



La secuenciación genómica masiva aplicada a la seguridad alimentaria

La SGM aplicada a la seguridad alimentaria



1. Introducción a Biopolis SL

2. La secuenciación genómica masiva

3. Desarrollos en Biopolis SL

4. Conclusiones

La SGM aplicada a la seguridad alimentaria



1. Introducción a Biopolis SL

2. La secuenciación genómica masiva

3. Desarrollos en Biopolis SL

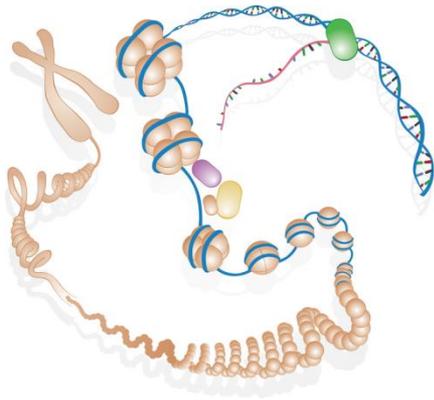
4. Conclusiones

Información general



- Biopolis SL nació en el año 2003 como una *spin-off* del CSIC
- Sus socios actuales son Central Lechera Asturiana, CSIC, Naturex y Talde Capital Riesgo
- Ofertamos algo distinto: una I+D que cubre todo el desarrollo de un producto en fuerte interacción con el cliente
- Usa la excelencia científica como una herramienta para comercializar productos de alto valor añadido
- Tiene tres líneas de negocios: servicios de I+D a la carta, producción industrial de microorganismos y licencia de sus desarrollos internos

Lifesequencing SL



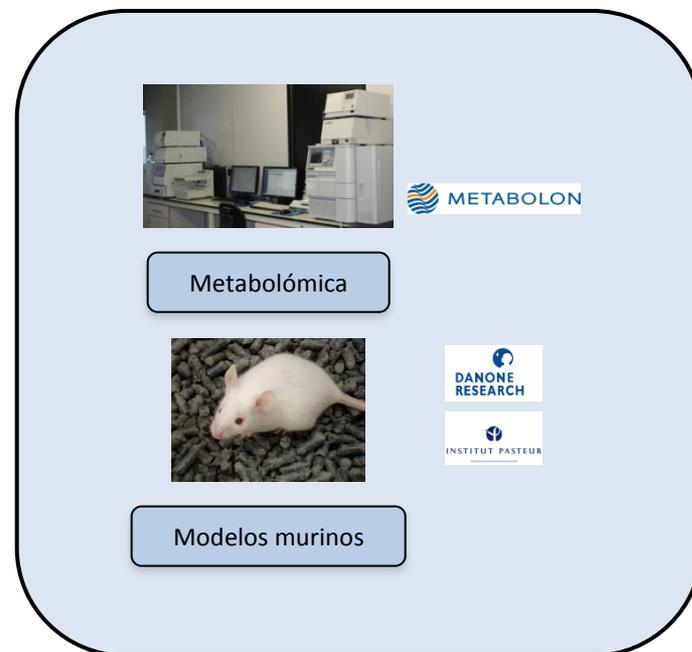
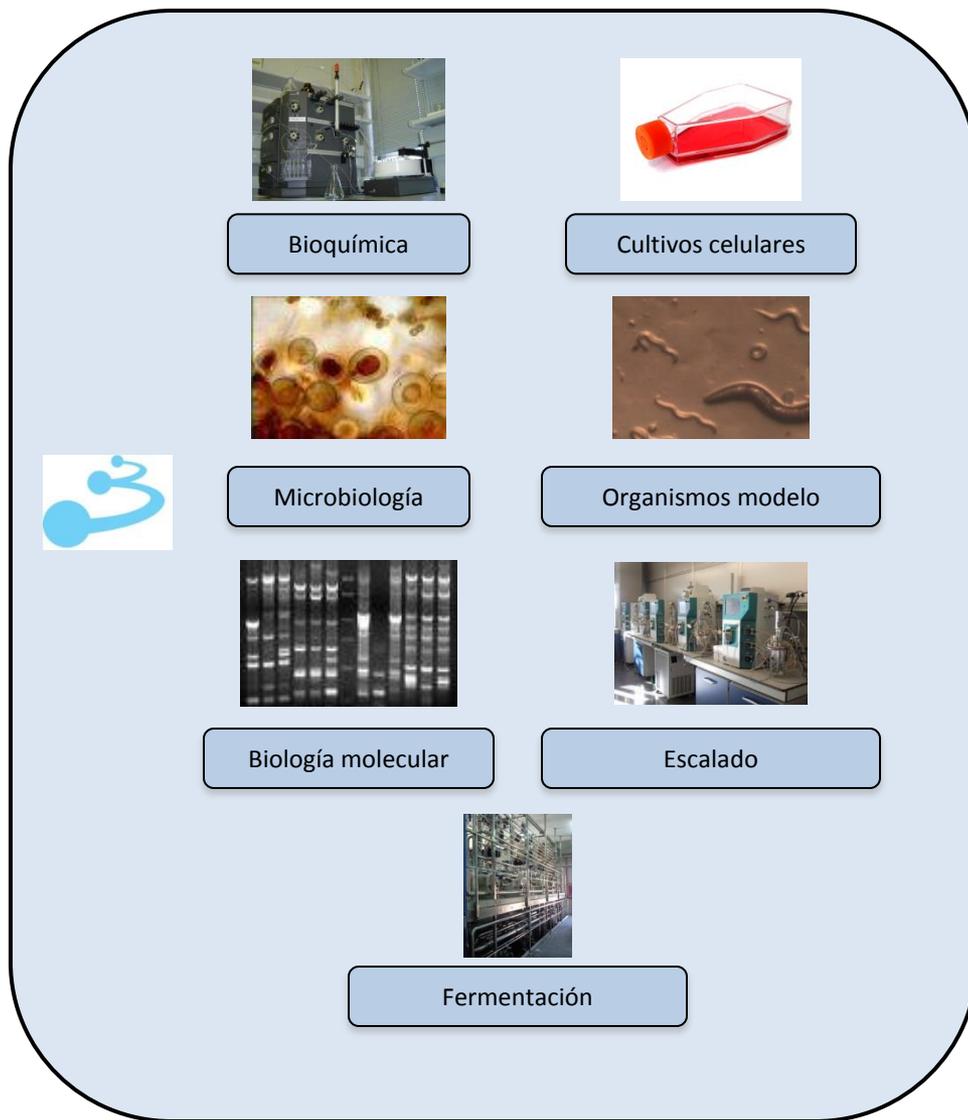
- Lifesequencing SL es una compañía especializada en la secuenciación genómica masiva
- Los socios son Biopolis SL (60%) y Secugen SL (40%)
- La compañía tiene tres tecnologías de secuenciación: pirosecuenciación por 454 FLX GS de Roche, ultrasecuenciación por Ion Torrent y MiSeq Illumina
- Además, tiene dos alianzas comerciales; una con el Beijing Genomics Institute que le permite ofrecer la tecnología de HiSeq y NextSeq de Illumina y otra con la compañía californiana PacBio para usar su tecnología
- Finalmente, Lifesequencing SL y Genometra SL sellaron en el 2013 una AIE para reforzar sus actividades bioinformáticas
- La compañía está radicada en el Centro de I+D de Biopolis SL

Instalaciones de la empresa



- Biopolis SL está ubicada en un edificio de 1500 m² en el Parc Científic de la Universitat de València
- En este edificio cuenta con once laboratorios y dos plantas de producción (una GMO y otra no-GMO), así como toda una serie de instalaciones anejas
- Todas las instalaciones han sido autorizadas por la Comisión Nacional de Bioseguridad

Las plataformas de Biopolis SL



Lo más importante: nuestra plantilla



- En el grupo Biopolis trabajan 49 personas (42 en Biopolis SL y 7 en Lifesequencing SL)
- La mayoría son doctores (18) o licenciados (21); el resto son FP de grado superior (10)
- Nuestra plantilla incluye biólogos, biotecnólogos, farmacéuticos, informáticos, ingenieros agrónomos e ingenieros químicos, químicos, tecnólogos de alimentos, abogados y economistas

Nuestros clientes



La oferta de Biopolis y Lifesequencing



Alimentación humana y animal



Química fina y farmacia

Evaluación de
ingredientes
funcionales

Producción de
probióticos

Revalorización de
residuos

Genómica masiva

La SGM aplicada a la seguridad alimentaria



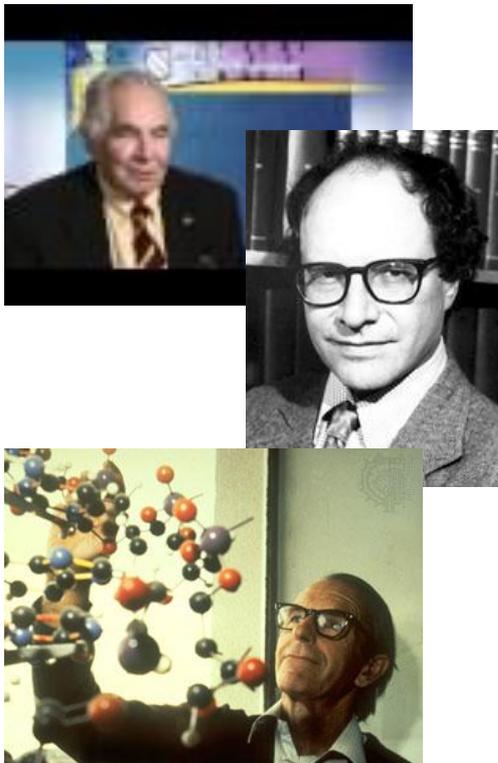
1. Introducción a Biopolis SL

2. La secuenciación genómica masiva

3. Desarrollos en Biopolis SL

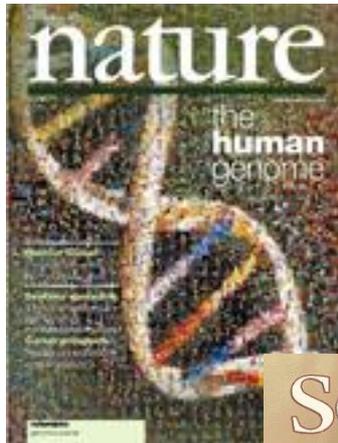
4. Conclusiones

El inicio de la secuenciación genómica



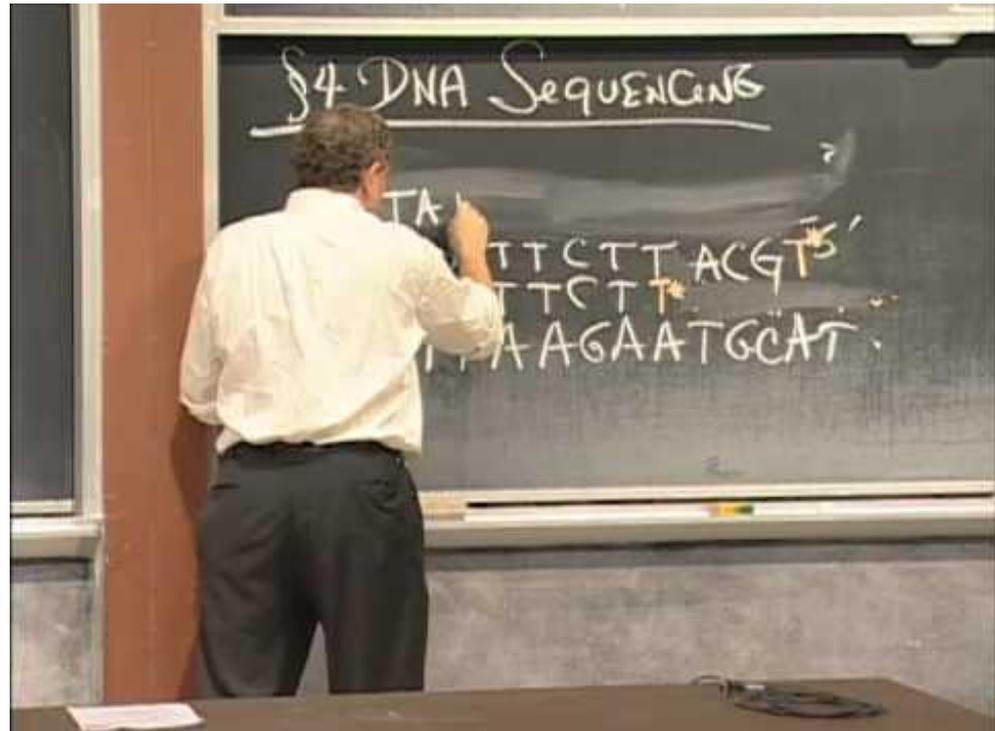
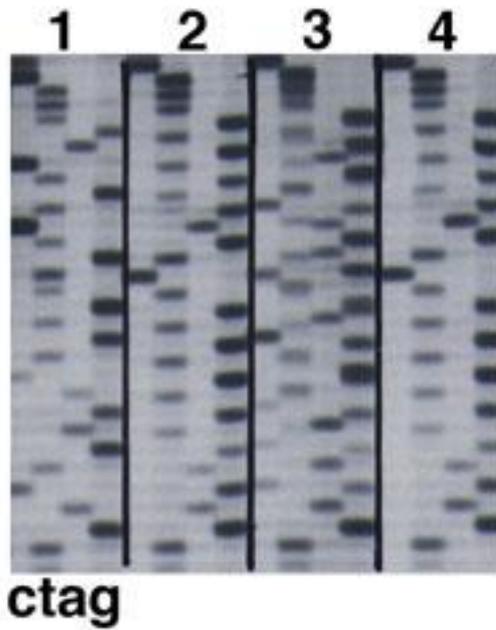
- Las primeras tecnologías para la secuenciación del DNA se inventaron a finales de la década de los 70
- Dos grupos diferentes, el de Maxam y Gilbert en la Universidad de Harvard y el de Sanger en la Universidad de Cambridge, desarrollaron dos métodos para hacerlo
- La tecnología de Sanger ha sido la más usada; su método se basa en la separación electroforética de mezclas de productos de DNA extendidos con terminadores marcados con isótopos radioactivos
- Su uso se incremento notoriamente cuando en los 90 se usaron terminadores marcados con fluoróforos y detectores automáticos de láser

El primer genoma humano



- El gran logro de estas técnicas fue conseguir secuenciar el genoma humano
- El 15 de febrero del 2001 se publicaba en la revista Nature el primer borrador del genoma humano obtenido por el “International Human Genome Project”
- Un día más tarde, la revista Science publicaba un segundo borrador obtenido por la compañía norteamericana Celera Genomics
- En ambos casos, los datos se obtuvieron mediante la tecnología de Sanger
- Aunque fue un hito en la historia de la biomedicina, estos borradores eran muy incompletos: sólo cubrían el 90% del genoma eucromático, tenía más de 250.000 interrupciones y contenía muchos errores

La prehistoria

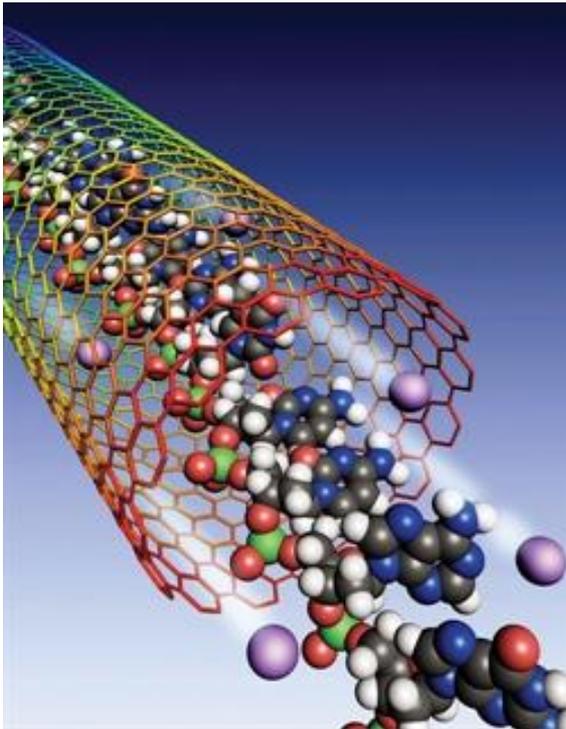


Los números de la tecnología Sanger



- La tecnología capilar de Sanger detecta 500-600 bases de un total de 96 reacciones en 10 horas, de forma que es posible producir 115.000 bases por día
- Se han desarrollado procesos de preparación de muestras que son altamente eficaces
- También se dispone de buenos programas bioinformáticos para procesar la información generada
- Aun así, secuenciar un genoma humano con esta tecnología costó 10 años y una inversión de 3000 millones de dólares

Secuenciación genómica masiva



- En el año 2005 comenzaron a aparecer estrategias de secuenciación del DNA totalmente diferentes de la secuenciación capilar
- En estos equipos, llamados de “secuenciación genómica masiva”, se consiguen lecturas mucho más altas por instrumento y día y a un menor coste
- Se ha producido una competencia feroz entre las diferentes compañías que han creado estas máquinas; el resultado final ha sido una mayor longitud de lectura, una cantidad mayor de lecturas/día, un incremento de la fiabilidad y una bajada de precios

La carrera genómica



2001

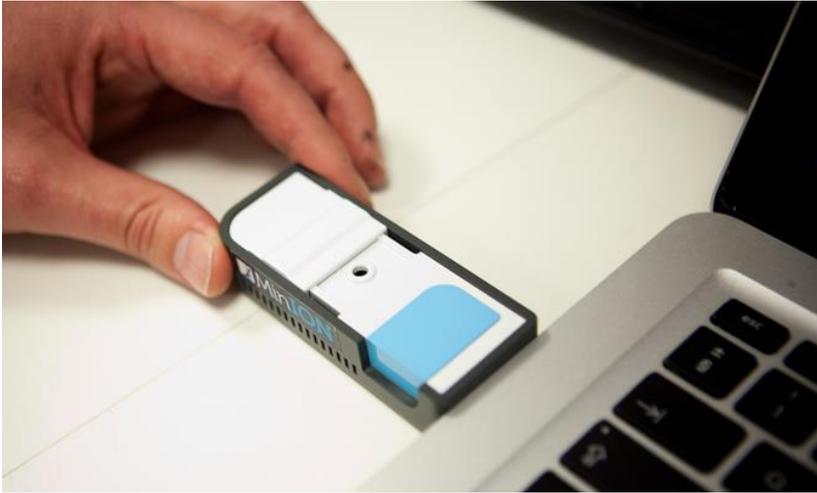
10 años
3000 millones \$
3000 científicos



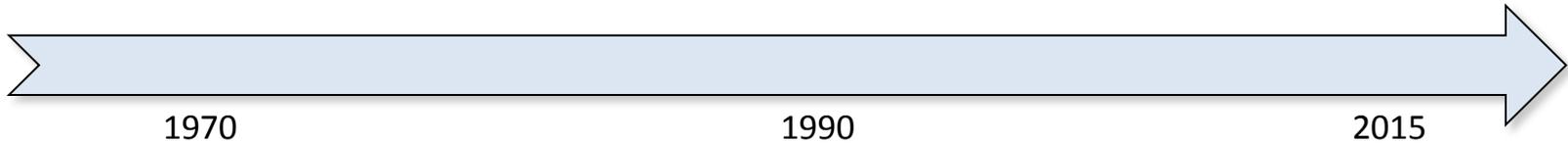
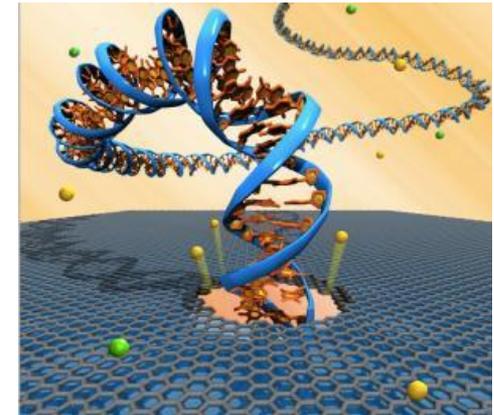
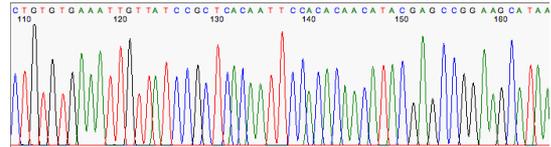
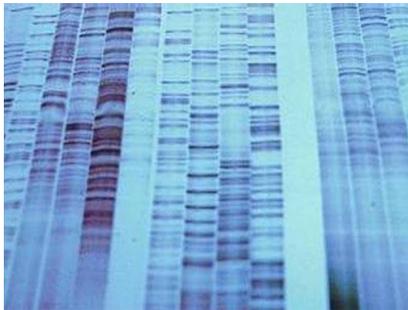
2014 Q1

3 semanas
4000-8000 €
1 técnico FP

El futuro



10 minutos
200 \$
¿1/4 técnico FP?



Plataformas actuales



©2018 Illumina, Inc. All rights reserved.

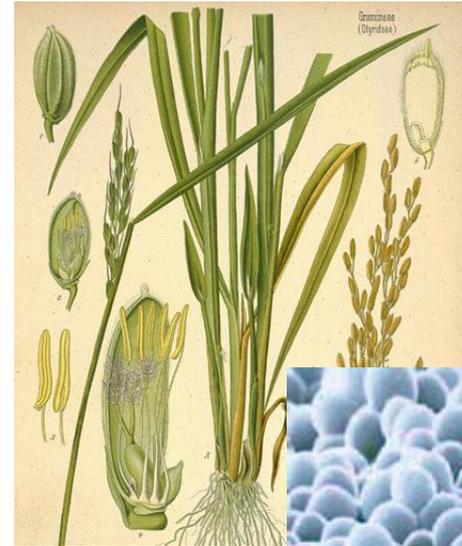


Oxford
NANOPORE
Technologies



Secuenciación de genomas

- El pasado domingo se habíann secuenciado completamente 53.369 genomas de distintos animales, plantas y microorganismos
- Entre otros genomas de interés agroalimentario se han secuenciado los genomas del arroz, el maíz, el trigo, la judía, la uva, el tomate, el cacao, la levadura panadera o muchas bacterias lácticas y levaduras industriales



<https://gold.jgi-psf.org>

Descifrando los microbiomas



Muestra



Aislamiento del DNA



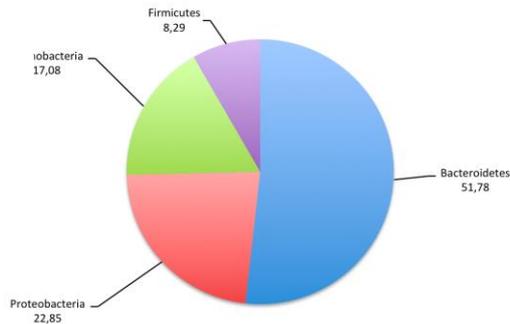
Amplificación del DNA



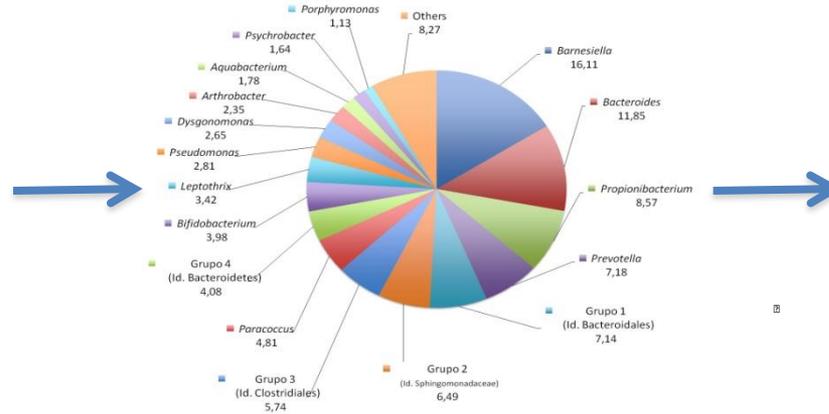
MGS



Bioinformática



Phylum



Género

Bacterial Species	Percentage
<i>Barnesiella</i> <i>intestini</i> <i>hominis</i>	15,12
<i>Bacteroides</i> <i>acidifaciens</i>	10,11
<i>Propionibacterium</i> <i>acnes</i>	8,47
<i>Caulobacter</i> <i>teidyia</i>	6,49
<i>Paracoccus</i> <i>narcusii</i>	4,81
<i>Bifidobacterium</i> <i>breve</i>	3,03
<i>Prevotella</i> <i>buccae</i>	2,97
<i>Dysgonomonas</i> <i>rossii</i>	2,57
<i>Prevotella</i> <i>boescheii</i>	1,98
<i>Flavonifractor</i> <i>plautii</i>	1,94
<i>Pseudomonas</i> <i>sigulae</i>	1,94
<i>Arthrobacter</i> <i>bergere</i>	1,35
<i>Prevotella</i> <i>bris</i>	1,03

Especie

La SGM aplicada a la seguridad alimentaria



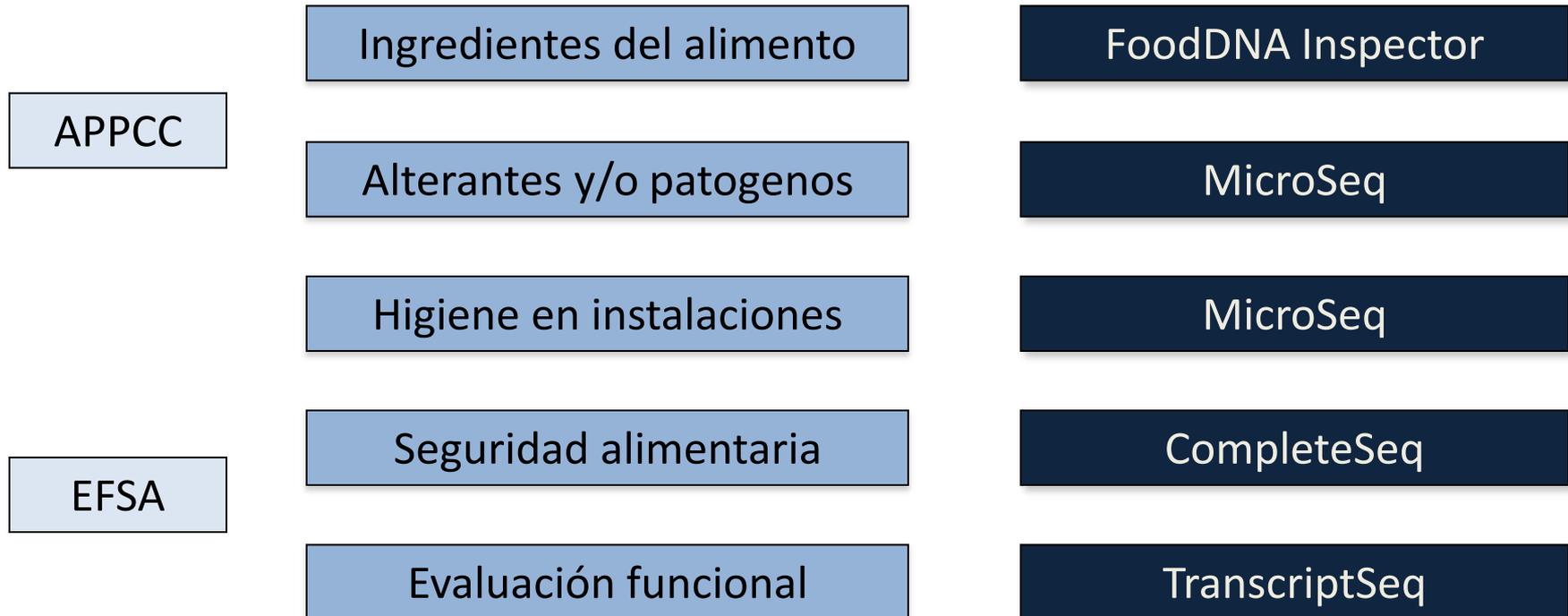
1. Introducción a Biopolis SL

2. La secuenciación genómica masiva

3. Desarrollos en Biopolis SL

4. Conclusiones

Aplicaciones en la alimentación



FoodDNAInspector®

ANÁLISIS DE EXTRACTOS VEGETALES

Lifesequencing ofrece su servicio de detección de fraudes alimentarios para ingredientes y alimentos provenientes de especies vegetales, utilizando la tecnología más avanzada de secuenciación, la secuenciación genómica masiva (SGM).

Metodología:

- ✓ Aislamiento de ADN de muestras complejas
- ✓ Ultrasecuenciación del gen *rbc* mediante SGM
- ✓ Bioinformática a la carta: identificación de especies vegetales
- ✓ Informe técnico, composición y perfil de pureza

Alcance: materias primas, ingredientes o extractos vegetales y alimentos procesados.



Marco teórico:

El gen que codifica la subunidad grande de la RUBISCO (Ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa) denominado *rbc*, está localizado en el genoma del cloroplasto, y es una de las secuencias más usadas para la detección de especies de plantas (Matheson *et al.* 2008, Bafael *et al.* 2012, de Vere *et al.* 2012).

El uso de SGM es cada día más accesible debido a su eficacia, rapidez y coste económico. El equipo utilizado por Lifesequencing, MiSeq de Illumina (Illumina Inc, California, USA), permite obtener una gran cantidad de secuencias en un tiempo record.

Mediante el uso de SGM es posible obtener miles de secuencias de los genomas presentes en la muestra problema. El análisis bioinformático de cada una de las secuencias obtenidas permite su adscripción taxonómica frente a las especies descritas en las bases de datos públicas. El resultado es una descripción completa y eficaz de la composición de especies vegetales presentes en la materia analizada y su proporción relativa frente a todas las especies detectadas.



Parque Científico Universidad de Valencia, Edificio 2 Biotecnología.
C/ Catedrático Agustín Escardino, 9. 46980 Paterna (Valencia)
Telf.: +34 963 644 356 Fax: +34 963 160 367. CIF: B97869283,
lifesequencing@lifesequencing.com, www.lifesequencing.com

Permite detectar fraudes en mezclas vegetales

FoodDNA Inspector (II)



98% material vegetal 1
1% material vegetal 2
1% excipientes

Componente	Lote 1	Lote 2
Material vegetal 1	97%	65%
Material vegetal 2	1.5%	0.5%
Otros	1.5%	34.5

Otros	Lote 2
Material vegetal 3	97%
Material vegetal 4	1.5%
Material vegetal 5	
Material vegetal 6	
Material vegetal 7	

FoodDNA Inspector (III)



Pueden llevarse a cabo desarrollos equivalentes para mezclas de especies animales basada en la amplificación de genes del DNA mitocondrial

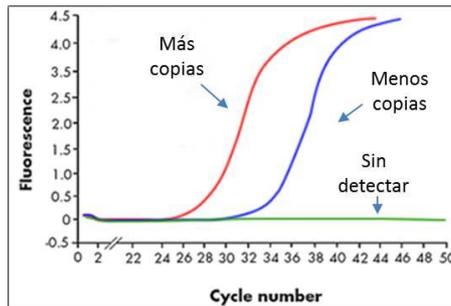
MicroSeq (I)



Cultivo (20-60 €/muestra)



Tiras API (10-40 €/muestra)



PCR/qPCR (5-20 €/muestra)

Permite detectar todos los microorganismos presentes en una muestra, aunque no estén estipulados previamente, y en una única reacción de secuencia

Description	MaxScore	QueryCover	Evalue	Ident
<i>Staphylococcus xylosus</i> strain KL16216S ribosomal RNA gene, partial sequence	1724	98%	0.0	98%
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> subsp. <i>saprophyticus</i> strain ATCC1530516S ribosomal RNA gene, complete sequence	1718	98%	0.0	98%
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> subsp. <i>bovis</i> strain GTC84316S ribosomal RNA gene, partial sequence	1712	98%	0.0	98%
<i>Staphylococcus succinus</i> subsp. <i>tasei</i> strain SB7216S ribosomal RNA gene, partial sequence	1701	98%	0.0	98%

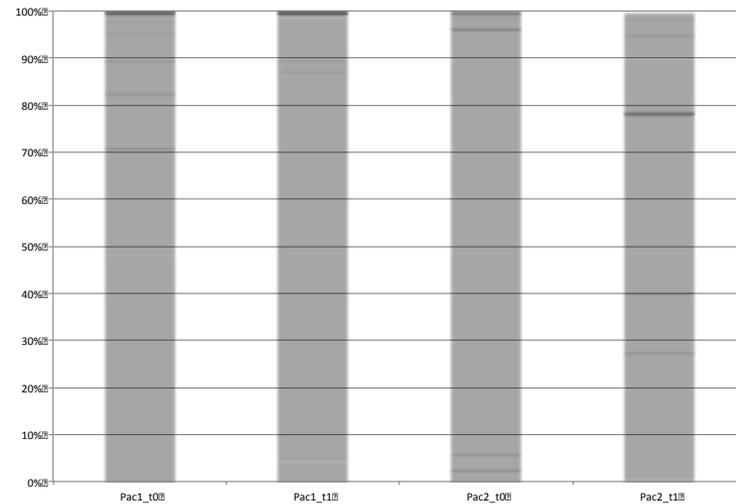
Cepas no patogénicas del género *Staphylococcus* (98%)

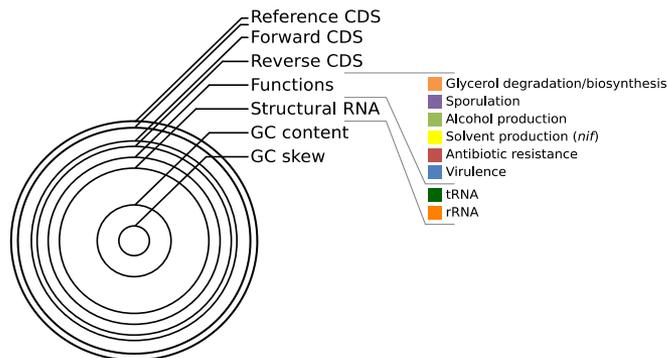
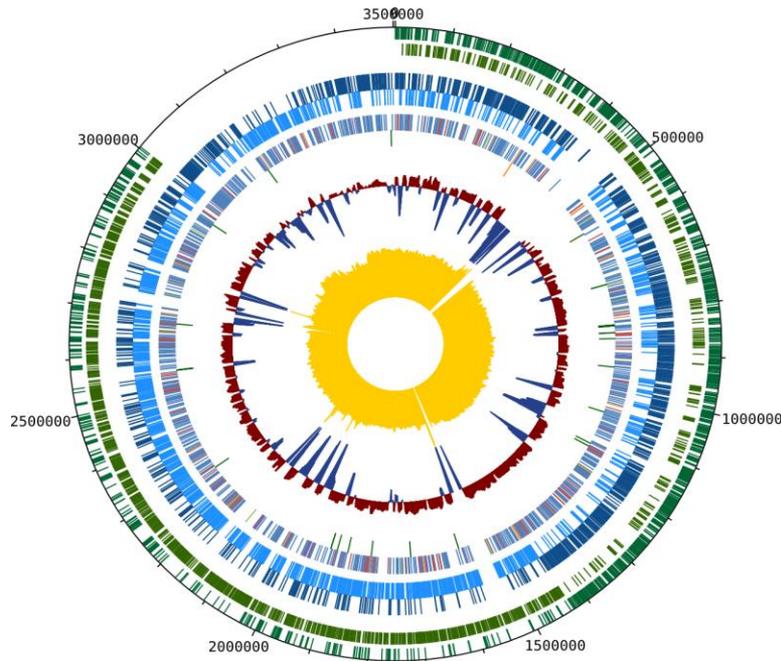
Description	MaxScore	QueryCover	Evalue	Ident
<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> strain N31516S ribosomal RNA, complete sequence	1249	100%	0.0	100%
<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> H116S ribosomal RNA, complete sequence	1249	100%	0.0	100%
<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> strain S3316S ribosomal RNA gene, complete sequence	1249	100%	0.0	100%

Cepa patógena *St. aureus* (2%)

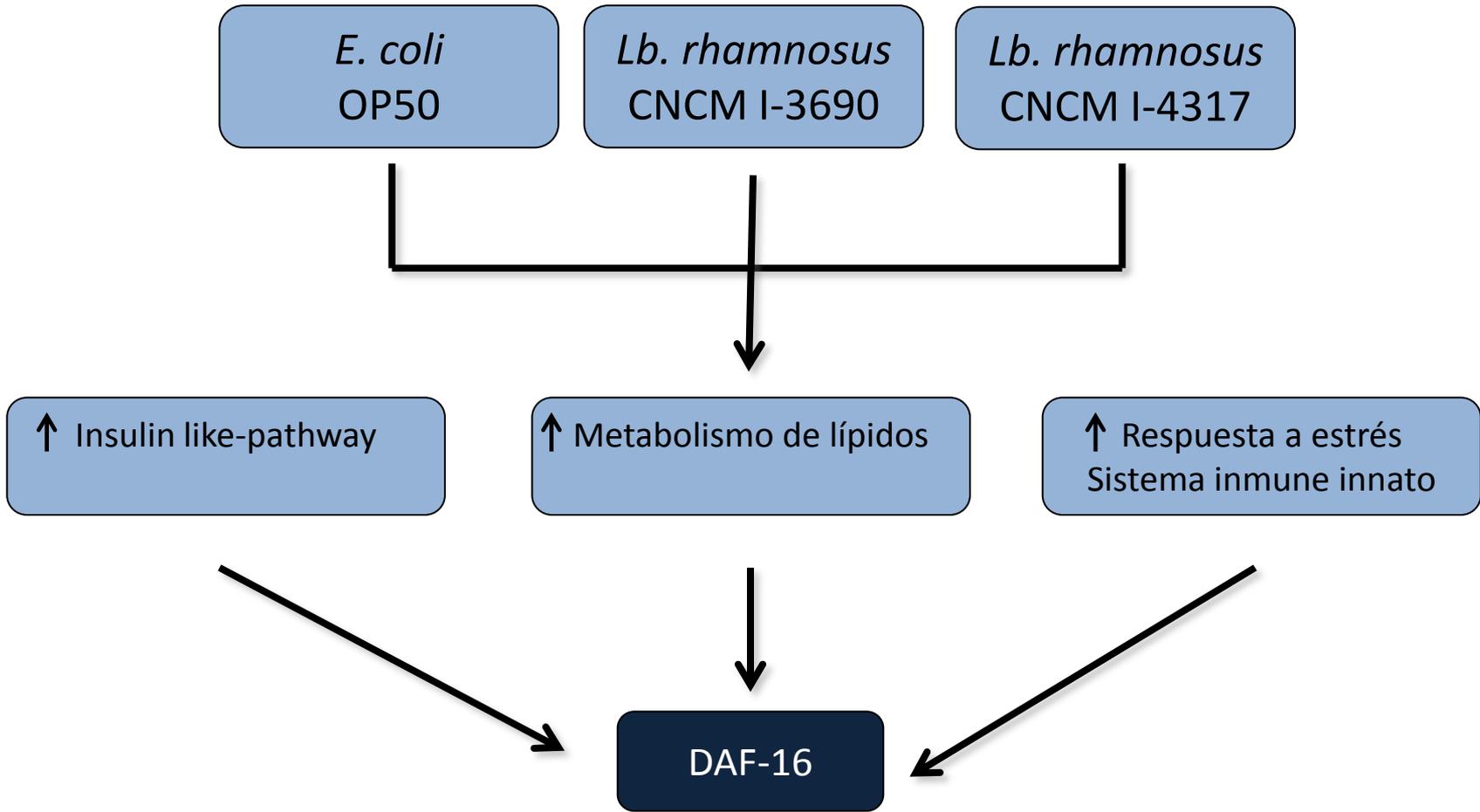
MicroSeq (III)

name	Pac1_t0	Pac1_t1	Pac2_t0	Pac2_t1
[6]Bifidobacteriumiscardovii	48,125	4,639	0	0
[6]StreptococcusSalivarius	22,514	0,188	2,414	0,737
[6]BifidobacteriumPseudocatenulatum	11,556	80,665	0,102	25,789
[6]BifidobacteriumBreve	6,937	2,082	3,514	12,17
[6]BifidobacteriumLongum	5,887	9,029	88,146	36,576
[6]BifidobacteriumBifidum	2,391	0,966	0	0
[6]StreptococcusThermophilus	1,992	0,088	0,255	0,168
[6]LactobacillusSalivarius	0	0	2,261	0
[6]EnterococcusFatti	0	0	1,008	0,362
[6][Ruminococcus]Gnavus	0	0	0	11,032
[6]ClostridiumThylemonae	0	0	0	4,695
[6]EnterococcusGallinarum	0	0	0	3,311
[6]CollinsellaIntestinalis	0	0	0	1,242





- Secuenciación completa del genoma de un microorganismo
- Tenemos gran experiencia en la secuenciación de genomas bacterianos y levaduriformes
- Gran utilidad en estudios de seguridad alimentaria de nuevas cepas microbianas
- Útil en procesos de protección industrial



La SGM aplicada a la seguridad alimentaria



1. Introducción a Biopolis SL

2. La secuenciación genómica masiva

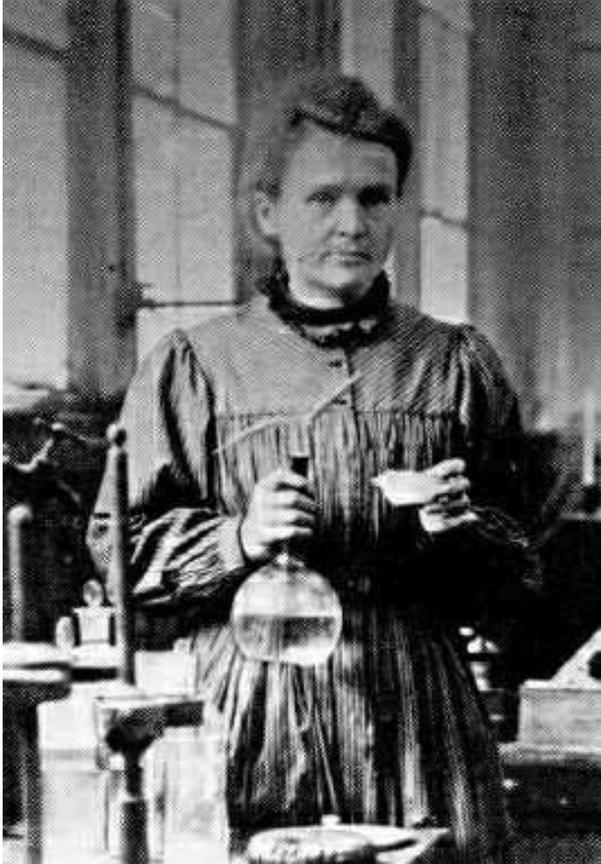
3. Desarrollos en Biopolis SL

4. Conclusiones

El ejemplo de los líderes

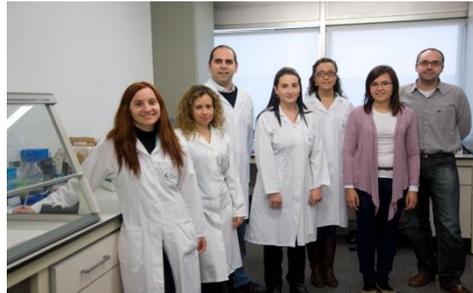
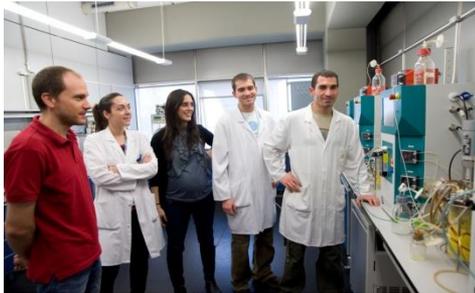
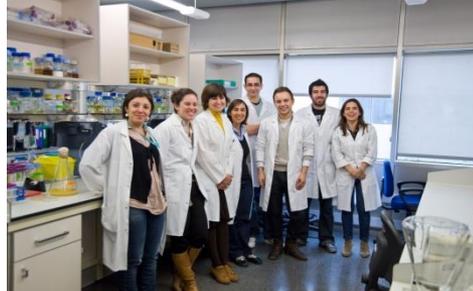


La reflexión final



A lo desconocido no hay que tenerle miedo, simplemente hay que entenderlo

(Marie Curie, 1867-1934)



Daniel Ramón Vidal (daniel.ramon@biopolis.es)

http://www.linkedin.com/profile/view?id=64921252&trk=tab_pro

Biopolis SL

Parc Científic Universitat de València

C/ Catedrático Agustín Escardino Benlloch 9; Edificio B; 469809-Paterna; Valencia