



Bioteecnologías Moleculares S.A. de C.V.
Insurgentes Sur 377 No 102. Col. Hipódromo Condesa.
Del. Cuauhtémoc CP 06100. Ciudad de México
Tel: 55 20963658 www.biotecmol.com.mx
RFC BM090911BP6

Ciudad de México, a 05 de septiembre del 2017

Lic. Jaime Maussan Flota
PRESENTE

Re: Resultados del proceso de secuenciación masiva de ADN antiguo.

Estimado Lic. Maussan,

Por la presente le informo la crónica y el estado en que se encuentra el proceso de análisis genómico que se está realizando a muestras provenientes de distintos tejidos de dos momias.

1.- El 15 de junio de se recibieron 6 muestras provenientes de 2 momias de aproximadamente 1,500 años de antigüedad provenientes de la región de Nazca, Perú. En el cuadro 1, se describen las muestras recibidas.

2.- El 24 de junio se purificó el ADN de las 6 muestras. El ADN se obtuvo en condiciones de esterilidad, minimizando las posibilidades de contaminación, siguiendo estándares recomendados para muestras arqueológicas (Shapiro B, Heslington M. 2012). Se determinó la integridad y cantidad total del ADN recuperado. El ADN presentó un rango de 8,000 pares de bases (pb) a 700 pb, obteniendo de 8 ug a 0.5 ug.

En el cuadro 2 se muestra la cantidad recuperada de cada muestra y en la figura 1, la evaluación del tamaño y cantidad del ADN antiguo obtenido.

3.- El 27 de junio las muestras 1,3, 5 y 6, fueron seleccionadas considerando que tenían la cantidad adecuada de ADN para ser procesada y se entregaron al Dr. Alfredo Mendoza Vargas, encargado de la Unidad de Secuenciación e Identificación de Polimorfismos del Instituto Nacional de Medicina Genómica, para que las muestras fueran procesadas para ser leídas en un secuenciador masivo (Illumina Myseq). Con el fin de mejorar el éxito de la secuenciación se propuso realizar reparaciones del ADN a las modificaciones químicas que sufre debido a la edad. Esta reparación se realizó con el Kit PreCR® Repair Mix de New England Biolabs M0309S. Este fue importado, y se utilizó el 11 de agosto

Después de la reparación y purificación el ADN fue cuantificado obteniéndose:

Momia 1 0.896 ng/ul con aprox. 13 ul
Momia 3 0.132 ng/ul con aprox. 13 ul
Momia 5 0.144 ng/ul con aprox. 13 ul
Momia 6 0.196 ng/ul con aprox. 13 ul

Con estos ADN se prepararon bibliotecas para efectuar la secuenciación masiva. La muestra de la momia 1 se realizó con 10 ng y del resto de muestras entre 1-2 ng con todo el volumen que se contaba.

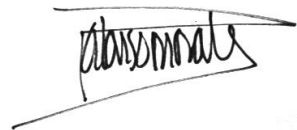
4.- El 29 de agosto se obtuvo la secuenciación de las muestras, lográndose aproximadamente 600,000 lecturas por muestra. En la siguiente liga se puede encontrar las lecturas genómicas obtenidas.

<https://www.dropbox.com/sh/yd9gitxd09ecpux/AAAHtROmZ10yp6u2gEYCsg53a?dl=0>

Las lecturas de ADN para cada muestra fueron evaluadas en la plataforma BaseSpace Sequence Hub de Illumina, empleando una aplicación que permite alinear las secuencias con el genoma humano. Estos resultados se presentan en las figuras 2 – 5. En general se encontró que las lecturas del ADN contienen aproximadamente un 30% de ADN con similitud al ser humano. El resto de las secuencias muy probablemente son secuencias de origen bacteriano, lo que es común encontrar en este tipo de muestras.

5.- Las lecturas del ADN antiguo están en este momento en estudio bioinformático, para conocer que información genética se puede recuperar, analizar su significado y determinar si conviene obtener una secuenciación genómica de mayor profundidad, con la intención de obtener mayor información y definir los orígenes ancestrales de las muestras.

En espera de sus comentarios, le envío saludos cordiales.



Dr. Rogelio A. Alonso Morales.

Referencias: Shapiro B, Heslington M. 2012. Ancient DNA - Methods and Protocols. Humana Press

Cuadro 1.- Listado de las muestras antiguas recibidas el día 15 de junio 2017

# ID	Leyenda en el tubo	Peso gramos
1	HAND 00-1	2.38
2	BRAIN 00-10	1.57
3	MARIA B0 HOM	0.56
4	NECK BONE-MED SEATED 00-12-VICTORIA 540 MG	0.53
5	HIP-MEDIN WL SEATED 02-12 VICTORIA 0.8325 MG	0.33
6	NECK MEDIUM SEATED VICTORIA 00-17 PIEL 187 MG	0.17

Cuadro 2.- Cuantificación ADN obtenido de las muestras antiguas

Muestra No	Concentración en ng/ul	Volumen en ul	Cantidad total ug
1	110	80	8.80
2	19	60	1.14
3	50	60	3.00
4	11	50	0.50
5	25	85	2.12
6	35	35	1.22

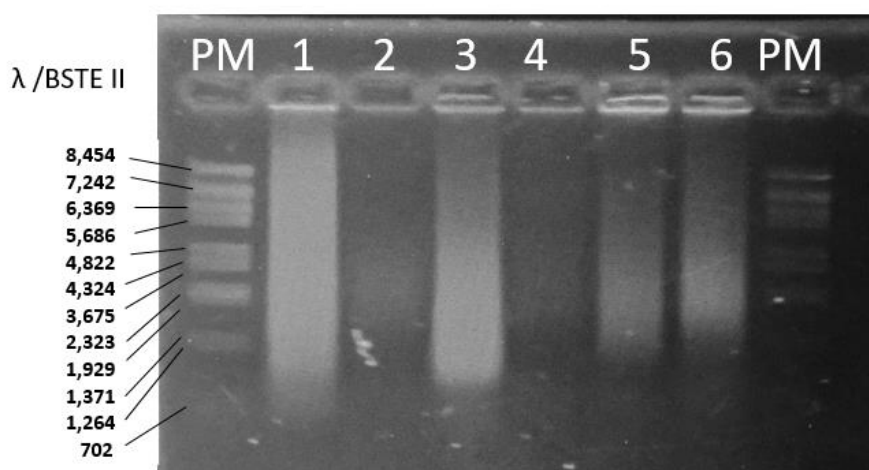


Figura 1.- Evaluación del tamaño y cantidad del ADN antiguo obtenido. Electroforesis en Agarosa 1%. PM- Marcador de peso molecular (DNA lambda /BstEII). A la derecha, se enlistan los pesos moleculares en pb. Arriba de cada carril se muestra el número de la muestra. Se cargaron en cada carril 5 ul de la

Figuras 3-5 Se presenta los resultados obtenidos de las secuencias de ADN antiguo al alinearlas con el genoma humano.

RESULTS FOR INPUT SAMPLE MOMIA3

ALIGNMENT STATISTICS

	Reads	Percentage
Total PF	658,294	100.00%
Paired	658,074	99.97%
Read 1	329,037	49.98%
Read 2	329,037	49.98%
Aligned	221,187	33.60%
Properly Paired	217,914	98.52%
Singletons	2,207	1.00%
Secondary Alignments	220	0.10%
Supplementary Alignments	0	0.00%
Duplicates	12,056	5.45%

Please note that "Paired", "Read 1", "Read 2" and "Aligned" percentages are calculated based on the "Total PF" value. All other percentages are calculated based on the "Aligned" value.

Secondary Alignments: Alignments for reads mapping to multiple locations that are not considered the primary alignment.

Supplementary Alignments: Partial alignments for reads split across multiple genomic locations. The first part of the alignment is the primary alignment and the other parts are called supplementary alignments.

Duplicates: Aligned reads marked as possible PCR duplicates by MarkDuplicates.

For more details, please see the [SAM specification](#).

RESULTS FOR INPUT SAMPLE MOMIA1

ALIGNMENT STATISTICS

	Reads	Percentage
Total PF	684,995	100.00%
Paired	682,622	99.65%
Read 1	341,311	49.83%
Read 2	341,311	49.83%
Aligned	135,774	19.82%
Properly Paired	126,544	93.20%
Singletons	3,917	2.88%
Secondary Alignments	2,373	1.75%
Supplementary Alignments	0	0.00%
Duplicates	2,167	1.60%

Please note that "Paired", "Read 1", "Read 2" and "Aligned" percentages are calculated based on the "Total PF" value. All other percentages are calculated based on the "Aligned" value.

Secondary Alignments: Alignments for reads mapping to multiple locations that are not considered the primary alignment.

Supplementary Alignments: Partial alignments for reads split across multiple genomic locations. The first part of the alignment is the primary alignment and the other parts are called supplementary alignments.

Duplicates: Aligned reads marked as possible PCR duplicates by MarkDuplicates.

For more details, please see the [SAM specification](#).

RESULTS FOR INPUT SAMPLE MOMIA5

ALIGNMENT STATISTICS

	Reads	Percentage
Total PF	675,694	100.00%
Paired	675,302	99.94%
Read 1	337,651	49.97%
Read 2	337,651	49.97%
Aligned	196,731	29.12%
Properly Paired	194,598	98.92%
Singletons	983	0.50%
Secondary Alignments	392	0.20%
Supplementary Alignments	0	0.00%
Duplicates	2,805	1.43%

Please note that "Paired", "Read 1", "Read 2" and "Aligned" percentages are calculated based on the "Total PF" value. All other percentages are calculated based on the "Aligned" value.

Secondary Alignments: Alignments for reads mapping to multiple locations that are not considered the primary alignment.

Supplementary Alignments: Partial alignments for reads split across multiple genomic locations. The first part of the alignment is the primary alignment and the other parts are called supplementary alignments.

Duplicates: Aligned reads marked as possible PCR duplicates by MarkDuplicates.

For more details, please see the [SAM specification](#).

RESULTS FOR INPUT SAMPLE MOMIA6

ALIGNMENT STATISTICS

	Reads	Percentage
Total PF	180,026	100.00%
Paired	179,922	99.94%
Read 1	89,961	49.97%
Read 2	89,961	49.97%
Aligned	65,296	36.27%
Properly Paired	64,232	98.37%
Singletons	498	0.76%
Secondary Alignments	104	0.16%
Supplementary Alignments	0	0.00%
Duplicates	809	1.24%

Please note that "Paired", "Read 1", "Read 2" and "Aligned" percentages are calculated based on the "Total PF" value. All other percentages are calculated based on the "Aligned" value.

Secondary Alignments: Alignments for reads mapping to multiple locations that are not considered the primary alignment.

Supplementary Alignments: Partial alignments for reads split across multiple genomic locations. The first part of the alignment is the primary alignment and the other parts are called supplementary alignments.

Duplicates: Aligned reads marked as possible PCR duplicates by MarkDuplicates.

For more details, please see the [SAM specification](#).