

PROYECTO UNAM

Coordinador: Roberto Arturo Gutiérrez Alcalá robargu@hotmail.com

Seminario sobre la república laica

El Instituto de Investigaciones Jurídicas de la UNAM invita al seminario "La república laica y la libertad de convicciones éticas, de conciencia y de religión", que se realizará el próximo 19 de marzo, a partir de las 10:00 horas, en el Auditorio de la Coordinación de Humanidades, en CU. Informes en el teléfono 56-22-74-74, extensiones 1735 y 1768



INVESTIGACIÓN GENÓMICA DE PUNTA

Durante la pandemia de influenza de 2009, la UUSMD contribuyó a identificar la secuencia del virus que causa esta enfermedad y, así, a establecer las bases para su control en México

MILLONES DE SECUENCIAS DE ADN

El Genome Analyzer GAIIX funciona como un gran microscopio: cuenta con un objetivo a través del cual toma imágenes de las muestras de ADN que se están secuenciando en el *flowcell*.

Ahora bien, aunque este objetivo posee una gran resolución, no puede "ver" moléculas independientes; debido a esto se necesita amplificar *in situ* cada una de los millones de moléculas que a lo largo de cada carril se quedaron unidas a un oligonucleótido.

Así se puede generar lo que los especialistas conocen como *clusters*, arreglos de aproximadamente mil moléculas, cada una de las cuales se origina a partir de una sola cadena sencilla de ADN.

En un solo ciclo y una sola línea, el equipo toma 480 imágenes de alta resolución o 3 mil 840 en un solo ciclo y en todos los carriles (la corrida más sencilla que realiza consta de 36 ciclos).

Al finalizar la corrida se obtiene un archivo con millones de secuencias de ADN que corresponden a los *clusters* que se formaron y secuenciaron en el *flowcell*.

"Posteriormente, con la ayuda de algoritmos y programas computacionales, se utilizan las secuencias generadas para ensamblar el genoma. Es algo así como armar un rompecabezas a partir de millones de pequeñas piezas", indica Grande Cano.

Gran capacidad

Con el sistema Genome Analyzer GAIIX se puede secuenciar un genoma bacteriano en una sola línea de las ocho que contiene el *flowcell*, en una corrida que dura de tres a cinco días.

Por lo que se refiere a un genoma humano, se tiene que secuenciar en varias placas completas, porque está constituido por aproximadamente 3 mil millones de nucleótidos de largo.

Con este equipo es posible obtener hasta 60 mil millones de

nucleótidos en una sola corrida que dura entre nueve y 10 días, que es lo que equivale a secuenciar un genoma humano haploide poco más de 17 veces.

Sin embargo, para que el resultado sea confiable, es necesario que los 3 mil 500 millones de nucleótidos estén repetidos cuando menos unas 30 veces.

"Es por eso que tres o cuatro corridas para generar los datos suficientes –y así realizar el análisis computacional– pueden tardar un par de meses, lo cual no es mucho tiempo si consideramos que la secuenciación completa del primer genoma humano se llevó más de 10 años", dice Grande Cano.

Colaboración conjunta

La creación de la UUSMD fue posible gracias a la colaboración conjunta de los institutos de Biotecnología, de Neurobiología y de Investigaciones Biomédicas, de las facultades de Química y Medicina, y del Centro de Ciencias Genómicas, y al apoyo de la Coordinación de la Investigación Científica, todos de la UNAM.

Roberto Gutiérrez Alcalá

En 2009, la UNAM se colocó una vez más a la vanguardia de la investigación científica en México y el resto de América Latina, al poner en funcionamiento la Unidad Universitaria de Secuenciación Masiva de DNA (UUSMD) en el Instituto de Biotecnología, *campus* Morelos.

La secuenciación masiva del ácido desoxirribonucleico (ADN, por sus siglas en español; DNA, por sus siglas en inglés) está integrada por un conjunto de métodos y técnicas bioquímicas cuya finalidad es determinar –en cuestión de días, o aun en horas, en los equipos más modernos– el orden de los nucleótidos (unidades estructurales del ADN: A: adenina, C: citosina, G: guanina y T: timina) en un segmento de ADN.

La secuencia del ADN constituye la información genética heredable del núcleo celular, de los plásmidos, de las mitocondrias y de los cloroplastos (en plantas), elementos que forman la base de los programas de desarrollo de los seres vivos. Así pues, determinar la resulta muy útil en la investigación básica de los procesos biológicos fundamentales, incluyendo las enfermedades.

El primero en México

La UUSMD dispone de dos equipos de secuenciación masiva de última generación: el sistema Genome Analyzer GAIIX, de la compañía Illumina, que produce en cada corrida millones de secuencias cortas de ADN de alta calidad y bajo costo; y el sistema Ion Torrent, de la compañía Life Technologies, que secuencia el ADN, monitoreando cambios en el pH de la solución (contenida en micropozos) donde radican las moléculas del ADN.

"El Genome Analyzer GAIIX de la UUSMD fue el primero que se instaló en México y el resto de América Latina. Hasta la fecha sigue siendo el único en su tipo que funciona en el país. Permite secuenciar el genoma completo de un organismo en cuestión de días", afirma el doctor Ricardo Grande Cano, jefe operativo de esta Unidad Universitaria.

Muchas enfermedades que padecen los seres humanos y algunos animales o genotipos en plantas o bacterias son ocasionadas por mutaciones a nivel de nucleótidos en el ADN.

Gracias a la secuenciación masiva de ADN se puede descubrir qué mutaciones pudieran estar afectando a ciertas personas y causarles un padecimiento a corto, mediano o largo plazo.

"Por ejemplo, algunos genes en humanos presentan cambios a nivel de nucleótidos en el ADN, y se ha visto en ciertos casos que estos cambios pudieran estar relacionados con algunas enfermedades. Al secuenciar el ADN de personas con antecedentes familiares de cáncer, por nombrar una, será posible hacer en un futuro no muy lejano una evaluación temprana y tomar las medidas necesarias para prevenir la posible aparición de esa enfermedad o dar un tratamiento específico antes de que aparezca", asegura Grande Cano.

SISTEMA. El Genome Analyzer GAIIX produce en cada corrida millones de secuencias cortas de ADN de alta calidad y bajo costo



En el caso de la pandemia de influenza que azotó al país en 2009, la UUSMD participó activamente para identificar la secuencia del virus que causa esta enfermedad.

"El Genome Analyzer GAIIX ya había llegado, pero todavía no había sido instalado. Cuando se desató la crisis de la influenza, solicitamos a los técnicos de la compañía Illumina que lo instalaran lo más pronto posible... Las primeras muestras que secuenciamos con él fueron de influenza: prácticamente dos semanas después ya se tenía el genoma completo de las cepas de los virus que se habían aislado de las muestras que recibimos, y esto contribuyó en buena medida, creo yo, al manejo adecuado y oportuno que se le dio a este problema de salud pública."

Cadena sencilla

Por medios físicos o enzimáticos hay que cortar la muestra en millones de fragmentos de tamaño discreto. Una vez fragmentado el ADN, la muestra es tratada con una batería de enzimas que, al final de una serie de reacciones, permitirá ligar las moléculas adaptadoras de doble cadena y de secuencia conocida a ambos extremos de aquella.

De esta muestra se extrae otra de entre 200 y 600 pares de bases, y se amplifica para que tenga representado, de manera uniforme, todo el genoma del organismo en cuestión.

El resultado final de este proceso es una biblioteca de ADN lista para ser secuenciada.

Un requisito indispensable para secuenciar, por medio del Genome

Analyzer GAIIX, una biblioteca de ADN es que ésta se encuentre como cadena sencilla.

Como se sabe, el ADN es una doble hélice que consta de dos cadenas de nucleótidos apareadas y unidas por puentes de hidrógeno. Tres de estos puentes están formados por el par de bases guanina-citocina y solamente dos por el par de bases adenina-timina, y viceversa.

Por esta razón, antes de secuenciar la muestra, se debe desnaturar el ADN, utilizando hidróxido de sodio (comúnmente conocido como sosa cáustica) a una concentración y tiempo específico.

"El hidróxido de sodio rompe los puentes de hidrógeno y separa las cadenas del ADN. Cuando éstas se encuentran separadas, hacemos pasar la biblioteca a través de un dispositivo llamado *flowcell*, que es una especie de portaojetos donde se lleva a cabo la secuenciación del ADN", dice Grande Cano.

El mencionado dispositivo tiene ocho canales o carriles, lo que hace posible secuenciar en una sola corrida ocho muestras de diferentes organismos, como bacterias, virus, plantas, animales o humanos.

Dentro de los canales del dispositivo hay millones de oligonucleótidos

(pequeñas moléculas de ADN que se sintetizan *in vitro*) de cadena sencilla anclados de manera covalente a la superficie del vidrio, que son complementarios a los adaptadores ligados anteriormente a cada fragmento de ADN.



Al secuenciar el ADN de personas con antecedentes familiares de cáncer, será posible hacer en un futuro no muy lejano una evaluación temprana y tomar las medidas necesarias para prevenir la posible aparición de esa enfermedad o dar un tratamiento específico antes de que aparezca"

Ricardo Grande Cano, jefe operativo de la UUSMD de la UNAM

perficie de aquél, y así es como se puede secuenciar en paralelo un gran número de moléculas de ADN.

Servicio a investigadores

Todos los investigadores de la UNAM y de otras universidades o institutos de investigación en México, así como los que laboran en unidades del sector salud o de la iniciativa privada, tienen acceso a la UUSMD.



SERVICIO. Todos los investigadores de México tienen acceso a la UUSMD

"Somos una unidad de servicio. Los investigadores nos envían sus muestras, nosotros preparamos las bibliotecas, las secuenciamos y les regresamos los archivos para que ellos mismos hagan el análisis de los resultados. Las cuotas que cobramos se destinan a la adquisición de nuevos reactivos que nos permiten seguir ofreciendo el servicio y al mantenimiento de los equipos de secuenciación", comenta Grande Cano.

La encargada de llevar a cabo, a partir de una infraestructura computacional muy completa, el análisis bioinformático de los datos es la maestra en ciencias Verónica Jiménez y el investigador responsable de la UUSMD es el doctor Enrique Morrett Sánchez. Consulte la siguiente página electrónica: www.uusmd.unam.mx