



MAPEO GENÉTICO DE RASGOS USANDO SNPs

DESCRIPCIÓN GENERAL

Esta guía para el instructor contiene información de apoyo para una actividad de mapeo genético en perros usando polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs, por sus siglas en inglés). Esta actividad puede usarse en combinación con una charla de 29 minutos de la Dra. Elinor Karlsson del Broad Institute de Cambridge, MA (<http://www.hhmi.org/biointeractive/dog-genomics-and-dogs-model-organisms>), en la que describe los estudios de asociación genómica (GWAS, por sus siglas en inglés). La actividad se creó con datos reales de ADN obtenido de muestras de saliva de perros tomadas por estudiantes que asistieron a las *Holiday Lectures* en HHMI en el 2013. La Dra. Karlsson y sus colegas del Instituto Broad generaron y analizaron los datos.

La actividad consiste de lo siguiente:

- Una tarea previa en la que los estudiantes leen un comunicado de los Institutos de Salud de los Estados Unidos (NIH, por sus siglas en inglés) y responden preguntas del manual del estudiante.
- Un video opcional de la conferencia de la Dra. Elinor Karlsson, en el que explica los GWAS.
- Un análisis que simula un GWAS, en el que se comparan polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) en perros con diferentes fenotipos para identificar correlaciones entre variantes genéticas y diferentes versiones de un rasgo. Esta parte de la actividad tiene un componente práctico que usa tarjetas con SNPs.
- Una actividad de análisis estadístico opcional con análisis de chi cuadrado.

CONCEPTOS CLAVE Y OBJETIVOS DE APRENDIZAJE

- La comparación de secuencias de ADN entre muchos individuos revela variaciones que son comunes en el genoma de una especie.
- Algunas variaciones de ADN pueden ocurrir más frecuentemente en individuos con una forma específica de un rasgo.
- Las variaciones que se correlacionan con un rasgo pueden señalar la ubicación del gen (o de los genes) responsable de ese rasgo.

Después de completar esta actividad, los estudiantes podrán:

- Describir con sus propias palabras las ideas clave presentadas en el artículo y en el video.
- Explicar cómo se relaciona la información presentada en el artículo con los datos de las tarjetas de SNPs.
- Identificar patrones en los datos presentados en las tarjetas de SNPs.
- Participar en un debate sobre los datos presentados en las tarjetas de SNPs.

CONEXIONES CURRICULARES (ESTADOS UNIDOS)

Estándar	Conexiones
NGSS (abril de 2013)	HS-LS-1, HS-LS3-3, Ciencia y práctica de ingeniería 2 y 4, conceptos transversales 1, 2 y 6
AP (2012-13)	Grandes ideas 3, EU 3.A.3, 3.C.1, y SP 2, 5 y 6
IB (2016)	3.2, 3.5, Objetivos 1, 4 y 5



TÉRMINOS CLAVE

nucleótido, pares de bases, alelo, polimorfismo de un solo nucleótido (SNP), genotipo, fenotipo, secuencia genómica, estudio de asociación genómica (GWAS).

REQUISITOS DE TIEMPO

La sección de introducción en el manual del estudiante, el artículo del NIH y las seis preguntas de comprensión pueden asignarse como tarea para el hogar y deben tomar entre 30 y 40 minutos, dependiendo del estudiante. El video opcional de Karlsson también puede asignarse como una tarea para el hogar para complementar y afianzar la presentación del tema (el segmento clave dura 12 minutos). Para analizar los datos de los SNPs se requerirán unos 20 minutos de clase, dependiendo de cuánto se debata en grupo. El análisis estadístico de chi cuadrado es opcional y tomará unos 20 minutos más.

AUDIENCIA SUGERIDA

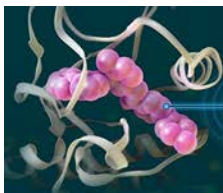
Esta actividad se diseñó para todos los niveles de Biología de escuela secundaria o para las clases optativas relacionadas con la biología (por ejemplo, para Genética y Biotecnología). Es un recurso excelente para vincular a los alumnos con el estado actual de las investigaciones genéticas y también permite establecer relaciones con la evolución, ya que los perros son un ejemplo excelente de selección artificial. Esta actividad también es apropiada para un curso introductorio de Biología o Genética de nivel universitario.

CONOCIMIENTOS PREVIOS

Para sacar el máximo provecho a esta actividad, los estudiantes deben saber qué son los genes y las mutaciones, y deben conocer la relación entre genotipo y fenotipo. Sería de utilidad que los estudiantes comprendan los conceptos de gen y genoma. La actividad incluye un análisis opcional de chi cuadrado para los estudiantes o cursos en los que el análisis estadístico sea relevante.

MATERIALES

- *Variants in Three Genes Account for Most Dog Coat Differences* (Variantes en tres genes dan cuenta de la mayoría de las diferencias en el pelaje de los perros) – publicado por el NIH. <https://www.nih.gov/news-events/news-releases/variants-three-genes-account-most-dog-coat-differences>
- *Medicine in the Genomic Era: Dog Genomics and Dogs as Model Organisms* (Medicina en la era genómica, genómica de perros y perros como organismos modelo), videoconferencia con Elinor Karlsson (<https://www.hhmi.org/biointeractive/dog-genomics-and-dogs-model-organisms>). El segmento clave es desde el minuto 1:56 hasta el minuto 12:15 del video.
- Un juego de *tarjetas de SNPs* con alelos del cromosoma 32 en perros de pelo corto y largo.
- Un juego de *tarjetas de SNPs* con alelos del cromosoma 27 en perros de pelo rizado y lacio.



PROCEDIMIENTOS Y RESPUESTAS A LAS PREGUNTAS

Parte 1: Lee y responde las preguntas

Reparta la hoja de trabajo a los estudiantes. Pídeles que lean el artículo del NIH, *Variantes en tres genes dan cuenta de la mayoría de las diferencias en el pelaje de los perros*, y que respondan las preguntas relacionadas con el artículo antes de la clase. (Los estudiantes retomarán este artículo al terminar la actividad y analizarán algunos de los datos presentados en el artículo).

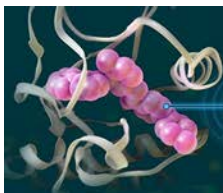
1. *¿Cuántos genes dan cuenta de la amplia variedad de texturas del pelaje de los perros?* **Tres.**
2. *Describe con dos o tres oraciones cómo los investigadores pudieron identificar estos genes.* **Las respuestas variarán. Los investigadores escanearon SNPs específicos en el genoma de miles de perros de diferentes razas. Cuando analizaron los resultados, detectaron que solo tres variantes genéticas daban cuenta de la mayoría de los tipos de pelaje en perros.**
3. *En esta lectura, ¿por qué se describen los SNPs como "marcadores genéticos"?* **Un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP, por sus siglas en inglés) es una variación en la secuencia del ADN que ocurre comúnmente en una población. Por ejemplo, un SNP puede reemplazar el nucleótido de adenina (A) con el nucleótido de citosina (C) en una porción determinada del ADN. Los investigadores saben cuál es la ubicación precisa de ese SNP en el genoma. Una vez que se correlaciona un SNP con un rasgo determinado (es decir, que ocurre con más frecuencia en individuos con ese rasgo), los investigadores se concentran en esa región del genoma y la secuencian. En la mayoría de los casos, el SNP en sí mismo no incide en el rasgo, pero se encuentra cerca de la parte del ADN que ocasiona el rasgo, de manera que sirve como marcador o indicador de esta ubicación.**
4. *¿Por qué crees que fue importante analizar el ADN de muchos perros en esta investigación?* **Un perro particular tiene muchas variaciones en comparación con cualquier otro perro. Los investigadores analizan el ADN de muchos perros para encontrar variaciones comunes en un grupo en comparación con otro. Una variación no es un marcador útil si solo ocurre en uno o en pocos perros. Los estudiantes también pueden mencionar que los investigadores deben estudiar muchos perros para encontrar SNPs asociados a un rasgo y no a otro.**
5. *¿Los humanos tenemos SNPs?* **Sí.**
6. *¿De qué manera beneficia el proyecto del genoma canino a los humanos?* **Las respuestas de los alumnos variarán. Los estudiantes pueden contestar que el genoma humano es muy similar al genoma canino. Si podemos encontrar los genes responsables de todos los tipos de pelajes en perros, podemos usar técnicas similares para identificar los genes involucrados en enfermedades humanas complejas.**

Parte 2: Introducción a un GWAS

Debata sobre el artículo y aborde las preguntas de los estudiantes o los aspectos que generen confusión.

Preguntas sugeridas para el debate:









- ¿Qué relación hay entre un genoma completo, un cromosoma y un gen?

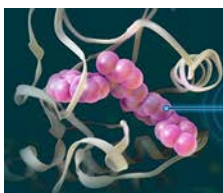


- ¿Cómo se usan los SNPs en un GWAS?
- ¿De qué modo los GWAS les permiten a los investigadores encontrar genes que causan enfermedades?
- ¿Cuál es la diferencia entre un SNP y una mutación?

Esta parte de la actividad comienza con un ejercicio simple para presentarles a los estudiantes un GWAS. En la hoja de trabajo del estudiante estudian la Tabla 1 con SNPs en 17 ubicaciones distintas en las secuencias genómicas de ocho perros diferentes (cuatro de pelo blanco y cuatro de pelo negro). Cada locus de SNP tiene dos nucleótidos; uno en cada cromosoma. Para determinar si los SNPs de la tabla tienen correlación con el pelaje blanco, los estudiantes comparan los SNPs de los perros negros y blancos, buscan patrones en los datos y responden preguntas.

Tabla 1. Nucleótidos en 17 loci de dos grupos de perros.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
	CC	AT	CC	GG	AA	TC	TT	CC	GG	AA	TT	GT	AG	AA	CC	GG	AT
	CC	AT	AC	GG	GG	TT	TT	CC	GG	AG	TT	GG	AG	AG	CC	GG	AT
	CC	AA	AC	CG	GG	TT	TT	CT	GG	AA	TT	GT	AG	AG	CC	TT	AT
	CC	AA	AC	GG	AG	TT	TT	CT	GG	GG	TT	GG	AG	AG	CC	GT	AT
	CC	AT	CC	CG	AA	TT	AA	CT	GG	AA	TT	GT	AA	AA	CC	GT	AT
	CC	AT	CC	GG	AA	TT	AA	TC	GG	AA	TT	GG	AG	AA	CC	GG	TT
	CC	AT	CC	GG	AA	TT	AA	CC	GG	AA	TT	GG	AA	AA	CC	GT	AT
	CC	AA	CC	GG	AG	TT	AA	TC	GG	GG	TT	GG	AA	AA	CC	TT	AT



1. ¿Cuál es, o cuáles son, los SNPs 100% correlacionados con el color del pelaje? **El #7**
2. ¿Cuál es, o cuáles son, los SNPs parcialmente correlacionados con el color del pelaje? **Los SNPs parcialmente correlacionados son 3, 13, 14.**
3. ¿Cuáles son los SNPs no correlacionados con el color del pelaje? **Todos los loci que no se mencionan arriba.**
4. ¿Cuáles son dos explicaciones posibles de por qué un SNP puede estar correlacionado con un fenotipo como el color del pelaje? **Un SNP puede tener correlación con un fenotipo porque i) el locus donde se encuentra el SNP causa ese fenotipo (por ejemplo, el pelo blanco) o ii) porque el SNP está vinculado con (ubicado cerca de) un locus que controla el fenotipo.**

Parte 3: Identifica las correlaciones usando datos reales de SNPs

Tras el ejercicio introductorio, los alumnos continúan con la actividad para identificar los SNPs de mayor correlación usando dos juegos de tarjetas de SNPs: un juego para el largo del pelaje (corto/largo) y uno para el tipo de pelaje (rizado/lacio). Los estudiantes pueden trabajar en forma individual o en grupos.

Distribuya las tarjetas del largo del pelaje.

Entregue un juego de tarjetas de SNPs del largo del pelaje a cada estudiante o grupo. Los datos presentados en estas tarjetas muestran SNPs en siete loci en el cromosoma 32 de 12 perros con pelo corto o pelo largo. Observe que los SNPs se muestran como dos nucleótidos para cada locus. El número del cromosoma (32), seguido de un número de nucleótido de siete dígitos indican los loci donde se encuentran los SNPs.

Pídales a los estudiantes que organicen las tarjetas para buscar correlaciones entre ciertos SNPs y el largo del pelo. Déles tiempo suficiente para estudiar las tarjetas y anotar sus respuestas.

Luego los alumnos seguirán las instrucciones en sus documentos para identificar SNPs correlacionados con el largo del pelaje. Sus datos deben ser similares a los siguientes:

Cr32 7420804	Alelo	Pelo corto	Pelo largo	Diferencia
	T	4	4	0
	C	8	8	0
			Total de diferencias	0

Cr32 7472206	Alelo	Pelo corto	Pelo largo	Diferencia
	A	9	12	3
	G	3	0	3
			Total de diferencias	6



Cr32 7473337	Alelo	Pelo corto	Pelo largo	Diferencia
	T	3	12	9
	G	9	0	9
			Total de diferencias	18

Cr32 7479580	Alelo	Pelo corto	Pelo largo	Diferencia
	T	9	12	3
	C	3	0	3
			Total de diferencias	6

Cr32 7482867	Alelo	Pelo corto	Pelo largo	Diferencia
	A	5	0	5
	G	7	12	5
			Total de diferencias	10

Cr32 7490570	Alelo	Pelo corto	Pelo largo	Diferencia
	T	6	11	5
	C	6	1	5
			Total de diferencias	10

Cr32 7492364	Alelo	Pelo corto	Pelo largo	Diferencia
	C	3	1	2
	G	9	11	2
			Total de diferencias	4

1. ¿Cuál (o cuáles) SNPs tiene(n) mayor correlación con la longitud del pelo? **Cr32 7473337**
2. ¿Cuál (o cuáles) SNPs tiene(n) la menor correlación con la longitud del pelo? **Cr32 7420804**

Reparta las tarjetas sobre texturas de pelaje.

Entregue un juego de *tarjetas de SNPs* para las texturas del pelaje a cada estudiante o grupo. Los datos presentados en las tarjetas de textura del pelaje muestran SNPs en siete loci en el cromosoma 27 de 10 perros con pelaje rizado o lacio. Los alumnos siguen las instrucciones en su hoja de trabajo, anotan sus conteos en las tablas correspondientes y determinan las correlaciones con el tipo de pelaje. Sus resultados deben ser similares a los que se muestran a continuación.

Cr27 5525002	Alelo	Pelo rizado	Pelo lacio	Diferencia
	C	4	5	1
	T	6	5	1
			Total de diferencias	2

Cr27 5541113	Alelo	Pelo rizado	Pelo lacio	Diferencia
	C	7	4	3
	T	3	6	3
			Total de diferencias	6



	Alelo	Pelo rizado	Pelo lacio	Diferencia
Cr27 5542806	C	4	10	6
	T	6	0	6
	Total de diferencias			12

	Alelo	Pelo rizado	Pelo lacio	Diferencia
Cr27 5545082	A	4	8	4
	G	6	2	4
	Total de diferencias			8

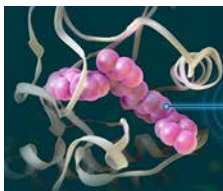
	Alelo	Pelo rizado	Pelo lacio	Diferencia
Cr27 5557298	C	4	2	2
	T	6	8	2
	Total de diferencias			4

	Alelo	Pelo rizado	Pelo lacio	Diferencia
Cr27 5568947	C	5	6	1
	T	5	4	1
	Total de diferencias			2

3. ¿Qué SNPs muestra(n) mayor correlación con la textura del pelaje? **Cr27 5542806**

4. Si tuvieses que buscar un gen involucrado en la longitud del pelo, ¿en qué región del genoma enfocarías tu análisis? ¿Y en el caso de un gen relacionado con la textura del pelo?

Los estudiantes deben indicar que buscarían un gen involucrado en el largo del pelo en el cromosoma 32 en algún punto cerca del nucleótido 7473337. En el caso del gen relacionado con la textura del pelo buscarían en el cromosoma 27 cerca del nucleótido 5542806.



Parte 4: Análisis de chi cuadrado (opcional)

Es posible que la frecuencia de los alelos entre los dos grupos de perros pueda diferir debido al azar. Por otro lado, si estas diferencias no ocurren por casualidad, las correlaciones podrían indicar que los SNPs marcan las ubicaciones de los genes relacionados con la longitud o la textura del pelaje. Para determinar si las correlaciones en esta actividad son significativas en términos estadísticos, los alumnos realizarán un análisis de chi cuadrado. Esta parte de la actividad es opcional y requiere que los estudiantes conozcan la prueba de chi cuadrado.

1. Valores esperados para el locus más correlacionado con el largo del pelaje:

Locus de SNP: **Cr32 7473337**

Cantidad total de alelos G = **9**

Cantidad esperada de alelos G = **4.5**

Cantidad total de alelos T = **15**

Cantidad esperada de alelos T = **7.5**

2. Ahora, completa la tabla para el SNP de mayor correlación con el largo del pelaje.

Alelo	Pelo corto observado	Pelo largo observado	Esperado
G	9	0	4.5
T	3	12	7.5

3. Cálculo del valor de chi cuadrado:

$$(4.5)^2/4.5 + (4.5)^2/7.5 + (4.5)^2/4.5 + (4.5)^2/7.5 = 4.5 + 2.7 + 4.5 + 2.7 = \mathbf{14.4}$$

4. Valor de chi cuadrado **14.4**

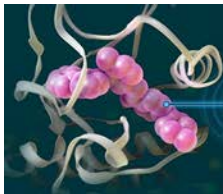
5. Anota el valor p del SNP con máxima correlación: **0.001**

6. ¿Qué indica este valor p? **Que la correlación es significativa en términos estadísticos.**

7. ¿Cuál SNP tiene mayor correlación con el pelaje rizado en contraste con el pelaje no rizado? **Cr27 5542806**

8. En términos de estadística, ¿es significativa esta correlación? **Sí.**

9. ¿En qué evidencia basas tu elección? **El valor de chi cuadrado para este locus es 8.56; un valor muy superior a 3.841.**



Parte 5: ¿Cuáles son los genes?

Los estudiantes estudian una tabla adicional con un resumen de los datos recabados sobre tres genes responsables de siete de los principales tipos de pelaje de perros de razas puras. Con esta tabla los estudiantes responden preguntas que guían la interpretación de los datos.

1. *¿Con qué fenotipo está asociado el alelo ancestral del gen KRT71? El alelo ancestral de KRT71 está asociado con el fenotipo de pelo lacio porque todos los perros con el alelo (-) tienen pelo lacio y los perros con el alelo (+) tienen pelo rizado.*
2. *¿Qué razas exhiben el fenotipo correspondiente a un alelo reciente de FGF5 combinado con un alelo ancestral en el gen KRT71? El Golden Retriever y el Collie barbudo.*

SUGERENCIAS DIDÁCTICAS

- La conferencia de la Dra. Karlsson (<http://www.hhmi.org/biointeractive/dog-genomics-and-dogs-model-organisms>) es una excelente introducción a los GWAS en perros. Podría asignar como tarea para el hogar ver una parte de la conferencia, o bien mostrar en clase los capítulos 2 a 7 (desde el minuto 1:56 hasta el 12:15) antes de realizar la actividad de SNPs.
- Los estudiantes pueden trabajar de forma individual o en grupos.
- Deberá imprimir un juego completo de tarjetas de SNP para cada estudiante o grupo de estudiantes. Una buena idea es plastificar las tarjetas para usarlas varias veces.
- Evalúe si va a mostrarles a los estudiantes cómo se presentan los datos de GWAS. Puede encontrar un ejemplo de ello en http://www.broadinstitute.org/igv/viewing_gwas. Los datos de GWAS suelen mostrarse como barras que se asemejan a la silueta de los rascacielos de una ciudad en las que los SNP están representados por puntos, codificados con color por cromosoma. El eje x muestra las ubicaciones de los SNPs en el genoma. Cuanto más grande es el punto y más arriba en la escala se encuentra, más significativa es su asociación con el rasgo.
- Una opción es contarles a los estudiantes que, si bien el genoma humano se obtuvo mediante la agrupación de datos de secuencias de varios individuos, el genoma canino de referencia consiste en datos de un solo perro (Tasha). Los científicos también determinaron las secuencias de perros de otras razas y recopilaron todas las diferencias detectadas en comparación con el genoma de Tasha en la base de datos pública denominada dbSNP. [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>]
- Si bien esta actividad solo muestra unos pocos SNPs ubicados en tan solo dos cromosomas, un GWAS real utiliza millones de SNPs distribuidos a lo largo del genoma y una computadora tamiza los datos para buscar las correlaciones.
- En esta actividad se emplean ejemplos simples que se pueden resolver sin ayuda de la computadora con el propósito de demostrar los conceptos básicos.
- Cuando describa la diferencia entre un SNP que da lugar a un rasgo (SNP causativo) y un SNP correlacionado que no da lugar a un rasgo, aproveche la oportunidad para hablar sobre el ligamiento genético, que habitualmente se enseña durante la unidad de genética mendeliana. Aunque un SNP en un GWAS muestre una fuerte correlación con un rasgo, es necesario continuar investigando para



Holiday Lectures 2013
Medicina en la era genómica

hhmi | BioInteractive

MAPEO GENÉTICO DE RASGOS
USANDO SNPs
MATERIAL PARA EL EDUCADOR

determinar si se trata de un SNP causativo (en la región codificante o no codificante de un gen) o si solamente está ligado estrechamente al gen que controla el fenotipo.

- Después de la introducción sobre los GWAS, puede compartir con los alumnos ejemplos de trabajos científicos donde se describa su uso para identificar los genes que causan enfermedades en humanos. También puede señalar áreas de investigación adicionales en las que se usan los GWAS, como en la agricultura.
- Esta actividad puede servir como introducción a la evolución, ya que los perros son un excelente ejemplo de selección artificial.

SUGERENCIAS RELACIONADAS CON USO DE LOS MEDIOS SOCIALES

Los estudiantes pueden redactar un análisis de la actividad en forma de una entrada para un blog (en un blog de la clase o en sus blogs personales). Una vez publicados, la función de comentarios se puede utilizar para permitir el proceso de revisión y debate.

Como proyecto de extensión opcional alternativo, los estudiantes pueden crear una infografía sobre “el genotipo y fenotipo del perro”, para un consultorio veterinario. Una serie de herramientas gratuitas en línea para la creación de infografías ([Easelly](#) o [Piktochart](#)) hacen que sea sencillo crear este tipo de folleto o manual.

AUTORES (VERSIÓN ORIGINAL EN INGLÉS)

Esta actividad fue escrita por Melissa Csikari, Colonial Forge High School, Stafford, VA; Elinor Karlsson, Ph.D., Broad Institute of MIT, Cambridge, MA; Laura Bonetta, Ph.D., y Eriko Clements, Ph.D., HHMI.

Fue editada por Laura Bonetta, Ph.D., HHMI y Robin Heyden, consultora; la corrección estuvo a cargo de Linda Felaco.

Revisores: David McDonald, Ph.D., North Carolina Central University; Vince Buonaccorsi, Ph.D., Juniata College; Elinor Karlsson, Ph.D., Broad Institute.