

11 de Octubre
2013



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
BIOMÉDICAS

Congreso de arteles

Dr. Lino Díaz De León



Universidad Nacional Autónoma de México

Memorias

navegantes ...

de la comunicación gráfica s.a. de c.v.

empresa
100%
mexicana

*dedicada a publicaciones
de libros y revistas*

*equipo completo
para realizar:*

- libros
- revistas
- carteles
- Folletería
- papelería

Impresión en:

- offset
- digital
- negativos ctp
- hotmelt
- diseño gráfico

permitanos asesorarle

pascual ortíz rubio no. 40
col. san simón ticumac
delegación benito Juárez
c.p. 03660, México, d.f.

✉ navegantes0009@gmail.com

☎ 5243 2019
5243 2427
5532 5575

impresión • encuadernación • maquila

Universidad Nacional
Autónoma de México

Rectoría

Dr. José Narro Robles

Secretaría General

Dr. Eduardo Bárzana García

Coordinación de la Investigación Científica

Dr. Carlos Arámburo de la Hoz

Instituto de
Investigaciones
Biomédicas

Dirección

Dra. Martha Patricia Ostrosky Shejet

Secretaría Académica

Dr. J. Javier Espinosa Aguirre

Secretaría Administrativa

C.P. Martha Castro Gutiérrez

Secretaría de Enseñanza

Dr. Rafael Camacho Carranza

Delegación Administrativa

Lic. Carlos Martínez Hernández

Comisión
Organizadora

Secretaría Académica

Dr. J. Javier Espinosa Aguirre
Norma Bravo Becerra

Biología Celular y Fisiología

Dr. Fredy Cifuentes Navarro
Luis Abel León Mercado *

Biología Molecular y Biotecnología

Dra. Norma Adriana Valdez Cruz
Andrea Bedoya López *

Inmunología

Dra. Gladis Fragoso González
José Navarrete Perea *

Medicina Genómica y Toxicología Ambiental

Dr. Rafael Camacho Carranza
Fernando Aguilera Navarro *

Jurado Evaluador
Interno

Biología Celular y Fisiología

Dr. Carlos Manuel Contreras Pérez
Dra. Ivette Caldelas Sánchez
Dr. Gabriel Gutiérrez Ospina

Biología Molecular y Biotecnología

Dra. Romina Rodríguez Sanoja
Dr. Sebastián Poggio Ghilarducci
Dr. Mauricio Trujillo Roldán
Dra. Leticia Rocha Zavaleta

Inmunología

Dra. Gloria Soldevila Melgarejo
Dr. Raúl Bobes Ruíz
Dr. Julio César Carrero Sánchez

Medicina Genómica y Toxicología Ambiental

Dra. Marcela Lizano Soberón
Dra. Regina Montero Montoya

Jurado Evaluador
Externo

Biología Celular y Fisiología

Dra. Claudine Irles
Departamento de Fisiología - Facultad de Medicina - UNAM

Dra. Monica Lamas Gregori
Departamento de Farmacología - CINVESTAV Campus Coapa

Biología Molecular y Biotecnología

Dr. Adelfo Escalante Lozada
Instituto de Biotecnología - UNAM

Dr. Georges Dreyfus Cortés
Instituto de Fisiología Celular

Inmunología

Dra. Laura Bonifaz Alfonso
UIM Inmunología - Centro Médico Nacional Siglo XXI - IMSS

Dra. Yvonne Rosenstein Azoulay
Departamento de Medicina Molecular y Biotecnología - Instituto de Biotecnología - UNAM

Medicina Genómica y Toxicología Ambiental

Dra. María Del Coro Arizmendi Arriaga
Posgrado en Ciencias Biológicas - UNAM

Dr. Daniel Piñero Dalmau
Doctorado en Ciencias Biomédicas - UNAM

Universidad Nacional Autónoma de México
Octubre de 2013

Instituto de Investigaciones Biomédicas

Coordinador General:

Dr. J. Javier Espinosa Aguirre

Diseño editorial:

Ing. Betsabe Linares Ferrer

Fotografía:

Lic. Sonia Olguin García, Keninseb García Rojo

Coordinación de la edición impresa:

L.I. Omar Rangel Rivera

Lic. Guillermo Alvarado García

Apoyo en la recolección de información:

Erika Liliana Reyes Rojas

Impresión:

Navegantes de la Comunicación

Patrocinios:

Navegantes de la Comunicación, Leyvitec Laboratorios S.A. de C.V., Inolab Especialista en Servicios S.A. de C.V., Científica SENNA S.A. de C.V., Control Técnico y Representaciones S.A. de C.V.



Leyvitec



SOLUCIONES PARA TU LABORATORIO

Serie LS

Los Sistemas de laboratorio Taylor-Wharton (LS) están diseñados exclusivamente para gran capacidad vial en práctica en forma de cajabastidores de almacenamiento. Proporcionan tiempos máximos de espera. Esto significa menos costes de operación de los viales y menos recargas. El nuevo LS6000 con el Controlador AutoTend con la temperatura leída proporciona llenado automático y funciones de alarma.

Serie XT

La serie de tiempo extendido (XT) Serie de refrigeradores criogénicos están diseñados para el almacenamiento a largo plazo de una variedad de materiales a temperaturas criogénicas. Esta serie también ofrece modelos de bajo perfil (XTL), con 5 "botes.

Características

- (1) LS 6000 está disponible con el controlador AutoTend con lectura de la temperatura
- (2) LS 6000-AT, en fase de vapor, -190 ° C superior del bastidor
- (3) Nueva Construcción resistente - acanalado de alta resistencia cuerpo de aluminio, diseño de tubo del cuello magniformed, y el sistema de pintura más duradera
- (4) Sistemas de almacenamiento convenientes - Rack ubicación del índiceanillo y ubicación interna de la araña, la computadora almacenamiento cuadro compatible es ideal para inventario simple administración
- (5) el rendimiento de vacío Superior con súper aislamiento proporciona tiempos máximos de espera
- (6) Seguridad - Accesorios de alarma de bajo nivel está disponible con capacidad de monitor remoto
- (7) tapas bloqueables
- (8) Movilidad - bases de ruedas están disponibles



SERIE LS

SERIE XT

SISTEMA DE RACK



Los dispositivos de ultrasonidos de laboratorio y procesadores industriales



UIP50H -UIP100
Compacto para Lab.



UIP500hd - pequeña
- escala industrial



UIP1000hd
- versátil



UIP2000hd
- Alta eficiencia



UIP16000
- Más potente

Expansión del proceso

Cada aplicación ultrasónica requiere una cierta combinación óptima de amplitud sonicación, temperatura y presión del líquido. Esta configuración óptima puede encontrarse en pequeño laboratorio o prueba Banco-tapa escala, por ejemplo mediante un UIP1000hd (1kW) con celda de flujo. Una vez que se ha identificado la configuración de los parámetros óptimos, la eficiencia del proceso puede ser escalada linealmente.

****LEYVITEC
Distribuidor Autorizado****

LEYVITEC LABORATORIOS, S.A. DE C.V.

mail: leyvitec@prodigy.net.mx

www.leyvitec.com

Tels. 52-20-02-71

53-42-51-44

52-39-65-11

Introducción.....	1
Departamento Biología Celular y Fisiología	
Gómez CD, Buijs RM, Sitges M	3
Olivos-Cisneros L, Ramírez-Santos J, Gutiérrez-Ospina G	3
Guillén-Ruiz G, Bernal-Morales B, Contreras CM, Cueto-Escobedo J, Rodríguez-Landa JF.....	4
Feria JA, Valle P, Cifuentes F, Elinos D, Morales MA	4
Lara-García MA, Lara-García O, Díaz-Hernández V, Merchant-Larios H, Pacheco P	5
Cueto-Escobedo J, Contreras C.M, Bernal-Morales B, Guillén-Ruiz G	5
Vargas F, Escobedo I, Gutiérrez G, Velasco I	6
Guerrero Hernández JI, Moreno Mendoza N	6
García-Ríos RI, Rodríguez-Landa RL, Contreras CM	7
Molina-Jiménez T, Gutiérrez-García AG, Contreras CM	7
Sánchez GO, Corona Quintanilla DL, Pacheco P, Martínez GM y Castelán F.....	8
Arias R, Cifuentes F, Morales M	8
Saldivar-Lara M, Gutiérrez-García AG, Contreras CM, Molina-Jiménez T	9
Sánchez-Tafolla BM, Hernandez-Plata E, Gómora JC, Cifuentes F	9
Urbano Del Aguila SP, Venegas Suarez Peredo DE, Marmolejo Valencia JA, Merchant Larios H.....	10
Elinos D, Cifuentes F, Morales MA	10
Guerrero-Vargas NN, Basualdo MC, Salgado-Delgado R, Fuentes RI, García J, Guzmán-Ruiz M, Escobar C, Carrero JL, Buijs RM	11
Rodríguez R, Elinos D, Cifuentes F, Morales MA.....	11
Rosetti M, Ulloa E, Vargas I, Reyes-Zamorano E, Palacios-Cruz L, De la Peña F, Hudson R.....	12
Hernández O, Montúfar Chaveznavar R, Caldelas I.....	12
Zaldivar A, Cifuentes F, Morales M	13
Vélez PA, Elinos D, Cifuentes F, Morales MA.....	13
Departamento Biología Molecular y Biotecnología	
Jiménez GT, Pérez-Gavilán EJP; Macedo SL.....	15
Espinosa A, Guzmán SM, Macías ML, Sánchez S.....	15
Marín-Palacio LD, Gamboa-Suasnavart RA, Valdez-Cruz NA, Servín-González L, Córdova-Aguilar MS, Soto E, Klöckner W, Büchs J, Trujillo-Roldán M	16
Reynoso GI, Trujillo MA	16
García-García M, Marín-Palacio LD, Aguilar-Zacarías MC, Valdez-Cruz NA, Rocha-Zavaleta L, Trujillo-Roldán MA.....	17
Carrasco K, García, RI, Villegas J, Blancas A, De Leonardo A, Morales M, Trujillo-Roldán MA.....	17
Guzmán-Trampe S, Vinuesa P, Ikeda H, Sánchez S.....	18
Ruiz-Villafán B, Rodríguez-Sanoja R, Sánchez, S.....	19
Barrios T, Tecalco A, Gómez V, Meneses I, Carmona S, García E, Chávez E, León-Del-Río A	19
Gamboa-Suasnavart RA, Marín-Palacio LD, Kloeckner W, Martínez-Sotelo JA, Espitia C, Servín-González L, Valdez-Cruz NA, Büchs J, Trujillo-Roldán MA	20
Cadena-Sandoval M, González-Cerón G, Martínez AI, Servín-González L	20

Índice

De la Cruz MD, Macedo SL, Pérez-Gavilán EJP.....	21
Ramírez C, Andrade FA, Martínez ME, Méndez A, Mendoza LA	21
Jiménez A, Rocha L	22
Manzo M, Rocha D, Ruiz B, Sánchez S	22
Sanchez B, Sanchez S.....	23
Rocha DI, Manzo MB, Ruiz B, Sánchez S.....	23
Manterola AM, Pérez R, Guillén DA, Rodríguez R.	24
Armenta S, Munguía ME, González F, Manoutcharian K, Rodríguez R.....	24
Ríos DP, Daniel A, Trujillo MA	25
Bedoya-López A, Estrada Guerra K, Sanchez-Flores A, Ramírez Reivich OT, Trujillo-Roldán MA, Valdez-Cruz NA	26
Rizo JM, Cárdenas MC, Rodríguez R, Wachter C, Díaz G.....	26
Salinas AL, Osorio A, Poggio S	27
Moreno Mendieta SA, Espitia C, Hernández R, Rodríguez R.....	27
Vega-Baray B, Domenzain C, Rivera A, Osorio A, Poggio S, Dreyfus G, Camarena L	28
Ramírez JU, Villegas J, García R, Trujillo MA	28
Juárez-López D, Trujillo-Roldan MA, Valdez-Cruz NA	29
Castellanos A, Alagón A, Olvera A, Zavala Padilla G, Trujillo-Roldán MA, Valdez-Cruz NA.....	29
Fabela S, Domenzain C, Ramírez-Cabrera V, De la Mora J, Osorio A, Poggio S, Dreyfus G, Camarena L	30
Fernández LA, Román González SA, Arreguin R, Trujillo-Roldán MA, Valdez-Cruz NA	30
Luna-Palacios Y, Castellanos-Mendoza AE, Zuluaga-Rave DF, Alagón A, Olvera A, Trujillo-Roldán MA, Valdez-Cruz NA	31
Ginez Vázquez LD, Osorio Franco A, Poggio Ghilarducci S	32

Departamento **Inmunología**

Cárdenas G, Fragoso G, Rosetti M, Rangel-Escareño C, Uribe L, Sciotto E, Fleury A	34
Rivera-Fuentes AD, Ortega E.....	34
Hernández-Bazán S, Sanchez B, Ortega E	35
Gómez Fuentes S, Palafox Fonseca H, Parada MC, Espitia C, Bobes R, Villalobos N, Arce Sillas A, Fragoso G, Sciotto E, Adalid L.....	35
Arce-Sillas A, Casanova-Hernández D, Álvarez-Luquín D, Cárdenas G, Fleury A, Fragoso G, Sciotto E, Adalid L	36
Navarrete-Perea J, Moguel BB, Fragoso G, Mendoza G [†] , Sciotto E, Bobes RJ, Lacleite JP	36
Díaz-Zaragoza M, Hernández-Ávila R, Ostoa-Saloma P	37
Herrera DR, Rosas G, Cervantes J, Arrellín G, Hernández B, Sciotto E, Fragoso G	37
Benítez JM, Espinoza B	38
Toledano Y, Jiménez K, Lacleite JP, Carrero JC	38
Díaz EP, Espinoza B.....	39
González W, Rosales C	39
Alemán OR, Rosales C	40
Mora N, Rodríguez-Cruz A, Rosales C	40
Muñoz Godinez R, Rosales C	41
Segura-Velázquez R, Cervantes J, Acosta E, Sánchez-Betancourt I, Villalobos N, Rodarte LF, Fragoso G, Sciotto E	41

Ruiz Monroy NM, Palafox Fonseca H, López Roblero A, Arce Sillas A, Camacho-Vázquez C, Nájera-Ocampo M, Fragoso G, Fleury A, Sciutto-Conde E, Adalid-Peralta L	42
Palafox Fonseca H, Zuñiga G, Govezensky T, Bobes R, Piñero D, Texco L, Hernández M, Proaño J, Cárdenas G, Fleury A, Sciutto E, Fragoso G	42
Martínez MI, Espinoza GB	43
Rodríguez A, Hernández J, García EA	43
Pérez EG, Servín R, Munguía ME, Domínguez AN, Zamora R, Manoutcharian K	44
García TC, Espinosa P, Mancilla R	44
Monreal-Escalante E, Bañuelos-Hernández B, Hernández M, Fragoso G, Sciutto, Rosales-Mendoza S	45
Rodríguez M, Rosetti M, Florentino A, Fragoso G, Fleury A, Sciutto E, Meneses G	45
Escalante P, Rodríguez M, Fragoso G, Fleury A, Sciutto E, Meneses G	46
Burgueño EP, Mier-Aguilar CA, Roa NS, Raman C, Chávez-Ríos JR, García-Zepeda E, Soldevila G	46
Morales P, Vallecillo AJ, Segura E, Parada C, Espitia C.....	47
Salgado EB, Morales SJ, Sánchez Zamorano LM, Fragoso G, Sciutto E, Fleury A, Hernández M.....	47
Palacios-Pérez M, de Farias ST, Rêgo TG, José MV	48
Gómez-Macías E, Cervantes J, Rivera-Toledo E, Fragoso G, Sciutto E, Segura-Velázquez R.....	49
Guzmán-Vázquez S, Méndez-Enríquez E, Moreno-Eutimio MA, Soldevila G, García-Zepeda EA.....	49

Departamento **Medicina Genómica y Toxicología Ambiental**

Santes-Palacios R, Camacho-Carranza R, Espinosa-Aguirre JJ	51
Calvo-Ochoa E, Hernández-Ortega K, Ferrera P, Morimoto M, Gutiérrez-Juárez R, Arias C.....	51
García G, Ojeda SL, Camacho R, Espinosa-Aguirre JJ.....	52
Correa-Gallegos D, Chimal-Monroy J.....	52
Navarro-Mabarak CM, Camacho-Carranza R, Hernández-Ojeda S, Espinosa-Aguirre JJ.....	53
Solís S, Montero R, Arellano-Aguilar O	53
Mora Roldan GA, Cevallos Guerra R, Gazarian K	54
Pánico JP, Burns AL, Sordo M, Ostrosky-Wegman P, Salazar AM	54
Wischin S, Robles-Flores M, Chimal-Monroy J.....	55
Ortiz-Matamoros A, Arias C, Podlesniy P, Silva-Figueiro J, Ortiz-Matamoros A, Trullas R	55
Aguilera F, López AP, Belmont JA, Serrano L, Montero RD.....	56
Silva D, Gutiérrez G, Gonsebatt ME	56
Murillo AR, Melo Z, Vázquez N, Mercado A, Gamba G	57
Guzmán CA, Ibarra A, González C, Ventura JL, Zentella A.....	57
Ávila OS, Olguín S, Camacho R., Espinosa-Aguirre J.J.....	58
Ramos Chávez LA, Petrosyan P, Gonsebatt ME.....	58
Cabrera AJQ, Ventura-Gallegos JL, Gallardo MV, López AM, Zentella-Dehesa A	59
Flores-León M, Prada D, Díaz-Chávez J, González-Barrios R, Castro C, Herrera LA.....	59
Alcalá Moreno IM, Soto Reyes E, Morales Espinosa D, González Barrios R, Maldonado Martínez HA, Cantú D, Castro C, Herrera LA	60
Guerra LX, Soto-Reyes E, Alcalá IM, González Barrios R, Maldonado HA, Castro C, Herrera LA.....	60
Suárez K, Montero RD	61
Cisneros-Soberanis F, Soto-Reyes E, Herrera LA	61

Índice

Sánchez Navarro A, Valdovinos Flores C, Gonsebatt Bonaparte ME	62
Albarrán-Ponce LÁ, Fajardo-Miranda RM, Gamboa de Buen I, Valdovinos-Flores C, Vázquez-Vázquez MA, Gonsebatt ME	62
Mendoza-Oliva A, Ferrera P, Arias Álvarez C.....	63
Rodríguez A, Torres L, Juárez U, Sosa D, García B, Cortés E, Ortiz R, Salazar AM, Ostrosky P, Mendoza L, Frias S	63
Hernández BE, Sánchez N, Hernández SL, Espinosa JJ, Camacho R	64
Belman-Ramos C, Castaños-Sánchez de la Barquera C, Espinosa-Aguirre J, Camacho-Carranza R.....	65
Valdovinos Flores C, Gonsebatt ME, Petrosyan P	65
Fabián-Morales E, López-Saavedra A, González-Barrios R, López-Navarro OG, Reynoso-Noverón N, Castro-Hernández C, Cadelaria-Hernández M, Soto-Reyes E, Herrera LA.....	66
Downie-Ruiz A, López-Saavedra A, Andonegui-Elguera M, Prada-Ortega D, Díaz-Chávez J, Mendoza-Pérez J, Cáceres-Gutiérrez R, Santibañez-Andrade M, Castro-Hernández C, Herrera LA	66
Cáceres Gutiérrez RE, Andonegui Elguera MA, López Saavedra A, Prada DG y Herrera LA	67
Maciel Ruiz JA, Petrosyan P, Veloz Martínez MG, Molina Servín ED, Pacheco Cáceres ME, Gonsebatt ME	67
Martínez-Ramírez OC, Rubio J	68
Fabián-Morales E, López-Saavedra A, González-Barrios R, López-Navarro OG, Reynoso-Noverón N, Castro-Hernández C, Cadelaria-Hernández M, Soto-Reyes E, Herrera LA	68
Bargiela Iparraquirre J, Lopez Saavedra A, Sanchez Perez I, Alonso Herrera L.....	69
Flores-Dorantes MT, Mendoza-Lorenzo P, Nava-Salazar S, Ramos-Espinosa P, Salazar AM, Cebrián A, Cebrián ME, García-Vargas G, Villarreal-Molina MT, Ostrosky-Wegman P.....	70
Sánchez JN, Hernández BE, Hernández SL, Espinosa JJ, Camacho R	70
el Castillo Falconi V, González Barrios R, Soto-Reyes E, Herrera LA	71
Oliva-Rico DA, González-Barrios R, Fabián-Morales E, Herrera LA	71
Córdova G, Espinosa JJ, Camacho R	72
Dozal DS, Zentella A, Olaya A, Reyes H, Cárdenas R	72
Andonegui-Elguera MA, Cáceres-Gutiérrez R, López-Saavedra A, Prada D, Herrera LA	73
Pérez A, Dozal D, Aldape B, Lopez A, Zentella A	73
Morales Becerril KJ, Martínez Ramírez OC, Rubio Lightbourn J.....	74
Levario V, Arellano RO, Guadarrama B, Barajas C, Hernández SL, Espinoza JJ, Camacho R.....	74
Rangel NA, Cortes CC, Jiménez MA, Pérez MD, Díaz JL, Cantú D, Herrera LA	75
Morales SG, Cortes CC, Pérez C, Herrera LA	75
Unidades De Apoyo	
Mora Silvia I, Benítez JM, Gómez H, Gutiérrez-Ospina G, Espinoza B.....	78
Carteles Premiados Por Departamento	
Biología Celular y Fisiología	80
Biología Molecular y Biotecnología	81
Inmunología	82
Medicina Genómica y Toxicología Ambiental	83
Carteles Premiados Ganadores	
Primer Lugar Licenciatura	85
Primer Lugar Posgrado	87

Introducción

Por primera vez, se lleva a cabo de forma bianual la décimo octava edición de nuestro Congreso de Carteles “Dr. Lino Díaz de León” siendo ésta una magnífica oportunidad para conocer y discutir las líneas de investigación que se cultivan en nuestro Instituto, y son los estudiantes los principales protagonistas de este evento. Son ellos que con su trabajo y entusiasmo, hacen posible que un día al año nos reunamos para convivir académica y socialmente.

Son estos estudiantes que con la atinada dirección de sus tutores, enriquecen nuestra vida académica; en ellos recae en buena medida la generación de resultados que se transformarán en presentaciones en congresos, conferencias y finalmente publicaciones.

Estas memorias recopilan los resúmenes de los trabajos realizados por los estudiantes para este XVIII Congreso de Carteles. Es clara la relación entre el número de publicaciones de un determinado grupo de investigación y el número de estudiantes que en él desarrollan su trabajo.

En total se presentaron 134 carteles de alumnos de licenciatura, posgrado, servicio social y estancias de investigación adscritos al IIB, de los cuales 22 son del Departamento de Biología Celular y Fisiología; 32 del Departamento de Biología Molecular y Biotecnología; 31 del Departamento de Inmunología; 48 del Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental y 1 de Unidades de Apoyo.

Como en años anteriores, se premió al mejor cartel de cada uno de los cuatro departamentos, así como el mejor cartel a nivel licenciatura y a nivel posgrado.

Deseando que todos obtengamos el mayor provecho de este evento, los invito con gusto a conocer una muestra del trabajo que se desarrolla en nuestro Instituto.

Dr. Jesús Javier Espinosa Aguirre
Secretario Académico

Departamento

Biología Celular y Fisiología

INOLAB
Especialistas



**UNA EMPRESA
DE ALTA TECNOLOGÍA**

SOPORTE TÉCNICO ESPECIALIZADO



Distribuidor Autorizado
GE Healthcare



Whatman®
By GE

NOS REGIMOS BAJO LA NORMA ISO 17 025

Contamos con Ingenieros **ESPECIALIZADOS Y CERTIFICADOS** para atender sus necesidades de Servicio Técnico con **CALIDAD Y CONFIANZA**. Como parte de nuestro departamento de ingeniería de servicio, ponemos a sus órdenes nuestro **LABORATORIO DE PRUEBAS DE DESARROLLO** con equipos demo y consumibles de primera calidad para brindarle **SOLUCIONES A SU MEDIDA**.

INGENIERIA DE SERVICIO

- Calificación de Instalación*
- Calificación de Operación*
- Calificación de Funcionamiento*
- Mantenimiento Preventivo*
- Mantenimiento Correctivo
- Calibraciones*
- Traslados
- Capacitaciones de Operación
- Cursos Especializados
- Análisis y Desarrollo de Métodos

** Con Protocolos de Doc. Validados*



Tel. (55) 55 24 24 29
Fax.(55) 55 34 91 35

sales@inolab.com • soporte@inolab.com • atencionclientes@inolab.com

www.inolab.com

Aniceto Ortega no. 1341 Col. Del Valle C.P. 03100 Del. Benito Juárez México D.F.

Suc. GDL. Cerrada de San José # 3038 Col. Chapalita GDL. JALISCO

BCF244

EFFECTOS OPUESTOS DE FÁRMACOS ANTI-CONVULSIVOS Y AGENTES PRO-CONVULSIVOS SOBRE LA EXPRESIÓN DEL ARNm DE IL-1BETA Y DE TNF-ALFA EN EL HIPOCAMPO. Gómez CD, Buijs RM, Sitges M. DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR Y FISIOLÓGIA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS. UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

Objetivos: Evidencia reciente muestra que en modelos animales de convulsiones y de epilepsia, la expresión de las citocinas pro-inflamatorias aumenta en el sistema nervioso central. En el presente trabajo se investigó en qué medida el nuevo fármaco anti-convulsivo, vinpocetina, así como los fármacos antiepilépticos clásicos, carbamazepina y ácido valproico, son capaces de suprimir o prevenir el aumento en la expresión de las citocinas en el cerebro. **Métodos:** Se utilizó la técnica de RT-PCR para determinar la expresión del ARNm que codifica para las citocinas pro-inflamatorias IL-1 β y TNF- α en el hipocampo de ratas administradas con una o siete dosis de vinpocetina, carbamazepina o ácido valproico, o después de la administración aguda de 3 diferentes agentes pro-convulsivos, a saber, 4-aminopiridina, pentilentetrazol o pilocarpina. También, se evaluó el efecto de los fármacos anti-epilépticos sobre las convulsiones y sobre los cambios en la expresión del ARNm de IL-1 β y de TNF- α inducidos por 4-aminopiridina. **Resultados:** Una dosis única de vinpocetina fue capaz de disminuir la expresión basal del ARNm de IL-1 β y de TNF- α en el hipocampo. Una dosis única de carbamazepina también disminuyó el ARNm de IL-1 β . Sin embargo, dosis repetidas de carbamazepina fueron necesarias para disminuir la expresión basal del ARNm de TNF- α . Opuestamente, las convulsiones tónico-clónicas generalizadas inducidas por la administración aguda de 4-aminopiridina, pentilentetrazol o pilocarpina, aumentaron la expresión basal del ARNm de ambas citocinas pro-inflamatorias. Una sola dosis de los fármacos anti-convulsivos fue capaz de prevenir las convulsiones tónico-clónicas, así como el aumento en la expresión de IL-1 β inducidos por 4-aminopiridina. Entre los anti-convulsivos evaluados, el ácido valproico fue el menos efectivo dado que fue incapaz de prevenir los cambios conductuales que acompañan a las convulsiones y el aumento en el ARNm de TNF- α inducidos por 4-aminopiridina. **Conclusión:** Los resultados descritos anteriormente sugieren que la acción de los fármacos anti-convulsivos sobre la excitabilidad cerebral también podría involucrar la prevención de procesos inflamatorios en el cerebro.

BCF254

LA PÉRDIDA DEL POTENCIAL NEUROGÉNICO EN LAS CÉLULAS PROGENITORAS NEURALES DE LA MÉDULA ESPINAL FETAL SE ASOCIA CON UNA DISMINUCIÓN DE LA ACTIVIDAD DE TELOMERASA Y UNA PROLONGACIÓN DEL CICLO CELULAR. Olivos-Cisneros L, Ramírez-SANTOS J, GUTIÉRREZ-OSPINA G. DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR Y FISIOLÓGIA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM.

En la médula espinal adulta existen células progenitoras neurales (CPN) capaces de generar neuronas. Esta capacidad, sin embargo, no se observa en condiciones *in vivo*. Se asume que la pérdida del potencial neurogénico de las CPN medulares espinales adultas ocurre como el resultado del proceso de transición entre las etapas neurogénica y gliogénica que tienen lugar durante el desarrollo fetal. No obstante, no es claro si la pérdida de la pluripotencialidad *in vivo* responde a factores microambientales o se asocia con limitaciones inherentes a las CPN. Al respecto, mucho trabajo se ha hecho para caracterizar el microambiente permisivo para la neurogénesis. En contraste, poco sabemos sobre los mecanismos moleculares y celulares que subyacen a las posibles restricciones intrínsecas que afectan el potencial de diferenciación neurogénico. En este trabajo ahondamos en el estudio de los factores intrínsecos que impiden la generación de neuronas una vez que se ha establecido la fase gliogénica durante el desarrollo. La telomerasa es una enzima que permite mantener la propiedad de autorenovación y posiblemente el potencial neurogénico de las CPN adultas. Nuestros datos muestran una estrecha relación entre la pérdida del potencial neurogénico y la pérdida de la expresión y actividad de telomerasa en la médula espinal *in vivo*, circunstancia que nos hizo pensar que la duración del ciclo pudiese estar afectada. En concordancia con ello, nuestras observaciones sugieren que la duración del ciclo celular es mayor, en los progenitores neurales comprometidos a generar células gliales, con relación a aquellos que sí originan neuronas. Esto ocurre en asociación con cambios en la disponibilidad de p19^{ARF}, molécula reguladora de la progresión ciclo celular. En su conjunto, pensamos que nuestros datos apoyan que existe un proceso de senescencia replicativa involucrada en la pérdida del potencial neurogénico de las CPN en la médula espinal fetal murina.

BCF257

DOSIS EFECTIVA DE DIAZEPAM EN RATAS RECIÉN DESTETADAS: LABERINTO DE BRAZOS ELEVADOS. GUILLÉN-RUIZ G^A, BERNAL-MORALES B^A, CONTRERAS CM^{A,B}, CUETO-ESCOBEDO J^A, RODRÍGUEZ-LANDA JF^A. QFBGABRIELRUIZ@YAHOO.COM.MX, BBERNAL@UV.MX, CCONTRERAS@UV.MX, JCUETO@UV.MX, JUARODRIGUEZ@UV.MX ^ALABORATORIO DE NEUROFARMACOLOGÍA, INSTITUTO DE NEUROTOLOGÍA, UNIVERSIDAD VERACRUZANA. AV. DR. LUIS CASTELAZO S/N, COL. INDUSTRIAL ANIMAS, C.P.91190, ^BUNIDAD PERIFÉRICA XALAPA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM.

Introducción: aunque las evidencias clínicas y experimentales han mostrado indicadores de ansiedad en sujetos muy jóvenes, la mayoría de los estudios que se encaminan a identificar las propiedades farmacológicas de sustancias con efectos ansiolíticos emplean sujetos adultos, por lo que los efectos de ansiolíticos en infantes han sido escasamente estudiados. El **objetivo** de este estudio fue identificar la dosis mínima efectiva con efecto ansiolítico en ratas recién destetadas de la cepa Wistar. **Método:** cinco grupos experimentales de ratas de la cepa Wistar de 21 días de edad incluido un grupo control (VEH: 0.9% NaCl, 0.3ml/rat, n=15) y otros grupos que recibieron diferentes dosis de diazepam (DZP): 0.1 mg/Kg (n=11), 0.5 mg/Kg (n=12), 1.0 mg/Kg (n=12) y 5.0 mg/Kg (n=9). Este rango de dosis incluyó dosis mayores y menores que 1.0 mg/Kg, considerada como la dosis ansiolítica más utilizada en ratas adultas. Los tratamientos fueron inyectados subcutáneamente en un volumen de 0.3 mL/rata. Una hora después de la inyección las ratas fueron evaluadas en el laberinto de brazos elevados y en la prueba de campo abierto. Todos los procedimientos se realizaron durante el período de luz entre las 11:00 a.m. y las 3:00 p.m. **Resultados:** todas las dosis ejercieron alguna acción ansiolítica, pero la dosis de 0.5 mg/Kg fue la mínima efectiva, produciendo el mayor número de entradas y tiempo de permanencia en los brazos abiertos en la prueba del laberinto de brazos elevados comparado con el vehículo, sin afectar la actividad locomotriz espontánea. **Conclusión:** las ratas infantiles requieren dosis menores de diazepam que los adultos, lo cual puede ser considerado en estudios futuros que evalúen el efecto de sustancias con algún efecto ansiolítico a esta edad.

Becario CONACYT No. 249708 (GR-G) y 171055 (CE-J).

BCF261

EXPRESIÓN DE RECEPTORES A NEUROTROFINAS EN EL GANGLIO SIMPÁTICO. FERIA JA, VALLE P, CIFUENTES F ELINOS D Y MORALES MA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS.

Se ha encontrado que las neurotrofinas (Nts) BDNF y NGF presentan un efecto diferencial sobre la LTP en el ganglio cervical superior (GCS), y sobre la actividad sináptica y eléctrica de las neuronas del GCS en cultivo. Este efecto diferencial puede implicar que el NGF y BDNF activen diferentes vías de señalización ligadas a los receptores TrkA, TrkB y/o p75. Hasta ahora se sostiene que las neuronas del GCS no expresan TrkB, por lo que el efecto observado con NGF estaría ligado a la activación de TrkA y el de BDNF a p75. Para investigar esta posible activación de diferentes vías de señalización, en este proyecto analizamos con técnicas de inmunofluorescencia la expresión neuronal de los receptores a Nts en el GCS en tejido completo y en cultivo. **Objetivos.** -Investigar si los receptores TrkA, TrkB y P75 se expresan en las neuronas simpáticas en el GCS intacto o en cultivo. -De ser detectados estos receptores, determinar el porcentaje de neuronas que los expresan. **Hipótesis:** -Los receptores a Nts, TrkA, TrkB y P75, se expresan diferencialmente en la población neuronal del GCS. **Métodos.** Uso de inmunofluorescencia en cortes de GCS de rata, así como cultivo primario de neuronas de GCS. Obtención y análisis de imágenes para cuantificar el porcentaje de neuronas inmunopositivas. **Resultados.** Se encontró expresión de los receptores TrkA y p75; y contrario a lo señalado en la literatura también se detectó expresión de TrkB tanto en las neuronas en cultivo como en las del GCS intacto. De la población neuronal del GCS, 60% de neuronas expresan TrkB, 84% TrkA y 52% p75. Aunque aún no se han cuantificado en cultivo la mayor proporción de neuronas expresan TrkB en vez de TrkA. Adicionalmente encontramos que 50% de las neuronas co-expresan p75 y trkA, y 44% co-expresan TrkB y p75. **Conclusiones.** Los datos anteriores demuestran que las neuronas del GCS no sólo expresan TrkA y p75 como se había sugerido, sino que también expresan TrkB, especialmente en cultivos donde este receptor es el más abundante de los 3 explorados. Además, estos resultados plantean la posibilidad de que TrkB, y no únicamente p75, esté implicado en el efecto de BDNF sobre la LTP del ganglio completo y sobre las propiedades eléctricas de las neuronas en cultivo. Asimismo, es necesario considerar las implicaciones que la presencia de TrkB en el GCS puede tener para otros procesos fisiológicos.

BCF265

PROPUESTA SOBRE LA FUNCIONALIDAD DE LA CÉLULA DE SCHWANN EN LOS AXONES DEL SISTEMA NERVIOSO PERIFÉRICO. MIGUEL ÁNGEL LARA-GARCÍA, OMAR LARA-GARCÍA, VERÓNICA DÍAZ-HERNÁNDEZ, HORACIO MERCHANT-LARIOS Y PABLO PACHECO. UNIDAD PERIFÉRICA DEL IIBM-UNAM EN LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA VERACRUZANA, XALAPA, VER; DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR Y FISIOLOGÍA, IIBM-UNAM; FACULTAD DE MEDICINA, UNAM.

En nuestro laboratorio, hemos analizado cambios plásticos en el sistema nervioso, que se presentan durante la vida reproductiva de la rata hembra. De ellos, la modificación en la mielinización de los axones del nervio espinal torácico 13, el cual está muy relacionado con la primera glándula mamaria abdominal de la rata hembra, nos llevó a plantear que los cambios plásticos del sistema nervioso observados durante el embarazo, parto y lactancia, se deben en parte a la mayor mielinización de los axones del sistema nervioso periférico que nosotros estudiamos. Por ello hacemos, además de la ya conocida producción de mielina, una nueva propuesta sobre la funcionalidad de la célula de Schwann, esta mimifica a la célula endotelial de los capilares sanguíneos al proveer un aporte iónico y energético para la funcionalidad de los axones del sistema nervioso periférico, que se lleva a cabo durante la transmisión de los impulsos nerviosos.

BCF266

EFFECTOS ANSIOLÍTICOS DE ÁCIDOS GRASOS EN RATAS INFANTILES SOMETIDAS AL LABERINTO DE BRAZOS ELEVADOS. CUETO-ESCOBEDO J^A, CONTRERAS C.M^{A,B}, BERNAL-MORALES B^A, GUILLÉN-RUIZ G^A. ^ALABORATORIO DE NEUROFARMACOLOGÍA, INSTITUTO DE NEUROETOLOGÍA, UNIVERSIDAD VERACRUZANA. DR. LUIS CASTELAZO S/N, COL. INDUSTRIAL ANIMAS, C.P.91190, JCUETO@UV.MX ^BUNIDAD PERIFÉRICA XALAPA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM.

Introducción: Las funciones del líquido amniótico no han sido completamente definidas. Un trabajo previo de nuestro grupo demostró que los ácidos grasos presentes en el líquido amniótico humano producen un efecto tipo ansiolítico en ratas adultas. Sin embargo, se desconocen sus acciones conductuales en ratas de 28 días de edad postnatal (PN). **Objetivo:** ensayar el efecto de los ácidos grasos en el laberinto de brazos elevados en ratas recién destetadas. **Método:** Ratas Wistar de 28PN (N=60) fueron destetadas y asignadas a uno de cuatro grupos experimentales: un grupo vehículo (96% propilenglicol y 4% etanol, 1ml/250g/rata, n=12), un grupo de la mezcla de ácidos grasos: 1ml/300g/rata (FAM, n=19), un grupo de solución salina 0.9% (n= 12) y un grupo con diazepam (Valium® 10, 1mg/kg/0.25ml, n=17) como control farmacológico. El vehículo y la mezcla de ácidos grasos se administraron 24, 5 y 1 hora antes de las pruebas conductuales mientras que el diazepam se administró 30 min antes de las pruebas. Los animales se sometieron a la prueba de laberinto de brazos elevados donde se midieron conductas indicadoras de ansiedad e inmediatamente después a la prueba de actividad locomotriz para descartar efectos motores. **Resultados:** El análisis estadístico demostró que las entradas (número y porcentaje) y el tiempo de permanencia en los brazos abiertos fueron mayores en los grupos de la mezcla de ácidos grasos y diazepam ($p < 0.05$) con respecto a los vehículos. Además, con la mezcla de ácidos grasos y el diazepam el tiempo de intentos de exploración fue menor ($p < 0.05$), mientras que el número de asomos al brazo abierto fue mayor ($p < 0.05$) respecto a los grupos tratados con vehículo. Por último, en la prueba de actividad locomotriz no se encontraron diferencias significativas entre grupos para las variables de locomoción. **Conclusion:** La mezcla sintética de los ácidos grasos presentes en el líquido amniótico produjo un efecto ansiolítico comparable al diazepam sin modificar la actividad locomotriz.

Becario CONACYT No. 171055 (C-EJ) y 249708 (G-RG).

BCF267

EFFECTO DE LA HISTAMINA EN LA FORMACIÓN DE LA VÍA NIGROESTRIATAL DURANTE EL DESARROLLO DEL MESENCÉFALO VENTRAL DE RATA. VARGAS F, ESCOBEDO I, GUTIÉRREZ G, VELASCO I. *INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS-BIOLOGÍA CELULAR Y FISIOLÓGIA. INSTITUTO DE FISIOLÓGIA CELULAR-NEUROCIENCIAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, MÉXICO, D.F.-04510, MÉXICO.*

Durante la formación del mesencéfalo (Mes), un evento fundamental es la diferenciación de neuronas dopaminérgicas durante los días de desarrollo embrionario 9 al 15 (E9-E15). Estas neuronas forman la vía nigro-estriatal entre E12-E16, alcanzando las primeras proyecciones el estriado en E18. En la región del Mes, la histamina (HA) presenta un incremento transitorio en su concentración entre E14-E16, lo que coincide con la mayor producción de neuronas en esta región, sugiriendo que la HA podría influir en la diferenciación dopaminérgica. En el sistema nervioso central, la HA actúa mediante la activación de 3 receptores acoplados a proteínas G (RH₁-RH₃). Previamente, hemos demostrado que la HA, administrada intrauterinamente en el cerebro en desarrollo, interfiere con la diferenciación dopaminérgica de progenitores neurales (PN) de Mes, debido a la activación del RH₁. En otros trabajos, se ha mostrado la expresión de estos tres receptores durante el desarrollo del cerebro a partir de E14, mediante hibridación *in situ*. En este trabajo analizamos mediante inmunohistoquímicas la co-expresión de los tres receptores histaminérgicos con diferentes marcadores neurales, en diferentes estadios del desarrollo del Mes. También realizamos inyecciones con HA a distintos días (E10, E12 y E14), analizando 2 días después la presencia de la enzima limitante en la síntesis de dopamina, Tirosina Hidroxilasa (TH). Solamente los embriones inyectados a E10 y E12 tuvieron una disminución importante en el marcaje con TH, mientras que aquellos tratados en E14 no se vieron afectados, lo que sugiere fuertemente que la HA ejerce sus efectos sobre PN dopaminérgicos. Finalmente, se administró HA en E12 y se analizó su efecto sobre la formación de la vía nigro-estriatal en E18. Encontramos una disminución notable de las fibras positivas a TH que se aproximan al estriado. El entender los mecanismos de acción de HA podría contribuir a diseñar estrategias para contender con la degeneración dopaminérgica, responsable de la Enfermedad de Parkinson.

Apoiado por DGAPA, UNAM (Papiit IN208713) y Conacyt (131281).

BCF271

ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO DE CÉLULAS MIOEPITELIALES EN GLÁNDULAS SALIVALES DEL MURCIÉLAGO FRUGÍVORO ARTIBEUS JAMAICENSIS. GUERRERO HERNÁNDEZ JI, MORENO MENDOZA N. *DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA CELULAR, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM.*

Introducción. Las células mioepiteliales son células de origen epitelial con características contráctiles necesarias para la correcta función de las glándulas salivales permitiendo la expulsión de la saliva desde las porciones secretoras hacia la cavidad bucal. Las glándulas salivales de los murciélagos, al igual que las del resto de los mamíferos, se componen de unidades funcionales (sialonas) que constan de porciones secretoras o acinos, un sistema de conductos y células mioepiteliales. Las porciones secretoras y el sistema de conductos han sido objeto de extensos estudios debido a sus particularidades y diferencias entre especies de murciélagos, sin embargo las células mioepiteliales no han sido estudiadas tan ampliamente, aunque también pueden existir peculiaridades morfológicas como las que existen en los otros componentes de la sialona salival. **Objetivos.** Establecer la presencia de células mioepiteliales en el parénquima de las glándulas salivales de *A. jamaicensis*. Determinar inmunohistoquímicamente la distribución de las células mioepiteliales en las glándulas salivales de *A. jamaicensis*. **Material y Métodos.** Colecta de murciélagos en el municipio de Yauatepec, Morelos. Sacrificio y extracción de las glándulas salivales mayores. Procesamiento de muestras para tinción con H-E y para la realización de inmunohistoquímica con K14 y SMA α . **Resultados y Conclusiones.** Se confirmó la presencia de células mioepiteliales en el parénquima de las glándulas salivales del murciélagos frugívoro *Artibeus jamaicensis*. Estas células se encontraron distribuidas tanto en las porciones secretoras como en el sistema de conductos a excepción de sus porciones finales (conductos excretores). No se encontraron células en los conductos más pequeños (intercalares) debido a que estos son difíciles de identificar con microscopía de luz clara. Es necesario realizar más estudios para determinar la función de estas células en cada porción de la sialona, así como para identificar diferencias en su distribución en glándulas salivales de otras especies.

Apoiado por PAPIIT-UNAM IN205011.

BCF273

EFFECTO ANSIOLÍTICO DE ÁCIDOS GRASOS IDENTIFICADOS EN LÍQUIDO AMNIÓTICO HUMANO. GARCÍA-RÍOS RI¹*, RODRÍGUEZ-LANDA RL¹, CONTRERAS CM^{1,2,*}. LABORATORIO DE NEUROFARMACOLOGÍA, INSTITUTO DE NEUROETOLOGÍA, UNIVERSIDAD VERACRUZANA. XALAPA, VERACRUZ. MÉXICO¹. UNIDAD PERIFÉRICA EN XALAPA DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM², EMAIL: CCONTRERAS@UV.MX, CCONTRERAS@BIOMEDICAS.UNAM.MX * BECA CONACYT REG. 203280; * DONATIVOS CONACYT CB-2006-1, 61741 Y DGAPA-PAPIIT IN211111-3.

Introducción. Una mezcla de ocho ácidos grasos identificados constantemente en fluidos materno-infantiles como el líquido amniótico, el calostro y la leche materna humana, producen un efecto tipo ansiolítico semejante al diazepam en la rata Wistar. Este efecto es detectado cuando se les administra 1 ml de la mezcla, el cual corresponde a la proporción precisa de los ácidos grasos encontrados en el líquido amniótico humano; sin embargo, es desconocido el rango de concentración que produce la acción ansiolítica. **Objetivo.** Identificar la concentración de una mezcla de ocho ácidos grasos efectivo para producir un efecto ansiolítico a nivel experimental. **Métodos.** En un estudio trasversal ratas macho Wistar adultas fueron evaluadas en la prueba de enterramiento defensivo 1 h después de la administración de cuatro concentraciones (0.125, 0.25, 0.5 y 1 ml por rata) de una mezcla de ácidos grasos constituida por los ácidos grasos: láurico (0.4%), mirístico (3.0%), palmítico (15.3%), palmitoleico (7.1%), esteárico (3.7%), oleico (8.0%), elaidico (1.5%) y linoleico (4.4%). Como control activo se empleó una dosis ansiolítica de diazepam (2 mg/kg). **Resultados.** El volumen de 1 ml de la mezcla de ácidos grasos redujo el tiempo de enterramiento defensivo (reducción del indicador de ansiedad) e incrementó la latencia al enterramiento (reducción de la reactividad del animal) de manera semejante al diazepam. Ninguno de los volúmenes inyectados, ni el diazepam, produjeron cambios significativos en la actividad motriz. **Conclusión.** El efecto ansiolítico a nivel experimental producido por la mezcla de estos ácidos grasos, se produce sólo con la proporción de ácidos grasos encontrada en el líquido amniótico humano.

BCF278

ACCIÓN DE UNA FEROMONA DE ALARMA EN LA ACTIVIDAD NEURONAL DEL CIRCUITO AMÍGADALA MEDIAL-HIPOCAMPO. MOLINA-JIMÉNEZ T¹, GUTIÉRREZ-GARCÍA AG^{1,2}, CONTRERAS CM^{*1,3} (CCONTRERAS@UV.MX; CONTRERAS@BIOMEDICAS.UNAM.MX). ¹ LABORATORIO DE NEUROFARMACOLOGÍA DEL INSTITUTO DE NEUROETOLOGÍA, UNIVERSIDAD VERACRUZANA. XALAPA, VERACRUZ. MÉXICO. ² FACULTAD DE PSICOLOGÍA, UNIVERSIDAD VERACRUZANA. XALAPA, VERACRUZ. MÉXICO. ³ Unidad Periférica Xalapa, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. Xalapa, Veracruz. México.

La amígdala y el hipocampo forman parte de un circuito cerebral involucrado en la memoria emocional. La amígdala medial (AMe) recibe información olfativa y regula conductas sociales iniciadas por señales químicas, y participa en la modulación de respuestas de miedo, pero se desconoce la acción de feromonas de alarma en la conexión hipocampo-AMe. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar la actividad neuronal de ésta conexión ante la exposición previa de 2-heptanona, una feromona de alarma. Se formaron dos grupos de ratas macho adultas de la cepa Wistar. Uno de ellos fue expuesto a 2-heptanona 24 hrs antes del registro. Los grupos fueron sometidos a registro unitario extracelular del hipocampo. El análisis periestímulo base 25 ms indicó que las neuronas hipocámpales aumentan su actividad neuronal después de la estimulación eléctrica de la AMe [$F_{1,152} = 211.01$, $p < 0.001$], pero en el grupo 2-heptanona significativamente [$F_{1,152} = 21.89$, $p < 0.001$] la respuesta de las células del hipocampo a la estimulación amigdalina, es de mayor amplitud y duración que el grupo control. El análisis de intervalos del grupo control indicó un histograma trimodal (2, 7 y 40 ms), en el grupo 2-heptanona desapareció la tercer moda, y las dos modas de intervalo corto (2 y 7 ms) fueron más pronunciadas. Concluimos que el circuito amígdala medial-hipocampo es sensible a una feromona de alarma, cuyo significado parece ser que la presentación única a una feromona de alarma prepara al sujeto ante una situación potencialmente peligrosa en el largo plazo.

*Agradecimiento: CONACYT (CB-2006-1, 61741), UNAM (DGAPA-PAPIIT IN211111-3).

BCF280

PARTICIPACIÓN DE LAS HORMONAS GONADALES EN LA REGULACIÓN DE LA MICCIÓN Y EL PATRÓN DE ACTIVIDAD DEL PUBOCOCÍGEO Y EL BULBOESPONJOSO EN LA CONEJA DOMÉSTICA. SÁNCHEZ GO¹, CORONA QUINTANILLA DL², PACHECO P³, MARTÍNEZ GM³ Y CASTELÁN F². ¹DOCTORADO EN NEUROETOLOGÍA, UNIVERSIDAD VERACRUZANA; ²CENTRO TLAXCALA DE BIOLOGÍA DE LA CONDUCTA, UATX, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO³.

La micción es un proceso fisiológico que involucra el almacenamiento y la expulsión de la orina. Para ello requiere de eventos coordinados entre la vejiga, la uretra, el esfínter de la uretra y los músculos del piso pélvico y perineal. Se ha mostrado que la función de estas estructuras también están reguladas por las hormonas gonadales (estradiol). En mujeres con bajos niveles de estrógenos, principalmente se presentan prolapsos viscerales, disfunciones sexuales y urinarias, así como, disminución de la fuerza de contracción muscular. Por lo que pensamos que la disminución de las hormonas gonadales tiene efecto sobre la morfofisiología del aparato urinario inferior y el patrón de actividad eléctrica de los músculos pélvicos y perineales. El objetivo del trabajo es evaluar el efecto de la disminución de las hormonas gonadales en la función vesical, uretral y actividad eléctrica de los músculos pubococcígeo (mPc) y bulboesponjoso (mBe). Mediante registros simultáneos de cistometogramas (CMG,s), de presión uretral (PU) y electromiogramas (EMG,s) del mPc y mBe. En conejas control (C), ovariectomizadas (OVX) y ovariectomizadas con remplazo hormonal con Benzoato de estradiol (OVX+BE). Nuestros resultados muestran que el patrón de actividad eléctrica del mPc y mBe de conejas OVX y OVX+BE esta desorganizado. Los parámetros urodinámicos en las OVX y OVX+BE en comparación con el grupo C mostraron un aumento en el volumen residual, una disminución en la eficiencia vesical, volumen expulsado. Respecto a la presión umbral y máxima solo hubo diferencias en el grupo OVX. Para la función uretral en los grupo OVX y OVX+BE mostraron disminución en la presión umbral de la PU, la presión máxima, la duración de la presión umbral que desencadena la presión uretral. El grupo OVX también mostro diferencias en la presión umbral de la presión uretral. Respecto a la histología del mPc no hay diferencias significativas en el área transversal de las fibras. Mientras que en el mBe si hubo diferencias. El número de mionúcleos por fibra incrementó en ambos músculos en el grupo OVX y OVX+BE. Conclusión, las hormonas gonadales (estradiol) participan en la regulación de la micción coordinando la función vesical, uretral y el patrón de actividad eléctrica de los músculos mPc y mBe.

Financiamiento de PROMEP-SEP (UATLX-PTC-109 a FC), PAPIIT-UNAM (228110 a MMG) y becas del CONACyT a OSG (248123).

BCF287

PARTICIPACIÓN DE LAS NEUROTROFINAS EN LA TRANSMISIÓN SINÁPTICA DEL GANGLIO SIMPÁTICO DE RATA. ARIAS ROMMEL, CIFUENTES FREDY, MORALES MIGUEL. DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR Y FISIOLÓGÍA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

Justificación: la función del sistema nervioso simpático (SNS) es coordinar y organizar las funciones autonómicas del cuerpo, los cambios en su actividad sean fisiológicos o patológicos, repercuten profundamente en la homeostasis del organismo. Las neurotrofinas son potentes reguladoras de la transmisión sináptica en otras áreas del sistema nervioso y dado que se encuentran presentes en forma nativa en los ganglios simpáticos, nos preguntamos si tendrán algún papel en la transmisión sináptica del sistema simpático. **Objetivo:** evaluar la capacidad de las neurotrofinas para modular la transmisión sináptica en el sistema simpático de la rata. **Resultados:** 1) La aplicación aguda de BDNF (200 ng/mL) o NGF (200 ng/mL) no modifica la respuesta ganglionar al pulso de prueba (0.2 Hz). 2) Al inducir potenciación sináptica de largo plazo (LTP) estimulando a alta frecuencia (40 Hz, 3 s), encontramos que: BDNF (200 ng/mL) aumentó la LTP 1.7 veces sobre el control ($p < 0.01$); por su parte, NGF a 200 ng/mL redujo la LTP en un 48% ($p < 0.0001$), mientras que en 500 ng/mL la aumentó 1.5 veces sobre el control ($p < 0.02$). Nuestra hipótesis es que BDNF (200 ng/mL) y NGF (>350 ng/mL) aumentan la LTP a través de un mecanismo mediado por el receptor de baja afinidad para neurotrofinas p75NTR; por su parte, NGF en dosis ~200 ng/mL actuaría selectivamente sobre su receptor TrkA, inhibiendo la LTP. Para determinar si p75NTR y TrkA participan en los efectos sobre la LTP, utilizamos C2-ceramida y el inhibidor de tirosin cinasa AG879, respectivamente. 3) En presencia de C2-ceramida (100 μ M), la LTP aumentó 4.1 veces sobre el control ($p < 0.03$), lo que sugiere la participación de p75 en la facilitación. Por otra parte, al aplicar NGF (200 ng/mL) en presencia de AG879 (1 μ M), el efecto de inhibición sobre la LTP se cancela ($p < 0.003$), por lo tanto, es posible que NGF reduzca la LTP vía TrkA. 4) El compuesto AG879 tuvo efecto *per se* sobre la LTP ganglionar, posiblemente por la interrupción de la señalización de NGF/TrkA constitutiva. En presencia de AG879 (1 μ M), la LTP aumentó 2.4 veces sobre el control ($p < 0.005$). **Conclusión:** las neurotrofinas

y sus receptores no participan en la transmisión basal ganglionar, pero si modulan la respuesta plástica como la LTP, inducida por estimulación de alta frecuencia. Estos resultados sugieren que la señalización a través de Nts regula la plasticidad sináptica ganglionar lo que podría reflejarse en una modulación de la actividad simpática.

BCF291

EFFECTO DE ESTÍMULOS OLFATIVOS (2-HEPTANONA Y ÁCIDO OLEICO) SOBRE LA RESPONSABILIDAD DEL CIRCUITO ÁREA TEGMENTAL VENTRAL-ESTRIADO VENTRAL. SALDIVAR-LARA M.¹, GUTIÉRREZ-GARCÍA A. G.^{1,2}, CONTRERAS C. M.^{1,3}, MOLINA-JIMÉNEZ T.¹. ¹LABORATORIO DE NEUROFARMACOLOGÍA, INSTITUTO DE NEUROETOLOGÍA, UNIVERSIDAD VERACRUZANA. AV. DR. LUIS CASTELAZO S/N COL. INDUSTRIAL LAS ÁNIMAS, XALAPA 91190, VERACRUZ, MÉXICO. ²FACULTAD DE PSICOLOGÍA, UNIVERSIDAD VERACRUZANA. MANANTIAL DE SAN CRISTÓBAL S/N. COL. XALAPA 2000. XALAPA, VERACRUZ, MÉXICO. ³UNIDAD PERIFÉRICA XALAPA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO. AV. DR. LUIS CASTELAZO S/N COL. INDUSTRIAL LAS ÁNIMAS, XALAPA 91190, VERACRUZ, MÉXICO. CCONTRERAS@UV.MX; CONTRERAS@BIOMEDICAS.UNAM.MX.

Introducción: La 2-heptanona (cetona de 7 carbonos) funciona como una feromona de alarma mientras que una combinación de ácidos grasos (entre ellos el oleico) encontrados en fluidos maternos ejercen propiedades ansiolíticas. En ambos procesos el sistema olfativo parece desempeñar un papel fundamental ya que este se encuentra en estrecha relación con estructuras encargadas del procesamiento emocional. **Objetivo:** Evaluar los posibles efectos del ácido oleico y de la 2-heptanona sobre la responsividad del circuito área tegmental ventral-estriado ventral (núcleo accumbens). **Material y métodos:** Se trabajó con 12 ratas macho Wistar de 3 meses de edad con un peso promedio de 250 a 300 g. Se les realizó una cirugía estereotáxica y se localizaron las coordenadas de las estructuras de interés. Se realizó una estimulación olfativa (aire, 2-heptanona o ácido oleico), posteriormente se estimuló eléctricamente el área tegmental ventral y se registró el núcleo accumbens en la región *shell* y por último se realizó una estimulación simultánea (olfativa + eléctrica). **Resultados:** Se encontraron diferencias significativas dependientes del estímulo olfativo ($P < 0.05$). La excitabilidad de las conexiones tegmental-accumbens aumenta durante la estimulación con 2-heptanona, mientras que el ácido oleico produce el efecto contrario. **Conclusión:** El ácido oleico y la 2-heptanona modifican la actividad multiunitaria de las neuronas del núcleo accumbens de la región shell conectadas con el área tegmental ventral en sentido opuesto, lo que parece relacionarse con situaciones de alarma y de quietud, respectivamente.

BCF301

EXPRESIÓN DE CANALES DE CALCIO TIPO T EN NEURONAS SIMPÁTICAS EN RESPUESTA AL ESTRÉS. SÁNCHEZ-TAFOLLA BM, HERNÁNDEZ-PLATA E, GÓMORA JC, CIFUENTES F. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, INSTITUTO DE FISIOLÓGIA CELULAR.

El sistema nervioso simpático (SNS) en respuesta al estrés aumenta su actividad y libera una mayor cantidad de neurotransmisores desde sus terminales axónicas en ganglios simpáticos o desde células cromafines en la médula adrenal, estructuras que lo conforman. La liberación de catecolaminas (noradrenalina, adrenalina) representa un mecanismo inmediato para hacer frente a situaciones de estrés. Esta liberación es desencadenada por señalización a través de calcio y ocurre por la apertura de diversos canales sensibles a voltaje. Los canales de calcio tipo-T ($Ca_v3.1-3.3$), que en condiciones normales no se expresan en células del SNS, regulan la entrada de Ca^{2+} que ocurre por despolarizaciones débiles y cercanas al potencial de reposo de la membrana, generando así una señal de Ca^{2+} . Estudios recientes en modelos experimentales *in vitro* de estrés han observado en células cromafines un aumento en la liberación de catecolaminas a bajos potenciales de membrana y la disminución del umbral de disparo, que podrían significar la expresión de canales de calcio tipo T. Se desconoce si *in vivo* ocurre la expresión de estos canales en las células del SNS y si éstos serían funcionales.

El objetivo de nuestro trabajo es determinar si en respuesta al estrés por frío se expresan *in vivo* los canales de calcio tipo T en neuronas ganglionares simpáticas y en células cromafines de la médula adrenal.

Se usó el modelo de estrés por aislamiento en ambiente frío, en el cual se colocaron ratas macho adultas de la cepa Wistar de manera individual en un ambiente de temperatura controlada (4-6°C). En paralelo se colocaron animales en condiciones control. Al transcurrir 5 días se diseccionaron algunas estructuras importantes del sistema nervioso simpático: el ganglio cervical superior, el ganglio estelar y la médula adrenal. De dichos tejidos se obtuvo el ARN total. Mediante RT-PCR dirigido a las secuencias Cav3.1-3.3 en ARN se encontró la expresión de varios subtipos de

canales de calcio tipo T en todos los tejidos estudiados. Al digerir con BglII el ADN amplificado, los fragmentos generados indicaron la expresión de los diferentes subtipos de canales tipo T. Esta expresión podría significar un mecanismo para aumentar la excitabilidad celular y facilitar la liberación de catecolaminas.

BCF303

PATRÓN DE METILACIÓN EN EL ENHANCER TESCO VINCULADO A LA DETERMINACIÓN SEXUAL EN LA TORTUGA GOLFINA *LEPIDOCHELYS OLIVACEA*. 1URBANO DEL AGUILA SP; 1VENEGAS SUAREZ PEREDO DE; 1MARMOLEJO VALENCIA JA; 1MERCHANT LARIOS H. 1DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR Y FISIOLÓGIA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

La temperatura es un factor determinante en el desarrollo del sexo gonadal de algunas especies de réptiles. En la tortuga golfina, la temperatura que influye a la gónada bipotencial hacia testículo (26°C) u ovario (33°C) en la etapa 23-26 del desarrollo. Los genes vinculados a la determinación sexual se encuentran altamente conservados en todas las especies de vertebrados hasta ahora estudiados. Un ejemplo es el gen Sox9, que se expresa en células de Sertoli que inicia la organización testicular de vertebrados. La expresión del gen es vía un enhancer denominado TESCO. Estudios epigenéticos en promotores de genes involucrados en el sexo gonadal muestran diferencia en patrones de metilación en ambos sexos, además del hallazgo de secuencias homologas de TESCO en varios grupos de vertebrados no mamíferos nos permite plantearnos: ¿Si la tortuga contiene una secuencia homologa TESCO y si es afectada epigeneticamente por la temperatura?. Por lo cual el objetivo del presente trabajo fue analizar los niveles de metilación del enhancer TESCO comparando gónadas incubadas a temperatura masculinizante o feminizante en la tortuga golfina. El ADN se adquirió de gónadas embrionarias morfológicamente diferenciadas en la etapa 27. El ADN fue sometido al método de bisulfito de sodio para determinar el patrón de metilación de las islas CpG y amplificado por PCR. Se realizó la clonación molecular del producto de PCR para su posterior secuenciación y análisis. Se obtuvo la secuencia completa del enhancer Tesco, además de encontrar módulos ECR descritos por Bagheri Fam (2010), los cuales están vinculados a factores transcripcionales involucrados en la determinación sexual. Mientras que los patrones de metilación de los embriones diferenciados fueron similares. Basados en la literatura, nuestro resultado fue inesperado, ya que esperábamos encontrar un patrón hipermetilado en hembra y hipometilado en macho, debido a la expresión de Sox9 en las células de los cordones medulares en hembra se apaga mientras que en macho se mantiene la expresión de Sox9 y crecen los cordones medulares para formación de la godanogénesis masculina. Esto permite concluir que la temperatura de incubación no afecta a los niveles de expresión de Sox9 por la vía TESCO. Pero el hecho que conserve ECR puede sugerir que otra vía esté involucrada en el mantenimiento de Sox9 en las gónadas diferenciadas.

BCF304

CO- TRANSMISIÓN Y SEGREGACIÓN *IN VIVO* DE NEUROTRANSMISORES CLÁSICOS (GABA- ACH) EN NEURONAS SIMPÁTICAS. ELINOS DIANA, CIFUENTES FREDY, MORALES MIGUEL ÁNGEL. DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR Y FISIOLÓGIA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

Las neuronas utilizan más de un neurotransmisor en la transmisión sináptica, en ésta capacidad neuronal conocida como co-transmisión pueden identificarse uno o más transmisores principales que transmiten la señal y uno o más co-transmisores que modulan dicha señal (Burnstock, 2004). Hasta ahora se acepta que las neuronas almacenan y liberan a sus transmisores y co-transmisores desde los mismos botones de un axón. Sin embargo, se han presentado evidencias de que las neuronas pueden segregar (almacenar y liberar) a sus transmisores y co-transmisores en diferentes botones sinápticos de un mismo axón (Sámano et al., 2012). Por ejemplo, las neuronas simpáticas segregan a su transmisor clásico acetilcolina (ACh) de sus co-transmisores *in vivo* (Sámano et al., 2009), y a sus neurotransmisores clásicos NE y ACh en cultivo (Vega et al., 2010). Aquí investigamos si las neuronas preganglionares simpáticas (NPS) segregan los neurotransmisores clásicos ACh y GABA *in vivo* en el ganglio cervical superior (GCS) de rata. Determinamos la presencia y posible segregación de ACh y GABA a través del doble inmunomarcaje del transportador vesicular de ACh (VACHT) o la enzima limitante de ACh, la acetil-colin tranferasa (ChAT) para ACh, y la enzima ácido glutámico descarboxilasa (GAD67) para GABA. Usamos FluoroGold para marcar retrógradamente a las NPS en médula espinal y a las ganglionares en el GCS. Confirmamos que GAD-67 se expresa tanto en somas como en varicosidades de las NPS. Encontramos que GAD67 se co-exprea con el marcador vesicular sináptico

sinaptofisina, lo que confirma su localización sináptica, y que ésta marca desaparece después de denervar el GCS, lo que indica su origen preganglionar. Mientras todos los somas GAD67 positivos co-expresan ChAT, un 38% de las varicosidades positivas a GAD67 no expresan VACHT, es decir estas varicosidades carecen de ACh. Encontramos que la mayoría de las neuronas ganglionares ricamente invadas por GABA se localizan en la región rostral del ganglio y envían sus axones por el nervio carotideo interno. Estos datos demuestran que las NPS en el ganglio intacto *in vivo*, al igual que las ganglionares en cultivo, tienen la capacidad de segregar transmisores clásicos. Es posible que en condiciones fisiológicas la segregación de transmisores pudiera jugar un papel relevante en la regulación de la función simpática.

BCF308

THE SUPRACHIASMATIC NUCLEUS MODULATES THE INFLAMMATORY RESPONSE. GUERRERO-VARGAS NN¹, BASUALDO MC¹, SALGADO-DELGADO R², FUENTES RI¹, GARCÍA J¹, GUZMÁN-RUIZ M¹, ESCOBAR C³, CARRERO JL⁴ AND BUJIS RM^{1*}. ¹DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR Y FISIOLÓGIA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM, MÉXICO; ²FACULTAD DE CIENCIAS, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ, S.L.P., MÉXICO; ³DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA, FACULTAD DE MEDICINA, UNAM, MÉXICO; ⁴DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM, MÉXICO. *RUJIBUJIS@GMAIL.COM.

The circadian system synchronizes and coordinates physiological processes according to dynamic changes in the environment. In mammals, the hypothalamic Suprachiasmatic nuclei (SCN) are considered to be the master circadian pacemaker, which is entrained by the light-dark cycle. The SCN transmits this daily message to all body tissues synchronizing behavior, hormone secretion, temperature changes and autonomic outflow thus maintaining peripheral oscillators coupled to the light-dark cycle. Thus the correct timing of physiological functions is set by the SCN.

Several studies have indicated the importance of time for the immune system; up till now evidence for this relationship is scarce in relation to the SCN. To determine the involvement of the SCN in the inflammatory response, we examined the temperature response, TNF- α and IL-6 production and neuronal activity of the SCN after intravenous LPS in male Wistar rats in the beginning of the rest period (ZT2) or in the beginning of the active period (ZT14). This was also evaluated in rats with bilateral SCN lesions.

During the rest period, when the SCN shows a high neuronal activity, an LPS challenge did not activate the SCN further and induced moderate temperature and lower cytokine responses. Animals challenged with LPS during the active period, when the SCN shows little neuronal activity, showed a decrease in core temperature and high cytokine production. In addition LPS induced SCN neuronal activation. Bilateral lesions of the SCN followed by an LPS challenge resulted in extreme elevated cytokines and temperature responses. We conclude that there is a close interaction between the immune system and the SCN; this interaction influences the intensity of cytokine and temperature responses. We suggest that the observed activation of the SCN after an LPS challenge is aimed to curb the innate immune response. The less severe response during the rest period, coinciding with the highest neuronal activity of the SCN, suggests that SCN activity is essential to inhibit the immune response.

BCF313

MODULACIÓN GABAÉRGICA DE LA TRANSMISIÓN SINÁPTICA DIFERENCIAL DEL GANGLIO CERVICAL SUPERIOR. RODRÍGUEZ R, ELINOS D, CIFUENTES F, MORALES MA. DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR Y FISIOLÓGIA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM.

El ácido gamma aminobutírico (GABA) es el principal neurotransmisor inhibitor del sistema nervioso. Este neurotransmisor se expresa en las neuronas preganglionares simpáticas, tanto en sus somas en la médula espinal como en sus varicosidades en el ganglio cervical superior (GCS; Ito et al., 2007). Se ha demostrado que GABA reduce la excitabilidad neuronal (Adams & Brown 1975) e inhibe la transmisión y plasticidad ganglionar (Burgos et al., 1994). La expresión de GABA sigue un gradiente rostro-caudal en el GCS (Wolf et al, 1989). Considerando la distribución heterogénea de la inervación GABAérgica en el GCS sería de esperarse un efecto inhibitorio diferencial regional. Para investigar esta posibilidad de inhibición GABAérgica diferencial estudiamos la transmisión ganglionar de la zona caudo-medial separadamente de la rostral, a través de registrar los potenciales de acción compuestos (PACs) en los nervios postganglionares caroti deo externo (NCE) e interno (NCI), respectivamente. Inicialmente confirmamos el gradiente rostro-caudal de la expresión de GABA y con marcaje retrogrado la localización rostral y caudo-medial de

las neuronas que proyectan sus axones por el NCI o el NCE respectivamente. Encontramos que GABA inhibe más los CAPs registrados en el NCI (Efecto máximo: 81.3%, IC50: 41.4 μ M) que los del NCE (Efecto máximo: 61.5%, IC50: 86.3 μ M; $p=0.002$). La amplitud de la inhibición con 100 μ M de GABA también fue diferente según el nervio registrado, en el NCE los CAPs se bloquearon 37.4%, mientras que los del NCI se inhibieron 62.2% ($p=0.02$). Para determinar la posible dependencia regional de la plasticidad ganglionar se estudió la potenciación posttetánica (PPT) sobre los registros de los NCI y NCE, se encontró que la PPT es de mayor amplitud cuando se registra en el NCE, lo que podría sugerir una inhibición tónica en la señal del NCI. El gradiente rostro-caudal de la expresión y de la inhibición GABAérgica en el GCS pudiera estar relacionado con los blancos inervados por las distintas regiones del ganglio, los órganos inervados por las neuronas de la región caudal y medial a través del NCE requerirán menos modulación inhibitoria GABAérgica que los inervados por las neuronas rostrales a través del NCI.

BCF319

DESENREDANDO CONTROVERSIAS SOBRE EL TDAH CON EVIDENCIA CONDUCTUAL. ROSETTI MARCOS¹, ULLOA ELENA², VARGAS ILSE¹, REYES-ZAMORANO ERNESTO³, PALACIOS-CRUZ LINO³, DE LA PEÑA FRANCISCO³ Y HUDSON ROBYN¹. *1. PSICOBIOLOGÍA DEL DESARROLLO, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, MÉXICO DF*
2. Depto. Psicofarmacología Infantil, Hospital Psiquiátrico Infantil JNN, México DF. *3. Instituto Nacional de Psiquiatría RFM, México DF.*

Los desordenes psiquiátricos están entre los principales problemas de salud en el mundo. Por ejemplo, el Trastorno por Déficit de Atención e Hiperactividad (TDAH) esta diagnosticado en cinco de cada cien niños, representando la primera causa de búsqueda de atención psiquiátrica en México. Dudas sobre un sobrediagnóstico ha llevado una demanda de nuevos consensos para un diagnostico, clasificación e identificación de los procesos cognitivos alterados función de sus bases biológicas. En este trabajo, probamos niños en una tarea basada en la conducta de búsqueda, una conducta esencial de los organismos móviles y que en los seres humanos parece integrar el uso de varios procesos cognitivos. La tarea ocurre en áreas amplias, tiene pocas reglas; consiste en coleccionar pelotas de golf escondidas bajo conos naranjas colocados sobre un campo de fútbol. Encontramos que a la prueba involucra y motivados a los sujetos, obteniendo todos un buen desempeño general. Sin embargo, los niños diagnosticados con TDAH tienen una menor eficiencia en la toma de decisiones ejecutadas durante el proceso de búsqueda aunque logran compensar su falta de eficiencia mediante un gasto energético mayor. También identificamos un porcentaje con un desempeño particularmente anómalo. Creemos que la prueba puede ayudar a identificar las bases biológicas de los trastornos mentales en un contexto ecológicamente válido, además de ofrecer una plataforma para probar otras psicopatologías del desarrollo.

Fondos de CONACYT FonSec Salud 162043.

BCF326

EFFECTO DE LAS LESIONES DEL NÚCLEO SUPRAQUIASMÁTICO EN LA EXPRESIÓN DE LOS RITMOS DE TEMPERATURA CORPORAL Y ACTIVIDAD LOCOMOTORA DE CONEJOS EN DESARROLLO. HERNÁNDEZ O¹, MONTÚFAR CHAVEZNAVA R² Y CALDELAS I¹. *¹DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR Y FISIOLÓGIA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM.*
²AMITE, Asociación Mexicana para la Innovación en Tecnología Educativa A.C., Distrito Federal, México.

Una característica presente en los organismos es manifestar diariamente oscilaciones rítmicas en diversos parámetros biológicos que van desde la expresión conductual, hasta mecanismos moleculares complejos. Estos ritmos son generados de forma endógena y autosostenida por marcapasos y osciladores circadianos. En mamíferos, el principal marcapaso está localizado en el núcleo supraquiasmático (NSQ) y es el responsable de controlar y coordinar diversos ritmos. En roedores adultos se ha demostrado que lesiones completas del NSQ eliminan la expresión de diversos patrones rítmicos tales como: la ingesta de agua, el ciclo sueño vigilia, la actividad locomotora (Acl), los niveles de cortisol en sangre, entre otros. Sin embargo, algunos otros parámetros persisten tales como el ritmo de la temperatura corporal (Tc) y la actividad anticipatoria al alimento (AAA). En este estudio se investigó el efecto de la lesión total del NSQ de conejos de 4 días de edad sobre el patrón de la Acl y Tc mantenidos en luz continua durante el amamantamiento, en ausencia de este y con alimentación sólida controlada.

Con esta estrategia encontramos que la lesión completa del NSQ, no tiene efecto en la expresión rítmica de la Tc y AcL durante el periodo de amamantamiento y alimentación sólida controlada. Adicionalmente, la AAA de ambos parámetros persistieron en ausencia del amamantamiento en los animales lesionados, sin embargo se observó un cambio significativo en la duración e intensidad del componente anticipatorio de la AcL tanto en el periodo de amamantamiento como en la alimentación sólida controlada.

Estos datos demuestran que la ritmicidad observada tanto a nivel fisiológico y conductual en conejos neonatos no dependen de la integridad del NSQ, lo cual sugiere que otros osciladores circadianos centrales y periféricos son los responsables de la generación y mantenimiento de la ritmicidad circadiana en edades tempranas del desarrollo.

<http://15yomodels.com/tag/madeleyne-vasquez-ttl-models/>.

BCF332

DETERMINACIÓN DE CAMBIOS EN LA ACTIVIDAD SIMPÁTICA EN RATAS ESPONTÁNEAMENTE HIPERTENSAS (SHR).

A. ZALDIVAR, F. CIFUENTES, M. MORALES. *DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR Y FISIOLÓGIA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM.*

El sistema nervioso simpático regula varias funciones fisiológicas esenciales y su disfunción generalmente está implicada en diversas patologías cardiovasculares como puede ser la hipertensión arterial (HTA). La hipertensión arterial esencial es un problema de salud muy serio, que a lo largo del tiempo provoca severas consecuencias como deficiencia renal, infarto del miocardio y eventos cerebrovasculares. Afecta a 1 de cada 3 adultos en México. Se ha descrito que existe una relación entre el aumento de la actividad simpática y la HTA.

Con el propósito de determinar los cambios de la actividad simpática durante la instalación de la hipertensión en ratas espontáneamente hipertensas (SHR), en este proyecto se estudiará la expresión de la LTP en el ganglio cervical superior de ratas SHR en tres etapas de la evolución de la hipertensión, al inicio, cuando ya está instalada y en etapa tardía de la patología. El conocer la evolución de la actividad simpática durante la instalación y evolución de este padecimiento cardiovascular, pudiera dar pistas para el diagnóstico temprano y para el pronóstico de la HTA.

Cómo resultados preeliminares encontramos la expresión de la LTP en los gcs de las ratas de ambas cepas analizadas, WKY y SHR. A las 10 semanas con una n=5 se encontró una tendencia, aún no significativa, de mayor LTP en las SHR. Por lo cual es valido inferir en un cambio en la actividad simpática en las ratas SHR dependiente de la fase de instalación de la HTA.

BCF359

ENSAYOS DE TRANSFECCIÓN EN CULTIVOS DE NEURONAS SIMPÁTICAS GANGLIONARES. VÉLEZ PA, ELINOS D,

CIFUENTES F. Y MORALES MA. *DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR Y FISIOLÓGIA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM.*

La cotransmisión se define como presencia y liberación de más de un neurotransmisor en la misma neurona (Burnstock, 2004). Hasta ahora lo generalmente aceptado es que en la co-transmisión los neurotransmisores se co-almacenen y co-liberen por igual desde todos sus botones (distribución homogénea), sin embargo han surgido evidencias que muestran que se pueden almacenar en distintos botones de la misma neurona, a lo que se ha denominado segregación. En el laboratorio se ha demostrado que las neuronas simpáticas ganglionares en cultivo con miocitos cardiacos segregan a sus transmisores clásicos norepinefrina (NE) y acetilcolina (ACh). En este estudio, para mostrar de forma categórica la segregación de estos neurotransmisores, se planea identificar los neurotransmisores en una sola neurona. Para esto se probó distintos métodos de transfección de GFP y se seleccionó el sistema basado en vectores virales, se buscaron los parámetros óptimos de densidad celular y titulación del vector. Con este sistema se planea marcar VMAT-2 y VAcHT con sondas fluorescentes diferentes (ej, GFP, DsRed protein) para estudiar por medio de time-lapse cómo se distribuyen los neurotransmisores en las distintas terminales nerviosas.

Departamento

Biología **M**olecular y **B**iotecnología

"Your trusted source for cell lines"



ATCC™

- Líneas Celulares, colección completa
- Virus
- Cepas, Panels, control microbiano
- Sueros Fetal Bovino, Entrega Inmediata
- Medios de Cultivo
- Agua Grado Biología Molecular



Tel. 01(55) 5741-1460

Científica Senna S.A. de C.V.

info@cientificasenna.com www.cientificasenna.com

CORNING cellgro®

Productos para Cultivo Celular

Científica Senna es el distribuidor en México para los productos Cellgro.

- Agua grado WFI y biología molecular
- Medios de Cultivo
- Sueros Fetal Bovino
- L-glutamina
- Suero Fetal Bovino, grado USDA, entrega inmediata

Tenemos también presentación en polvo de algunos medios



Tel.: (55) 5741-1460

info@cientificasenna.com www.cientificasenna.com

RayBiotech, Inc.
the protein array pioneer company

Empresa Líder en kits de Elisa, con más de 1000 kits de alta calidad, (2000 kits para fines 2014).



RayBiotech
The protein array pioneer.
ISO Certified

- Garantizados 100% para que usted pueda evaluar nuestros kits sin riesgo alguno, sin preocupaciones.

- Especies que tenemos: Humano, ratón, rata, cerdo, caballo, vaca, perro, macaco, etc.

Ahora ofrecemos presentación y precio promocional por 1, 3 o 5 kits

Tel.: (55) 5741-1460 info@cientificasenna.com
www.cientificasenna.com



BMB218

USO DE BACTERIAS LÁCTICAS Y RESAZURINA PARA MONITOREAR LA CADENA DE FRÍO DE LOS PRODUCTOS PERECEDEROS. JIMÉNEZ, G. T.; PÉREZ-GAVILÁN, E.J.P *; MACEDO, S.L. DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA. Mail: pgavilan@unam.mx*

En los alimentos, el control de temperatura es importante. Proponemos la utilización de bacterias lácticas como un medio para detectar los cambios de temperatura durante la su refrigeración. Se utilizó *Lactococcus lactis* subespecie *lactis* BM147. Absorbidos en un papel filtro con diferentes concentraciones de bacterias (1×10^4 y 1×10^7), los papeles se deshidrataron en vacío (15 a 25 mm Hg) a 25°C, 30 min. Se humedecieron tiras de papel filtro con resazurina (0.0125mg/25ml). Dos tiras (una con la cultivo y la otra con resazurina) se pusieron en contacto en una bolsa de polietileno que tenía encapsulada 0,3 ml de agua. Para activar el kit se oprimió la cápsula humedeciendo los papeles de la resazurina y las bacterias. Se observaron los cambios de color en función del tiempo, temperatura (4, 8, 22°C) y concentración buscando la concentración de bacterias que cambia rápidamente el color de la resazurina al color de rosa a 22°C y lentamente a 4°C. Varios kits se pusieron en contacto con pescado, cerdo y carne de vacuno, pollo y leche, de tal manera que el alimento y el kit fueran expuestos a la misma temperatura durante el mismo tiempo. Se midió el tiempo de los cambios de color de azul a rosado o blanco, y su correlación con la concentración de bacterias en el alimento, a 4, 8, 22°C hasta el momento en que se produce el cambio de color.

Se encontró que los cambios de color resazurina de azul a rosa se da en 2 horas a temperatura ambiente, con una concentración de bacterias de 1×10^7 . En 3 horas con una concentración de bacterias de 1×10^6 . En 6 horas con 1×10^5 y 15 horas con 1×10^4 . a 4°C los cambios se dan en menos de un día con 1×10^7 bacterias. Con 1×10^6 dos días. Con 1×10^5 5 días y más de 12 días con 1×10^4 . Se encontró relación entre el cambio de color con el tiempo y temperatura y la cantidad de las bacterias a las que es expuesto el kit. El kit puesto en alimentos, indicó que es posible predecir la cantidad de bacterias en éste a través del cambio de color.

BMB223

BÚSQUEDA DE COMPUESTOS BIOACTIVOS PRODUCIDOS POR HONGOS ASOCIADOS A *MAGNOLIA DEALBATA* ZUCC. ESPINOSA A., GUZMÁN SM., MACÍAS ML., SÁNCHEZ S. UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, MÉXICO, D.F., 04510; ESPINOSA_ALLAN@HOTMAIL.COM

Palabras clave: compuestos bioactivos, hongos, *Geomyces*.

Introducción. Los productos naturales bioactivos son aquellos que poseen un efecto sobre otro organismo. Incluyen antibióticos, fungicidas, herbicidas, antiparasitarios, antitumorales. Pueden obtenerse de plantas animales, insectos y microorganismos. Las plantas ofrecen una gran diversidad de hábitats para los microorganismos y han creado interacciones fisiológicas y ecológicas con ellos. Además, debido a que producen metabolitos secundarios, añaden cierta complejidad a la relación, lo que resulta en una fuente abundante de compuestos bioactivos. **Objetivo.** Evaluación de hongos asociados a *Magnolia dealbata* Zucc. Por su capacidad para producir compuestos bioactivos. **Métodos.** Las actividades biológicas evaluadas incluyen: antimicrobiana, fungicida, herbicida y antiprotozoaria (trypanocida). Para la identificación de los hongos seleccionados se amplificó una región del DNA ribosomal que comprende el ITS1, el gen 5.8S y el ITS2. **Resultados.** La mayoría de los hongos aislados con actividad antibiótica presentan similitudes con el género *Penicillium*, pero su perfil de inhibición varía entre ellos. De éstos, escogimos aquellos con el espectro más amplio para identificarlos, resultando ser *Penicillium chrysogenum*. Entre los demás hongos probados, nos interesamos en *Geomyces* sp., que mostró ser psicotolerante. Presenta micelio pequeño, hifas hialinas y septadas, conidios esféricos, crece moderadamente a 25° C, y secreta un pigmento rojizo. El microorganismo generó inhibición parcial contra *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis* y *Saccharomyces cerevisiae*. La amplificación, secuenciación y BLAST del gen 5.8S lo ubica en el género *Geomyces*, y los estudios morfológicos lo descartan como miembro de la especie *Geomyces destructans*, el cual tiene conidios más largos y curvos así como micelio cenocítico. **Conclusiones.** Hemos aislado hongos de los géneros *Geomyces*, *Fusarium* y *Penicillium*. *Geomyces* mostró un espectro de antibiosis moderado, y su morfología no corresponde con *Geomyces destructans* (patógena) y más bien parece corresponder a una nueva especie.

BMB224

VOLUMETRIC POWER INPUT EFFECT ON THE MORPHOLOGY OF *S. LIVIDANS* UNDER THREE SHAKE FLASK CONFIGURATIONS. MARÍN-PALACIO LD^{1,2,3}, GAMBOA-SUASNAVART RA^{1,2}, VALDEZ-CRUZ NA², SERVÍN-GONZÁLEZ L², CÓRDOVA-AGUILAR MS⁴, SOTO E⁴, KLÖCKNER W⁵, BÜCHS J⁵, TRUJILLO-ROLDÁN M.^{1,2}. 1. UNIDAD DE BIOPROCESOS 2. DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM. 3. DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA DE PROCESOS. UNIVERSIDAD EAFIT. MEDELLÍN. COLOMBIA. 4. CCADET, UNAM. 5. AVT – BIOCHEMICAL ENGINEERING, RWTH AACHEN UNIVERSITY, AACHEN, GERMANY.

Más del 90 % de las investigaciones con microorganismos son realizadas en matraces agitados. Sin embargo, no son muchos los reportes que estudien las características de estos cultivos desde un punto de vista ingenieril. Uno de los parámetros utilizado para especificar las condiciones de cultivo es la velocidad de agitación. No obstante, el volumen de llenado, el tamaño y la geometría del matraz afectan la cantidad de energía suministrada al fluido y por tanto las condiciones de cultivo. En el presente trabajo, la energía suministrada al cultivo medida como potencia volumétrica (P/V), fue caracterizada on-line durante el crecimiento de *S. lividans* a 150 rpm y 30 °C en tres diseños de matraz (matraz convencional-MC-, matraz bafleado-MB- y matraz con resorte-MR-) usando el método descrito por Buchs (2000) que está basado en la medición del torque del agitador orbital. Los resultados obtenidos indican que la mayor P/V es obtenida en MB (0.51 kW/m³), seguido de los MR (0.44 kW/m³) y MC (0.20 kW/m³), durante las primeras 50 h de cultivo, donde la P/V permanece constante. A partir de este tiempo, el comportamiento de la P/V, disminuye para los sistemas de MB y MR y aumenta para el MMC. Adicionalmente, se encontraron mayores diámetro de pellets en los cultivos realizados en MC (~370 µm) con respecto a los cultivos en matraces bafleados y con resorte (~160 µm). Con el fin de determinar si los cambios en morfología micelar están siendo determinados por la P/V; se reprodujo la P/V inicial obtenida en MR en cultivos en MC. Con base en el valor de P/V obtenido en matraces con resorte se plantearon dos experimentos; el primero, manteniendo la velocidad de agitación a 150 rpm y disminuyendo el volumen de llenado a 15 mL y un segundo experimento, aumentando la velocidad de agitación a 168 rpm con volumen de llenado de 25 mL. La reproducción de la P/V obtenida en MR en matraces convencionales fue satisfactoria en términos de la velocidad específica de crecimiento. Sin embargo, no se reproducen los tamaños morfológicos de *S. lividans* obtenidos en matraces con resorte (~160 µm), en los sistemas evaluados (~400 µm); lo que sugiere que la transferencia de oxígeno y los patrones de flujo en el cultivo, pueden estar influenciando la morfología. Büchs J, Maier U, Milbradt C, Zoels B. 2000. *Biotechnol Bioeng* 68 589–593.

BMB226

ESTUDIO DE LA TRANSFERENCIA DE OXÍGENO Y CARACTERIZACIÓN DEL CRECIMIENTO BACTERIANO EN MATRACES AGITADOS POR UN SISTEMA DE RESONANCIA ACÚSTICA. REYNOSO GI¹ Y TRUJILLO MA¹. ¹UNIDAD DE BIOPROCESOS DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM.

Los matraces agitados se utilizan para realizar experimentos iniciales en cultivos; el suministro insuficiente de oxígeno en estos sistemas es un problema frecuente (Büchs, 2001). Se han establecido correlaciones empíricas del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (k_{La}) en matraces agitados en incubadora orbital (Klöckner y Büchs, 2012), este coeficiente depende de las resistencias a la transferencia de oxígeno en el tapón y en la interfase gas-líquido (Gupta y Rao, 2003). Como alternativa, Applikon® Biotechnology introduce al mercado el sistema RAMbio conformado por una agitadora de resonancia acústica y los tapones de silicona flexibles "Oxypump". La información científica respecto al desempeño del sistema RAMbio es inexistente, hasta ahora solo ha sido evaluada superficialmente por sus distribuidores; quienes cultivaron 2 microorganismos: *Pichia pastoris pink* (medio YPD a 30°C) y *Escherichia coli* BL21 (medio LB a 37°C), a un 20% de volumen de trabajo (V_F), incubados durante 25 h en el sistema RAMbio (15 g) y en agitadora orbital (300 rpm). Las concentraciones finales de biomasa (OD_{600nm}) en el sistema RAMbio fueron de *P. pastoris pink* 12.85 u.a. y de *E. coli* 9.99 u.a., las cuales superaron a las alcanzadas con agitación orbital: de 5.70 u.a. y 6.58 u.a. respectivamente. Por otro lado, se creció a *E. coli* K12 en medio rico a 37°C, a 20 g y 400 rpm, en matraces con V_F del 20 y el 40%, determinando peso seco a las 7.5 h. La máxima concentración de biomasa se obtuvo en el sistema RAMbio a un V_F del 40%. En este último cultivo se midió la tensión de oxígeno disuelto: con agitación orbital se alcanzó la anaerobiosis, mientras que, en el sistema RAMbio la saturación de aire no bajó del 20% durante las 25 h de cultivo. El objetivo de este trabajo es comparar de manera cuantitativa los fenómenos de transferencia de masa (oxígeno), y la cinética de crecimiento bacteriano de *E. coli* y *Azotobacter vinelandii*, para matraces agitados por un sistema de resonancia acústica en comparación a una agitadora orbital.

Para lo cual, se va a determinar el k_{La} en matraces con agua en los dos diferentes sistemas de agitación; variando la capacidad (0.25, 0.5 y 1 L), la velocidad de agitación (5-20 g y 50-400 rpm), el V_F (20 y 40%) y la temperatura (30 y 37°C). Se caracterizará la velocidad de agitación del sistema RAMbio (g) en términos del k_{La} y posteriormente, se obtendrá la ecuación empírica que defina al k_{La} en matraces agitados por el sistema RAMbio en función del diámetro interno del matraz, el V_F , la velocidad de agitación (g), la temperatura (t) y las propiedades del medio (ρ , μ , D). Finalmente, se van a comparar las constantes cinéticas de *E. coli* y *A. vinelandii* cultivadas en los dos sistemas de agitación a un K_{La} equivalente. Referencias: Büchs J (2001) Introduction to advantages and problems of shaken cultures. *Biochem. Eng. J.* 7: 91–98. Klöckner W, Büchs J (2012) Advances in shaking technologies. *Trends in Biotechnol.* 30: 307-314. Gupta A, Rao G (2003) A study of oxygen transfer in shake flasks using a non-invasive oxygen sensor. *Biotechnol. Bioeng.* 84: 351-358. Applikon® Biotechnology (2013) Application note. Improvement of culture growth and protein expression via use of resonant acoustic mixing.

BMB227

AISLAMIENTO Y BIOACTIVIDAD DE LOS EXOPOLISACARIDOS PRODUCIDOS EN CULTIVO SUMERGIDO DE *HUMPHREYA COFFEATA*. GARCÍA-GARCÍA M.^{1,2}, MARÍN-PALACIO L.D.^{1,2,3}, AGUILAR-ZACARÍAS M.C.², VALDEZ-CRUZ N.A.², ROCHA-ZAVALETA L.², TRUJILLO-ROLDÁN M.A.^{1,2}. ¹UNIDAD DE BIOPROCESOS, ²DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO. AP. 70228, MÉXICO, D.F., CP. 04510, MÉXICO.³ DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA DE PROCESOS, UNIVERSIDAD EAFIT MEDELLÍN-COLOMBIA. MONSERRATG.G@IIBIOMEDICAS.UNAM.MX.

Los hongos macroscópicos han sido consumidos por su valor nutricional, además, comprenden una vasta fuente inexplorable de nuevos productos farmacéuticos¹. Los Exopolisacáridos (EPS) son uno de los metabolitos de interés que se obtienen de hongos. Se ha reportado que los basidiomicetos entre ellos *H. coffeata* produce metabolitos con actividad genotóxica, citotóxica y antioxidante². El propósito de este trabajo fue obtener los EPS de *H. coffeata* mediante la precipitación con isopropanol, y determinar su actividad citotóxica en células tumorales (Línea celular K562) mediante el método del MTT. La obtención de los EPS de *H. coffeata* se realizó en cultivo sumergido utilizando dos geometrías de matraz (convencional –MC- y bafleado –MB-) y dos medios de cultivo (FZM, glucosa 35 g/L, pH 5.5 y MPO, lactosa 50 g/L, pH 4.5). Los resultados hasta el momento muestran que no hay diferencias significativas en la velocidad específica de crecimiento en las dos geometrías de matraz utilizadas (MC 0.269±0.013 1/día, MB 0.287±0.048 1/día). Un alto rendimiento biomasa sustrato fue observada usando MPO (MC 0.934± 0.002 y MB 1.102±0.002) al igual que alto rendimiento producto sustrato (MC 0.258±0.001 y MB 0.241±0.001). Cuando se usó medio FZM los rendimientos biomasa sustrato (MC 0.240±0.001y MB 0.291±0.001 g/L) y producto sustrato (MC 0.52±0.010 y MB 0.065±0.001) fueron bajos. Sin embargo, usando medio FZM los pesos moleculares máximos de los EPS obtenidos por Cromatografía de permeación en gel (GPS) fueron más altos (FZM: día 18 MN 22,059 Da, MB día 18 19,315 Da. MPO: día 18 MN 12,077 Da, día MB 12,293 Da). Estudios preliminares señalan que EPS de altos pesos moleculares exhiben mayor actividad citotóxica en células tumorales. Los ensayos de MTT realizados hasta el momento muestran que los EPS obtenidos de *H. coffeata* presentan actividad citotóxica en células K562. Sin embargo es necesario realizar más ensayos para determinar las dosis letales exactas. Referencias: 1. Fazenda M L, Serviou R, McNeil B, Harvey L M 2008. *Adv Appl Microbiol.* 63:33-104. 2. Porras A S M, Valdez-Cruz N A, Rojano B, Aguilar C, Rocha-Zavaleta L. & Trujillo-Roldán M A 2009. *Int. J. Med. Mush.* 11(4):335-350.

BMB229

ESTRATEGIAS DE CULTIVO PARA INCREMENTAR LA DENSIDAD CELULAR EN *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* COMO BIOFERTILIZANTE. CARRASCO, K.¹, GARCÍA, R.I.¹, VILLEGAS, J.¹, BLANCAS, A.¹, DE LEONARDO A.², MORALES, M.², TRUJILLO-ROLDÁN, M.A.¹. ¹ UNIDAD DE BIOPROCESOS, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM. ² BIOFÁBRICA SIGLO XXI, S.A DE CV.

La investigación en bacterias fijadoras de nitrógeno condujo a que en 1973 se clasificara a *Azospirillum* como el género más estudiado entre las bacterias promotoras del crecimiento en plantas, siendo *A. brasilense* la más representativa. Su gran atractivo se debe a la capacidad de estimular el crecimiento en cereales y pastos forrajeros al aumentar el rendimiento en biomasa de estos [1]. En la actualidad su uso comercial comienza a extenderse en diferentes países, incluido México [2,3]. Los inoculantes se componen de cultivos viables con una alta densidad celular suspendida, embebida o mezclada en un acarreador. Para ello se necesitan procesos de fermentación simples, con medios eficientes [4]. El objetivo de este trabajo es explorar condiciones que favorezcan la obtención de altas

densidades celulares (mayor a 10^9 UFC/mL) ya sea modificando el medio o las condiciones de operación de las cepas Start y Calf de *A. brasilense*, las cuales son propiedad de la empresa Biofabrica Siglo XXI. En la primera etapa se analizó el crecimiento en matraces (500mL) con medio mínimo (100mL) y diferentes fuentes de carbono (gluconato de sodio, glicerol y succinato de sodio (todos 5g/L)) los cuales se compararon con ácido málico, el cual es el medio tradicional, y en la segunda etapa se realizaron cultivos en reactor de columna de burbuja (6 L) a diferentes velocidades de aireación (0.1, 0.5 y 1.0 vvm- volumen de aire por volumen de medio) a 30°C y sin control de pH. La mayor densidad celular se obtuvo en los cultivos realizados con ácido málico (1.08×10^9 (Start) y 2.63×10^9 (Calf) UFC/mL) y gluconato de sodio (9.10×10^9 (Start) y 5.5×10^9 (Calf) UFC/mL). Sin embargo la viabilidad a cuatro meses cayó en un orden de magnitud para ambas cepas en los cultivos con gluconato de sodio. Por otro lado el flujo de aireación a 0.1 vvm resultó en la mayor densidad celular tanto para Start (2.86×10^9 UFC/mL) como en Calf (7.8×10^{10} UFC/mL) seguido de 0.5 y finalmente de 1.0 vvm. Dado que el ácido málico es la fuente de carbono que proporciona la planta y el ambiente rizosférico es microaerobio resulta evidente que las mejores condiciones son aquellas que semejan la naturaleza. Bibliografía: Bashan, Y., Holguin, G., Ferrera-Cerrato, R. (1996) Interacciones entre plantas y microorganismos beneficios I. *Azospirillum*. Terra, 14(2):159-194. 1. Caballero-Mellado, J. (2010). Microbios Capítulo 10. El género *Azospirillum*. Biblioweb, UNAM. 2. Fibach-Paldi, S., Burdman, S., Okon, Y. (2012) Key physiological properties contributing to rhizosphere adaptation and plant growth promotion abilities of *Azospirillum brasilense*. FEMS Microbiology letters 326: 99-108. 3. Bashan, Y (1998) Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agricultura. Biotechnol Adv 16:729-770.

BMB239

GENOME MINING: UNA APROXIMACIÓN A LA BÚSQUEDA DE METABOLITOS SECUNDARIOS BIOACTIVOS EN *STREPTOMYCES THERMOCARBOXYDUS* K-155. GUZMÁN-TRAMPE S¹, VINUESA P², IKEDA H³ Y SÁNCHEZ S¹. ¹ INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM. ² CENTRO DE CIENCIAS GENÓMICAS, UNAM. ³ KITASATO INST. FOR LIFE SCI., KITASATO UNIV. KANAGAWA, JAPÓN.

Las bacterias del género *Streptomyces* producen dos terceras partes de los compuestos farmacéuticos bioactivos, tales como cloranfenicol, estreptomycin y doxorubicina. La falta de interés de la industria farmacéutica por nuevas moléculas con actividad biológica, ha sido dominada por la secuenciación masiva de genomas y el uso de herramientas bioinformáticas que han revelado un universo inesperado de genes almacenados en clústers involucrados en la biosíntesis de compuestos bioactivos, mismos que habían permanecido ocultos hasta ahora. Interesados en la búsqueda de nuevas moléculas con bioactividad, el ADNg de *Streptomyces thermocarboxydus* K155 fue secuenciado mediante las plataformas 454 e Illumina. Se realizó un ensamble híbrido mediante Newbler y la anotación de los datos utilizando diferentes herramientas y bases de datos no redundantes (prokka, uniref90, COG, Pfam, PROK, KEGG, PHA y CDD). Los análisis de genómica comparada se realizaron con Mummer, Artemis Comparison Tool (ACT) y Mugsy. La predicción de las secuencias codificantes, genes ribosomales (rRNA) y RNA de transferencia (tRNA), se realizó mediante Prodigal, rnamer v1.2. y aragorn, respectivamente. Se observó que el genoma contiene al menos 7,467,017 bases (comprendidas en un scaffold), y que estas codifican para 6,685 genes putativos (5260 anotados, 156 putativos y 1365 hipotéticos) y el contenido promedio de GC es de 72.14%. Los análisis de genómica comparada revelaron que el cromosoma de *S. thermocarboxydus* K155 es altamente sintético con respecto a otros *Streptomyces*. Las regiones variables se encuentran hacia las regiones subteloómicas del cromosoma y las conservadas hacia el centro del mismo. El número de genes predichos que codifican para tRNAs fue de 82 y 6 operones de rRNA, (rrn). Los datos obtenidos con la anotación revelan la presencia de al menos 15 clústers de genes relacionados con la biosíntesis de metabolitos secundarios: ectoína, nocardamina, terpenos, un antibiótico, sideróforos y PKS tipo I y tipo II. Esto implica que alrededor del 1.13% del genoma de K155 está involucrado en la síntesis de metabolitos secundarios. Sin embargo, a diferencia de otros *Streptomyces*, *S. thermocarboxydus* K155 parece no sintetizar metabolitos de tipo NRPS. Los productos de algunos de estos clústers serán corroborados experimentalmente con la finalidad de obtener la estructura química.

BMB241

LAS GLUCOSA CINASAS DE *STREPTOMYCES PEUCETIUS* VAR. *CAESIUS*. RUIZ-VILLAFÁN, B., RODRÍGUEZ-SANOJA, R., AND SÁNCHEZ, S. DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM. A.P. 70228, C.P. 04510 D.F., EMAIL SERSAN@BIOMEDICAS.UNAM.MX.

Las glucosa cinasas (Glc) son enzimas que catalizan la fosforilación de la glucosa, para que ingrese a vías catabólicas como la glucólisis. Estas enzimas son capaces de utilizar varios tipos de donadores del grupo fosfato, como el ATP, ADP y el polifosfato. En diversos microorganismos se ha encontrado la actividad de la Glc dependiente de polifosfato (pp-Glc), sobre todo en actinobacterias como *Mycobacterium tuberculosis* o *Corynebacterium glutamicum*. Sin embargo, en el género *Streptomyces* existe solamente un estudio sobre su actividad y su relación con la producción de antibiótico. En *Streptomyces peucetius* var. *caesius*, cepa sobreproductora del antitumoral doxorubicina, encontramos dos actividades de Glc, una dependiente de ATP y otra de polifosfato en una relación pp-/ATP-Glc de 1.5. En contraste, al medir las actividades de ATP-Glc y pp-Glc en otras cepas de *Streptomyces*, como *S. coelicolor*, *S. lividans* y *S. thermocarboxydus* K-155, observamos una relación menor de 0.5. Sorprendentemente, la cepa silvestre de *S. peucetius* también presentó una relación de pp-/ATP-Glc menor de 0.5 al igual que las demás cepas silvestres. La mayor actividad de pp-Glc en *S. peucetius* var. *caesius* podría estar relacionada con la mayor demanda de esqueletos carbonados para producir el antitumoral doxorubicina, ya que su crecimiento es semejante al de la cepa silvestre, así como la actividad de ATP-Glc. Lo anterior se ve apoyado por el hecho de que la mayor actividad de la pp-Glc se presentó durante la fase estacionaria, momento de producción del antitumoral.

BMB247

G0S24 UN NUEVO CO-REPRESOR DEL RECEPTOR DE ESTROGENOS ALFA (RE α) QUE FUNCIONA COMO SUPRESOR TUMORAL. *BARRIOS TONATIUH, *TECALCO ÁNGELES, *GÓMEZ VANIA, *MENESES IVÁN, *CARMONA SANDRA, *GARCÍA EDUARDO, *CHÁVEZ ENRIQUE, *LEÓN-DEL-RÍO ALFONSO. *INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM. PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN EN CÁNCER DE MAMA. E-MAIL: TONABARRIOS@YAHOO.COM, LEÓN@BIOMEDICAS.UNAM.MX.

El receptor de estrógeno alfa (RE α) media los efectos de la hormona 17- β estradiol en el tejido mamario normal y en tumores de cáncer de mama. Al unir su ligando el RE α sufre un cambio conformacional que expone dos regiones con actividad transcripcional, denominadas AF-1 y AF-2. El dominio AF-2 funciona como un puerto de anclaje para complejos activadores o represores de la transcripción que incluyen enzimas con actividad de acetil transferasa de histonas (p160, RIP-140) o de deacetilación de histonas (NCoR y SMRT) respectivamente. El dominio AF-1 media la actividad transcripcional independiente de ligando del RE α y juega un papel importante en la activación del RE α por factores de crecimiento. Estas vías de señalización están involucradas en el desarrollo y progresión de tumores de cáncer de mama. Sin embargo el mecanismo responsable de la actividad transcripcional de AF-1 se desconoce aunque se propone involucra el reclutamiento de diferentes factores celulares. En el laboratorio mediante un ensayo doble híbrido identificamos a G0S24 como una proteína asociada a AF-1. Ensayos de microscopía confocal identificaron a G0S24 en el citoplasma y núcleo celular en donde co-localiza con el RE α . La interacción de G0S24 y RE α *in vivo* en células MCF7 fue confirmada mediante ensayos de co-inmunoprecipitación de proteínas. Utilizando transfección transitoria en células MCF7 demostramos que la expresión de G0S24 regula negativamente la transactivación del RE α . Ensayos de co-inmunoprecipitación de cromatina (ChIP) confirmaron que G0S24 es un co-represor *bona fide* del RE α que es reclutado a la región promotora de genes regulados por estradiol. El efecto co-represor de G0S24 sobre el RE α es mediado por el reclutamiento de enzimas con actividad de de-acetilación de histonas (HDACs).

Fisiológicamente la expresión de G0S24 disminuye la proliferación de células MCF7 y su capacidad para formar tumores en un modelo murino. Estos resultados sugieren que G0S24 funciona como supresor tumoral a través de modular negativamente la actividad del RE α . En este trabajo proponemos que G0S24 puede tener un papel importante en el control del desarrollo de tumores de cáncer de mama.

BMB256

STRATEGIES TO PRODUCE RECOMBINANT O-MANNOSILATED PROTEINS IN FILAMENTOUS BACTERIA IN SUBMERGED CULTURES: FROM SHAKE FLASK TO BIOREACTOR IN THE PRODUCTION OF APA FROM *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* IN *STREPTOMYCES LIVIDANS*. RAMSÉS A. GAMBOA-SUASNAVART^{1,2}, LUZ D. MARÍN-PALACIO^{1,2,5}, WOLF KLOECKNER⁴, JOSÉ A. MARTÍNEZ-SOTELO³, CLARA ESPITIA³, LUIS SERVÍN-GONZÁLEZ², NORMA A. VALDEZ-CRUZ², JOCHEN BÜCHS⁴ AND MAURICIO A. TRUJILLO-ROLDÁN^{1,2*}. ¹UNIDAD DE BIOPROCESOS, ²DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA, ³DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO. AP. 70228, MÉXICO, D.F., CP. 04510, MÉXICO. ⁴AVT – BIOCHEMICAL ENGINEERING, RWTH AACHEN UNIVERSITY, AACHEN, GERMANY. ⁵UNIVERSIDAD EAFIT. MEDELLÍN - COLOMBIA. RAMSESGAMBOA@GMAIL.COM.

Alanine and Proline rich Antigen (APA) from *Mycobacterium tuberculosis* that recently has been proposed as a new candidate to generate a new vaccine or diagnosis kit against Tuberculosis. Its immunological activity depends of its *O*-mannosylation pattern.

Previously in our group, APA protein was produced both in bioreactor and in Erlenmeyer shaken flasks in *Streptomyces lividans*. Shake flask design modified the *O*-mannosylation pattern of rAPA, while dissolved oxygen only modified it in limited conditions. In order to determine the hydrodynamical/aeration conditions in shake flask, oxygen transfer rate and power input were evaluated.

Additionally, production of APA protein was scaled up from coiled shake flask to 1.0 l bioreactor, based on *S. lividans* morphology and power input. In order to scale-up from previous reported shake flasks to bioreactor, data from the literature on the effect of agitation on morphology of *Streptomyces sp.* strains were used to obtain gassed volumetric power input values that can be used to obtain a morphology of *S. lividans* in bioreactor similar to the morphology previously reported in coiled/baffled shake flasks by our group.

The bacterial morphology size was evaluated by image analysis and protein detection was carried out by Western Blot and SDS-PAGE. *O*-Mannosylation was evaluated by MALDI-TOF.

Scaled up was successfully achieved obtaining the same morphology size (0.21 ± 0.9 mm in coiled shake flask and 0.15 ± 0.01 mm in bioreactor) and a similar *O*-mannosylation degree, finding up to five mannoses attached to carboxy-terminal in coiled flask and up to six mannoses in bioreactor cultures.

BMB260

CLONACIÓN, EXPRESIÓN Y PURIFICACIÓN DE LA NUCLEASA PRODUCTO DEL GEN SCO5330 DE *STREPTOMYCES COELICOLOR* A3(2). CADENA-SANDOVAL M, GONZÁLEZ-CERÓN G, MARTÍNEZ AI, SERVÍN-GONZÁLEZ L. DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM. E-MAIL: MARTICDSN@COMUNIDAD.UNAM.MX.

Streptomyces es un género de bacterias gram positivas que tienen una gran importancia científica y económica. *S. coelicolor* es el miembro mejor caracterizado a nivel molecular y genético. *S. coelicolor* cuenta con un fuerte sistema de restricción metil-específico (SRME) que dificulta su manipulación genética. Se ha demostrado que algunos de los genes que codifican para dicho sistema están localizados en islas genómicas que han sido adquiridas por transferencia horizontal. Previamente, en nuestro laboratorio, se obtuvieron mutantes que carecían de los genes que codifican para algunas nucleasas del SRME; esas mutantes mostraron un alivio parcial de la restricción de DNA metilado. Aunque se lograron definir algunos de los genes involucrados en codificar esta importante barrera para el intercambio genético, es necesario definir su contribución específica, en particular, las nucleasas involucradas en restringir DNA metilado en adeninas. La nucleasa de interés en este estudio es el producto del gen SCO5330, que previamente fue identificada y probada *in vivo* su capacidad de restringir DNA metilado en adeninas, específicamente en sitios SalI y SphI. Dicha proteína fue clonada y expresada en *E. coli* para ser purificada y caracterizada. Sería importante conocer si requiere de cofactores como ATP o GTP, o si requiere de iones como Mg²⁺ o Ca²⁺, como ha sido reportado para otras nucleasas. Finalmente, queremos determinar la secuencia en el DNA que reconoce y que restringe esta proteína. Aunque el conocimiento sobre los SRME es poco, este estudio nos ayudará a entender la complejidad, diversidad y los mecanismos moleculares de su funcionamiento. Además, facilitará el uso de *Streptomyces* en la industria y en su manipulación genética.

BMB262

DISPOSITIVO DE BACTERIAS LÁCTICAS INMOVILIZADAS EN UN SOPORTE DE CELULOSA PARA LA PRODUCCIÓN DE UNA BEBIDA TIPO YOGUR. DE LA CRUZ M. D., MACEDO S. L., PÉREZ-GAVILÁN E. J. P. DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM.

A las bacterias ácido lácticas (BAL) se les atribuye beneficios como la disminución de intolerancia a la lactosa, inhibición de patógenos intestinales, entre otros. Ellos atribuibles a las bacterias lácticas vivas y metabólicamente activas. Por ello nuestro objetivo fue generar un dispositivo de bacterias lácticas inmovilizadas en un soporte de celulosa que puestas en contacto con leche de buena calidad fuesen capaces de fermentarla, obteniéndose una bebida tipo yogur, garantizando de esta manera la supervivencia y cantidad de dichas bacterias. El dispositivo se elaboró partiendo de un cultivo de *Lactococcus lactis ssp. lactis* BM147 incubado a 29°C/24horas, con este cultivo se impregnaron tiras de celulosa de 3 x 4 cm, se secaron al vacío entre 37 y 10 kPa durante 40 minutos. Los dispositivos fueron colocados en vasos con 200mL de leche de diferentes marcas en polvo, pasteurizadas y UHT incubándolas durante 24 horas a 23°C, 29°C y 37°C. Trascorridas las 24 horas de incubación se midió pH, acidez y viscosidad de dichas bebidas. Se evaluó la aceptabilidad de tres diferentes leches (UHT, pasteurizada y en polvo) fermentadas con el dispositivo, se dieron a probar a 100 consumidores. Para evaluar la vida de anaquel del dispositivo se realizó una prueba sensorial tipo triangular a 100 consumidores quienes evaluaron bebidas elaboradas con dispositivos almacenados 1 día y 6 meses a 4°C. El dispositivo al ser aplicado a las diferentes marcas de leche entera a 23°C, 29°C y 37 °C es capaz de fermentarlas produciendo una bebida tipo yogur, agradable al gusto del consumidor, con descenso de pH hasta 4 e incremento en la acidez y viscosidad, dichos resultados concuerdan con los reportados para bebidas fermentadas, el almacenamiento del dispositivo durante 6 meses a 4°C no afecta el pH, ni la acidez del producto final. El dispositivo elaborado resulta práctico de utilizar y es una alternativa económica para la elaboración de leches fermentadas.

BMB270

DESARROLLO DE UN MODELO DINÁMICO DE LA RED DE REGULACIÓN QUE CONTROLA LA DIFERENCIACIÓN DE LOS GRANULOCITOS. RAMÍREZ C, ANDRADE FA, MARTÍNEZ ME, MÉNDEZ A Y MENDOZA LA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS. CRAMIREZA@CIENCIAS.UNAM.MX.

Introducción: Los granulocitos son el grupo de células hematopoyéticas que incluyen a los neutrófilos, basófilos y eosinófilos. Éstos se originan de poblaciones de progenitores mieloides que a su vez se derivan de células troncales hematopoyéticas. Este proceso está regulado por redes de regulación genética GRNs, las cuales pueden ser simuladas mediante modelos de redes. **Objetivos:** Proponer un modelo red que simule correctamente el proceso de diferenciación del linaje de los granulocitos, validarlo con los datos experimentales reportados y hacer predicciones en base a las simulaciones del modelo. **Metodología:** Para la realización del modelo primero se identificó en la bibliósfera los factores y las interacciones presentes durante la diferenciación del linaje mieloides, con esta información se infirió la GRN que regula el proceso y se construyó un modelo dinámico booleano determinista. En las redes booleanas, los genes de una GRN se representan como nodos cuyos valores de activación pueden ser 0 ó 1, y las interacciones como arcos o conexiones, estas últimas definen funciones lógicas que determinan el valor de activación de cada nodo o gen particular en el tiempo siguiente de acuerdo con el valor de los genes vecinos. En las simulaciones se identificaron los atractores del sistema, es decir, aquellas configuraciones asintóticas con respecto al tiempo. **Resultados:** La presente propuesta de red booleana cuenta con 23 nodos y 51 interacciones que determinan la topología del modelo. Partiendo de todos los iniciales posibles el modelo logró rescatar los atractores que corresponden a todos los linajes mieloides. Se procedió a validar la red mediante la simulación de los mutantes de cada uno de los nodos y se observó una concordancia en lo general con lo reportado. **Conclusiones:** La presente red logra obtener los atractores de todos los linajes de granulocitos, sin embargo, la validación de la presente red sugiere que hacen falta nodos y/o interacciones, específicamente en el módulo que determina la decisión de los linajes de basófilos y eosinófilos.

BMB272

EVALUACIÓN *IN VITRO* DEL STEM CELL FACTOR COMO POTENCIADOR MOLECULAR DE LA METÁSTASIS DE CÁNCER DE PRÓSTATA. JIMÉNEZ A., ROCHA L. DEPTO. BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM.

El cáncer de próstata es el más común en hombres. El 90% de las metástasis se desarrolla en la médula ósea. Los mecanismos detrás del desarrollo metastásico de cáncer de próstata en la médula ósea son poco entendidos. Dentro de las moléculas producidas en la médula ósea, el Stem Cell Factor (SCF) es fundamental ya que promueve la proliferación, sobrevivencia y migración de precursores hematopoyéticos mediante la activación del receptor c-Kit. Se sabe que c-Kit se expresa en diversos tipos tumorales, activando su proliferación, sobrevivencia, migración y clonogenicidad. Sin embargo, en el cáncer de próstata la presencia de c-Kit y la implicación de su activación son aún controversiales. El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto del SCF sobre células de cáncer de próstata. La expresión de c-Kit se demostró por RT-PCR y Western Blot en las líneas celulares, DU145 y PC3, derivadas de metástasis prostática en cerebro y médula ósea, respectivamente. Por citometría de flujo se determinó que el 3.68% de células DU145 y 0.88% de células PC3 expresan a c-Kit en la membrana. Evaluamos el efecto de SCF sobre la proliferación, la sobrevivencia, la formación de colonias y la migración de células DU145 y PC3. La proliferación aumentó 50% en DU145 y 20% en PC3. El análisis por citometría de flujo mostró que la proporción de células que expresa c-Kit disminuyó después de 6 días de cultivo en presencia de SCF, lo que sugiere un fenotipo tipo troncal tumoral de estas células. La migración se evaluó con microscopía confocal y un conteo semi-automático de los núcleos teñidos con DAPI de células que migraron a través de membranas de policarbonato usando el software ImageJ; solo se observó migración en DU145, mientras que el número de colonias formadas fue mayor en ambas líneas. Finalmente se observó el SCF protege a las células DU145 de la muerte por falta de nutrientes. En conjunto estos resultados sugieren que las células que expresan c-Kit tienen un fenotipo troncal tumoral y que el SCF induce la proliferación y la formación de colonias de ambas líneas celulares, además de proteger contra la muerte por falta de nutrientes e inducir la migración en células DU145. Por tanto, nuestros resultados indican que el SCF es un potenciador molecular general de la metástasis de cáncer de próstata.

BMB279

INFLUENCIA DEL FOSFATO EN LA DINÁMICA DE LAS ACTIVIDADES DE ATP-GLUCOSA CINASA Y POLIFOSFATO-GLUCOSA CINASA EN *STREPTOMYCES PEUCETIUS* VAR. *CAESIUS*. MANZO M, ROCHA D, RUIZ B, SÁNCHEZ S. UNAM, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA, MÉXICO D. F., A.P. 70228, C.P. 04510.

Introducción. Los estreptomicetos son conocidos como productores de diversos metabolitos secundarios, su biosíntesis es regulada negativamente por altas concentraciones de fosfato. En 1976, Hostalek y col. encontraron que una cepa de *Streptomyces aureofaciens* sobreproductora de clortetraciclina (CTC) presenta dos actividades de glucosa cinasa (Glc), una dependiente de ATP (ATP-Glc) y otra dependiente de polifosfato (pp-Glc). La mayor actividad de la ATP-Glc se presenta en la fase estacionaria de crecimiento, mientras que la de pp-Glc en la fase logarítmica y siguiendo el mismo patrón que la formación de CTC. Dicho comportamiento también se observa en *Streptomyces peucetius* var. *caesius*. Por tal motivo, se pretende determinar la influencia de la concentración fosfato en el comportamiento de las actividades de la ATP-Glc y la pp-Glc de *Streptomyces peucetius* var. *caesius* y la relación de las mismas con la producción de antraciclinas. **Metodología.** Se cultivó a *S. peucetius* var. *caesius* en medio NDM suplementado con glucosa 100 mM y variando la concentración de fosfato (de 0.1, a 20 mM). El micelio se cosechó a diferentes tiempos de fermentación y se determinaron crecimiento (mediante peso seco), concentración de glucosa residual (2) y de fosfato (3), la actividad de ATP-Glc, la producción de antraciclinas (4), así como la actividad de pp-Glc (Ruiz B. en preparación). **Resultados.** El crecimiento de *S. peucetius* var. *caesius* se estimuló al aumentar la concentración de fosfatos en el medio. Por el contrario, la biosíntesis de antraciclinas y la actividad de ambas glucosa cinasas se afectó negativamente. En el medio con 20 mM de fosfatos, la concentración de fosfato residual se mantuvo constante, mientras que en los medios de menores concentraciones de fosfato se consumió todo el fosfato disponible. En los medios de cultivo complementados con 0.1 y 1 mM de fosfato, las actividades de la ATP-Glc y pp-Glc siguen el mismo patrón observado por Hostalek y colaboradores, mientras que en 20 mM, en donde la producción de antraciclinas es reprimida completamente, ambas enzimas presentan patrones de actividad similares, siendo en la fase logarítmica de crecimiento donde se presenta la mayor actividad. Tal comportamiento nos indica

que el metabolismo del fosfato cambia a concentraciones mayores y podría sugerirnos que la regulación por fosfato en la producción de antraciclinas es similar a la ejercida en las actividades de las Glks.

Referencias: 1. Hostalek Z, *et al.* (1976). *Folia Microbiol.* 21:131-138. 2. Trinder P (1969). *Ann Clin Biochem*; 6:24-33. 3. Ohtomo R. (2004) *Anal Biochem.* 328:139-146. 4. Segura D, *et al.* (1996). *ASPA J. Mol. Biol. Biotechnol.* 4:30-36.

BMB283

ANÁLISIS FUNCIONAL DE LA PROTEÍNA SCO2582 DE *STREPTOMYCES COELICOLOR*. SANCHEZ B, SANCHEZ S. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS. DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA.

Introducción. *Streptomyces coelicolor* es una bacteria que ha sido extensamente usada como modelo para estudios fisiológicos y de desarrollo morfológico. Nuestro grupo de trabajo ha reportado una posible relación de la proteína SCO2127 en el fenómeno de represión catabólica por carbono. SCO2127 es capaz de unirse a SCO2582 presente en extractos proteicos intracelulares obtenidos del cultivo de *S. coelicolor* en medio completo. El análisis *in silico* de la secuencia de la proteína SCO2582 sugiere una homología con las metalopeptidasas de la familia M48. SCO2582 fue detectada durante la fase estacionaria del crecimiento de *S. coelicolor*, sugiriendo su posible participación en procesos de diferenciación morfológica ya que se ha propuesto un modelo general en el que participan proteasas intracelulares y extracelulares. El objetivo del presente es determinar la expresión de SCO2582 en cultivo de *S. coelicolor* y su posible actividad proteolítica. **Métodos.** Para el cultivo de *S. coelicolor*, se inocularon 4×10^6 esporas en medio YMG y se incubaron durante 96 h a 29°C y 180 rpm. Se colectaron muestras cada 12 horas y la biomasa de lisó por sonicación para obtener los extractos proteicos intracelulares del microorganismo. Las proteínas se separaron por electroforesis SDS-PAGE y la expresión de SCO2582 durante la fermentación se detectó mediante Western Blot empleando anticuerpos monoclonales contra SCO2582. La actividad caseinolítica de los extractos proteicos se determinó mediante zimografía. **Resultados.** Para poder relacionar la fase de crecimiento de *S. coelicolor* y la expresión de la proteína SCO2582, los extractos proteicos obtenidos de la fermentación se analizaron por Western Blot detectando una señal en aumento a partir de las 24 h de fermentación hasta las 96 h correspondiente a SCO2582. Para determinar la actividad caseinolítica de las proteínas del cultivo se realizó un zimograma en el cual se detectaron varias bandas de proteólisis. Sin embargo, comparando los perfiles de migración de los geles PAGE del zimograma con el Western Blot, SCO2582 no presenta actividad contra caseína. **Conclusiones.** Se determinó la expresión SCO2582 en cultivos de *S. coelicolor* a partir de la fase exponencial de crecimiento del microorganismo. Sin embargo, no se encontró actividad caseinolítica que corresponda con la banda detectada para SCO2582 en el Western Blot.

BMB284

GLUCOCINASAS Y LA SÍNTESIS DE ANTRACICLINAS EN *STREPTOMYCES PEUCETIUS* VAR. *CAESIUS*. ROCHA DI, MANZO MB, RUIZ B Y SÁNCHEZ S. UNAM, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA.

Streptomyces peucetius var. *caesius* (Spvc) productor de antraciclinas, presenta dos actividades de glucocinasa, una dependiente de ATP (ATP-Glk) y otra de polifosfato (PP-Glk). La ATP-Glk forma parte del proceso de regulación en la represión catabólica por carbono. Se encontró que Spvc también presenta actividad de PP-Glk, que contrario a lo observado en otras cepas de *Streptomyces*, esta actividad es mayor a la de ATP-Glk. En 1967 Hostalek y colaboradores reportaron para *Streptomyces aureofaciens* actividad de PP-Glk y su posible participación durante la síntesis de metabolitos secundarios. En este trabajo se pretende evaluar la participación de ambas enzimas en el crecimiento y la formación de metabolitos secundarios en Spvc. Se obtendrán las mutantes $\Delta ATPglk$, $\Delta PPglk$ y $\Delta ATPglk/\Delta PPglk$ mediante la metodología de PCR-Targeting. Se evaluará el efecto de cada mutación sobre el crecimiento en diferentes fuentes de carbono y la formación de antraciclinas. Al crecer a Spvc en medio mínimo con glucosa se evaluó el crecimiento, ambas actividades y la formación de antraciclinas. Se observó que la máxima actividad se presentó durante la fase exponencial de crecimiento para ATP-Glk y estacionaria para PP-Glk, y que ésta última coincide con la síntesis de antraciclinas. Por otra parte, se está trabajando en la obtención de las mutantes mediante el reemplazo del gen de interés (ATPglk) por uno de resistencia al antibiótico apramicina (*aac(3)IV*) en dos pasos de recombinación homóloga. Hasta el momento se considera como exitoso el primer paso de recombinación homóloga realizado en la cepa de *E. coli* BW25113/ pIJ790/pSET151-FATPglk. Se realizará el segundo paso de

recombinación en Spvc. La conclusión es que aparentemente es necesaria la actividad de PP-Glk en Spvc durante la fase estacionaria de crecimiento para soportar la formación de antracilinas.

BMB285

ANÁLISIS FUNCIONAL DE TRES MÓDULOS DE UNIÓN AL ALMIDÓN EN TÁNDEM. MANTEROLA AM, PÉREZ R, GUILLÉN DA & RODRÍGUEZ R. DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM. WOODSTOCK_K25@HOTMAIL.COM.

La α -amilasa de *Lactobacillus amylovorus* posee dos dominios funcionales, el N-terminal o dominio catalítico y el C-terminal o dominio de unión al almidón (SBD). Este SBD está formado por cinco módulos repetidos contiguos en el C-terminal. En estudios previos se ha observado que cada módulo que forma al SBD es capaz de adsorberse al almidón de manera independiente y que la adsorción incrementa conforme aumenta el número de módulos. Guillén et al. (2007) demostraron que al incrementar el número de módulos se obtiene un efecto cooperativo, y que a partir de tres módulos de unión en tándem se presenta un comportamiento de adsorción semejante al obtenido por el SBD completo. Por lo tanto, es posible que tres dominios de unión sean suficientes para conferir adsorción. El objetivo del presente estudio es comparar la capacidad de adsorción al almidón insoluble de la α -amilasa y del DC fusionado a tres módulos CBM26 en tándem. Para comparar si un número menor de módulos permite la adsorción al almidón de una proteína no relacionada, también se planteó la construcción de la proteína GFP-CBM26x3. El DC fue obtenido por PCR a partir del gen de la amilasa y clonado en el vector CloneJET. El gen *gfp*, fue ligado al SBD (Pérez, 2008) y CBM26x3 de la α -amilasa de *L. amylovorus*, en el vector pQE-31, mediante la complementación del sitio BamHI. Por otra parte, el DC fue fusionado al vector CBM26x3 pQE-31. Las proteínas GFP-CBM26x5 y GFP-CBM26x3 fueron expresadas en *E. coli* XL-10 y purificadas por cromatografía de afinidad a metal y β -ciclodextrina. Dos ensayos de adsorción sobre almidón insoluble, cualitativo y cuantitativo, fueron evaluados. La capacidad de adsorción al almidón puede ser transferida a proteínas no relacionadas, mediante la fusión al SBD. En este estudio se observó que la proteína GFP-CBM26x5 se une eficientemente al gránulo de almidón insoluble y de forma similar a la amilasa; y que tres módulos CBM26 permiten la adsorción de la proteína recombinante GFP-CBM26x3 al gránulo de almidón. La relación numérica de la adsorción entre ambas proteínas esta por establecerse.

BMB288

DOMINIOS DE FIJACIÓN AL ALMIDÓN DE LA α -AMILASA DE *L. AMYLOVORUS* COMO "SCAFFOLD" EN LA CONSTRUCCIÓN DE UNA BIBLIOTECA COMBINATORIAL. ARMENTA S¹, MUNGUÍA ME¹, GONZÁLEZ F², MANOUTCHARIAN K¹, RODRÍGUEZ R¹. 1. DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA, IIB. 2. FACULTAD DE QUÍMICA. D.F., MÉXICO, 04510; SIL84_QAPUMA@YAHOO.COM.MX.

Introducción. Los dominios de fijación al almidón (DFA) presentan una estructura β -sándwich ampliamente conservada, donde el sitio de unión tiene forma de ranura. Los aminoácidos aromáticos dirigen la interacción con el sustrato; sin embargo, un mecanismo común de reconocimiento no explica la afinidad y especificidad por otros sustratos o maltoligosacáridos. El dominio de unión a almidón (DFA) de la α -amilasa de *Lactobacillus amylovorus* incluye cinco módulos idénticos, con la capacidad de unirse a almidón crudo insoluble. Cada módulo del DFA se clasifica por su estructura primaria en la familia 26 de los módulos de unión a carbohidratos. La mutación dirigida de tres aminoácidos aromáticos del sitio de unión provoca cambios en el reconocimiento del sustrato, donde el W32 es determinante para que la interacción ocurra; sin embargo esto no explica los cambios de especificidad y afinidad. Por lo tanto, con el fin de comprender y mejorar las características estructurales de estos dominios, se estudió el potencial de diversificación de un módulo CBM26 mediante la introducción de mutaciones aleatorias en el sitio de unión para obtener variantes con mejorada adsorción y selectividad hacia almidón, que podrían ser utilizados en el desarrollo de importantes aplicaciones biotecnológicas. **Metodología.** Se realizó la predicción de la estructura terciaria de un CBM26 de la α -amilasa de *L. amylovorus* con el programa de I-TASSER. A partir de este modelo se seleccionaron 5 residuos del sitio de unión para ser mutados por cualquiera de los 20 aminoácidos. Las mutaciones se introdujeron con siete oligonucleótidos por PCR de solapamiento, el producto de esta amplificación fue re-amplificado con los cebadores pQNcoI y pQBamHI. La biblioteca se clonó en el fagémido pG8SAET y se obtuvieron partículas de la biblioteca desplegada en el bacteriófago M13. **Resultados.** Se realizó varios alineamientos múltiples para obtener una visión general de las similitudes entre las secuencias de aminoácidos de los dominios de fijación

al almidón, de los cuales se conoce la estructura terciaria, con el LaCBM26. Nueve dominios fueron seleccionados de la base de datos de CAZY (<http://www.cazy.org>) y del PDB (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>). Estos dominios se han reportado como dominios de unión a almidón funcionales con información estructural. Basado en la estructura terciaria y la alineación múltiple, cinco aminoácidos fueron elegidos cuidadosamente para la mutagénesis. Los cinco residuos se encuentran en el sitio de unión y son: Y18, Y20, Q68, E74 y F77. Oligonucleótidos degenerados fueron utilizados para introducir las mutaciones diseñadas, la biblioteca tiene un tamaño máximo teórico de $3,2 \times 10^6$ variantes. Después de la transformación, se obtuvo una biblioteca de $1,1 \times 10^6$ clonas. La variabilidad de la biblioteca fue confirmada por secuenciación. **Conclusiones.** Se obtuvo una estructura terciaria del dominio CBM26, mediante análisis *in silico*, necesaria para construir la biblioteca combinatorial del dominio CBM26 de la α -amilasa de *L. amylovorus*. El tamaño de la biblioteca ($1,5 \times 10^6$ variantes) es adecuado para continuar con la Bioselección de variantes de interés mediante la interacción con almidón soluble e insoluble.

BMB294

EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE *RHIZOBIUM ETLI* EN CULTIVO EN LOTE ALIMENTADO. RÍOS DP, DANIEL A. Y TRUJILLO MA. UNIDAD DE BIOPROCESOS DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS.

El uso indiscriminado de fertilizantes químicos en el suelo ha disminuido el desarrollo y calidad de los productos agrícolas. Además ha ocasionado graves problemas de contaminación, ya que la mayoría de las veces al aplicar un fertilizante nitrogenado la cantidad no es la adecuada o su forma de aplicación no es la más correcta por lo que componentes químicos residuales terminan en el suelo, lagos y ríos^[1]. Debido a la conciencia socio-ambiental que se ha generado sobre la explotación de los recursos naturales se han desarrollado nuevas tecnologías más amigables con el medio ambiente. Un ejemplo claro de esto son los biofertilizantes, los cuales son productos elaborados a base de microorganismos vivos no patógenos que se asocian a las plantas ayudando a su proceso biológico de nutrición, promoviendo el crecimiento de las mismas. Son la opción natural de fertilización química que provee beneficios tangibles; dentro de los cuales está la fijación de nitrógeno al suelo, que permite que las plantas asimilen el nitrógeno de la atmosfera. *Rhizobium etli*, es una alfa-proteobacteria reconocida por su capacidad de llevar a cabo la fijación de nitrógeno mediante simbiosis con plantas, especialmente en leguminosas^[2]. En este proceso se da la formación de nódulos en las raíces de la planta y por la acción de la nitrogenasa se convierte el nitrógeno de la atmosfera en nitrógeno combinado, haciendo posible que las plantas puedan obtenerlo y asimilarlo.^[3] En este trabajo se pretende evaluar la influencia del perfil de alimentación sobre la bacteria *Rhizobium etli* cultivada en reactores alimentados de 1.0 L, con el fin de encontrar el perfil más adecuado para aumentar su densidad celular en procesos de fermentación simples, pero con medios eficientes. En la primera etapa, se llevó a cabo un cultivo en lote con tres medios de cultivos diferentes (YEM, YEG, PY) para identificar el medio más adecuado para el crecimiento del *R. etli*. Para esto se realizó una cinética de crecimiento por un período de 24 horas, midiendo la concentración en unidades de densidad óptica, en intervalos de tiempo de 4 horas. Adicionalmente, se efectuó la medición de azúcares reductores para el medio YEG, por medio del método de DNS. También se hace una tinción de gran para confirmar el carácter gram negativo de *R. etli*. La siguiente etapa, tiene como objetivo explorar específicamente un perfil de alimentación que favorezca la obtención de altas densidades celulares (mayor a 10^9 UFC/ml) con el medio ya predeterminado. Referencias. 1. (Medina, 2009) Los biofertilizantes microbianos: alternativa para la agricultura en México. 2. (G. Dávila, 2005), Genomes and Genomics of Nitrogen-fixing Organisms. Springer link. 3. (Resendis, 2007). Metabolic Reconstruction and Modeling of Nitrogen Fixation in *Rhizobium etli*. *LoS Comput Biol* 3(10): e192.

BMB299

EFFECT OF MILD HYPOTHERMIA ON SECRETION OF RECOMBINANT GLYCOPROTEIN tPA IN CHO CELLS. BEDOYA-LÓPEZ A.¹, ESTRADA GUERRA K.², SANCHEZ-FLORES A.², RAMÍREZ REIVICH O.T.³, TRUJILLO-ROLDÁN M.A.¹, VALDEZ-CRUZ N.A.¹. *1*DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS/UNAM.*2*UNIDAD UNIVERSITARIA DE APOYO BIOINFORMÁTICO, INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA /UNAM.*3*DEPARTAMENTO DE MEDICINA MOLECULAR Y BIOPROCESOS, INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA/UNAM. DIRECCIÓN POSTAL: AV. UNIVERSIDAD No. 3000, COL. UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, CU. DELEGACIÓN COYOACÁN, CP 05410. TEL: 56229204. E-MAIL: ADRIVALDEZ1@GMAIL.COM.

Recombinant glycoproteins (RGP) are widely used as bio-pharmaceutics in the treatment of many diseases. However, their manufacturing and processing are expensive hence the need to improve their production. It has been reported that temperature downshift (TDS) from 37°C to 28-34°C, could increase the specific productivity (Q_p) of RGP and duration culture. Particularly, the Q_p of tissue plasminogen activator (tPA) increased 1.6 folds produced in Chinese hamster ovary (CHO) cells "TF70R". The objective of this work is understand at molecular level, the effect of TDS over the Q_p increase was performing analysis of transcriptome and secretome of CHO cell cultured under biphasic conditions, with special interest in the secretory pathway of RGP. Biphasic cultures (TDS at 48 h of 37 to 30°C) and control at 37°C, were sampled at 0h, 24 h and 48 h after TDS. RNA was isolated using the Qiagen RNeasy kit and mRNA was sequenced by Illumina, The secretome differential was obtained by 2D gel SDS-PAGE and western blot. The cell line TF70R has a specific growth rate (μ) of 0.021 h⁻¹ at 37°C, cells under moderate hypothermia (30°C) decrease its μ at 0.05 h⁻¹, the cultivation time becomes longer at 144 h, consumes 46% less glucose, 59% less glutamine produced 1.6 times more protein / cell * day and have less waste products (17% lactate) compared with control cultures to 37 ° C. The transcriptomic analysis by massive sequencing, showed differentially expressed genes related with secretion pathway principally those related with endoplasmic reticulum (ER) and Golgi. Were found around 31 genes overexpressed and 44 repressed at 24 h, and 28 genes up-regulated and 21 down-regulated at 48 h, after TDS. For example, *hspa5* coding for chaperone BiP was 1.7-1.9 fold overexpressed at 24 and 48 h and calreticulin increases 1.7 times at 24 h after TDS. Is important to mention, that many of the affected genes by TDS are finely regulated during stress response and are involved in peptide folding. Also was observed that TDS changed the pattern of proteins secreted, determined in 2-D gels and western blot. A total of 6 isoforms of tPA were determined in biphasic culture conditions, while in control cultures only were observed 5 isoforms. Moreover, differences in molecular weight as well in isoelectric distribution were different suggesting changes in the glycosylation profile.

BMB316

PRIMERA APROXIMACIÓN PROTEOMICA DEL POZOL. RIZO JOCELIN MARARI¹, CÁRDENAS MARÍA CATALINA¹, RODRÍGUEZ ROMINA¹, WACHER CARMEN², DÍAZ GLORIA ². *INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS¹, FACULTAD DE QUÍMICA²*.

Introducción. El pozol es uno de los alimentos tradicionales fermentados de México, cuyo consumo se ha dado desde tiempos prehispánicos. Se elabora a base de masa fermentada de maíz nixtamalizado. Sus componentes mayoritarios son el almidón, las proteínas y los lípidos. De él se han aislados e identificados una gran diversidad y abundancia de microorganismos como bacterias ácido lácticas, bacterias no ácido lácticas, hongos y levaduras. En cuanto a la actividad amilolítica presente, únicamente se ha estudiado en bacterias lácticas. Los resultados obtenidos a la fecha no logran explicar la dinámica de la fermentación. También se ha reportado la presencia de bacterias proteolíticas y de fijadoras de nitrógeno en este sistema, sin embargo, no existen estudios detallados sobre las bacterias y hasta donde sabemos ninguno respecto a las proteasas. Con el objetivo de entender esta dinámica, en el grupo de trabajo se propuso llevar a cabo una aproximación proteómica utilizando la estrategia del shotgun, para la búsqueda de las enzimas amilolíticas y proteolíticas que se encuentren presentes en ella, debido a que además de la fuente de carbono, los microorganismos requieren para crecer nitrógeno. De la primera aproximación hemos logrado identificar algunas enzimas amilolíticas como alfa amilasas, alfa glucosidasas y glucoamilasas de origen fúngico. Además, se encontraron enzimas como xilanasas, quitinasas y pectinasas las cuales sugieren que no solo el almidón es utilizado, y que probablemente se esté utilizando el material celulolítico remanente después del proceso de nixtamalización como fuente de carbono. En cuanto a la actividad proteolítica, se han identificado dos bandas con un peso molecular de aproximadamente 42 KDa a los 2 y 3 días de fermentación y 21 KDa en todos los tiempos. Ambas en proceso de identificación. A diferencia de otros alimentos fermentados ricos en almidón, el pozol muestra

una dinámica de fermentación particular, puesto que la mayoría de las enzimas identificadas a las 360 horas son de origen fúngico. La actividad proteolítica pareciera ser importante desde el inicio de la fermentación.

BMB317

CARACTERIZACIÓN DE LA FUNCIÓN DE PHAP EN LOS GRÁNULOS DE PHB DE *CAULOBACTER CRESCENTUS*. SALINAS AL, OSORIO A, POGGIO S. DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM.

En las bacterias, una manera muy común para almacenar energía es formando gránulos de polihidroxialcanoatos (PHA), éstos se sintetizan cuando la célula se encuentra en medio rico en fuentes de carbono y estrés nutricional de algún otro compuesto. Los gránulos, además de estar compuestos por el polímero agregado, tienen 4 tipos de proteínas asociadas: sintasas, depolimerasas, regulatorias y estructurales o fasinas. Estas últimas son las más abundantes en la superficie del gránulo. En organismos como *Ralstonia eutropha* y *Pseudomonas putida*, se ha encontrado una fasina (PhaM y PhaF respectivamente) que tiene un dominio de unión a DNA inespecífico en el C-terminal, lo que permite que los gránulos se segreguen conjuntamente con el cromosoma. *Caulobacter crescentus* es una bacteria oligotrófica con un ciclo celular dimórfico. Esta bacteria forma gránulos de PHB y la segregación apropiada de éste es posiblemente de gran relevancia para esta bacteria. Utilizando una tinción específica para PHB, hemos determinado que la segregación del PHB ocurre de manera dirigida en *C. crescentus*. En el genoma de *C. crescentus* se puede identificar una sola fasina (*phaP* cc_2160) la cual carece de un dominio de interacción con el DNA, sugiriendo que en esta bacteria debe existir otra proteína responsable de la segregación del PHB. PhaP de otros organismos es la proteína mayoritaria y principalmente tiene un papel estructural.

Para determinar el papel de *phaP* en *C. crescentus* se obtuvo una mutante de este gen. La caracterización de esta cepa sugiere que PhaP no tiene un papel estructural sino regulatorio ya que en la mutante la cantidad de PHB sintetizado disminuye considerablemente, y este se encuentra distribuido en varios gránulos, obteniendo un fenotipo distinto al de mutante de la fasina estructural en otros organismos. Para analizar las proteínas presentes en la superficie de los gránulos se purificaron gránulos de PHB de la cepas silvestre, de la mutante de *phaP* y de una cepa en la que *phaP* está fusionado con el gen que codifica para la proteína fluorescente mCherry. El hecho de que la proteína mayoritaria del gránulo está presente en todas la cepas y que la cantidad de PhaP aumenta en condiciones que favorecen la síntesis de PHB, soportan nuestra conclusión sobre el papel fundamentalmente regulatorio de PhaP.

BMB321

POTENCIAL INMUNOGÉNICO DE UN NOVEDOSO SISTEMA TRANSPORTADOR DE ANTÍGENOS EN MUCOSA. MORENO MENDIETA SA¹, ESPITIA C², HERNÁNDEZ R³, Y RODRÍGUEZ R¹. UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, DEPARTAMENTOS 1. BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA. 2. INMUNOLOGÍA. 3. INNCOMSZ. MÉXICO D.F.

La asociación de proteínas o péptidos con micropartículas es una estrategia exitosa para el transporte y liberación de antígenos en mucosa. No sólo se retiene la actividad antigénica y se protege de una excesiva degradación enzimática, sino que puede inducirse una fuerte respuesta inmune. Sin embargo, esta estrategia se ha utilizado sólo con métodos de inmovilización covalente o atrapamiento. En el presente trabajo se utilizó un Dominio de Fijación al Almidón derivado de la α -amilasa de *Lactobacillus amylovorus* (DFA_{tag}) para la inmovilización no covalente del antígeno alfa cristalina (Acr) de *Mycobacterium tuberculosis* sobre micropartículas de almidón; su posterior administración vía mucosa intestinal y nasal y la caracterización de la respuesta inmune inducida, con el objetivo de evaluar el potencial del sistema para el transporte y entrega de antígenos en mucosas.

La proteína recombinante Acr-DFA_{tag} se produjo en *Escherichia coli* y se purificó mediante cromatografía de afinidad a β -ciclodextrina. Se administraron 50 μ g de proteína pura inmovilizada en almidón a ratones Balb/c hembras y la respuesta inmune obtenida se caracterizó y comparó con la obtenida en animales inmunizados con la fusión libre y con Acr. Se observó que la administración oral e intranasal de la proteína Acr-DFA_{tag} inmovilizada induce una mayor respuesta inmune humoral que la obtenida con los animales que recibieron la proteína fusión libre o sólo Acr. La inmovilización además favorece la respuesta de tipo Th1 indicada por los mayores niveles de IgG2a anti Acr y corroborada por los niveles de INF- γ detectados en sobrenadantes de cultivo de células de bazo de animales

inmunizados. En conclusión, el sistema transportador de antígenos propuesto tiene potencial inmunogénico y permite la opción de modular la respuesta a una respuesta de tipo celular (potencial efecto adyuvante) según el antígeno utilizado y el esquema de inmunización utilizado.

BMB328

IDENTIFICACIÓN DEL SISTEMA DE DOS COMPONENTES QUE REGULA LOS GENES FLAGELARES 2 DE *RHODOBACTER SPHAEROIDES*. BENJAMÍN VEGA-BARAY[1], CLELIA DOMENZAIN[1], ANET RIVERA, AURORA OSORIO[1], SEBASTIAN POGGIO[1], GEORGES DREYFUS[2] Y LAURA CAMARENA. [1]. [1] INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS. [2] INSTITUTO DE FISIOLÓGIA CELULAR. UNAM. Cd. UNIVERSITARIA, MÉXICO D.F. 04510.

Rhodobacter sphaeroides expresa dos grupos de genes flagelares. Uno de estos se expresa de forma constitutiva en las condiciones del laboratorio (Fla1), mientras que el segundo sistema (Fla2) sólo se expresa en cepas mutantes que han sido seleccionadas para nadar en ausencia del flagelo 1. Las proteínas que forman al flagelo 2 ensamblan múltiples flagelos que se agrupan formando una trenza que permite el nado de la bacteria en medios líquidos. Al secuenciar el genoma de una cepa seleccionada que es capaz de expresar los genes fla2 se encontró una mutación puntual en el gen homólogo de *cckA* de *Caulobacter crescentus*. La cinasa de histidinas híbrida, CckA, es el sensor del sistema de dos componentes CckA-ChpT-CtrA, esta vía regula el ciclo celular y la motilidad en *C. crescentus*. Ensayos de complementación en trans, mostraron que el cambio puntual encontrado en *cckA* era suficiente para encender la expresión de los genes flagelares 2 en una cepa no mótil Fla1-; mientras que la expresión del alelo wt de este mismo gen fue incapaz de hacerlo. Estos resultados indican claramente que la mutación puntual encontrada en *cckA* es suficiente para activar esta vía de señalización. La relevancia de las proteínas ChpT y CtrA en la expresión de los genes fla2 se demostró por la pérdida del nado dependiente de Fla2 en las cepas mutantes para cualquiera de estos genes. Diez mutantes independientes fla2+ fueron aisladas y secuenciadas para el gen *cckA* pero sólo dos de estas mostraron cambios. Como se esperaba, la expresión en trans de estos alelos fue suficiente para promover la expresión de los genes fla2. Las 8 supresoras restantes no mostraron cambios en *cckA* *chpT*, ni *ctrA*, sugiriendo la existencia de otras proteínas involucradas en la regulación de los genes flagelares 2. Para probar esta idea intentamos aislar cepas Fla2+ a partir de las cepas $\Delta cckA$ o $\Delta chpT$. Sólo se encontraron supresoras para la cepa $\Delta cckA$, lo que sugiere que *chpT* es un gen esencial para la transcripción de los genes fla2. No se encontró ningún cambio en los genes *chpT* y *ctrA* en estas supresoras. Además, en estas supresoras la expresión de los genes flagelares es aún dependiente de ChpT. Estos resultados sugieren que en estas cepas una cinasa distinta podría ser la responsable de la activación de CtrA vía ChpT para permitir la expresión de los genes flagelares 2.

BMB334

EFEECTO DEL pH SOBRE EL CRECIMIENTO DE *SINORHIZOBIUM MELILOTI* EN BIORREACTOR DE TANQUE AGITADO. RAMÍREZ JU, VILLEGAS J, GARCÍA R, TRUJILLO MA. UNIDAD DE BIOPROCESOS, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM.

La humanidad enfrenta el reto de abastecer la demanda alimentaria a partir de técnicas sustentables y eficientes. Una alternativa con mayor competitividad biológica, económica y ecológica, es la fijación biológica de nitrógeno (FBN). *Sinorhizobium meliloti* es una bacteria fijadora de nitrógeno, establece relaciones simbióticas con la leguminosa *Medicago sativa* (alfalfa). En este trabajo se presenta el efecto que tiene el pH sobre el cultivo sumergido de *S. meliloti*. Se analizan la velocidad de crecimiento, la viabilidad celular y la producción de exopolisacáridos (EPS), los cuales tienen un impacto benéfico en el proceso de invasión bacteria-hospedero [Jones, 2012] y dan protección a las células [Saranya et al., 2011]. **Objetivo.** Caracterizar el efecto del pH en el crecimiento de *S. meliloti* en cultivo sumergido en biorreactor de tanque agitado de 1 L. **Metodología.** La cepa de estudio fue *S. meliloti* M7B46. Se llevó a cabo una caracterización microscópica y macroscópica. El cultivo en biorreactor (1L) se realizó a 30°C, con control de oxígeno disuelto al 35% en medio YEM. Se midió a lo largo del cultivo la densidad óptica, las UFC's/mL, el consumo de sustrato [DuBois et al., 1956] y la producción de EPS [Saranya et al., 2011]. **Resultados.** La vista microscópica y macroscópica coincide con lo reportado por Kuykendall et al., (2005), siendo bacilos Gram-negativos. Las colonias son mucoides, semitraslúcidas, ligeramente beige. Las cinéticas en biorreactor de 1L muestran que la velocidad específica de crecimiento es afectada por el valor de pH. Siendo menor a valores de pH ácidos ($\mu_{pH5} = 0.0376 \text{ h}^{-1}$, $\mu_{pH6} = 0.1322 \text{ h}^{-1}$) comparado con el pH neutro ($\mu_{pH7} = 0.18 \text{ h}^{-1}$) y alcalino ($\mu_{pH8} = 0.26 \text{ h}^{-1}$, $\mu_{pH9} = 0.106 \text{ h}^{-1}$). La viabilidad no es afectada en las condiciones neutras o alcalinas, alcanzado cuentas celulares de hasta 10^9 UFC/mL.

La mayor generación de EPS se presentó a pH 8. **Conclusiones.** El pH durante el cultivo sumergido de *S. meliloti* tiene efecto en la velocidad específica de crecimiento, producción de EPS y en la viabilidad celular. La condición de pH con la mayor velocidad de crecimiento, así como la mayor producción de EPS se presentó a un valor de 8.

BMB344

EXPRESSION AND CHARACTERIZATION OF THE GLYCOPROTEIN APA (45/47 kDa); A *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* ANTIGEN CLONED IN *PICHA PASTORIS*. JUÁREZ-LÓPEZ D¹, TRUJILLO-ROLDAN M.A.¹, VALDEZ-CRUZ N.A.¹.

¹INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR UNAM. EMAIL: ADRIVALDEZ1@GMAIL.COM.

Introduction: The glycoprotein APA (45/47 kDa) is produced and recovered in the *M. tuberculosis* culture supernatant. It is described as an immunodominant antigen with an *O*-mannosylation pattern in 4 residues of Threonine, conferring antigenic properties to the molecule. Mannoses added in the C-terminal is suspected to influence T-cell proliferation as well as delayed-type hypersensitivity (DTH) reaction when expressed in *E. coli*, *M. smegmatis* and *M. bovis*. Recently, the expression of APA in *S. lividans* proved to mediate a stronger lymphoproliferative response compared with native protein when mannosylated. In this project a novel bioprocess was designed to express recombinant APA in the yeast *P. pastoris* to facilitate induction, expression, purification, culture time and media. Characterization of the C-terminal and immunoassays will determine the properties of rAPA compared with previous expression systems. **Objective:** Design, express and characterize rAPA synthesized in *P. pastoris*. **Methodology:** According to databases, gene *modD* was optimized for yeast system and *N*-glycosylation sites mutated. The sequence was synthesized with appropriate restriction sites and ligated into the expression vector, transformed *E. coli* and selected with LB+Zeocine media. The plasmid was propagated, purified and sequenced, then electroporated in *P. pastoris* X-33 and grown in YPD+Zeocine until colonies formed. PCR will confirm correct insertion and copy number. Induction will be done with methanol, and secreted rAPA will be purified by Con-A, confirmed by PAGE and Western Blot. rAPA will be digested with Lys-C and the C-terminal fragment will be analyzed by MALDI-TOF to observe mannosylation patterns. Additionally, it is being proposed to perform immunoassays in collaboration with PhD. Clara Espitia using lymphoproliferation assays. **Results:** PCR and DNA electrophoresis of plasmid from an isolated colony of *E. coli* successfully transformed with pAPADJNV proved the desirable plasmid size. Sequentiation proved the correct insertion of the gene into an ORF. The sequence backtranslated into corresponding aminoacid and Blast confirmed 100% homology to native APA. Transformation of *P. pastoris* was achieved and clonal selection is being performed at the time. **Acknowledgements:** Funds granted by CONACYT 104951-Z, 178528, CONACYT-INNOVAPYME 181895 y PAPPIT-UNAM IN-210013, IN-209113.

BMB346

PRODUCCIÓN DE ESFINGOMIELINASA D (SM-D) RECOMBINANTE EN *E. COLI* EN DIFERENTES CONDICIONES DE CULTIVO. CASTELLANOS A.¹, ALAGÓN A. ², OLVERA A. ², ZAVALA PADILLA G.³, TRUJILLO-ROLDÁN MA¹, VALDEZ-CRUZ NA¹.

¹DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS/UNAM; ²DEPARTAMENTO DE MEDICINA MOLECULAR Y BIOPROCESOS INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA/UNAM; ³UNIDAD DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA, INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA/UNAM.

Introducción. La esfingomielinasa D (SM-D) del veneno de la araña *Loxosceles reclusa* es la proteína responsable de la actividad tóxica del veneno. La SM-D tiene un peso molecular de aproximadamente 33 a 35 KDa cuya actividad hidroliza la esfingomielina en 1-fosfoceramida y colina(1). En la actualidad los antígenos utilizados para la producción de antivenenos son los venenos nativos, por lo que el uso de las toxinas recombinantes puede ampliar el panorama de inmunización y producción de antivenenos. Por otro lado, *Escherichia coli* es el sistema idóneo para la producción de proteínas recombinantes (PR). El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de dos medios y dos condiciones de cultivo sobre la producción de SMD recombinante (rSMD). **Metodología.** La cepa de *E. coli* BL21 productora de rSMD de garrapata se cultivó por triplicado en matraces agitados a 200 rpm, a 37 °C con 100 µg/ml de ampicilina, en medio Luria Bertani (LB) (2) y medio Super-Broth (SB) (3). Los cultivos de la cepa BL21-rSMD también se realizaron en cultivos en lote en biorreactores de 1 L. La expresión rSMD se indujo con IPTG 0,1 mM a las 5 h. en todos los cultivos. Se recolectó la biomasa después de 20 h de la inducción a partir de la cual se cuantificó proteína total para análisis por SDS-PAGE. **Resultados.** La velocidad de crecimiento fue similar entre los cultivos en matraces agitados

usando medio LB y SB (Fig. 1). Sin embargo, se observó un aumento del 30% de la productividad de rSMD en el cultivo con medio SB. Con base en este resultado se seleccionó el medio SB para realizar los cultivos en biorreactores. La velocidad de crecimiento específico fue similar a la obtenida en matraces pero se aumentó en un 40% la producción de biomasa con respecto a los cultivos en matraces agitados. Importantemente, se obtuvo 27% más proteína soluble en el cultivo en bioreactor comparado con el cultivo en matraz. **Conclusiones.** La velocidad de crecimiento fue similar en los medios utilizados. El medio SB favoreció el metabolismo para la síntesis de rSMD en los cultivos en matraces agitados. La producción de rSMD en forma soluble mejoró 27% en el cultivo en biorreactor, sugiriendo que las condiciones usadas mejoran la síntesis de proteína heteróloga en el citoplasma bacteriano. La proteína heteróloga SMD producida bajo la condición B en bioreactor representa el 10% de la proteína total, 6 horas después de la inducción. Estos resultados nos permiten proponer que en las condiciones del biorreactor no se satura el sistema de chaperonas, permitiendo mejorar la solubilidad. **Agradecimientos** El apoyo económico de CONACYT 104951-Z, 178528, CONACYT-INNOVAPYME 181895 y PAPPIT-UNAM IN-210013, IN-209113. **Bibliografía** 1. Ramos y Vázquez, 2000. 2. Bertani, G. (1951). J. Bact. 67, 696. 3. Lodish, H.F.(1970) J. Mol Biol 50, 689-702.

BMB348

UN HOMÓLOGO DISTANTE DE LA PROTEÍNA FLGT INTERACTÚA CON MOTB Y FLIL, Y ES ESENCIAL PARA LA ROTACIÓN FLAGELAR EN *RHODOBACTER SPHAEROIDES*. SALVADOR FABELA¹, CLELIA DOMENZAIN¹, VÍCTOR RAMÍREZ-CABRERA¹, JAVIER DE LA MORA², AURORA OSORIO¹, SEBASTIAN POGGIO¹, GEORGES DREYFUS² Y LAURA CAMARENA¹. ¹DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM. ²DEPARTAMENTO DE GENÉTICA MOLECULAR, INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR, UNAM.

En este trabajo describimos una proteína periplásmica que es esencial para la rotación flagelar en *Rhodobacter sphaeroides*. Dicha proteína está codificada río arriba de *flgA*, y su expresión es dependiente del regulador flagelar maestro FleQ y del activador flagelar de clase III FleT. Análisis de secuencia sugieren que esta proteína es un homólogo distante de la proteína FlgT recientemente reportada en *Vibrio*. En *R. sphaeroides*, FlgT interactúa con las regiones periplásmicas de MotB, FliL y con la proteína flagelar MotF, la cual fue recientemente caracterizada como un componente membranal del flagelo en esta bacteria. De acuerdo a estos resultados, hemos observado que la localización de GFP-MotF depende por completo de FlgT. El fenotipo Mot⁻ de las células $\Delta flgT$ fue suprimido débilmente por mutaciones puntuales en MotB, las cuales presumiblemente mantienen el canal de protones abierto; el fenotipo Mot⁺ también fue rescatado por mutaciones en *motB* que fueron aisladas a partir de células que recobraron la capacidad de nado en ausencia de FliL y MotF. Sin embargo la baja eficiencia de dicho fenómeno sugiere que FlgT podría desempeñar un papel adicional a la sola apertura del canal de protones (formado por las proteínas MotA/B). La presencia de FlgT en los complejos gancho-cuerpo basal purificados a partir de la cepa silvestre, fue confirmada mediante Western blot. La visualización de estas estructuras mediante su observación en el microscopio electrónico mostró que los cuerpos basales de las células $\Delta flgT$ habían perdido un anillo que cubre a los anillos LP en la estructura silvestre. Además, MotF fue detectada mediante Western blot en cuerpos basales obtenidos de la cepa silvestre, pero no de la cepa $\Delta flgT$. Con estos resultados, proponemos que FlgT es necesaria para la formación de un anillo alrededor del anillo LP, el cual ancla a MotF y podría participar en la estabilización del estator en el motor flagelar.

BMB352

CARACTERIZACIÓN DE LA O-MANOSILACIÓN DE LA PROTEÍNA RECOMBINANTE APA 45/47 KDa DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* PRODUCIDA EN *STREPTOMYCES LIVIDANS*. FERNÁNDEZ, L.A.¹, ROMÁN GONZÁLEZ S.A.², ARREGUÍN R.², TRUJILLO-ROLDÁN M.A.³, VALDEZ-CRUZ, N.A.¹. ¹ DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO. ² DEPARTAMENTO DE QUÍMICA DE BIOMACROMOLÉCULAS, INSTITUTO DE QUÍMICA, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO ³ UNIDAD DE BIOPROCESOS, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

Mycobacterium tuberculosis es la bacteria causante de tuberculosis, la cuál representa un problema global de salud pública, ya que es la segunda causa mundial de mortalidad (1). Se han detectado proteínas glicosiladas altamente inmunogénicas en esta bacteria, entre ellas, la proteína O-manosilada APA de 45 /47 kDa. Se ha demostrado que la capacidad de APA para estimular la proliferación de linfocitos T dependiente de su glicosilación (2,3). Por lo que ha

sido propuesta como una alternativa para generar una nueva vacuna contra la tuberculosis o para kits de diagnóstico de la etapa infecciosa de la enfermedad(4). Para desarrollar estas alternativas, es necesaria la producción de APA recombinante (rAPA) a mayor escala y entender como afectan las condiciones ambientales su producción y glicosilación. Siendo necesario, establecer métodos sencillos para caracterizar las posibles variaciones en la O-manosilación de la proteína rAPA. Por lo que en este trabajo se diseñará una estrategia analítica que consiste en mapas peptídicos de rAPA producida en *Streptomyces lividans*, bacteria grampositiva, conocida por su capacidad de glicosilar proteínas heterólogas, comparados con mapas peptídicos de rAPA no glicosilada obtenidos de *E. coli* con la finalidad de que permita identificar las variaciones en la O-manosilación. La rAPA no glicosilada fue obtenida a partir de cultivos de la cepa recombinante *E. coli*/Rosetta D3 con el plásmido pET15b que contiene el gen codificante para la proteína APA. La purificación de rAPA no glicosilada se realizó mediante cromatografía de afinidad utilizando una columna de níquel (Ni-NTA, Qiagen). Posteriormente se sometió a cromatografía de alta resolución usando una columna C-8, analítica. La purificación de la proteína fue verificada por western blot. La proteína rAPA de *E. coli* fue digerida usando la enzima Lys-C. Los péptidos obtenidos fueron purificados por HPLC. En los cromatogramas se observaron 8 componentes, que están siendo analizados por espectrometría de masas. Por otro lado se realizarán cultivos de *S. lividans* 1326 wild type, transformada con el plásmido pIJ6021 en 10%, TOD en biorreactor de 1L. Las proteínas O-manosiladas serán separadas mediante cromatografía de afinidad (Con-A). La purificación de rAPA se realizará mediante R-HPLC. Las masas y la caracterización de O-glicanos será determinada usando el método descrito de digestión e identificación por espectrometría de masas. Los sitios específicos de O-manosilación serán identificados mediante degradación de Edman. Agradecimientos El apoyo económico de CONACYT 104951-Z, 178528, CONACYT-INNOVAPYME 181895 y PAPPIT-UNAM IN-210013, IN-209113. 1. World Health Organization (WHO) Global Tuberculosis Report 2012. 2 Lara M, Servin-Gonzalez L, Singh M, Moreno C I, Nimtz M, Espitia C. 2004 Appl Environ Microbiol, 70:679-685. 3 Horn C, Namane A, Pescher P, Riviere M, Romain F, Puzo G, Barzu O, Marchal G. 1999. Biol Chem. 274:32023–32030. 4 Sable SB, Cheruvu M, Nandakumar S, Sharma S, Bandyopadhyay K, et al. 2011. PLoS ONE 6:22718.

BMB356

EFECTO DE TEMPERATURAS SUB-OPTIMAS Y MEDIO DE CULTIVO EN LA PRODUCCIÓN DE α -NEUROTOXINA RECOMBINANTE EN *E. COLI* BL21 (DE3) GOLD. LUNA-PALACIOS Y ^{A,B}, CASTELLANOS-MENDOZA AE ^B, ZULUAGA-RAVE DF ^B, ALAGÓN A ^D, OLVERA A ^D, TRUJILLO-ROLDÁN MA ^D, VALDEZ- CRUZ NA ^B. ^A UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DEL VALLE DE TOLUCA, ^B DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA, ^C INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS UNAM, ^D INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA UNAM. AP. 70228, MÉXICO, D.F., CP. 04510, MÉXICO. YRYXLUNA@GMAIL.COM.

En México, los envenenamientos por las serpientes de coral son tratados con el antiveneno Coralmyn® , no obstante, se ha reportado baja capacidad neutralizante contra el veneno de *Micrurus laticollaris*, se ha propuesto que es debido a variaciones en la α -neurotoxina (α -NTX) (Carbajal-Saucedo 2004). Con la idea de mejorar la obtención de anticuerpos neutralizantes contra la α -NTX, se clonó y expresó en *E. coli* BL21 (DE3) gold. Sin embargo, los anticuerpos generados contra la α -NTX no fueron neutralizantes, debido a un mal plegamiento y la formación de cuerpos de inclusión (CI) (Carbajal-Saucedo et al. 2013). Se ha demostrado que los cultivos a bajas temperaturas (<37°C) y medios ricos disminuyen la formación de CI, mejorando la producción de la proteína recombinante, (San-Miguel et al. 2013). Se visto que a bajas temperaturas aumentan la cantidad de proteína soluble y se favorece su actividad (Ari et al. 2007; DeGroot & Ventura 2006). Por lo anterior, se evaluó el efecto de la disminución de la temperatura y diferentes medios de cultivo en la producción de α -NTX recombinante en forma soluble o de CI en cultivos sumergidos de *E. coli* BL21 (DE3) gold producidos en tres diferentes temperaturas (37°C, 25°C y 18°C) y dos cultivos bifásicos (crecidos inicialmente a 37°C y con cambio de temperatura en la fase exponencial tardía a 25° o 18°C), en dos medios de cultivo (Luria Bertani y Súper Broth). Se utilizaron matraces Erlenmeyer de 250mL y los metabolitos se cuantificaron con el equipo YSI 2900. Los rendimientos se calcularon mediante densitometría de SDS-PAGE y se utilizó Western Blot para identificar la proteína. Se analizó el perfil de degradación de los CI usando proteínas K. El medio de cultivo no afectó la velocidad de crecimiento (μ). La μ en los cultivos a 25°C disminuyó 45% y 78% en los mantenidos a 18°C, comparados con los cultivos a 37°C. En los cultivos en SB se obtuvo la mayor concentración de biomasa con 3.54 g/L. A 18°C en SB obtuvo el mejor rendimiento de proteína soluble total (108.81 μ g de proteína/mg de biomasa). La producción la α -NTX soluble en 18°C fue 85% mayor a la obtenida a 37°C en LB. Se demostró que el medio de cultivo si afecta el plegamiento de la proteína, siendo los CI producidos en LB a 18°C degradados más rápidamente que los SB a 18°C. Ari, A. et al., 2007. The Conformational Quality of Insoluble Recombinant Proteins Is Enhanced at Low Growth Temperatures. , 96(6), pp.1101–1106. Carbajal-Saucedo, A., 2004.

comparación inmunoquímica del veneno de serpientes de coral (Elapidae: *Micrurus*, *Micruroides*) mexicanas. Instituto de Biotecnología. UNAM. México. Carbajal-Saucedo, A. et al., 2013. Isolation, characterization, cloning and expression of an alpha-neurotoxin from the venom of the Mexican coral snake *Micrurus laticollaris* (Squamata: Elapidae). *Toxico: official journal of the International Society on Toxinology*, 66, pp.64–74. Groot, D. & Ventura, S., 2006. Effect of temperature on protein quality in bacterial inclusion bodies., 580, pp.6471–6476. San-Miguel, T., Pérez-Bermúdez, P. & Gavidia, I., 2013. Production of soluble eukaryotic recombinant proteins in *E. coli* is favoured in early log-phase cultures induced at low temperature. *SpringerPlus*, 2(1), p.89.

BMB361

LA LOCALIZACIÓN DE OMPA EN CAULOBACTER CRESCENTUS DEPENDE DE LA POSICIÓN DEL GEN EN EL CROMOSOMA. GINEZ VÁZQUEZ LD, OSORIO FRANCO A. & POGGIO GHILARDUCCI S. DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM.

La envoltura celular de las bacterias Gram-negativas consta de tres capas: la membrana plasmática, la pared celular y la membrana externa (OM). En *Escherichia coli* la estabilidad de la membrana externa depende de su interacción con la pared celular a través de la lipoproteína de Braunn (Lpp), OmpA y el sistema Tol-Pal. Mutantes en *lpp*, *pal* u *ompA* forman vesículas de membrana externa, liberan proteínas de membrana externa al medio extracelular y son hipersensibles a detergentes y antibióticos. *Caulobacter crescentus* carece de la lipoproteína de Braunn, y se ha mostrado que el sistema Tol-Pal es esencial, lo cual sugiere que los mecanismos que mantienen la integridad de la envoltura celular en esta bacteria son diferentes. Aunque no existen homólogos del gen *ompA* en el genoma de *C. crescentus*, codifica seis proteínas con un dominio C-terminal tipo OmpA, dos de las cuales forman un dominio barril beta de membrana externa, como sucede en OmpA de *E. coli*. Un microarreglo muestra que uno de esos dos genes es altamente expresado y que puede ser una proteína abundante, sugiriendo que este gen podría codificar para la proteína OmpA de *C. crescentus*. Una fusión entre OmpA y la proteína rojo fluorescente mCherry (OmpA-mCh) mostró que la proteína forma un gradiente de concentración a partir de la prosteca y del polo celular viejo hacia el polo celular nuevo. El gradiente de concentración comienza a formarse temprano en el ciclo celular, pero llega a ser más pronunciado con la edad de la célula. Dado que el gradiente no se forma cuando la proteína es expresada a partir de un plásmido y que la posición del gen en el cromosoma tiene lugar cerca del polo prostecado era posible que el patrón de localización dependiera de la posición del gen en el cromosoma. Para investigar esta posibilidad, se translocó el gen *ompA-mCh* junto con su propio promotor a la mitad y al polo opuesto del cromosoma. En células de estas cepas la proteína se localizó preferencialmente en el polo no-prostecado. La longitud promedio de la prosteca en estas cepas se redujo un 70% y algunas células formaron esferoplastos. Un western-blot reveló que cuando el gen *ompA-mCh* estaba en una posición diferente del cromosoma su nivel de expresión era menor, indicando un cambio en su regulación. Para determinar la función de OmpA en *C. crescentus*, se obtuvo un cepa mutante $\Delta ompA$. Las células de esta cepa tienen prostecas reducidas y una tasa de crecimiento menor que la cepa silvestre, además son más sensibles a deoxicolato de sodio y forman burbujas de membrana externa. Actualmente se está determinando si la longitud reducida de las prostecas es causada por la deslocalización o actividad reducida de proteínas relacionadas con el crecimiento de la pared celular en la base de la prosteca. Estos resultados muestran que en *C. crescentus*, la posición de *ompA* en el cromosoma es importante para la localización de la proteína y que esto es relevante para su función.

Departamento

Inmunología



Más de 40 años Evolucionando el Desarrollo Científico

Equipos, Reactivos, Material y Mobiliario para Laboratorio

Somos tu mejor opción, ofrecemos una solución integral para tu laboratorio, siempre comprometidos por la Ciencia y Tecnología en México.

Industria · Educación · Ciencias de la Vida · Diagnóstico Clínico

www.ctr.com.mx
ctrscientific@ctr.com.mx



MONTERREY | CHIHUAHUA | COAHUILA | GUADALAJARA | HERMOSILLO | MÉXICO | PUEBLA | SAN LUIS POTOSÍ | SINALOA | VERACRUZ

INM215

NEUROCISTICERCOSIS: LA RESISTENCIA AL TRATAMIENTO CISTICIDA SE ASOCIA A UNA DESREGULACION DEL PERFIL IL17/TGFB. CÁRDENAS GRACIELA^{1,2}, FRAGOSO GLADIS², ROSETTI MARCOS², RANGEL-ESCARAÑO CLAUDIA³, URIBE LAURA³, SCIOTTO EDDA², FLEURY AGNÈS¹. 1.-INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIROLOGÍA. UNIDAD PERIFÉRICA PARA EL ESTUDIO DE LA NEUROINFLAMACIÓN IIBM/INNN. 2.-INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS. DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA. 3.-INSTITUTO DE INVESTIGACIONES GENÓMICAS. UNIDAD DE MICROARREGLOS.

Antecedentes: La neurocisticercosis (NC) es una enfermedad parasitaria del SNC endémica en países de Latinoamérica, África y Asia. La NC puede presentarse con una amplia diversidad de formas clínico-radiológicas. Las formas más severas ocurren cuando los parásitos se localizan en los ventrículos o en el espacio subaracnoideo de la base, y en ocasiones son resistentes al tratamiento cestocida-esteroideo y requieren múltiples ciclos de tratamiento para destruir al parásito. **Objetivo:** Evaluar los factores inmuno-inflamatorios asociados a la susceptibilidad/resistencia al tratamiento. **Materiales y métodos:** Se colectaron muestras de sangre y LCR de 10 pacientes con NC (5 con tratamiento esteroideo crónico), antes del tratamiento y después de iniciar o reanudar el tratamiento cestocida. Las células mononucleares se incubaron con antígeno vesicular de cisticercos durante 72 y 120 hrs., se extrajo el ARN y se hibridizó en microarreglos Human gene 1. El perfil inmuno-inflamatorio periférico encontrado en los resultados de microarreglos se confirmó midiendo los niveles de las citocinas adecuadas mediante ELISA, agregándose un segundo grupo, de 32 pacientes con neurocisticercosis. **Resultados:** Los pacientes con tratamiento esteroideo crónico (no respondedores a cisticidas) presentaron antes del tratamiento sub-expresado algunos genes pro-inflamatorios en particular algunos genes asociados a la respuesta Th17 (ROR γ C). Este perfil anti-inflamatorio se confirmó con la medición de las citocinas; los pacientes resistentes o no respondedores a tratamiento cestocida presentaron mayores niveles de TGFB ($p=0.05$) en LCR y menores de IL17 periféricos ($P=0.01$). **Conclusiones:** Los resultados del presente trabajo sugieren que la respuesta adecuada al tratamiento específico se asocia con la presencia de un perfil inflamatorio central de tipo Th17. Este resultado es de gran importancia dado que los pacientes con formas inflamatorias son generalmente tratados simultáneamente con corticoides lo cual podría suprimir la respuesta TH17, impidiendo la eliminación de los parásitos. Este hecho podría estar involucrado con la frecuente resistencia al tratamiento que presentan estos pacientes y señala la relevancia de continuar en la búsqueda de tratamientos antiinflamatorios más específicos.

INM216

MODULATION OF FCGAMMARS EXPRESSION IN MACROPHAGES DERIVED FROM THP-1 CELLS (THP-1-M Φ) POLARIZED TO INFLAMMATORY, WOUND-HEALING AND REGULATORY PHENOTYPES. RIVERA-FUENTES, A.D. AND ORTEGA, E. DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS UNAM.

Macrophages can display a high degree of phenotypic heterogeneity, depending on their anatomical location, and also as a result of activation in response to microenvironmental factors. Characterization of these diverse activation states is important because of its relevance for the induction of an effective immune response and because inappropriate activation can have pathogenic effects.

We sought to establish a cell-line model in which to study and characterize the phenotypic changes of human macrophages associated with distinct types of activation. We used THP-1 promonocytic cells, and differentiated them to a macrophage-like phenotype (THP-1-M Φ) with PMA. THP-1-M Φ cells were exposed to different cytokines, to be polarized into three subpopulations of macrophages: INF γ for inflammatory macrophages, IL-4 for wound-healing macrophages and IL-10 for regulatory macrophages. The polarization phenotype was corroborated by the expression of the surface markers CD80, CD206 and CD163 respectively. To assess the effect of polarization on Fc γ R expression and function, we evaluated the expression of CD64 (Fc γ RI) and CD32 (Fc γ RII), as well as phagocytosis of IgG-coated sheep erythrocytes. INF γ polarized macrophages showed a 2.7-fold increase in CD64 expression, but a reduction of 50% in phagocytic capacity. In contrast, IL-10 treatment increased 1.7-fold the membrane expression of CD32, and three times the phagocytic capacity as compared with control cells. In IL-4 treated macrophages we observed a decrease of 30% in phagocytosis, and no statistically significant changes in CD32 and CD64. This model can be used to study phenotypic changes and plasticity in macrophage-like cells.

INM220

ANALYSIS OF POLYMORPHISMS IN TLRs AND FCGRs IN SUSCEPTIBILITY TO TUBERCULOSIS IN A MEXICAN POPULATION. HERNÁNDEZ-BAZÁN SUJHEY¹, SANCHEZ B.², ORTEGA E.¹. ¹INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM, DF, MÉXICO; ²INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRAN, DF, MÉXICO.

Tuberculosis is an infectious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis*. In México, specifically in the state of Veracruz, there's a relative high prevalence, so it's important to identify factors which affect the susceptibility to TB in this population. To investigate the influence of genetic variants in TLRs and FcγRs in TB, we conducted a case-control study for the polymorphisms: *TLR1* (p.N248S), *TLR2* (p.R753Q) *TLR4* (p.D299G; p.T399I), *TLR6* (p.S249P), *TLR10* (p.A163S; p.V298A), *FCGR1IA* (p.R131H) and *FCGR1IIIA* (p.V158F).

In a total of 281 cases and 572 controls, we found a protective association to the *TLR4* 299G and 399I variants (OR=0.183 and OR=0.304 respectively) in a heterozygous genotype. The association is statistical significant ($p=0.0018$ and $p=0.02$). For the other SNPs there was no association found.

For *TLR4* SNPs, the haplotype G-I was more frequent in controls than in cases (2% and 0.4%) and also represent a protective factor (OR=0.32, $p=0.027$) and the D-T haplotype was more frequent in cases than in controls (99.2% and 96.9%) with an OR=3.19 ($p=0.027$), so this haplotype represent a risk factor. The analysis of linkage disequilibrium (LD) indicated that *TLR4* (*chr:9*, $D'=96$) and *TLR10* (*chr:4*, $D'=97$) polymorphisms were in LD.

Our results so far indicate that the SNPs analyzed for the *TLR4* gene represent a protective factor in our study population during TB infection.

INM228

PROTEOMIC STUDY OF *TAENIA SOLIUM* SECRETOME GENETIC VARIABILITY. GÓMEZ FUENTES SANDRA¹, PALAFOX FONSECA HÉCTOR², PARADA MARÍA CRISTINA², ESPITIA CLARA², BOBES RAUL², NELLY VILLALOBOS³, ASIEL ARCE SILLAS¹, FRAGOSO GLADIS², SCIUTTO EDDA², ADALID LAURA¹. UNIDAD PERIFÉRICA PARA EL ESTUDIO DE LA NEUROINFLAMACIÓN EN PATOLOGÍAS NEUROLÓGICAS, UNAM-INNN¹. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM. DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA². FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA³.

Flatworm *Taenia solium* causes both human and pig cysticercosis. When cysticerci establish in the human central nervous system they cause neurocysticercosis, a potentially grave disease.

Genotypic differences among cysticerci from a same host, cysticerci from different hosts, and cysticerci from different endemic regions of the world have been found. Such differences, added to the particular microenvironment of the host-parasite relationship, let us to presume there is heterogeneity in the patterns of molecules secreted by cysticerci with different background.

This work is aimed to isolate and characterize proteins secreted by cysticerci from different pigs, to assess the differences in the secretome of cysticerci from central Mexico, and to identify those cysticercal components conserved among pig hosts which could aid in designing diagnostic assays.

Secretion products from *T. solium* cysticerci from 3 naturally-infected pigs were obtained and characterized. Cysticerci were cultured in vitro, harvesting supernatants up to day 21. Samples were lyophilized, and the profile of secreted molecules was characterized by 2D-PAGE proteomic analysis. Spots were identified and sequenced by mass-spectrometry. The obtained sequences were compared with those in NCBI and ExPASytools databases.

The following protein sequences were identified: Cysticercosis-specific antigen gi|6288722; Oncosphere-specific antigen gi|21930119; 8kDa Diagnostic antigen TsRs2 variant-1 gi|19879960; Immunogenic protein Ts21 gi|7339851; secreted antigen Ts8B2 gi|23477224; Enolase gi|261266611; Annexin gi|7578879; Antigen cC1 gi|4960053; Trypsin-like protein gi|311335041.

The results show differences in molecules secreted by cysticerci from different host pigs, both in protein number and type. Based on these, a set of candidate molecules was selected, which could be of interest for optimizing neurocysticercosis diagnostics. The possible immunomodulator role of these molecules will be evaluated.

IBt. SANDRA GÓMEZ FUENTES

UNIDAD PERIFÉRICA PARA EL ESTUDIO DE LA NEUROINFLAMACION EN ENFERMEDADES NEURONALES (INNN-IIBm/UNAM).

tel. 56063822 ext 1085

sammxmx@hotmail.com

INM232

FUNCIONALIDAD Y MECANISMOS DE ACCIÓN DE CÉLULAS T REGULADORAS DURANTE LA NEUROCYSTICERCOSIS HUMANA. ARCE-SILLAS ASIEL¹, CASANOVA-HERNÁNDEZ DIDIER¹, ÁLVAREZ-LUQUÍN DIANA¹, CÁRDENAS GRACIELA¹, FLEURY AGNES¹, FRAGOSO GLADIS², SCIUTTO EDDA², ADALID LAURA¹. ¹INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIROLOGÍA. MANUEL VELASCO SUÁREZ. ²INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS. UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO. ³CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI.

Introducción: La neurocisticercosis humana (NC) es una enfermedad causada por el establecimiento del cisticerco de *Taenia solium* en el SNC. Las células T reguladoras (Tregs) juegan un papel relevante en el control de la neuroinflamación, sin embargo, aún se desconocen los mecanismos a través de los cuales las Tregs ejercen su efecto. **Objetivo:** Establecer los mecanismos de regulación de la respuesta inmuno-inflamatoria mediada por las células T regs en la NC humana. **Materiales y Métodos:** En 23 sujetos con NC y en 6 controles se cuantificaron los niveles de Tregs, moléculas con carácter supresor (CTLA-4, LAG-3, GITR, IL-10, CD95 y PD-1) y la respuesta proliferativa a través de citometría de flujo. Las moléculas involucradas en la inducción de muerte celular como granzima y perforina se cuantificaron por RT-PCR. **Resultados:** Se observó un aumento significativo en los niveles de los diferentes fenotipos de células Tregs periféricas en los pacientes NC relativo a los controles. También se observó un aumento significativo en los niveles de moléculas supresoras por contacto célula-célula (CD4+CD25^{high}CTLA-4+, CD4+CD25^{high}LAG-3+, CD4+CD25^{high}GITR+) y por inducción de muerte celular (CD4+CD25^{high}CD95+, CD4+CD25^{high}PD-1+). **Discusión:** Los resultados obtenidos muestran un aumento de las Tregs y en particular de Tregs activadas lo cual implica que están ejerciendo su función reguladora. Se encontró un aumento en las moléculas CTLA4, GITR, LAG-3, PD-1 y CD95 en los pacientes con respecto a los controles pero no de IL-10 que señala la participación de los mecanismos en los que se involucran estas moléculas a excepción de IL-10. **Conclusión:** Durante la NC las Tregs están participando en el control de la neuroinflamación ejerciendo su función supresora a través de su interacción con las células presentadoras de antígeno por medio de CTLA-4, GITR y LAG-3 y por inducción de apoptosis a través de CD95 y PD-1.

INM233

PROTEOMICS OF THE HOST-PARASITE RELATIONSHIP IN TAENIA SOLIUM CYSTICERCOSIS. JOSE NAVARRETE-PEREA¹, BARBARA B. MOGUEL¹, GLADIS FRAGOSO¹, GUILLERMO MENDOZA^{2†}, EDDA SCIUTTO¹, RAUL J. BOBES¹, JUAN P. LACLETTE¹. ¹DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, MEXICO ^{2†}IN MEMORIAM, FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO, MEXICO.

Cysticercosis is a parasite disease caused by the larvae of *Taenia solium* that is still prevalent in countries of Latin America, South East Asia and Africa. However, human migration has also increased its incidence in industrialized countries (Sciutto et al, 2000). Little is known about the physiopathology of this complex host-parasite relationship; nevertheless, it is known that cysticerci are able to evade (Laclette JP et al, 1992), and even modulate the host immune response as a way to survive in the host tissues, (Sciutto E et al, 1995). It is known that helminth parasites are able to modulate the immune response, one feature of the host-parasite relationship in cestode infections is the uptake of host proteins, the presence of host proteins in vesicular fluid of helminth parasites has been well documented, specially there are several studies about the uptake of prealbumin, albumin and immunoglobulin. Additionally, little is known about the dynamics of serum proteins during cysticercosis, there are several studies focused in serum components, like the different subclasses of immunoglobulins during the experimental infection in pigs, the persistence of immunoglobulins after medical treatment in pigs, hormonal changes in pigs which had naturally acquired cysticercosis, and immune patterns in human neurocysticercosis. In this study, we analyze the influence of the localization of the cysts in the host's tissues, as well as the intensity of local inflammatory response on the protein expression of this parasite. 2D-PAGE analysis were carried out on crude extract of cysticerci collected from central nervous system and skeletal muscles from infected pigs. Briefly, we used sera from pigs with naturally acquired cysticercosis and a serum from a non infected animal for comparison. Tissue samples and vesicular fluids of cysticerci dissected from muscle or brain of infected pigs were also obtained. The sera, the cyst's tissues and the vesicular fluids were separated by 2D-PAGE. The sera from infected and non infected pigs showed an average of 126 and 116 protein spots, respectively. About half of these proteins can be clearly identified using different 2D protein maps. Seventy two spots were not shared between both sera; 26 were exclusive of the infected animals. Numbers of protein spots in the tissue samples and in the vesicular fluids of cysticerci were more variable: cysts dissected from the central

nervous system of the pigs showed 301-340 protein spots in crude extracts of parasite tissue and 250-320 in the vesicular fluids, whereas those dissected from skeletal showed 270-310 for the tissue and 250-270 for the fluid. We are currently working in the identification of these protein spots. As an example, at least 6 proteins are of host origin, including porcine serum albumin and IgG, accounting for about 4 % of the total protein.

INM235

ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD DE LA RESPUESTA INMUNE HUMORAL DEL CARCINOMA DUCTAL DE LA MAMA EN UN MODELO EXPERIMENTAL MURINO. DÍAZ-ZARAGOZA, MARIANA; HERNÁNDEZ-ÁVILA, RICARDO; OSTOA-SALOMA, PEDRO. *DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.*

En México, el cáncer de mama es una enfermedad muy importante al presentar una incidencia de 9 mujeres cada 100 000. La autoexploración, el ultrasonido y las mamografías son las herramientas para su diagnóstico, pero sólo del 5 al 10% de los casos se detectan en etapas tempranas. El objetivo es describir el perfil inmunológico del cáncer de mama ductal murino en las diferentes etapas de su desarrollo y obtener antígenos-anticuerpos candidatos a una posible herramienta para el diagnóstico temprano. Ratones BALB/c AnN machos y hembras de 8 semanas de edad se implantaron en una mama vía subcutánea con células tumorales 4T1 y se obtuvo el suero antes y después del implante (semana 1 a 5). Se generaron inmunoblots-2D de la respuesta inmune IgG e IgM en las diferentes etapas de la enfermedad, proteínas de células 4T1 se separaron en electroforesis, se transfirieron a membranas de nitrocelulosa y por cada suero se hizo un Western Blot. Los inmunoblot-2D se digitalizaron en imágenes y se analizaron con los programas PdQuest. Los inmunoblots-2D tuvieron diferencias (variabilidad) en la distribución y cantidad de spots de la detección de antígenos por IgG e IgM de los sueros de cada ratón con cáncer de mama en las distintas etapas de desarrollo del tumor, entre individuos y entre inmunoglobulinas. La detección de antígenos por IgM en hembras y machos se presentó en toda la etapa de desarrollo de la enfermedad, atribuyendo que las IgM en el suero de la semana 0 son anticuerpos naturales, mientras las IgM de la segunda a quinta semana son de la respuesta inmune adaptativa. La IgG se observó en los sueros de la semana 2 a 5 en ratones machos, y en los sueros de la semana 1 a 3 en hembras, pero se observó inmunosupresión de IgG, ya que la respuesta disminuye a lo largo del desarrollo de la enfermedad en los ratones de ambos sexos. Al encontrar diferencias la distribución de spots en los inmunoblots-2D de la respuesta de IgM, el patrón de spots puede convertirse en una variable de 0 y 1, que podría representar una firma de la respuesta inmune de cada individuo. Los antígenos que son reconocidos por algunos ratones hembra en la primera semana después del implante de células 4T1 también son reconocidos por otras hembras en el tiempo 0, lo que dificulta el uso de IgM adaptativa como una herramienta para el inmunodiagnóstico. La respuesta de IgM e IgG contra antígenos de células 4T1 fue diferente de acuerdo al tiempo y al sexo. No obstante, para estudiar la IgM adaptativa para el establecimiento de una prueba de inmunodiagnóstico, será de gran importancia diferenciar IgM adaptativa de IgM innata.

INM237

EFFECTO INMUNOMODULADOR DE LA α -MANGOSTINA EN UN MODELO DE ARTRITIS MURINA. HERRERA DR^{1,2}, ROSAS G³, CERVANTES J¹, ARRELLÍN G³, HERNÁNDEZ B⁴, SCIUTTO E¹, FRAGOSO G¹. ¹DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM. ²FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, UNAM. ³FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS. ⁴DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA DE TEJIDOS E INMUNOTERAPIA, FACULTAD DE MEDICINA, UNAM.

Introducción: La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmune que se asocia a una respuesta Th1 y Th17 exacerbada y a la producción de autoanticuerpos dirigidos contra componentes propios de la articulación. Se ha propuesto que puede ser controlada por la inducción de células T reguladoras (Tregs). Los fármacos que se utilizan actualmente para su control presentan efectos adversos importantes. La α -mangostina tiene efectos antiinflamatorios y antioxidantes potencialmente, aunque no se conocen los procesos bioquímico-inmunológicos en los que subyacen estos efectos. **Objetivo:** Evaluar el efecto anti-inflamatorio de la α -mangostina en la AR a través de la disminución de citocinas proinflamatorias y/o de la generación de células reguladoras. **Materiales y Métodos:** Se realizó la polarización de células hacia Th17 *in vitro* y se determinó por citometría de flujo la capacidad de distintas concentraciones de α -mangostina de desviarla hacia un subtipo Treg. Se utilizó el modelo de artritis inducida por colágena (CIA) en ratones CD1. Se manejaron cinco grupos: sin CIA, con CIA, CIA y carboximetilcelulosa (0.05%), CIA

y metotrexato y CIA y α -mangostina. La actividad antiinflamatoria se evaluó cuantificando la severidad clínica de la artritis, el aspecto histopatológico de las articulaciones, los niveles de anticuerpos anticólagena IgG1 e IgG2a y de células Tregs esplénicas. **Resultados:** La α -mangostina presentó una mayor capacidad de desviar la polarización de células activadas de un fenotipo Th17 hacia un fenotipo T regulador con la consecuente disminución de IL-17 y TNF- α e incremento de TGF- β a partir de concentraciones de 5 μ g/ml en ensayos *in vitro*. *In vivo*, la α -mangostina presentó un mejor efecto antiinflamatorio que el metotrexato en el modelo de CIA según la evaluación histopatológica que se acompañó con una disminución de anticuerpos anticólagena IgG2a y aumento de células Tregs esplénicas. **Conclusiones:** La α -mangostina presentó capacidades antiartríticas en el modelo de CIA, en el que participan la promoción de un ambiente regulador y la disminución de la producción de citocinas pro-inflamatorias y de anticuerpos IgG2a anticólagena. Esto la hace un valioso candidato para investigaciones posteriores como un nuevo agente anti-artrítico.

INM240

USO DE ANTICUERPOS MONOCLONALES MURINOS, PARA LA CARACTERIZACIÓN DE PROTEÍNAS DE *TRYPANOSOMA CRUZI*. BENÍTEZ JM Y ESPINOZA B. LABORATORIO DE ESTUDIOS SOBRE LA TRIPANOSOMIASIS AMERICANA, DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA.

En el estudio del parásito *T. cruzi*, los anticuerpos monoclonales han sido de gran importancia, principalmente en la identificación y aislamiento de antígenos del parásito; tanto para conocer su biología, en el diagnóstico clínico y con fines terapéuticos.

En nuestro laboratorio, López Olmos produjo anticuerpos monoclonales (MAbs) contra la cepa Querétaro, entre ellos los MAbs C16D, F14B e ID5. El primero reconoce un epítipo de 41 y 65 kDa, el MAb F14B identifica un par de proteínas de 29 y 40 kDa e ID5 reacciona con un antígeno de 43 kDa.

El objetivo de este trabajo fue el determinar las diferencias en el reconocimiento de los MAbs en un extracto total de epimastigotes sometido a distintas formas de extracción y conocer la composición glicosídica de las proteínas reconocidas por estos anticuerpos.

Fueron realizados geles SDS-PAGE con extracto total de epimastigotes de *T. cruzi* cepa Querétaro ó fracciones proteicas que contenían los antígenos reconocidos por los MAbs. Los extractos se lisaron por sonicación ó con buffer de Tiurea Urea (TU). Posteriormente se transfirieron a nitrocelulosa y se llevaron a cabo Inmunoblots y Lectin blots. En el extracto sonificado se reconocieron los antígenos antes mencionados, mientras que en el Western blot con el extracto TU, el MAb F14B reconoció proteínas de 55 y un doblete de 98 kDa. La diferencia en el reconocimiento por parte de F14B, es debido a los agentes caotrópicos del buffer de lisis TU, los cuales promueven una mejor extracción proteica. En los ensayos de Lectin blot se observó que la mayoría de estas lectinas no reconocieron carbohidratos que coincidieran en peso molecular con los antígenos a los que se unen los MAbs. Sólo la lectina con-A que reconoce a los azúcares α -manosa y glucosa coincidió con las proteínas reconocidas por el MAb F14B y PNA que se une a β -galactosa y N-acetilgalactosamina con el antígeno de 65 kDa identificado por C16D. Esto indica que la mayoría de los antígenos reconocidos por estos MAbs son de naturaleza proteica.

Como perspectiva, se planea identificar a las proteínas reconocidas por los MAbs, con Espectrometría de Masas (MS/MS).

INM243

COMPARATIVE STUDIES OF BIOCOMPATIBILITY BETWEEN FUNCTIONALIZED AND NON-FUNCTIONALIZED HALLOYSITE CLAY NANOTUBES. TOLEDANO YA, JIMÉNEZ KB, LACLETTE JPA, CARRERO JCA. A DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, CD. UNIVERSITARIA, 04510, MÉXICO, D.F., MÉXICO. B UNIDAD DE APOYO A LA INVESTIGACIÓN, FACULTAD DE QUÍMICA, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, CD. UNIVERSITARIA, 04510, MÉXICO, D.F., MÉXICO.

Halloysite nano clays is an aluminosilicate that have attracted increasing interest in biomedicine for their potential applications in polymer composites, bone implants, controlled drug delivery, and protective coating. However, just a few attempts have been made to evaluate the potential undesirable effects of halloysite nanotubes. Herein, ahllloysite nanotubes (FHT y DHT) were added to macrophages cell cultures from different sources such as human peripheral blood, mice bone marrow and the cell line 264,7, and the cytotoxicity was systematically evaluated by

measuring cell viability with vital markers tripan blue and fluorescent CFDA-SE / IP, activation of apoptosis with Annexin V-FITC and induction of inflammatory cytokine release with the Th1/Th2 10 plex kit followed by flow cytometry. In vivo biocompatibility evaluation was performed exposing CD1mice to a single 1, 2.5 or 5 mg/Kg dose of any of both halloysite) by cutaneous, subcutaneous, intramuscular and intraperitoneal routes, and determining the impact on liver and kidney functionality, local histopathological changes and nano clay accumulation in organs determined by atomic absorption after a month of post-administration. Similar evaluation of biocompatibility was also done in mice breeding during three generations in constant external exposition to any of both halloysite clay nanotubes in the cages. No evidence of in vitro macrophages alterations in proliferation and death for any culture assayed as well as in vivo physical changes, pathological alterations, organs accumulation or congenital malformations in any mice were detected, suggesting that halloysite nano clays exhibits a high level of biocompatibility and very low cytotoxicity, rendering them a good candidate for household materials and medicine.

INM245

CARACTERIZACIÓN DE LOS PÉPTIDOS MENORES A 20 kDa Y DETECCIÓN DE ACTIVIDAD DE LISOZIMAS TIPO "C" EN HEMOLINFA DE *TRITOMA PALLIDIPENNIS*. DÍAZ, EP & ESPINOZA, B. LABORATORIO DE TRIPANOSOMIASIS AMERICANA DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA.

Los insectos pertenecientes a la subfamilia *Triatominae* (Hemiptera: Reduviidae) son vectores de *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la Enfermedad de Chagas. Trabajos previos demostraron que el sistema circulatorio (hemolinfa) de *Triatoma (Meccus) pallidipennis* (vector de importancia epidemiológica en México) es rica en proteínas, sin embargo la zona de péptidos menores de 20 kDa no había sido estudiada. Por lo que en este trabajo estudiamos los cambios que tiene la hemolinfa a nivel peptídico de *T. pallidipennis* provocados por la ingesta de sangre y/o por la presencia de *T. cruzi* en el tracto digestivo, éstos se caracterizaron por medio de lectinas y por la detección de actividad de lisozimas. Utilizamos ninfas de 5º estadio, la extracción de hemolinfa se realizó por una punción en la membrana entre la coxa y el trocánter a diferentes días post alimentación (0, 1, 3, 10, 17, 31 y 41). Tuvimos 2 grupos de insectos, uno alimentado de ratones sanos y otro alimentado de ratones infectados con *T. cruzi*. La hemolinfa se separó por electroforesis SDS/PAGE y buffer de Tricina en el cátodo. El análisis de glicopéptidos se realizó por Western Blot utilizando 2 lectinas biotinizadas: lectina de *Artocarpus integrifolia* (reconoce galactosa, galactosil y N-acetilgalactosamina) y de *Triticum vulgare* (N-acetilglucosamina). Para la detección de lisozimas se prepararon geles de acrilamida SDS/PAGE con 0.2% de *Micrococcus lysodeikticus* como sustrato enzimático. Identificamos 11 péptidos de los pesos moleculares: 20, 18, 17, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9 y 2 kDa, de los cuales 2 (20 y 18 kDa) tuvieron algún cambio en su expresión en los días a los que se analizó la hemolinfa. Detectamos un péptido de 10 kDa, que varía su presencia entre el grupo control y el infectado. La lectina de *Artocarpus integrifolia* reconoció 6 glicopéptidos de 9, 10, 11, 15, 17 y 18 kDa y la lectina de *Triticum vulgare*, reconoció 3 glicopéptidos de 15, 17 y 18 kDa. Se identificó una lisozima de 15 kDa. Se propone secuenciar los péptidos que tuvieron algún cambio en su presencia, para poder conocer su naturaleza biológica (neuropéptidos ó péptidos antimicrobianos).

INM249

CARACTERIZACIÓN DE FIBROBLASTOS DERIVADOS DE AGRANDAMIENTO GINGIVAL INDUCIDO POR FÁRMACOS. GONZÁLEZ W Y ROSALES C. DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM.

Introducción. El agrandamiento gingival es un padecimiento que surge como efecto secundario indeseable en los pacientes que son tratados con algunos fármacos. Tres grupos de fármacos inducen agrandamiento gingival: inmunosupresores, como la Ciclosporina A; bloqueadores de canales de calcio, como la Nifedipina; y anticonvulsivos, como la Fenitoina. El mecanismo que provoca el crecimiento anormal de la encía no se conoce bien. En modelos de rata se ha encontrado que hay disminución en la expresión de Integrinas $\alpha 2$ en los fibroblastos gingivales y una concentración mayor de colágena. En fibroblastos de encías agrandadas humanas no se sabe si las mismas alteraciones ocurren. **Objetivo.** Caracterizar el crecimiento celular y la expresión de integrinas en fibroblastos humanos derivados de agrandamiento gingival inducido por Nifedipina y Ciclosporina A. **Métodos.** Se establecieron cultivos primarios de fibroblastos gingivales de pacientes tratados con Nifedipina o Ciclosporina A. El número de células en cultivo se estimó diariamente por colorimetría durante 11 días. La expresión de integrinas se evaluó por tinción con anticuerpos específicos y detección con citometría de flujo. La adhesión de fibroblastos a Fibronectina o

Colágena Tipo I se evalúa a las 2 horas de incubación. **Resultados.** Los fibroblastos de pacientes tratados con fármacos crecen más lento. El tiempo de duplicación se incrementa 24 h para Nifedipina y 72 h con Cislosporina A, comparándolos con los fibroblastos de individuos sanos. Los fibroblastos de pacientes no presentaron cambio en la expresión de integrinas $\alpha 2$ y $\alpha 3$, pero sí perdieron la expresión de integrinas $\alpha 5$ y $\beta 3$. Todos los fibroblastos se adhirieron a fibronectina pero no a colágena. La adhesión a fibronectina de los fibroblastos de pacientes con Nifedipina fue 2.5 veces mayor. El bloqueo de integrinas $\alpha 5$ disminuye la adhesión sobre fibronectina. **Conclusión.** Los fibroblastos de pacientes tratados con fármacos crecen más lento que los normales, por tanto el agrandamiento gingival no se debe a mayor proliferación celular.

INM251

FORMACIÓN DE NEUTROPHIL EXTRACELLULAR TRAPS (NETS) ESTIMULANDO RECEPTORES Fc. ALEMÁN O R Y ROSALES C. DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS. UNAM.

Introducción. Los neutrófilos son células de origen hematopoyético pertenecientes al sistema inmune innato. Los neutrófilos, al estar totalmente diferenciados, abandonan la medula ósea y entran al torrente sanguíneo donde tienen una vida media de pocas horas. Durante una infección los neutrófilos traspasan el endotelio vascular y migran a los sitios de infección donde montan diferentes estrategias para combatir a los microorganismos invasores. Estas estrategias son la fagocitosis, la degranulación que libera agentes microbicidas y la secreción de citocinas. En 2004 otra estrategia de los neutrófilos para enfrentar a los microorganismos fue descrita. Ésta consiste en la formación de redes extracelulares denominadas NETs por sus siglas en inglés (Neutrophil Extracellular Traps). Las NETs están formadas por cromatina asociada con proteínas de los gránulos. En las NETs, los microorganismos son atrapados y comienzan a ser degradados. La mayoría de los datos obtenidos sobre la formación de NETs son resultado de estimular al neutrófilo con microorganismos completos o con PMA (del inglés phorbol myristate acetate). No hay reportes de que algún receptor del neutrófilo pueda inducir la formación de NETs. **Objetivo.** Determinar si los receptores Fc para anticuerpos del neutrófilo pueden inducir la formación de NETs. **Métodos.** Purificar neutrófilos humanos de sangre periférica y estimular selectivamente cada uno de los FcR de neutrófilos mediante anticuerpos monoclonales específicos: IV.3 (anti-hFcRIIA) y 3G8 (anti-hFcRIIIB). Detectar la formación de NETs mediante tinción directa de DNA y mediante inmunohistoquímica para histona H2B y elastasa de neutrófilo (D7). **Resultados.** Estimulando con el FcRIIA no hay formación de NETs. Al estimular selectivamente el FcRIIIB se forman NETs. **Conclusión.** Únicamente el FcRIIIB presente en neutrófilos humanos inicia la formación de NETs.

INM252

ACTIVACIÓN DE FACTORES NUCLEARES POR RECEPTORES Fc EN MONOCITOS. MORA N., RODRÍGUEZ-CRUZ A Y ROSALES C. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM.

Introducción: Los leucocitos o glóbulos blancos de la sangre son muy importantes en tareas de defensa del organismo durante procesos infecciosos y en inflamación. Durante estos procesos los leucocitos reciben señales específicas que determinan su comportamiento a través de proteínas de matriz extracelular y a través de los anticuerpos. Existen en los leucocitos receptores específicos para los anticuerpos que son llamados receptores Fc (FcR). Por medio de la activación de los FcR, los anticuerpos activan gran variedad de funciones celulares como liberación de mediadores químicos inflamatorios, fagocitosis, activación de factores nucleares, citotoxicidad dependiente de anticuerpos y citotoxicidad. Existen tres tipos de receptores Fc para IgG: Fc γ RI, Fc γ RII, Fc γ RIII. Estos receptores se expresan en diferentes tipos celulares y generan diferentes vías de señal al interior de la célula. Los receptores Fc del neutrófilo Fc γ RIIA y Fc γ RIIIB son capaces de activar diferentes respuestas celulares. El Fc γ RIIA induce fagocitosis (1) mientras que el Fc γ RIIIB induce activación de factores nucleares (2). En monocitos se expresan tres receptores Fc diferentes y no se conoce si cada uno de ellos señala para una respuesta distinta. **Objetivo.** Determinar si los receptores Fc γ RI, Fc γ RIIA y Fc γ RIIIA de monocitos inducen la activación de factores nucleares. **Metodos:** En la línea celular de monocitos THP-1, se estimularon selectivamente con cada uno de los receptores Fc, utilizando anticuerpos monoclonales específicos. Los núcleos se aislaron y se detectó la presencia de factores nucleares por citometría de flujo. Cambios en la concentración citoplásmica de calcio se detectaron en células cargadas con Fura-2 en un espectrofluorímetro. **Resultados:** Las células THP-1 expresaron los receptores Fc γ RI y Fc γ RIIA. No se detectó la presencia del receptor Fc γ RIII. Ambos receptores Fc γ RI y Fc γ RIIA indujeron un incremento en la concentración de

calcio, aunque la respuesta de Fc γ RIIA fue mayor. Ninguno de los receptores indujo la aparición de ERK fosforilado en el núcleo de las células. **Conclusion:** Los receptores Fc de monocitos pueden generar movilización de calcio, pero aparentemente no señalan al núcleo por medio de la activación de ERK.

INM253

PRODUCCIÓN DE HIBRIDOMAS SECRETORES DE ANTICUERPOS MONOCLONALES ANTI-FcRIIB. MUÑOZ GODINEZ R Y ROSALES C. DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM.

Introducción. Dentro de la familia de receptores Fc para IgG (Fc γ R) existen el receptor Fc γ RIIA que funciona como activador de diversas respuestas celulares y el receptor Fc γ RIIB que regulan negativamente ciertas funciones celulares. Estos dos receptores comparten 96% de identidad en la región extracelular. Los anticuerpos que existen contra estos receptores reaccionan indistintamente con ambos. **Objetivo.** Producción de hibridomas secretores de anticuerpos monoclonales anti- Fc γ RIIB. **Métodos.** Inmunización de ratones con células NIH3T3 que expresen el Fc γ RIIB humano. Extracción de células del bazo de los ratones y fusión de éstas con células inmortales de mieloma. Selección de hibridomas detectando los anticuerpos que unan selectivamente al Fc γ RIIB expresado en las células NIH3T3. **Resultados.** Hasta el momento, las células NIH3T3 se han transfectado con el cDNA para Fc γ RIIB y se están seleccionando en medio con antibiótico G418 para obtener una población homogénea de células que expresen el receptor. Estas células se utilizarán para inmunizar a los ratones para que produzcan el anticuerpo contra esta molécula. **Conclusión.** La obtención de células transfectadas con el receptor Fc γ RIIB es un paso crítico en este proyecto ya que estas células se utilizaran como antígeno para inmunizar a los ratones.

INM258

DEVELOPMENT OF A NOVEL INTRANASAL AND SUBCUTANEOUS RECOMBINANT ADJUVANT FOR INFLUENZA VACCINE. ¹SEGURA-VELÁZQUEZ RENÉ, ¹CERVANTES JACQUELYNNE, ¹ACOSTA ERNESTO, ²SÁNCHEZ-BETANCOURT IVÁN, ²VILLALOBOS NELLY, ²RODARTE LUIS FELIPE, ¹FRAGOSO GLADIS, ¹SCIUTTO EDDA. ¹INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA, UNAM. ²FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, UNAM.

Introduction. The synthetic peptide GK-1 derived from *Taenia crassiceps* enhances the protection induced by human influenza vaccine in both young and aged mice. Peptide epitopes in the hybrid bacteriophages have been reported to be strongly immunogenic against different infectious diseases without the need of external adjuvants. On the other hand, the effectiveness of adjuvants and vaccines can be improved by using an adequate delivery system for their presentation. A proper delivery system could also extend the vaccine usefulness to different administration routes, i.e. intranasal, intradermal, or even oral. **Aim.** To express GK-1 in filamentous bacteriophage for its delivery, to enhance the effectiveness of GK-1 as an adjuvant and to test its efficacy for parenteral and intranasal administration. **Methods.** GK-1 was recombinantly bound to the major capsid protein pVIII thus the peptide is 'displayed' as an extension at the N-terminus of the coat protein on the surface of the phage particle (FGK1). Considering that influenza virus enters through mucosal surfaces, the effectiveness of FGK1 was evaluated when subcutaneously and intranasally co-administered with the inactivated influenza vaccine in mice and pigs. **Results.** In mice, FGK1 significantly increased the expected IgG and IgA anti-influenza antibody levels both in sera and in bronchoalveolar fluids when intranasally or subcutaneously co-administered as an adjuvant with human influenza vaccine. Single-dose pig co-immunization with FGK1 and swine influenza vaccine induced serum levels of IgG anti-influenza antibodies similar to those elicited by a two-dose immunization with the influenza vaccine alone. **Conclusions.** GK-1 expressed in filamentous bacteriophage also exhibited effective adjuvant properties both in mice and pigs and when intranasally or subcutaneously delivered. Preclinical evaluation of FGK1 with the influenza vaccine is currently in progress, in order to recommend its use for veterinary purposes.

This investigation was partially supported by Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (126978), Instituto de Ciencia y Tecnología del DF (PICSA11-19), and DGAPA, UNAM (IT-214311). This study has been also supported by the Institutional program "Programa de Investigación para el Desarrollo y la Optimización de vacunas, adyuvantes y métodos diagnósticos del IIB".

INM259

PARTICIPACIÓN DE LAS CÉLULAS T REGULADORAS EN LA CISTICERCOSIS EXPERIMENTAL MURINA POR *TAENIA CRASSICEPS*. RUIZ MONROY NATALY MONTSERRAT¹, PALAFOX FONSECA HÉCTOR², LÓPEZ ROBLERO ALEXANDER¹, ARCE SILLAS ASIEL¹, CAMACHO-VÁZQUEZ CYNTHIA², NÁJERA-OCAMPO MARISOL², FRAGOSO GLADIS², FLEURY AGNES², SCIUTTO-CONDE EDDA¹, ADALID-PERALTA LAURA^{1,3}. ¹UNIDAD PERIFÉRICA PARA EL ESTUDIO DE LA NEUROINFLAMACIÓN EN PATOLOGÍAS NEUROLÓGICAS, UNAM-INNN. ²INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM. DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA. ³INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA.

Introducción. La cisticercosis murina causada por *Taenia crassiceps* se ha utilizado como modelo de cisticercosis para el estudio de la relación hospedero-parásito. Al respecto, se ha reportado que las hembras son más permisivas que los machos; que la cepa C57BL/6J es más restrictiva que la cepa BALB/cAnN al establecimiento y reproducción del parásito. Diversos estudios han asociado componentes inmunes a la resistencia de la infección. Sin embargo, aún no se ha explorado la participación de células T reguladoras (Tregs) en la modulación del hábitat en el que el parásito se desarrolla (peritoneo). **Objetivo.** Determinar el rol de las células Tregs durante la infección del cisticerco de *T. crassiceps* en ratones hembras C57BL/6. **Materiales y métodos.** Se emplearon ratones hembras de 4 a 5 semanas de edad de la cepa C57BL/6J. Se formaron dos grupos, el grupo I se inoculó por vía intraperitoneal con 20 cisticercos por ratón, el grupo II fue el control sin infectar. A diferentes tiempos de infección (5, 30, 90 y 130 días) se determinó el nivel de células Tregs en peritoneo, ganglios mesentéricos, placas de Peyer y bazo. Por otra parte, se evaluó la capacidad proliferativa de células de bazo estimuladas con antígenos (Ag) de *T. crassiceps*. Paralelamente se determinó la expresión de moléculas con carácter supresor en Tregs de peritoneo mediante RT-PCR. **Resultados.** Los niveles de Tregs se mantuvieron constantes a lo largo de la infección en ambos grupos tanto en bazo como en peritoneo. En cuanto a la respuesta proliferativa, se observaron niveles similares de proliferación en ambos grupos cuando se estimularon con Ag del cisticerco y no se observó proliferación de células T efectoras ni de Tregs. Por otro lado se observó un aumento en la expresión de granzima B a los 5 días post-infección y perforina a los 5 y 30 días. **Discusión.** El parásito de *T. crassiceps* promueve una disminución en la capacidad proliferativa de los linfocitos T que es independiente de células Tregs Ag-específicas. El aumento en las moléculas inductoras de citólisis como perforina y granzima en tiempos tempranos de infección parece no estar asociado a la presencia de células Tregs, ya que estas no están incrementadas en el sitio de instalación del parásito. **Conclusión.** La resistencia a la infección por el cisticerco en ratones de la cepa C57BL/6 no está asociada a la presencia de células Tregs.

INM264

NEUROCISTICERCOSIS HUMANA: EVALUACIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE CISTICERCOS DE *TAENIA SOLIUM* Y SU ASOCIACIÓN CON CARACTERÍSTICAS DEL HUESPED Y DE LA ENFERMEDAD. HÉCTOR PALAFOX FONSECA¹, GERARDO ZUÑIGA², TZIPE GOVEZENSKY¹, RAÚL BOBES¹, DANIEL PIÑERO³, LAURA TEXCO¹, MARISELA HERNÁNDEZ¹, JEFFERSON PROAÑO⁴, GRACIELA CÁRDENAS⁵, AGNÈS FLEURY⁶, EDDA SCIUTTO¹ Y GLADIS FRAGOSO¹. 1. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM; MÉXICO, D.F., 04510, MÉXICO. 2. ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, IPN; MÉXICO, D.F., 11340, MÉXICO. 3. INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM; MÉXICO, D.F., 04510, MÉXICO. 4. CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL, MÉXICO D.F. 5. INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA DR. MANUEL VELASCO, SECRETARÍA DE SALUD, MÉXICO D.F. 6. UNIDAD PERIFÉRICA DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS DE LA UNAM EN EL INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA DR. MANUEL VELASCO, SECRETARÍA DE SALUD, MÉXICO D.F.

Introducción. La neurocisticercosis (NC) humana (causada por el estado larvario de *Taenia solium*) es una enfermedad heterogénea clínica y radiológicamente, ya que puede haber pacientes con cisticercos únicos o múltiples, con localización en espacio subaracnoideo de la base y en ventrículos y con inflamación nula, moderada o exacerbada. La heterogeneidad observada en la NC podría estar dada por factores del hospedero y/o del parásito. **Objetivo.** Identificar si variaciones genéticas del parásito podrían asociarse con la heterogeneidad demográfica, clínica y radiológica de los pacientes con NC. **Métodos:** Se colectaron cisticercos aislados quirúrgicamente de diferentes individuos con NC de los cuales se extrajo el DNA. Se obtuvieron los productos de amplificación del gene mitocondrial *Cytb*, los cuales se secuenciaron para identificar variaciones que se asociaran los variables demográficas y/o clínico-radiológicas de los pacientes. **Resultados.** Se encontraron variaciones genéticas en el marcador mitocondrial *Cytb* en cisticercos aislados quirúrgicamente de diferentes individuos con NC y de diferentes localizaciones del SNC, se identificaron 9 haplotipos los cuales formaron 4 haplogrupos; los haplogrupos 3 y 4 presentaron una tendencia de asociación con la edad y el sexo, respectivamente (P=0.1) sin embargo no se

encontraron asociaciones entre la heterogeneidad en la NC y los haplotipos ó haplogrupos encontrados. **Conclusiones:** Aunque no encontramos asociaciones significativas entre la heterogeneidad y las variaciones genéticas del *Cytb*, el hecho de encontrar diferencias genéticas en los parásitos en un gen que es muy conservado puede ser un indicativo que otros genes involucrados en la patogenicidad del cisticerco contengan polimorfismos que si se asocian a la heterogeneidad clínico-radiológica de la NC. Las asociaciones con sexo y edad encontradas podrían participar en las diferencias en la presentación de la NC entre hombres y mujeres y adultos y niños que han sido reportadas previamente.

INM274

TRANSMISIÓN ORAL DE *TRYPANOSOMA CRUZI*: EVALUACIÓN DE DOS CEPAS MEXICANAS. DEHESA RG; MARTÍNEZ, MI Y ESPINOZA GB. *INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS. UNAM.*

La transmisión de *T. cruzi* por la vía oral, es actualmente el mecanismo más importante en alguna regiones de América del Sur. Una alta tasa de mortalidad debido al desarrollo de una miocarditis severa, es la principal consecuencia de una infección oral. Posiblemente esta patología observada, se deba al cardiotropismo del linaje genético TcI, el cual se ha reportado en la transmisión oral con este parásito. El conocimiento de la capacidad infectiva de *T. cruzi* por la vía oral, permanecen restringidos a cepas sudamericanas. La importancia de este trabajo fue lograr desarrollar una infección por vía oral con dos cepas mexicanas de *T. cruzi* tipo TcI.

Se utilizaron ratones hembras de la cepa Balb/c. Dos grupos experimentales fueron inoculados oralmente con 1×10^5 tripomastigotes de la cepa Querétaro (Qro.) o Ninoa, respectivamente. El grupo control fue inoculado con sangre de ratón sin parásitos. Se evaluó la presencia de nidos de parásito e infiltrado inflamatorio por IFI y por tinción de H/E en cortes histológicos. El infiltrado inflamatorio se cuantifico usando el software Image J. Se determinaron curvas de parasitemia y la tasa de sobrevivencia para los grupos infectados. Por ELISA-indirecta se evaluaron los anticuerpos IgG e IgA-secretora, en suero y sobrenadantes de heces, respectivamente.

Se encontraron nidos de *T. cruzi* en estómago de ratones infectados con la cepa Qro. En los ratones infectados con la cepa Ninoa, se observaron nidos en el corazón. Se observó en los grupos experimentales, infiltrado inflamatorio en estómago, corazón y músculo esquelético, con diferencias significativas con el grupo control. Se encontró la presencia de anticuerpos IgG e IgA-s anti-*T. cruzi* en las muestras de suero y sobrenadantes. En IgG se encontraron diferencias significativas con respecto al grupo control. Se encontró diferencias significativas en las curvas de parasitemia y la tasa de sobrevivencia entre ambos grupos experimentales.

Con base a los resultados obtenidos, se demostró que las cepas mexicanas Qro. y Ninoa de *T. cruzi* tipo TcI, son capaces de infectar por la vía oral y establecer posteriormente una infección a nivel sistémico, induciendo una respuesta inmune humoral.

INM275

PAPEL DEL PÉPTIDO ANTIMICROBIANO (CDAP-4) CONTRA CEPAS DE *E. COLI* RESISTENTES A AMPICILINA. RODRÍGUEZ ALEJANDRO¹. HERNÁNDEZ JAZMÍN¹. GARCÍA EDUARDO A¹. *1. CBRL, DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM, MÉXICO D.F.*

Los péptidos antimicrobianos son una alternativa emergente para el tratamiento de infecciones bacterianas. CDAP-4 (Chemokine Derived Antimicrobial Peptide-4) es un péptido sintético derivado de la parte carboxilo terminal de la quimiocina humana CCL13. Además de inducir la quimiotaxis y activación celular la quimiocina de clasificación CC, tiene propiedades antimicrobianas principalmente contra bacterias Gram-negativas. La sección carboxilo terminal de CCL13 tiene un potencial electrostático positivo, esta característica ha sido relacionada con la actividad antimicrobiana, del mismo modo CDAP-4 presenta cargas positivas, lo cual sugiere su capacidad antibacteriana. Sin embargo, los mecanismos más allá de la lisis celular no han sido estudiados. En este trabajo con el propósito de caracterizar mejor la actividad antimicrobiana de CDAP-4, se evalúa el efecto de la actividad antimicrobiana contra cepas de *E. coli* así como su repercusión en el proceso de fagocitosis de *E. coli* por macrófagos y monocitos.

Las cepas de *E. coli* fueron transformadas con plásmidos codificantes para GFP o RFP y resistencia a ampicilina. Se midió el crecimiento bacteriano para las cepas de *E. coli*, bajo los tratamientos con CDAP-4 o antibióticos. Se realizaron ensayos de fagocitosis con monocitos y macrófagos humanos en conjunto con las baterías y un tratamiento con CDAP-4.

El crecimiento de *E. coli* fue arrestado bajo un tratamiento con CDAP-4 a una concentración de 200 ug/mL para ambas cepas. Los ensayos de fagocitosis reportaron un incremento en la efectividad bactericida de los monocitos y macrófagos, bajo un tratamiento con CDAP-4 (100 ug/mL) el número de UFC (unidades formadoras de colonias) se redujo en un 50 % para ambas cepas. Por lo que sugiere un efecto opsonizante de CDAP-4 sobre las bacterias. En el trabajo se muestra la actividad antimicrobiana de CDAP-4 contra cepas de *E. coli* resistentes a ampicilina. Hasta ahora nuestros resultados indican la importancia de la actividad antimicrobiana de CDAP-4 contra bacterias Gram-negativas. Por otro lado se muestra un aumento en la destrucción bacteriana por monocitos y macrófagos bajo un tratamiento con CDAP-4. Por lo que podría ser un mecanismo importante que ayude el control de las infecciones bacterianas. Debido a esto los péptidos son un objeto de estudio innovador para generar nuevas alternativas de tratamientos.

INM276

IDENTIFICACIÓN DE MIMÓTOPOS DE EPÍTOPOS DE CÉLULAS T USANDO BIBLIOTECAS DE EPÍTOPOS VARIABLES Y UN MODELO MURINO DE ADENOCARCINOMA DE MAMA. PÉREZ EG, SERVÍN R, MUNGUÍA ME, DOMÍNGUEZ AN, ZAMORA R, MANOUTCHARIAN K. *INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM.*

Introducción. El diseño de vacunas como tratamiento para los pacientes con cáncer de mama se ha limitado por distintos factores, por lo que los avances en inmunología y biotecnología han permitido el diseño de nuevas estrategias para el desarrollo de vacunas, tal como el uso de Bibliotecas de Epítopos Variables (BEVs). El uso de BEVs permite identificar mimótopos, los cuales tienen la ventaja de imitar estructuras antigénicas sin ser idénticas a ellas por lo que son capaces de incrementar la respuesta de los linfocitos T ante células tumorales cuando los antígenos asociados al tumor inducen una respuesta ineficiente ⁽¹⁾. **Objetivo.** Evaluar la actividad antitumoral de una BEV y obtener mimótopos de epítopos reconocidos por Linfocitos T mediante el tamizaje de la BEV. **Metodología.** Para identificar mimótopos de células T se empleó una BEV, la cual consiste de epítopos de 9 aminoácidos de longitud y un epítipo control. Se implantaron ratones BALB/c hembras con células 4T1 vía subcutánea, 5 días después del implante los ratones se inmunizaron con la BEV o con el epítipo control. Posteriormente, se llevó a cabo el seguimiento del crecimiento del área tumoral y se efectuaron ensayos de proliferación celular. **Resultados.** Se observó que el crecimiento tumoral de los ratones implantados con células 4T1 e inmunizados con la BEV tiende a ser menor que el de aquellos ratones implantados e inmunizados con el epítipo control. La inmunización de ratones implantados con células 4T1 empleando la BEV indujo un incremento en los porcentajes de proliferación celular comparados con los obtenidos al inmunizar con el epítipo control. **Conclusiones.** El uso de BEVs en el diseño de vacunas terapéuticas de uso en cáncer de mama es una estrategia de utilidad, en este caso, al seleccionar mimótopos de epítopos de células T que puedan ser empleados como componentes de vacunas para así incrementar la respuesta inmune antitumoral. **Referencias.** Brämwig KH. (2007). Clin Cancer Res 13 (21):6501-6508.

INM293

PARTICIPACIÓN DE CARBOHIDRATOS EN LA FAGOCITOSIS DE CUERPOS APOPTÓTICOS MICOBACTERIANOS. GARCÍA T.C., ESPINOSA P., MANCILLA R. *DEPTO. INMUNOLOGÍA. IIB.UNAM.*

Introducción. Existen observaciones que sugieren la exposición en la superficie celular de las células apoptóticas glicoproteínas con patrones de glicosilación anormales (Savill J et al., 2002). Por estudios previos en el laboratorio se sabe que el receptor de manosa participa en la fagocitosis de cuerpos apoptóticos por medio de la unión a residuos de carbohidratos, que podrían ser manosa, fucosa y/o N-acetilglucosamina expuestos en la superficie de los cuerpos apoptóticos. Estos residuos podrían estar presentes en lectinas que se han expuesto o intercambiado a la superficie celular durante el proceso de apoptosis (Mancilla y col; observaciones no publicadas). **Objetivo.** Investigar la participación de receptores de tipo lectina en la fagocitosis por macrófagos de cuerpos apoptóticos inducidos por paredes de *M. smegmatis* transformada (LpqH). **Metodología.** Los cuerpos apoptóticos fueron tratados con paredes de *M. smegmatis* transformada con LpqH una glicolipoproteína apoptogénica de *M. tuberculosis* y fueron obtenidos por centrifugación. Los ensayos de inhibición de la fagocitosis de cuerpos apoptóticos fueron con azúcares competidores del receptor de manosa N-acetilglucosamina y Manana y con un anticuerpo monoclonal bloqueador del Receptor de Manosa (MR). Se realizaron ensayos de inhibición del ARNm del MR y de la fagocitosis de cuerpos apoptóticos con siRNA del MR. **Resultados.** En los ensayos de inhibición de

la fagocitosis de cuerpos apoptóticos con 5µg del AcMn con anti-MR fue de 74.9%% y con 10 µg de 83.9%. En los ensayos de inhibición de la fagocitosis con cuerpos apoptóticos con azúcares competidores del MR N-acetilglucosamina fue 41.9%% y con Manana 36.6%. Por último, en los ensayos de inhibición con el siRNA del MR se obtuvo 60.9% de inhibición en la fagocitosis de cuerpos apoptóticos. **Conclusiones.** Las observaciones sugieren que el MR participa en la fagocitosis de cuerpos apoptóticos por la unión de residuos de carbohidratos que pueden ser manosa, fucosa y N-acetilglucosamina expuesta en la superficie de los cuerpos apoptóticos. Estos residuos podrían estar presentes en lectinas que han sido expuestas o intercambiadas a la superficie celular durante la apoptosis.

INM305

EXPRESSION OF *T. SOLIUM* ANTIGENS IN PLANT CELLS THROUGH A RIBOSOMAL SKIP MECHANISM: IMPLICATIONS ON VACCINATION AND DIAGNOSTIC APPROACHES. MONREAL-ESCALANTE E¹, BAÑUELOS-HERNÁNDEZ B¹, HERNÁNDEZ M², FRAGOSO G², SCIUTTO E², ROSALES-MENDOZA S¹. ¹LABORATORIO DE BIOFARMACÉUTICOS RECOMBINANTES, FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ, S.L.P. ²DPTO. INMUNOLOGÍA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

Introduction. *Taenia solium* cysticercosis is a major parasitic disease that affects human health and economy in underdeveloped countries. Porcine cysticercosis is indispensable to maintain the life cycle of the parasite and is vulnerable to vaccination. Different recombinant and synthetic antigens proved to be effective as vaccines. **Objective.** Herein, a novel delivery system appropriate for multiepitope oral vaccines is explored. **Materials and Methods.** The S3Pvac vaccine components (KETc1, KETc12, KETc7, GK1 (KETc7)) and the protective HP6/TSOL18 antigen were expressed in a Helios-2A poly-protein system. This system is based in the 'ribosomal skip' mechanism mediated by the viral 2A-sequence that induces self-cleavage events at the translational level. This protein arrangement was expressed in transgenic tobacco cells. **Results.** The corresponding insert and transcript were detected by PCR and RT-PCR in several Helios 2A lines. The amount of the recombinant protein TSOL18 was estimated in approx. 3% of the total plant soluble extract by ELISA. The vaccine peptides expressed in the plant-derived Helios 2A system proved to be immunogenic and antigenic. BALB/c mice immunized with the Helios-2A poly-protein system antibodies that strongly recognized the respective vaccine S3Pvac-peptides and the HP6/TSOL18 recombinant protein. The peptides expressed in the Helios-2A poly-protein system are also specifically recognized by cerebral spinal fluid from patients with neurocysticercosis. **Conclusions.** All these evidences support that Helios-2A poly-protein is a promising system to be considered for the expression of multiple antigens in a single construction of interest for oral vaccination and diagnosis.

INM312

EFFECTO DEL LPS EN LA CONDUCTA DE RATONES BALB/cAnN Y CD-1 DE AMBOS SEXOS. ^ARODRÍGUEZ M., ^AROSETTI M., ^AFLORENTINO A., ^AFRAGOSO G., ^AFLEURY A., ^ASCIUTTO E., ^AMENESES G. ^ADEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS. ^BUNIDAD PERIFÉRICA, INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIROLOGÍA/INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS.

Introducción. La activación del sistema inmune puede resultar en modificaciones conductuales y se atribuyen principalmente a modificaciones en los niveles de las citocinas proinflamatorias, que activan a la enzima indoleamina 2.3-dioxigenasa (IDO) y desencadenan la producción de 3-HQ3 y C7H5NO4, resultando en atrofia del hipocampo y alteraciones conductuales. En nuestro laboratorio hemos observado diferencias en los niveles de TNFα sistémico y central entre los ratones BALB/cAnN (B) y CD-1(C) tratados con LPS. **Objetivo.** En este trabajo se evaluará la relación entre los niveles de TNFα inducidos por la administración intraperitoneal (IP) de LPS en la conducta de ratones B y C de ambos sexos (H/M). **Metodología.** Se utilizaron ratones B y C de ambos sexos, de 6 a 8 semanas de edad (n=5-10, 5 por caja). Se incluyeron ratones control y con LPS (1 mg/Kg IP). Se grabó durante dos minutos cada caja, 2 h antes del tratamiento, y cada dos horas después del tratamiento hasta las 24 h. La conducta se analizó a través de tres parámetros: a) magnitud de la movilidad, b) tiempo de inmovilidad, c) número de veces que se paran en dos patas (P2). Los datos fueron analizados con la prueba glmm (modelo generalizado lineal mixto). **Resultados.** Los ratones tratados con LPS mostraron movilidad disminuida a partir de las dos horas posteriores al tratamiento y comenzaron a recuperarse 10 h después del tratamiento, sin diferencias significativas entre cepas y sexos. Se

observaron diferencias significativas entre cepas y sexos en los tiempos de inmovilidad (1.3 C-M vs 0.6 B-M). Los ratones recuperaron los niveles normales de inmovilidad después de las 14 h de tratamiento. Se registro el número de P2, parámetro que correlaciona con un movimiento más fino de movilidad. Se encontraron diferencias significativas entre cepas y sexos: en B ningún ratón se registró P2 y en C se observaron registros positivos en ambos sexos a partir de las 10 h después del tratamiento. **Conclusiones.** Los parámetros de medición de movilidad e inmovilidad no se asocian con los cambios de los niveles de TNF α sistémicos ni centrales. La evaluación de movilidad a través del registro de P2 es un parámetro sensible a modificaciones en los niveles de TNF α sistémicos ni centrales que nos permitirá evaluar su relación con los cambios conductuales en las dos cepas y sexos utilizados.

INM314

RELEVANCIA DE FACTORES SEXUALES Y GENÉTICOS EN LA MODULACIÓN DE LA NEUROINFLAMACIÓN AGUDA INDUCIDA POR LPS. ^AESCALANTE P., ^ARODRÍGUEZ M., ^AFRAGOSO G., ^{AB}FLEURY A., ^ASCIUTTO E., ^AMENESES G. ^AINSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA; ^BUNIDAD PERIFÉRICA DEL IIB/INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA.

Introducción. La neuroinflamación se ha asociado a diferentes patologías de origen infeccioso y no infeccioso incluyendo las neurodegenerativas. Diferentes estímulos periféricos inflamatorios pueden promover neuroinflamación con características particulares según múltiples factores propios del individuo así como circunstanciales. **Objetivo.** Evaluar la participación de efectos genéticos y sexuales en la modulación del fenómeno inflamatorio periférico y central inducido por el LPS. **Métodos.** Ratones BALB/cAnN (B) y CD1 (C) de ambos sexos de 6 a 8 semanas de edad (n=5), se inocularon por vía intraperitoneal (IP) con LPS (1mg/Kg). Dos horas posteriores a la inoculación los ratones fueron sangrados a blanco y se recuperó cerebro y bazo de cada uno de ellos. En suero y proteínas solubles (extracto de bazo y cerebro) se cuantificaron los niveles de TNF α , IL-1 β e IL-6 por ELISA. Se cuantificó el porcentaje de microglia y su estado de activación en células de sistema nervioso central por citometría de flujo (CD45^{low+} /CD11b⁺/IA^{d+}). **Resultados.** Los ratones B de ambos sexos presentan mayores niveles de citocinas proinflamatorias (pg/ml) en periferia que los ratones C: TNF α en suero, (691 vs 495) y bazo: (847 vs 380), en bazo, IL-1 β (23,640 vs 11,970) e IL-6 (6,267 vs 2,670), respectivamente. En cerebro ambos sexos de la cepa C, presentan mayores niveles de TNF α que los ratones B, (376 vs 95); y B mayores niveles de IL-1 β que los C (2,749 vs 365), respectivamente. En periferia las hembras son más productoras de citocinas que los machos y en SNC solo se encontraron diferencias en los niveles de IL-1 β siendo mayor en hembras de B y en machos los C. En las células de SNC, no se encontraron diferencias en el porcentaje de microglia (CD45^{low+} /CD11b o CD45^{low+}/IA^{d+}). Se encontró un incremento significativo en la intensidad media de IA^d en los ratones C de ambos sexos con respecto a los B (71.1 vs 54.2). **Conclusiones.** Los resultados señalan que los ratones B responden ante el estímulo de LPS con una mayor secreción de TNF α en la periferia, mientras que en la cepa exogámica C, presentan niveles elevados de TNF α en SNC y mayor expresión de antígenos de clase II que indican una mayor estimulación de la microglía. Al respecto del sexo las hembras son más pro-inflamatoria que los machos en periferia mientras los machos presentan mayores niveles de IL-1 β en SNC.

INM322

PAPEL DE CD5 EN LA INDUCCIÓN DE CÉLULAS T REGULADORAS *IN VITRO*. BURGUEÑO EP¹, MIER-AGUILAR CA¹, ROA NS¹, RAMAN C.² CHÁVEZ-RÍOS JR¹ GARCÍA-ZEPEDA E¹, SOLDEVILA G.¹. ¹DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, MÉXICO DF, MÉXICO. ²DEPARTMENTS OF MEDICINE AND MICROBIOLOGY, UNIVERSITY OF ALABAMA AT BIRMINGHAM, USA. CONTACTO: QFB.BURGUENO@GMAIL.COM.

Introducción. Las células T reguladoras (Tregs), tienen un papel fundamental en el mantenimiento de la tolerancia inmune. Su generación en periferia requiere de una señal baja del TCR, un coestímulo subóptimo y TGF β e IL-2. CD5, una glicoproteína de 67kDa, actúa como regulador negativo de las señales del TCR, ya que posee residuos fosforilables en su región citoplásmica. En el ratón CD5KO la población CD4⁺Foxp3⁺CD25⁺ se encuentra incrementada en porcentaje y números totales tanto en el timo como en periferia. Interesantemente en ganglios y bazo de este ratón se encuentra incrementada una población CD4⁺Foxp3⁺CD25⁻, las cuales podrían ser T reguladoras inducidas. La población de Tregs tímica analizada en el ratón CD5KO presenta una menor apoptosis comparada con el ratón WT. Por otro lado, en otros trabajos, se ha observado que estas células presentan una mejor

capacidad supresora *in vitro*. **Hipotesis.** Puesto que CD5 es un modulador de las señales del TCR, el bloqueo de la señalización de CD5 afectará la generación de iTregs *in vitro*. **Objetivos.** Estudiar el efecto que tiene el bloqueo de CD5 en la inducción de linfocitos T reguladores a partir de células T vírgenes *in vitro*. **Metodología.** Se separan las células vírgenes (CD4+CD25-CD44loCD62Lhi) de ratones Balb/c y se ponen en cultivo bajo diferentes condiciones de activación en presencia o ausencia de TGF β y rshCD5 o α -CD5m. **Resultados.** Bajo condiciones de activación subóptima en presencia de TGF β , la generación de Tregs (CD4+CD25+Foxp3+) incrementa. Esta población se ve disminuida en porcentaje cuando a los cultivos bajo estas condiciones, se les adiciona rshCD5 o α -CD5, los cuales bloquean de las señales de CD5. Por otro lado, en presencia de rshCD5 o α -CD5 la población CD4+CD25-Foxp3+ incrementa. Dado que la separación de células vírgenes no se hace a partir de Foxp3-, el incremento en esta población se puede deber a una inducción de *novoo* o a una expansión *in vitro* de estas células. **Conclusiones.** La presencia de rshCD5 o α -CD5 en cultivo bajo condiciones de activación subóptima y en presencia de TGF β disminuye (en porcentaje) la inducción de linfocitos T reguladores *in vitro* en comparado con el cultivo sin estas proteínas; sin embargo, la presencia de estas proteínas incrementa una población de linfocitos CD4+Foxp3+CD25-, la cual pudiera representar una población poco caracterizada de linfocitos Treg inducidos.

INM333

EXPRESSION AND CHARACTERIZATION OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* PROTEINS POST-TRANSLATIONALLY MODIFIED IN *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS*. MORALES P, VALLECILLO A.J, SEGURA E, PARADA C AND ESPITIA C. DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, C.P. 04510, MÉXICO, D.F. MÉXICO.

Introduction. The bacterial protein glycosylation and methylation have an important role in modulate the effectiveness of the host immune response. The glycoproteome of *M. tuberculosis* revealed the existence of considerable number of mannosylated proteins. Moreover, methylation has been only described in *M. tuberculosis* heparin binding hemagglutinin (Hbha). Interesting, immune responses induced by Hbha and Apa depend of the level of methylation and glycosylation of the proteins respectively. Since both modifications are lost in the recombinant proteins expressed in *Escherichia coli*, there is a need to look for surrogate bacteria with the capacity to modify the foreign proteins. *R. erythropolis* is Gram-positive, GC-high content bacteria and the genome sequence showed that they are close genetically related to micobacteria. **Objective.** Cloning and expression of *M. tuberculosis* proteins with the potentiality to be post-transnationally modified in *R. erythropolis*. **Methods.** The coding regions corresponding to Hbha Apa, PstS1, and LprG mycobacterial proteins were cloned in both *R. erythropolis* expression vector pNit-QC1 and pTip-QC1 with His tag linked to carboxyl terminus for glycoproteins and the amino terminus for Hbha. Recombinant proteins were purified by IMAC. The proteins will be resolved in SDS_PAGE and after transferred to PDVF membranes, ligand blot assays will be carried out with Con A with and antibody raised against lysine methylated motifs. **Results.** Our results show that *R. erythropolis* is able to express Apa, PstS1 and LprG, being recognized by Con A, indicating that the proteins are mannosylated by *R. erythropolis*. Interesting, Hbha was obtained associated to lipids bodies as has been described for *R. opacus* Hbha orthologous. Western blot assay with the anti-methylated-lysine antibody gives a positive signal. **Conclusions.** Show that *R. erythropolis* could be considered as a new host for expression of post-translational modified proteins of *M. tuberculosis*.

INM335

ESTUDIO SEROEPIMEDIOLÓGICO DE LA CISTICERCOSIS HUMANA POR *TAENIA SOLIUM* EN EL ESTADO DE MORELOS. SALGADO EB¹, MORALES SJ¹, SÁNCHEZ ZAMORANO LM, ³ FRAGOSO G¹, SCIUTTO E¹, FLEURY A², HERNÁNDEZ M¹. ¹ DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM. ² UNIDAD PERIFÉRICA DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS. INNN. ³ INSTITUTO NACIONAL DE SALUD PÚBLICA. CUERNAVACA, MORELOS.

Antecedentes. La Teniasis/cisticercosis por *Taenia solium* (*T. solium*) es una zoonosis que constituye un problema de salud pública en países en vía de desarrollo y es endémica en América Latina, Asia y África. En nuestro país el problema aún prevalece debido a la crianza de cerdos en condiciones no confinadas, consumo de carne sin inspección sanitaria, falta de drenajes y letrinas, falta o inadecuado suministro de agua, fecalismo al ras del suelo y malas condiciones sanitarias e higiénicas. **Objetivo.** Estimar la seroprevalencia de la cisticercosis en la población

humana del Estado de Morelos, a través de muestras de sueros de humano pertenecientes a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2006. **Metodología.** Se analizaron un total de 1811 sueros pertenecientes a 20 municipios obtenidos durante la ENSANUT, 2006. Se seleccionaron dos tipos de muestras control: a) seronegativos provenientes de un medio urbano con bajo riesgo de contacto y/o infección con *T. solium*, del Centro Médico Siglo XXI e Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía (INNN), así como, muestras provenientes de medio rural con alto riesgo de contacto y/o con diagnóstico confirmado, por TAC y ELISA, con y sin neurocisticercosis (NC), de dos municipios del estado de Puebla; b) seropositivos de pacientes con NC confirmada por diagnóstico clínico, TAC y ELISA del INNN. Se obtuvo antígeno de fluido vesicular de cisticercos de *T. solium* de carne de cerdos infectados para realizar la detección de anticuerpos anti- *T. solium* mediante el ensayo de ELISA. Los resultados obtenidos se analizaron utilizando el programa SPSS Statistics 17.0. **Resultados.** En el Estado de Morelos en promedio, el 8.4% de la población presenta anticuerpos contra *T. solium*, indicador de la probabilidad de contacto con el parásito. La seroprevalencia encontrada resultó mayor en la población rural que en la urbana, y correlacionó positivamente con el índice de marginación. No se encontraron diferencias significativas entre la seroprevalencia de hombres y mujeres. La mayor seroprevalencia se encontró en la población igual o mayor de los 43 años para ambos sexos. **Conclusiones.** Los resultados obtenidos señalan que continúa el contacto con *Taenia solium* en la población humana, información que enfatiza la importancia de implementar medidas para su prevención y control.

INM336

ANCESTRAL RIBONUCLEOPROTEIN BINDOME BEFORE LUCA. PALACIOS-PÉREZ M^A, DE FARIAS ST^B, RÊGO TG^C, JOSÉ MV^{A*}.

^ADEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, CIUDAD DE MÉXICO, MÉXICO. ^BUNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA, CAMPUS I, DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA MOLECULAR, LABORATÓRIO DE GENÉTICA EVOLUTIVA PAULO LEMINSKI, JOÃO PESSOA, PARAÍBA, BRASIL. ^CUNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA, DEPARTAMENTO DE INFORMÁTICA, PARAÍBA, BRASIL. *MARCOJOSE@BIOMEDICAS.UNAM.MX.

Introduction: The biological evolutionary processes started long before the so-called LUCA. Based on the ideas of progenote communities and the ribocyte, and proposals about the nature and operation of a primitive translation system, as well as on the theoretical derivation of the standard genetic code from a primeval RNY genetic code, we hypothesise that few pathways of the modern metabolism could have been present in a single progenote, but different steps were developed in distinct ones; thus, the first RNAs were the first genes and the proteins encoded constituted the first set of critical binding domains (*bindome*). **Objective:** To find out the ancestral ribonucleoprotein bindome before LUCA. **Methods:** This work proposes the proteomes for two progenotes, each one derived from two distinct but complementary methods: the 'tRNAs method' and the 'codons method' (pointed out on poster). The proteins were retrieved using BLAST; the classifications were based on COG, KEGG and links on 'Protein Clusters'. **Results:** tRNAs method: Few essential proteins were identified however they are considered as central. Codons method: There is a wide variety of proteins identified as ancestral but they represent no more than 5 distinct ancestral binding domains. **Discussion:** The evolutionary processes before LUCA are not well defined but probably they were not Darwinian; thereby, with the increase of complexity of arisen progenotes or sub-systems, the early binding domains started some catalytic processes, evolving to modern proteins. We cannot predict how many sub-systems were formed and which ones contributed directly to the emergence of LUCA; however, our analysis focus on the elucidation of the proteomes of progenotes arising out of a primitive translation system based on the pattern of codons with RNY structure, which may have been the set of codons of the primeval genetic code. Accordingly, we analysed the metabolic pathways that could have arisen in the early development of a progenote. Finally, we reconstruct possible evolutionary implications of the findings under each proposal, and we provide likely evolutionary scenarios assembling the results from both methods. **Conclusion:** The RNY was the genetic code for the bindome of the first living systems, that likely evolved by a Lamarckian process, until LUCA appeared.

INM357

DESARROLLO DE UN MODELO MURINO DE INMUNOSUPRESIÓN CON RADIACIÓN IONIZANTE. GÓMEZ-MACÍAS ENUE, CERVANTES JACQUELYNNE, RIVERA-TOLEDO EVELYN, FRAGOSO GLADIS, SCIUTTO EDDA, SEGURA-VELÁZQUEZ RENÉ. *INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA.*

Introducción. La evaluación de la efectividad de moléculas inmunoestimulantes requiere de la disponibilidad de modelos experimentales adecuados para tal propósito como el uso de ratones senescentes. Sin embargo, la disponibilidad y alto costo de estos ratones limita su uso. Entre los posibles modelos para el propósito mencionado figura los ratones inmunodeprimidos química o físicamente. Los métodos químicos (medicamentos) son costosos. En contraste la inmunodepresión por métodos físicos basados en radiaciones pueden resultar en una herramienta sencilla de establecer y reproducible para desarrollar un modelo de inmunosupresión en el cual evaluar la eficiencia de diferentes inmunoestimulantes. **Objetivo.** Desarrollar un modelo de inmunosupresión basado en el uso de radiaciones ionizantes de Cs-137 en ratones BALB/cAnN. **Materiales y métodos.** Ratones Balb/cAnN de ambos sexos fueron sometidos con diferentes dosis de irradiación (300 a 900rads). Se obtuvo el bazo de los ratones a las 24h y a los 3, 5, 7 y 50 días después de la irradiación. Se cuantificó el número de esplenocitos y se estableció el porcentaje de linfocitos B (CD19) y T (CD3, CD4, CD8) por citometría de flujo así como la sobrevivencia de los ratones sometidos a las distintas dosis de irradiación. **Resultados.** La dosis de irradiación que permite observar depleción celular y la máxima sobrevivencia de los ratones fue de 300 rads. En la dosis de 500 rads se obtiene una mayor depleción celular, sin embargo la sobrevivencia de los ratones disminuye debido a una menor accesibilidad al alimento, fenómeno asociado a debilidad muscular inducida por la radiación. En las dosis mayores a 500 rads no se tuvo una sobrevivencia mayor a los 14 días. Las células B son más susceptibles a la radiación en comparación a las células T, fenómeno que se observa en todas las dosis y en los tiempos evaluados. Los machos son más susceptibles a la radiación con 500 rads. **Conclusión.** La irradiación con 500 rads de Cs-137 facilitando el alimento a los ratones, induce la mayor depleción celular manteniendo las células restantes funcionales y una sobrevivencia adecuada en los ratones irradiados. Los machos son más susceptibles a la radiación ionizante con respecto a las hembras, siendo la población de linfocitos B y CD3+CD8+ las más afectadas por la radiación.

INM360

CDIP-2 ACTÚA MODULANDO EL ENTRECRUZAMIENTO DE LAS VÍAS DE ACTIVACIÓN DE TLR4 Y GPCR. GUZMÁN-VÁZQUEZ S¹, MÉNDEZ-ENRÍQUEZ E¹, MORENO-EUTIMIO MA², SOLDEVILA G¹, GARCÍA-ZEPEDA EA¹. *1DEPTO. DE INMUNOLOGÍA, IIB, UNAM. 2LABORATORIO DE INMUNOBIOLOGÍA, HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO, S.S.*

Las quimiocinas son citocinas con propiedad quimiotrayente que participan en la migración de células inmunes a sitios de inflamación o lesión. Estas producen su función al unirse con receptores acoplados a proteínas G (GPCR). Actualmente se describen 50 quimiocinas y 20 receptores. Debido a sus propiedades quimioatrayentes, su expresión no regulada está asociada a diferentes enfermedades inflamatorias como artritis reumatoide, asma y cáncer. Resultados han mostrado que variantes truncadas de quimiocinas por proteasas tienen, entre otras, actividad antiinflamatoria. Resultados obtenidos en nuestro laboratorio muestran que el péptido CDIP-2, un péptido sintético derivado de la quimiocina CCL13, presenta actividad antiinflamatoria, modulando, entre otros resultados la expresión de TNF-alfa. Estas propiedades nos dan pie a buscar la manera en la cual este péptido actúa para modular la respuesta inflamatoria, por lo que se utilizará un modelo *in vitro* con células monocíticas donde se estimule la secreción de TNF-alfa y la respuesta inflamatoria por medio del estímulo con LPS y la activación de la vía de señalización de TLR4.

Para conocer el efecto sobre TNF con el estímulo de LPS y otras citocinas proinflamatorias se estimularon PBMC con 5ug/mL de LPS por 18 hrs con un pretratamiento con CDIP-2 de 45 minutos a 10 y 100ug/mL, obteniendo una disminución significativa en la expresión relativa de TNF- α con el estímulo de LPS. Posteriormente para conocer si hay un efecto en la señalización de TLR4 se analizó por Western Blot la fosforilación de ERK-1/2 en PBMC, estimulando con 5ug/mL de LPS a diferentes tiempos (5, 15 o 30 minutos), previo tratamiento con CDIP-2 10ug/mL por 45min; encontrando una disminución en la fosforilación de ambas proteínas siendo mayor para ERK-2. Y por último se analizó por citometría la expresión en membrana del receptor en células THP-1 tras un tratamiento con CDIP-2 100ng/mL por 45 minutos y LPS 30 minutos; encontrando un aumento en la internalización de este tras el tratamiento en conjunto de LPS y CDIP-2 a 100ug/mL. Estos efectos además de mostrar un efecto antiinflamatorio por parte de CDIP-2, también nos muestran que puede haber un entrecruzamiento entre la vía de los GPCR y los TLR, lo que hace de CDIP-2 un posible agente terapéutico en enfermedades con inflamación crónica.

Departamento

Medicina Genómica y
Toxicología Ambiental

navegantes ...

de la comunicación gráfica s.a. de c.v.

*especial interés en edición
de libro que incluye:*

corrección tipográfica

corrección de estilo

diseño de caja

diseño de interiores

diseño de forros

empresa
100%
mexicana

permitanos asesorarle

pascual ortíz rubio no. 40
col. san simón ticumac
delegación benito Juárez
c.p. 03660, méxico, d.f.

✉ navegantes0009@gmail.com

☎ 5243 2019
5243 2427
5532 5575

**dedicada a publicaciones
de libros y revistas**

MGT219

CARACTERIZACIÓN DE LA NARINGENINA COMO INHIBIDOR DE CITOCROMO P450. SANTES-PALACIOS R, CAMACHO-CARRANZA R, ESPINOSA-AGUIRRE JJ. DEPARTAMENTO DE MEDICINA GENÓMICA Y TOXICOLOGÍA AMBIENTAL, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

La coadministración del jugo de toronja con una amplia variedad de medicamentos afecta la biodisponibilidad de éstos, alterando la acción terapéutica del fármaco y en muchos casos, incrementando sus efectos no deseados. La mayoría de los efectos adversos son resultado de la inhibición del Citocromo P450 (CYP) por los componentes del jugo de toronja, siendo la subfamilia CYP3A4 una de las más afectadas.

La naringina es uno de los constituyentes mayoritarios del jugo de toronja. Esta molécula es metabolizada *in vivo* por la α -ramnosidasa y β -glucosidasa a su aglicona naringenina, que posee actividad inhibitoria sobre la actividad de CYP3A4. Diversos estudios sugieren que CYP3A4 no es la única subfamilia afectada, ya que también CYP1A y CYP2B (enzimas importantes en el metabolismo y activación de xenobióticos, incluyendo procarcinógenos) pueden ser inhibidos por la naringenina. A fin de explorar esta última posibilidad, se evaluó la capacidad de este compuesto para inhibir la actividad *O*-dealquilasa de las alcoxirresorufinas mediada por las subfamilias CYP1A y CYP2B presentes en microsomas de hígado de rata.

Con estos ensayos se estableció que la naringenina muestra una inhibición preferente sobre CYP1A1 (CI_{50} de $0.437 \pm 0.022 \mu M$) y la caracterización bioquímica de sus propiedades inhibitorias utilizando CYP1A1 (Supersoma®) muestra que este flavonoide es un inhibidor mixto de la enzima con una K_i de 184.2 ± 40.9 nM.

En conclusión, los resultados sugieren que la inhibición de CYP por la aglicona de la naringina, compuesto presente en los alimentos como el jugo de toronja, puede ocasionar interacciones fármaco-alimento dando lugar a efectos adversos. Por otro lado, la naringenina también podría inhibir el metabolismo de compuestos mutagénicos y/o carcinogénicos, convirtiéndose en un agente quimiopreventivo para su potencial uso en prevención de diversas patologías como el cáncer.

MGT221

LA RESISTENCIA A LA INSULINA Y OBESIDAD PRODUCIDAS POR DIETAS ALTAS EN GRASA (HFD) PROVOCAN ALTERACIONES EN LA SEÑALIZACIÓN DE INSULINA, PÉRDIDA SINÁPTICA Y NEUROINFLAMACIÓN EN EL HIPOCAMPO. ¿PAPEL DE MTOR?. CALVO-OCHOA, E.*, HERNÁNDEZ-ORTEGA, K.*, FERRERA, P*. MORIMOTO, M¹. GUTIÉRREZ-JUÁREZ, R.², ARIAS, C*. *INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM. ¹INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN. ²ALBERT EINSTEIN COLLEGE OF MEDICINE, USA.

La ingesta de dietas altas en grasa (HFD), promueve el desarrollo de enfermedades metabólicas como: la obesidad, la resistencia a la insulina, el síndrome metabólico y la diabetes mellitus tipo 2 (DMT2). Se ha reportado que la alimentación con HFD promueve un desempeño deficiente en tareas de memoria y aprendizaje, asociado a alteraciones neuronales en el hipocampo. Sin embargo, hasta el momento no se conoce si la ingesta a corto plazo de dietas HFD modifica la señalización por insulina en el hipocampo. Por lo tanto, nuestro objetivo fue investigar si la ingesta subaguda de HFD produce cambios en la señalización de insulina hipocampal y si se asocia con alteraciones bioquímico/estructurales de esta región. Utilizamos ratas macho Sprague Dawley (250-270 g). Las ratas fueron alimentadas por siete días, ad libitum, de la siguiente manera: el grupo control (n=22) fue alimentado con chow normal (3 kcal/g) y agua. El grupo HFD (n=22) fue alimentado con dieta alta en grasa y fructosa (HFD) que consiste en chow de roedor complementado con 10% de manteca de cerdo (5.4 kcal/g) y agua suplementada con 20% de jarabe de maíz de alta fructosa (0.83 kcal/ml). Determinamos parámetros de obesidad y resistencia a insulina sistémica, realizamos ensayos de Western blot, histología e inmunohistoquímica para evaluar la activación de la vía de señalización de la insulina y los cambios morfológicos en el hipocampo de las ratas HFD comparadas con controles. Nuestros hallazgos muestran que la dieta HFD por siete días es capaz de inducir las siguientes alteraciones: 1) desarrollo de obesidad y resistencia a la insulina 2) reducción en la señalización de insulina en el hipocampo, observado por la disminución de la fosforilación de IRS-1 en la Y608; 3) disminución del peso del hipocampo, correlacionado con la ingesta calórica; 4) reducción de la arborización dendrítica y de MAP-2; 5) reducción del número de espinas dendríticas en CA1 y de sinaptofisina; 6) aumento del número y área de astrocitos reactivos positivos a GFAP, y 7) activación de la vía de mTOR/S6K hipocampal. Según sabemos, este es el primer estudio que muestra que la alimentación con HFD causa alteraciones en la vía de señalización de insulina/mTOR/S6K en el hipocampo, y que evalúa los efectos de la exposición por periodos cortos a dietas HFD en la integridad neuronal del hipocampo.

MGT225

EFFECTO DE UNA DIETA HIPOPROTEICA SOBRE CYP 3A2 Y CITOCINAS PROINFLAMATORIAS. GARCÍA G, OJEDA SL, CAMACHO R Y ESPINOSA-AGUIRRE JJ*. DEPARTAMENTO DE MEDICINA GENÓMICA Y TOXICOLOGÍA AMBIENTAL. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS UNAM. CIRCUITO MARIO DE LA CUEVA S/N., CIUDAD UNIVERSITARIA. CP. 04510, MÉXICO, D.F. TELÉFONO: (5255) 56229214.

La desnutrición es el resultado de una ingesta inadecuada o bien una absorción deficiente de los nutrientes consumidos. Cabe mencionar que es un problema latente en países en vía de desarrollo, por lo cual se han realizando estudios evaluando el impacto de la desnutrición, sobre enzimas encargadas del metabolismo de compuestos exógenos como fármacos y otros xenobioticos, tal es el caso de los citocromos P450 (CYP). Estudios previos en ratas machos Wistar en un modelo de restricción proteica, han evidenciado que la actividad enzimática del CYP1A1/1A2, 2B1/2B2 y 2E1 se encuentran disminuida, sin embargo el efecto que pudiese tener esta restricción sobre el CYP3A2 no es conocido. Por otro lado, se ha demostrado que la desnutrición está relacionada con un aumento de IL-1 β , IL-6 y TNF- α lo cual tendría un efecto sobre la expresión del CYP. Por lo anterior, en este estudio se evaluó la repercusión de la restricción proteica sobre los niveles de las citocinas antes mencionadas, así como de la actividad enzimática y expresión del CYP3A2. Se utilizaron 16 ratas macho Wistar recién destetadas, las cuales se dividieron en 2 grupos de 8 animales cada uno; el primer grupo consumió una dieta normal (24% caseína) y el segundo una dieta con 6% de caseína. Al término de 20 días de ingesta de las dietas mencionadas los animales se sacrificaron por dislocación cervical, posteriormente se disectó el hígado, el cual fue procesado hasta la obtención de la fracción citosólica y microsomal. Finalmente, para la determinación de la actividad enzimática y presencia de CYP1A1/1A2 y CYP3A2 se utilizó la fracción microsomal y la fracción citosólica para la determinación de los niveles de las citocinas proinflamatorias. Los resultados revelaron un decremento en la actividad enzimática y presencia del CYP1A1/1A2, no obstante el CYP3A2 no presentó cambios en la actividad enzimática, pero si una disminución en la presencia de esta proteína. Por otro lado, la cantidad de IL6 e IL1 β no se modificaron por la restricción proteica, sin embargo el TNF- α se encontró disminuido en los mismos animales. En conclusión, los resultados muestran que un modelo de restricción proteica no existe un aumento en las citocinas proinflamatorias, pero si una disminución en la presencia del CYP3A2, a pesar de ello, la actividad enzimática no se vio afectada.

MGT236

FUNCIONES DE LOS RARs EN LA REGENERACIÓN DE LA EXTREMIDAD DEL AJOLOTE (*AMBYSTOMA MEXICANUM*). CORREA-GALLEGOS DONOVAN Y CHIMAL-MONROY JESÚS. DEPARTAMENTO DE MEDICINA GENÓMICA Y TOXICOLOGÍA AMBIENTAL.

Durante la regeneración de la extremidad del Ajolote (*Ambystoma mexicanum*) la administración exógena de RA produce una extremidad completa en el sitio de amputación lo que resulta en una duplicación próximo-distal (dPD). Además, el RA retrasa o inhibe la regeneración. El mecanismo molecular detrás de estas observaciones así como su papel endógeno en la regeneración es desconocido. El RA induce la expresión de sus genes blanco al unirse a sus receptores, RARalfa y RARGamma en el Ajolote. Los RARs heterodimerizan con los RXR los cuales funcionan como adaptadores pero en ciertos contextos pueden modificar la actividad de los RARs, no obstante su participación durante la regeneración no ha sido explorada. Estudios mostraron que estos receptores tienen funciones específicas durante el desarrollo embrionario, por lo que es factible que también tengan distintas funciones en la regeneración. De ser cierto, su activación preferencial durante la administración de RA podría explicar los distintos fenotipos. El presente trabajo busca determinar las funciones específicas de los RARs y RXRs en la regeneración de la extremidad del Ajolote en condiciones normales y de exceso de RA. Para esto administramos un agonista o antagonista del RARalfa o RARGama, respectivamente, directo al agua del recipiente que los contenía durante los primeros días después de amputarlos. También administramos un inhibidor de la enzima degradadora de RA (CYP26) para inducir un exceso de RA endógeno y evaluar los efectos bajo este contexto. Además, usamos un agonista o antagonista de los RXRs. Nuestros resultados sugieren un papel de RARGama en la morfogénesis de los dígitos en condiciones normales. El incremento del RA endógeno retrasó la regeneración y produjo dPD, excepto al antagonizar al RARGama, lo que sugiere que éste es el receptor responsable de dichos fenotipos, mientras que la inhibición de la regeneración no es debida a alguno de los receptores en particular. Por otro lado, los RXRs no parecen tener alguna función *per se* pero podrían regular la actividad de los RARs cuando hay un exceso de RA endógeno. Por último, observamos que en algunos casos la sobreactivación de los RARs puede afectar los patrones de los tres ejes espaciales de la extremidad.

MGT238

CYTOCHROME P450 2J3 REGULATION IN A LPS-INDUCED MODEL OF NEUROINFLAMMATION IN ASTROCYTES. NAVARRO-MABARAK CM, CAMACHO-CARRANZA R, HERNÁNDEZ-OJEDA S, ESPINOSA-AGUIRRE JJ. UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, DEPTO. MEDICINA GENÓMICA Y TOXICOLOGÍA AMBIENTAL. TERCER CIRCUITO EXTERIOR, CUIDAD UNIVERSITARIA, MÉXICO D.F., TEL. (55) 56229214, CNVMABARAK@YAHOO.COM.MX.

Introduction: Cytochromes P450 (CYP) constitutes a family of enzymes characterized by carrying out the oxidation of organic compounds. In addition to mediate the metabolism of xenobiotics, CYPs also metabolize many endogenous substrates such as cholesterol, steroids, hormones and fatty acids to biologically active intermediates. CYP 2C and 2J isoforms, which display epoxigenase activity, are responsible of the arachidonic acid oxidative metabolism to epoxyeicosatrienoic acids (EETs). Among their diverse biological properties, EETs exhibit anti-inflammatory activity. CYP epoxigenases and its metabolites have been proposed as a good therapeutic target to treat both systemic and organ specific inflammatory processes, even in the CNS. However, little has been described about the regulation of these enzymes during inflammation, an important issue considering that it has been reported that the expression of some CYPs can be modified when the levels of pro-inflammatory cytokines such as IL-6, IL-1 β and TNF- α has changed. We are interested in elucidate whether an inflammatory process in the CNS is able to modify CYP 2J expression and the mechanism by which this process is carried out. **Materials and methods:** We examined the effect of 100 ng/mL LPS on CYP 2J3 protein expression in isolated astrocytes obtained from the cortex of newborn rats, as an *in vitro* model of neuroinflammation. **Results:** The addition of LPS 100 ng/mL to an astrocyte culture, caused the production of TNF- α in a time dependent manner and a decrease in the protein expression of the CYP2J3. **Conclusions:** The inflammatory process triggered by the addition of LPS to astrocyte cultures is able to modulate CYP 2J3 expression at the protein level, suggesting that inflammatory mediators such as cytokines may play an important role in mediating the regulation of this cytochrome in the CNS or at least it exists a correlation between them.

MGT242

ALTERACIONES EN EL DESARROLLO EMBRIONARIO DEL PEZ CEBRA POR EXPOSICIÓN A MUESTRAS DEL RÍO ATOYAC Y DESCARGAS INDUSTRIALES. SOLEDAD SOLÍS, REGINA MONTERO, OMAR ARELLANO-AGUILAR. DEPARTAMENTO: DEPARTAMENTO DE MEDICINA GENÓMICA Y TOXICOLOGÍA AMBIENTAL, IIB-UNAM.

En una descarga industrial pueden encontrarse más de 200 sustancias químicas diferentes que interactúan entre sí formando mezclas complejas, lo que representa un riesgo al ambiente y salud. El uso de modelos vertebrados como el pez cebra (*D. rerio*) es una herramienta útil para el estudio de efectos adversos a la salud principalmente en etapas vulnerables como el desarrollo embrionario. El río Atoyac en la zona industrial Puebla-Tlaxcala, recibe cerca de 23 descargas industriales y en su cauce han sido identificadas 77 sustancias químicas con distintas propiedades. Este trabajo tuvo por objetivo determinar efectos sub-letales en embriones de pez cebra expuestos a tres muestras de descarga industrial y cinco de cauce en el río Atoyac. Para cada muestra se realizó: 1) análisis de calidad del agua con 26 parámetros físico-químicos, 2) ensayo de Dilución Letal 50 (DL₅₀) en embriones a las 72 horas post-fertilización (hpf), 3) evaluación de efectos sub-letales, utilizando un gradiente de diluciones porcentuales menor al valor de DL₅₀ de cada muestra. La calidad del agua en descargas y cauce se determinó como fuertemente contaminada por rebasar los límites máximos permitidos en cuanto a demanda química de oxígeno, sólidos disueltos totales, compuestos nitrogenados, fosfatos y metales pesados como: níquel, cromo VI y aluminio. La DL₅₀ se encontró en diluciones menores al 1% de las muestras de las descargas industriales, mientras que en el cauce del río, este valor no rebasó el 12% de dilución. Las muestras de todas las estaciones indujeron algún tipo de malformación y retraso en el desarrollo en al menos una dilución gradual. Las malformaciones con mayor incidencia fueron: edema de saco vitelino y la malformación de somitas. La frecuencia cardíaca media (f_c) en los embriones expuestos fue menor con respecto a los controles a las 24, 48 y 72 hpf. Dos estaciones de descarga indujeron arresto embrionario en la etapa de gástrula durante 72 hrs. La presencia de sustancias químicas en las descargas y en el cauce del río representa un riesgo elevado de exposición ambiental en poblaciones cercanas al cauce del río, debido a la movilidad de estas sustancias a través de aire, agua y suelo. Proponemos la aplicación del modelo de pez cebra para el seguimiento en los niveles de toxicidad del río Atoyac como ya se ha implementado en ríos de países como China, Brasil e India.

MGT246

TITULACIÓN DEL VECTOR LENTIVIRAL DE GFP UTILIZADO COMO REPORTERO DE EXPRESIÓN EN LOS ENSAYOS DE REPROGRAMACIÓN DE CÉLULAS HUMANAS. MORA ROLDAN GERMAN ATZIN, CEVALLOS GUERRA RICARDO, KARLEN GAZARIAN. DEPARTAMENTO DE MEDICINA GENÓMICA Y TOXICOLOGÍA AMBIENTAL. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS.

Introducción. Los vectores lentivirales son una eficiente herramienta de transferencia génica, creada de la dificultad de introducir material genético al interior de la célula. Los vectores lentivirales resultaron determinantes como parte de la metodología que llevó al desarrollo de las iPSC. En nuestro laboratorio, se fabrican vectores lentivirales para la generación de iPSC, sin embargo, modificaciones epigenéticas hacen difícil la caracterización de las mismas factor esencial para el establecimiento de líneas celulares. Las técnicas de titulación actuales implican un consumo de tiempo considerable. De este hecho proviene la necesidad de establecer técnicas de titulación para generar producciones estables. En el presente se proponen metodologías de titulación enfocadas a la reprogramación, de fácil implementación y alta practicidad. **Objetivo.** Titular el vector lentiviral de GFP, utilizado como reportero de infección para la reprogramación de células humanas. **Material y métodos.** Purificados los plásmidos, se cultivaron y expandieron 293-T para el empaquetamiento del vector. Se cultivaron DPSC suficientes para la construcción de una curva de titulación. Se realizó la transfección y posteriormente las cosechas del sobrenadante/concentrado del vector que contiene e-GFP. DNA se extrajo del concentrado mientras RNA es extraído del sobrenadante, ambos fueron evaluados mediante PCR-Tiempo Real utilizando los mismos volúmenes que se utilizaran para transducir las DPSC. El concentrado/sobrenadante de otra de las producciones es puesto en contacto con el vector por 12/24 horas, una vez comprobada la expresión del transgen se procede a realizar el análisis FACS. **Resultados y conclusiones.** Se generaron dos curvas de titulación creadas a partir del análisis FACS de las infecciones con concentrado/sobrenadante contra de los análisis de Tiempo Real respectivamente. Las curvas permiten interpolar valores de porcentaje de expresión contra determinado número de integraciones y viceversa. Las curvas de titulación permiten evaluar nivel de expresión y cuantificar integraciones del genoma de las células blanco (DNA) o de posibles integraciones (RNA), presentes en diferentes volúmenes del sobrenadante/concentrado. **Bibliografía.** L. Sastry, T. Johnson *et al.* 2002. Titering lentiviral vectors: comparison of DNA, RNA and marker expression methods. *Gene Therapy*. 9, 1155–1162.

MGT248

EFFECTO DEL ARSÉNICO SOBRE LA ACTIVIDAD DE LAS CALPAÍNAS EN LINFOCITOS HUMANOS. PÁNICO JP, BURNS AL, SORDO M, OSTROSKY-WEGMAN P, SALAZAR AM. DEPARTAMENTO DE MEDICINA GENÓMICA Y TOXICOLOGÍA AMBIENTAL, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

Estudios epidemiológicos asocian la exposición crónica a arsénico con un aumento en la prevalencia e incidencia de diabetes mellitus tipo 2 (DM2), indicando que el arsénico es un importante factor de riesgo para el desarrollo de esta enfermedad. La DM2 es una enfermedad caracterizada por hiperglucemia crónica causada por defectos en la secreción y la acción de la insulina. Nuestro grupo encontró que en las células β , el arsénico es capaz de inhibir la secreción de insulina dependiente de calpaína-10 a través de la proteólisis de SNAP-25 (necesaria para la secreción estimulada de insulina). La calpaína-10 es una proteasa de cisteína que juega un papel importante en la homeostasis de la glucosa. Con la finalidad de entender el mecanismo de alteración de la homeostasis de glucosa inducida por el arsénico en tejidos periféricos, en este trabajo se evaluó el efecto del arsénico sobre la expresión proteica de la calpaína-10 y sobre la actividad de las calpaínas. Se trataron cultivos de linfocitos con 0.1 y 1.0 μM de arsenito de sodio durante 72 horas. Se midió el efecto citotóxico del arsénico por tinción con Anexina V/7AAD. La actividad de calpaínas se analizó por citometría de flujo, bajo condiciones normo e hiperglucémicas usando el sustrato tBoc-CMAC. La expresión de las isoformas de calpaína-10 se realizó por inmunodetección. Los resultados mostraron que las concentraciones de arsénico utilizadas no indujeron cambios significativos en la viabilidad celular y en la expresión de las isoformas de calpaína-10. Sin embargo, el arsénico disminuyó la actividad de las calpaínas con la concentración de 1.0 μM en la condición normoglucémica y de manera dosis respuesta bajo condiciones hiperglucémicas con ambas concentraciones. En conclusión, el arsénico es capaz de inhibir la actividad de las calpaínas dependiente de la concentración de glucosa extracelular, sin alterar la viabilidad y los niveles de calpaína-10. La contribución de la calpaína-10 en la actividad general de las calpaínas será una perspectiva de este trabajo.

MGT255

EFFECTO DE UN AGONISTA DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DE WNT β -CATENINA DURANTE LAS DIFERENTES ETAPAS DE REGENERACIÓN DE LAS EXTREMIDADES EN EL AJOLOTE (*AMBYSTOMA MEXICANUM*). WISCHIN S¹, ROBLES-FLORES M² Y CHIMAL-MONROY J¹. ¹DEPARTAMENTO DE TOXICOLOGÍA AMBIENTAL Y MEDICINA GENÓMICA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO. UNAM. ²DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA, FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO. UNAM. WISCHIN@GMAIL.COM.

La regeneración es un evento que implica diferentes procesos fisiológicos: la etapa de curación de la herida, de diferenciación, de formación de un blastema y de rediferenciación. Anteriormente se ha propuesto que activar la vía de señalización de Wnt/ β -catenina favorece la regeneración de la extremidad de organismos como el pez cebra y la rana *Xenopus*, y que su inhibición en animales como el Ajolote y los organismos antes mencionados impide que se lleve a cabo este proceso. Sin embargo, durante el desarrollo embrionario de la extremidad (un evento que lleva a cabo procesos similares al de la regeneración), la activación ectópica de la vía de señalización puede inhibir el desarrollo de la extremidad en etapas tempranas, así como inhibir la formación del cartílago en etapas más tardías. Esto hace suponer que la activación de la vía de señalización de Wnt/ β -catenina durante la regeneración de extremidades, no tiene siempre un efecto estimulador para dicho proceso, y que el efecto depende en mayor grado de la etapa en que se active la vía de señalización Wnt/ β -catenina. Por esto se propuso analizar el efecto generado por la activación de la vía de señalización en las diferentes etapas de regeneración de la extremidad de los ajolotes. Contrario a propuestas anteriores en el sentido de que, la activación de la vía de señalización favorece la regeneración de extremidades, nosotros encontramos que existen dos momentos en los cuales el activar la vía de señalización Wnt/ β -catenina inhibe la regeneración: al comienzo de este proceso, antes de la formación del blastema y posterior al comienzo de la formación del blastema, durante de la etapa de rediferenciación. Debido a la importancia que tiene la innervación del muñón y a una coincidencia entre nuestros fenotipos y los de patas denervadas, se analizó si los muñones de los animales tratados al comienzo, que no regeneran la extremidad, estaban innervados y se confirmó que efectivamente éstos carecen de innervación. Aún se requiere evaluar la causa por la cual hay un efecto de inhibición en la etapa de rediferenciación, sin embargo, se propone como explicación que se debe a una inhibición en la expresión de SOX9, la cual impediría la condrogénesis.

MGT263

PAPEL DE LA EXPRESIÓN DE WNT-7A EN LA APOPTOSIS INDUCIDA POR BAJA ACTIVIDAD NEURONAL EN NEURONAS GRANULARES DE CEREBELO. ABRIL ORTIZ-MATAMOROS^{1,2}, CLORINDA ARIAS^{1,2}, PETAR PODLESNIY², JOANA SILVA-FIGUEIRO², ABRIL ORTIZ-MATAMOROS^{1,2} Y RAMÓN TRULLAS². ¹ INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM. ² INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS CESIC-IDIBAPS, BARCELONA.

Aunque es bien conocido el papel de la señalización Wnt en el establecimiento de la circuitería neuronal durante el desarrollo del cerebro, cada vez existe más evidencia sobre su función en el cerebro maduro asociado con el remodelamiento axonal, crecimiento dendrítico y plasticidad sináptica. Varias moléculas de la vía Wnt se han encontrado modificadas en diversas patologías del SNC, particularmente en la esquizofrenia, depresión, Parkinson y Alzheimer. Estas evidencias sugieren un papel de la vía Wnt en diversos eventos moleculares que controlan ajustes morfológicos asociados con la actividad neuronal. Sin embargo se conoce poco acerca del papel potencial de ciertos ligandos Wnt en la muerte apoptótica debida a baja actividad neuronal. Por lo tanto el presente estudio consistió en estudiar el papel del ligando Wnt-7a durante la muerte apoptótica de células granulares del cerebelo. Estas neuronas requieren estar despolarizadas para sobrevivir y al retirarles la condición despolarizante (medio con alto K⁺ a bajo K⁺), mueren. Se utilizaron cultivos primarios de neuronas granulares de cerebelo de ratones 7 días post-natal y se infectaron con lentivirus conteniendo la secuencia del shRNA o una secuencia aleatoria. A los 7 días la expresión del shRNA se activó con doxiciclina. La privación de alto K⁺ se efectuó 7 días después de la activación condicionada del shRNA. Se analizó la supervivencia neuronal con tinción de Hoechst. Encontramos que la exposición a K⁺ bajo indujo un incremento del mRNA de Wnt7a de aproximadamente 400% que inicia en la primera hora de la pérdida de actividad y se mantuvo por 4 h. El shRNA redujo ese incremento y los cultivos presentaron un mayor porcentaje de muerte neuronal y, a tiempos tempranos se observó una disminución y adelgazamiento de procesos neuronales. Estos resultados sugieren un papel del ligando Wnt7a en el control de la supervivencia neuronal ligado a una reducción de la actividad neuronal.

Con apoyo de Conacyt 176763 y PASPA, DGAPA, UNAM y CSIC-IDIBAPS.

MGT268

ESTUDIO DE TOXICIDAD DE UNA SOLUCIÓN ELECTROLIZADA DE SELECTIVIDAD IÓNICA (SESI) CON PH NEUTRO POR EXPOSICIÓN SUBCRÓNICA EN EL MODELO DE RATA. AGUILERA F, LÓPEZ AP, BELMONT JA, SERRANO L, MONTERO RD. DEPARTAMENTO DE MEDICINA GENÓMICA Y TOXICOLOGÍA AMBIENTAL, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM.

Introducción: Estericide Qx es una solución electrolizada por selectividad iónica (SESI) comúnmente utilizada como desinfectante en el ámbito quirúrgico; sus componentes dominantes son ion hipoclorito (ClO^-) y ácido hipocloroso (HClO), los cuales le adjudican características bactericidas. El posible mecanismo de acción de esta SESI radica en la interacción de ClO^- y HClO con los grupos SH^- y lo grupos NH_2 de las moléculas que se encuentran en los organismos. Por lo tanto, un análisis a nivel de estrés oxidante, enzimas metabólicas y genotoxicidad puede indicar distintos efectos que Estericide Qx produce y si tiene alguna repercusión en la salud. **Objetivos:** Determinar si Estericide Qx altera parámetros de estrés oxidante relación GSH/GSSG, peroxidación lipídica (TBARS), así como algunas de las principales enzimas del metabolismo (P450) y si genera daño genotóxico (Micronúcleos de médula ósea) en rata. **Métodos:** Exponer grupos de ratas (hembras y machos) a distintas concentraciones de Estericide Qx (0.1mL, 0.5mL, 1mL, 2mL) y soluciones control (positivo y negativo) durante 28 días. Posteriormente, cuantificar en hígado los niveles de TBARS, la razón GSH/GSSG, la concentración de P450, además de evaluar la frecuencia de micronúcleos y citotoxicidad en médula ósea (%PCE). **Resultados:** La relación GSH/GSSG, tanto en hembras como en machos disminuyó significativamente en los tratamientos de 1mL y 2mL (Kruskall-Wallis $p=0.05$). Sin embargo, TBARS mostró cambio significativo sólo en machos bajo las concentraciones de 0.1mL, 0.5mL y 1mL (Kruskall-Wallis $p=0.05$). Al medir el efecto sobre P450 no se encontraron diferencias significativas en ningún grupo, sin embargo se observó una basal mayor de estas enzimas en los machos. En la parte genotóxica y citotóxica no se observaron diferencias significativas en ninguna concentración respecto al control. **Conclusiones:** En el presente estudio se encontró un leve efecto oxidante reflejado en la razón GSH/GSSG y en el incremento de TBARS, que no se tradujo en daño clastogénico a la médula ósea después de 28 días de exposición. El efecto podría deberse a las pequeñas concentraciones de especies reactivas que contienen las SESI y su pH neutro. En células con capacidad antioxidante normal, este producto no representa un riesgo, no obstante sí mostró una actividad biológica que hay que tener en consideración para su uso en humanos.

MGT269

MODULACIÓN DE LOS FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN NRF-2 Y NF-KB POR ARSÉNICO EN EL CEREBRO DEL RATÓN. SILVA D., GUTIÉRREZ G, GONSEBATT MA. E. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIROLOGÍA.

Introducción. El arsénico (As) es un elemento que contamina del agua de bebida en varios países del mundo, incluyendo México. Dentro de los efectos tóxicos de este metaloide se encuentran alteraciones neuroquímicas, de memoria y aprendizaje, los cuales podrían estar relacionados con la acumulación diferencial de este metaloide en el sistema nervioso central (SNC). El SNC es vulnerable al estrés oxidante debido a su alto consumo de oxígeno y su alta composición lipídica. El glutatión (GSH) y la tiorredoxina (Trx) son dos antioxidantes del SNC, que participan además en el procesamiento del arsénico. Se ha documentado que estos dos sistemas se ven modulados por la exposición a As, debido principalmente al estrés oxidante generado por este metaloide, así como también su consumo durante el metabolismo del As. Dentro de los factores de transcripción que regulan la transcripción de proteínas relacionadas al sistema GSH y Trx se encuentra los factores Nrf-2 y NF- κ B. En este trabajo queremos documentar la expresión tanto basal como con un reto tóxico con As la expresión de proteínas relacionadas al sistema GSH y Trx así como de los factores de transcripción Nrf-2 y NF- κ B en distintas regiones del SNC murino. **Diseño experimental.** Ratones macho CD-1 (28-30g) fueron tratados con 2.5 mg/Kg NaAsO_2 y 5.0 mg/Kg NaAsO_2 por vía oral. Se sacrificaron 1 y 9 días después de la exposición y se realizaron cortes sagitales en donde por técnicas inmunohistoquímicas e inmunofluorescentes se comparó la expresión de γ -glutamyl cisteil sintetasa (γ -GCS), tiorredoxin reductasa 1 (TrxR1) y de los factores de transcripción Nrf-2 y NF- κ B. **Resultados.** Los resultados preliminares muestran una expresión diferencial por región de la γ -GCS y TrxR1 en estado basal, no siendo así al comparar los grupos controles con los grupos tratados con NaAsO_2 , mientras que NF- κ B y Nrf-2 se observan imágenes que sugieren la activación de estos factores por la exposición a NaAsO_2 . **Conclusión.** Observamos una expresión diferencial de γ -GCS y TrxR1 en distintas regiones del SNC y los factores de transcripción NF- κ B y Nrf-2 se activaron en todas las regiones observadas por el tratamiento con NaAsO_2 sobre la activación de los en todas las regiones observadas.

MGT277

LA CINASA WNK1 INHIBE A LOS COTRANSPORTADORES DE K^+-Cl^- A TRAVÉS DE UNA VÍA DEPENDIENTE DE SPAK. MURILLO AR, MELO Z¹, VÁZQUEZ N¹, MERCADO A² Y GAMBA G¹. ¹UNIDAD DE FISIOLÓGIA MOLECULAR, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO E INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN, ²INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA IGNACIO CHÁVEZ.

Los cotransportadores de K^+-Cl^- (KCCs) están involucrados en varias actividades fisiológicas, incluyendo el transporte transepitelial de iones, la regulación del volumen celular y la modulación de la concentración intracelular de Cl^- . Su activación bajo condiciones hipotónicas, mediante defosforilación, tiene como objeto el restablecimiento del volumen celular. Se ha demostrado que la regulación de estos cotransportadores está mediada por cinasas y fosfatasas. WNK1 es una cinasa ubicua que juega un papel fundamental en la regulación del manejo renal de sodio y potasio. El gen de WNK1 da lugar a distintas isoformas debido a empalme alternativo. WNK1 se expresa en múltiples células en las que coexiste con la expresión de diversos KCCs. La actividad de los KCCs es regulada por otros miembros de la familia de las WNKs, como WNK2, WNK3 y WNK4. Sin embargo, hasta el momento no se ha demostrado si la WNK1 afecta la actividad de estos cotransportadores. Es por esto que el objetivo que se planteó en el presente trabajo es averiguar si WNK1 es un regulador de los cotransportadores de K^+-Cl^- y mediante qué vías puede estar interviniendo en la actividad de los KCCs. Mediante la expresión de estas proteínas en ovocitos de *Xenopus laevis* nos es posible tener una medida cuantitativa de la actividad de los KCCs, en forma de captación de $^{86}Rb^+$ dependiente de Cl^- y al coexpresar los KCCs con WNK1 podemos determinar si esta última tiene efecto sobre su función. Nuestros resultados muestran que la coexpresión de las distintas isoformas de WNK1 con los KCCs disminuye su actividad, y al analizar a KCC3 mediante Western Blot encontramos que esto se debe a que WNK1 lo fosforila en determinados residuos (T991 y T1048). En busca de conocer la vía por la que esto sucede, realizamos experimentos con una mutante de WNK1 (F316A) que pierde la capacidad de interactuar con otra cinasa llamada SPAK; esta mutante no inhibe a los KCCs. Asimismo, la WNK1 en la que se ha eliminado el motivo HQ con lo que se vuelve incapaz de formar dímeros entre WNKs, tampoco puede inhibir a los KCCs. Por lo tanto, determinamos que WNK1 regula a los KCCs y esto depende de la formación del complejo WNK-WNK-SPAK responsable de la fosforilación y, por ende, la inhibición de estos cotransportadores.

MGT281

ESTANDARIZACIÓN DE UN ENSAYO DE PERMEABILIDAD VASCULAR *IN VIVO* SENSIBLE A FACTORES SOLUBLES SECRETADOS POR LA LÍNEA CELULAR DE CÁNCER DE MAMA ZR75-30. GUZMÁN CA, IBARRA A, GONZÁLEZ C, VENTURA JL, ZENTELLA A. DEPARTAMENTO DE MEDICINA GENÓMICA Y TOXICOLOGÍA AMBIENTAL, IIB, UNAM; INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN; CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS (CINVESTAV), IPN.

Introducción: El incremento en la permeabilidad vascular podría acelerar el proceso metastásico al facilitar la migración de células tumorales a través del endotelio. Algunas líneas celulares de cáncer pueden inducir al endotelio a un estado pre-metastásico a distancia, ya que liberan factores solubles tumorales (FST) capaces de actuar en órganos blanco distantes. Sin embargo, no se ha estudiado cuál es el efecto de los FST sobre la permeabilidad vascular *in vivo*, ya que no se cuenta con un modelo animal adecuado. **Hipótesis:** Los FST de la línea celular de cáncer de mama ZR75-30 son capaces de modificar la permeabilidad vascular *in vivo* y su efecto puede cuantificarse por un ensayo de permeabilidad vascular en piel. **Objetivos:** Desarrollar un ensayo de permeabilidad vascular *in vivo* que permita analizar el efecto de los FST de la línea celular de cáncer de mama ZR75-30. **Métodos:** Se aplicaron 280 ng de IgE anti-DNP en la oreja de ratones Swiss Webster, como control de inyección en vena caudal. 18 h después se aplicó azul de Evans y DNP vía la vena caudal. Se usaron 25 ng de factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF-1) como control de permeabilidad en dorso. Se extrajo el colorante de las zonas tratadas y se cuantificó por espectrofotometría a 620 nm. **Resultados:** La permeabilidad vascular basal en ratones Swiss Webster es 0.046 OD; con VEGF-1 y FST es 2.41 y 2.13 veces la basal. Los agentes se aplican vía intradérmica, 15 min después del colorante. El sistema permite usar 6 muestras por animal y detecta falsos negativos. **Conclusiones:** El sistema para evaluar la permeabilidad vascular *in vivo* es reproducible y sensible a la inducción por IgE/DNP, VEGF-1 y FST de la línea de cáncer de mama ZR75-30. **Perspectivas:** La técnica desarrollada permitirá estudiar las interacciones entre el endotelio, células del sistema inmune y metastásicas; en especial la relación entre el potencial metastásico de líneas celulares y el aumento en la permeabilidad vascular.

MGT282

EFFECTO DE 5-AZA-2'-DEOXCITIDINA SOBRE LA EXPRESIÓN DE CYP1A1 HEPÁTICO DE RATA. ÁVILA O.S., OLGUÍN S., CAMACHO, R., ESPINOSA-AGUIRRE J.J. DEPARTAMENTO DE MEDICINA GENÓMICA Y TOXICOLOGÍA AMBIENTAL.

Los citocromos P450 (CYP) son monooxigenasas encargadas de metabolizar xenobióticos (Werck-Reichhart y Feyereisen, 2000). El CYP1A1 se encarga del metabolismo de hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAH) y a su vez éstos modulan la expresión de CYP1A1 por medio el receptor aryl hidrocarburo (AhR) (Kawajiri y Fujii-Kuriyama, 2007). Los PAH como el benzo [a] pireno (B[a]P) al ser metabolizados por CYP1A1 tienen un alto impacto a nivel sistémico formando aductos con el DNA, además se ha observado que el B[a]P promueve la desmetilación del DNA tanto *in vivo* como *in vitro* (Sadikovic y Rodenhiser, 2006). Por otro lado, se sabe que la 5-aza-2'-deoxicitidina (5azadc) impide la metilación del DNA promoviendo un aumento en la expresión de genes en diferentes tipos celulares (Rivière et al., 2011). Previamente, en nuestro laboratorio se detectó un aumento en la expresión del mRNA de CYP1A1 por efecto del tratamiento con 5azadc previo a la exposición de un inductor de CYP1A1 como el BaP, en la línea celular de hepatocitos de rata (C9). El objetivo de este trabajo fue determinar si el efecto se reproduce cuando se utiliza el organismo completo. Empleando a la rata como modelo biológico, se procedió a realizar los tratamientos por vía intraperitoneal; a un primer grupo de animales se administró los vehículos usados. El segundo grupo recibió una dosis de 1 mg/Kg de 5azadc por cinco días (Rivière et al., 2011). El tercer grupo una sola dosis de 50 mg/Kg de B[a]P (Harrigan et al, 2006). Y el cuarto grupo recibió una dosis de 1 mg/Kg de 5azadc por cinco días seguido de una dosis de 50 mg/Kg de B[a]P 24 horas después. Se realizó el sacrificio 24 horas posteriores al último tratamiento y se obtuvo los microsomas de hígado de las ratas (Prigol et al., 2012). A partir de los microsomas se realizó la inmunodetección de CYP1A1 (Gallagher et al., 2008) y se evaluó la *O*-desalquilación de etoxiresorufina y metoxiresorufina (Burke et al., 1994). En la inmunodetección de CYP1A1 se observó un aumento significativo ($P \leq 0.05$) en el grupo que recibió 5azadc y B[a]P con respecto al grupo que solo recibió B[a]P. En la *O*-desalquilación de etoxiresorufina se observó un aumento significativo ($P \leq 0.05$) en el grupo con tratamiento de 5azadc y B[a]P con respecto al que recibió solamente B[a]P; por lo que se puede concluir que existe un efecto potenciador de 5azadc sobre la inducción de CYP1A1 por B[a]P.

MGT289

EXPOSICIÓN GESTACIONAL A ARSÉNICO MODULA TRANSPORTADORES DE AMINOÁCIDOS Y NMDAR EN CEREBRO DE RATÓN. RAMOS CHÁVEZ L A¹, PETROSYAN P¹ Y GONSEBATT ME¹. ¹DEP DE MEDICINA GENÓMICA Y TOXICOLOGÍA AMBIENTAL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, A.P. 70228 CIUDAD UNIVERSITARIA, 04510, MÉXICO D.F. TEL 56229178. MARGEN@SERVIDOR.UNAM.MX.

El arsénico inorgánico (As_i) es un contaminante ambiental neurotóxico, al cual millones de personas en el mundo están expuestas. La exposición gestacional en ratón puede explicar aspectos clínicos del hidroarsenicismo. El As_i atraviesa la placenta y sus metabolitos se han encontrado en el cerebro embrionario. Es metabolizado en un proceso que consume grupos metilo y oxida glutatión (GSH). La cisteína es el aminoácido limitante en la síntesis de *nov*o de GSH, que es transportada al cerebro por los transportadores X_c⁻ y EAAC1 a nivel neuronal. Se ha visto que el As_i altera la funcionalidad de los NMDAR. En este trabajo se observó que la exposición gestacional a través del agua de bebida a 20 mg/L de As_i incrementa la expresión en corteza e hipocampo de xCT y EAAC1, altera las subunidades del NMDAR y conlleva a déficit en el reconocimiento espacial en la adultez, lo que sugiere que la exposición a As_i *in útero* tiene consecuencias en el transporte de aminoácidos en regiones del SNC que participan en memoria y el aprendizaje.

Agradecimientos: Este proyecto es financiado por Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT, IN 207611) a Gonsebatt ME.

MGT292

EFFECTO DE LOS FACTORES SOLUBLES TUMORALES SECRETADOS POR LA LÍNEA CELULAR ZR-75-30 DE CÁNCER DE GLÁNDULA MAMARIA SOBRE LAS UNIONES ESTRECHAS DE CÉLULAS HUVEC. CABRERA AJQ¹, VENTURA-GALLEGOS JL¹, GALLARDO MV¹, LÓPEZ AM¹, ZENTELLA-DEHESA A^{1, 2}. ¹UNIDAD PERIFÉRICA DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA GENÓMICA Y TOXICOLOGÍA AMBIENTAL, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS UNAM. ²UNIDAD DE BIOQUÍMICA GUILLERMO SOBERÓN ACEVEDO, INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN; MÉXICO, D.F.

De acuerdo con el INEGI tan solo en 2011, 5222 mujeres murieron por causa de un tumor maligno de mama en México. Estos tumores malignos son capaces de invadir tejidos vecinos y de hacer metástasis a: hígado, pulmón, hueso y cerebro. La metástasis es el fenómeno en el cual las células tumorales se desprenden del tumor primario y viajan a través de los vasos sanguíneos o linfáticos, para establecer un tumor secundario en otra parte del cuerpo. Cabe destacar que durante este proceso, el fenotipo de varias de las células normales, que las células tumorales encuentran en su camino, se altera, en parte gracias a que el microambiente asociado al tumor se modifica, por ejemplo por los factores solubles que secretan las células tumorales (FST), facilitando la diseminación de las células tumorales. En este contexto, este trabajo busca modelar el efecto del microambiente tumoral sobre las células endoteliales. Se pretende explorar in vitro si los FST son capaces de alterar las uniones ocluyentes que cierran el espacio entre células endoteliales, pues estas uniones forman la primera barrera que una célula tumoral debe atravesar, para salirse de los vasos sanguíneos y formar un tumor secundario. Es de particular interés evaluar si la localización sub-celular de ZO-1 que forma parte importante de este tipo de uniones se modifica por efecto de los FST. Para ello se obtuvieron FST de la línea ZR-75-30 metastásica de carcinoma ductal mamario (el tipo más frecuente de cáncer de mama en la clínica), se probó su actividad biológica en células endoteliales de vena de cordón umbilical humano (HUVEC), mediante un ensayo de adhesión y se están estandarizando las condiciones para evaluar por inmunofluorescencia la localización sub-celular de ZO-1 en estas células tratadas.

MGT297

ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DE LA ISOFORMA DNMT3B3Δ5 EN RESPUESTA A LA DESMETILACIÓN POR 5-AZACITIDINA EN LINFOCITOS HUMANOS Y EN HCT116. FLORES-LEÓN M, PRADA D, DÍAZ-CHÁVEZ J, GONZÁLEZ-BARRIOS R, CASTRO C, HERRERA LA. UNIDAD DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN CÁNCER, INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA- INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

Introducción. Las células eucariontes llevan a cabo la metilación del DNA para la regulación de la expresión génica, diferenciación de tejidos, inactivación del cromosoma X, entre otros. En cáncer, la metilación del DNA se asocia a la represión génica, afectando a genes supresores de tumores. La metilación *de novo* en mamíferos es llevada a cabo por la DNMT3A, DNMT3B y DNMT3L. Recientemente se reportó una familia de isoformas de la DNMT3B, denominada ΔDNMT3B, pero se desconoce su función. La isoforma DNMT3B3Δ5 carece del dominio por el cual se recluta a los sitios blanco de metilación de la isoforma mayor, dando como resultado desmetilación de secuencias pericentroméricas. Estudios recientes han sugerido que el proceso de *splicing* alternativo de diversos genes en cáncer pudiera estar regulado por la organización de la cromatina. Así mismo, existen reportes de una expresión aberrante de la DNMT3B3Δ5 durante el proceso neoplásico, la cual pudiera estar contribuyendo a metilación aberrante o hipometilación, una característica importante del proceso neoplásico. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la expresión de la DNMT3B3Δ5 en HCT116 y linfocitos humanos en respuesta a la exposición de 5-azacitidina (5-azaC) así como en diferentes líneas celulares de cáncer de colon y de cáncer de ovario. **Materiales y métodos.** Se realizaron ensayos de viabilidad celular para determinar la dosis de 5-azaC. Se cuantificó la expresión de la isoforma en linfocitos humanos y en HCT116 en respuesta a 5-azaC. Adicionalmente, se evaluó su expresión en líneas celulares de cáncer de colon y en líneas celulares de cáncer de ovario. **Resultados.** Se encontró un efecto dosis-respuesta en linfocitos y en HCT116, evidenciado por el aumento en el transcrito de la isoforma en ambos tipos celulares. La comparación del transcrito de la isoforma en otras líneas celulares de cáncer de colon y de cáncer de ovario mostró una diferencia en su expresión, siendo mucho mayor en las líneas celulares de cáncer de ovario. **Conclusiones.** En linfocitos humanos y en HCT116, la expresión de la DNMT3B3Δ5 se altera al ser expuestas a 5-azaC. Por otra parte, las líneas celulares de cáncer de ovario muestran una expresión basal elevada de la isoforma, lo cual pudiera relacionarse con desmetilación e inestabilidad cromosómica, propias de este padecimiento.

MGT300

PAPEL DE LA PROTEÍNA BORIS EN EL SILENCIAMIENTO GÉNICO EN CÁNCER DE MAMA. ALCALÁ MORENO, I. M., SOTO REYES, E., MORALES ESPINOSA, D., GONZÁLEZ BARRIOS, R., MALDONADO MARTÍNEZ, H. A., CANTÚ, D., CASTRO, C., HERRERA, L. A. UNIDAD DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN CÁNCER - INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA - INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO; D.F., MÉXICO.

Introducción. El factor nuclear CTCF promueve de manera negativa y positiva la transcripción génica. A nivel global, esta proteína puede mediar interacciones cromatínicas de largo alcance permitiendo la regulación de la expresión génica de dominios completos. A nivel local se asocia con una función de barrera en contra de la propagación de componentes epigenéticos represivos, particularmente en promotores asociados con islas CpG. De manera interesante, *CTCF* posee un gen parálogo denominado *BORIS*, el cual se expresa principalmente en testículo y se ha observado expresado anormalmente en múltiples neoplasias. **Objetivo.** Caracterizar la presencia y la localización de CTCF y BORIS en un modelo de cáncer de mama. **Material y método.** La expresión de *CTCF* y *BORIS* se analizó mediante RT-PCR en tres líneas celulares derivadas de mama. La localización de las proteínas se determinó mediante inmunofluorescencias. Su unión a la región promotora del *mir-125b1* se evaluó mediante inmunoprecipitación de la cromatina (ChIP). Para caracterizarlas en tumores primarios, se realizaron inmunohistoquímicas de cortes histológicos de pacientes con cáncer de mama. **Resultados.** BORIS se observó sobre-expresado en las líneas neoplásicas y se observó que se encontraba principalmente en núcleo co-localizando con CTCF en la línea celular MCF7. Los resultados de ChIP evaluados en la región promotora de *mir-125b1* mostraron que en células neoplásicas se observa la presencia de BORIS y de la marca de histona H3K9me3 asociada a represión; en el promotor de *p53* se observó la unión de CTCF. Estos resultados proponen que BORIS podría estar asociado con silenciamiento epigenético, mientras que CTCF se relaciona con activación génica. Los resultados de inmunohistoquímicas muestran la presencia de BORIS principalmente en citoplasma en la mayoría de las muestras de pacientes, mientras que CTCF presenta diferencias en su abundancia dependiendo del grado histológico de agresividad del tumor. **Conclusiones.** Nuestros datos proponen que la pérdida del factor nuclear CTCF y la presencia de BORIS en promotores génicos asociados a islas CpGs como el *mir-125b1* se relacionan con la ganancia de componentes epigenéticos involucrados en silenciamiento génico. **Agradecimientos.** Este proyecto fue apoyado por CONACyT (182997, 83959), PAPIIT (IN213311) y la beca PROBEI.

MGT302

PAPEL DE LA DESMETILASA DE HISTONAS KDM4A EN UN MODELO DE CÁNCER. GUERRA L.X., SOTO-REYES E., ALCALÁ I.M., GONZÁLEZ BARRIOS R., MALDONADO H.A., CASTRO C., HERRERA L.A. UNIDAD DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN CÁNCER - INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA - INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO; D. F., MÉXICO.

Introducción. La KDM4A es una desmetilasa de histonas la cual quita los residuos H3K9me3 y H3K36me3. H3K9me3 se asocia con heterocromatina y H3K36me3 es distintiva de la elongación de la RNA polimerasa. La desregulación de metilación y desmetilación de histonas se encuentra involucrada en cáncer como ejemplo, se ha visto una expresión aberrante de KDM4A en cáncer de mama, sugiriendo que puede estar involucrada en esta enfermedad. Uno de los blancos de KDM4A es el gen supresor de tumor *CHD5*, el cual es inactivado en varios cánceres, especialmente bajos niveles de expresión de este gen se asocia con el desarrollo y progresión de cáncer de mama. KDM4A se une a la región +741 del gen *CHD5* y su abatimiento provoca un aumento en la expresión de *CHD5*. Actualmente se desconoce el mecanismo por el cual KDM4A regula negativamente a *CHD5*. Por ende, el objetivo principal del proyecto fue evaluar el papel de KDM4A y las marcas de histonas H3K9me3 y H3K36me3/2 en la regulación de la expresión de *CHD5*. **Material y métodos.** La localización y expresión de KDM4A y *CHD5* se evaluaron por inmunofluorescencias (IF) y RT-qPCR. KDM4A se caracterizó en cortes histológicos de muestras de pacientes vía inmunohistoquímicas (IHQ). Con ChIP se caracterizó a H3K9me3, H3K36me2/3 y KDM4A en *CHD5*. **Resultados.** Encontramos que la expresión de *KDM4A* en las líneas celulares MCF7 y HeLa está enriquecida 10.7 y 5.6 veces respectivamente, en comparación de la línea celular no neoplásica MCF10A. Así mismo, se observó la presencia nuclear de KDM4A en las líneas celulares neoplásicas MDA-MB-231, MCF7 y HeLa más no en la línea celular MCF10A; la proteína *CHD5* sólo se encontró en línea celular MCF10A, en las líneas celulares neoplásicas no se observó. Via ChIP se demostró la presencia de KDM4A en la línea MCF7 y HeLa en el cuerpo del gen *CHD5*, esta presencia, se asoció con la disminución de H3K36me3 con relación a H3K36me2. **Conclusiones.** Estos datos sugieren

que la unión de KDM4A en el cuerpo del gen *CHD5* se asocia con la ausencia de CHD5, proponiendo que KDM4A pudiera estar implicada en la disminución de la marca H3K36me3 implicada en la elongación de la polimerasa. **Agradecimientos.** CONACyT 83959 y 182997) y PAPIIT IN213311. SEP-CONACyT (19071).

MGT306

ESTUDIO SOBRE LA CAPACIDAD DE PLAGUICIDAS PARA INDUCIR ROMPIMIENTOS DE DOBLE HÉLICE Y REPARACIÓN POR RECOMBINACIÓN EN CÉLULAS HUMANAS: gH2AX – PARAOXÓN Y ENDOSULFÁN. SUÁREZ KAREN, MONTERO REGINA D. *INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM.*

Introducción: Diversos estudios han encontrado una asociación entre la exposición a plaguicidas con patologías crónicas incluyendo efectos neurológicos, reproductivos o problemas del desarrollo y cáncer. En los últimos años, estos compuestos han sido propuestos como agentes leucemogénicos al actuar como inductores de translocaciones recíprocas. Sin embargo, esta idea no ha sido explorada, habiendo por lo tanto, un vacío de información. **Objetivo:** El presente trabajo tiene como objetivo generar conocimiento con respecto a la propuesta anterior. Esto se conseguirá a través de la evaluación de los pasos principales que conducen a la formación de una translocación recíproca: la producción de rompimientos en la doble cadena del DNA y su subsecuente reparación por recombinación, ya sea homóloga (HR) o no (NHEJ). **Métodos:** Se seleccionaron 8 plaguicidas que han sido estudiados como agentes genotóxicos. En una primera fase del trabajo y, para cada plaguicida, 250 µL de sangre entera fueron tratados con tres concentraciones de cada compuesto durante 1.5 hrs para posteriormente, fijar los linfocitos. Para la evaluación de rompimientos de doble cadena, se evaluaron focos de la histona γ-H2AX por inmunohistoquímica o inmunofluorescencia. Se contaron 1000 células por tratamiento y se clasificaron en tres categorías: 1 –sin daño, 2 –con daño (presencia de focos) y 3 –cuerpos apoptóticos. **Resultados:** Se ha evaluado paraoxón (metabolito del paratión) y endosulfán. En el primero, se observó una tendencia en el incremento de las categorías 2 y 3, con respecto al control, en las dos concentraciones más altas del paraoxón, comparable etopósido, nuestro control positivo. En el caso del endosulfán, se observó un incremento de la categoría 2 en la dosis más baja y más alta con respecto al control negativo y positivo. **Conclusión:** En una primera evaluación, se encontró un incremento de rompimientos de doble cadena en linfocitos tratados con paraoxón y endosulfán, siendo mayor este efecto en el segundo.

MGT307

REGULACIÓN EPIGENÉTICA DEL *MIR-125B1* MEDIADA POR LA PROTEÍNA CTCF EN UN MODELO DE CÁNCER DE MAMA. FERNANDA CISNEROS-SOBERANIS, ERNESTO SOTO-REYES, LUIS A. HERRERA. *UNIDAD DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN CÁNCER, INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA- INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM.*

Antecedentes. Los microRNAs (miRNAs) son secuencias de 18-22 nucleótidos de RNA capaces de regular la expresión génica en organismos eucariontes. Sin embargo, muy poco se sabe sobre su regulación transcripcional. Actualmente, los miRNAs han cobrado gran importancia en cáncer debido a que su desregulación se ha asociado con actividad de oncogen o de gen supresor de tumores. En estudios previos en el laboratorio, hemos caracterizado al promotor del *miR-125b1*, el cual se ha descrito con actividad de gen supresor de tumores. En muestras tumor de cáncer de mama, se encontró ganancia en la metilación del DNA, marcas de histonas asociadas a represión transcripcional, como la H3K9me3, y pérdida de una proteína que tiene actividad de barrera, CTCF. **Objetivo.** Determinar si cambios estructurales en el locus del *miR-125b1* mediados por la proteína CTCF ocasionan alteraciones en el nivel de compactación de la cromatina y como consecuencia alteraciones en su expresión y regulación de blancos. **Materiales y métodos.** Para determinar cuál de los componentes epigenéticos está asociado con el silenciamiento de este gen, se realizaron tratamientos con un agente desmetilante del DNA y se transfectó un plásmido que sobreexpresa a una desmetilasa de H3K9me3 en dos líneas celulares de cáncer de mama y una línea de mama no transformada. Posteriormente, se evaluaron los niveles de expresión del *miR-125b1* usando un RT-PCR en tiempo real. A continuación, se hizo un mapeo de sitios donde CTCF está unido en el locus *miR-125b1* usando la técnica de ChIP. Finalmente, se evaluaron los niveles de proteína por Western blot de dos blancos del *miR-125b1*: MAD1 y HER2/ErbB2. **Resultados.** Al evaluar la reactivación del *miR-125b1*, se observó un incremento de 2 y 6 veces, en los niveles de expresión del *miR-125b1* al desmetilar el DNA y la H3K9me3, respectivamente. Sugiriendo que la H3K9me3 tiene un papel relevante en el silenciamiento de este gen. Posteriormente, en la línea de mama no

transformada se identificó un sitio en el que CTCF se encuentra presente, mientras que en las líneas celulares de cáncer de mama no está. Este sitio podría ser relevante para la regulación del *miR-125b1*. Finalmente, se evaluaron dos blancos del *miR-125b1* y se encontró únicamente una asociación del decremento en los niveles de expresión del *miR-125b1* con el aumento en los niveles de la proteína de HER2/ErbB2.

MGT309

EFFECTOS DEL ACETAMINOFÉN EN EL SISTEMA GLUTATIÓN EN DIFERENTES ÓRGANOS DE RATÓN. SÁNCHEZ NAVARRO ANDREA, VALDOVINOS FLORES CÉSAR Y GONSEBATT BONAPARTE MARÍA EUGENIA. DEPARTAMENTO DE MEDICINA GENÓMICA Y TOXICOLOGÍA AMBIENTAL, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS.

Introducción. El glutatión (GSH) es un péptido de γ -L-Glutamil-L-cisteinilglicina, actúa como antioxidante, y protege a las células de toxinas tales como los radicales libres. La proporción de glutatión reducido (GSH), respecto a la de glutatión oxidado (GSSG) dentro de las células se utiliza como una medida del estrés oxidante celular. Alteraciones en esta relación se asocia a la transducción de señales celulares que modulan la respuesta antioxidante. El acetaminofén es oxidado al paracetamol para producir un intermedio muy reactivo, la imina N-acetil-p-benzoquinoneimina (NAPQI). En condiciones normales, la NAPQI se neutraliza por acción del GSH, por lo cual se espera que en los ratones tratados con dosis tóxicas exista una disminución en las concentraciones de GSH a nivel sistémico. **Métodos y materiales.** *Determinación de valores basales en distintos tejidos.* Se utilizaron 5 ratones macho BALB/c de 4 semanas, con libre acceso a agua y comida. Se sacrificaron por dislocación cervical, para posteriormente extraer cerebro completo, hígado y riñón. Los tejidos frescos fueron homogeneizados y procesados para su análisis de acuerdo a la metodología descrita por Senft et al. (2000) {1} y se guardaron a -70°C por no más de 4 semanas. *Curva patrón.* Se hizo una modificación para micro placa del protocolo revisado, se hizo una reducción de 1/5 del volumen final, se adecuó la concentración de GSH y GSSG. Se estandarizaron las curvas patrón para asegurarse de la reproducibilidad. **Objetivo:** Determinar los niveles de glutatión en hígado, riñón y cerebro de ratones Balb-c 1, 2 y 3h después de haber sido tratados intraperitonealmente con 300 mg/Kg de acetaminofén. **Resultados.** *Controles.* Los ratones no tratados mostraron en promedio 11078,01 ng/ de GSH por g en hígado, 2606,47 ng de GSH en riñón y 2678,42 ng de GSH en cerebro. *Ratones tratados.* Al analizarse las muestras de hígado, riñón y cerebro de ratones macho Balb-c de 4 semanas tratados con 300mg/ Kg de APAP, se encontró diferencia significativa en la disminución de glutatión reducido (GSH) en Hígado 2hrs contra su control, y en riñón 1hr contra su control. En cerebro como ya antes reporto en nuestro grupo de trabajo {2} se encontró un aumento significativo de glutatión reducido (GSH) en cerebro a las 2hrs contra su control. No se encontró cambio significativo en los niveles de GSSG para ninguno de los grupos tratados. **Conclusiones.** Con estos resultados podemos inferir la importancia que radica en el glutatión como mecanismo de defensa al estrés oxidativo a nivel sistémico, así como remarcar el comportamiento de éste en el cerebro, que pareciera tener un efecto protector aún más marcado que en otros órganos al incrementar la cantidad de GSH, por un mecanismo que no se conoce aún en su totalidad. **Referencias.** 1. Albert P. Senft, Timothy P. Dalton, and Howard G. Shertzer, 1999. Determining Glutathione and Glutathione Disulfide Using the Fluorescence Probe o-Phthalaldehyde. *Anal. Biochem* 280, 80–86. 2. Jorge H. Limón-Pacheco, Norma A. Hernández, María L. Fanjul-Moles, María E. Gonsebatt, 2007. *Free Radical Biology & Medicine* 43 (2007) 1335–13.

MGT315

MODULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL FACTOR DE CRECIMIENTO NERVIOSO POR RADIACIÓN IONIZANTE EN DIFERENTES TEJIDOS DE RATÓN. ALBARRÁN-PONCE L. Á., FAJARDO-MIRANDA, R. M., GAMBOA DE BUEN I., VALDOVINOS-FLORES, C., VÁZQUEZ-VÁZQUEZ, M. A. AND GONSEBATT, M. E. DEPARTAMENTO DE MEDICINA GENÓMICA Y TOXICOLOGÍA AMBIENTAL, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO. APARTADO POSTAL 70-228, TEL./FAX: (015255) 56229179, (015255) 56229182; E-MAIL: MARGEN@SERVIDOR.UNAM.MX.

La absorción de radiación ionizante por parte de las células es capaz de producir alteraciones tanto en la estructura como en la función de las biomoléculas. Este daño puede ser creado por acción directa (alteración de la estructura atómica de las macromoléculas) o indirecta (generación de radicales libres como consecuencia de la radiólisis del agua). Debido a que el agua es el mayor componente de las células, el daño por acción indirecta de la radiación es más relevante, debido a que se generan especies reactivas de oxígeno que pueden cambiar el estado redox de la

célula y de esta manera inducir daño celular. El factor de crecimiento nervioso (NGF) es una neurotrofina involucrada en el desarrollo, sobrevivencia, diferenciación y plasticidad de neuronas simpáticas y sensoriales. Además de estas funciones, existen evidencias que demuestran que NGF está involucrado en la respuesta antioxidante en el SNC y otros tejidos como el corazón o el hígado. Estas respuestas se logran una vez que NGF se une a TrkA, un receptor tirosina-cinasa que es específico para esta neurotrofina. Hemos investigado la modulación de la transcripción de *ngfb* y la fosforilación de TrkA en distintos tejidos de ratones machos 1h después de ser irradiados de cuerpo completo a 0.5, 2.5 y 4 Gy de rayos gamma. Demostramos que la radiación ionizante modula de manera positiva la transcripción de *ngfb* en las dosis intermedias y altas. El tratamiento también moduló la fosforilación de TrkA en cerebro y bazo, así como la traslocación de Akt al núcleo en cerebro. De esta manera, nuestros resultados preliminares sugieren que la cascada de señalización de NGF se está activando en respuesta a los radicales libres generados por la exposición a radiación ionizante.

Apoyado por PAPIIT IN207611.

MGT318

LA LOVASTATINA INDUCE UN EFECTO COMPENSATORIO DE LA INHIBICIÓN DE HMGCR EN SN. MENDOZA-OLIVA A., 1 FERRERA P., 1 ARIAS ÁLVAREZ C., 1 *. 1MEDICINA GENÓMICA Y TOXICOLOGÍA AMBIENTAL, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM. MEXICO. TEL. 52 55 56229215. *CARIAS@UNAM.MX.

Introducción: Diversos estudios indican que el colesterol alto aumenta la susceptibilidad a trastornos neurodegenerativos como la enfermedad de Alzheimer (EA). Recientemente, las estatinas, inhibidores de la enzima hidroximetilglutaril-coenzima A reductasa (HMGCR), se han propuesto para el tratamiento y prevención de EA, bajo el argumento de su propiedad hipolipemiente que reduciría la vía amiloidogénica y la formación del péptido β -amiloide (β A) característico de la EA. Los efectos de las estatinas sobre el metabolismo del colesterol en periferia son mejor conocidos, no obstante, también exhiben efectos pleiotrópicos cuyas implicaciones en SN han sido poco estudiadas. Debido a que el colesterol y los compuestos intermedios de esta ruta son cruciales para el funcionamiento normal de la células, actualmente es tema de debate la terapia con estatinas. Además, dado el uso generalizado de las estatinas, es de interés básico conocer cómo afectan el metabolismo del colesterol neuronal y cual su impacto sobre la función cerebral. **Objetivos:** Analizar el efecto inhibitor de Lovastatina (Lov), sobre la biosíntesis de colesterol en SN, en modelos tanto *in vivo* como *in vitro*. **Métodos y Resultados:** Examinamos los efectos de Lov sobre la producción de β A, la viabilidad celular y niveles de colesterol en células de neuroblastoma humano (MSN) en varias condiciones: en ausencia de suero, con 2% de suero y con suero normal al 10 %. Diferentes dosis de Lov (2, 5 y 10 μ M) inducen muerte neuronal (50-80%) y ésta es mayor en ausencia de suero cuando el colesterol del medio es retirado por completo. La co-incubación con colesterol no protege de la muerte inducida por Lov. El tratamiento prolongado con Lov disminuye la concentración de β A, pero solo baja el contenido de colesterol en las células incubadas sin suero e induce de forma importante la expresión del mRNA y de la proteína HMGCR. En ratas alimentadas por 5 días con 0.04% de Lov, también se presenta un aumento de la expresión de HMGCR en hígado, corteza. cerebelo e hipocampo, pero no disminuye el colesterol en tejidos cerebrales. **Conclusiones:** La Lov disminuye β A, pero aún en bajas concentraciones es neurotóxica para MSN. Induce la expresión de HMGCR en las células del SN tanto *in vivo* como *in vitro*, como un intento de las células por compensar la inhibición de la enzima, más que la disminución del colesterol.

MGT320

CHECKPOINT RECOVERY, UN MECANISMO QUE PERMITE LA PROGRESIÓN A MITOSIS EN CELULAS DE ANEMIA DE FANCONI ARRESTADAS POR DAÑO AL DNA NO REPARADO. ALFREDO RODRÍGUEZ¹, LEDA TORRES¹, ULISES JUÁREZ¹, DAVID SOSA¹, BENILDE GARCÍA¹, EDITH CORTÉS², ROCÍO ORTIZ², ANA M. SALAZAR³, PATRICIA OSTROSKY³, LUIS MENDOZA³ AND SARA FRIAS^{1, 3}. 1) DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN EN GENÉTICA HUMANA, INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA, MEXICO. 2) DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA SALUD, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA-IZTAPALAPA. 3) INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

La vía FA/BRCA repara los enlaces covalentes cruzados (ECC) en el DNA y su deficiencia causa anemia de Fanconi (AF), un síndrome de inestabilidad cromosómica que presenta pancitopenia y una frecuencia muy alta de aberraciones cromosómicas (AC) y rupturas de doble hebra (RDH). Aunque los puntos de monitoreo o "checkpoints" que detienen la transición G2/M en presencia de daño en el DNA se activan normalmente en las células con AF, los

mecanismos que permiten el escape de RDH no se conocen bien. Para evaluarlo presentamos un modelo computacional Booleano (MB) de la vía FA/BRCA y su validación experimental. De acuerdo con las predicciones del MB, las células AF se dividen con RDH no reparadas activando el mecanismo conocido como *Checkpoint Recovery*. Esto fue evaluado en una línea celular AF-A y una línea celular normal expuestas a MMC. Por citometría de flujo se detectó que las células AF-A se arrestan y acumulan en la fase G2/M, activan la fosforilación de la proteína CHK1 en la fase G2 e incrementan la expresión de p21, el blanco de p53 que bloquea la transición G2/M, lo cual permitiría a las células reparar el daño en el DNA, sin embargo las células AF llegan a metafase con un gran número de RDHs. Debido a que el *Checkpoint Recovery* subyace la capacidad que tiene una célula de dividirse después de un periodo de arresto, llevamos a cabo experimentos para obtener información sobre su función en las células con AF. Usando un ensayo de bloqueo de la citocinesis observamos que a pesar del arresto en G2 las células se dividen después del periodo de arresto de modo similar a las células normales. También observamos por RT-PCR en tiempo real que las células arrestadas retienen o incrementan la expresión de los genes del programa transcripcional de G2, los cuales activan el *Checkpoint recovery*, es decir Ciclina A2, Ciclin B1, FOXM1 y PLK1, incluso cuando las células presentaban RDHs. Estos datos sugieren que las células AF no tienen un control apropiado del *Checkpoint Recovery* y que lo activan incluso con una gran cantidad de daño sin reparar. El *Checkpoint Recovery* es un proceso que debe ser monitoreado y requiere investigación adicional debido a que puede subyacer la aparición de clones malignos en los pacientes con AF o en tumores con mutaciones en la vía FA/BRCA.

MGT323

FLIKY YAFE, PARTICIPAN EN LA FORMACIÓN DEL FLAGELO Y EN LA SÍNTESIS DE MENAQUINONA, RESPECTIVAMENTE Y ESTÁN INVOLUCRADOS EN LA ESTABILIDAD DEL GENOMA BACTERIANO. HERNÁNDEZ BE, SÁNCHEZ N, HERNÁNDEZ SL, ESPINOSA JJ Y CAMACHO R. DEPARTAMENTO DE MEDICINA GENÓMICA Y TOXICOLOGÍA AMBIENTAL. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM. CIRCUITO MARIO DE LA CUEVA S/N., CIUDAD UNIVERSITARIA. CP. 04510, MÉXICO, D.F. TELÉFONO:56229214.

Salmonella typhimurium (*Sty*) y *Escherichia coli* (*E.coli*) son organismos sintéticos, ya que sus genes se disponen de manera similar en el cromosoma, a pesar de 150 millones de años de divergencia evolutiva. Lo anterior, presupone la existencia de sistemas estabilizadores del genoma, adicionales a los de reparación del DNA, ya que los rearrreglos (en particular las inversiones) fácilmente romperían la estructura sintética. En el genoma de *Sty* se han descrito regiones en las cuales, secuencias repetidas invertidas pueden recombinar para formar inversiones, y otras donde no se permite el rearrreglo, como el intervalo *histidina-triptófano* (*his-trp*), sin embargo la mutación del gen *tus*, involucrado en replicación, lo hace permisivo. Utilizando este modelo, se generaron mutantes por transposición, en las cuales la restricción para la inversión en *his-trp* fue liberada, en una cepa *tus*⁺. Los genes candidatos de este fenotipo son *fliK* y *yafE*; *fliK* controla la longitud del flagelo y *yafE* codifica para una metiltransferasa en la síntesis de menaquinona. El objetivo de este proyecto es describir la participación de estas mutantes en eventos que involucran recombinación y replicación, mediante la evaluación de eventos de segregación de duplicación cromosomal y la cuantificación de eventos de inversiones cromosómicas. Los resultados mostraron un aumento en las frecuencias de segregación de la duplicación en las mutantes *yafE* y *fliK*, en ésta última, se observó un incremento dos veces mayor comparada con la cepa silvestre. Las frecuencias de los eventos de inversión en una cepa *tus*⁻ fueron de 26,000 *lac*⁺ estables en 1x10⁸ células, comparadas con 13 rearrreglos inestables en la cepa silvestre. En las mutantes *yafE* y *fliK* observamos eventos de inversión estables, los cuales fueron un orden de magnitud mayor, comparadas con la cepa silvestre. La sobrecarga con el gen *tus* en la mutante *fliK* tiene una repercusión importante, pues no se observó la presencia de colonias *lac*⁺ estables, este fenotipo se revierte al eliminar la sobrecarga. Estamos complementando estas mutantes, para determinar si los comportamientos observados en los ensayos de segregación de la duplicación y las frecuencias de inversiones cromosómicas son debido a la mutación en los genes *yafE* y *fliK* o son efectos polares.

MGT324

ESTUDIO DE LOS MECANISMOS ESTABILIZADORES DE LOS FACTORES R EN *SALMONELLA ENTÉRICA*. BELMAN-RAMOS, C, CASTAÑOS-SÁNCHEZ DE LA BARQUERA, C, ESPINOSA-AGUIRRE, J., CAMACHO-CARRANZA, R. DEPTO. DE MEDICINA GENÓMICA Y TOXICOLOGÍA AMBIENTAL.

Introducción. La fiebre tifoidea es una enfermedad infectocontagiosa de alta prevalencia a nivel mundial. *Salmonella enterica* Serovar Typhi (St) es el agente causante y a diferencia de *E. coli* (especie cercana), también coloniza a animales poiquilotermos como reptiles y peces. Actualmente la resistencia bacteriana a los antibióticos es un problema con origen endógeno o adquirido. Una forma de adquirir resistencia es incorporando plásmidos con genes de resistencia, también llamados factores R. Si bien St es capaz de incorporar *factores R* de *E. coli* y otras bacterias, datos epidemiológicos muestran que las cepas St clínicas aisladas, pierden la resistencia a antibióticos cuando no existe presión de selección, a una tasa mucho mayor que otras bacterias. Estudios de segregación de los *plásmidos R* pFEC59, pCOM69 y pHN32 de *E. coli* y transferidos a St, mostraron pérdida de los marcadores de resistencia antibióticos concomitantes a la pérdida de regiones en cada plásmido y previo a la pérdida del plásmido completo, evento que es dependiente de RecA. Se especula que estas regiones contienen elementos de estabilización, no obstante, se desconocen los exactamente mecanismos moleculares responsables de este fenómeno. **Hipótesis.** La inestabilidad que se observa en algunos plásmidos R de *E. coli* cuando son transferidos a St está determinada por regiones definidas presentes en estos mismos plásmidos. Estas regiones pudieran comportarse como sistemas de resolución de múltiplos capaces de ayudar a resolver las copias de los plásmidos en el momento de la división celular bacteriana. **Objetivo general.** Explorar los mecanismos a nivel molecular responsables de la inestabilidad de algunos plásmidos R de *E. coli* transferidos a St. Secuenciar alguno(s) de los plásmidos R inestables y buscar delimitar los fragmentos responsables de la inestabilidad. Construir mutantes de recombinación RecFOR y RecBCD para determinar el papel de estas vías en la inestabilidad. Determinar la generalidad del fenómeno con otros factores R. Analizar la inestabilidad en microaerofilia. Comprobar el nivel de tensión helicoidal del plásmido pMS01, en presencia o ausencia de las regiones estabilizadoras de los plásmidos R. **Resultados.** Se ha comenzado a estandarizar la técnica descrita por Eckhardt (1978) para la observación y caracterización por sitios de restricción de los factores R mencionados.

MGT325

SYSTEMIC NERVE GROWTH FACTOR MODULATES THE TRANSCRIPTION OF AMINO ACID TRANSPORTERS AND GLUTATHIONE (GSH) SYNTHESIS IN MICE STRIATUM. VALDOVINOS FLORES, C., GONSEBATT M.E. Y PETROSYAN P. DEPARTAMENTO DE MEDICINA GENÓMICA Y TOXICOLOGÍA AMBIENTAL, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO. APARTADO POSTAL 70-228, TEL./FAX: (015255) 56229179, (015255) 56229182; E-MAIL: MARGEN@SERVIDOR.UNAM.MX.

Nerve growth factor (NGF) is a member of structurally related proteins, named neurotrophins (NTs), that regulate neuronal survival, development, function, and plasticity. Moreover, NGF is an important activator of antioxidant mechanisms. These functions of NGF are mediated by the tropomyosin-related kinase receptor A (TrkA). There is evidence that NTs and their receptors are expressed also in visceral tissues. Physical exercise and stress increase levels of NGF in plasma. Using a murine model we have shown that systemic inhibition of GSH synthesis with L-buthionine-S-R-sulfoximine (BSO) increased brain GSH content and induced the transcription of *ngfb* in liver. Murine striatum cholinergic neurons express TrkA receptors thus, we investigated if an i.p. injection of BSO or of sodium arsenite (iAs) modulate the transcription of *ngfb* and *trka* as well TrkA phosphorylation in mouse striatum. Both agents induced the transcription of *ngfb* and *trka* as well TrkA phosphorylation. Also, BSO and iAs induced the activation of the NGF/TrkA pathway which correlated with an increased transcription of *xCT*, *LAT1*, *EAAC1* which are amino acid transporters genes that provide L-cys/L-cys₂ to central nervous system and of *GCLm* which participates in the de novo synthesis of GSH. The inhibition of TrkA phosphorylation by K252a or anti-NGF neutralizing antibody abrogated the transcription of *xCT*, *LAT1*, *EAAC1* and *GCLm* induced by BSO or iAs suggesting the participation of this pathway in the *in vivo* antioxidant response at least in striatum. Furthermore, since anti-NGF neutralizing antibodies would not cross the blood-brain barrier, our results suggest that NGF functions as a systemic redox-sensor in both CNS and peripheral tissues and that the NGF/TrkA pathway plays a critical role in the antioxidant response in the striatum in our murine model.
Supported by CONACYT 102287.

MGT327

CARACTERIZACIÓN DE LOS TERRITORIOS CROMOSÓMICOS EN LOS QUE SE ENCUENTRAN LOS GENES BCR Y ABL Y SU ASOCIACIÓN CON LA GENERACIÓN DE LA T(9;22). FABIÁN-MORALES E, LÓPEZ-SAAVEDRA A, GONZÁLEZ-BARRIOS R, LÓPEZ-NAVARRO OG, REYNOSO-NOVERÓN N, CASTRO-HERNÁNDEZ C, CADELARIA-HERNÁNDEZ M, SOTO-REYES E, HERRERA LA. UNIDAD DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN CÁNCER, INCAN-IIB UNAM.

Introducción: Las translocaciones cromosómicas se consideran un factor genético determinante en cáncer, sin embargo, su etiología es poco entendida. Uno de los mecanismos propuestos que puede influenciar la incidencia de translocaciones cromosómicas es la arquitectura nuclear, definida por territorios cromosómicos (TCs). Estos TCs se organizan en base a su actividad transcripcional y la conformación de la cromatina, que a su vez está regulada por elementos genéticos y epigenéticos. Existe una correlación entre la proximidad e interacción de estos TCs y la frecuencia de translocaciones cromosómicas. Un ejemplo relevante en leucemia mieloide crónica (LMC), es la translocación t(9;22), que provoca la fusión de los genes *BCR* y *ABL1*. Los loci de estos genes se han observado cercanos en células normales en interfase, sin embargo, no se ha evaluado la organización espacial ni los elementos que regulan los TCs involucrados en esta translocación. **Objetivo:** Caracterizar la distribución espacial e interacciones de los TCs, mediante microscopía de alta resolución. **Metodología:** Se emplearon linfocitos aislados de muestras de individuos sanos y la línea celular WI-38 (fibroblastos embrionarios de pulmón humano). Dichas muestras se procesaron para obtener cariotipo y la metodología de FISH modificado que se utilizó para con ello alterar lo menos posible la arquitectura del núcleo. Estas muestras se analizaron por microscopía de alta resolución (100nm). **Resultados:** Se determinó el cariotipo mediante citogenética convencional de linfocitos aislados a partir de sangre periférica de un individuo sano, cuyo cariotipo resultó normal y corresponde al sexo femenino (46,XX). El mismo resultado se definió para la línea celular WI-38. Se analizaron 50 núcleos y se hizo la reconstrucción tridimensional del núcleo en interfase, de lo cual obtuvimos medidas de la distancia real en tercera dimensión que existe entre los loci más cercanos de *BCR* y *ABL1* en ambas estirpes celulares. Se determinó que la distancia promedio entre alelos más cercanos en linfocitos es de 1.22 micras y en fibroblastos es igual a 2.16 micras. **Conclusiones:** Aún no podemos delinear determinaciones concluyentes, sin embargo, se presentan resultados preliminares que muestran diferencias comparativas entre una estirpe celular en la que comúnmente se encuentra la t(9;22) y la otra en las que nunca se ha reportado.

MGT329

MAD2-GAMMA, UNA NUEVA ISOFORMA INVOLUCRADA EN LA REGULACIÓN DE LA SEGREGACIÓN CROMOSÓMICA EN CÉLULAS CANCEROSAS. DOWNIE-RUIZ A, LÓPEZ-SAAVEDRA A, ANDONEGUI-ELGUERA M, PRADA-ORTEGA D, DÍAZ-CHÁVEZ J, MENDOZA-PÉREZ J, CÁCERES-GUTIERREZ R, SANTIBAÑEZ-ANDRADE M, CASTRO-HERNÁNDEZ C, HERRERA LA. UNIDAD DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN CÁNCER, INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA –INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM.

Introducción: MAD2 es una proteína importante en el punto de control del huso mitótico (PHM), el cual evita el inicio de la anafase hasta que todos los cromosomas estén alineados y unidos a los microtúbulos. Si el PHM falla se puede generar inestabilidad cromosómica, fenómeno muy común en tumores sólidos. En el 2006 se reportó la existencia de una isoforma generada por el proceso de empalme alternativo entre el exón 2 y el exón 4 de MAD2, llamada MAD2 β . MAD2 β se asoció a quimiorresistencia en líneas celulares de cáncer gástrico. Adicionalmente, en líneas celulares de cáncer colorrectal con distintos grados de inestabilidad cromosómica, como HCT116 y SW480, nosotros encontramos una nueva isoforma: MAD2 γ , resultante del empalme alternativo entre los exones 1 y 4 de MAD2. La función de esta isoforma es totalmente desconocida y en este trabajo se explora su posible asociación con la regulación de la segregación cromosómica. **Hipótesis:** La expresión diferencial de MAD2 γ está asociada a la regulación de la segregación cromosómica en la línea celular de cáncer colorrectal HCT116. **Objetivos:** 1- Estudiar el índice mitótico en la línea celular de cáncer colorrectal HCT116 que sobreexpresa la isoforma MAD2 γ . 2- Determinar la localización de la isoforma MAD2 γ a través del ciclo celular. 3 - Determinar la presencia de la proteína en línea celular HCT116. **Metodología:** Mediante RT-PCR se comparó la expresión de MAD2 γ entre las líneas celulares de cáncer colorrectal HCT116, SW480 y cultivos primarios de fibroblastos normales. Se analizó la relación de MAD2 γ con la regulación de la segregación cromosómica sobreexpresando MAD2 γ en las células HCT116 y estudiando el índice mitótico. Se transfectó a la proteína MAD2 γ -GFP para determinar su localización intracelular, así como para realizar ensayos de Western Blot utilizando anticuerpos contra GFP. **Resultados:** La expresión de la nueva isoforma, MAD2 γ es mayor en células normales y de cáncer con baja inestabilidad cromosómica. Adicionalmente, cuando

MAD2 γ es. Se ha logrado detectar a la proteína unida a GFP en ensayos de Western Blot y se ha llegado a ver presencia de la MAD2 γ tanto dentro como fuera del núcleo. Conclusión: La nueva isoforma de MAD2: MAD2 γ , parece tener un papel en la regulación de la segregación cromosómica induciendo un nivel menor detención en mitosis al ser sobreexpresada en células HCT116 expuestas a taxol.

MGT330

LAS VARIANTES DE SURVIVINA Y SU RELACIÓN CON LA MUERTE DE CÉLULAS MITÓTICAS. CÁCERES GUTIÉRREZ RE, ANDONEGUI ELGUERA MA, LÓPEZ SAAVEDRA A, PRADA DG Y HERRERA LA. UNIDAD DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN CÁNCER-INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA-INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

Antecedentes: El Punto de Monitoreo Mitótico (PMM) vigila que no ocurran errores en la segregación cromosómica. Algunos fármacos que perturban la dinámica de los microtúbulos inducen la activación prolongada de esta vía y provocan la muerte celular. La pausa resultante en el ciclo es conocida como arresto mitótico. Sin embargo, no se conoce la manera en que éstos inducen la muerte celular. Se ha propuesto que el antagonismo entre las señales pro y anti-apoptóticas define el desenlace del arresto mitótico. **El objetivo** de este trabajo fue determinar la relación de la Survivina y de sus variantes 2B y Δ ex3 con la muerte por arresto mitótico en células HCT116. **Materiales y Métodos:** Se determinó el índice mitótico mediante la tinción y conteo de las células con eosina y azul de metileno. La muerte celular fue evaluada por citometría de flujo. La dinámica del arresto mitótico y muerte fue analizada mediante el seguimiento de los cultivos en video-microscopía de fluorescencia. Se determinó la localización intracelular de las proteínas estudiadas usando anticuerpos específicos contra cada una de ellas. Fueron detectadas en *Western blot* con los mismo anticuerpos. Se usó RT-PCR para determinar la expresión de sus mensajeros. **Resultados:** En células tratadas con taxol, el índice mitótico disminuyó a medida que aumentó el porcentaje de células muertas. El análisis en video de estas células reveló una variedad previamente inesperada en la morfología de la muerte inducida por arresto mitótico: algunas células mostraron características de muerte apoptótica, mientras que otras de necrosis. Observamos que en interfase, Survivina Δ ex3 se localiza en el nucleolo y Survivina 2B en el núcleo. Descubrimos que los niveles de Survivina Δ ex3 disminuyen considerablemente al inicio de la anafase y que Survivina 2B se localiza en centrosomas de profase a anafase y después se relocaliza en el anillo contráctil en la citocinesis. Observamos que ni Survivina 2B ni Δ ex3 regresan a su localización normal de interfase después del arresto mitótico. Éstas tampoco co-localizan con las mitocondrias en células control ni en células tratadas con taxol. **Conclusiones:** 1) La muerte celular inducida por taxol es más variable de lo previamente observado. 2) La participación de las isoformas de Survivina 2B y Δ ex3 en la mitosis podría haber sido subestimada por las técnicas mediante las cuales se ha explorado. 3) Survivina Δ ex3 podría ser degradada por la vía Complejo Promotor de la anafase-Proteosoma. Dado que la degradación de Survivina Δ ex3 en el nucleolo está relacionada con su actividad anti-apoptótica, el tratamiento con taxol podría promover la muerte celular a raíz de que Survivina Δ ex3 no se localiza en nucleolos en células que se liberan del arresto mitótico.

MGT331

EXPOSICIÓN GESTACIONAL A CARCINÓGENOS AMBIENTALES. UN ESTUDIO PILOTO. JORGE ALFONSO MACIEL RUIZ¹, PAVEL PETROSYAN¹, MARÍA GUADALUPE VELOZ MARTÍNEZ, EDITH DANNY MOLINA SERVÍN¹, MARLENE ERÉNDIRA PACHECO CÁCERES, MARÍA E. GONSEBATT¹. ¹DEPARTAMENTO DE MEDICINA GENÓMICA Y TOXICOLOGÍA AMBIENTAL, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO. ²DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN DE LA UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD, HOSPITAL DE GINECO OBSTETRICIA 3 CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL.

La exposición gestacional se asocia a una mayor susceptibilidad para desarrollar enfermedades cardiovasculares, metabólicas y cáncer en la vida adulta. En la Zona Metropolitana de la Ciudad de México (ZMCM) se emiten más de 300 mil toneladas de contaminantes al año entre ellos se encuentran los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) que se generan por la combustión incompleta de la materia orgánica: madera, leña, gasolinas, tabaco, etc. El aire urbano y humo del tabaco contienen importantes cantidades de estos compuestos carcinogénicos sin embargo su presencia no se mide en el sistema de monitoreo de calidad del aire de la ZMCM. Se ha reportado que los habitantes jóvenes de la ZMCM tienen niveles más elevados de aductos en ADN por HAP en la época del año en donde la emisión de material particulado (PM) es mayor, sugiriendo que parte de los HAP se encuentran adheridos a las PM. Realizamos un estudio piloto para medir niveles de aductos tipo "bulky" o abultados en el ADN de recién nacidos y

sus madres para investigar si la contaminación por PM se puede asociar con una mayor exposición gestacional a agentes potencialmente carcinogénicos que se encuentran adheridos a ellas. El nivel de aductos detectados en estos niños es dos a tres veces superior al detectado en sus madres. Dado el reducido número de muestras analizadas hasta el momento no hemos encontrado asociaciones con otros biomarcadores, sin embargo, nuestros hallazgos sugieren que los recién nacidos son una población muy sensible a los agentes ambientales que inducen aductos abultados en ADN, como los HAP, y que este daño podría tener repercusiones en su calidad de vida y en la atención médica que requerirá en el transcurso de la misma.

MGT337

MODELO NO INVASIVO PARA AYUDAR A DETECTAR EL RIESGO DE PADECER CÁNCER DE MAMA. MARTÍNEZ-RAMÍREZ O.C., RUBIO J. DEPARTAMENTO DE MEDICINA GENÓMICA Y TOXICOLOGÍA AMBIENTAL. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS.

Introducción. El cáncer de mama (CaMa) es la neoplasia con mayor incidencia y mortalidad para las mujeres del mundo, incluyendo las de nuestro país. Existen diversos factores de riesgo asociados con este cáncer, siendo el principal la exposición a estrógenos endógenos y/o exógenos. En esta investigación estudiamos el papel que juegan en la etiología del cáncer de mama los polimorfismos CYP1A1 rs1048943, CYP1B1 rs1056836, COMT rs4680, GSTP1 rs1695, GSTT1*0 y GSTM1*0, los cuales se presentan en genes involucrados en la vía catecol del metabolismo de los estrógenos. **Objetivo.** Determinar si leucocitos tratados *in vitro* con 17β-E₂ son capaces de producir los biomarcadores de riesgo: 4-OHE₂ y aductos de gran tamaño ("bulky adducts"), y también determinar si existe diferencia en la producción de estos dos biomarcadores en leucocitos que presenten los polimorfismos CYP1A1 rs1048943, CYP1B1 rs1056836, COMT rs4680, GSTT1*0, GSTM1*0 y GSTP1 rs1695 comparándolos con leucocitos que no presenten estas variantes alélicas. **Diseño experimental.** Se tomaron 30 mL de sangre periférica de dos mujeres, posteriormente se aislaron los leucocitos los cuales tenían las siguientes combinaciones: Mujer 1: "Combinación de polimorfismos de riesgo": (CYP1A1 Val/Val; CYP1B1 Val/Val, COMT Met/Met, GSTP1 Val/Val y GSTT1*0). Mujer 2: "Combinación de polimorfismos de no riesgo": (CYP1A1 Ile/Ile; CYP1B1 Leu/Leu, COMT Val/Val, GSTP1 Leu/Leu, GSTT1*1). Ambas combinaciones de leucocitos ("Combinación de polimorfismos de riesgo" y "Combinación de polimorfismos de no riesgo") se trataron con 100 nM de 17β-E₂ durante 12 horas. Determinamos los niveles del mRNA por RT-PCR, la producción del metabolito mutagénico y carcinogénico 4-CE₂ mediante la técnica de HPLC y MS. Los aductos formados los determinamos por la técnica de post-marcaje con ³²P. **Resultados.** Obtuvimos mayores niveles del metabolito 4-OHE₂ en los leucocitos con la "Combinación de polimorfismos de riesgo" (CYP1A1 Val/Val; CYP1B1 Val/Val, COMT Met/Met, GSTP1 Val/Val y GSTT1*0) comparados con los leucocitos que tenían la "Combinación de polimorfismos de no riesgo" (CYP1A1 Ile/Ile; CYP1B1 Leu/Leu, COMT Val/Val, GSTP1 Leu/Leu y GSTT1*1). Los niveles de aductos de gran tamaño ("bulky adducts") encontrados fueron significativamente diferentes en los leucocitos con la "Combinación de polimorfismos de riesgo" (CYP1A1 Val/Val; CYP1B1 Val/Val, COMT Met/Met, GSTP1 Val/Val y GSTT1*0) comparados con los leucocitos que tenían la "Combinación de polimorfismos de no riesgo" (CYP1A1 Ile/Ile; CYP1B1 Leu/Leu, COMT Val/Val, GSTP1 Leu/Leu y GSTT1*1). **Conclusión.** Este trabajo presenta por primera vez un modelo no invasivo que permite obtener resultados diferenciales en dos biomarcadores de riesgo para padecer cáncer de mama. Estas diferencias estuvieron relacionadas con la combinación de polimorfismos presentes en los leucocitos con la "Combinación de polimorfismos de riesgo" (CYP1A1 Val/Val; CYP1B1 Val/Val, COMT Met/Met, GSTP1 Val/Val y GSTT1*0) comparados con los leucocitos que tenían la "Combinación de polimorfismos de no riesgo" (CYP1A1 Ile/Ile; CYP1B1 Leu/Leu, COMT Val/Val, GSTP1 Leu/Leu y GSTT1*1).

MGT338

CARACTERIZACIÓN DE LOS TERRITORIOS CROMOSÓMICOS EN LOS QUE SE ENCUENTRAN LOS GENES BCR Y ABL Y SU ASOCIACIÓN CON LA GENERACIÓN DE LA T(9;22). FABIÁN-MORALES E, LÓPEZ-SAAVEDRA A, GONZÁLEZ-BARRIOS R, LÓPEZ-NAVARRO OG, REYNOSO-NOVERÓN N, CASTRO-HERNÁNDEZ C, CADELARIA-HERNÁNDEZ M, SOTO-REYES E, HERRERA LA. UNIDAD DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN CÁNCER, INCAN-IIB UNAM.

Introducción: Las translocaciones cromosómicas se consideran un factor genético determinante en cáncer, sin embargo, su etiología es poco entendida. Uno de los mecanismos propuestos que puede influenciar la incidencia de translocaciones cromosómicas es la arquitectura nuclear, definida por territorios cromosómicos (TCs). Estos TCs

se organizan en base a su actividad transcripcional y la conformación de la cromatina, que a su vez está regulada por elementos genéticos y epigenéticos. Existe una correlación entre la proximidad e interacción de estos TCs y la frecuencia de translocaciones cromosómicas. Un ejemplo relevante en leucemia mieloide crónica (LMC), es la translocación t(9;22), que provoca la fusión de los genes *BCR* y *ABL1*. Los loci de estos genes se han observado cercanos en células normales en interfase, sin embargo, no se ha evaluado la organización espacial ni los elementos que regulan los TCs involucrados en esta translocación. **Objetivo:** Caracterizar la distribución espacial e interacciones de los TCs, mediante microscopía de alta resolución. **Metodología:** Se emplearon linfocitos aislados de muestras de individuos sanos y la línea celular WI-38 (fibroblastos embrionarios de pulmón humano). Dichas muestras se procesaron para obtener cariotipo y la metodología de FISH modificado que se utilizó para con ello alterar lo menos posible la arquitectura del núcleo. Estas muestras se analizaron por microscopía de alta resolución (100nm). **Resultados:** Se determinó el cariotipo mediante citogenética convencional de linfocitos aislados a partir de sangre periférica de un individuo sano, cuyo cariotipo resultó normal y corresponde al sexo femenino (46,XX). El mismo resultado se definió para la línea celular WI-38. Se analizaron 50 núcleos y se hizo la reconstrucción tridimensional del núcleo en interfase, de lo cual obtuvimos medidas de la distancia real en tercera dimensión que existe entre los loci más cercanos de *BCR* y *ABL1* en ambas estirpes celulares. Se determinó que la distancia promedio entre alelos más cercanos en linfocitos es de 1.22 micras y en fibroblastos es igual a 2.16 micras. **Conclusiones:** Aún no podemos delinear determinaciones concluyentes, sin embargo, se presentan resultados preliminares que muestran diferencias comparativas entre una estirpe celular en la que comúnmente se encuentra la t(9;22) y la otra en las que nunca se ha reportado.

MGT339

PAPEL DE LA PROTEÍNA MAD2 EN LA RESPUESTA A QUIMIOTERAPIA EN LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER GÁSTRICO. BARGIELA IPARRAGUIRRE J, LOPEZ SAAVEDRA A., SANCHEZ PEREZ I., ALONSO HERRERA L. UNIDAD DE INVESTIGACIÓN BÁSICA-INCAN-IIB UNAM / INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS -IIB- CSIC UAM.

Introducción: La proteína MAD2, componente esencial del punto de control de mitosis, es una de las muchas proteínas con una expresión desregulada en Cáncer Gástrico. La disfunción en este punto de monitoreo puede llevar a una mitosis errónea, es decir, por un lado la célula puede acumular o perder cromosomas (aneuploidia) o en cambio puede sufrir una catástrofe mitótica, lo que le conduciría a apoptosis. Dada la alta tasa de células aneuploides en Cáncer Gástrico lo que a su vez se correlaciona con un mal pronóstico de la enfermedad, la proteína MAD2 podría en un futuro ser un posible biomarcador de pronóstico y de respuesta a quimioterapia, ya que en otros tipos de cáncer alteraciones en la expresión de esta proteína se han relacionado con cambios en la respuesta a fármacos. **Objetivo:** estudiar el papel de MAD2 en la respuesta a quimioterapia en dos líneas celulares de cáncer gástrico. **Metodología:** Se emplearon las líneas celulares de cáncer gástrico ST2957, MKN48 para primero medir la expresión de MAD2 por RT-PCR comparándolo con una línea control (tejido sano). Se disminuyó la expresión de Mad2 empleando shRNAs que fueron transfectadas con lentivirus y se volvió a medir la expresión con la técnica de RT-PCR. Se realizaron ensayos de viabilidad, proliferación y clonogenicidad utilizando la técnica de cristal violeta comparando las líneas celulares transfectadas con las no transfectadas. Se estudiaron los ciclos celulares mediante la técnica de citómetro de flujo. Se realizó el ensayo de cierre de herida en el que por medio de microscopía en vivo, time-lapse, se midió el % de cierre de la herida. **Resultados:** En primer lugar, se vio que efectivamente la proteína Mad2 está sobreexpresada en ambas líneas celulares. La disminución de expresión de Mad2 en ambas líneas llevó a una disminución en la capacidad de formación de colonias y a un menor % de cierre de la herida, en cambio no varió la curva de crecimiento. Por otro lado la disminución de la expresión de MAD2 hizo que ambas líneas celulares fueran más sensibles al tratamiento con Taxol y Nocodazol, con claro aumento en el % de células apoptóticas. **Conclusiones:** Una disminución de la expresión de MAD2 disminuye la capacidad migratoria y de formación de colonias en las líneas celulares ST2957 y MKN45, y sensibiliza al tratamiento de Taxol y Nocodazol. Estos indicios ponen en el punto de mira a MAD2 como una proteína a estudiar en futuros ensayos como biomarcador celular de cáncer gástrico.

MGT340

EL ARSÉNICO PRODUCE CAMBIOS BIOQUÍMICOS AL MODULAR GENES ASOCIADOS A ENFERMEDADES METABÓLICAS. FLORES-DORANTES MA. TERESA¹, MENDOZA-LORENZO PATRICIA¹, NAVA-SALAZAR SONIA¹, RAMOS-ESPINOSA PAULINA¹, SALAZAR ANA MARIA¹, CEBRIÁN ARTURO², CEBRIÁN MARIANO E³, GARCÍA-VARGAS GONZALO², VILLARREAL-MOLINA MA. TERESA⁴, OSTROSKY-WEGMAN PATRICIA¹. ¹DEPARTAMENTO DE MEDICINA GENÓMICA Y TOXICOLOGÍA AMBIENTAL, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, MEXICO, D.F. ²FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD JUÁREZ DEL ESTADO DE DURANGO, GÓMEZ PALACIO, DURANGO, MEXICO. ³SECCIÓN EXTERNA DE TOXICOLOGÍA, CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL IPN (CINVESTAV), MEXICO D.F. ⁴LABORATORIO DE GENÓMICA DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES, INSTITUTO NACIONAL DE MEDICINA GENÓMICA, MEXICO, D.F.

Antecedentes. El hidroarsenicismo es un fenómeno frecuente que en estudios epidemiológicos ha mostrado estar asociado a la inducción de diabetes. Para entender esta asociación nos enfocamos en el efecto del arsénico (As) en 2 genes que se han asociado a enfermedades metabólicas en población mexicana. La variante R230C/ABCA1 se ha asociado tanto a menores niveles séricos de C-HDL como a DMT2 y a un mayor índice de masa corporal (IMC). Por otro lado, se ha reportado que el arsénico modula la resistencia a insulina dependiente de SNP's del gen CAPN10; el SNP InDel19 de este gen ha sido asociado con DMT2, y con un mayor IMC. El propósito de este trabajo fue comparar la correlación entre los niveles de As en orina con los niveles séricos de C-HDL, glucosa y otros parámetros bioquímicos de acuerdo a distintos genotipos para las variantes R230C/ABCA1 e InDel 19/CAPN10 en una población abierta de 400 individuos de la Región Lagunera, expuesta a As por el agua de bebida. Se calcularon correlaciones de Pearson de acuerdo al genotipo, y se buscaron interacciones gen-As en orina utilizando modelos lineales. Los datos fueron ajustados por edad, género, IMC y concentraciones de arsénico en orina, cuando fue necesario. **Resultados.** El alelo 33 de InDel19/CAPN10 y la variante R230C/ABCA1 se asociaron significativamente y de manera independiente con menores niveles séricos de C-HDL ($P = 0.025$ y $P = 0.001$, respectivamente). Se encontró además un efecto aditivo de estas variantes ($P = 0.001$). Además, en individuos con el genotipo 33 (inDel19) la correlación entre los niveles de As en orina y los niveles de C-HDL fue negativa, mientras que en individuos con genotipos 32 y 22 la correlación fue positiva, aunque la interacción no alcanzó significancia ($P_{interac} = 0.09$), probablemente por el tamaño reducido de la muestra. Por otro lado, se observó una correlación negativa entre los niveles de glucosa y los niveles de As en orina, únicamente en individuos con la variante R230C ($P_{interac} = 0.019$). **Conclusiones.** Los datos obtenidos indican la existencia de una asociación InDel19/CAPN10 a niveles plasmáticos bajos de C-HDL en población abierta, así como el efecto aditivo en este fenotipo de C-HDL bajas de la variante R230C e InDel 19. Contrario a lo esperado, se observó una correlación negativa de R230C con las concentraciones plasmáticas de glucosa, dependiente de arsénico. Estos resultados indican el posible papel del arsénico como modulador en la homeostasis del colesterol y de la glucosa tanto en CAPN10 como ABCA1.

MGT341

CUANTIFICACIÓN DEL EVENTO DE INVERSIÓN EN CEPAS MUTANTES DE *SALMONELLA* TYPHIMURIUM LT2, COMPLEMENTADAS CON LOS GENES *FLIK* Y *YAF*E. SÁNCHEZ JN^{*,**}, HERNÁNDEZ BE^{*}, HERNÁNDEZ SL^{*}, ESPINOSA JJ^{*}, CAMACHO R^{*}. UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS, UAGRO^{**}. DEPARTAMENTO DE MEDICINA GENÓMICA Y TOXICOLOGÍA AMBIENTAL, IIB, UNAM^{*}.

Introducción. El genoma de las especies procariotas *Escherichia coli* y *Salmonella entérica serovar Typhimurium* (*Sty*), son sinténicos, es decir la disposición de los genes en sus cromosomas es similar, por lo que el mapa genómico entre ambas especies es a su vez compartido en varias regiones (50% y 70% de sus genes son ortólogos) (Dobrindt *et al.*, 2003). Se estima que *E. coli* y *Sty* divergen de un ancestro común hace ~100-150 millones de años (Ochman y Wilson 1987), lo anterior, supone la existencia de mecanismos que estabilizan el genoma y explican por qué están evolutivamente conservados. La formación de rearrreglos genómicos ocasiona la pérdida de la sintenia, principalmente las inversiones. En el genoma de *Sty* se han descrito regiones permisivas y no permisivas para la formación de inversiones (Roth *et al.*, 1994) por lo cual se generaron cepas mutantes de *Sty* por transposición, en donde la restricción para la inversión fue liberada; los genes candidatos son *fliK* y *yafE*. *FliK* es una proteína involucrada en el control de la longitud del gancho en la estructura del flagelo (Kojima y Blair, 2004) y *yafE* codifica una metiltransferasa que participa en la síntesis de menaquinona (Lin y Kuritzkes, 1987). Para corroborar la participación del gene *fliK* se complementó a estas cepas de *Sty* mediante el plásmido pTrc99a portador del gen *fliK* (González *et al.*, 2002). Para corroborar la participación de *yafE* se aplicará la misma estrategia, para lo cual se

clonará el gen. **Objetivo.** Clonar *yafE* en la cepa mutante de *Sty* y cuantificar el evento de inversión. **Metodología.** Se amplificara el gen *yafE* mediante PCR, para lo cual se diseñaran primers. Posteriormente se realizara un reamplificación con primers que tengan sitios de restricción para clonar el fragmento generado en el vector pTrc99a (González *et al.*, 2002). **Conclusiones.** Actualmente estamos realizando la clonación del gen *yafE*, y probando la complementación del gen *fliK*. Cuantificaremos el evento de inversión en las cepas mutantes complementadas con *fliK* y *yafE* respectivamente.

MGT342

PAPEL DE CTCF EN LA TRANSCRIPCIÓN DE NCRNAS DE CENTRÓMERO. VÍCTOR DEL CASTILLO FALCONI, RODRIGO GONZÁLEZ BARRIOS, ERNESTO SOTO-REYES, LUIS A. HERRERA. UNIDAD DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN CÁNCER - INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA - INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO; D.F., MÉXICO. VDCFALCONI@GMAIL.COM

El factor nuclear CTCF es una proteína capaz de unirse aproximadamente a más de 55 mil sitios cercanos a promotores y enhancers en el genoma humano de manera tejido específico. CTCF participa como proteína aisladora determinando los dominios cromosómicos, delimitando regiones de eucromatina y heterocromatina. Durante la división celular, CTCF se ha observado unido al cromosoma metafásico marcando los *loci* donde se hereda su localización, como es el caso de los genes improntados y el centrómero. Se ha propuesto que CTCF tiene una función reguladora y estructural en el aparato mitótico ya que forma parte del complejo cohesina, en centrómero, en centrosoma y en el anillo contráctil. En el cromosoma metafásico, el centrómero está flanqueado por grandes bloques de heterocromatina constitutiva en las regiones pericentroméricas. La alta compactación del centrómero se ha descrito como esencial para que se lleve a cabo una buena segregación de los cromosomas. A nivel epigenético se caracteriza por un alto grado de metilación del DNA, marcas de histonas asociadas a la apertura y compactación de la cromatina que fomentan la transcripción de RNAs no codificantes (ncRNA), necesarios para la formación del complejo centrómero/cinetocoro. Debido a esto, nuestro interés se centra en conocer si CTCF favorece la transcripción de los ncRNAs presentes en centrómero. Por medio de inmunofluorescencias se evidenció la unión de CTCF al cromosoma metafásico, mediante ensayos de inmunoprecipitación de la cromatina (ChIP) se caracterizó la presencia de CTCF y marcas de histonas en la cromatina centromérica, tanto en células no neoplásicas Wi38 y en líneas celulares de cáncer colorrectal HCT116. Los resultados del ChIP sugieren un mayor enriquecimiento de CTCF en células mitóticas, comparadas con las interfásicas. Al evaluar la expresión del transcrito codificado en repetidos del satélite alfa y satélite 2, se observó la presencia de dicho transcrito en células mitóticas. Estos datos nos sugieren que la función del transcrito en el centrómero es de carácter estructural y su transcripción es favorecida por la presencia de CTCF.

MGT343

ESTUDIO DE LA REGULACIÓN POR EL lncRNA TERRA EN LA RECUPERACIÓN TELOMÉRICA DE UN MODELO DE CÉLULAS CANCEROSAS. OLIVA-RICO DA, GONZÁLEZ-BARRIOS R, FABIÁN-MORALES E, HERRERA LA. UNIDAD DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN CÁNCER, INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA-INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM.

La longitud telomérica está regulada por marcas epigenéticas que modulan, entre otras cosas, la expresión de la subunidad catalítica de la telomerasa. Los telómeros y las regiones sub-teloméricas están enriquecidas en marcas asociadas a heterocromatina constitutiva. Éstas son esenciales para el mantenimiento de la integridad de los telómeros y por ende para la estabilidad genómica, pero existe otro tipo de regulación dependiente de ncRNA. Este es el caso del lncRNA TERRA, un componente necesario para la integridad telomérica, por lo que se dice que contrarresta la inestabilidad cromosómica en la que se presentan puentes anafásicos, fusión de cromátidas hermanas, regiones multi-teloméricas, etc. Dicha inestabilidad conduce a aberraciones cromosómicas que pueden establecer una clona celular maligna. Pero para que esto se lleve a cabo debe haber un proceso de recuperación telomérica en el que el complejo ribonucleoprotéico telomérico sea estabilizado de nuevo. Por esta razón resulta importante estudiar el papel que el lncRNA TERRA desempeña en la estabilización del telómero y cómo su mal funcionamiento puede dar origen a un proceso carcinogénico. Se seleccionaron las regiones teloméricas a evaluar revisando las bases de datos de la Universidad de California Santa Cruz (UCSC). Se escogió al brazo corto del cromosoma 5, donde se codifica la telomerasa, para dicho análisis. Se buscaron elementos característicos de

secuencias promotoras cerca del telómero como la presencia del factor nuclear CTCF y de la Polimerasa II, marcas de histonas asociada a promotores (H3K4me3 y H3K4me1), sitios potenciales de inicio de la transcripción (TSS) y secuencias con potencial de enhancer. **Material y Métodos:** Se trabajó con líneas del mismo linaje celular, K-562 y SC, para tener un modelo celular canceroso y un control de células no-neoplásica respectivamente. Para sintetizar cDNA a partir de RNA proveniente exclusivamente de secuencias teloméricas se estandarizó una retrotranscripción en donde los oligonucleótidos usados son complementarios para la secuencia (CCCTAA)_{x5}. A partir del cDNA con repetidos teloméricos se estandarizó el protocolo de PCR. Se prepararon metafases tratando los cultivos celulares con colcemida y se usó una sonda peptídica pan-telomérica para la hibridación fluorescente in situ (FISH) de las metafases obtenidas. **Resultados:** Se comprobó que el brazo corto del cromosoma 5 es uno de los que codifica para TERRA, además se confirmó que el TSS predicho era el correcto y se verificó que solo hubiera amplificación proveniente de la hebra codificante para el lncRNA TERRA. Se necesita verificar la concentración del TERRA proveniente de 5p en ambas líneas celulares, así como evaluar la longitud telomérica en ambas por medio de Q-FISH.

MGT347

CONSTRUCCIÓN DE UNA FUSIÓN CYP1A1-GFP PARA LA EVALUACIÓN DE ALIMENTOS COMO MODULADORES DE LA EXPRESIÓN DEL CITOCROMO P450 EN HUMANOS. *CÓRDOVA G, ESPINOSA JJ, CAMACHO R. DEPARTAMENTO DE MEDICINA GENÓMICA Y TOXICOLOGÍA AMBIENTAL, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.*

Introducción. Los citocromos son hemoproteínas encargadas del metabolismo de un gran número de moléculas, entre ellas xenobióticos como drogas, pesticidas, procarcinógenos, anestésicos, solventes orgánicos y promutágenos. Varios fármacos como antidepresivos, antimicrobianos, agentes quimioterapéuticos, antipsicóticos o antiepilépticos, modulan la expresión de los citocromos; también se ha reportado que alimentos como la uva, la toronja o el brócoli y condiciones del organismo como obesidad o fumar crónicamente afectan la expresión de los citocromos, disminuyéndola o aumentándola. Esto repercute en la capacidad del organismo para metabolizar diversos compuestos, dependiendo del ambiente al que esté sometido. La mayor parte de la búsqueda de moduladores de citocromos está enfocada a xenobióticos o fármacos, pero no a alimentos, siendo estos últimos los que consumimos todo el tiempo y podrían afectar constantemente nuestra capacidad de metabolizar distintas sustancias. Además el principal citocromo estudiado es CYP3A4 ya que metaboliza el 60 % de los fármacos consumidos, sin embargo CYP1A1 es uno de los principales bioactivadores de procarcinógenos y no hay una cantidad notable de información respecto a su modulación. **Objetivo.** Construir una fusión CYP1A1-GFP para realizar un tamizaje que nos permita identificar rápida y fácilmente los compuestos que modifiquen la expresión de los citocromos CYP1A1. **Metodología.** Se va a establecer una línea celular hepática humana que exprese establemente la fusión citocromo-GFP. Para ello se obtendrán amplicones a través de PCRs que fusionen el último exón del citocromo con la proteína GFP y a su vez esta construcción ligarla al 3'UTR del citocromo. Cuando se fusionen estos tres elementos se van a introducir en un lentivirus para transfectarlos en las células hepáticas humanas inmortalizadas, y se identificará por FACS aquellas células que hayan integrado en su genoma la construcción. Posteriormente se probará con diversos compuestos, principalmente alimentos, si son capaces de inducir o no la expresión de los citocromos, indicada por la proteína reportera GFP. **Bibliografía.** Cozza, K. Armstrong, S. The cytochrome P450 system drug interaction principles for medical practice. American Psychiatric Publishing. 2001.

MGT350

SALIVARY PROTEOME VARIATIONS IN PEDIATRIC PATIENTS WITH RHABDOMYOSARCOMA USING 2D PAGE. *DOZAL DAVID SALOMÓN, ZENTELLA ALEJANDRO, OLAYA ALBERTO, REYES HORACIO, CÁRDENAS ROCÍO. INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN, INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA.*

Introduction: Rhabdomyosarcomas (RMS) are the most common soft tissue sarcomas in childhood, representing approximately 70% of mesenchyme malignant neoplasms. It can affect a wide range of organs. To date there are no specific molecular markers that allow a noninvasive identification. Saliva is particularly useful in pediatric diseases due to its complex array of peptides and proteins as well as its abundance and accessibility. Using proteomics we wanted to solve and identify variations in protein patterns that show cellular changes distinctive in this neoplastic process. **Objective:** Identify variations in saliva protein patterns that show cellular changes distinctive in RMS.

Methods: We recruited non-stimulated saliva samples from 15 patients with RMS and 15 healthy controls. Entry criteria: age <11 years, histological subtype alveolar and embryonal. All saliva samples were processed by 2-D Clean up. For the analysis, we generated a 2D PAGE pool of each group that contained triplicated samples of each subject, at the end the pools were evaluated with 2D PAGE and DIGE. The data obtained from each spot, after using both methods, was validated by a mean expression. With this we were able to create an in silico model that allowed us to compare the distribution of each protein represented in each proteome. The spots that showed changes between the two groups were excised, and their protein identity was confirmed with MALDI TOF. **Results:** The median age was 6 (3-11) years. We detected 1775 spots, 1473 of these were equally expressed in the control and case proteomes; 288 spots decreased their expression and 14 increased their expression ($p=0.007$). 3 spots were identified exclusively in RMS's patients, the three of which corresponded to proteins related with cell-cell adhesion after using MALDI-TOF. **Conclusion:** Our results show that there are significant differences in protein arrays in RMS and that these variations can be identified in saliva. The bidimensional protein patterns allow a complete screening and a collective analysis of the entire proteome, a crucial step in this analysis is to identify which spots correspond to proteins and which not. The proteins identified correspond to previous reported protein associated in other tumors.

MGT351

LA MUERTE CELULAR DESPUÉS DE UN ARRESTO MITÓTICO: EL PAPEL DE BUB1 Y SURVIVINA. ANDONEGUI-ELGUERA M.A., CÁCERES-GUTIÉRREZ R., LÓPEZ-SAAVEDRA A., PRADA D., HERRERA LA. UNIDAD DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN CÁNCER, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM, INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA.

El punto de monitoreo mitótico (PMM) es un mecanismo que evita la progresión de la mitosis hasta que los cinetocoros de cada cromosoma se unan a microtúbulos. Diferentes fármacos utilizados en quimioterapia activan al PMM al alterar la polimerización de microtúbulos provocando la prolongación de la mitosis. Después de una mitosis prolongada, las células cancerosas pueden morir en mitosis, en la interfase consecuente o sobrevivir. Sin embargo, los factores que determinan que las células sobrevivan o mueran no son bien conocidos. Bub1 y Survivina son proteínas que participan en el PMM y en diferentes procesos dentro de la mitosis. Por otra parte, ambas proteínas están involucradas en la regulación de la muerte celular en diferentes modelos. En este trabajo hemos estudiado el papel de ambas proteínas en la regulación de la muerte celular después de una mitosis prolongada. Utilizando células HCT116 (carcinoma de colon) tratadas con paclitaxel 100 nm, hemos demostrado que hay heterogeneidad en el destino de las células arrestadas en mitosis. Utilizando video microscopía, es posible observar que la muerte celular puede presentarse en mitosis o en interfase, mientras que algunas células pueden liberarse del arresto y sobrevivir. Después de una mitosis prolongada, algunas células presentan un patrón de localización de Bub1 en focos nucleares, mientras que los niveles de la proteína se mantienen. Como se ha propuesto, estos focos podrían ser parte de complejos que inhiban la muerte celular. En el caso de Survivina, no existe un cambio de localización a través de la detención mitótica, sin embargo, si existe una disminución de los niveles de la proteína que coinciden con la aparición de células positivas para TUNEL y con la disminución del índice mitótico. Por lo tanto, la disminución de los niveles de Survivina y el cambio de localización de Bub1 correlacionan con el inicio de la muerte celular y podrían estar afectando el balance entre muerte y supervivencia celular después de una mitosis prolongada.

Agradecimientos: PAPIIT (IN213311-3), CONACYT (83959).

MGT353

CARACTERIZACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE *CALB2* EN LESIONES ODONTOGÉNICAS QUÍSTICAS. PÉREZ ALEJANDRO, DOZAL DAVID, ALDAPE BEATRIZ, LOPEZ ALBERTO, ZENTELLA ALEJANDRO. INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN, INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICIÓN, INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA.

Introducción: El Ameloblastoma es un tumor benigno de origen epitelial localmente agresivo cuyo diagnóstico puede confundirse con el Tumor Odontogénico Queratoquístico (TOQ) debido a que ambos presentan patrones clínicos, radiográficos e histológicos similares, lo que convierte a estas dos entidades en un reto diagnóstico. Por tal motivo, la identificación de biomarcadores moleculares con utilidad diagnóstica cobra relevancia para entender, caracterizar y diagnosticar entre las diferentes entidades patológicas. Investigaciones proponen a la calretinina (*CALB2*) como proteína útil en el diagnóstico diferencial de los diferentes tipos de Ameloblastoma y TOQ. Sin embargo, actualmente, la identificación de *CALB2* por inmunohistoquímica (técnica de baja especificidad) ha sido

insuficiente y controversial. Recientes estudios de genética funcional brindan mayor certidumbre y entendimiento en el comportamiento de proteínas identificadas en ciertos procesos patológicos. **Objetivo:** Caracterizar la expresión diferencial del ARNm para el gen Calb2 en muestras de Ameloblastoma vs TOQ. **Metodología:** Se realizaron cortes de 15 μ m a biopsias embebidas en parafina y se extrajo ARN de los mismos por método de columna. Se amplificó por qRT-PCR el gen de interés CALB2 y el gen constitutivo RPL13A. **Resultados:** Para los casos de los ameloblastomas, la media del ciclo de amplificación (Ctm) de CALB2 fue de 32.28 y de 28.23 para RPL13A, en cambio en los TOQs el Ctm de RPL13A fue de 30.98 - 1.86 sin la manifestación de amplificación de CALB2. **Conclusiones:** Nuestros resultados ponen de manifiesto la posible utilidad de la calretinina como biomarcador de apoyo al diagnóstico diferencial entre TOQ vs Ameloblastoma.

MGT355

ASOCIACION DE LOS POLIMORFISMOS *CYP1A1*2C*, *GSTT1*0*, *GSTM1*0*, *GSTP1 Ile105Val* CON EPOC EN UNA MUESTRA DE POBLACIÓN MEXICANA. MORALES BECERRIL KARLA JENESSES, OLLIN CELESTE MARTÍNEZ RAMÍREZ, RUBIO LIGHTBOURN JULIETA. LABORATORIO No. 3, C-247 DEL DPTO. DE MEDICINA GENÓMICA Y TOXICOLOGÍA AMBIENTAL, IIB, UNAM.

Las Enfermedades Pulmonares Obstructivas Crónicas (EPOC) son una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en países desarrollados La organización mundial de la salud las reporta como la cuarta causa de muerte a nivel mundial, pero, se estima que se convertirá en la tercera causa para el año 2020 (WHO). En México se encuentra entre la 4° y 6° causa de muerte en ambos sexos. (INER, 2010). El daño causado en los pulmones por la exposición al humo del cigarro, puede estar asociado a los polimorfismos en los genes involucrados en el metabolismo de xenobióticos (Gaspar, 2003). El polimorfismo CYP 1A1*2C, se encuentra en 15q 22-24, en el exón 7 del gen que corresponde al sitio catalítico de la proteína y esta variante alélica está asociada con un aumento en la actividad de la enzima. (Kawajiri, 1999). Las deleciones *GSTM1*0* y *GSTT1*0* impiden la expresión de la proteína funcional (Vineis *et al.*, 1999). El polimorfismo *GSTP1* se encuentra en la posición 11q13.2, es un intercambio de Isoleucina por Valina en el codón 105, este polimorfismo puede aumentar o disminuir la actividad enzimática de acuerdo al sustrato (Zimniak *et al.*, 1994). **Objetivo:** Determinar la asociación de los polimorfismos *CYP1A1*2C Ile462Val*, *GSTT1*0*, *GSTM1*0*, *GSTP1 Ile105Val* con el riesgo de padecer EPOC en una muestra de población mexicana. **Avances y conclusiones:** Se realizó un muestreo piloto en población mexicana con la finalidad de determinar una frecuencia alélica preliminar de estos polimorfismos, con estas frecuencias se calculó del número de individuos necesario para un estudio de casos y controles. Hasta el momento se han recolectado 250 muestras de pacientes con EPOC provenientes del INER (Sangre periférica extraída por punción venosa). A cada una de las muestras se le extrajo el DNA por el método de precipitación con fenol-cloroformo, una vez extraído el DNA se confirmó su pureza, integridad y concentración. Para los polimorfismos *GSTM1*0* y *GSTT1*0* se han genotipificado 130 muestras, y para el polimorfismo *GSTP1 Ile105Val* 30 muestras.

MGT358

EFFECTO DE LOS NANOTUBOS DE CARBONO DE PARED SIMPLE (SWCNT) EN LA FRECUENCIA CARDIACA DE EMBRIONES DE PEZ CEBRA (*DANIO RERIO*). LEVARIO V., ARELLANO R.O., GUADARRAMA B., BARAJAS C., HERNÁNDEZ S.L., ESPINOZA J.J., CAMACHO R. DEPARTAMENTO DE MEDICINA GENÓMICA Y TOXICOLOGÍA AMBIENTAL. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM. CIRCUITO MARIO DE LA CUEVA S/N., CIUDAD UNIVERSITARIA. CP. 04510, MÉXICO, D.F. TELÉFONO: 56229214.

Estudios recientes han demostrado el potencial toxico, en los ambientes acuáticos, de los nanomateriales manufacturados; sin embargo, es necesario determinar los mecanismos de acción, dosis dependencia e impacto sobre las especies acuáticas. En particular es de interés el estudio de la toxicidad de los nanotubos de carbón (CNTs) por su producción masiva y múltiples aplicaciones, para ello se ha utilizado como modelo los embriones del pez cebra (*Danio rerio*). Se ha reportado que los CNTs de pared simple (SWCNT) se aglomeran en condiciones básicas de pH en agua y presentan afinidad hacia el corión de los embriones del pez cebra. Mediante microscopia electrónica se determinó que los conglomerados de SWCNT alcanzan el orden de los micrómetros, mientras que los poros del corion de los embriones de pez cebra son medidos en nanómetros. Es nuestro interés determinar si la presencia de los SWCNT puede modificar la fisiología de los peces en formación, considerando los argumentos expuestos. Este trabajo tiene como objetivo evaluar las frecuencias cardiacas como un parámetro general fisiológico de los embriones del pez cebra en presencia de nanotubos de carbono de pared simple (SWCNT). Sugerimos que los

aglomerados de nanotubos de carbono de pared simple (SWCNT) dificultan el intercambio con el medio al bloquear los poros de corion, por lo que la frecuencia cardíaca se verá modificada. Se obtuvieron nanotubos de carbono de pared simple (SWCNT) manufacturados por deposición de vapor químico catalizador. Los SWCNT se emplearon a concentración de 20 µg / mL y fueron dispersados por sonicación durante 15 minutos en agua de acuario. Los embriones obtenidos a partir de la fecundación fueron separados y puestos en placas de 24 pozos, ubicando 3 embriones por pozo, en presencia o ausencia de los SWCNT, en 2 mL de agua de acuario. Los resultados obtenidos muestran una disminución en las frecuencias cardíacas en presencia de nanotubos de carbono. Una propuesta exploratoria es que los nanotubos de carbono modifican la disponibilidad de oxígeno para el embrión al afectar la estructura del poro del corión. Este estudio sugiere que el corion es una barrera efectiva de protección, pero también sugiere que los SWCNT no son inocuos en los ambientes acuáticos.

MGT362

EXPRESIÓN Y RELEVANCIA TERAPÉUTICA DE LAS PROTEÍNAS DE CHOQUE TÉRMICO HSP90 ALFA Y HSP90 BETA EN CÁNCER RENAL. RANGEL NA, CORTES CC, JIMÉNEZ MA, PÉREZ MD, DÍAZ JL, CANTÚ D Y HERRERA LA. UNIDAD DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN CÁNCER DEL IIB-UNAM, INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA.

Introducción. En años recientes, el carcinoma renal (CR) ha tenido poca respuesta con quimioterapia e inmunoterapia, en donde, el desarrollo de fármacos que inhiban vías de proliferación ofrecen una esperanza en la terapia clínica. En éste aspecto, los inhibidores de las proteínas de choque térmico de 90kDa (Hsp90), han mostrado tener un efecto anti-tumoral en una gran diversidad de carcinomas. La regulación de Hsp90 por sus proteínas "cliente" oncogénicas, como Akt/mTOR/HIF-1 α explica en gran medida, el mecanismo de acción de estos iHsp90. Recientemente, nuestro grupo de investigación, demostró que las isoformas Hsp90 alfa y Hsp90 beta, activan de manera diferencial a sus proteínas "cliente". **Objetivo.** Analizar el perfil de expresión de las proteínas Hsp90 alfa y Hsp90 beta en pacientes con CR y evaluar *in vitro*, su posible implicación en la selectividad anti-tumoral del inhibidor de Hsp90, 17-DMAG. **Metodología.** Se realizó la selección de casos clínicos de CR de 20 pacientes, diagnosticados y validados mediante estudios histopatológicos. Con el material seleccionado (área renal neoplásica y adyacente al tumor) se realizaron ensayos de inmunohistoquímica y de Western blot para las proteínas Hsp90 alfa y Hsp90 beta. La implicación funcional de las isoformas de Hsp90 en pacientes con CR se evaluó mediante estudios de proliferación y de inhibición de las Hsp90, empleando el 17-DMAG, en líneas celulares de tejido normal y de cáncer: HEK-293 y ACHN, respectivamente. Finalmente, en cada grupo de células se evaluó el perfil de expresión de las proteínas Hsp90 alfa y de Hsp90 beta, y de sus proteínas efectoras, Akt, mTOR y HIF-1 alfa. **Resultados.** Nuestros resultados muestran que existe un patrón de expresión diferencial de las proteínas Hsp90 alfa y Hsp90 beta, en pacientes con CR, dependiente de parámetros clínicos, como la clasificación histopatológica del CR y el estadio de la enfermedad. Los estudios "in vitro" evidencian que un perfil de expresión diferencial de las proteínas Hsp90 alfa y Hsp90 beta, tiene una implicación directa sobre el perfil de expresión y de activación de sus proteínas efectoras involucradas en la vía de proliferación Hsp90/Akt/mTOR. **Conclusión.** Los hallazgos obtenidos proponen que el perfil de expresión de las proteínas Hsp90 alfa y Hsp90 beta dictamina la selectividad anti-proliferativa del 17-DMAG, vía Hsp90/Akt en pacientes con CR.

MGT363

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LAS PROTEÍNAS DE CHOQUE TÉRMICO DE 90KDA, HSP90 α Y HSP90 β , EN LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN AKT/GSK3 β / β -CATENINA EN LÍNEAS CELULARES DE CARCINOMA CERVICAL. MORALES SG, CORTES CC, PÉREZ C, Y HERRERA LA. FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES DE IZTACALA-UNAM Y UNIDAD DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN CÁNCER DEL IIB-UNAM, INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA.

Introducción. b-catenina es una proteína citoplasmática que regula las uniones adherentes intercelulares importantes en la morfogénesis y el desarrollo de algunos tipos de tumor y metástasis. Recientemente, mediante un análisis de expresión en biopsias de pacientes con cáncer cervico-uterino (CaCu), nuestro grupo de investigación identificó genes con niveles de expresión aberrantes implicados en la vía de señalización de b-catenina. Considerando que b-catenina y su cinasa inactivante GSK3-b se describen como proteínas "cliente" de la proteína de choque térmico 90 kDa alfa/beta (Hsp90a/b); en donde, la inactivación por fosforilación de GSK3- β es mediado por la cinasa Akt, también proteína "cliente" de Hsp90, los estudios de microarreglos justifican la necesidad de nuestro estudio a fin de validar nuestra hipótesis donde, Hsp90a/b regulan de manera diferencial la vía b-catenina. **Objetivo.** Identificar un patrón diferencial de expresión y de localización entre Hsp90a y Hsp90b en la vía Akt/GSK-3b/b-catenina en líneas celulares de carcinoma cervical. **Metodología.** Empleando líneas celulares de CaCu: SiHa,

HeLa, CaSki y C33a, se obtuvieron extractos de proteínas totales y de compartimentos celulares. Mediante Western blot se obtuvo el perfil de expresión y de localización celular de Hsp90 total, Hsp90 α y Hsp90 β y de sus proteínas "cliente" involucradas en la vía de señalización en estudio. **Resultados y Conclusiones.** Nuestros resultados muestran que Hsp90 total es sobre-expresada de manera indiferente en las líneas celulares CaCu, con respecto a la línea celular control no neoplásica, HaCaT. De manera interesante, el patrón de expresión de las isoformas Hsp90a y Hsp90b fue diferente, identificándose 3 patrones asociados a sus proteínas "cliente": 1) En HeLa se encontró que tanto Hsp90a, Akt y b-catenina son expresadas principalmente en núcleo, sugiriendo la activación de la vía de proliferación mediada por b-catenina y evasión de apoptosis por la traslocación de Akt a núcleo. 2) En CaSki se observó una mayor expresión de b-catenina en membrana, brindando un fenotipo más invasivo de esta línea; y 3) En C33a se observó baja expresión de b-catenina pero una alta de Akt en membrana, sugiriendo una alta activación de la cinasa Akt. La sobre-expresión de Hsp90b se encontró en las líneas celulares de CaSki y C33a, mientras que en SiHa y HeLa la expresión fue menor.

Unidades De Apoyo



Leyvitec

LEYVITEC LABORATORIOS, S.A. DE C.V.

LEYVITEC LABORATORIOS es una empresa cien por ciento mexicana con más de 13 años de experiencia en la venta y comercialización de toda clase de instrumentos para laboratorios de investigación, educativos, clínicos e industriales, así como equipos de Alta tecnología y mobiliario para laboratorio.

Nuestro personal altamente capacitado y con experiencia en el mercado, ofrecen el más alto nivel de servicio, así como apoyo técnico en todas las áreas de su laboratorio.

Con una visión de crecimiento, somos distribuidores autorizados de líneas de alta calidad y tecnología ideales para resolver las necesidades de su laboratorio y sus productos.

Leyvitec Laboratorios, se pone a sus órdenes ofreciéndole:

- *Venta de equipos, materiales y reactivos para laboratorio.*
- *Servicio de mantenimiento preventivo y correctivo.*



LEYVITEC LABORATORIOS, S.A. DE C.V.

mail: leyvitec@prodigy.net.mx

www.leyvitec.com

Tels. 52-20-02-71

53-42-51-44

52-39-65-11

UDA349

UNIDAD DE PROCEDIMIENTOS PREPARATIVOS Y DE ACCESO A SERVICIOS DE PROTEÓMICA DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS. MORA SILVIA IVONNE¹, BENÍTEZ JULIA MARIANA², GÓMEZ HUMBERTO³, GUTIÉRREZ-OSPINA GABRIEL¹, ESPINOZA BERTHA². ¹UPASPRO-SECRETARÍA TÉCNICA, ²DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, ³UNIDAD DE SERVICIOS DE APOYO A LA INVESTIGACIÓN DE LA FACULTAD DE QUÍMICA. UNAM.
Correspondencia: sivonnemor@biomedicas.unam.mx.

La naciente Unidad de Procedimientos Preparativos y Acceso a Servicios de Proteómica (UPASPro) del Instituto de Investigaciones Biomédicas tiene como objetivos fundamentales el contribuir al fortalecimiento de la investigación y a la formación de recursos humanos, ofreciendo a los grupos de investigación servicios de alta calidad y apoyo técnico a la comunidad científica universitaria, en términos del procesamiento de muestras proteicas para su futura caracterización y análisis mediante espectrometría de masas. Esto último en conjunción con la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación de la Facultad de Química. La principal meta es lograr establecer un laboratorio de servicios altamente especializados y certificados de calidad reconocida tanto a nivel nacional como internacional. Actualmente hemos comenzado la primera etapa que consiste en implementar las técnicas manuales, necesarias, que permitan la Identificación de proteínas mediante ultra cromatografía líquida de alto rendimiento (UPLC) acoplada a espectrometría de masas el cual incluye la fragmentación inducida por colisión y fuente de ionización por electro-aspersión y analizador tiempo del tiempo de vuelo (ESI-MS^e-TOF). Por el momento iniciamos las labores procesando muestras provenientes del grupo de investigación de la Dra Bertha Espinoza. Extractos totales sonicados de *Trypanosoma cruzi*, cepa Querétaro, fueron separadas por SDS-PAGE. Posteriormente se cortaron cuatro fragmentos y se realizó la técnica de digestión trípica de proteínas in-gel. Los péptidos extraídos se analizaron por UPLC-ESI-MS^e-TOF. La identificación de proteínas se realizó mediante PLGS utilizando la base de datos uniprot-trypanosomatidae. Entre las proteínas para la especie *T. cruzi* que se lograron identificar se encuentran la deshidrogenasa, Tubulina alfa y beta, tirosina aminotransfrasa glutamato deshidrogenasa, factor de elongación 1 α , enolasa, prostaglandina F2 α sintasa, proteína HSP70 y factor de elongación 2. Muy pronto estará adecuado el espacio designado para la UPASPro y podremos ofrecer mejores y mayores servicios a la comunidad del Instituto. Los costos dependerán del tipo de procesamiento utilizado, considerando la auto-sustentabilidad y competitividad de la unidad.

Carteles Premiados

Por Departamento

INOLAB
Especialistas



AHORA tu mejor alternativa para los productos:



IN CELL Analyzer

Analizador de Imágenes que integra la microscopía, citometría de flujo y screening de células vivas o fijadas.



Cámaras de Electroforesis de 1 y 2 Dimensiones



Biacore T200 Interacción Molecular



Tarjetas FTA Extracción de DNA Y RNA



Filtros DT X Micro filtración



GE Healthcare
Distribuidor Autorizado



Whatman®
By GE

Unidos hacemos la Diferencia

Porque la exigencia de la industria nos formó,
ofrecemos **LO MEJOR A LA INVESTIGACIÓN**

Soluciones integrales en:

- Genómica
- Proteómica
- Biología Celular
- Ingeniería de Servicio ISO 17025
- Consumibles



PROTEÓMICA

- Equipos y consumibles para electroforesis Bidimensional
- Equipos y consumibles para cromatografía de baja y mediana presión
- Equipo para determinar y medir parámetros de interacción entre macromoléculas ó iones BIACORE

BIOLOGÍA CELULAR

- Equipos para Imagenología de células vivas ó fijadas
- Productos para aislamiento de células por medio de Gradientes (Percoll-Ficoll)
- Kits para ELISA

GENÓMICA

- kits para extracción, purificación y ampliación de ácidos nucleicos
- Enzimas para PCR y RT-PCR
- Espectrofotómetros



GE Healthcare



www.inolab.com
Tel. (55) 55242429 Fax.(55) 55349135



Biología Celular y Fisiología

FERNANDA VARGAS ROMERO (LICENCIATURA)

Tutor: Dr. Gabriel Gutiérrez Ospina



Efecto de la histamina en la formación de la vía nigroestriatal durante el desarrollo del mesencéfalo ventral de rata

Vargas-Romero F., Escobedo-Avila I., Gutiérrez-Ospina G., Velasco I.

Instituto de Investigaciones Biomedicas-Biología Celular y Fisiología, Instituto de Fisiología Celular-Neurociencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.-04510, México.

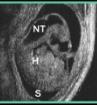
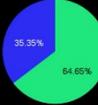


INTRODUCCIÓN

Durante el desarrollo embrionario, un evento fundamental para la formación del mesencéfalo (Mes), es la generación de neuronas dopaminérgicas (DA) durante los días 8 al 15 (E8-E15). Estas neuronas formaran entre E12 y E18 la vía nigroestriatal. La histamina (HA) en el adulto, tiene funciones como neurotransmisor/neuromodulador, mientras que durante el desarrollo embrionario, en el Mes, la HA presenta altas concentraciones entre E14-E16 y su función es desconocida. Este incremento coincide con la mayor producción de neuronas en esta región en E14. En el sistema nervioso central, la HA activa receptores (RH₁, RH₂) acoplados a proteínas G. Se ha mostrado mediante hibridación *in situ* que a partir de E14, los tres receptores se expresan en el cerebro en desarrollo, sin embargo no se ha estudiado su presencia en días previos, ni la identidad de las células que los expresan. Previamente, demostramos que la HA disminuye la diferenciación dopaminérgica mediante la activación del RH₁. En este trabajo se analiza la expresión de los tres receptores histaminérgicos a diferentes estadios de la neurogénesis en Mes. Posteriormente, se analizó un posible efecto de la HA sobre los precursores neurales y sobre la diferenciación dopaminérgica. También se analizó el efecto de la administración de HA sobre la formación de la vía nigroestriatal, encontrando una disminución y desorganización de las fibras dopaminérgicas.

MATERIALES Y METODOS



RESULTADOS

LA EXPRESIÓN DE RECEPTORES HISTAMINÉRGICOS DURANTE EL DESARROLLO DEL MES SE MANTIENE HOMOGÉNEA PARA RH₁ Y SE CONCENTRA EN LA PARTE DORSAL PARA RH₂ Y RH₃

A) RH₁ / Nestin / Hoechst

B) RH₂ / Nestin / Hoechst

C) RH₃ / Nestin / Hoechst

D) RH₁ / β III-Tubulina / Hoechst

E) RH₂ / β III-Tubulina / Hoechst

F) RH₃ / β III-Tubulina / Hoechst

Figura 1. Expresión de RH₁, RH₂ y RH₃ durante 4 diferentes etapas del desarrollo del Mes. (A) Existe una expresión continua y homogénea de RH₁ durante la formación de Mes y que en las primeras etapas (E12 y E14) coincide con las células Nestin+ (verde). Sin embargo, conforme el desarrollo avanza, la co-expresión de este receptor con las neuronas β III-Tubulina+ (verde a E16 y E18) no se observa. Por otro lado, a lo largo del desarrollo del Mes de rata, la expresión de RH₂ y RH₃ (B y C) se dorsaliza. Además, estos receptores colocalizan con las células Nestin+ (E12 y E14) y β III-Tubulina (E16 y E18) en etapas tempranas y tardías de la neurogénesis, respectivamente. Barra de escala de 500 μ m.

LA ADICIÓN DE HISTAMINA EN E12 AFECTA LA FORMACIÓN DE LA VIA NIGROESTRIATAL ANALIZADA EN E18

Vehículo

HA

ST

SN

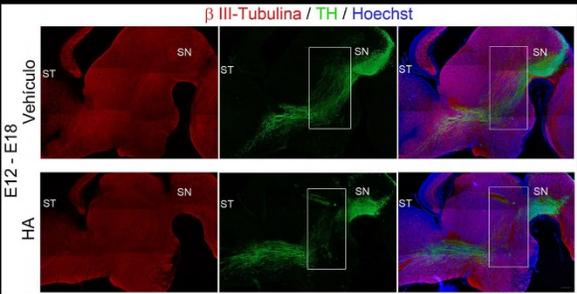


Figura 3. Análisis de la formación de la vía sustancia nigra-estriado al inyectar HA en E12. Al administrar vehículo en el cerebro de embriones de E12 y permitir el desarrollo del cerebro por 6 días mas, se puede observar la formación de la vía nigro-estriatal. En contraste, la inyección de HA causó una disminución en el número de proyecciones y una alteración notoria en la organización de estas fibras en su camino al estriado (recuadro). Barra de escala de 500 μ m.

APOYADO POR DGAPA, UNAM (PAPIIT IN208713) Y CONACYT (131281)

LA HA EJERCE SU FUNCIÓN EN LOS PROGENITORES DOPAMINÉRGICOS Y NO EN LAS NEURONAS DIFERENCIADAS.

E10-E12

E12-E14

E14-E16

Vehículo

Histamina

Vehículo

Histamina

Vehículo

Histamina

Biología Molecular y Biotecnología

TONATIUH BARRIOS GARCÍA (DOCTORADO)

Tutor: Dr. Alfonso León Del Río



G0S24 UN NUEVO CO-REPRESOR DEL RECEPTOR DE ESTROGENOS ALFA (REα) QUE FUNCIONA COMO SUPRESOR TUMORAL.

*Barrios Tonatihu, *Tecalco Ángeles, *Gómez Vania, *Meneses Iván, *Carmona Sandra, *García Eduardo, *Chávez Enrique, *León-Del-Río Alfonso.
*Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. Programa de Investigación de Cáncer de Mama e-mail: tonabarríos@yahoo.com, leon@biomedicas.unam.mx.



INTRODUCCION

El receptor de estrógeno alfa (REα) media los efectos de la hormona 17-β estradiol en el tejido mamario normal y en tumores de cáncer de mama (1). Al unir su ligando el REα cambia su estructura y expone dos regiones con actividad transcripcional, denominadas AF-1 y AF-2. El dominio AF-2 funciona como una "puerto de anclaje" para complejos activadores o represores de la transcripción que incluyen enzimas con actividad de acetil transferasa de histonas (p160, RIP-140) (2) o de deacetilación de histonas (NCoR y SMRT) (3) respectivamente. El dominio AF-1 media la actividad transcripcional independiente de ligando del REα y juega un papel importante en la activación del REα por factores de crecimiento (4). Estas vías de señalización están involucradas en el desarrollo y progresión de tumores de cáncer de mama. Sin embargo el mecanismo responsable de la actividad transcripcional de AF-1 se desconoce, aunque se propone involucra el reclutamiento de diferentes factores celulares. En el laboratorio mediante un ensayo doble híbrido identificamos a G0S24 como una proteína asociada a AF-1.

HIPOTESIS

La proteína G0S24 modifica la actividad de transactivación del REα uniéndose de manera específica al dominio AF-1 de este receptor en células derivadas de cáncer de mama.

OBJETIVOS

1.-Determinar la localización celular de G0S24 y el REα. 2.-Confirmar la interacción *in vivo* de G0S24 y el REα. 3.-Determinar si G0S24 tiene un efecto sobre la actividad transcripcional del REα. 4.-Evaluar el efecto de G0S24 sobre genes regulados por estrógenos. 5.-Determinar si G0S24 se asocia a otros complejos proteicos. 6.-Establecer si la asociación de G0S24 y el REα tiene un efecto biológico sobre la proliferación celular y crecimiento de tumores en un modelo murino.

MATERIAL Y MÉTODOS

1.-Plásmidos (pCDNA3.1/REα, 2XERE-Tk-Luc, pCMV3Tag1a/G0S24, pGEX4T1, pCMXFlag/HDAC's 1, 2, 3 y 7) 2.-Doble híbrido en levadura. 3.-Ensayos de transfección transitoria y expresión estable, en células MCF7. 4.-Inmunofluorescencia confocal. 5.-Purificación de proteínas recombinantes, TNT y ensayos de Pull-down. 6.-Co-inmuno precipitaciones y Western blot. 7.-Inmuno precipitación de la cromatina (ChIP). 8.-Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). 9.-Proliferación celular. 10.-Crecimiento de xenotransplantes humanos en ratones nu/nu. 11.-Análisis estadísticos (Prueba estadística de "t-test").

RESULTADOS

Ensayos de microscopía confocal identificaron a G0S24 en el citoplasma y núcleo celular en donde co-localiza con el REα (Fig 1iv). La interacción de G0S24 y REα *in vitro* e *in vivo* en células MCF7 fue confirmada mediante ensayos de "pull-down" y co-inmuno precipitación de proteínas (Fig 2). Utilizando transfección transitoria en células MCF7 demostramos que la expresión de G0S24 regula negativamente la transactivación del REα (Fig 3B). Ensayos de co-inmuno precipitación de cromatina (ChIP) confirmaron que G0S24 es un co-represor *bona fide* del REα que es reclutado a la región promotora de genes regulados por estradiol (Fig 4 A y B). El efecto co-represor de G0S24 sobre el REα es mediado por el reclutamiento de enzimas con actividad de de-acetilación de histonas (HDACs) (Fig 5A, B y C). Fisiológicamente la expresión de G0S24 disminuye la proliferación de células MCF7 y su capacidad para formar tumores en un modelo murino (Fig 6A, B, C y D).

DISCUSIÓN y CONCLUSIÓN

La proteína G0S24 se localiza en citoplasma y en el núcleo de las células humanas. Sin embargo, solo ha sido caracterizada su función citoplasmática regulando la degradación de mRNAs de genes que codifican para proteínas involucradas en la inflamación (TNFα) (5), carcinogénesis (VEGF) (6), y tumorigénesis (c-Myc y NF-kB) (7,8). Estos estudios han identificado a G0S24 como un nuevo co-represor de receptores hormonales nucleares. El efecto represor de G0S24 sobre la actividad del REα es mediado por el reclutamiento de HDAC's a la región promotora de genes regulados por estradiol. Fisiológicamente G0S24 juega un papel relevante en la regulación de procesos celulares dependientes de estradiol como la proliferación celular y el desarrollo tumoral, dos de las funciones asociadas al REα en el cáncer de mama. El efecto de G0S24 en la inhibición de proliferación celular y en la capacidad de células MCF7 para desarrollar tumores sugieren que este co-represor funciona como un supresor tumoral a través de modular negativamente la actividad del REα. En este trabajo proponemos que la expresión de G0S24 en células de glándula mamaria puede tener un papel importante impidiendo el desarrollo y progresión de tumores de cáncer de mama.

BIBLIOGRAFIA

- Jordan VC. "Studies on the estrogen receptor in breast cancer" 20 years as a target for the treatment and prevention of cancer. Breast Cancer Research and Treatment. Kluwer Academic Publishers; 1995:267-285.
- Green KA, Carroll JS. Nat Rev Cancer. Nature Publishing Group (2007) 7:713-722.
- Privratsky ML. Annual Review of Physiology, Annual Reviews (2004) 66:315-360.
- Ligfrent L, Fisher JE, Wei N, Scafornas A, Su Q, Yuchkovitz J, et al. Molecular Endocrinology. (2006) 20 516-20533.
- Carballo E, Lai WS, and Blackshear PJ. Science (1998) 281, 1001, 1005.
- Delphine Clais, Nadia Cheradi et al. Oncogene (2004) 23, 8673-8680.
- Jian Liang, Tianhua Lei et al. JBC (2009) 43, 29383-29390.
- M Marderosian, A Sharma et al. Oncogene (2006) 25, 6277-6290.

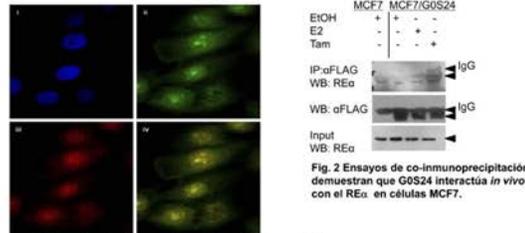


Fig. 1 Co-localización del REα y la proteína G0S24 en el núcleo de células MCF7. i) DAPI, ii) α-REα, iii) α-G0S24, iv) Merge.

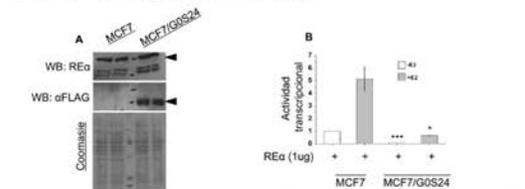


Fig. 3 La expresión estable de G0S24 reprime la actividad del REα en células MCF7. A) Western Blot mostrando expresión de REα y G0S24 en células MCF7, B) Actividad transcripcional del REα en células control (MCF7) y en presencia de G0S24 (MCF7/G0S24).



Fig. 4 Co-inmuno precipitación de la cromatina (ChIP) demuestra que G0S24 es reclutada al promotor de genes blanco del REα. A) ChIP de G0S24 sobre el promotor de pS2, B) Amplificación del ARNm de pS2 por RT-PCR muestra que la presencia de G0S24 (MCF7/G0S24) en el promotor de este gen disminuye su transcripción en comparación con células control (MCF7)

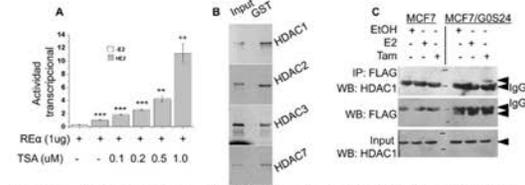


Fig. 5 La proteína G0S24 reprime la actividad del REα a través del reclutamiento de HDACs. A) El fármaco TSA libera la represión del REα mediada por G0S24, B) Interacción *in vitro* de G0S24 con HDACs y C) Interacción *in vivo* de G0S24 con HDAC1.

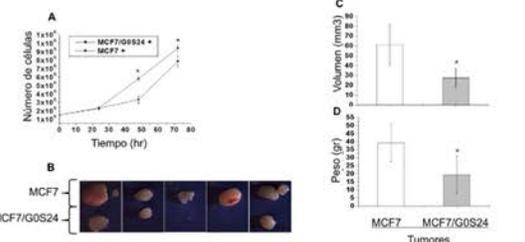


Fig. 6. La proteína G0S24 disminuye la velocidad de proliferación de células MCF7 y su capacidad para formar tumores en ratones atímicos. A) Velocidad de proliferación de células control (MCF7) y células que expresan G0S24 (MCF7/G0S24). B) Tumores producidos en ratones nu/nu por el trasplante de células control (MCF7) y células MCF7/G0S24. C y D) Volumen y peso relativo de los tumores descritos en B.

DIANA ROCIO HERRERA ACO (MAESTRIA)

Tutor: Dra. Gladis Fragoso González



EFFECTO INMUNOMODULADOR DE LA α -MANGOSTINA EN UN MODELO DE ARTRITIS MURINA

Herrera DR^{1,2}, Rosas G³, Cervantes J¹, Arellín G³, Hernández B⁴, Sciutto E¹, Fragoso G¹.

¹Departamento de Inmunología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México.

³Facultad de Medicina, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

⁴Departamento de Ingeniería de Tejidos e Inmunoterapia, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.



RESUMEN

Introducción: La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmune que se asocia a una respuesta Th1 y Th17 exacerbada y a la producción de autoanticuerpos dirigidos contra componentes propios de la articulación. Se ha propuesto que puede ser controlada por la inducción de células T reguladoras (Treg). Los fármacos que se utilizan actualmente para su control presentan efectos adversos importantes. La α -mangostina posee efectos antiinflamatorios y antioxidantes potencialmente, aunque no se conocen los procesos bioquímico-inmunológicos en los que subyacen estos efectos.

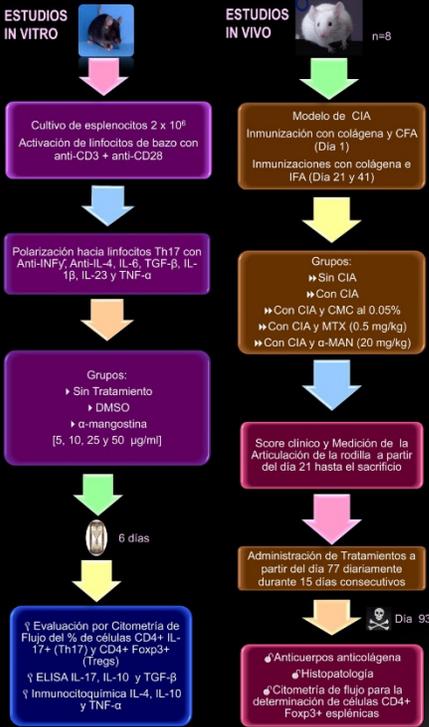
Objetivo: Evaluar el efecto anti-inflamatorio de la α -mangostina en la AR a través de la disminución de citocinas proinflamatorias y/o de la generación de células con un fenotipo regulador.

Materiales y Métodos: Se realizó la polarización de células hacia Th17 *in vitro* y se determinó por citometría de flujo la capacidad de distintas concentraciones de α -mangostina de desviarla hacia un subtipo Treg. Se utilizó el modelo de artritis inducida por colágena (CIA) en ratones CD1. Se manejaron cinco grupos: sin CIA, con CIA, CIA y carboximetilcelulosa (CMC) al 0.05%, CIA y metotrexato (MTX) y CIA y α -mangostina (α -MAN). La actividad antiinflamatoria se evaluó cuantificando la severidad clínica de la artritis, el aspecto histopatológico de las articulaciones, los niveles de anticuerpos anticóligena IgG1 e IgG2a y de células Tregs esplénicas.

Resultados: La α -mangostina presentó una mayor capacidad de desviar la polarización de células activadas de un fenotipo Th17 hacia un fenotipo T regulador con la consecuente disminución de IL-17 y TNF- α e incremento de TGF- β a partir de concentraciones de 5 μ g/ml en ensayos *in vitro*. *In vivo*, el α -mangostina presentó un mejor efecto antiinflamatorio que el metotrexato en el modelo de CIA según la evaluación histopatológica que se acompañó con una disminución de anticuerpos anticóligena IgG2a y aumento discreto de células Tregs esplénicas.

Perspectivas: Realizar estudios adicionales para continuar determinando los mecanismos moleculares y celulares a través de los cuales el α -mangostina ejerce su capacidad anti-inflamatoria que incluyan su efecto sobre el estrés oxidativo, las poblaciones Th1, Th17 y Treg y el sistema inmune innato que participan de manera importante en la AR.

MATERIALES Y MÉTODOS



RESULTADOS

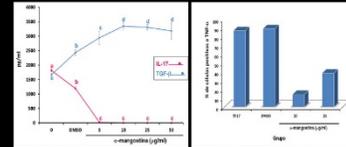
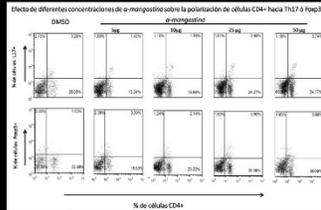


Figura 1. Efecto de las diferentes concentraciones de la α -mangostina sobre la polarización de células CD4+ hacia un subtipo Th17 o Foxp3+ por citometría de flujo.

Figura 2. Comparación de los niveles de IL-17 y TGF- β en los sobrenadantes de cultivo de esplenocitos con las diferentes concentraciones de α -mangostina. Los valores son presentados como la media \pm SEM (n=2) y son significativamente diferentes entre sí en ausencia de una letra en común ($p < 0.05$) por la prueba de Kruskal-Wallis.

Figura 3. Porcentaje de células positivas a TNF- α mediante inmunocitoquímica en cultivos *in vitro* polarizados hacia células Th17 y sometidos a diferentes concentraciones de α -mangostina (n=3).

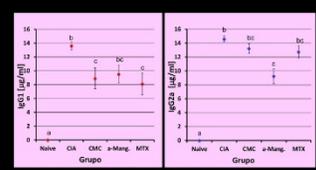
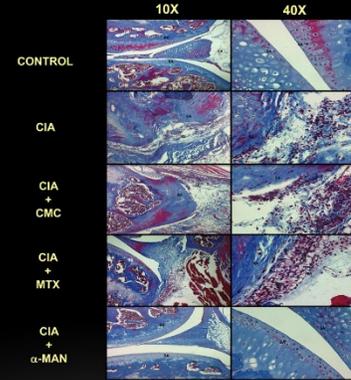


Figura 4. Producción de anticuerpos IgG1 e IgG2a (μ g/ml) anti-colágena en los diferentes grupos experimentales después de administrados los tratamientos por 15 días consecutivos. Los valores son presentados como la media \pm SEM (n=6) y son significativamente diferentes entre sí en ausencia de una letra en común ($p < 0.05$) por la prueba de Kruskal-Wallis.

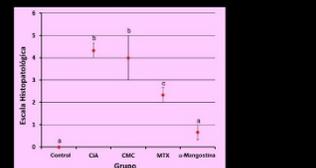


Figura 6. Escala histopatológica en los diferentes grupos experimentales después de administrados los tratamientos por 15 días consecutivos. Los valores son presentados como la media \pm SEM (n=6) y son significativamente diferentes entre sí en ausencia de una letra en común ($p < 0.01$) por la prueba de ANOVA y la prueba post hoc de comparaciones múltiples Tukey-Kramer.

CONCLUSIONES

La α -mangostina presentó capacidades antiartríticas en el modelo de CIA, en el que participan la promoción de un ambiente regulador y la disminución en la producción de citocinas pro-inflamatorias y de anticuerpos IgG2a anticóligena. La α -mangostina mostró ser superior al metotrexato en el control de la inflamación y del daño articular que se produce en la artritis. Esto la hace un valioso candidato para investigaciones posteriores como un nuevo agente anti-artrítico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHO ML, HEO YJ, PARK MK, OH HJ, PARK JS, WOO YJ, JU JH, PARK SH, KIM HY, MIN JK. Grape seed proanthocyanidin extract (GSPE) attenuates collagen-induced arthritis. *Immunol Lett* 2009; 124(2): 102-110.

FLIPPIN L, VERCELINO R, MARRON NP, XAVIER RM. Redox signaling and the inflammatory response in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol* 2008; 152(3): 415-422.

GOPALAKRISHNAN C, SHANKARANARAYANAN D, KAMESWARAN L, NAZMULDEEN SK. Effect of mangostin, a xanthone from *Garcinia mangostana* Linn. in immunopathological & inflammatory reactions. *Indian J Exp Biol* 1980; 18(8): 843-846.

PARK MK, PARK JS, CHO ML, OH HJ, HEO YJ, WOO YJ, HEO YM, PARK MJ, PARK HS, PARK SH, KIM HY, MIN JK. Grape seed proanthocyanidin extract (GSPE) differentially regulates Foxp3(+) regulatory and IL-17(+) pathogenic T cell in autoimmune arthritis. *Immunol Lett* 2011; 135(1-2): 50-56.

PEDRAZA-CHAVERRI J, CÁRDENAS-RODRÍGUEZ N, ORDOZCO-BARRA M, PÉREZ-ROJAS JM. Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Food Chem Toxicol* 2008; 46(10): 3227-3230.

SMITH JB, HAYNES MK. Rheumatoid Arthritis-A Molecular Understanding. *Ann Intern Med* 2002; 136(12): 908-922.

Proyecto apoyado por IN213911 y CONACyT-Salud 113632

NADIA AGLAE RANGEL GAUNA (LICENCIATURA)

Tutor: Dr. Luis Alonso Herrera Montalvo



Expresión y Relevancia Terapéutica de las Proteínas de Choque Térmico Hsp90 α y Hsp90 β en Cáncer Renal

Rangel-Gauna Nadia A.^{1, 2} **Cortés-González C.C.**² **Jiménez-Ríos MA.**² **Díaz-Chávez J.**²
Cantú-de León D.² **Pérez Montiel Gómez D.**² **Herrera-Montalvo L.A.**²

¹ Universidad del Valle de México, Campus Chapultepec y ² Unidad de Investigación Biomédica en Cáncer del Instituto Nacional de Cancerología



INTRODUCCIÓN

En años recientes, el carcinoma renal (CR) ha tenido poca respuesta con quimioterapia e inmunoterapia, en donde, el desarrollo de fármacos que inhiban vías de proliferación ofrecen una esperanza en la terapia clínica. En éste aspecto, los inhibidores de las proteínas de choque térmico de 90kDa (Hsp90), han mostrado tener un efecto anti-tumoral en una gran diversidad de carcinomas. La regulación de Hsp90 por sus proteínas "cliente" oncogénicas, como Akt/mTOR/HIF-1 α explica en gran medida, el mecanismo de acción de estos iHsp90. Recientemente, nuestro grupo de investigación, demostró que las isoformas Hsp90 alfa y Hsp90 beta, activan de manera diferencial a sus proteínas "cliente".

ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

Estudio Prospectivo
 Biopsia renal de pacientes con CR (área neoplásica y no neoplásica)
 Extracción de proteínas
 Análisis por Western blot

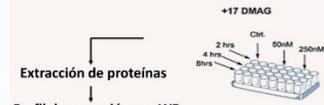
Estudio Retrospectivo
 Tejido renal incluido en parafina de pacientes con CR
 Cortes de 5 μ m en microtomo
 Inmunohistoquímica

Hsp90 α y Hsp90 β en Cáncer Renal

Estudio "in vitro"

Cultivo de líneas celulares:
 Células epiteliales de riñón normal humano, HEK293T (HEK)
 Células epiteliales de cáncer renal humano (ACHN)

Ensayo de inhibición de Hsp90 con Temsirolimus (17-DMAG)



Extracción de proteínas
 Perfil de expresión por WB

Ensayo de Proliferación
 (Resultado pendiente)

HIPÓTESIS

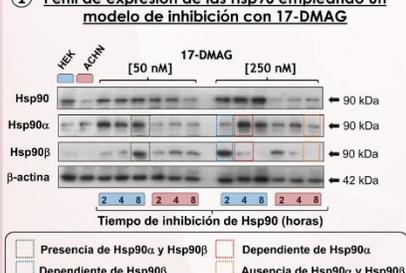
Considerando que Hsp90 α y Hsp90 β regulan diferencialmente proteínas sobre-reguladas en cáncer, el perfil de expresión y papel específico de Hsp90 α y Hsp90 β en cáncer renal fundamentará una terapia basada en iHsp90 selectivos de isoforma.

OBJETIVO GENERAL

Analizar el perfil de expresión de las proteínas Hsp90 α y Hsp90 β en pacientes con CR y evaluar in vitro, su posible implicación en la selectividad anti-tumoral del inhibidor 17-DMAG.

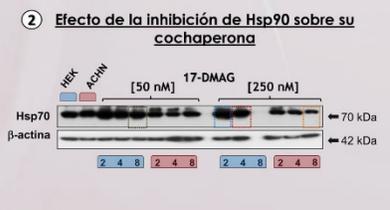
RESULTADOS

1) Perfil de expresión de las Hsp90 empleando un modelo de inhibición con 17-DMAG

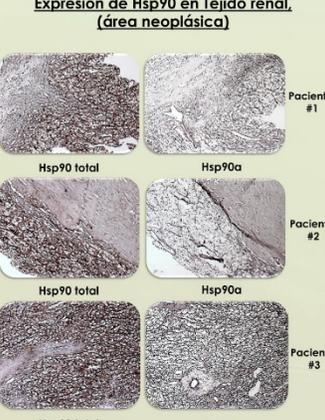


Legend:
 [Green] Presencia de Hsp90 α y Hsp90 β
 [Red] Dependiente de Hsp90 α
 [Blue] Dependiente de Hsp90 β
 [Orange] Ausencia de Hsp90 α y Hsp90 β

2) Efecto de la inhibición de Hsp90 sobre su cochaperona



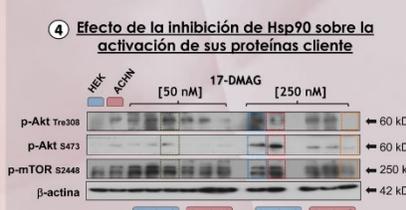
Expresión de Hsp90 en Tejido renal. (área neoplásica)



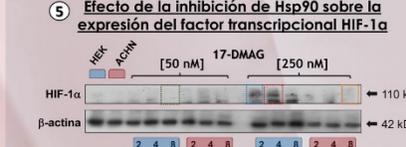
3) Efecto de la inhibición de Hsp90 sobre la expresión de sus proteínas cliente



4) Efecto de la inhibición de Hsp90 sobre la activación de sus proteínas cliente



5) Efecto de la inhibición de Hsp90 sobre la expresión del factor transcripcional HIF-1 α

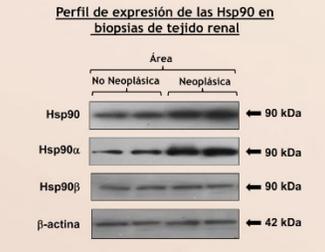


CONCLUSIÓN

Los hallazgos obtenidos proponen que el perfil de expresión de las proteínas Hsp90 alfa y Hsp90 beta dictamina la selectividad anti-proliferativa del 17-DMAG, via Hsp90/Akt en CR.

Nadia Rangel: gons_aglae@hotmail.com

Perfil de expresión de las Hsp90 en biopsias de tejido renal



Carteles Premiados

Ganadores

Mo Bio Laboratories ofrece productos para biología molecular. Desde medios de cultivo certificados hasta kits de extracción de ADN y ARN incluyendo los kits para suelo y plantas.

SUELO

Para aislamiento ADN genómico o ARN de muestras de suelo, inclusive muestras difíciles.

DNA	Power Soil® DNA Isolation Kit	12888-50
	PowerLyzer™ Power Soil® DNA Isolation Kit	12855-50
	Power Max® Soil DNA Isolation Kit	12988-10
RNA	RNA PowerSoil® Total RNA Isolation Kit	12866-25

AGUA

Para aislamiento de ADN genómico de alta calidad o ARN de muestras de agua filtrada.

DNA	PowerWater® DNA Isolation Kit	14900-50-NF
	RapidWater® DNA Isolation Kit	14810-50-NF
RNA	PowerWater® RNA Isolation Kit	14700-50-NF

MICROBIANO

Para aislar ADN genómico o ARN de alta calidad de muestras de cultivo.

DNA	UltraClean® Microbial DNA Isolation Kit	1224-50
	PowerLyzer™ UltraClean® Microbial DNA Isolation Kit	12255-50
	BiOstic® Bacteremia DNA Isolation Kit	12240-50
RNA	UltraClean® Microbial RNA Isolation Kit	15800-50

PLANTAS

Para aislamiento fácil y rápido de ADN genómico libre de inhibidores o ARN de plantas y semillas.

DNA	Power Soil® DNA Isolation Kit	13400-50
	PowerLyzer™ Power Soil® DNA Isolation Kit	13500-50

TEJIDO Y CELULAS

Para aislamiento de ADN genómico de muestras como tejido animal, colas de roedores y células cultivadas.

DNA	UltraClean® Tissue & Cells DNA Isolation Kit	12334-50
	BiOstic® FFPE Tissue DNA Isolation Kit	12250-50
RNA	PowerLyzer™ UltraClean® Tissue & Cells RNA Isolation Kit	15055-50

DNA Clean - Up

Para limpieza de ADN de geles, soluciones y muestras problemáticas.

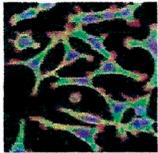
DNA	PowerClean® DNA Clean-Up Kit	12877-50
	UltraClean® PCR Clean-Up Kit	12500-50
RNA	UltraClean® 15 DNA Purification Kit	12100-300

www.mobio.com

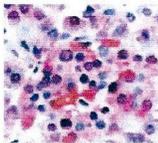
Tel. 01(55) 5741-1460 info@cientificasenna.com www.cientificasenna.com



Novus Biologicals ofrece Productos para el área de investigación tales como: Kits, anticuerpos, lisados, GPCR.



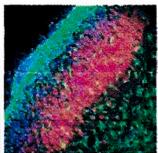
Anticuerpos para investigación en cáncer.



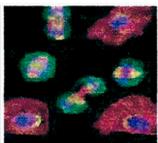
Anticuerpos para GPCR.



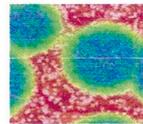
Anticuerpos para investigación de lípidos y metabolismo.



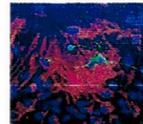
Anticuerpos para neurociencias.



Anticuerpos contra proteínas de reproducción de DNA.

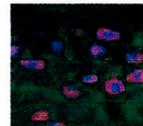


Anticuerpos para Inmunología.

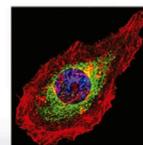


Anticuerpos para marcadores.

- Stemcell
- Neuronales
- Fibroblastos
- Organelos
- Cáncer



Anticuerpos para Stemcells.



Proteínas y Peptidos

www.novusbio.com

Tel. 01(55) 5741-1460
info@cientificasenna.com
www.cientificasenna.com



PRIMER LUGAR

Licenciatura

Biología Molecular y Biotecnología

BENJAMÍN DE JESÚS VEGA BARAY

Tutor: Dra. Rosa Laura Camarena Mejía

BMB328

*IDENTIFICACIÓN DEL SISTEMA DE DOS COMPONENTES QUE REGULA LOS GENES FLAGELARES
2 DE RHODOBACTER SPHAEROIDES*





Identificación del sistema de dos componentes que regula el sistema flagelar 2 de *Rhodobacter sphaeroides*.



Vega B.^[1], Domenzain C.^[1], Rivera A.^[1], Osorio A.^[1], Poggio S.^[1], Dreyfus G.^[2], Camarena L.^[1].
^[1] Instituto de de Investigaciones Biomédicas, UNAM. ^[2] Instituto de Fisiología Celular, UNAM.

Introducción

Rhodobacter sphaeroides tiene dos sistemas flagelares, el sistema flagelar 1 (fla1) se expresa constitutivamente en condiciones de laboratorio, mientras que el sistema flagelar 2 (fla2) sólo se expresa en mutantes que han sido seleccionadas en ausencia de Fla1 (fig 1).

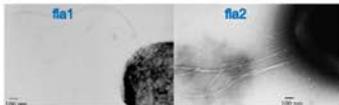


Figura 1 Microscopía electrónica de *Rhodobacter sphaeroides*. Flagelo 1 (izquierda) y flagelo 2 (derecha).

Al secuenciar el genoma de la cepa AMI (fla1-*fla2*⁺), se reveló una mutación puntual en el gen *RSP_0454*, homólogo a *cckA* de *Caulobacter crescentus*. CckA es una cinasa híbrida que participa en el sistema de dos componentes CckA-ChpT-CtrA (fig 2). Este sistema regula la motilidad y el ciclo celular en *C. crescentus*.

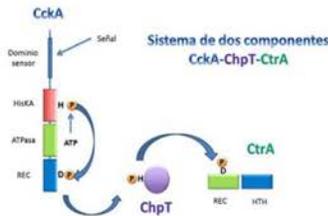


Figura 2. Sistema de dos componentes CckA-ChpT-CtrA.

La complementación *in trans* con el alelo mutante del gen *cckA* en una cepa Fla1-,*cckA*- sin selección confirió la capacidad de nadar con el flagelo 2; mientras que la complementación con el alelo wt de este mismo gen no. Este resultado demostró que la mutación puntual encontrada en el dominio HisKA, de la proteína CckA es suficiente para inducir la expresión de los genes flagelares 2.

Objetivos

Con esta evidencia nos planteamos primero, aislar nuevos alelos supresores a partir de cepas fla1-, así como demostrar la participación de la proteína ChpT en la regulación del sistema flagelar 2.

Hipótesis

El sistema de dos componentes CckA-ChpT-CtrA regula la expresión del sistema flagelar dos de *Rhodobacter sphaeroides*.

Resultados

Aislamos diez cepas supresoras del fenotipo Fla1- en condiciones de crecimiento distintas (fig3).

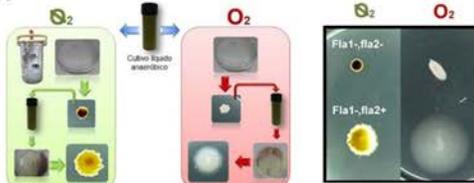


Figura 3. Selección de cepas fla2⁺. Proceso de selección de cepas fla2⁺ en condiciones anaeróbicas y aeróbicas (izquierda). Resultado de la selección de cepas fla2⁺ (derecha) se observa el desplazamiento a partir del punto de inóculo en las cepas seleccionadas (inferior) con respecto a las no seleccionadas (superior).

Secuenciamos el dominio HisKA de *cckA* de cada cepa (fig4).

Cepa	Condición	CckA (HisKA)
AMI	O ₂	✓ L291F
Cepa1	O ₂	✓ A287P
Cepa2	O ₂	✓ —
Cepa3	O ₂	✓ —
Cepa4	O ₂	✓ —
Cepa5	O ₂	✓ F399C
Cepa6	O ₂	✓ —
Cepa7	O ₂	✓ —
Cepa8	O ₂	✓ —
Cepa9	O ₂	✓ —
Cepa10	O ₂	✓ —

Figura 4. Diez mutantes independientes fla2⁺ fueron aisladas y secuenciadas para el gen *cckA*. De las diez cepas seleccionadas se secuenció el dominio HisKA del gen *cckA*. Sólo dos alelos tuvieron una mutación puntual en el dominio HisKA.

Se clonaron los alelos mutantes de *cckA* y se expresaron en una cepa fla1-. Los resultados muestran que una mutación puntual en el dominio de HisKA de CckA es capaz de conferir la capacidad de nado dependiente de fla2 a una cepa no seleccionada e incapaz de nadar con el sistema flagelar 1 (fig 5).

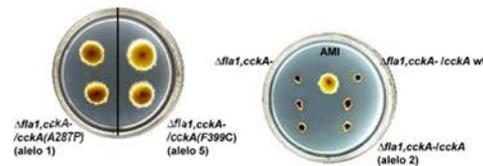


Figura 5. Los alelos mutantes de *cckA* confieren la capacidad de nado fla2⁺. Ensayo de complementación *in trans* con alelos mutantes en el dominio de HisKA (izquierda) y con algunos de los alelos que no presentaron una mutación en el dominio de HisKA de CckA (derecha) demostrando que estos alelos de *cckA* no confieren el nado con el flagelo 2.

Para demostrar la participación de la proteína ChpT se hizo la mutante por delección en la cepa AMI (fla1-,*fla2*⁺) (fig5).

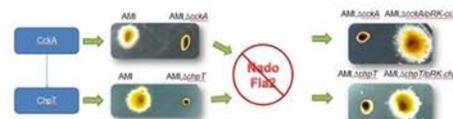


Figura 6. Demostración de la participación de las proteínas ChpT y CckA en la regulación de Fla2. La delección de los genes *cckA* y *chpT* en la cepa AMI (izquierda) provoca la pérdida de la capacidad de nado de estas mutantes. Ensayo de complementación con los alelos wt de *cckA* y *chpT* (derecha).

De las ocho cepas restantes, que no presentaron mutaciones en *cckA* se secuenciaron los alelos de *chpT* y *ctrA*. No se encontraron mutaciones, lo que sugirió la existencia de otras proteínas involucradas en la activación del sistema Fla2⁺. Para abordar este problema nos planteamos buscar supresoras del fenotipo no nadador de la cepa fla1-,*cckA* y fla1-,*ΔchpT*.

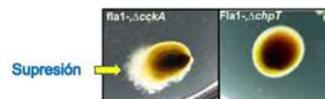


Figura 7. Supresión del fenotipo fla1-,*ΔcckA*. Del lado izquierdo se muestra la cepa fla1-,*ΔcckA*, la flecha indica el evento de supresión. Del lado derecho se observa a la cepa fla1-,*ΔchpT*. Sólo se observó el evento de supresión en la cepa fla1-,*ΔcckA*.

Sólo se encontraron supresoras para la cepa fla1-,*ΔcckA*, lo que sugiere que *chpT* es un gen esencial para la transcripción de los genes fla2 (fig7). Las supresoras fla1-,*ΔcckA* fla2⁺, no presentaron ningún cambio en los alelos secuenciados *chpT* y *ctrA*. Lo que evidencia la existencia de otros elementos regulatorios dependientes de las proteínas ChpT y CtrA. La mutante *ΔchpT* de la cepa supresora fla1-,*ΔcckA*-fla2⁺ pierde el nado lo que demuestra la existencia de otra posible cinasa río arriba de ChpT capaz de activar el sistema fla2 (fig 8).

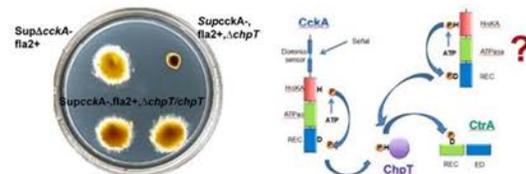


Figura 8. Dependencia de ChpT en el fenotipo de nado de la cepa SupcckA-fla2⁺. La cepa supcckA-fla2⁺ perdió la capacidad de nado dependiente del flagelo2 al mutagenizar *chpT* (izquierda), en la parte inferior de la caja se muestra la complementación con el alelo wt de *chpT*. Modelo propuesto con la existencia de otra cinasa que esté fosforilando a la proteína ChpT (derecha).

Conclusión

Una mutación puntual en el dominio HisKA de CckA confiere la capacidad de nado con el flagelo 2. El nado mediado por el flagelo 2 de es dependiente de las proteínas CckA, ChpT y CtrA. Nuestros resultados sugieren que en estas cepas una cinasa distinta podría ser la responsable de la activación de CtrA vía ChpT para permitir la expresión de los genes flagelares 2.

PRIMER LUGAR

Posgrado

Biología Celular y Fisiología

ERWIN ROMMEL ARIAS HERVERT

Tutor: Dr. Fredy Roberto Cifuentes Navarro

BCF287

PARTICIPACIÓN DE LAS NEUROTROFINAS EN LA TRANSMISIÓN SINÁPTICA DEL GANGLIO SIMPÁTICO DE RATA



Participación de las neurotrofinas en la transmisión sináptica del ganglio simpático de rata.

Arias R., Morales M. A., Cifuentes F.
 Departamento de Biología Celular y Fisiología
 Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

Antecedentes

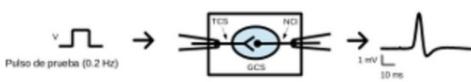
Los ganglios simpáticos forman parte de la vía eferente motora que sale del sistema nervioso central hacia los órganos periféricos. Reciben, integran y codifican las señales eferentes de la médula espinal y las transmiten hacia los órganos blanco, por lo que se les considera la interfaz entre el sistema nervioso central y los órganos periféricos¹. Por otra parte, los órganos blanco informan al sistema nervioso sobre su estado funcional mediante la síntesis y secreción de factores neurotróficos como el factor de crecimiento neuronal (NGF), que pertenece a la familia de las neurotrofinas (NTs) y que al ser liberado puede actuar sobre las neuronas ganglionares que expresan a los receptores transmembranales específicos: *tropomyosin tyrosine kinase* (Trk) y *pan-neurotrophin receptor* (p75NTR)². Existen estudios que demuestran que las neurotrofinas, a través de sus receptores, modulan la excitabilidad neuronal y la transmisión sináptica entre neuronas centrales^{3,4}, y en cultivos de neuronas periféricas^{5,6}. Sin embargo, no se ha estudiado cuál podría ser el papel de las neurotrofinas en la transmisión sináptica de los ganglios simpáticos, en donde se encuentran de forma nativa. **Objetivo:** Evaluar la capacidad de las NTs para modular la transmisión sináptica en el sistema simpático de la rata.

Método

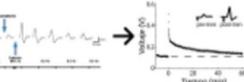
Otención del GCS.



Registro del potencial de acción compuesto.



Inducción de la LTP.



Análisis de datos.

$$\Delta R = \frac{V_{post} - V_{pre}}{V_{pre}}$$

$$R = \text{amplitud del PAC con hexametonio}$$

$$R = \text{amplitud del PAC post-trén}$$

$$f(x) = A2 \cdot \exp(-x/\tau_2) + A1 \cdot \exp(-x/\tau_1)$$

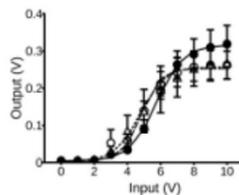
$$f_{max} = \tau_1 + \text{INH-2(A)}_1$$

$$\text{Magnitud} = \tau_1 + A_1$$

Ajuste por mínimos cuadrados.

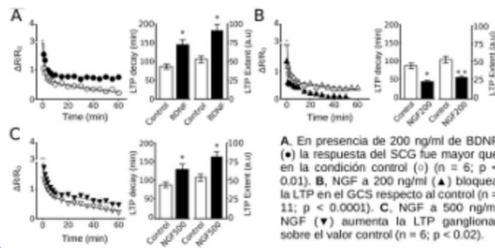
Resultados

1.- BDNF y NGF no alteran la transmisión basal ganglionar

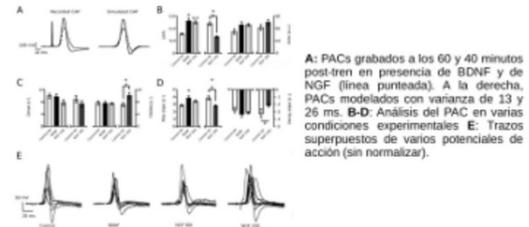


Curvas entrada/salida: La curva e/s no se modifica en presencia de 200 ng/ml BDNF (●) o 200 ng/ml NGF (▲) respecto al control (○). No hay diferencias entre los parámetros respuesta máxima ($p < 0.15$), $V_{1/2}$ ($p < 0.6$) y la pendiente α ($p < 0.17$) ($n=5$).

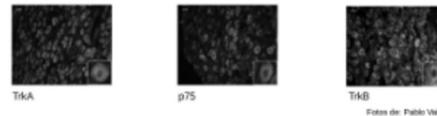
2.- BDNF y NGF afectan de forma diferencial a la LTP ganglionar.



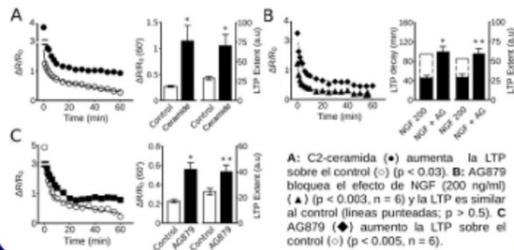
3.- Las NTs cambian la sincronía de los PAC.



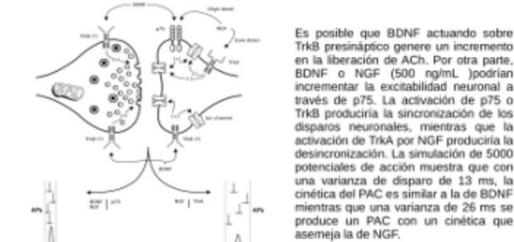
4.- Las neuronas simpáticas del GCS expresan a los receptores de NTs p75, TrkA y TrkB.



5.- Regulación diferencial de la LTP por los receptores p75NTR y TrkA.



Modelo propuesto para explicar el efecto de las NTs sobre la LTP ganglionar.



Conclusiones

Las NTs no modifican la transmisión basal en el GCS pero tienen la capacidad de modular la plasticidad sináptica producida por la estimulación de alta frecuencia. Es probable que el receptor p75NTR participe en el aumento de la LTP y que la vía de TrkA la inhiba. **Implicaciones fisiológicas:** La regulación sináptica por NTs en el GCS podría ser un mecanismo fisiológico para amplificar las señales eferentes del sistema nervioso central.

Agradecemos la colaboración de todos los miembros del Personal Académico que hicieron posible este evento.

El contenido, redacción y ortografía de los resúmenes son responsabilidad de los autores.

navegantes ...

de la comunicación gráfica s.a. de c.v.

Libros electrónicos

Nuestros servicios de generación de libros electrónicos abarcan desde la digitalización de archivos, corrección, diseño, retoque de imágenes, diagramación, hasta la generación de los archivos electrónicos en formato e pub, PDF interactivo, PDF Multimedia, y en general publicaciones electrónicas.

Preservación digital de documentos
Archivística: libros, imagen y audio

Plan de preservación

Respaldo digital: selección, clasificación, captura y generación de índices.

Para respaldar su valiosa información, contamos con escáneres especialmente diseñados para digitalización de documentos, así como cámaras digitales con lentes especiales.

empresa

100%
mexicana

***dedicada a publicaciones
de libros y revistas***

permitanos asesorarle

pascual ortíz rubio no. 40
col. san simón ticumac
delegación benito Juárez
c.p. 03660, México, d.f.

✉ navegantes0009@gmail.com

☎ 5243 2019
5243 2427
5532 5575

Congreso de arteles

Dr. Lino Díaz De León



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
BIOMÉDICAS



Universidad Nacional Autónoma de México