

TRAS LA HUELLA GENOMICA DE *HOMO SAPIENS* Y OTROS ORGANISMOS EUCARIOTICOS PARA SU IDENTIFICACIÓN MEDIANTE UN MICROARREGLO UNIVERSAL

Larios Violeta.¹, Méndez Alfonso¹, Maldonado Rogelio¹, Laboratorio de Biotecnología y Bioinformática Genómica, ENCB-IPN¹, e-mail: siedracko@hotmail.com

Palabras clave: identificación, eucarióticos, microarreglo.

Introducción. Recientemente se ha desarrollado tecnología novedosa basada en el diseño de sondas que integran un microarreglo, denominado el "Sensor Universal de Huella Genómica" (UFC), encaminado a la identificación "Universal" de los genomas, mediante la huellas genómicas, que consisten en patrones de hibridación entre las sondas y un blanco de DNA (genoma)¹. Utilizando la tecnología del UFC, hasta el momento se han estudiado genomas completos de viroides, virus y bacterias, pero se propone ahora trabajar con genomas eucarióticos, lo que constituye todo un reto debido a su complejidad, tamaño y de procesamiento bioinformático, que requiere del desarrollo de nuevas estrategias y de recursos para su estudio.

La identificación de organismos eucarióticos es de gran importancia en biotecnología, salud, industria, criminalística, comercio, etc. Sin embargo, no existe ningún procedimiento para identificar a estos organismos en un solo ensayo con alta sensibilidad en la discriminación. Se diseñó y se validó *in silico* un chip de DNA para identificar la huella genómica de cualquier organismo eucariótico.

Metodología. Se construyó un banco de datos de organismos eucarióticos, lo cuales se obtuvieron de GenBank. Se determinó la longitud de las sondas. Se diseñó un conjunto de sondas, y la selección fue en base: (i) parámetros composicionales (desarrollo de los programas addword.pl y compotition.pl.), (ii) selección para maximizar la variabilidad de las sondas y (iii) una estrategia de TRIM que utiliza límites de Tm y energía libre de Gibbs (programa TmDritrid.exe).

Resultados y discusión. Se construyó de forma semi-automatizada un banco de datos con los genomas completos de 30 organismos eucarióticos totalmente secuenciados (*Saccharomyces cerevisiae*, *Mus musculus*, *Arabidopsis thaliana* entre otros). Se calculó un tamaño de sonda de 17 mer. Se construyó un conjunto de sondas utilizando, el programa UFC Designer 3.0, este conjunto se denominó núcleo (13-mer) y se sometió a una extensión de longitud por la adición de 4 bases en distintos sitios, seguido de la selección de las sondas que tengan un mínimo diferencias espaciadas para maximizar su variabilidad mediante un proceso de selección: composición de GC, entropía secuencial y de repetidos internos. Con el conjunto de sondas finales y

las secuencias de genomas eucarióticos se sometieron a hibridación virtual para obtener la huella genómica de cada organismo. Las huellas genómicas se compararon entre sí para obtener distancias y construir un árbol taxonómico. Se desarrollaron en PERL distintos programas que han permitido el avance del proyecto.

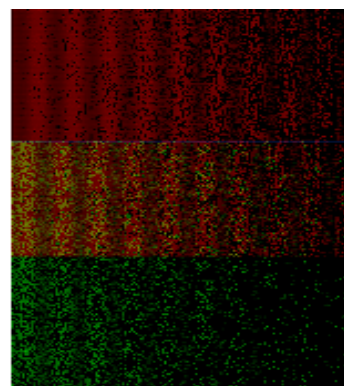


Fig. 1. Huellas genómicas de *Homo sapiens* (arriba rojo) y de *Caenorhabditis elegans* (abajo en verde) y su sobreposición (centro).

Conclusiones. La solución requirió de mejoras bioinformáticas para obtener un nuevo UFC con sondas de un mayor tamaño y de llevar a cabo el proceso de hibridación virtual en tiempo razonable. Un nuevo UFC-17, que contiene 17,821 sondas 17-mer. Se obtuvieron las huellas genómicas, de 30 organismos eucarióticos secuenciados, entre ellos a los organismos unicelulares, plantas y animales. La validación se realizó mediante la comparación de la distribución de los organismos en un árbol taxonómico construido con las distancias entre las huellas genómicas respecto a la taxonomía conocida actualmente. Se observó sensibilidad en la discriminación y coinciden de forma razonable ambas taxonomías, lo que sugieren que el UFC puede ser aplicado con éxito para estudios experimentales.

Bibliografía.

1. Méndez A, Flores P; Guerra A, Jaimes H, Reyes E, Maldonado R, Beattie K. (2006). *In silico* evaluation of a novel DNA chip based fingerprinting technology for viral. *Rev Latinoam Microbiol.* 48(2): 10-18.
2. Ewens W, Grant G. (2001). *Statistical Methods in Bioinformatics*. Springer – Verlag. New York, USA.