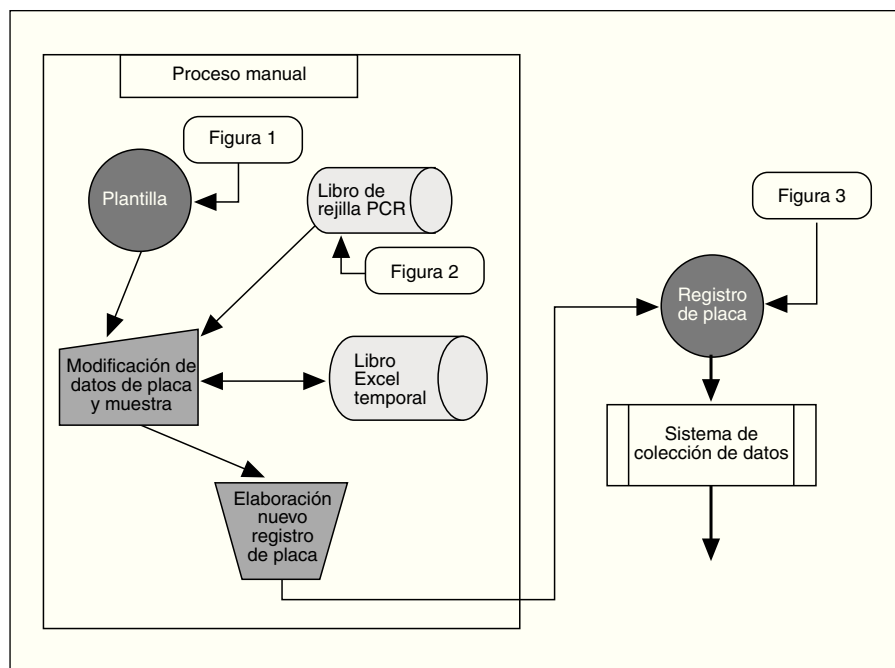


Figura 4. Proceso de conversión manual que produce los ficheros de datos (registro de placa) para la secuenciación y análisis de ADN.

cel™ que automatizan completamente el proceso descrito. Este conjunto, denominado PLATEX, realiza algunas operaciones importantes: en primer lugar, gestiona los ficheros de texto con las muestras de electroforesis, y en segundo lugar, gestiona las etiquetas y los datos de las muestras, median-

te hojas de cálculo temporales y específicas, para asignar cada código de muestra al pocillo y color *dye* correspondiente (hasta 5 colores distintos) y guardar los datos actualizados en un formato especial. Este formato lo puede importar directamente el *software* de captación de datos.

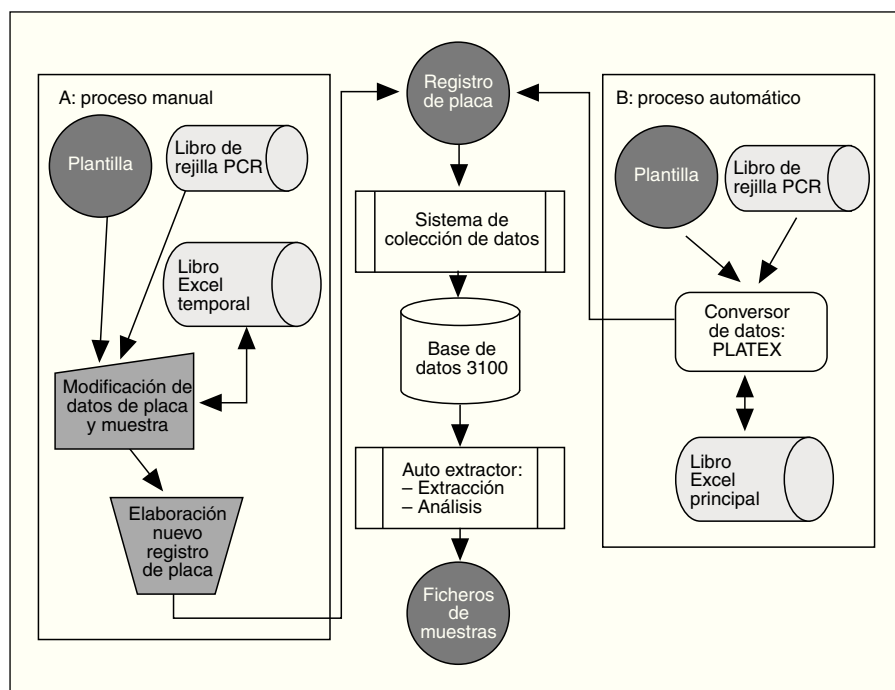


Figura 5. Proceso de conversión que obtiene los ficheros de datos para la secuenciación y análisis de ADN. A: proceso manual. B: proceso automático.

Métodos

En esta sección se describe el *software* estándar que se ha utilizado, el instrumental de laboratorio sobre el que se ha probado, y además se presenta la solución propuesta.

Software estándar utilizado

El gestor de hojas de cálculo Microsoft® Excel™, en sus versiones 97 y 2000, proporciona macroinstrucciones (abreviadas como macros) soportadas por Microsoft® Visual Basic™, que es un lenguaje de programación orientado a objetos y basado en componentes bastante potente^{2,3}. Esta tecnología ayuda a construir simples pero potentes soluciones para los investigadores que no sean profesionales de la informática. Sin embargo, a pesar de la simplicidad y extensión de las macros, a veces es necesario poseer conocimientos y experiencia en programación para la gestión de procedimientos y estructuras de datos complejos. Éste es el caso que se describe en este trabajo, ya que algunas estructuras de datos utilizadas en el proceso de conversión son demasiado complejas para manejarlas con las funciones estándar provistas por Excel™.

Instrumental de laboratorio empleado

El ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer es un sistema automático de electroforesis capilar que puede separar, descartar y analizar en una sola aplicación hasta 16 capilares de fragmentos de ADN etiquetados con fluorescencia¹. La operación de este instrumento está dirigida por una estación de trabajo que tiene instalado el sistema operativo Microsoft® Windows NT™. Una cámara convierte la información de fluorescencia en información digital que se procesa en el *software* 3100 Data Collection del ordenador. Posteriormente, los datos producidos mediante la electroforesis y procesados por el programa se guardan en la base de datos del instrumento y se muestran como electroforetogramas; a continuación, se extraen de la base de datos y se analizan, y una vez analizados se almacenan en forma de ficheros de texto en el disco duro de la estación de trabajo. Finalmente, estos ficheros deben procesarse para crear los registros de placa de fragmentos que son las entradas para el análisis en los programas Gene Scan Analysis y DNA Sequencing Analysis.

Tabla 1. Descripción de las macros que componen PLATEX

Categoría	Macro	Descripción
Metamacros	ExecConverter	Ejecuta las restantes macros
Macros para proceso de ficheros	OpenTemplateFile()	Abre el fichero de texto de plantillas y lo formatea como una nueva hoja de cálculo. El nombre del fichero de plantillas es un parámetro que se puede cambiar por el usuario en las celdas correspondientes del Área de Trabajo de la hoja de cálculo
	OpenPCRGrid()	Abre el libro Excel de rejillas de placa de PCR. El nombre del fichero de placas de PCR es un parámetro que se puede cambiar por el usuario en las celdas correspondientes del Área de Trabajo de la hoja de cálculo
	SaveWorkarea()	Guarda el contenido del Área de Trabajo de la hoja de cálculo para prevenir la pérdida de los datos cuando se procede a la creación de los ficheros de registro de placa
	TransPlateRecord()	Guarda los registros de placa actualizados como ficheros delimitados por tabuladores con la extensión ".plt" según requiere el software de colección de datos. El nombre del fichero de registros de placa es un parámetro que se puede cambiar por el usuario en las celdas correspondientes del Área de Trabajo de la hoja de cálculo
	SaveEmptyWorkArea()	Guarda el Área de Trabajo una vez limpia de datos
	CloseTemplateFile()	Cierra el fichero de texto de plantillas
	ClosePCRGrid()	Cierra el libro Excel de rejillas de placa
Macros para proceso de datos	CopyGrid()	Copia las etiquetas de rejillas de placa desde la hoja de cálculo de REJILLA de PCR hacia el Área de Trabajo de la hoja de cálculo. Las referencias del rango (celdas superior-izquierda e inferior-derecha) de la estructura de placa son parámetros que se pueden cambiar por el usuario en las celdas correspondientes del Área de Trabajo de la hoja de cálculo
	CopyTemplateFile()	Copia las columnas de muestras desde la hoja de cálculo de muestras hacia el Área de Trabajo de la hoja de cálculo
	ClearWorkArea()	Limpia el contenido anterior del área de trabajo
Macros para ejecución de procesos	MakePlateRecord()	Asigna cada etiqueta al conjunto de pocillos (<i>dye</i>) o marcadores correspondiente que está representado por las columnas denominadas "Sample Name" y "Color Info". Normalmente, cada molécula de ADN se etiqueta con una molécula marcadora, pero se pueden usar hasta cinco pocillos para etiquetar la muestra de ADN. Cada molécula marcadora se representa por un color diferente (negro, azul, verde, naranja y rojo). Cuando se utilizan todas las moléculas marcadoras cada etiqueta de muestra se referencia por rangos de cinco celdas contenidas en las columnas "Sample Name" y "Color Info". Cada una de las tareas para procesar la asignación de etiquetas se compone de las siguientes operaciones atómicas: (1) selección de la celda de etiqueta; (2) copia de la etiqueta; (3) selección de cinco celdas en la columna "Sample Name"; (4) pegado de las etiquetas; (5) selección de cinco celdas en la columna "Color Info"; y (6) pegado de las etiquetas

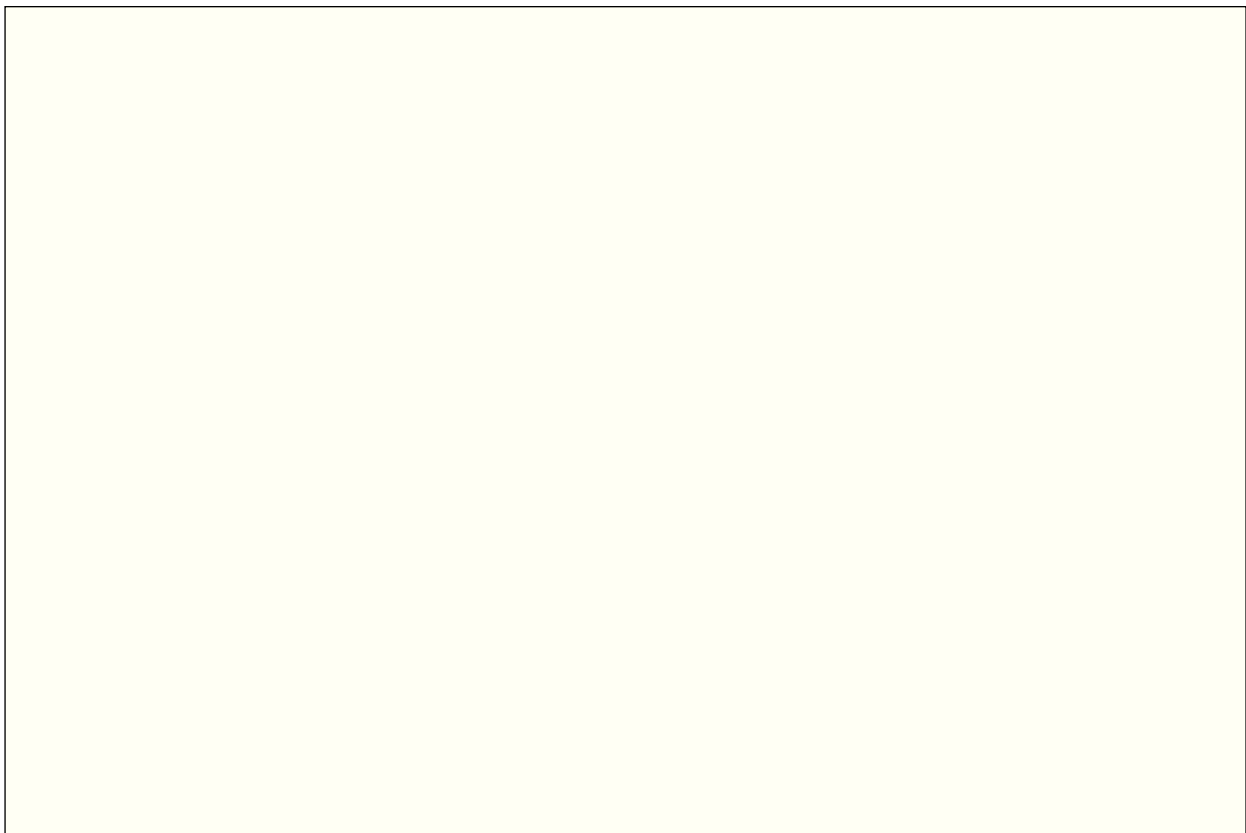


Figura 6. Interfaz de la hoja de cálculo que actúa de área de trabajo con un ejemplo de la tarea fundamental en que se asignan etiquetas de muestra a los conjuntos de muestras. Algunos parámetros se pueden modificar para permitir el trabajo con distintos ficheros y placas.

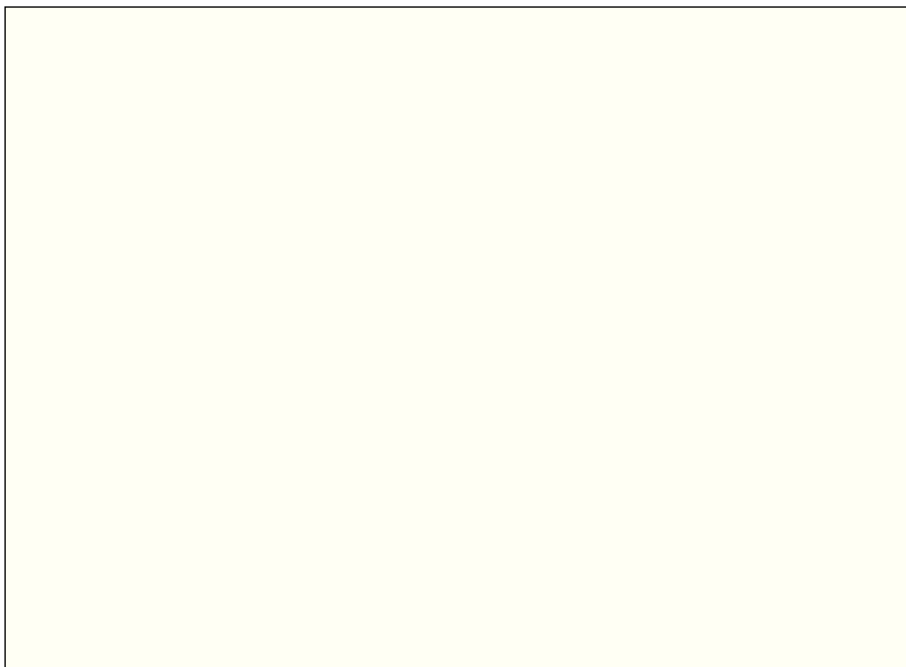


Figura 7. Fichero de rejillas de PCR donde se puede ver la distribución irregular de las rejillas.

Gestor de conversión de datos automático

El sistema que se presenta tiene un proceso fundamental encargado de la conversión de ficheros, que contienen datos que

identifican muestras en placas de 96 o 384 pocillos (que se denominan ficheros de rejilla de placa), en ficheros de texto delimitados por tabuladores, que pueden ser importados como registros de placa por el *software* de captación de datos (*data collection system*) (fig. 4). El proceso completo que se expone en la figura 4 puede ser cubierto por un conjunto de macros adjunto a un libro Excel™, que es el gestor del proceso de conversión de datos. Este libro está compuesto por varias hojas de cálculo; una de ellas sirve como área de trabajo y ejecuta las operaciones básicas sobre los ficheros (creación, apertura, clausura, etc.), y el contenido de las celdas (borrado, copia y pegado). Este proceso automático simplifica un poco la estructura de ficheros en comparación con el proceso manual, tal y como se muestra en la figura 5.

Este gestor tiene una interfaz simple para la ejecución individual de las macros (a fin de realizar alguna tarea atómica del proceso), o conjunta (para hacer todas las tareas como si fueran transacciones). La construcción de macros individuales para ejecutar tareas atómicas ayuda a la depuración del código VBasic™ de cada uno de los módulos y además permite crear una arquitectura de componentes donde cada uno se puede modificar o sustituir sin provocar efectos colaterales sobre el resto (fig. 6).

Descripción de las macros

Las macros se agrupan en las siguientes categorías, según la naturaleza de las operaciones que llevan a cabo: metamacros, macros de ficheros, macros de datos y macros de procesos. Las metamacros son aquellas que solamente ejecutan otras macros; las macros de ficheros llevan a cabo operaciones básicas sobre ficheros (creación, apertura, clausura, etc.); las macros de datos se encargan de las operaciones básicas con los datos (borrado, copia y pegado), y las macros de procesos ejecutan las tareas principales. En la tabla 1 se expone el nombre y la descripción de cada macro agrupada en su categoría correspondiente.

Los nombres de los ficheros de plantilla, rejilla PCR y registro de placa, así como las referencias izquierda superior y derecha inferior de la estructura de datos de la placa del fichero de rejilla PCR, son parámetros que el usuario puede

Tabla 2. Código fuente de la macro MakePlateRecord

```
Sub MakePlateRecord()

Macro almacenada en 19/09/2002 por Óscar Coltell

' Bucle externo por columnas: desde "B"(2) hasta "M"(13)
' Bucle interno por filas: desde "2" hasta "9"
  Dim plateLeft, plateRigth, plateTop, plateBottom As Integer
  Dim rwIndex, colIndex, rwOffset As Integer
  Dim rwIndcopy1, colIndcopy1, rwIndcopy2, colIndcopy2 As Integer
  plateLeft = 2 '[Const] Columna más a la izquierda en la Tabla de
                  Muestras: "B2" o columna n.º 2
  plateRigth = 13 '[Const] Columna más a la derecha en la Tabla de
                  Muestras: "M2" o columna n.º 13
  plateTop = 2 '[Const] Fila superior en la Tabla de Muestras: "B2:M2"
                  o fila n.º 2
  plateBottom = 9 '[Const] Fila inferior en la Tabla de Muestras: "B9:M9"
                  o fila n.º 9
  rwIndex = 0 '[Const] índice de fila en la Tabla de Muestras: desde 2 a 9
  colIndex = 0 '[Const] índice de columna en la Tabla de Muestras: desde 2(B)
                  a 13(M)
  rwOffset = 5 '[Const] Desplazamiento en la Tabla PCR para cada conjunto
                  de muestras
  rwIndcopy1 = 4 '[Const] índice de fila en la Tabla PCR, columna
                  "Sample name" ("O")
  colIndcopy1 = 15 '[Const] Índice de columna en la Tabla PCR, columna
                  "Sample name" ("O")
  rwIndcopy2 = 4 '[Const] índice de fila en la Tabla PCR, columna
                  "Color Info" ("S")
  colIndcopy2 = 19 '[Const] Índice de columna en la Tabla PCR, columna
                  "Color Info" ("S")

  For colIndex = plateLeft To plateRigth
    For rwIndex = plateTop To plateBottom
      Cells(rwIndex, colIndex).Select
      Selection.Copy
      Range(Cells(rwIndcopy2, colIndcopy2), _
            Cells(rwIndcopy2 + 4, colIndcopy2)).Select
      Selection.PasteSpecial Paste:=xlValues, Operation:=xlNone, _
        SkipBlanks:= False, Transpose:=False
      Cells(rwIndcopy1, colIndcopy1).Select
      Selection.PasteSpecial Paste:=xlValues, Operation:=xlNone, _
        SkipBlanks:= False, Transpose:=False
      Range(Cells(rwIndcopy1 + 1, colIndcopy1), _
            Cells(rwIndcopy1 + 4, colIndcopy1)).Select
      Application.CutCopyMode = False
      Selection.ClearContents
    ' Si la celda de muestra está EMPTY, pone valores "99999" en las celdas PCR
    If Cells(rwIndex, colIndex).Value = "" Then
      Range(Cells(rwIndcopy2, colIndcopy2), _
            Cells(rwIndcopy2 + 4, colIndcopy2)).Value = "99999"
      Range(Cells(rwIndcopy1, colIndcopy1), _
            Cells(rwIndcopy1 + 4, colIndcopy1)).Value = "99999"
    End If
    rwIndcopy1 = rwIndcopy1 + rwOffset
    rwIndcopy2 = rwIndcopy2 + rwOffset
  Next rwIndex
Next colIndex
End Sub
```

modificar para manejar otros conjuntos de datos; para ello, se muestran en las celdas correspondientes al área de trabajo (fig. 6). El hecho de poder fijar las referencias de celda de la rejilla de PCR previene los errores debidos a la distribución irregular de las estructuras de datos de placa, ya que es el propio usuario quien detecta la zona de trabajo correcta (fig. 7).

En la tabla 2 se expone el código fuente de la macro más importante del conjunto, denominada "MakePlateRecord", que asigna cada etiqueta al correspondiente conjunto de pocillos (*dye*).

Resultados

La actividad principal del proceso se compone de 6 operaciones atómicas por cada etiqueta de fragmento de ADN. Entonces, para procesar una placa de 96 pocillos se necesita un total de 576 operaciones, o 2.304 para una placa de 384 pocillos. El tiempo medio empleado en cada operación manual es de 15 s, lo que hace que el tiempo medio en procesar manualmente todas las celdas en los ficheros de rejillas de PCR sea de 2,4 h (17.280 s) para las placas de 96, y de 9,6 h (69.120 s) para las placas de 384. Si se suma el tiempo necesario para abrir los ficheros, copiar y pegar el contenido de las celdas y guardar los datos actualizados en nuevos ficheros de texto, el tiempo total medio varía entre 2,5 y 10 h para cada uno de los tipos de placas mencionados.

Por otra parte, el tiempo medio medido para ejecutar automáticamente el proceso mostrado en la figura 5, mediante la solución del conjunto de macros, es de 30 s para las placas de 96 y de 120 s para las placas de 384, lo que muestra que dicho proceso es alrededor de 288 veces más rápido.

Conclusiones

En este trabajo se presenta PLATEX, un pequeño sistema de *software* para la gestión y la conversión de datos entre diferentes estructuras de datos para su utilización con ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer. Este sistema es un conjunto de macros de Microsoft® Excel™ diseñadas en forma de arquitectura de componentes, cuya interfaz de usuario es una de las hojas de cálculo que componen el libro Excel™ de trabajo.

PLATEX está distribuido en forma de libro de trabajo para agrupar interfaces, hojas de trabajo y hojas de parámetros en un fichero de objetos (hojas, celdas, etc.) y componentes. Cada componente es una macro que ejecuta una tarea simple, lo que facilita la modificación o sustitución de cada componente debido al cambio de las condiciones externas o la adición

de nuevas macros. Además, ya que las macros están escritas en VBasic™ (desde la versión 97), son a la vez bastante simples y potentes⁴. Microsoft® VBasic™ es un lenguaje de programación orientado a objetos y que presenta un entorno orientado a componentes, y cada macro tiene las líneas de instrucciones suficientemente comentadas, de forma que es fácil modificar o crear nuevas para los investigadores que no sean profesionales informáticos. El entorno proporciona un editor de macros y éstas se pueden exportar e importar como ficheros de texto³.

El sistema propuesto en este trabajo puede ayudar a los investigadores en genómica funcional, o a cualquiera que trabaje con instrumental de análisis de ADN, en la gestión de la gran cantidad de datos producidos en los procesos de fragmentación de ADN. De hecho, desde el punto de vista del rendimiento temporal, este sistema es unas 300 veces más rápido que si se tuviera que hacer manualmente, y completa el proceso en sólo 30 s para placas de 96 pocillos.

A pesar de que la solución descrita se ha basado en un instrumento de laboratorio concreto, su aplicación puede generalizarse a otros similares, con la modificación adecuada de los parámetros del libro de trabajo.

Agradecimientos

Las primeras fases del trabajo de investigación, diseño y desarrollo de PLATEX se realizaron cuando Óscar Coltell, Dolores Corella y Marisa Guillén realizaban una estancia como profesores invitados en el Nutrition and Genomics Laboratory, del Human Nutrition Research Center on Aging at Tufts University, Boston (Estados Unidos), durante los veranos de 2001 y 2002 (excepto M. Guillén en este último). Posteriormente, desde 2003, este proyecto ha sido financiado por la red temática "G03/160. INBIOMED. Plataforma de almacenamiento, integración y análisis de datos clínicos, genéticos, epidemiológicos e imágenes orientada a la investigación sobre patologías", del Instituto de Salud Carlos III.

Bibliografía

1. Applied Biosystems. ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer. User's Manual 2001 [consultado 10/31/2002]. Disponible en: <http://docs.appliedbiosystems.com/genindex.taf>
2. Cox DG, Canzian F. Genotype transposer: automated genotype manipulation for linkage disequilibrium analysis. *Bioinformatics* 2001; 17:738-9.
3. Walkenbach J. Microsoft® Excel 2000 Power Programming with VBA. Indianapolis: Hungry Minds, 1999.
4. Balena F. Programming Microsoft Visual Basic 6.0 (Mps). Redmond: Microsoft Press, 1999.