

CONTENIDO DEL INFORME TÉCNICO

PROGRAMA DE FORMACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA

1. Antecedentes Generales de la Propuesta

Nombre: Asistencia a la reunión Integrating Technologies in Proteomics and Genomics.

Código: BID-FP-L-2003-2-Biot-033

Nombre Postulante Individual: Romilio Espejo T.

Lugar de Formación (País, Región, Ciudad, Localidad): Chile, Región Metropolitana, Santiago, INTA, U.Chile

Fecha de realización: 28 de Febrero al 2 de Marzo de 2004

Objetivos de su participación en la actividad: Perfeccionamiento en técnicas genómicas

2. Antecedentes Generales: Esta reunión está organizada por The Association of Biomolecular Resource Facilities que reúne principalmente a responsables, investigadores y profesionales que trabajan en facilidades centrales de grandes Universidades o Institutos. Estas facilidades llamadas General Facilities o Central Cores reúnen los servicios de alto costo, difíciles de financiar por los laboratorios individuales por lo caro, tanto de su implementación como funcionamiento. En esta forma se logra un mejor servicio a un menor costo. En general estas General Facilities entregan servicios de secuenciación de DNA, PCR en tiempo real, análisis de proteínas por diversas formas de electroforesis asociadas a espectrometría de masa, resonancia magnética nuclear, etc. La mayoría de las reuniones eran principalmente metodológicas excepto por las plenarias donde los invitados fueron investigadores que habían alcanzado importantes logros utilizando las facilidades de los Centros. Describiré brevemente estas conferencias mencionando lo más novedoso para mí y lo que me parece relevante para el FIA:

The Human Genome and Beyond. R. Waterston, University of Washington.

Estando la secuencia del genoma humano prácticamente terminada (más del 90%), y también de muchos organismos menores el desafío ahora es entender el contenido de estos genomas. El desafío inmediato es definir las partes funcionales. Para esto plantea que la genómica comparativa es muy útil. Se considera que las secuencia funcionales son más conservadas que la no funcionales, con las últimas acumulando cambios por deriva no seleccionada. Al tener más genomas que comparar de organismos relacionados (primates por ejemplo) sería posible identificar más de estas regiones funcionales o reguladoras por su conservación. Usando esta genómica comparativa, En levaduras donde existen varios organismos cercanamente relacionados se ha logrado identificar motivos conservados de alrededor de 10 bases que se unen a factores de transcripción. La idea más atractiva es que el estudio de ancestros en primates podría permitir identificar los cambios que condujeron al hombre. Como dato, Chimpancé y hombre comparten un 98.8% de la secuencia genómica. La diferencia entre chimpancé y hombre es solo diez veces superior a la existente entre individuos humanos (0.1%)

What we have learn from comparative genomes. D. Cox. Perlegen Science, Inc. California
Perlegen Science es una empresa privada que durante el último año ha invertido cerca de

100 millones de dólares en la comparación de los genomas entre humanos, con el objeto de obtener marcadores que permitan predecir la respuesta individual frente a fármacos o enfermedades genéticas. La diferencia en los genomas de distintos individuos es del orden de 0.1%, la mayoría como diferencias en un solo nucleótido (1 cada mil bases), conocidas como SNP (single nucleotide polymorfismo). Habrían entonces cerca de $(1 \times 3.000.000.000 / 1000)$ tres millones SNP entre humanos. La estrategia es identificar algunos SNP más significativos. Habría entre los SNP algunos generados más tempranamente y otros más recientes, de tal forma que podría descubrirse un linaje por los SNP. Con una estrategia muy bien diseñada esta empresa pretende diseñar microarrays para la identificación de aquellos más relevantes y que permitan explotar económicamente los microarrays desarrollados. Al final de la conferencia uno terminaba convencido que la inversión ya indicada estaba justificada.

Single Molecule Approach to Genome Analysis. D. Schwartz. College of Letters and Science. Wisconsin

Se describió una metodología, muy novedosa para mí, pero desarrollada desde 1999, que permite observar, en el microscopio óptico, directamente moléculas largas de DNA (200 a 3000 KB) y los sitios de corte por enzimas de restricción. De esta forma es posible construir mapas directamente. Se basa en obtener moléculas de DNA extendida sobre vidrio (tratado en forma especial), cortar el DNA con una enzima de restricción, teñir el DNA que al cortarse contrae levemente los extremos, con el fluoróforo YOYO-1 y obtener las imágenes con un microscopio de fluorescencia a 63X. Estas imágenes son procesadas con programas especialmente diseñadas para construir el mapa. Los contigs mapeados pueden ser luego puestos en línea ubicando extremos que se superpongan al igual que en la secuenciación de genomas. El método ha permitido construir los mapas físicos de varios genomas de unicelulares.

Creo que las tres exposiciones señaladas fueron lo más atractivo de la Reunión. Hubo probablemente mucho más pero era más técnico y especializado. En general hubo proporcionalmente mucho más trabajo presentado sobre análisis de proteínas y efecto de small iRNA, pequeños RNA (alrededor de 20 bases) con secuencias complementarias a mRNA que permiten asociarse o alinearse e inhibir específicamente su traducción

3. Itinerario Realizado: entregar una relación de actividades de acuerdo al siguiente cuadro:

Fecha	Actividad	Objetivo	Lugar
28/2 - 3/3	asistencia reuniones	Lograr mayor conocimiento en técnicas de genómica y PCR cuantitativo	Portland

Señalar las razones por las cuales algunas de las actividades programadas no se realizaron o se modificaron.

4. Resultados Obtenidos: descripción detallada de los conocimientos adquiridos. Explicar el grado de cumplimiento de los objetivos propuestos, de acuerdo a los resultados obtenidos. Incorporar en este punto fotografías relevantes que contribuyan a describir las actividades realizadas.

En mi caso el interés de la reunión se centraba en PCR cuantitativo, principalmente por tiempo real. Aunque este no fue el tema más discutido hubo interesantes presentaciones que satisficieron las expectativas de actualización de conocimiento. Resumiendo:

1. No han habido avances mayores o cambios importantes en esta metodología durante los dos últimos años.
2. Se han aclarado y formalizado las condiciones que deben satisfacerse para tener un resultado cuantitativo confiable.
3. Satisfacer las condiciones señaladas en 2) hace que el Desarrollo de nuevas técnicas para ensayos específicos de PCR cuantitativo requiera de mayor elaboración, más controles y por lo tanto de mayores recursos. Cada ensayo desarrollado o implementado debe determinar los parámetros establecidos para definir las limitaciones del ensayo, principalmente en precisión.

5. Aplicabilidad: explicar la situación actual de los temas en Chile (región), compararla con la tendencias y perspectivas en el país (región) y feria visitados y explicar la posible incorporación de los conocimientos adquiridos, en el corto, mediano o largo plazo, los procesos de adaptación necesarios, las zonas potenciales y los apoyos tanto técnicos como financieros necesarios para hacer posible su incorporación en nuestro país (región).

Los conocimientos logrados en la mejor aplicación de la técnica de PCR cuantitativo serán aplicados en la implementación y mejoramiento del análisis de tarsngénicos u OGM en granos y alimentos.

Se obtuvo u programa demostrativo para el análisis de patrones genéticos y otro a prueba por tres meses.

6. Contactos Establecidos: entregar una relación de contactos establecidos de acuerdo al siguiente cuadro:

Institución/Empresa	Persona de Contacto	Cargo/Actividad	Fono/Fax	Dirección	E-mail
laboratory of Molecular and Computational Genomics	David Schwartz	investigador Senior		Madison Wisconsin 53706	dcshwartz@facstaff.wis.edu
Yale U.,	K. Hager	miembro facultad		New haven, CT, USA	khager@yale.edu
AIIMS	R.D.Rao	Investigador senior		New Delhi India	rdr Rao@aiims.in

7. Detección de nuevas oportunidades y aspectos que quedan por abordar: señalar aquellas iniciativas detectadas en la actividad de formación, que significan un aporte para el rubro en el marco de los objetivos de la propuesta, como por ejemplo la posibilidad de realizar nuevos cursos, participar en otras ferias y establecer posibles contactos o convenios. Indicar además, en función de los resultados obtenidos, los aspectos y vacíos tecnológicos que, a la luz de los

conocimientos adquiridos en esta actividad, aún quedan por abordar para la modernización del tema en el país.

De acuerdo a lo observado en la reunión, el análisis cuantitativo de transgénicos realizado actualmente en nuestro laboratorio requiere la introducción de nuevos procedimientos más exactos, la inclusión de más controles y estándares y procedimientos más estrictos que consideren la calidad de cada ensayo efectuado. Sin embargo, en las actuales condiciones el financiamiento solo proviene de los ingresos por los servicios de análisis y mientras estos se mantengan al nivel actual no alcanzan para realizar las inversiones requeridas para esta modernización.

8. Resultados adicionales: capacidades adquiridas por el participante individual y/o el grupo, como por ejemplo, formación de una organización, incorporación (compra) de alguna maquinaria, desarrollo de un proyecto, firma de un convenio, etc.

9. Material Recopilado: junto con el informe técnico se debe entregar un set de todo el material recopilado durante la actividad de formación (escrito y audiovisual) ordenado de acuerdo al cuadro que se presenta a continuación (deben señalarse aquí las fotografías incorporadas en el punto 4):

Tipo de Material	Nº Correlativo (si es necesario)	Caracterización (título)
Software	1	programa computacional a prueba por tres meses para el análisis de resultados de mapeo genómico.

10. Aspectos Administrativos

10.1. Organización previa a la actividad de formación

a. Apoyo de la Entidad a cargo de la organización del viaje

bueno regular malo

(Justificar)

b. Información recibida durante la actividad de formación

amplia y detallada aceptable deficiente

c. Trámites de viaje (visa, pasajes, otros)

bueno regular malo

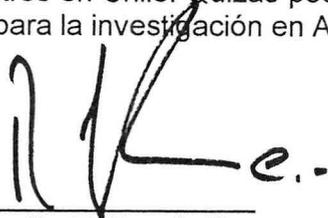
d. Recomendaciones (señalar aquellas recomendaciones que puedan aportar a mejorar los aspectos administrativos antes indicados)

11. Conclusiones Finales: entregar las conclusiones finales del participante de la actividad de formación, incluyendo el nivel de satisfacción de los objetivos personales.

Creo que la asistencia a la reunión mejoró mi percepción de las actividades analíticas actualmente realizadas. Fue muy útil y motivante para desarrollar un programa de perfeccionamiento del análisis de transgénicos que actualmente realizamos. También planteó la necesidad de realizar la modernización indicada más arriba. Eso sí, creo que esta reunión es más apropiada a aquellos profesionales manejando facilidades generales o Central Cores de las cuales solo hay dos o tres en Chile. Quizás podría considerarse la posibilidad de tener un Central Core en Chile para la investigación en Agro biotecnología.

Fecha: 14 de Abril de 2004

Nombre y Firma beneficiario de la beca:


Romilio H. Espejo Torres.