

1. Generación de un nuevo genoma de referencia del Apicomplexa *Cryptosporidium* spp. aislado de un paciente colombiano y estudio de genómica comparada frente a genomas disponibles de este género

Laura Marcela Arias-Agudelo^{1,2}, Gisela María García-Montoya²,
Juan Fernando Alzate-Restrepo^{2,3}, Ana Luz Galván-Díaz⁴

INTRODUCCIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Cryptosporidium spp., es un apicomplexa intestinal considerado una de las principales causas de diarrea en humanos y animales. En la actualidad se describen 38 especies, siendo *C. hominis* y *C. parvum* las más frecuentes en el hombre. Las especies de este género presentan diferencias en cuanto a su hábitat, especificidad de hospedero, distribución geográfica y virulencia. Sin embargo, hasta el momento, poco se conoce sobre las bases genéticas que expliquen estas diferencias.

Los análisis genómicos han demostrado ser esenciales para la comprensión de la biología de numerosos organismos, incluidos los eucariotes. Entre las aplicaciones de esta disciplina se encuentran la predicción funcional de variantes genéticas, identificación de blancos con potencial farmacológico y diagnóstico, factores de virulencia y marcadores de variabilidad genética.

En el caso de *Cryptosporidium* spp., el uso de técnicas moleculares y el acceso a plataformas de secuenciación de primera y segunda generación ha permitido realizar análisis de genómica estructural y funcional de las principales especies, publicándose el genoma completo de *C. hominis* y *C. parvum* en 2004. Si bien ambas especies fueron aisladas en diferentes ubicaciones geográficas la sintenia se conserva y exhiben

una similitud a nivel de nucleótidos de 95-97 %, por ello se ha propuesto que las diferencias fenotípicas entre ambos organismos se deben principalmente a polimorfismos sobre regiones codificantes y cambios en la regulación génica. Actualmente en la base de datos CryptoDB, se cuenta con 24 genomas de diferentes aislados/especies de este protozoo. La mayoría de estos proyectos genómicos se han realizado a partir de aislados de países desarrollados, mantenidos ya sea en cultivos *in vitro* o con pases en animales. En Colombia se publicó, el que a la fecha es el primer genoma de *Cryptosporidium* del continente americano- *C. hominis* UdeA01, lo que evidencia la necesidad de alimentar las bases de datos con genomas de especies y subgenotipos que circulen en América. Adicionalmente, los análisis de genómica comparada entre especies de *Cryptosporidium* son escasos, y están enfocados únicamente en *C. hominis* y *C. parvum*, lo cual contribuiría al estudio de las diferencias que presenta el género. Por lo anterior en este trabajo se pretende realizar análisis de genómica comparada con los genomas disponibles de diferentes especies del género *Cryptosporidium* spp. Incluyendo aislados colombianos.

METODOLOGÍA

Se detectará el parásito en materia fecal con la coloración de Ziehl Neelsen modificada y amplificación de *ssuRNA* y *gp60* para identificar especie y subgenotipo. Los ooquistes se purificarán y se extraerá el ADN para posterior secuenciamiento Illumina MiSeq; los reads serán depurados y fusionados. Se ensamblará el genoma de Novo con NEWBLER y SPAdes. Los pseudocromosomas serán ensamblados con ABACAS. Todos los modelos cromosómicos se validarán con iCORN, IMAGE y amplificación por PCR. Para la anotación se combinará estrategia automática con RATT y curación manual con ARTEMIS. Para los análisis de genómica comparada se detectarán indels y variantes de un nucleótido (SNV) con MAUVE y MUMMER. Se extraerán los genes con mayores variaciones y se anotarán según bases de datos GENE ONTOLOGY, STRING y KEGG.

RESULTADOS ESPERADOS

- Contribución al conocimiento de la genómica de *Cryptosporidium* spp. en el país, con la generación y anotación del segundo genoma de un aislado colombiano.

¹ Estudiante de Maestría Corporación Académica de Ciencias Básicas Biomédicas

² Grupo de Parasitología, Facultad de Medicina. Universidad de Antioquia

³ Centro Nacional de Secuenciación Genómica – SIU Universidad de Antioquia

⁴ Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia

Macroproyecto: "Estudio de prevalencia, diversidad genética y genómica de *Cryptosporidium* en población VIH positiva de Antioquia" COLCIENCIAS 115-777 57608

Correspondencia: Ana Luz Galván Díaz; ana.galvan@udea.edu.co

- Establecimiento de un mapa de la variación génica de los genomas de especies colombianas respecto a los que se encuentran depositados en las bases de datos.
- Exploración de la relación entre las variaciones genéticas identificadas y las diferencias fenotípicas entre especies de *Cryptosporidium*.