



## Unos hongos peculiares y las complicaciones de secuenciar

### Puntos importantes

- Las **etapas** para obtener el genoma de un organismo son la extracción de ADN, secuenciación y ensamblaje.
- Existen organismos cuyo genoma es muy **difícil** de obtener debido a complicaciones en la extracción, secuenciación y ensamble.
- Al trabajar con **organismos pequeños** es muy posible extraer ADN contaminado por otros organismos.
- Existen múltiples tecnologías de secuenciación las cuales tienen **ventajas y desventajas** respectivamente.
- Para resolver los problemas se implementan nuevas técnicas para extraer el **ADN directamente del núcleo**.
- El uso del FACS, un análisis de **citometría de flujo** mostro ser efectivo para capturar los núcleos de micorrizas.
- Se utilizaron herramientas como **SPADEs, MaSuRCA, Lingon y Satsuma** en el ensamblaje del genoma de micorrizas.

### Resumen

En los últimos años las tecnologías de secuenciación han experimentado un avance notable. Esto ha permitido obtener los genomas de una gran variedad de organismos. Sin embargo, existe una gran cantidad de casos donde las cosas no resultan tan sencillas. Pues a veces obtener la secuencia de ADN de un organismo representa una labor titánica.

Esto se debe a que, durante las etapas requeridas para secuenciar la totalidad de un genoma, pueden ocurrir múltiples dificultades. Por ejemplo, en el caso de la extracción del material genético es posible que el proceso se vea comprometido por tres razones: 1 - Que el organismo sea muy pequeño. 2 - Que necesite de condiciones especiales para sobrevivir. 3 -Que esté conviviendo estrechamente con otros seres vivos que pueden contaminar la muestra. En cambio, si a la secuenciación nos referimos, los inconvenientes dependerán de la tecnología empleada. Si se utilizan herramientas de secuenciación corta como **illumina**, existe

una alta probabilidad de que ocurran errores en el ensamblaje. No obstante, el costo será económico y la fidelidad alta con una pequeña porción de ADN. Mientras que al utilizar herramientas de secuenciación larga como **Nanopore** o **Pacbio** los ensamblajes no presentarán gran problema. Sin embargo, la fidelidad de la secuencia se verá afectada.

Finalmente, al momento de ensamblar el genoma también debe considerarse que tipo de secuencias serán utilizadas. Ya que al utilizar secuencias cortas se presentan inconvenientes para estudiar elementos estructurales de los cromosomas o de secuencias repetidas. Este problema puede ser resuelto con el uso de secuencias largas, pero la cantidad de errores que genera este proceso no lo vuelve tan conveniente.

Es por estos motivos que la Dra. Montoliu se encarga de estudiar las micorrizas, organismos cuya secuenciación representa una ardua tarea. Estos seres son una especie de hongos que viven en simbiosis dentro de las raíces de las plantas y nunca experimentan el ambiente exterior. La razón por la que conseguir el genoma de esta especie es difícil, se debe a que las condiciones en las que sobrevive son muy específicas. Sumado a que su diminuto tamaño provoca que las muestras puedan ser contaminadas por otros organismos con gran facilidad.

Para resolver este problema, la Dra. Montoliu ha implementado un análisis **FACS** que es de utilidad para trabajar con una poca cantidad de ADN. Este análisis consiste en una citometría de flujo que permite aislar los núcleos de las micorrizas de manera precisa por sus propiedades de volumen y granularidad. De esta manera, se evita la contaminación provocada por otros organismos vecinos y es posible proceder con el ensamble a partir de las herramientas **SPADEs, MaSuRCA, Lingon y Satsuma**.

En conclusión, cabe destacar que perfeccionar esta metodología para obtener un genoma adecuado, requirió de alrededor de 396 ensamblajes sin contar los errores. Por lo que toda esta investigación nos proporciona una idea clara de los desafíos que conlleva secuenciar el material genético de una especie.