

Los bacteriófagos como plataforma educativa para atraer y retener a los jóvenes en ciencia

María Eugenia Dieterle^a y Mariana Piuri^{a*}

^aDepartamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, IQUBICEN-CONICET, Buenos Aires, Argentina.

mpiuri@qb.fcen.uba.ar

Mariana Piuri es Investigadora de CONICET y fue *Postdoctoral Fellow* y *Postdoctoral Research Associate* (2004-2010) en el laboratorio del Dr. Hatfull en *Department of Biological Sciences, School of Art and Sciences, University of Pittsburgh*.

María Eugenia Dieterle es becaria doctoral de CONICET.

Resumen

El curso SEA-PHAGES (Science Education Alliance Phage Hunters Advancing Genomics and Evolutionary Science) de HHMI (Howard Hughes Medical Institute) brinda a los estudiantes universitarios del primer año la oportunidad de acercarse a la investigación empleando como plataforma el aislamiento y posterior secuenciación y anotación de genomas de micobacteriófagos. La participación en este curso ha demostrado estimular el interés de los estudiantes por la ciencia y promover su permanencia en disciplinas como ciencias, ingeniería, tecnología y matemáticas.

Palabras claves

Bacteriófagos, experiencia en investigación, educación e investigación, micobacteriófagos.

Bacteriophages as an educational platform to attract and retain young students in science

Abstract

The HHMI (Howard Hughes Medical Institute) Science Education Alliance Phage Hunters Advancing Genomics and Evolutionary Science (SEA-PHAGES) course brings the opportunity to first year college students to participate in a research project using as platform the isolation and further sequencing and annotation of mycobacteriophage genomes. Involvement of students in this course stimulates interest in science and enhances persistence in science, engineering, technology and mathematics disciplines.

Key words

Bacteriophage, research experience, education and research, mycobacteriophages

Los (bacteri)ófagos fueron descritos por Frederick Twort (1915) [1] y un par de años más tarde por Felix d'Herelle [2] como "comedores de bacterias" característica que dio origen a su nombre. Aunque la naturaleza de los fagos estuvo en debate durante muchos años, esta particularidad condujo a evaluar casi de inmediato su empleo en terapia para el tratamiento de enfermedades bacterianas. Fue el mismo d'Herelle (y algunos de sus familiares) quienes, muy lejos de los estándares éticos requeridos hoy en día, ingirieron suspensiones de fagos para demostrar su inocuidad y emplear preparaciones de fagos activos contra *Shigella* para el control de la disentería. Aunque con el advenimiento de los antibióticos los bacteriófagos fueron dejados de lado en Occidente con fines terapéuticos (en Rusia y Europa del Este nunca dejaron de ser empleados en la clínica), éstos fueron claves en el desarrollo de nuevos paradigmas (i.e., biología molecular como ciencia).

Hoy, casi 100 años después, estos virus de bacterias han vuelto a cobrar relevancia en parte por sus aplicaciones, incluyendo su empleo en terapia (debido a la aparición de cepas resistentes a antibióticos), desarrollo de herramientas para manipular genéticamente bacterias, empleo de productos codificados en sus genomas con fines tecnológicos y diagnóstico de patógenos.

Sumado a sus múltiples usos, los fagos están siendo empleados como una plataforma para introducir a los estudiantes en el mundo de la investigación e incentivarlos a dedicarse a las ciencias.

Aún recuerdo, en mis primeros días como becaria postdoctoral en el laboratorio del Dr. Hatfull en la Universidad de Pittsburgh, presenciar con sorpresa cómo un chico de no más de 14 años observaba detenidamente placas de lisis sobre un césped bacteriano. Cuando pregunté qué estaba haciendo ese chico en el laboratorio, me respondieron que era parte del programa PHIRE (Phage Hunters Integrating Research and Education program), en el cual estudiantes universitarios de grado y de escuelas secundarias aislaban nuevos bacteriófagos, secuenciaban, anotaban sus genomas y los analizaban comparándolos con otros genomas conocidos. Con una visión bastante escéptica, me pregunté cuál podía ser el beneficio de la participación de estudiantes tan jóvenes y en etapas tan tempranas en un programa como éste y cuál era el sentido de destinar fondos para llevarlo adelante. Por supuesto, mi visión fue bastante errada ya que este programa que comenzó en la Universidad de Pittsburgh fue extendido a otros ámbitos, más allá de los laboratorios con experiencia en investigación con fagos, y hasta el momento ha sido implementado en más de 73 universidades en los últimos 5 años con la participación de 4800 estudiantes. Esto ha sido estructurado a nivel nacional en Estados Unidos a través del curso SEA-PHAGES (Science Education Alliance Phage Hunters Advancing Genomics and Evolutionary Science) de HHMI (Howard Hughes Medical Institute)[3].

¿En qué consiste exactamente este curso? Brinda a estudiantes de los primeros años de la universidad (*College*) una experiencia en investigación durante el transcurso de un año. Las clases son de 18-24 alumnos e incluyen uno o dos profesores y un jefe de trabajos prácticos. En el primer cuatrimestre, los estudiantes aíslan fagos de muestras de suelo (recolectadas por ellos y registrando con un GPS las coordenadas del lugar) usando *Mycobacterium smegmatis* como hospedadora (bacteria no patogénica que se usa como modelo para *Mycobacterium tuberculosis*). Los estudiantes purifican y caracterizan los fagos, los visualizan por microscopía electrónica y extraen y purifican ADN. El genoma es secuenciado entre cuatrimestres y en el segundo cuatrimestre los alumnos anotan el genoma empleando herramientas bioinformáticas para definir posibles genes, entender rearrreglos genómicos y predecir funciones proteicas. La secuencia y la anotación es revisada y recopilada en una base de datos (PhagesDB database, <http://www.phagesdb.org>) y enviada a GenBank. Cada estudiante puede ponerle nombre a su fago (de ahí nombres tan variados como Brujita, Tweety, Corndog, etc.) lo que les da un sentido de posesión y los motiva a explorar los secretos detrás del mismo. El objetivo de este curso curricular es introducirlos en los métodos y abordajes que se emplean en investigación, diseño experimental e interpretación de datos pero no busca brindar información más allá del contexto biológico necesario para llevarlo a cabo.

La contribución del curso SEA-PHAGES ha sido clave para entender la diversidad de los micobacteriófagos (fagos que infectan *Mycobacterium*) y los datos obtenidos han resultado en un número significativo de publicaciones en las cuales los estudiantes son autores [4-12]. Se han aislado 3000 nuevos fagos y han sido secuenciados más de 450 genomas con más de 350 secuencias depositadas en Genbank. Se ha estudiado la correlación entre el genoma y el lugar geográfico donde fueron aislados [7, 13] y los mecanismos evolutivos que llevan al mosaicismos de sus genomas [6]. Sumado a esto, los fagos aislados forman una invaluable colección de potenciales virus que infecten *Mycobacterium tuberculosis*. Los bacteriófagos de *M. tuberculosis* han sido claves para el desarrollo de herramientas para la manipulación genética de esta bacteria [14], el diagnóstico [15] y la determinación rápida del patrón de susceptibilidad a antibióticos para identificar cepas resistentes [16].

En el año 2012, en Estados Unidos, el presidente del Consejo de Asesores en Ciencia y Tecnología (PCAST) reportó la necesidad de un millón de graduados en ciencia, tecnología, ingeniería y matemáticas en la próxima década para cubrir las necesidades económicas de ese país. Uno de los problemas con los que se enfrentan es la deserción de estudiantes de estas carreras durante los primeros años. El reemplazo de los cursos convencionales de laboratorio por aquellos donde se involucre a los alumnos en experiencias de investigación reales ha demostrado mejorar el compromiso e interés de los estudiantes por la ciencia [17-19]. En un trabajo recientemente publicado en la revista mBio, se analizó el efecto que tenía la participación en el curso SEA-PHAGES en la permanencia en la carrera [3]. Se observó una mayor retención de los alumnos que participaron del curso sugiriendo que la incorporación de la experiencia en investigación en etapas tempranas disminuye la deserción de los estudiantes.

Tal vez la clave de este programa comparado con otros (como por ejemplo estudiantes que durante el verano hacen una pasantía de investigación en un laboratorio) radica en la

participación directa de los alumnos en un descubrimiento científico, con un proyecto propio que puede mejorar su autoestima y su motivación personal. Los costos de los materiales son similares a los de otros trabajos prácticos y los gastos de secuenciación son cubiertos por HHMI y la Universidad de Pittsburgh. Como ventaja adicional, el tamaño y la diversidad de la población de fagos es tan grande que no genera ningún obstáculo en el número de estudiantes que pueden participar.

Aún hoy, los fagos no dejan de sorprendernos y hasta han demostrado ser aliados ideales para introducir a los jóvenes en la investigación despertando su apetito por la ciencia.

1. Twort, F.W., *AN INVESTIGATION ON THE NATURE OF ULTRA-MICROSCOPIC VIRUSES*. The Lancet, 1915. **186**(4814): p. 1241-1243.
2. d'Herelle, F., *Sur un microbe invisible antagoniste des bacilles dysentériques*. CR Acad. Sci. Paris, 1917. **165**: p. 373-375.
3. Jordan, T.C., et al., *A broadly implementable research course in phage discovery and genomics for first-year undergraduate students*. MBio, 2014. **5**(1): p. e01051-13.
4. Cresawn, S.G., et al., *Phamerator: a bioinformatic tool for comparative bacteriophage genomics*. BMC Bioinformatics, 2011. **12**: p. 395.
5. Mageeney, C., et al., *Mycobacteriophage Marvin: a new singleton phage with an unusual genome organization*. J Virol, 2012. **86**(9): p. 4762-75.
6. Pope, W.H., et al., *Cluster K mycobacteriophages: insights into the evolutionary origins of mycobacteriophage TM4*. PLoS One, 2011. **6**(10): p. e26750.
7. Pope, W.H., et al., *Expanding the diversity of mycobacteriophages: insights into genome architecture and evolution*. PLoS One, 2011. **6**(1): p. e16329.
8. Pope, W.H., et al., *Cluster J mycobacteriophages: intron splicing in capsid and tail genes*. PLoS One, 2013. **8**(7): p. e69273.
9. Hatfull, G.F., et al., *Comparative genomic analysis of 60 Mycobacteriophage genomes: genome clustering, gene acquisition, and gene size*. J Mol Biol, 2010. **397**(1): p. 119-43.
10. Smith, K.C., et al., *Phage cluster relationships identified through single gene analysis*. BMC Genomics, 2013. **14**: p. 410.
11. Jacobs-Sera, D., et al., *On the nature of mycobacteriophage diversity and host preference*. Virology, 2012. **434**(2): p. 187-201.
12. Lorenz, L., et al., *Genomic characterization of six novel Bacillus pumilus bacteriophages*. Virology, 2013. **444**(1-2): p. 374-83.
13. Hatfull, G.F., S.G. Cresawn, and R.W. Hendrix, *Comparative genomics of the mycobacteriophages: insights into bacteriophage evolution*. Res Microbiol, 2008. **159**(5): p. 332-9.
14. Jacobs, W.R., Jr., *Mycobacterium tuberculosis: A Once Genetically Intractable Organism*, in *Molecular Genetics of the Mycobacteria*, G.F. Hatfull and W.R. Jacobs Jr., Editors. 2000, ASM Press: Washington, DC. p. 1-16.
15. Jacobs, W.R., Jr., et al., *Rapid assessment of drug susceptibilities of Mycobacterium tuberculosis by means of luciferase reporter phages*. Science, 1993. **260**(5109): p. 819-22.
16. Piuri, M., W.R. Jacobs, Jr., and G.F. Hatfull, *Fluoromycobacteriophages for rapid, specific, and sensitive antibiotic susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis*. PLoS One, 2009. **4**(3): p. e4870.
17. Seymour, E., et al., *Establishing the benefits of research experiences for undergraduates in the sciences: First findings from a three-year study*. Science Education, 2004. **88**(4): p. 493-534.
18. Eagan, M.K., et al., *Making a Difference in Science Education: The Impact of Undergraduate Research Programs*. American Educational Research Journal, 2013. **50**(4): p. 683-713.
19. Lopatto, D., *Undergraduate Research Experiences Support Science Career Decisions and Active Learning*. CBE-Life Sciences Education, 2007. **6**(4): p. 297-306.