

Aplicación de un trabajo práctico autoguiado para la formación en el uso de herramientas bioinformáticas de alumnos de pregrado en Bioquímica Clínica.

Self-guided training program in the use of bioinformatic tools for undergraduate students of clinical biochemistry.

Ariel Ernesto Cariaga Martinez y Pedro Darío Zapata

Cátedra de Biología Celular y Molecular (Carrera de Bioquímica) – Módulo de Bioquímica y Farmacia
Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales – Universidad Nacional de Misiones. Argentina

Durante las últimas décadas el gran avance científico y tecnológico llevó a la investigación biológica a las puertas de la era postgenómica. La disponibilidad de información crucial para el desarrollo de nuevos proyectos ha provocado un cambio de paradigma en la investigación biológica demandándole profesionales que cuenten con formación en Bioinformática. En este trabajo se muestran los resultados de la incorporación de un trabajo práctico autoguiado para introducir a alumnos que estudien Bioquímica al uso de recursos bioinformáticos aplicándolos a un ejemplo concreto.

Las actividades consisten en la realización de un análisis genómico, transcriptómico y proteómico de un gen con implicaciones biomédicas. Además se plantea como aplicación tecnológica el diseño de cebadores específicos para la amplificación de un fragmento del gen. Como último punto se propone analizar la función biológica mediante el programa de visualización molecular RasMol versión 2.7.2 ("por Herbert Bernstein 1998-2000). La metodología incluye grupos de 3-4 alumnos que cursan Biología Celular y Molecular de la Carrera de Bioquímica de la Universidad Nacional de Misiones,

solicitándoseles respuestas concretas que se obtienen a través del análisis bioinformático.

Los resultados de la aplicación del trabajo práctico autoguiado demuestran que el 100% de los alumnos fueron capaces de responder las consignas.

Sin embargo se necesita mayor manejo de programas de visualización molecular para futuras aplicaciones.

Palabras Claves: trabajo práctico autoguiado - recursos didácticos - bioinformática - bioquímica clínica.

The great scientific and technological advances of recent decades have brought biological investigation into the postgenomic age. The ready availability of crucial information for the development of new projects has caused a paradigm shift in biological investigation, in which a solid training in bioinformatics is now a basic requirement. This study presents the results of the incorporation of a self-guided practical program to introduce students of clinical biochemistry to the use of bioinformatic resources.

The activities comprised genomic, transcriptomic and proteomic analysis of a gene with biomedical implications. The design of specific primers for the amplification of a fragment of the gene was proposed as a technological application. The RasMol program, version 2.7.2 (" by Herbert Bernstein 1998-2000) was used to analyses biological functions. In groups of three or four, students studying cellular and molecular biology as part of their degree in biochemistry at the National University of Misiones were asked to provide concrete answers to questions using bioinformatic analysis.

Correspondencia:
Ariel Ernesto Cariaga
Avda. Mariano Moreno 1375
3300 Posadas – Misiones – Argentina
Telfax: 0054 3752 427687
Correo electrónico: bcmb@fceqyn.unam.edu.ar

The results showed that 100% of the students were able to answer all the questions. However, a wider-ranging treatment of molecular visualization programs is needed for future applications.

Key words: practical work - didactic resources - bioinformatics - clinical biochemistry.

INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas el gran avance científico y tecnológico llevó a la investigación biológica a las puertas de la Proteómica. Con el Proyecto Genoma Humano concluido y sumando el aporte de Proyectos Genoma de organismos modelo, y el reciente desarrollo de la genómica funcional, se está produciendo una acumulación exponencial de información, la cual se encuentra disponible a través de diferentes bases de datos.

La disponibilidad de información crucial para el desarrollo de nuevos proyectos ha provocado un cambio de paradigma en la investigación biológica y esto demanda de profesionales que cuenten con una formación mínima en Bioinformática y puedan acceder a utilizar los recursos mencionados^{1,2}.

El acceso a bibliografía especializada, el manejo de modelos moleculares y de programas que permitan el enlace y manejo de la información disponible en las bases de datos internacionales, son solo algunas de las herramientas imprescindibles para la investigación en biología³.

En este sentido el acceso a la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), USA, posee enlaces con las principales bases de datos bibliográficos, permitiendo una conexión de alta velocidad y de fácil acceso. Además se puede hacer uso de las herramientas que permiten ubicar secuencias publicadas o descriptas en el desarrollo de los diferentes Proyectos Genoma, teniendo acceso a la visualización de su situación a través de un mapa virtual, lo que facilita el cruzamiento con información disponible, como secuencias STS y SNP, además de la posición de otros genes.

Con respecto a la manipulación tendiente a lograr aplicaciones tecnológicas de la información disponible,

puede accederse a programas gratuitos que facilitan el análisis génico en busca de posibles secuencias que sirvan de cebadores o sondas, permitiendo la amplificación o la detección por hibridación de las mismas de manera experimental. En este sentido el programa Primer 3 se presenta como herramienta ampliamente conocida y de fácil utilización (Howard Hughes Medical Institute and National Institutes of Health, National Human Genome Research Institute http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi).

Mediante enlaces que se presentan en las mismas bases de datos puede accederse a secuencias y modelos cristalinos de diferentes proteínas, cuya estructura ya ha sido dilucidada por estudios de cristalografía de rayos X o por resonancia magnética nuclear (RMN). De esta manera pueden obtenerse modelos moleculares 3D que pueden analizarse mediante diferentes programas de visualización, de los cuales RasMol (© por Roger Sayle 1992-1999) se ha presentado como una aplicación gratuita, de fácil acceso y manipulación, con un lenguaje sencillo que permite la aplicación en cursos básicos de biología⁴. Este programa permite trasladar la información obtenida desde el análisis bibliográfico a la estructura cristalina a través de la visualización del modelo en tres dimensiones puntualizando la posición de los aminoácidos, tipos de cadenas que predominan en cada dominio, motivos, interacciones débiles e incluso permiten la observación de moléculas de agua adsorbidas en la superficie proteica⁵.

Por otro lado también se encuentran disponibles modelos que permiten el estudio de interacciones entre diferentes biomoléculas como por ejemplo las interacciones proteínas – proteínas y proteínas – DNA⁶.

En la República Argentina, la bioquímica clínica es desarrollada por graduados con la formación profesional denominada Bioquímica, carrera impartida en muchas de las Universidades nacionales y privadas de aquel país. Durante la última década se ha trabajado intensamente para estandarizar la curricula de dicha carrera a través de la criteriosa selección de contenidos mínimos que puedan servir como punto de partida para el desarrollo de las asignaturas impartidas durante la carrera. De esta manera se ha fundado el Ente Coordinador de Unidades Académicas de Farmacia y Bioquímica (ECUAFyB) que regula esta actividad. La incorporación de contenidos de Biología Celular y Molecular están propuestos ya desde el tercer año de la carrera como asignatura del ciclo biomédico y posteriormente se sugiere la incor-

poración de aplicaciones en las diferentes asignaturas del ciclo específico. La Bioquímica Clínica es una de las especialidades médicas más influenciadas por el avance de la bioinformática⁷. Atendiendo a esto la incorporación de contenidos mínimos de Bioinformática como un tema transversal de amplia aplicación es fundamental en las carreras de Bioquímica de la Argentina. Proponemos una actividad práctica guiada para ser realizada en los cursos de Biología Celular y Molecular como punto de partida en Bioinformática, con una complejidad media que permita una visión panorámica de la utilización de la información y que faciliten al alumno la familiarización con herramientas básicas disponibles en la base de datos del NCBI.

Este trabajo tiene por objetivo plantear el desarrollo de un trabajo práctico autoguiado sobre Bioinformática como actividad de fijación procedimental a través de un trabajo grupal que consiste en la utilización de las bases de datos disponibles a través del sitio Web del NCBI, siguiendo una guía provista por los docentes y las ayudas técnicas de éste sitio y de otros sitios disponibles^{8,9} y el programa de visualización molecular RasMol. De esta manera se plantea una actividad que permite al alumno abordar conceptos de Genómica, Transcriptómica y Proteómica de manera integrada aplicándolos a un ejemplo concreto. Las actividades consisten en la realización de un análisis exhaustivo de un gen con implicaciones biomédicas aplicando la información bibliográfica concerniente al gen y el papel que cumple el producto génico, la posición y extensión del gen, ubicación de marcadores STS y SNP pertenecientes al ORF y que flaquean el gen, analizando la homología respecto a especies de mamíferos con genoma ya secuenciado. Además se plantea como aplicación tecnológica, el diseño de cebadores específicos para la amplificación de un fragmento que contenga el exón 1 y la interpretación del análisis que arroja del mismo el programa Primer 3. Como último punto se propone analizar la función biológica de estas proteínas siendo necesario considerar sus estructuras cristalinas con el programa de visualización molecular RasMol y el cruzamiento de información con la contenida en referencias bibliográficas¹⁰.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población: en el trabajo participaron alumnos de la Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Misiones

que cursaron la asignatura Biología Celular y Molecular de la carrera de Bioquímica durante el 1° cuatrimestre de 2005. Estos alumnos cursan 3° año de la carrera, poseen entre 20 y 22 años, y acceden a cursar la asignatura exigiéndoseles conocimientos básicos de Biología y Química Biológica (Bioquímica). La materia se encuentra ubicada en el ciclo Biomédico (según recomendaciones del ECUFYB) impartíéndoseles conocimientos básicos sobre el flujo de la información génica y de los procesos celulares. La parte práctica de la asignatura prepara a los alumnos para comprender la metodología que se aplica para abordar el estudio de los diferentes procesos celulares, aplicados a situaciones problemáticas concretas, aunque el alumno todavía posee una visión limitada de la fisiopatología. Se tuvo especial cuidado en seleccionar ejemplos que cuenten con estructuras cristalinas 3D disponibles para su análisis.

Diseño de la guía temática y puesta a punto del trabajo práctico: La base de la guía temática estuvo en protocolos bioinformáticos habitualmente utilizados en el desarrollo de proyectos de investigación. Para el diseño de dicha guía se tuvo en cuenta la conjunción de aspectos conceptuales y procedimentales necesarios para la interpretación y ejecución de las actividades de manera autoguiada.

Para la puesta a punto de la guía temática se realizó una prueba inicial entre alumnos de las carreras de Bioquímica y Licenciatura en Genética que se encontraban en carácter de pasantes de la Cátedra de Biología Celular y Molecular (Bioquímica), a los fines de evaluar la integridad y consistencia de los conceptos y procedimientos vertidos.

Presentación del tema y desarrollo del trabajo práctico: La guía práctica fue apoyada por el desarrollo de una clase demostrativa general contando con acceso en tiempo real a las distintas bases de datos. Se utilizó acceso a Internet, efectuándose la administración del sistema bajo Windows XP Professional versión 2002. Todas las aplicaciones fueron expuestas en tiempo real, y se realizó la demostración del uso del programa Rasmol (© Roger Sayle 1992-1999), utilizando la versión 2.7.2 (© Herbert Bernstein 1998-2000). Posteriormente se confeccionaron 15 grupos de 2 – 3 alumnos, se seleccionó un grupo de genes de importancia biomédica y se repartió uno por grupo de manera aleatoria. A todos los grupos se les solicitó que respondiesen de manera concreta a 9 preguntas (Tabla 1), valiéndose de las herramientas bioinformáticas que se les explicó en la clase y con la ayuda de la guía

(anexo informatizado). Se les estableció un plazo de 15 días al cabo de los cuales deberían entregar sus informes en formato digital.

TABLA 1: Preguntas para el desarrollo grupal

1. ¿Que función cumple el producto génico?
2. ¿Qué provoca su alteración?
3. ¿Existen genes homólogos en otras especies?
4. ¿Dónde mapea? ¿Qué otros genes mapean en la región?
5. ¿Qué marcadores STS y SNP flanquean el gen?
6. ¿Cuántos intrones y exones posee?
7. ¿Cómo puedo diseñar cebadores para amplificar parte del exón uno?
8. ¿Cuántos transcritos conocidos están publicados para este gen?
9. ¿Se ha cristalizado la proteína? ¿que datos interesantes observas en su estructura tridimensional?

RESULTADOS

El análisis de los resultados se basó exclusivamente en la capacidad demostrada para contestar cada una de las preguntas realizadas. Los ítems contestados correctamente se codificaron con "1", mientras que los ítems que no pudieron ser contestados o que se contestaron incorrectamente se codificaron con "0".

Las preguntas 1, 3, 4, 6, 7 y 8 fueron contestadas correctamente por todos los grupos. Las preguntas 2 y 5 fueron contestadas correctamente por 14 grupos (93%). Sin embargo la pregunta 9 solo pudo ser respondida por 9 grupos (60%).

DISCUSIÓN

En la actualidad la enseñanza de las Ciencias, y en particular de la Biología, debe nutrirse de los

recursos que le aporta el bagaje informático. Según este nuevo paradigma, es absolutamente necesario iniciar a estudiantes de grado en el conocimiento y manejo de bases de datos y visualización molecular, con el objetivo de facilitar su inserción posterior a grupos de investigación, o a su desempeño como profesionales en el área que le corresponda².

La búsqueda de bibliografía, el uso de Internet, la posibilidad de analizar moléculas, y muchas otras herramientas, son opciones que deben ser incorporadas en la formación universitaria, ya que serán constantemente útiles al desempeño de la práctica profesional cotidiana⁴.

En este trabajo atendiendo a la optimización del tiempo y fomentando la colaboración interpersonal se agrupó a los alumnos de a 3-4 personas y se distribuyeron los temas de manera aleatoria, finalizando con una exposición y debate que permitió la comparación del trabajo de los grupos similares y la valoración de la tarea grupal, contenido actitudinal de fundamental importancia para la futura inserción del estudiante en algún equipo de trabajo.

Las herramientas utilizadas en bioinformática, si bien son algoritmos en muchos casos similares a los utilizados por otros programas convencionales, deben ser practicados para asegurar el afianzamiento de este recurso sumamente valido a la hora de aprovechar los abundantes resultados que se acumulan diariamente en el mundo científico.

Recientemente el Primer Congreso Internacional de Bioinformática recomendó la incorporación de la bioinformática en las ciencias biomédicas, ya sea dentro de la currícula de grado o en forma de cursos de posgrado¹¹.

El trabajo práctico autoguiado presentado aquí intenta mostrar de manera ágil y dinámica las posibilidades para el uso de las herramientas bioinformáticas básicas en genómica, transcriptómica y proteómica. Con el fin de validar esta metodología, la misma fue

TABLA 2: Resultados por grupo. Codificación: si contesta bien se le asigna el valor "1", en caso de contestar mal o no contestar se le asigna el valor "0".

| Pre | G 1 | G 2 | G 3 | G 4 | G 5 | G6 | G7 | G 8 | G 9 | G10 | G11 | G12 | G13 | G14 | G15 | % |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Nº1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 100 |
| Nº2 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 93 |
| Nº3 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 100 |
| Nº4 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 100 |
| Nº5 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 93 |
| Nº6 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 100 |
| Nº7 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 100 |
| Nº8 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 100 |
| Nº9 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 60 |

aplicada en las clases impartidas en la asignatura Biología Celular y Molecular de la carrera de Bioquímica durante su edición 2005.

Nuestros resultados muestran que prácticamente todos los alumnos pudieron contestar correctamente las preguntas de la 1 a la 8 en las que se introducen conceptos básicos que el alumno debe conocer en genómica y transcriptómica. Sin embargo, la pregunta 9 que introduce al mundo de la proteómica solo pudieron contestarla correctamente el 60% de los grupos. Para evaluar los posibles motivos se realizó un análisis detallado de las respuestas de los grupos que fallaron en este ítem. En dos casos pueden atribuirse la falla a la falta de conocimientos en cuanto a la sinonimia de la nomenclatura utilizada ya que las proteínas se encuentran cristalizadas bajo nombres poco frecuentes. Mientras que en los otros 4 casos se debió probablemente a una falta de comprensión de la guía proporcionada o a una mayor necesidad de prácticas necesitándose probablemente para futuras experiencias de la incorporación de clases contando con una sala de informática, con practicas personalizadas sobre el uso de estos programas. Esto también refleja la necesidad de intensificar la formación en informática. La mayoría de los alumnos manejan algoritmos sencillos con planteos informáticos, mientras que fallan en la comprensión guiada a través de textos de manejo de programas como es el caso de RasMol, por lo que se necesita una demostración mas exhaustiva, antes de la presentar otro tipo de programas de mayor complejidad teórica como son los de modelización molecular.

Por otro lado debemos destacar que la incorporación como uno de los últimos trabajos prácticos permite la integración de contenidos y sienta una base para la aplicación de la Bioinformática en cursos posteriores.

Todo lo expuesto nos hace concluir que la demanda de conocimientos en bioinformática puede ser incorporada dentro de los currícula de grado en

sucesivos niveles que permitan aumentar la complejidad de estas prácticas. Además es posible realizarlo de manera no presencial mediante guías temáticas que muestren exhaustivamente a los alumnos como avanzar a cada paso, para luego desafiar su ingenio planteándoseles situaciones problemáticas de soluciones particulares.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean transmitir su sincero agradecimiento a los integrantes de la Cátedra de Biología Celular y Molecular de la Carrera de Bioquímica de la FCEQyN por su colaboración en la realización de las clases presenciales que aquí se mencionan.

BIBLIOGRAFÍA

1. Claros Díaz MG, Avila Saez C, Gallardo Alba F, Cánovas Ramos FM. Bioquímica Aplicada: Diseño experimental y análisis de datos. Oviedo (España): Septem Ediciones, 2001.
2. Salter H. Teaching bioinformatics. *Biochem Educ* 1998; 26: 3-10.
3. Primrose SB. Principles of genome analysis: A guide to mapping and sequencing DNA from different organisms. Blackwell Science, 1998.
4. Andrade MA, Sander C. Bioinformatics: From genomic data to biological knowledge. *Curr Opin Biotechnol* 1997; 8: 675-683.
5. Noriega GO, Vazquez ES. Strategy for introducing undergraduated students to protein structure. *Biochem Mol Biol* 2000; 28: 200-202.
6. Sayle RA, Milner-White EJ. Rasmol: Biomolecular graphics for all. *Trends Biochem Sci* 1995, 20 : 374-376.
7. Perezleo Solórzalo L, Arencibia Jorge R, Conill Gonzalez C, Anchón Veloz G, Araújo Ruiz J. Impacto de la bioinformática en las ciencias biomédicas. *ACIMED* 2003; 11 (4).
8. Trends guide to bioinformatics: Suplemento de Elsevier Trends Journals 1998.
9. User's Guide. *Nature Genetics* 2003; 35, 70 – 73.
10. Bernstein HJ. Recent changes to Rasmol, recombining the variants. *Trends Biochem Sci* 2000; 25: 35-37.
11. Valdivial AJ, Febles Rodríguez JP. Primer Congreso Internacional de Bioinformática: Reflexiones y perspectivas. *ACIMED* 2004; 12 (4): 1-1.