

Instructivo de manejo – Procesamiento, validación y sometimiento de secuencias al GenBank mediante el software Geneious Prime

Elaborado por: CCPV, MABP, JDMC. Revisado y aprobado: ISRB Versión (26.1).

El software Geneious Prime (Dotmatics, USA) integra múltiples herramientas bioinformáticas que permiten el procesamiento, edición, validación y envío de secuencias nucleotídicas al GenBank (NCBI, USA). El presente instructivo tiene como objetivo orientar a los investigadores del Laboratorio de Inmunología y Biología Molecular (LIBM) de la Universidad del Tolima en el procedimiento adecuado para la preparación y el depósito de secuencias en el GenBank mediante el uso de esta plataforma.

Edición de secuencias para someter al GenBank:

Importante: El Geneious Prime, solo permite hacer el sometimiento de un pequeño número de secuencias de ARNm, pequeños genomas, organelos, ARN no codificante y plásmidos. **NO** está disponible para genomas extensos tales como cromosomas eucariotas y bacterianos. El presente instructivo fue elaborado usando el Geneios Prime v2026.1.1.

Las secuencias para someter deben ser revisadas y aprobadas previamente por el director del laboratorio con el fin de minimizar los errores y facilitar el proceso de sometimiento.

Para efectos ilustrativos, se utilizará como ejemplo una secuencia correspondiente al gen *romo 1*, la cual será preparada y sometida a la base de datos GenBank.

Se debe abrir el software Geneious Prime en el computador de secuenciación para tal fin (Mobula Sq PC). Se debe ubicar la carpeta de origen de la secuencia y de allí iniciar con el proceso.

Añadir campos al GenBank:

El primer paso involucra añadir información general acerca de la secuencia, incluyendo descripción, organismo, tipo de muestra, localización geográfica, datos del muestreo, entre otros. **NOTA:** Todas las secuencias que vayan a ser sometidas al GenBank, requieren esta información.

1. Daremos clic en el icono de información. Esto nos mostrará toda la información general relacionada con nuestra secuencia. Además, asegúrate de que la pantalla esté en la sección de propiedades, no en la de historia (Figura 1).

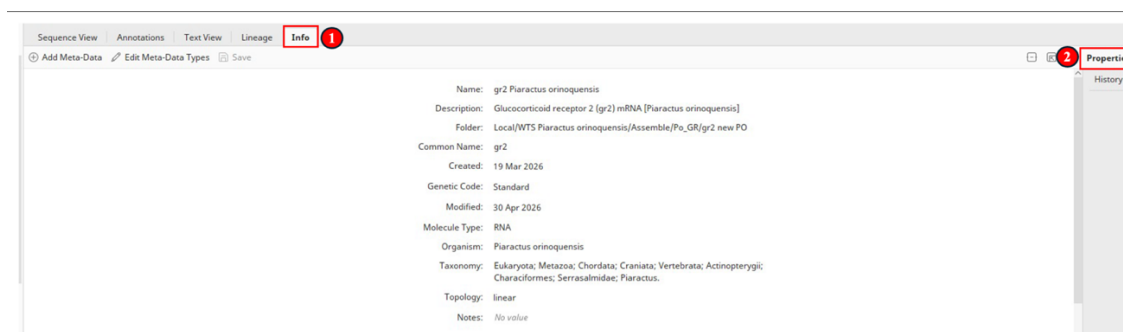


Figura 1. La numeración indica la secuencia cronológica de las acciones a realizar, de acuerdo con el procedimiento descrito en el texto.

- Para editar las características de cada campo, haz doble clic y ajusta las características para que coincidan con las de nuestra secuencia de interés. De ser necesario más campos, regresa a la parte superior y ubícate donde dice añadir metadatos. Haz clic en él (Figura 2).



Figura 2. La numeración indica la secuencia cronológica de las acciones a realizar, de acuerdo con el procedimiento descrito en el texto.

- Después de seleccionar la sección añadir Metadatos, elegimos la opción someter al GenBank. Esto desplegará un nuevo campo con caracteres únicos que nos permiten agregar información adicional sobre nuestra secuencia, como el país donde se colectó, el ID de la secuencia, la fecha de colecta y más (Figura 3).

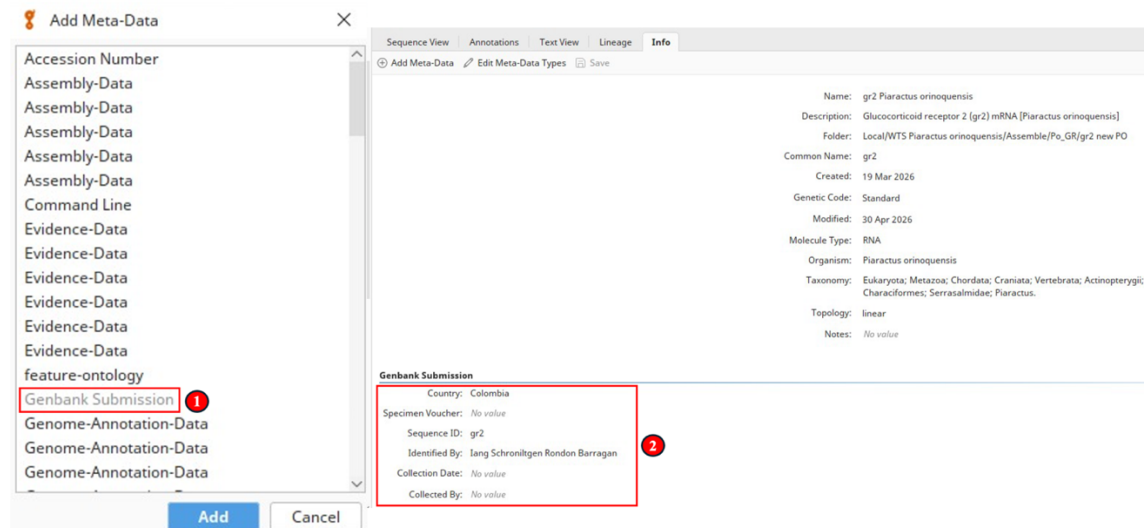


Figura 3. La numeración indica la secuencia cronológica de las acciones a realizar, de acuerdo con el procedimiento descrito en el texto.

- Para incluir otro tipo de campo, haz clic en el icono de editar tipo de metaanálisis. Esto abrirá automáticamente una nueva ventana. Ubícate en el apartado someter al GenBank. A la derecha de esta ventana, aparecerán varias opciones. Haz clic en el icono de añadir (+) para crear un nuevo campo. En el primer recuadro, escribe la característica deseada. Deja el siguiente recuadro en formato de texto y el último recuadro en la opción de limitaciones (Figura 4). Para finalizar dar clic en OK.

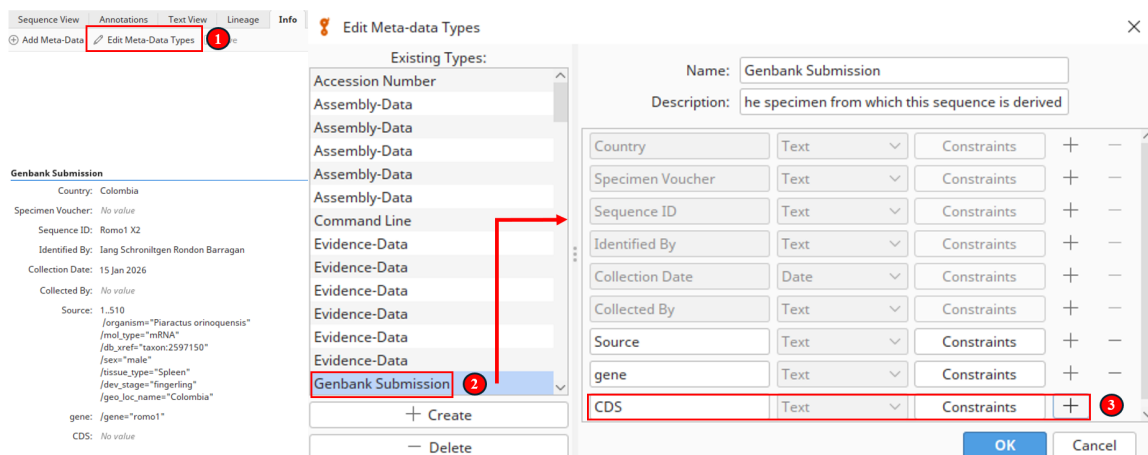


Figura 4. La numeración indica la secuencia cronológica de las acciones a realizar, de acuerdo con el procedimiento descrito en el texto.

- Una vez que hayas agregado nuevos campos, debes completar las características requeridas en cada uno. Al finalizar, haz clic en guardar, ubicado en la parte superior.

Añadir anotaciones:

Una vez terminada la sección de metadatos, puedes agregar anotaciones a tu secuencia. **NOTA:** Para las secuencias que codifican proteínas, necesitas información sobre la región codificante, exones, intrones y la secuencia codificante.

- Para añadir anotaciones, selecciona toda la secuencia del gen presionando (Control + A o Command + A para Mac). Luego, haz clic en el recuadro añadir anotación ubicado en la parte superior de la secuencia (Figura 5).

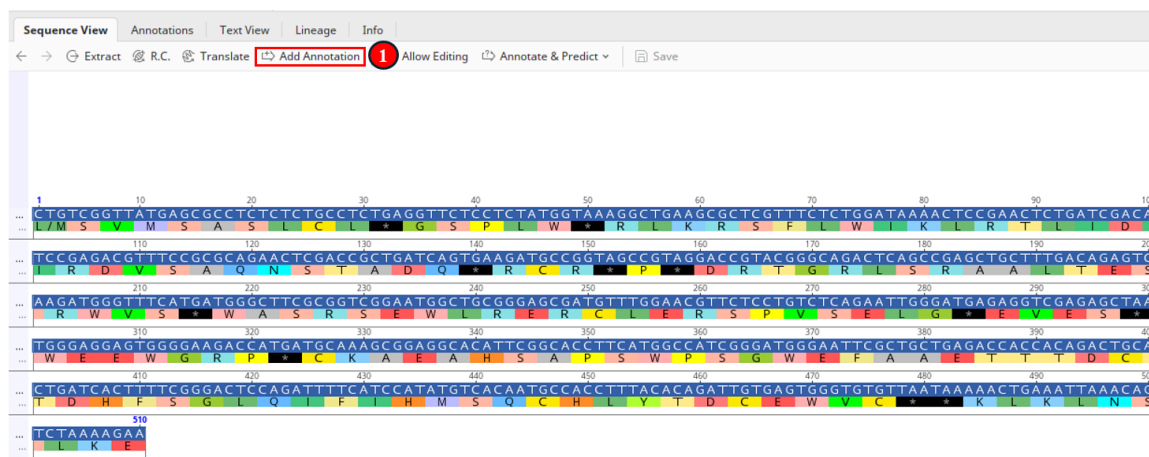


Figura 5. La numeración indica la secuencia cronológica de las acciones a realizar, de acuerdo con el procedimiento descrito en el texto.

- Se abrirá una ventana donde tendrás que poner el nombre del gen en la casilla de “Nombre”. En la

casilla de tipo, asigna el que corresponda según los criterios de la secuencia seleccionada. Por ejemplo, si es 3'UTR, 5'UTR, CDS, mRNA, etc (Figura 6).

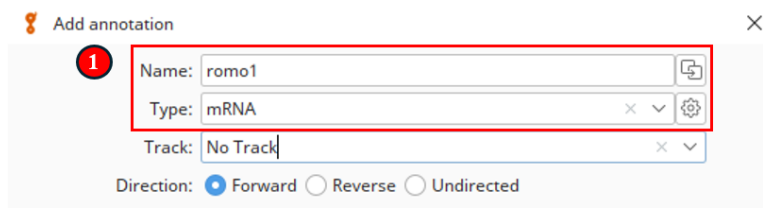


Figura 6. La numeración indica la secuencia cronológica de las acciones a realizar, de acuerdo con el procedimiento descrito en el texto.

- Expandir la opción de propiedades, haciendo clic sobre ella y luego en el recuadro de “Añadir”. Aparecerán dos recuadros. En el que dice “nombre”, si se trata de un gen, escribe “gen” en minúsculas para evitar errores al someter. En la casilla de “valor”, agrega el nombre del gen (Figura 7), dar clic en OK. **NOTA:** Este mismo procedimiento sirve para añadir el alelo según corresponda al gen en cuestión.

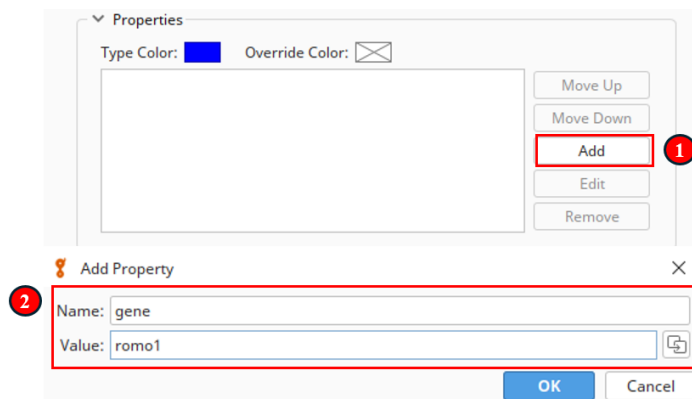


Figura 7. La numeración indica la secuencia cronológica de las acciones a realizar, de acuerdo con el procedimiento descrito en el texto.

- Si la secuencia representa solo un fragmento del gen, se debe indicar en las anotaciones del gen que representa una característica parcial. Para hacer esto, expande la sección donde dice “Intervalos” haciendo clic en este elemento. Haz clic en el recuadro de edición y aparecerá una nueva ventana. En esta sección, revisa los puntos de inicio y finalización de la secuencia. Además, selecciona los dos recuadros inferiores si la secuencia está truncada. Si no lo está, no selecciones estos recuadros. Haz clic en OK para finalizar. (Figura 8).

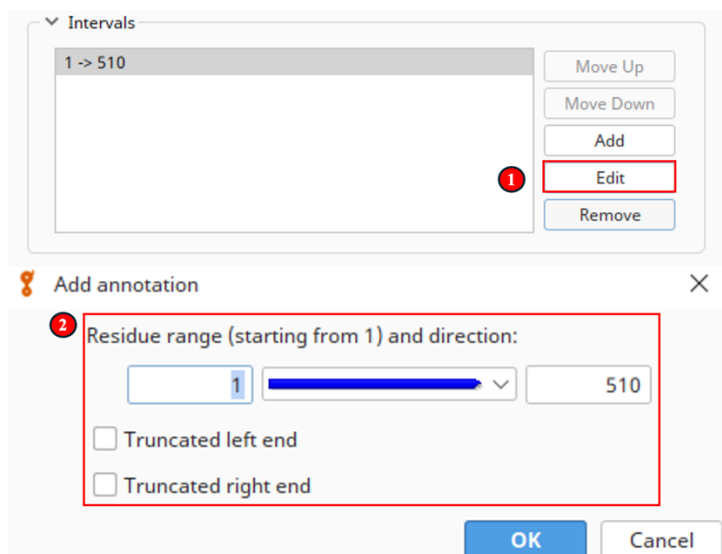


Figura 8. La numeración indica la secuencia cronológica de las acciones a realizar, de acuerdo con el procedimiento descrito en el texto.

- Para poder someter la secuencia al GenBank es necesario añadir calificadores específicos a la secuencia codificante (CDS). Entre los calificadores principales se encuentran el de codón de inicio y tabla de traducción, que son esenciales dentro del CDS. Estas características definen cómo se traduce la secuencia de ADN en una proteína. Primero, selecciona la secuencia codificante, haz clic en editar anotación, haz clic en añadir en la ventana de propiedades, escribe “gene” en la casilla de nombre y escribe el nombre del gen en la casilla de valor (Figura 9). Haz clic para finalizar.

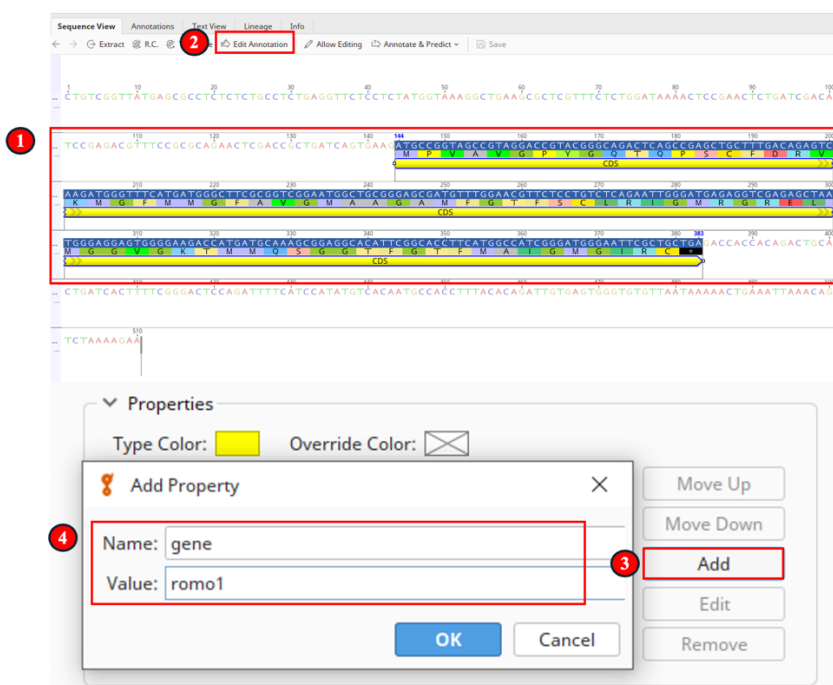


Figura 9. La numeración indica la secuencia cronológica de las acciones a realizar, de acuerdo con el procedimiento descrito en el texto.

- Para agregar la tabla de traducción, da clic en añadir en la ventana de propiedades. En la casilla nombre, escribe tabla de traducción, y en la casilla valor, coloca el valor estándar de 1 (Figura 10).

Nota: Este calificador define cómo se usa la tabla del código genético para traducir la secuencia de ADN. Es particularmente importante para organismos con códigos genéticos no estándar, como mitocondrias, arqueas o ciertas bacterias. Por defecto, el código genético del NCBI es la Tabla 1.

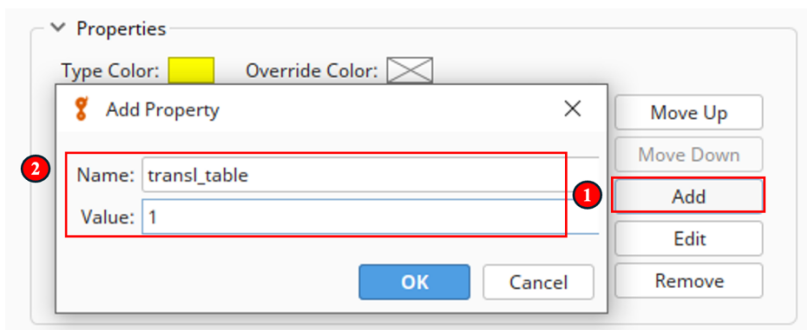


Figura 10. La numeración indica la secuencia cronológica de las acciones a realizar, de acuerdo con el procedimiento descrito en el texto.

7. Otro calificador requerido para todas las anotaciones de las secuencias codificantes, es el codón de inicio. Clic nuevamente en añadir en la ventana de propiedades, en la casilla de nombre escribir codón de inicio y en la casilla de valor colocar 1, 2 o 3; dependiendo de la ubicación del codón de inicio dentro de tu secuencia, para este ejemplo será el 1, clic en OK. (Figura 11)

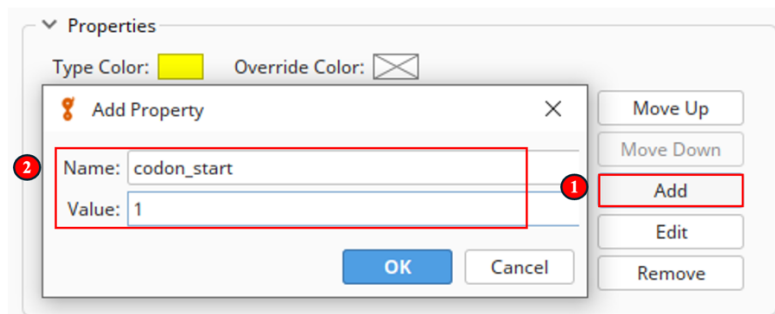


Figura 11. La numeración indica la secuencia cronológica de las acciones a realizar, de acuerdo con el procedimiento descrito en el texto.

8. Finalmente, volvemos a añadir otro calificador, en este caso en la casilla de nombre vamos a colocar producto, y en la casilla de valor colocar el nombre de la proteína que se formara, según sea el caso, clic en OK (Figura 12). **NOTA:** En el caso que la secuencia cuente con uno o más exones, es necesario añadir los calificadores para cada uno de estos, ingresando en añadir, en nombre colocar número y en valor colocar el número del exón, si es el primero, se debe colocar el numero 1.

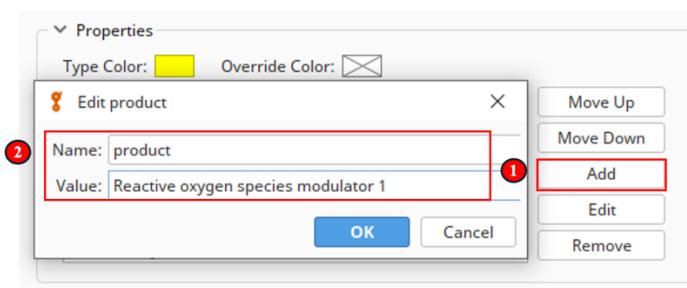


Figura 12. La numeración indica la secuencia cronológica de las acciones a realizar, de acuerdo con el procedimiento descrito en el texto.

9. Una vez completados todos estos pasos, tu secuencia esta lista para ser sometida al GenBank.

Sometimiento de secuencia

1. El primer paso es instalar el plugin para someter secuencias al GenBank (en este caso ya se encuentra instalado, favor omitir paso).
2. Para comenzar, selecciona la secuencia que vas a someter, ve a la sección de herramientas y da clic en someter al GenBank (Figura 13).

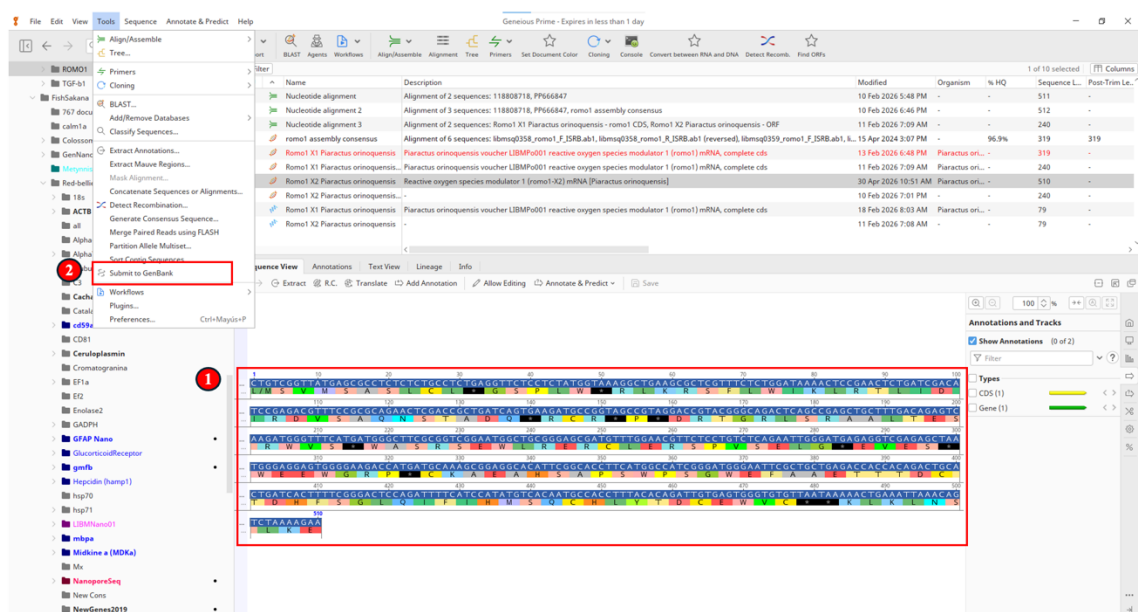


Figura 13. La numeración indica la secuencia cronológica de las acciones a realizar, de acuerdo con el procedimiento descrito en el texto.

3. Debe aparecer una ventana emergente, donde se deben llenar todos los campos (Figura 15), importante marcar la opción donde dice, “cargar como nuevo sometimiento”.

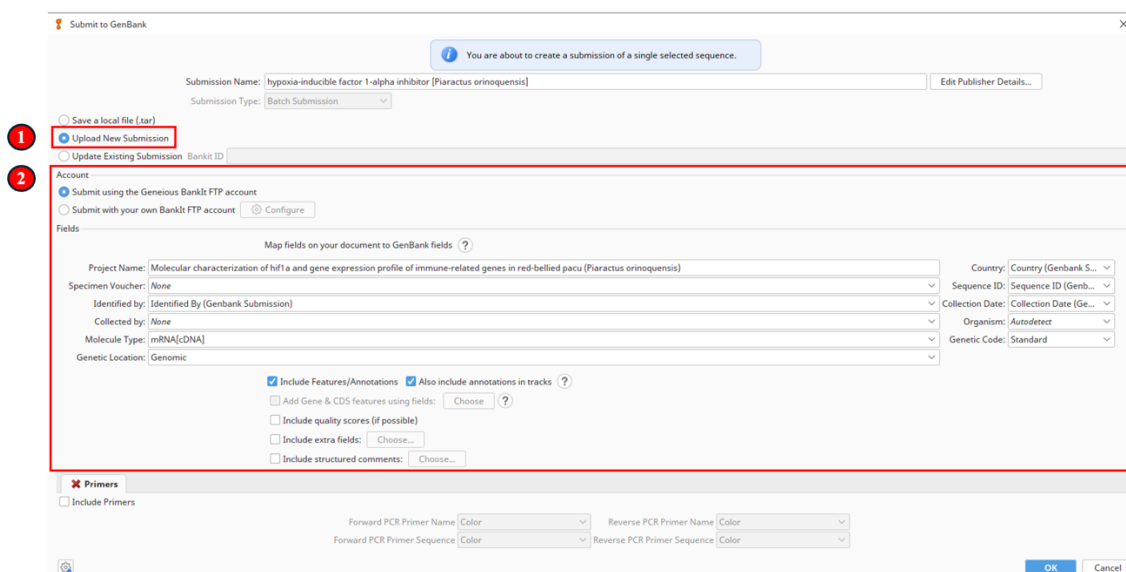


Figura 14. La numeración indica la secuencia cronológica de las acciones a realizar, de acuerdo con el procedimiento descrito en el texto.

4. Seguido de esto dar clic en la casilla de editar detalles de publicación, casilla que queda junto al campo de nombre de sometimiento. En la nueva ventana aparecerán campos que deben ser llenados con la información de contacto, afiliación y demás, para finalizar dar clic en OK (Figura 15) y nuevamente dar clic en OK para iniciar el sometimiento, una vez tengas todos los campos completados.

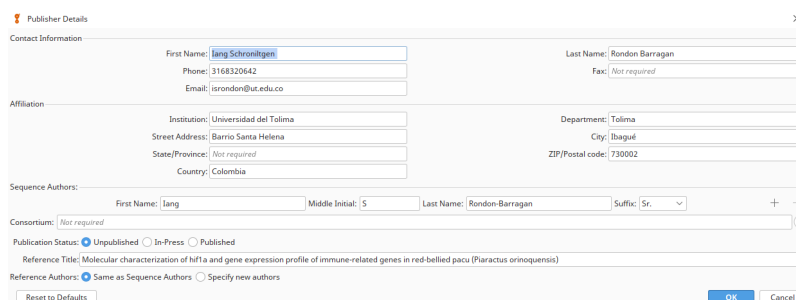


Figura 15. Datos necesarios para hacer el correcto sometimiento de la secuencia.

5. El Geneious crea una sección donde manifiesta si hay errores al momento de hacer el sometimiento en la ventana de reportes de discrepancia, de contener errores tu secuencia, deben ser solucionados y nuevamente hacer el sometimiento; asimismo junto a esto, tiene una sección donde se puede visualizar como quedará la secuencia sometida en el Genbank. Finalmente dar clic en someter (Figura 16).

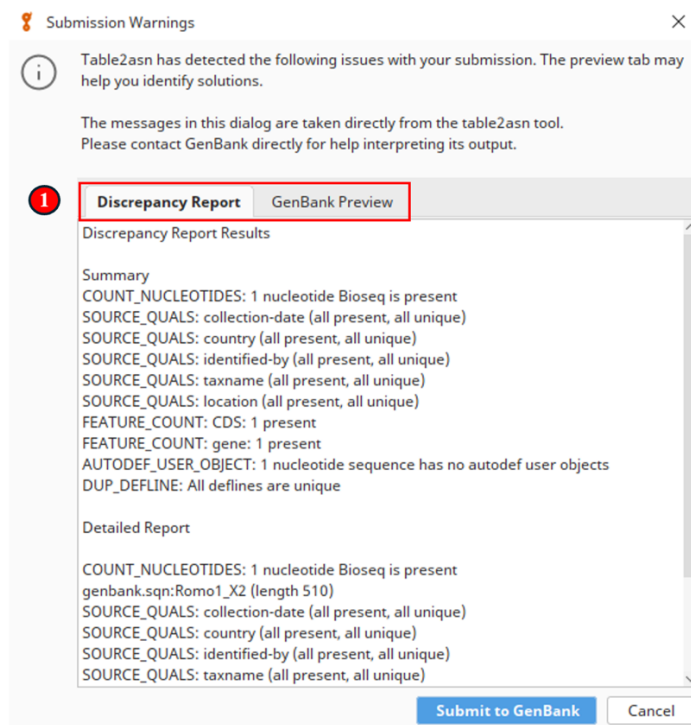


Figura 16. La numeración indica la secuencia cronológica de las acciones a realizar, de acuerdo con el procedimiento descrito en el texto.

- Una vez completado el procedimiento, la secuencia será enviada a GenBank para su revisión y análisis. Si la información proporcionada cumple con los requisitos establecidos, recibirá por correo electrónico, en los días siguientes, el número de acceso correspondiente a la secuencia (Figura 17).

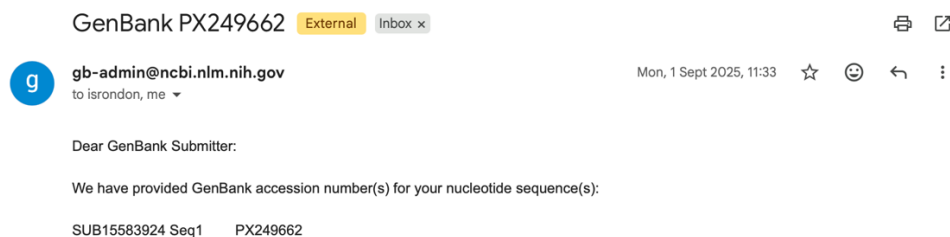
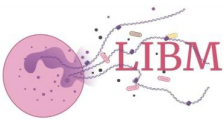


Figura 17. Información acerca del número de acceso de la secuencia sometida al Genbank.



Ejemplo

Aquí se presentan los datos mínimos requeridos para que una secuencia sea aceptada en la base de datos del Genbank (NCBI, USA) (Tabla 1), usando de ejemplo una secuencia de ARNm del gen de *romo1* de la especie *Piaractus orinoquensis* (Figura 18).

Tabla 1. Principales características que debe poseer una secuencia antes de ser sometida al Genbank (NCBI, USA).

Campo	Información
Organismo	<i>Piaractus orinoquensis</i>
Gen	<i>romo1</i>
Longitud de la secuencia	319 pb
Tipo de molécula	ARNm
Fuente de aislamiento	Tejido cerebral
Localización geográfica	Ibagué, Tolima, Colombia
Método de secuenciamiento	Sanger
Producto	Modulador de especies reactivas de oxígeno tipo 1
Región	CDS completa

Piaractus orinoquensis voucher LIBMPo001 reactive oxygen species modulator 1 (romo1) mRNA, complete cds

GenBank: PP666847.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

Go to: ☺

1 LOCUS

PP666847 319 bp mRNA linear VRT 11-FEB-2026

2 DEFINITION

Piaractus orinoquensis voucher LIBMPo001 reactive oxygen species modulator 1 (romo1) mRNA, complete cds.

ACCESSION

PP666847

VERSION

PP666847.1

KEYWORDS

.

3 SOURCE

Piaractus orinoquensis

ORGANISM

Piaractus orinoquensis

4 REFERENCE

1 (bases 1 to 319)

AUTHORS

Santofimio-Saavedra, J.D. and Rondon-Barragan, I.S.

TITLE

Direct Submission

JOURNAL

Submitted (15-APR-2024) Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics Universidad del Tolima, Cra 4 Santa Helena Higs, Ibagué, Tolima 730002, Colombia

5 COMMENT

##Assembly-Data-START##

6 FEATURES

source

Location/Qualifiers

1..319

7 ORIGIN

1 tcgagagact tttccgtgca gaactcgacc gctgatcagt gaagatgccg gtagccgtag

Figura 18. Información acerca de las características mínimas que debe contener una secuencia para ser publicada en la base de datos del Genbank (NCBI, USA).