

DIVISION DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO EL HOMBRE Y SU AMBIENTE  
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

INFORME DE SERVICIO SOCIAL  
(POR ACTIVIDADES RELACIONADAS CON LA PROFESIÓN)

“Análisis de la variabilidad amplia del genoma a partir de muestras obtenidas del proyecto “Estudio epidemiológico genético de trastornos mentales en adolescentes” en el Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz”

QUE PRESENTA LA ALUMNA

**María Jimena Cruz Velázquez**  
(matrícula 2173067137)

ASESORES



**EXTERNA**  
**Dr. Carlos Sabás Cruz Fuentes**  
Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz



**INTERNA**  
**Dr. Gabriel Ricardo Campos Montes**  
Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco

**México, Ciudad de México. Fecha: 01 de septiembre de 2023**

## Resumen.

La importancia del neurotransmisor dopamina (DA) como regulador de diferentes funciones del sistema nervioso central es bien conocida ya que participa en el control de la función motora, en la regulación de los estados emocionales, así como en la fisiología endocrina. Todos estos procesos fisiológicos requieren como paso inicial la unión de esta molécula a un grupo de proteínas receptoras de membrana localizados en diversos órganos y tejidos de entre los que se destacan aquellas localizadas en el cerebro. En el ser humano se han caracterizado 5 proteínas (i.e. D1 a D5) que poseen las características de afinidad por la DA, así como las secuencias que los codifican en el genoma. En particular el gen que codifica para el cuarto receptor a dopamina (nomenclatura DRD4), es uno de los más estudiados en relación con los desórdenes psiquiátricos, ya que es el blanco terapéutico de fármacos con efecto antipsicóticos.

El gen tiene como una de sus características estructurales una secuencia de nucleótidos ubicada en la región correspondiente al exón III constituida por una serie de repeticiones de 48pb en tándem (VNTR) que le otorga una alta variabilidad génica. Más aún, esta región del tercer exón codifica para uno de los dominios funcionales importantes para el proceso de transmisión de la señal biológica de la dopamina, esto es aquel que asocia al receptor con una proteína G de tipo inhibitorio intra- membranar. Esta diversidad genera diferencias respecto a cada individuo, ya que se anticipa que según el tipo de variantes que uno haya heredado se sintetizarán proteínas receptoras con cambios en su estructura que influirán en sus actividades funcionales. Con base a lo anterior, en este trabajo se caracterizaron las variantes alélicas de esta región del gen DRD4, a partir de la amplificación selectiva de la región correspondiente obtenidas de individuos donantes de muestras de ADN. Específicamente, se analizaron muestras de ancestría diversa (i.e. indígena vs. europea) obtenidas por el Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz encontrándose alelos homocigotos 4/4R y 7/7R y alelos heterocigotos 4/7R, así como alelos poco comunes (heterocigotos) con repetidos de 2,3,5 y 6, respectivamente; por lo que se puede observar que hay una diversidad de alelos en este polimorfismo. El análisis de los cambios en la estructura génica de esta región tiene el potencial futuro para emplearse en la identificación de los riesgos genéticos asociados a diversos trastornos psiquiátricos y fenotipos conductuales en donde el receptor D4 parece tener un papel relevante.

**Palabras clave:** *DRD4; Polimorfismo; Trastorno psiquiátrico; Poblaciones indígenas.*

## Índice

1-. Marco Institucional.....	4
2-. Introducción.....	4
3-. Antecedentes del proyecto.....	6
4-. Ubicación geográfica.....	6
5.- Objetivo general del programa.....	7
6.- Especificación y fundamento de las actividades.....	7
6.1 Obtención del ADN genómico.....	7
6.1.1 Lisis celular y purificación de ácidos nucleicos.....	7
6.1.2 Precipitación y lavado de ADN.....	8
6.1.3 Rendimiento y calidad del ADN extraído.....	9
6.2 Amplificación por PCR punto final.....	9
6.3 Integridad de los ácidos nucleicos amplificados.....	10
6.4 Aislamiento y purificación de los fragmentos amplificados.....	12
6.4.1 Solubilización y adsorción de fragmentos.....	12
6.4.2 Lavado y elución del ADN unido a la membrana.....	12
6.4.3 Rendimiento y calidad del ADN.....	13
7-. Impacto de las actividades del servicio social en el programa.....	13
8-. Aprendizaje y habilidades obtenidas durante el desarrollo del servicio social.....	14
9-. Fundamento de las actividades desarrolladas.....	15
10-. Referencias.....	16

## 1. Marco Institucional.

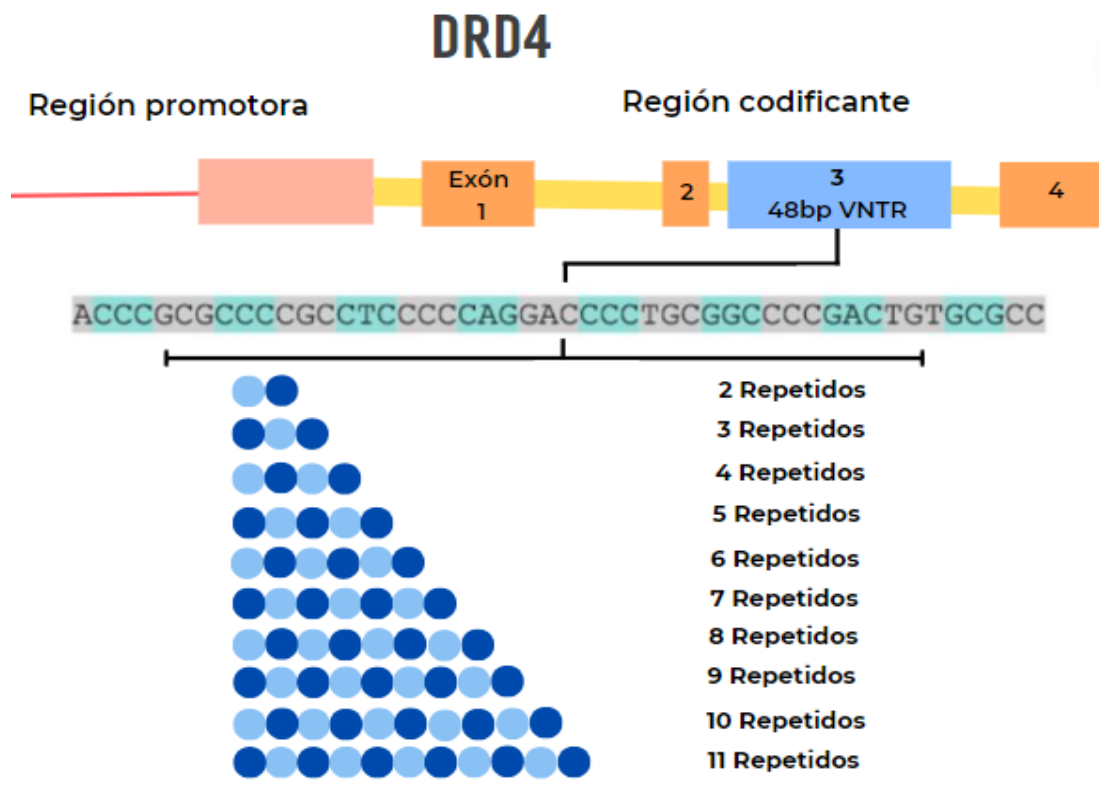
El Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz (INPRFM) nace como una institución pública con la finalidad de mejorar y responder de forma asertiva a las necesidades que presenta la población mexicana en cuanto a los temas de salud mental por medio de la investigación multidisciplinaria de excelencia, la atención médica especializada y la formación de recursos humanos en los principios de calidad y calidez (Cruz-Fuentes, 2011).

Desde su comienzo sus propósitos se ligan a transformar la manera de entender la enfermedad mental a partir de la investigación, de la traducción de los hallazgos científicos en programas, en mejores prácticas para la prevención de la enfermedad, en la atención de las personas que enferman y en recomendaciones para las políticas públicas, así como fortalecer y modernizar los servicios de atención psiquiátrica con un enfoque comunitario, integral y multidisciplinario, realizando acciones de prevención y educación de los trastornos mentales prioritarios, impulsando la formación y capacitación de investigadores y especialistas; por lo que, su visión está centrada en consolidarse como centro líder en neurociencias, investigación clínica, epidemiológica y social, de atención y docencia, capaz de dar respuesta a las prioridades nacionales en salud mental, incluyendo las adicciones (Cruz-Fuentes, 2011; González Moncivais et al., 2020).

## 2. Introducción.

Existe una evidencia experimental sustantiva que apoya el papel de la variabilidad genética en el riesgo a manifestar alguna de las múltiples formas de enfermedad mental, ya que estos cambios pueden afectar a nivel transcripcional de la molécula y por lo tanto influir sobre la expresión de eventos adversos sobre el individuo; esto a su vez con la acción conjunta de factores ambientales, lo que pone de manifiesto el inter-juego entre el ambiente y la genética en la manifestación de la enfermedad psiquiátrica (Caspi y Moffit, 2006; Martínez Levy et al., 2013 y Cruz-Fuentes et al., 2014). Uno de estos genes es el que codifica a la proteína receptora a dopamina de tipo 4 (DRD4), un mensajero químico en el cerebro ubicado en el brazo corto del cromosoma 11 (Aguirre-Samudio y Nicolini, 2005). Este gen es parte de una familia de genes que codifican para 5 tipos de receptores a dopamina y a pesar de que todas unen a este neurotransmisor su estructura proteica no es la misma, ya que se codifican por genes independientes localizados en distintas partes del genoma.

Tiene como característica presentar en una parte de su secuencia de nucleótidos (específicamente en la zona codificante) un sistema polimórfico que corresponde al tercer exón de este gen conteniendo secuencias repetidas en tándem (VNTR) de 48 pares de bases con un alto contenido de citocinas y guaninas variando el número de alelos repetidos (2 de a 11 unidades repetidas) por lo que, la secuencia de nucleótidos que codifica para este gen tiene diferencias respecto a cada individuo, es decir, presenta variantes polimórficas alélicas que son importantes para las modificaciones epigenéticas en la expresión del gen (Figura 1)(Aguirre-Samudio y Nicolini, 2005; Martínez Levy et al., 2013). Existen 3 alelos que representan más de 90% de la variación genética global observada para DRD4: el alelo 4R presenta la frecuencia media global más elevada, seguido por el alelo 7R y 2R con una frecuencia media global de 64%, 20% y 8% respectivamente, siendo 4R/7R el genotipo que otorga mayor predisposición en América y Europa y 2R/4R en Asia (Rothhammer et al., 2012).



**Figura 1.** Estructura del gen receptor a dopamina D4 (DRD4) y sus polimorfismos ubicados en el III exón.

Cuando este se expresa genera un ARN mensajero intermediario y, una vez que se sintetiza en los ribosomas de manera adecuada genera una cadena polipeptídica con la peculiaridad de poseer una estructura que identifica un receptor de membrana con 7 segmentos transmembranales pudiendo incluirse en la membrana plasmática de las neuronas haciendo que sus características de hidrofobicidad e hidrofiliidad de sus aminoácidos faciliten la capacidad de unir a dopamina. No obstante, las propiedades de unión a dopamina al receptor varían en relación con el número de alelos repetidos que se encuentran en el exón 3 ya que una parte de la estructura de la proteína cambia respecto a su tamaño siendo más corta o larga, por lo que esta variación puede influir sobre las actividades funcionales del sistema nervioso central. A su vez, estos receptores (proteínas) son blancos que no solamente unen a dopamina sino también son afines por algunas drogas como la clozapina que se utilizan en el tratamiento farmacológico de algunas enfermedades mentales como la esquizofrenia.

Es por ello por lo que este receptor membranal ha sido empleado como marcador genético en múltiples estudios de asociación relevantes a diversos fenotipos psiquiátricos con el fin de establecer una asociación entre el padecimiento mental y el receptor (e.g. TDAH y esquizofrenia) y de la conducta (e.g. rasgos de personalidad) (Aguirre-Samudio y Nicolini, 2005; Martínez Levy et al., 2013; Sasaki et al., 2013). Particularmente el grupo de investigación de Genética del INPRFM ha caracterizado y reportado la variabilidad de este sistema polimórfico en individuos de ancestría mixta (i.e. indígena/ europea). Dada la diversidad de la estructura genética de las poblaciones que habitan la República Mexicana, en esta rama del proyecto se decidió ampliar el espectro del análisis de esta secuencia polimórfica, incluyendo para ello muestras de ADN genómico obtenidas de individuos pertenecientes a diversas poblaciones indígenas.

### 3. Antecedentes del proyecto.

El proyecto denominado Análisis de la variabilidad amplia del genoma a partir de muestras obtenidas del proyecto “Estudio epidemiológico genético de trastornos mentales en adolescentes”, surgió en el año 2017 como una extensión de un proyecto epidemiológico-genético orientado a identificar el papel que la variabilidad del genoma humano ejerce sobre el riesgo a manifestar una serie de trastornos mentales que se expresan durante la adolescencia. Uno de los requisitos esenciales del mismo fue la obtención de muestras sangre de las cuales se pudiera purificar los ácidos nucleicos para distintos propósitos de

la investigación genético-molecular.

#### 4. Ubicación geográfica.

El Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz, lugar donde se realizará el Servicio Social se localiza en la Calzada México Xochimilco No. 101, Colonia San Lorenzo Huipulco, Delegación Tlalpan, C.P. 14370, Ciudad de México, México.

#### 5. Objetivo general del programa

Analizar la variabilidad amplia de la secuencia polimórfica de la región VNTR de 48bp en el tercer exón del gen DRD4, a partir de muestras de ancestría mixta (i.e. indígena/europea) obtenidas por el INPRFM.

#### 6. Especificación y fundamento de las actividades desarrolladas de acuerdo con el calendario propuesto.

##### 6.1 Obtención del ADN genómico

A 143 muestras se les extrajo el material genético (ADN) a partir de sangre total anticoagulada. Estas muestras son de 7 diferentes grupos étnicos de la república mexicana (Mayas (19 muestras), Huicholes (24 muestras), Purépechas (27 muestras), Mixtecos (7 muestras), Huastecos (16 muestras), Tepehuanos (17 muestras) y Yaquis (33 muestras) proporcionadas por el laboratorio de genética del INPRFM y se procesaron por medio del kit de extracción comercial “*Flexigene DNA Kit (250 ml of blood)*”.

El kit está diseñado para procesar pequeñas cantidades de muestras y proporcionar el aislamiento de ADN genómico de alta calidad a partir de sangre completa. Cuenta con una Proteasa QIAGEN liofilizada, una enzima que desnaturaliza las proteínas unidas al ADN, así como enzimas celulares que podrían digerir el material genético. También posee tres soluciones Buffer: FG1, FG2 y FG3, que tienen la función de permitir la lisis de las membranas celulares, los núcleos y las mitocondrias con el fin de liberar los componentes celulares; actuar como un tampón de desnaturalización proteica que contiene una proteasa usando el uso de la interacción ion-ion para descender las proteínas en la disolución; y una solución amortiguadora donde se mantendrá hidratado el material genético obtenido, respectivamente. Cuando se añade sal a la muestra, los iones sodio con carga positiva son atraídos por las cargas negativas del ADN, neutralizando la carga del ADN y permitiendo a las moléculas de ADN unirse en vez de repelerse entre sí.

### 6.1.1 Lisis Celular y purificación de ácidos nucleicos.

Primeramente, se descongelaron las muestras en un equipo de baño seco (*termoblock*) a 37°C por 10 minutos. Cada muestra contenía aproximadamente 400 µl de volumen total distribuidos en microtubos de 1.5 ml. A su vez, se procedió en un tubo de ensayo de 5 ml a preparar la mezcla de Buffer FG2/Proteasa adicionando 20 µl de la enzima por cada 400 µl de sangre total, mezclando en su conjunto Buffer FG2 en una relación de 1:1 con respecto al volumen de sangre total.

Para la lisis celular se incorporaron 400 µl de Buffer FG1 homogenizando cada muestra por inversión. La molécula de ADN posee carga negativa debido a los grupos fosfato de su estructura, teniendo como característica hacerla soluble en la solución de lisis, así como otros componentes celulares. Se centrifugaron por 20 segundos a 12 000 g en una centrifuga de ángulo fijo. Para este punto se apreció un botón de células nucleadas en la parte superior del tubo, se descartó el sobrenadante en un bote de desechos cuidando que el botón permaneciera dentro. Con el fin de inducir la proteólisis se agregó 400 µl de la mezcla de Buffer FG2/Proteasa y se mezcló con un mezclador de vórtice hasta que el botón estuviera completamente homogenizado, y posteriormente las muestras se incubaron a 65°C por 10 minutos.

### 6.1.2 Precipitación y lavado de ADN.

Tras la lisis celular y la eliminación de las proteínas de la muestra, se añadieron 400 µl de isopropanol al 100% para poder precipitar el material genético y se mezcló por inversión hasta formar unas finas hebras blancas y visibles en el límite de separación de la fase de alcohol, mientras que el resto de las sustancias permanecieron disueltas. Se centrifugó por 5 minutos a 10 000 g pudiéndose visualizar el ADN obtenido en forma de pellet en la parte superior del tubo. Aunado a esto, se descartó el sobrenadante y se procedió a incorporar 400 µl de etanol al 70 mezclando suavemente para eliminar los contaminantes que pudieron quedar de los pasos anteriores. Se centrifugó y se descartó el sobrenadante invirtiendo el tubo dejando secar por 10 minutos cuidando que el pellet permaneciera en el tubo, esta inversión minimiza el flujo de retorno de etanol desde el borde y los lados del tubo sobre el producto de ADN. Por último, se agregó Buffer FG3 de hidratación dependiendo del tamaño de cada pellet obtenido de cada muestra en una escala de menor a mayor proporción con volúmenes de 50 µl, 100 µl y 200 µl, respectivamente y se incubaron en un equipo de baño seco por una hora a 65 °C con el fin de disolver el ADN.



### 6.1.3 Rendimiento y calidad del ADN extraído.

Una vez obtenido el ácido nucleico, se procedió a cuantificar por espectrofotometría en un equipo *Nanodrop 2000* la concentración (ng/μl) de cada muestra. A su vez, se obtuvo el grado de pureza con los parámetros de la relación  $A_{260/280}$  y que representa la cantidad de material genético en relación con las proteínas contenidas en la muestra, así como la relación  $A_{260/230}$  que indica la máxima absorbancia de sales presentes en la solución, carbohidratos u otros posibles contaminantes que no fueron retirados durante el proceso de purificación del material genético pero que, es importante retirarlos porque pueden inhibir la acción de la *Taq* polimerasa durante el proceso de amplificación por PCR.

En la primera relación el rango se considera que el material genético es de calidad óptima cuando los valores obtenidos son mayores de 1.8, sin embargo, una relación  $> 2.1$  es indicativa de una presencia considerable de ARN. Por el contrario, si esta relación es baja  $< 1.6$  la muestra está contaminada por proteínas o fenoles. Para el caso de las sales se espera que la muestra sea pura cuando la ratio se sitúa en torno 1.5-2.2.

### 6.2 Amplificación por PCR punto final.

Una vez obtenido los parámetros, se seleccionaron aquellas muestras que alcanzaron los parámetros deseados para posteriormente analizar la región VNTR de 48bp en el tercer exón del gen DRD4. Esto se obtuvo gracias a la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) punto final que consiste en amplificar más un elevado número de copias obtenido a partir de una región seleccionada del genoma en donde se utilizan dos oligonucleótidos sintéticos de unos 15-20 nucleótidos que son complementarios a las zonas que delimitan la región que se quiere amplificar, actuando como cebadores para la síntesis in vitro de ADN la cual está habitualmente catalizada por una enzima llamada *Taq* polimerasa que actúan a elevadas temperaturas para la unión de los iniciadores, de esta manera se aumenta el nivel de exigencia de la reacción y se reduce la extensión de los cebadores unidos inespecíficamente a los ácidos nucleicos.

Esto se realizó en un termociclador *Axygen Maxygene II*, a un volumen final de 25 μl con 100 ng de material genómico utilizando los oligonucleótidos reportados por (Lichter et al., 1993) 5'GCGACTACGTGGTCTACTCG 3' y 5'AGGACCCTCATGGCCTTG 3' con una temperatura de alineamiento de 60 °C empleando la polimerasa termoestable *KAPA2G Robust*, repitiéndose el proceso durante 30 ciclos. El hecho de que una enzima pueda actuar

sobre una muestra de ADN como molde de la reacción de PCR es indicativo de que la pureza de la muestra es óptima ya que la funcionalidad está determinada por la capacidad de amplificación de un locus o varios loci.

### 6.3 Integridad de los ácidos nucleicos amplificados

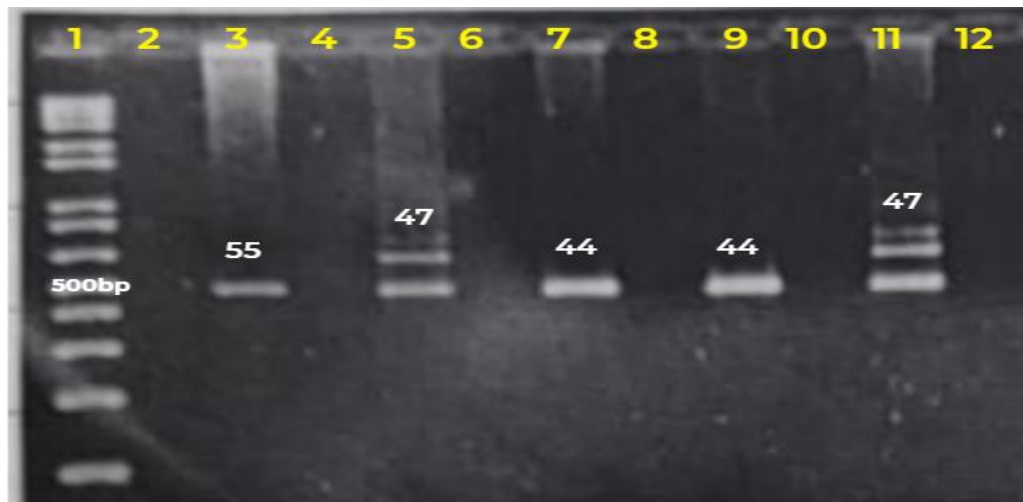
La determinación de alelos de cada muestra fue obtenida mediante una separación por electroforesis del producto amplificado en geles de agarosa MetaPhor al 1.5% con Buffer TBE al 1% a una dilución de 60 ml. Bajo la influencia de un campo eléctrico aplicado, las moléculas puedan desplazarse por el gel hacia el polo de carga opuesta al de la molécula. en diferentes direcciones o a distintas velocidades, con lo que se separan unas de otras; los fragmentos más cortos estarán más cerca del extremo positivo del gel y los más largos se mantendrán cerca de los pozos. A su vez, dependiendo del tamaño del fragmento amplificado se evalúa el grado de integridad de la muestra; si una muestra es íntegra presentará una banda de ADN única perfectamente definida en la parte superior del gel de agarosa, mientras que una degradada presentará una estela o “smear” a lo largo del gel que será más pronunciada cuanto mayor sea la degradación de la muestra.

La disolución se vació en una cámara que contiene un molde con un peine en su interior el cual forma unos pozos donde se depositan las muestras. Este se dejó enfriar para obtener una matriz porosa por la cual las moléculas migraran hacia el polo opuesto de la corrida, una vez esto, se procedió a agregar Buffer TBE al 5% al ras de la cámara para poder conducir la corriente. Respecto a las muestras, se colocó en cada pocillo 12  $\mu$ l del producto amplificado con 2  $\mu$ l de Buffer de carga, esto con el fin de aumentar la densidad de la muestra para depositarse en el fondo del pozo, así como teñir e identificar la posición de corrimiento en el gel de agarosa. Posteriormente, se conectaron los electrodos tanto positivos como negativos a la corriente alterna a un voltaje de 70 volts cerciorándose de que las muestras se encontrarán en el extremo de carga negativa.

Las muestras se sacaron de la cámara hasta que se pudiera ver una separación entre los fragmentos y se procedió a teñir el gel por 15 minutos con 15  $\mu$ l de Bromuro de etidio (BrET) diluidos en 500 ml de agua desionizada. Una vez realizado esto se examinó el gel visualizándose las bandas en una cámara de luz UV, esto gracias a que las moléculas de BrET se intercalan en la doble hélice del ADN cambiando su conformación y emitiendo fluorescencia al incidir una longitud de onda menor al de la luz visible. Como resultado

se observaron una o dos bandas por individuo, según sea homocigoto o heterocigoto. Los individuos que presentan un sitio de restricción determinado en ambas secuencias homólogas serán homocigotos y generan una sola banda electroforética, la cual puede ser larga o corta, en cambio, los individuos con un sitio de restricción presente en un cromosoma, pero no en el homólogo serán heterocigotos y generan dos bandas electroforéticas, una larga y una corta.

El tipo de alelo que tenía cada muestra se identificó basándose en el tamaño de los amplificados (4R 492 pb, 7R 636 pb y 2R 396 pb) obtenidos por (Lichter et al., 1993). Se pudo encontrar una variación en los genotipos para este receptor a dopamina, encontrándose alelos homocigotos 4/4R y 7/7R y alelos heterocigotos 4/7R, así como alelos poco comunes (heterocigotos) con repetidos de 2,3,5 y 6, respectivamente; por lo que se puede observar que hay una diversidad de alelos en este polimorfismo (Figura 2). Por último, las bandas se cortaron y se asilaron en microtubos de 1.5 ml. Se obtuvo al final un total de 180 bandas que se agruparon de acuerdo con el número de alelos encontrados, así como al grupo étnico que correspondía cada banda.



**Figura 2.** Polimorfismos del gen DRD4 por electroforesis en gels de agarosa teñidos con BrET. Cada carril representa un genotipo DRD4 individual. Carril 3: repeticiones homocigotas 5/5; carril 5: heterocigoto para 4/7 repeticiones; carriles 7 y 9: repeticiones homocigotas 4/4; carril 11: heterocigoto para 4/7 repeticiones; carril 1: escalera de peso molecular, 100bp.

#### 6.4 Aislamiento y purificación de los fragmentos amplificados de ADN a partir de los

fragmentos de ADN en agarosa.

Una vez conocido el tipo de alelo, se re extrajo de las bandas de agarosa el producto amplificado de cada muestra y se re purificaron con el uso del *QIAquick Gel Extraction Kit*.

#### 6.4.1 Solubilización y adsorción de fragmentos.

Se determino el volumen aproximado de cada fragmento mediante pesada en mg; cada porción típica de gel de agarosa se solubilizó agregando 3 volúmenes de Buffer QX1 a 1 volumen de gel (relación 3:1) y se dejó incubando en un en un equipo de baño seco a 50 °C durante 10 minutos. Este tampón contiene una alta concentración de sales caotrópicas que interrumpen los enlaces de hidrógeno entre los azúcares en el polímero de agarosa, lo que permite la solubilización de la porción de gel. Además, disocia las proteínas de unión al ADN de los fragmentos de ADN y permite un medio de adherencia de los ácidos nucleicos a silicatos.

Posteriormente, se agregaron 15 µl de una suspensión de partículas de sílice llamado “QIAEX II” y se incubaron de nuevo por 20 minutos a la misma temperatura. Su función radica en que las moléculas de ADN tengan la capacidad de adsorción selectiva y cuantitativa a partículas de sílice en presencia de un ambiente altamente electrolítico con aniones grandes. Esto se debe a que los ácidos nucleicos se encuentran recubiertos por una capa hidratante de moléculas de agua que mantienen la solubilidad del ADN en soluciones acuosas. Con la adición de iones caotrópicos se destruye esta ordenada estructura de moléculas de agua de la capa hidratante, por lo que las sales crean un entorno hidrofóbico alrededor del ADN, haciendo que los ácidos nucleicos puedan unirse a la membrana de sílice de las columnas.

#### 6.4.2 Lavado y elución del ADN unido a la membrana.

Las muestras se centrifugaron a 1 minuto a 15 0000 g en una centrifuga de ángulo fijo pudiéndose apreciar dos fases, un botón en donde se contenía el ADN atrapado en las perlas de sílice en la parte inferior del tubo y una fase acuosa en donde estaban los componentes inorgánicos e impurezas que no se unieron a los silicatos. Se removió este sobrenadante cuidando que el material genético quedara dentro del tubo y se procedió a agregar 500 µl de Buffer QX1 con el fin de eliminar los contaminantes de agarosa residual que pudieron llegar a quedar, se centrifugo de nuevo y se retiró el sobrenadante. Después se le agregaron 500 µl de Buffer PE, un tampón de lavado que contiene etanol al 100% el

cual elimina eficazmente la impureza y los contaminantes salinos restantes. Del mismo modo se centrifugo de nuevo y se retiró el sobrenadante. Las partículas *QIAEX II* lavadas que contienen ADN adsorbido se dejaron sedimentar secando al aire a temperatura ambiente (15 a 25 °C) durante 45 minutos. Es necesario secar el pellet para eliminar todos los rastros de etanol residual, que pueden interferir con reacciones enzimáticas posteriores. Por último, se añadieron 20 µl de Tris-Cl Mm, un tampón de elución con baja concentración de sales (pH 8.5) permitiendo recuperar la capa hidratante de los ácidos nucleicos, liberándolos así de la membrana. Se centrifugo de nuevo por 3 minutos a 20 000 g y cuidadosamente se extrajo el sobrenadante el cual contenía el fragmento de ADN amplificado y purificado en su totalidad en un microtubo de 0.6 ml a -20° C para evitar la degradación.

#### 6.4.3 Rendimiento y calidad del ADN.

Del mismo modo se procedió a cuantificar por espectrofotometría en un *Nanodrop 2000* la concentración (ng/µl) de cada muestra. Se esperó que el rango óptimo oscilara entre los 20 – 50 ng, mientras que para las relaciones A260/280 y A260/230 fuera dentro del rango 1.5 – 1.8 y una ratio cercana a 1.0. Todas las muestras estuvieron dentro del nivel esperado con una concentración promedio de 25.0 ng y un grado de pureza promedio de 1.6 y 0.6 respectivamente. Los datos reportados se almacenaron en una base de datos la cual fue proporcionada al Departamento de Genética Molecular Psiquiátrica del INPRFM. Por otra parte, los eluidos se reamplificarán empleando oligonucleótidos escritos en Lichter et al., 1993 para ser resecuenciados en un equipo capilar 3500 Genetic Analyzer de Applied Biosystem, empleando oligonucleótidos fluorescentes diseñados ad hoc que permitan incluir la secuencia completa del amplicón.

#### 7. Impacto de las actividades del servicio social en programa o proyecto de adscripción.

Conocer y analizar la región VNTR de 48bp en el tercer exón del gen *DRD4* es de alta importancia para el Instituto Nacional de Psiquiatría Ramon de la Fuente Muñiz, específicamente para el Departamento de Genética Molecular Psiquiátrica debido a que a los procesos fisiológicos en los que está implicada la proteína que traduce este gen. Las diferentes variantes polimórficas alélicas encontradas pueden influir en el riesgo a que una persona manifieste o no, algún trastorno psiquiátrico y fenotipos conductuales como el trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH), la esquizofrenia, el

alcoholismo, la toma de riesgos, el rasgo temperamental.

Evaluar este gen como un candidato sometido a selección en los humanos específicamente en poblaciones indígenas de la República Mexicana fue de suma importancia, ya que en principio la variación del DRD4-VNTR en ancestría mixta es casi desconocida por lo que conocer su distribución, su frecuencia alélica, así como comparar la secuencia de información entre distintos grupos abre puerta a futuras investigaciones para poder entender la estructura genética de estas poblaciones.

#### 8. Aprendizaje y habilidades obtenidas durante el desarrollo del servicio social.

En mi experiencia a lo largo de medio año realizando el proyecto asignado, aprendí sobre temas relacionados a biología molecular. Teóricamente hablando, reforcé conocimientos adquiridos como estudiante, conociendo procesos que ocurren en nuestras células de una forma más detallada referente a la duplicación y expresión génica, desde su estructura y funcionamiento, hasta su replicación, regulación y manifestación. Esto específicamente dirigido hacia el campo psiquiátrico ya que cuando se producen cambios en la secuencia de bases del material genético en regiones reguladoras del ADN se puede alterar el proceso de expresión génica, así como puede dar lugar a un producto final alterado por codificar un aminoácido distinto en la proteína que cambie sus propiedades cuyo resultado sea el desarrollo de una determinada enfermedad mental. No obstante, es importante recalcar que los factores ambientales también influyen en el riesgo a manifestar algún trastorno. A su vez, pude relacionar esto con los procesos de división celular en los cuales estas mutaciones pueden ocurrirse en células somáticas heredando un grupo de genes predisponentes a las siguientes generaciones.

Desde la parte metodológica en el laboratorio, en principio enfrenté situaciones del entorno en un contexto aplicando el conocimiento que fui aprendiendo respecto a la asociación de los procesos genéticos con la manipulación de los ácidos nucleicos a través del estudio de técnicas de biología molecular para identificar sus aplicaciones en el campo de la psiquiatría, como la extracción, purificación, manipulación y amplificación de ácidos nucleicos tanto ADN como ARN. Aprendí a interpretar y revisar los datos obtenidos con el fin de llegar a conclusiones relevantes utilizando varios métodos analíticos, así como pude auto reflexionar y auto evaluar las preconcepciones personales o comunes sobre diversos fenómenos a partir de evidencias científicas colaborando solidariamente y con

interés en las actividades que me fueron asignadas respetando el pensamiento y enseñanza de la gente que me oriento a lo largo de mi estadía. Por lo tanto, lo anterior fue fundamental para fortalecer las habilidades y conocimientos relacionados con mi profesión representando uno de los pilares en la enseñanza-aprendizaje de la UAM-X que tienen como objetivo formar profesionales creativos y críticos capaces de realizar actividad científica para desarrollar y evaluar, con una perspectiva multidisciplinaria, estrategias de manejo de los recursos naturales bióticos con base en metodologías propias de las Ciencias Biológicas.

#### 9. Fundamento de las Actividades Desarrolladas.

Muchos trastornos psiquiátricos tienen un componente que supone que modificaciones en el funcionamiento de nuestros sistemas de regulación genética pueden influir en la manifestación de un trastorno psiquiátrico. A pesar de que poseemos la misma información genética hay pequeñas diferencias en la secuencia de nuestro genoma que no es estrictamente igual entre uno y otro individuo, por lo que estas variaciones alélicas dan como resultado que cuando se conjuntan en algún individuo junto con otras variables ambientales pueden llegar a influir en el riesgo a manifestar un problema psiquiátrico. Por lo que se buscó analizar y comparar las secuencias de información del genoma de individuos de ancestría mixta indígenas que vienen de la zona norte, sureste centro que pueden ser importantes para entender que la estructura genética de las poblaciones en México no son iguales, y que las diferencias que hay unos sobre otros pueden explicar ese riesgo incrementado a manifestar un trastorno psiquiátrico.

De esta manera, las actividades realizadas promoverán la aplicación de diferentes conocimientos y habilidades obtenidas dentro de la Licenciatura en Biología, aplicando de manera adecuada todo lo aprendido cumpliendo con los objetivos decretados por la UAM-Xochimilco, como por ejemplo en el segundo trimestre del plan de estudios donde se consolidó las características individuales necesarias para obtener una actitud crítica y una concepción científica, creativa y de interdisciplinaria, mediante la identificación y estudio de problemas relacionados con los procesos biológicos fundamentales que rigen las interrelaciones de los seres vivos y su medio ambiente, enfatizando el proceso salud-enfermedad enmarcado dentro del contexto social vigente. Y, de igual forma, en el quinto trimestre de la carrera en donde se comprendieron las historias de vida de los seres vivos y su aplicación en el diagnóstico de las condiciones que afectan a la productividad de una

población, respectivamente, todo esto con el fin de poder aportar información actual y precisa que pueda ayudar a comprender de mejor forma las asociaciones que existen entre las secuencias variables de genes de diferentes poblaciones y los fenotipos psiquiátricos.

## 10. Referencias

1. Aguirre-Samudio, A. J., y Nicolini, H. (2005). El gen receptor a dopamina D4 y su asociación con los trastornos mentales. *Revista de Investigación Clínica*, 57(1), 65-75.
2. Caspi, A., y Moffit, T.E. (2006). Gene–environment interactions in psychiatry: joining forces with neuroscience. *Nature Reviews Neuroscience*, 7(7), 583-590.
3. Gabriela, M.L., John, D. G., Magdalena, B. V., Ariadna, G.S., Francisco, D. la P.O., Liz, S. M., Lino, P.C, Josefina, R. G., Ernesto, R. Z., y Carlos, C. F. (2009). Genetic interaction analysis for DRD4 and DAT1 genes in a group of Mexican ADHD patients. *Neuroscience Letters*, 451(3), 257-260.
4. Lichter, J.B., Barr, C.L., Kennedy, J.L, Van Tol, H.H. m., Kidd, K.K., y Livak K.J. (1993). A hypervariable segment in the human dopamine receptor D4 (DRD4) gene. *Human Molecular Genetics*, 2(6), 767-773.
5. Moncivais, W. S., Medina, V., Díaz Quezada, K., Sandoval Diaz, C. G., y Velázquez Omaña, M. G. del S. (2020). PROGRAMA INSTITUCIONAL 2020-2024 INPRFM (pp. 8–10). Ciudad de México.
6. Rothhammer, P.L., Liza, P., Espinoza-Parrilla, Y., Aboitiz, F., y Rothhammer, F. (2012). Variación de alelos del gen receptor de dopamina DRD4 en escolares chilenos de diferente origen étnico y su relación con riesgo de déficit atencional/hiperactividad. *Revista médica de Chile*, 140(10), 1276-1281.
7. Sasaki, J. Y., Kim, H. S., Mojaverian, T., Kelley, L. D., Park, I. Y., y Janusonis, S. (2013). Religion priming differentially increases prosocial behavior among variants of the dopamine D4 receptor (DRD4) gene. *Social cognitive and affective neuroscience*, 8(2), 209–215.