

Centrífuga de vacío funcionando en el Laboratorio de Sistemática Molecular./ Iván Acevedo







Xiomara Cantera

natural mente | |

Determinar si hay comunicación entre dos poblaciones de minúsculos caracoles, por qué se extinguen las especies endémicas de los ríos ibéricos, descubrir si hay linces en determinada área, el sexo de los pollos de unas rapaces en peligro, el estado genético de poblaciones de langostas que se comercializan, la procedencia de especies invasoras, los procesos de especiación de peces en lagos, la existencia de endemismos de aves en ciertas islas, son algunos de los estudios que han sido posibles gracias al apoyo en investigación del Laboratorio de Sistemática Molecular que el MNCN ofrece a grupos de todo el mundo.

y





Hace ya bastante que se habla del ADN con tanta naturalidad como se habla del tiempo. Citamos tanto esta molécula, cuyo estudio presenta miles de aplicaciones posibles, que da la impresión de que trabajar con ADN es tan sencillo como comerse una manzana. En cualquier serie relacionada con la criminología vemos cómo se hacen análisis de ADN con la misma velocidad que el protagonista se cambia de chaqueta.

El ADN de cada especie está formado por miles de genes y cada uno de ellos aporta una información concreta sobre el organismo en cuestión. Un gen puede indicar el color moreno del pelo, el tamaño de los dedos o las instrucciones necesarias para crear las proteínas que ordenan las funciones de los seres vivos, es decir, la información que nos permite seguir vivos. Cuando se secuencia la información de un gen, lo que se obtiene es un listado de cientos o de cientos de miles de letras que corresponden con las bases nitrogenadas de las que está formado (adenina A, timina T,

citosina→C o guanina→G). Así la información de cada gen es una larguísima combinación de estas cuatro letras que lo diferencia de todos los demás.

"El laboratorio está preparado para conservar las muestras de estudio, extraer ácidos nucleicos (ADN y ARN) y proteínas, amplificar por PCR y clonación, analizar geles o preparar las muestras para su secuenciación"

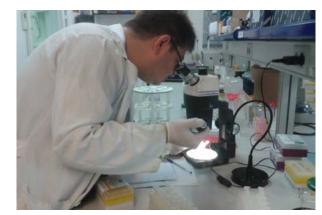
Elegir un libro entre miles

Igual que ocurre con el ADN, también se habla sin parar de la secuenciación del genoma (la información de todos los genes que posee un organismo). Han secuenciado el geno-

ma del olivo, del ser humano, de la lechuga, la mosca de la fruta, el ratón, etc. En los últimos tiempos hemos oído hablar tanto de ello que a veces nos olvidamos que la secuenciación completa del genoma de un organismo aparentemente sencillo como la mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*, requiere analizar la información de sus 13.600 genes. La can-



En el laboratorio se conservan las muestras de estudio en etanol absoluto a 4°C/ Xiomara Cantera









Técnicos y usuarios del laboratorio trabajando en diferentes etapas del proceso. / Servicio de fotografía del MNCN, Iván Acevedo y Xiomara Cantera

tidad de información que contiene una molécula de ADN ronda los 20.000 millones de bits, lo mismo que ocuparía una biblioteca con unos 4.000 volúmenes, según Wikipedia.

Y es que el análisis molecular y genético ha revolucionado el mundo del conocimiento en muchos aspectos pero, a pesar de su aparente cotidianeidad, extraer el ADN de una muestra biológica, hacer análisis genéticos, elegir qué gen estudiar de los miles que contiene cada célula, es un trabajo que se puede definir de muchas maneras pero nunca como algo sencillo.

Los análisis de ADN se utilizan para realizar estudios a nivel molecular. En ciencias naturales, que es el campo que nos interesa, este análisis nos puede ayudar a distinguir el sexo de un ejemplar, diferenciar especies que parecían la misma, determinar la viabilidad genética de una población o averiguar las áreas de distribución de distintas especies. Cuando un grupo de investigación se plantea hacer análisis moleculares para descubrir, por ejemplo, qué determina los colores de las alas de una mariposa, lo primero que tienen que decidir es qué genes, o grupo de genes, va a estudiar para descubrir cómo funciona, en nuestro caso, la pigmentación de las alas.

"La secuenciación del genoma de un organismo aparentemente sencillo como la mosca de la fruta, Drosophila melanogaster, requiere analizar la información de sus 13.600 genes"

Pero ¿cómo elegir la secuencia de genes para secuenciar? Tenemos que volver a hablar de Drosophila melanogaster, un organismo que se utiliza como modelo de estudio, ya que, tras años de investigación, se conoce la función de casi todos sus genes. Muchas veces, además de consultar la bibliografía disponible, los investigadores extrapolan la información sobre las moscas de la fruta y analizan los genes que







natural mente



Un termociclador de PCR a tiempo real / Xiomara Cantera

determinan cómo son las alas o cómo se desarrollan, para probar si funciona de la misma manera en otras especies. Los investigadores eligen un gen, o varios, y prueban si su hipótesis se confirma, pero si los resultados no son positivos, hay que buscar nuevas dianas hasta dar con el gen concreto que afecta, en nuestro caso, a los colores de las alas de las mariposas.

Teniendo en cuenta la ingente cantidad de información que contiene cada molécula de ADN, nos podemos hacer idea de la dificultad y la cantidad de trabajo que supone buscar una página concreta entre los 4.000 libros que guarda una molécula de ADN en su interior.

"La posibilidad de multiplicar por PCR o clonación la cantidad de ADN de partida, que puede ser mínimo, hace posible toda una serie de análisis posteriores como la secuenciación"

"A veces dar con la información que buscas puede ser una tarea ingente ya que te enfrentas a muchísimo trabajo y no tienes ninguna certeza de si obtendrás buenos resultados", explica Iván Acevedo, responsable técnico del laboratorio.

El laboratorio

En el Laboratorio de Sistemática Molecular y Genética de Poblaciones se desarrollan técnicas moleculares para abordar, fundamentalmente, el estudio de procesos evolutivos y el análisis de variación genética para determinar la adscripción taxonómica de una especie, o su estructura poblacional, en la mayoría de los casos, con fines de conservación y gestión.

De esta forma, el laboratorio está preparado para conservar las muestras de estudio, extraer ácidos nucleicos (ADN y ARN) y proteínas, amplificar por PCR y clonación, analizar geles, preparar las muestras para su secuenciación o analizar a tiempo real la amplificación de distintos marcadores moleculares.

Se trata de un servicio que pueden utilizar grupos de investigación tanto del propio Museo como de otras instituciones. Para Iván Acevedo "uno de los grandes valores del laboratorio es la colaboración. Aquí trabajan personas de diferentes grupos de investigación, científicos que colaboran codo con codo y que comparten la información y las técnicas. Así logramos mejorar los diferentes protocolos y por tanto llegar a mejores resultados".

El primer paso para empezar a trabajar consiste en ordenar muy bien las muestras. Es imprescindible que el material esté correctamente marcado con etiquetas que deben tener la mayor información posible de la muestra: qué es, dónde se recogió, cómo se ha conservado, a qué estudio corresponde... son datos que no pueden faltar.

Trabajando a ciegas

La naturaleza de las muestras y su tamaño hace que gran parte de los procesos de estracción de ADN se realice sin la comproba-







ción visual de que se está efectivamente obteniendo la cantidad y calidad necesaria para el estudio. Las muestras con las que se trabaja en este campo proceden muchas veces de las colecciones científicas antiguas que, pese a su enorme interés, no siempre están conservadas en un medio o condiciones idóneas para obtener un ADN de calidad. Si bien esto está cambiando, y los muestreos ya se realizan de forma que se conserven los ácidos nucleicos inalterados, hay que tener en cuenta que lo que se pretende, siempre que es posible, es tomar la muestra mínima para no causar daño al ejemplar de estudio y devolverlo a su medio sin perjuicios. Esto hace que en muchas ocasiones se trabaje con muestras mínimas de sangre, pequeñas biopsias de tejido, escamas, plumas... De esta forma, se estudian los ejemplares sin alterar su supervivencia.

La PCR

Un avance decisivo fue el de la automatización de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por las siglas en inglés de *Polymerase Change Reaction*). Estas siglas, que forman parte del vocabulario habitual de los científicos que trabajan con genes, describen la reacción en cadena de la enzima polimerasa que multiplica el ADN. Este progreso fue posible al encontrar bacterias en aguas termales, cuyas enzimas, por tanto, resistían las altas temperaturas. Así, la amplificación resultó ser un proceso mucho más simple. ¿Y por qué es importante? Porque la multiplicación de la can-

"Uno de los valores del laboratorio es la colaboración entre científicos que comparten la información y las técnicas mejorando los diferentes protocolos y resultados"



El análisis de los resultados con geles es el momento de comprobar si nuestra muestra tiene suficiente calidad / Xiomara Cantera

tidad de ADN de partida, que como hemos visto puede ser mínimo (como ocurre en los análisis forenses también) hace posible toda una serie de análisis posteriores, como es la secuenciación. En los últimos años otros avances tecnológicos, como la llamada secuenciación masiva, ha permitido otro nuevo gran salto en la obtención de datos.

Las secuencias de genes se incluyen habitualmente en bases de datos como GenBank, de acceso gratuito. La comprobación las secuencias obtenidas con las que se encuentran en esas bases permite corroborar la especie

que se está analizando, en determinados casos, o lograr información de otras próximas. "Esas consultas te confirman si tu muestra es correcta, si estaba contaminada por tu propio ADN, o quizá te descubran que te encuentras ante una nueva especie para la Ciencia".

Toda esta secuencia de procesos técnicos es el trabajo previo que un grupo de investigación que se proponga estudiar un organismo a nivel molecular debe emprender. Son solo el principio para averiguar qué hace que una mariposa luzca en sus alas unos colores determinados





