



IV Congreso de la Rama de Transducción de Señales

**10 al 13 de Noviembre 2013
San Luis Potosí, SLP, México**

Programa

IV Meeting of the Signal Transduction Branch of the Mexican Society of Biochemistry

San Luis Potosí, Noviembre 10 al 13 de 2013

Auditorio Rafael Nieto del Edificio Central, Universidad Autónoma de San Luis Potosí

Programa Académico

Domingo, Noviembre 10	
14:00-17:00	Registro
17:00	Inauguración
Conferencias Inaugurales (17:30-20:00)	
Coordinadores: Jesús Adolfo García Sainz, IFC-UNAM y Samuel Lara González, IPICYT	
Paul Pilch. Boston University, Boston, USA. “Pleiotropic effects of cavin-1 deficiency on lipid metabolism”	
Roger Williams. MRC, Cambridge, UK. “The importance of structural dynamics in phosphoinositide 3-kinase signalling”	
Coctel de Bienvenida (20:00)	
Lunes, Noviembre 11	
Simposio 1: Estabilidad de proteínas (8:30-10:30)	
Coordinadora: Lina R. Riego Ruiz, IPICYT	
Alejandro Cabrera. Oregon National Primate Research Center, Portland, USA. Investigador postdoctoral en el laboratorio de P. Michael Conn. “Species sequence differences influence the interaction of GnRH receptor with chaperone protein calnexin”	
Gabriela Caraveo. Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge, USA. Investigadora postdoctoral en el laboratorio de Susan Lindquist. “Tuning calcineurin: substrate specificity and its potential effects in synucleinopathies”	
Coffee break (10:30-11:00)	
Simposio 2: Inmunología (11:00-13:00)	
Coordinadora: Claudia González Espinosa, Depto. Farmacología, CINVESTAV-SUR	
Enrique Ortega Soto. Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, México. “Aminopeptidasa N (CD13): Un receptor involucrado en fagocitosis y procesos de adhesión en células monocíticas”	
Roberto González Amaro. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México. “Receptores de inmunidad innata y enfermedad”	
Comida (13:00-15:00)	
Simposio 3: Cáncer (15:00-17:00)	
Coordinadora: Guadalupe Reyes Cruz, Depto. Biología Celular, CINVESTAV	
Vanessa Olivares Illana. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México. “p53 y sus reguladores MDM2 y MDMX”	
Peter Sicinski. Dana Farber Cancer Institute, Boston, USA. “Cell cycle machinery in development and cancer”	

IV Meeting of the Signal Transduction Branch of the Mexican Society of Biochemistry

San Luis Potosí, Noviembre 10 al 13 de 2013

Auditorio Rafael Nieto del Edificio Central, Universidad Autónoma de San Luis Potosí

Conferencia técnica de Becton Dickinson (17:00)

BD Phosflow: Tools for the study of phosphoprotein signaling

Carteles

Sesión de Posters número impar (17:30-20:00)

Martes, Noviembre 12

Simposio 4: TGF-beta (8:30-10:30)

Coordinadora:

Marina Macías Silva, IFC-UNAM

*Gloria Soldevila Melgarejo. Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, México.
“New roles of the TGF-beta superfamily in the regulation of the immune system”*

*Miriam Barrios-Rodiles. Mount Sinai Hospital, Toronto, Canada. Investigadora Asociada en el laboratorio de Jeff Wranna.
“LUMIER and TGF-beta protein interaction networks”*

Coffee break (10:30-11:00)

Simposio 5: Regulación de la función del ribosoma (11:00-13:00)

Coordinadora:

Nuria Sánchez Puig, Instituto de Química-UNAM

*Nora Vazquez-Laslop. University of Illinois, Chicago, USA.
“Cómo los antibióticos contribuyen a que el ribosoma entienda las señales del péptido naciente”*

*Luis Cruz Vera. University of Alabama, USA.
“Como instruir a los ribosomas para detectar triptófano en la célula”*

Comida (13:00-15:00)

Simposio 6: Transporte iónico (15:00-17:00)

Coordinador:

Ricardo Espinosa Tanguma, Facultad de Medicina, UASLP

*Jorge Arreola. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México.
“Crosstalk and cell signaling mediated by ATP-gated P2X cation channels”*

*Gerardo Gamba. Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, México
“Regulation of the renal NaCl cotransporter activity by the WNK kinases signaling network”*

Conferencia técnica de Perkin Elmer (17:00)

Perkin Elmer technologies for studying signal transduction pathways, from in the well kinase and 2cd messenger analysis to high throughput imaging, a suite of disruptive technologies to enable your research

Carteles

Sesión de Posters número par (18:00-20:00)

IV Meeting of the Signal Transduction Branch of the Mexican Society of Biochemistry

San Luis Potosí, Noviembre 10 al 13 de 2013

Auditorio Rafael Nieto del Edificio Central, Universidad Autónoma de San Luis Potosí

Miércoles, Noviembre 13

Simposio 7: Células troncales y regeneración (8:30-10:30 am)

Coordinador:

Amaury de Jesús Pozos Guillén, Facultad de Estomatología, UASLP

Ivan Velasco. Instituto de Fisiología Celular, UNAM, México.

“Neuronal differentiation of stem cells aimed to treat neurological disorders”

Alejandro Soto Gutiérrez. University of Pittsburgh, Pennsylvania, USA.

“Whole-organ assembly: Moving toward liver transplantation on demand”

Coffee break (10:30-11:00)

Simposio 8: GTPasas (11:00 am-13:00 pm)

Coordinador:

José Vázquez Prado, Depto. Farmacología, CINVESTAV

Nuria Sánchez Puig. Instituto de Química, UNAM, México.

“Estudios del reconocimiento de nucleótidos de guanina por GTPasas involucradas en la síntesis de ribosomas”

Eduardo Castañeda Saucedo. Universidad Autónoma de Guerrero, México.

“Explorando el posible papel de Rac1-nuclear en el desarrollo del cáncer cervical”

Comida (13:00-15:00)

Simposio 9: Regulación de la función de proteínas por sumoilación y ubiquitinación (15:00-17:00)

Coordinador:

Roberto Sánchez Olea, Instituto de Física, UASLP

Jorge Iñiguez-Lluhí. University of Michigan, Ann Arbor, USA.

“Context dependent protein regulation through SUMO modification”

Michael Rape. Howard Hughes Medical Institute and Department of Molecular and Cell Biology, University of California at Berkeley, USA.

“Deciphering the ubiquitin code”

Clausura (17:00)

Cena de clausura del congreso (20:00)

Sky Room del Hotel Panorama

IV Meeting of the Signal Transduction Branch of the Mexican Society of Biochemistry

San Luis Potosí, Noviembre 10 al 13 de 2013

Auditorio Rafael Nieto del Edificio Central, Universidad Autónoma de San Luis Potosí

CARTELES

1.	Integración de las cascadas de fosforilación de las cinasas mTOR y PKA mediante su asociación con P-Rex1, un GEF para Rac. <i>Sendi Rafael Adame García</i> , Lydia Chavez Vargas, Guadalupe Reyes Cruz y José Vázquez Prado. CINVESTAV-IPN
2.	Efecto de la terapia con Tocilizumab sobre la capacidad de las células dendríticas para inducir linfocitos Th17 en pacientes con artritis reumatoide. <i>Crisol Álvarez Quiroga</i> , Liliana Portales Cervantes, Carlos Abud Mendoza, Lourdes Baranda Cándido y Roberto González Amaro. UASLP
3.	Caracterización de la familia de Cinasas Dependientes de Ciclinas en <i>Trichomonas vaginalis</i>. <i>Erick Amador Gaytán</i> e Imelda López Villaseñor. Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM
4.	Efecto inhibitorio de las vasoinhibinas sobre el aumento de la permeabilidad vascular retiniana y de la producción de especies reactivas de oxígeno asociado a la diabetes: contribución del sistema calicreína cinina. <i>David Arredondo Zamarripa</i> , Carmen Clapp y Stéphanie Thebault. Instituto de Neurobiología, UNAM
5.	Estudio del factor de transcripción NFAT en células dendríticas derivadas de monocitos humanos. <i>Nubia Baltazar Benitez</i> , Brenda Esther Ocegüera Maldonado, Erika Guadalupe Chi Ahumada, Esther Layseca Espinosa, Berenice Hernández Castro, Roberto González Amaro y Perla del Carmen Niño Moreno. Facultad de Ciencias Químicas, UASLP
6.	Señal de Ca²⁺ Intracelular Evocada por Histamina en Fibroblastos de Pulmón Humano. <i>Roberto Berra Romani</i> , Fabiana Romano Bernabe, Julián Torres Jácome, Francesco Moccia, Franco Tanzi y Luis Guillermo Vázquez de Lara. Facultad de Medicina, BUAP
7.	Mecanismos alternos de obtención de sustratos metabólicos en condiciones limitantes de glucosa en células de glioblastoma multiforme. <i>Lucy Camberos Luna</i> , Rodrigo Díaz Ruíz, Estefanía Ochoa Ruíz, Salvador Uribe Carvajal y Antonio Velázquez Arellano. Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM
8.	Regulación de la estabilidad del transcrito de SnoN por miR-155 en el contexto de las señales del TGF-β. <i>Aura Nirva Campero Romero</i> , Ángeles C. Tecalco Cruz y Marina Macías Silva. Instituto de Fisiología Celular, UNAM
9.	La Proteína Cinasas C delta modula negativamente la vía de señalización Wnt en líneas celulares de cáncer de colon. <i>María Cristina Castañeda Patlán</i> , José G. Hernández Maqueda, Luis Bernardo Luna Ulloa, Paula Santoyo Ramos y Martha Robles Flores. Facultad de Medicina, UNAM
10.	Translocación nuclear del factor de transcripción C/EBPδ por estímulo con LPS a través del receptor TLR-4 en células cebadas. <i>Jorge Ivan Castillo Arellano</i> , Alfredo Ibarra Sánchez y Claudia González Espinosa. UNAM, CINVESTAV-IPN
11.	Diferencias del tráfico vesicular del receptor α-1B adrenérgico, desensibilización homóloga y heteróloga. <i>Jean A. Castillo Badillo</i> , Omar B. Sánchez Reyes, Guadalupe Reyes Cruz y J. Adolfo García Sáinz. Instituto de Fisiología Celular, UNAM

IV Meeting of the Signal Transduction Branch of the Mexican Society of Biochemistry

San Luis Potosí, Noviembre 10 al 13 de 2013

Auditorio Rafael Nieto del Edificio Central, Universidad Autónoma de San Luis Potosí

12.	Disminución de la fosforilación del residuo Thr³⁰⁸ de PKB/Akty de la captura de glucosa inducida por insulina en miotubos de adolescentes Mexicanas con Síndrome de Ovarios Poliquísticos. <i>Jesús Castillo Hernández, Gloria Queipo, Nayely Garibay, Yadira Pastrana y J. Alberto Olivares Reyes. Escuela de Enfermería, UASLP</i>
13.	RhoGEFs como potenciales efectores de la transducción de señales angiogénicas: papel del grupo conformado por PLEKHG5, RGS-RhoGEFs, Intersectinas, NGEF y sus más cercanos homólogos. <i>Alejandro Castillo Kauil, Ricardo Hernández García, Guadalupe Reyes Cruz y José Vázquez Prado. CINVESTAV-IPN</i>
14.	Efecto del benzo [a] pireno sobre la migración y capacidad invasiva de las células mamarias tumorales MDA-MB-231. <i>Castillo -Sánchez R., Gómez-Ortega R. y Pérez -Salazar E. CINVESTAV-IPN</i>
15.	Caracterización de los mecanismos de activación de GTPasas de la familia de Rho durante la migración de células progenitoras endoteliales. <i>Rodolfo Daniel Cervantes Villagrana, Ricardo Hernández García, Lydia Chávez Vargas, Guadalupe Reyes Cruz y José Vázquez Prado. CINVESTAV-IPN</i>
16.	Regulación de la expresión de claudinas vía MAPKs por LPS de <i>Helicobacter pylori</i>. <i>Christian O. Chavarría Velázquez, Monserrat Carrera Martínez, Antonio de Jesús Paz Martínez, Luis F. Montaña Estrada y Erika P. Rendón Huerta. Facultad de Medicina, UNAM</i>
17.	Efecto de la glicina sobre la vía de activación de NF-κB en adipocitos. <i>Erika Contreras Nuñez, Gerardo Blancas Flores, Julio Almanza Pérez, Miguel Cruz López, Rubén Román Ramos, José Luis Ventura Gallegos, Alejandro Zentella Dehesa y Francisco Javier Alarcón Aguilar. UAM-Iztapalapa</i>
18.	Factores de transcripción involucrados en la polarización linfocitaria: efecto por la vacuna BCG y la terapia antifimica. <i>Nancy Elizabeth Corral Fernández, Mariana Salgado Bustamante, Silvia Romano Moreno, Susanna Edith Medellín Garibay, José de Jesús Macías Mendoza y Diana Patricia Portales Pérez. Facultad de Ciencias Químicas, UASLP</i>
19.	Evaluación de P2X7 y ART1 en linfocitos Treg CD39+. <i>Juan D Cortés García, Nancy Cortez Espinosa, Juan M Guzmán Flores, Esther Layseca Espinosa, Mariana H García Hernández y Diana P. Portales Pérez. Facultad de Ciencias Químicas, UASLP</i>
20.	Estudio de una interacción física directa entre las GTPasas Gpn1 y Gpn3 mediante FRET en células vivas. <i>Gema Rosa Cristóbal Mondragón, Victor De la Rosa Jiménez, León David Islas Suárez, Roberto Sánchez Olea y Mónica R. Calera. Instituto de Física, UASLP</i>
21.	Análisis de la función reguladora de los linfocitos NK en pacientes con lupus eritematoso generalizado (LEG). <i>Daniela de Jesús Cruz González y Adriana Elizabeth Monsiváis Urenda. Facultad de Medicina, UASLP</i>

IV Meeting of the Signal Transduction Branch of the Mexican Society of Biochemistry

San Luis Potosí, Noviembre 10 al 13 de 2013

Auditorio Rafael Nieto del Edificio Central, Universidad Autónoma de San Luis Potosí

22.	Localización subcelular de PKCζ y comportamiento del factor inducible por hipoxia (HIF) en etapas tempranas de un modelo de carcinogénesis renal inducida con FeNTA. <i>Patricia Curiel Muñiz</i> , José Solano, Francisco Aguilar Alonso, Chabetty Vargas Olvera, Telma Pariente Pérez, Rocío Navarro García, Alfredo Rangel Gómez y María Elena Ibarra Rubio. Facultad de Química, UNAM
23.	Factores de maduración ribosomal asociados con ribosomopatías. <i>Eugenio De la Mora</i> , Nina Castro, Adrián García, Abel Moreno y Nuria Sánchez. Instituto de Química, UNAM
24.	Estudio de las modificaciones postraduccionales que modulan la función y estabilidad de la oncoproteína Ski. <i>Eugenio Del Valle Espinosa</i> , Genaro Vázquez Victorio y Marina Macías Silva. Departamento de Biología Celular y Desarrollo. Instituto de Fisiología Celular, UNAM
25.	Efecto de la interacción de VPS28, una proteína del ESCRT I y del heterodímero $\beta\gamma$ de las proteínas G en la división celular. <i>Misael Neri Dionisio Vicuña</i> , José Vázquez Prado y Guadalupe Reyes Cruz. CINVESTAV-IPN
26.	La señalización de PDGFR β via MAPK se bloquea por inhibidores de tirosina cinasa de uso clínico en cultivos primarios de cáncer de mama. <i>José Esparza López</i> , Diego Alonso Muñiz, Elizabeth Escobar Arriaga, Leticia Rocha Zavaleta, Heriberto Medina Franco, Eucario León Rodríguez, y María de Jesús Ibarra-Sánchez. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "SZ"
27.	Mecanismos moleculares por los cuales 8BR-CGMP produce relajación del músculo liso de las vías aéreas de cobayo. <i>Ricardo Espinosa Tanguma</i> , Paola Algara Suarez, María del Carmen González Castillo y Adriana B. Rousset Román. Facultad de Medicina, UASLP
28.	Papel de los Andrógenos en la Regulación de la Señal de la Insulina en Células Musculares. <i>Dennys Paola Ferreyra Picazo</i> , Judith Hernández Aranda, Gloria E. Queipo García y Jesús Alberto Olivares Reyes. CINVESTAV-IPN
29.	Efecto de la epigallocatequina 3-galato en la expresión de HMGB-1 en las células ganglionares de la retina en un modelo de isquemia/reperfusión. <i>José Javier Flores Estrada</i> , Javier Flores Preciado, Julia Toscano Garibay, Mario Adán Moreno Eutimio, Francisco Alvarado y Abelardo A. Rodríguez Reyes. APEC, IAP. Luis Sanchez Bulnes. Hospital Juárez de México, SSA
30.	Estudio de la regulación transcripcional del gen <i>ATP2A3</i> durante la diferenciación de líneas celulares de cáncer gástrico y de colon. <i>Lucía Flores Peredo</i> , Gabriela Rodríguez Rodríguez y Ángel Zarain Herzberg. Facultad de Medicina, UNAM
31.	Modulación diferencial de las vías de señalización de muerte celular por proteínas de las variantes intratipo de VPH18 E2. <i>Fuentes González Alma M</i> y Lizano Soberón Marcela. Instituto Nacional de Cancerología/Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM

IV Meeting of the Signal Transduction Branch of the Mexican Society of Biochemistry

San Luis Potosí, Noviembre 10 al 13 de 2013

Auditorio Rafael Nieto del Edificio Central, Universidad Autónoma de San Luis Potosí

32.	Estudio de la correlación entre el número de microvesículas en sangre periférica y pacientes con cáncer mamario. <i>Octavio Galindo Hernández, María Cristina González Vázquez, Fernando Candanedo, Claudia Vanessa Arellano Gutierrez, Octavio Daniel Reyes Hernández, Mónica Sierra Martínez y Eduardo Pérez Salazar.</i> CINVESTAV- IPN
33.	α_{1D}-adrenoceptors play a important role in angiotensin II-dependent vascular remodeling independently of hypertension. <i>Itzell Alejandrina Gallardo Ortíz y Rafael Villalobos Molina.</i> Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM
34.	La emetina libera Ca^{2+} de depósitos intracelulares vía un nuevo canal iónico. <i>Martín Leonardo Gallegos Gómez y Agustín Guerrero Hernández.</i> CINVESTAV-IPN
35.	Proteínas Rho y Rac involucradas en la producción de ATP en mitocondrias de cerebro de rata. <i>Claudia Isabel García Berumen, Alfredo Saavedra Molina, Esperanza Meléndez Herrera y Salvador Manzo Avalos.</i> Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, UMSNH
36.	Modulación de la actividad enzimática de las GTPasas ribosomales Efl1/EFTUD1 por la proteína mutada en el síndrome Shwachman-Diamond. <i>Abril Gijbers Alexandre, Luis F. Olguín Contreras y Nuria Sánchez Puig.</i> Instituto de Química, UNAM
37.	La prolactina y las vasoinhíbinas poseen efectos vasculares opuestos. Papel del glicocalix endotelial. <i>Carmen González, Héctor Rosas Hernández, Pedro Pablo Martínez Cuevas, Jesús Ramón Castillo Hernández, Juan Manuel Ramiro Díaz, Sandra Aguilar, Mayda Ramírez y Rafael Rubio.</i> Facultad de Ciencias Químicas, UASLP
38.	Vías de señalización reguladas por la citocina TGF-β en Células estrelladas Hepáticas durante su proceso de activación. <i>Nelly Raquel González Arenas, Genaro Vázquez Victorio, Francisco G. Vázquez Cuevas, Aleida Vázquez Macías y Marina Macías Silva.</i> Instituto de Fisiología Celular, UNAM
39.	Papel de la proteína cinasa C en la fosforilación, degradación y activación del receptor a progesterona en astrocitomas humanos. <i>Aliesha González Arenas, Miguel Ángel Peña Ortiz, Valeria Hansberg Pastor, Alejandro Cabrera Wrooman e Ignacio Camacho Arroyo.</i> Facultad de Química, UNAM
40.	Purificación y cristalización de la GTPasa Gpn1, una proteína esencial para la acumulación nuclear de la RNA polimerasa II. <i>Rogelio González González, José Alberto Guerra Moreno, Gabriela M. Montero Morán, Sonia Griselda Peña Gómez, Jorge Jaime Juárez Lucero, Luis Briebe de Castro, Nuria Sánchez Puig, Samuel Lara González, Roberto Sánchez Olea y Mónica R. Calera.</i> Instituto de Física, UASLP
41.	Cuantificación de los receptores a canabinoides CB1 en un modelo de Hemiparkinson experimental. <i>Brenda González Hernández, Melissa Ivonne Leija Salazar, Azucena del Carmen González Horta y Mario Abelardo Bermúdez de León.</i> Facultad de Ciencias Biológicas, UANL

IV Meeting of the Signal Transduction Branch of the Mexican Society of Biochemistry

San Luis Potosí, Noviembre 10 al 13 de 2013

Auditorio Rafael Nieto del Edificio Central, Universidad Autónoma de San Luis Potosí

42.	Caracterización de la expresión de B7-H3 durante la formación de lesiones pre-neoplásicas en hepatocarcinogénesis química en rata. <i>Christian González Reyes, Nancy Cervantes Anaya, Verónica Rocío Vásquez Garzón, Saúl Villa Treviño. CINVESTAV-IPN</i>
43.	Purificación y cristalización de la GTPasa Gpn3, una proteína esencial para la acumulación nuclear de la RNA polimerasa II. <i>José Alberto Guerra Moreno, Rogelio González González, Gabriela M. Montero Morán, Jorge Jaime Juárez Lucero, Luis Brieba de Castro, Nuria Sánchez Puig, Samuel Lara González, Mónica R. Calera y Roberto Sánchez Olea. Instituto de Física, UASLP</i>
44.	Determinación de la Importancia Funcional de la Señal de Exportación Nuclear (NES) de GPNI, en Saccharomyces cerevisiae. <i>Gehenna Lobo Guerrero Serrano, Alejandro de las Peñas Nava, Lina Raquel Riego Ruíz, Mónica R. Calera y Roberto Sánchez Olea. Instituto de Física, UASLP</i>
45.	Determinación del papel de la proteína AMSH en la regulación de la activación de Rac y la migración celular polarizada. <i>Tania Yareli Gutiérrez López, Margarita Valadez Sánchez, José Vázquez Prado y Guadalupe Reyes Cruz. CINVESTAV-IPN</i>
46.	Mecanismos moleculares involucrados en la regulación de las acciones de insulina por la angiotensina II en células adiposas. <i>Citlaly Gutiérrez Rodelo, Araceli Arellano Plancarte, Judith Hernández Aranda y J. Alberto Olivares Reyes. CINVESTAV-IPN</i>
47.	Efecto de la adrenalina como mediador del estrés sobre la respuesta inmune innata mediada por células cebadas. <i>Guzmán Mejía F, López Rubalcava C, y González Espinosa C. CINVESTAV-IPN</i>
48.	Mecanismo Molecular de Secreción de Factores Angiogénicos y Quimiotácticos Mediado por el Receptor Sensor de Calcio Extracelular en Células de Cáncer de Mama MDA MB-231. <i>Marco Antonio Hernández Bedolla, Jorge Carretero Ortega, Margarita Valadez Sánchez, José Vázquez Prado y Guadalupe Reyes Cruz. CINVESTAV-IPN</i>
49.	La regulación negativa de las oncoproteínas Ski/SnoN por los antibióticos anisomicina y puromicina modula positivamente la señalización del TGF-beta. <i>Jacqueline Hernández Damián, Angeles C. Tecalco Cruz, Diana G. Ríos López, Genaro Vázquez Victorio, Aleida Vázquez Macías, Cassandre Caligaris, Marcela Sosa Garrocho, Blas Flores Pérez, Margarita Romero Avila y Marina Macías Silva. Instituto de Fisiología Celular, UNAM</i>
50.	La morfina previene la secreción de TNF inducida por LPS en células cebadas bloqueando la activación de IKK y la fosforilación de SNAP-23. Correlación de la formación del complejo β-Arrestina/TRAF-6. <i>Alfredo Ibarra Sánchez, Iris K. Madera Salcedo, Silvia L. Cruz y Claudia González Espinosa. CINVESTAV del IPN</i>
51.	Doxorrubicina induce una señalización atípica de NF-κB a través de la fosforilación de IκBα y la actividad de c-Abl. <i>María de Jesús Ibarra Sánchez, Heriberto Medina Franco, Elizabeth Escobar Arriaga, Eucario León Rodríguez, Alejandro Zentella Dehesa y José Esparza López. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "SZ"</i>

IV Meeting of the Signal Transduction Branch of the Mexican Society of Biochemistry

San Luis Potosí, Noviembre 10 al 13 de 2013

Auditorio Rafael Nieto del Edificio Central, Universidad Autónoma de San Luis Potosí

52.	Análisis de la función de Gln3, Gat1 y Ure2 en la asimilación de nitrógeno en <i>Lachancea kluyveri</i>. José Ángel Jiménez Benítez y Lina Raquel Riego Ruiz. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica
53.	Empleo de los aminoácidos arginina o lisina para la purificación de la GTPasa hGpn2 como proteína recombinante. Jorge Jaime Juárez Lucero, Roberto Sánchez Olea y Mónica R. Calera. Instituto de Física, UASLP
54.	Estudio de la función del receptor de hidrocarburos de arilo en células dendríticas. Brenda Berenice Jurado Manzano, Brenda Esther Ocegüera Maldonado, Nubia Baltazar Benítez, Dulce Bethzy González Velasco, Roberto Fidencio González Amaro y Esther Layseca Espinosa. Facultad de Medicina, UASLP
55.	Efecto de IL-2 sobre la fosforilación de JAK3, STAT3 Y STAT5 y la proliferación de las líneas de carcinoma de cérvix. María del Carmen Lagunas Cruz, Arturo Valle Mendiola, Marcela Muñoz Calderón, Benny Weiss Steider, Isabel Soto Cruz. FES-Zaragoza, UNAM
56.	Alteraciones en la acumulación nuclear de la RNA polimerasa II dependiente de la proteína Gpn3 en el cáncer de mama. Bárbara Lara Chacón, Angélica Y. Robledo Rivera, Mónica R. Calera y Roberto Sánchez. Instituto de Física, UASLP
57.	El papel de la trombina en la proliferación de las células de Müller de la retina. Irene Lee Rivera, Miriam Gabriela Carranza Pérez, Edith López Hernández y Ana María López Colomé. Instituto de Fisiología Celular, UNAM
58.	¿Qué tan Lejanas Están las Terminales 5'-3' en Moléculas de RNA? Nehemías Leija Martínez, Ruben D. Cadena Nava, Alfredo Méndez Cabañas, Sergio Casas Flores, Joan Anto, Eduardo Gómez y Jaime Ruiz García. Instituto de Física, UASLP
59.	El 2-aminoetoxidifenil borato no siempre inhibe al receptor de IP₃ activado por diferentes agonistas. Daniel León Aparicio y Agustín Guerrero Hernández. CINVESTAV-IPN
60.	Caracterización de la autofagia inducida por los ácidos ursólico y oleanólico en células A549 y THP-1. Kahiry Leyva Paredes, Julieta Luna Herrera, Blanca Estela García Pérez. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN
61.	La activación del complejo 1 de mTOR (mTORC1) por la trombina estimula la proliferación del Epitelio Pigmentado de la Retina. Ana María López Colomé, Alejandro Parrales y Edith López. Instituto de Fisiología Celular, UNAM
62.	La Trombospondina-1 en la formación de espinas dendríticas en ratones expuestos a ambientes enriquecidos. Janintzitzic López Niño, Jessica Nayeli Romero Ojeda, Irma López Martínez, Ivonne Sánchez Cervantes, Laura Colín Barenque y Octavio García. Facultad de Psicología, UNAM
63.	La activación de PKC durante la infección del macrófago con <i>Mycobacterium bovis</i> depende de la movilización de calcio Rafael Alejandro Maldonado Bravo, Tomas Villaseñor Toledo, Leonor Pérez Martínez y Gustavo Pedraza. Instituto de Biotecnología, UNAM

IV Meeting of the Signal Transduction Branch of the Mexican Society of Biochemistry

San Luis Potosí, Noviembre 10 al 13 de 2013

Auditorio Rafael Nieto del Edificio Central, Universidad Autónoma de San Luis Potosí

64.	Participación de PKA en la regulación transcripcional de los transportadores de glucosa dependientes de sodio en un epitelio renal en cultivo derivado de túbulo proximal. <i>Martha Imelda Maldonado Cervantes, Mariana Saray Silva López y Jesús Flavio Martínez Morales.</i> UASLP
65.	Papel de la proteína TBK-1 en el desarrollo de resistencia a la insulina en las balsas lipídicas de neuronas. <i>Roger Alexis Maldonado Ruiz,</i> Ilse Delinta, Antonio Vidal Puig y Alberto Camacho. Facultad de Medicina. UANL
66.	Participación de la vía PI3K/Akt en la migración e invasión celular inducida por ácido oleico en la línea celular de cáncer mamario MDA-MB-231. <i>Ma. Cleofas Marcial Medina</i> y José Eduardo Pérez Salazar. CINVESTAV-IPN
67.	Importancia del ciclo de transporte núcleo-citoplasmático de la GTPasa Gpn1 en la acumulación nuclear de la RNA polimerasa II. <i>Mayra Martínez Sánchez,</i> Mónica R Calera y Roberto Sánchez Olea. Instituto de Física, UASLP
68.	La fusión de una secuencia de degradación tipo PEST de la SPMS1 de maíz a la proteína reportera GUS facilita su degradación vía el proteosoma 26S. <i>Israel Maruri López,</i> Margarita Rodríguez Kessler, Aida Araceli Rodríguez Hernández, Juan Elías Olivares Grajales y Juan Francisco Jiménez Bremont. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica
69.	La estimulación de receptores P2X7 en macrófagos de ratón induce estrés oxidativo dependiente de Ca²⁺ a través de la vía de señalización c-Src/Pyk2-PKC-ERK1/2. <i>Guadalupe Martel Gallegos,</i> Griselda Casas-Pruneda, Filiberta Ortega-Ortega, Sergio Sánchez-Armass, Jesús Alberto Olivares-Reyes, Becky Diebold, Patricia Pérez-Cornejo, Jorge Arreola. Facultad de Medicina, UASLP
70.	Caracterización de la cinética del ingreso de Ca²⁺ mediado por GABA, Glicina y Acetilcolina en espermatozoides de humano. <i>Esperanza Mata Martínez,</i> Alberto Darszon y Claudia L. Treviño. Instituto de Biotecnología, UNAM
71.	MDM2 y MDMX, como reguladores de p53. <i>Ixaura Celeste Medina Medina</i> y Vanesa Olivares Illana. Instituto de Física, UASLP
72.	Papel de los receptores a endotelina en el desarrollo de la hipertrofia cardíaca. <i>Tzindilú Molina Muñoz,</i> Hugo Aldana Quintero, Jaime Balderas Villalobos, Maritza Mayorga Luna, Benito Chavez Renteria, David Cruz Robles, Alberto Aranda Fraustro y Norma Leticia Gómez Viquez. Depto. Farmacobiología, CINVESTAV-Coapa
73.	Detección del Betaglicano durante el desarrollo embrionario del pez cebra (<i>D. rerio</i>). <i>Tonatiuh Molina Villa,</i> Valentín Mendoza Rodríguez, Andrés Kamaid Toth y Fernando López Casillas. Instituto de Fisiología Celular, UNAM
74.	La adaptación de las transaminasas Bat1 y Bat2 a la biosíntesis y catabolismo de los aminoácidos de cadena ramificada: valina, isoleucina y leucina. <i>Javier Montalvo Arredondo,</i> José Ángel Jiménez Benítez y Lina Riego Ruiz. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica

IV Meeting of the Signal Transduction Branch of the Mexican Society of Biochemistry

San Luis Potosí, Noviembre 10 al 13 de 2013

Auditorio Rafael Nieto del Edificio Central, Universidad Autónoma de San Luis Potosí

75.	Los receptores para adenosina regulan la expresión y actividad de las isoformas de ciclooxigenasa en células epiteliales renales humanas en cultivo. <i>Angélica Montoya Contreras, Othir Galicia Cruz, Martha Maldonado Cervantes, Flavio Martínez Morales.</i> Facultad de Medicina, UASLP
76.	Caracterización de la subunidad reguladora CKS de cinasas dependientes de ciclinas de <i>Trichomonas vaginalis</i>. <i>Nataly Morales Galeana e Imelda López Villaseñor.</i> Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM
77.	Efecto de las mutaciones del gen GPN1 presentes en cáncer humano en la estructura y función de la GTPasa Gpn1. <i>Carlos A. Moreno Aguilar, Olga Ramírez Ramírez, Selene Acosta Morales, Angelica Y. Robledo Rivera, Gabriela M. Montero Morán, Samuel Lara González, Mónica R. Calera y Roberto Sánchez Olea.</i> Instituto de Física, UASLP
78.	Regulación de proteínas blanco de la vía de Wnt por variantes intratipo del oncogén E6 de VPH 18. <i>Jesús Omar Muñoz Bello, Alma Mariana Fuentes González, Leslie Olmedo Nieva y Marcela Lizano Soberón.</i> Instituto Nacional de Cancerología/Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM
79.	La redistribución de colesterol durante la capacitación espermática permite la remodelación del citoesqueleto de actina y espectrina. <i>Aide A. Muñoz Sánchez, Ana L. Roa Espitia, Rafael Baltiérrez Hoyos y Enrique O. Hernández González.</i> CINVESTAV-IPN
80.	La degradación de espectrina es un proceso esencial para la capacitación. <i>Aide A. Muñoz Sánchez, Ana L. Roa Espitia, Rafael Baltiérrez Hoyos y Enrique O. Hernández González.</i> CINVESTAV-IPN
81.	Activación de la vía de PI3K-AKT en la deficiencia de biotina y su efecto sobre la biogénesis mitocondrial. <i>Estefanía Ochoa Ruiz, Rodrigo Díaz Ruiz, Lucy Anita Camberos Luna, Alain Hernández Vázquez, Salvador Uribe Carvajal y Antonio Velázquez Arellano.</i> Instituto de Investigaciones Biomédicas, INP
82.	Regulación Diferencial de la Señal de Insulina por Acción del Factor Liberador de Corticotropina y Urocortinas a través de la Activación de los Receptores CRF₁ y CRF₂. <i>Jesús Alberto Olivares Reyes, María de la Luz Huidobro Gálvez, Fernanda Elizabeth Zúñiga Aragón, Judith Hernández Aranda y Richard Hauger.</i> CINVESTAV-IPN
83.	Participación de la proteína E6* (estrella) de VPH-18 en la modulación del la vía de Wnt en Cáncer Cérvico-Uterino. <i>Leslie Olmedo Nieva, Jesús Omar Muñoz Bello, Marcela Lizano Soberón.</i> Instituto Nacional de Cancerología/Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM
84.	La proteína fosfatasa PP2C de <i>Leishmania</i> regula la apoptosis del parásito. <i>Marco Ornelas Cruces, Alma Reyna Escalona Montaña, Norma Salaiza Suazo, Laila Gutiérrez Kobeh, Patricia García López y Magdalena Aguirre García.</i> Facultad de Medicina, UNAM
85.	Localización <i>in situ</i> de RhoA, su estado de activación y moléculas efectoras (ROCK1, ROCK2, PKN y Dia1) en la placenta durante la preeclampsia. <i>Erika Gabriela Orozco Hernández, Alfredo Saavedra Molina, Alma Lilia Fuentes Farías y Salvador Manzo Avalos.</i> Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, UMSNH

IV Meeting of the Signal Transduction Branch of the Mexican Society of Biochemistry

San Luis Potosí, Noviembre 10 al 13 de 2013

Auditorio Rafael Nieto del Edificio Central, Universidad Autónoma de San Luis Potosí

86.	Efecto del flavonoide Naringina sobre la señalización intracelular inducida por el ácido lipoteicoico en cardiomiocitos de ratón neonatal (H9c2). <i>Ostoa Pérez María Fernanda</i> y Gutiérrez Venegas Gloria. Facultad de Odontología, UNAM
87.	Perfil de expresión de moléculas antagonistas de la vía WNT en el osteoblasto. <i>Alma Y. Parra Torres</i> , Frank Jiménez Ortega, Margarita Zepeda Mendoza, Vanessa Cárdenas Repizo y Rafael Velázquez Cruz. Instituto Nacional de Medicina Genómica
88.	Efecto de mutaciones en la GTPasa Gpn3 descritas en cáncer, en la localización subcelular de la proteína fluorescente Gpn3-EYFP. <i>Sonia G. Peña Gómez</i> , Angélica Y. Robledo Rivera, Roberto Sánchez Olea y Mónica R. Calera. Instituto de Física, UASLP
89.	miR-7 y miR-146 promueven la transformación celular y metástasis a través de inhibir al supresor de tumores Merlín. <i>Erick Israel Pérez García</i> , Yaxem López Sevilla, Karla Fabiola Meza Sosa, Nohemí Camacho Concha, Leonor Pérez Martínez y Gustavo Pedraza Alva. Instituto de Biotecnología, UNAM
90.	Estudio de la superficie de interacción entre las GTPasas Gpn1 y Gpn3. <i>Ana Estela Pérez Mejía</i> , Lucía Elizabeth Méndez Hernández, Angélica Y. Robledo Rivera, Roberto Sánchez Olea y Mónica R. Calera. Instituto de Física, UASLP
91.	Rac1 regula la movilidad espermática a través de WAVE3 y la polimerización de actina. <i>Danelia Ramírez Ramírez</i> , Ana L. Roa Espitia, Humberto González Marquez y Enrique O. Hernández González. CINVESTAV-IPN
92.	Caracterización del promotor del receptor tipo III para TGFβ (betaglicano) en pez cebra. <i>Lizbeth Ramírez Vidal</i> , Valentín Mendoza Rodríguez, Ernesto Maldonado Olvera, Andres Kamaid Toth y Fernando López Casillas. Instituto de Fisiología Celular, UNAM
93.	El papel de las proteínas Rho y de ROCK en la regulación de la capacitación a través de la polimerización de actina. <i>Tania Reyes Miguel</i> , Ana L. Roa Espitia y Enrique O. Hernández González. CINVESTAV-IPN
94.	Determinación de la activación del receptor c-Kit, PI3K/AKT, Src en linfoblastos BCR-ABL positivo en cultivo. <i>Reyes Sebastián Josefina</i> . Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN
95.	El colágeno tipo IV nativo induce activación de la vía PI3K/AKT/NFκB y migración celular en la línea de cáncer mamario MDA-MB-231. <i>Emmanuel Reyes Uribe</i> , Pedro Cortes Reynosa, Eduardo Pérez Salazar. CINVESTAV - PN
96.	Estudio de la Cinética de Ensamblamiento del Virus del CCMV Mediante la Generación de Mutantes en la Superficie de la Cápside del Virus Acopladas con Alexa 546. <i>Elizabeth Reynaga Hernández</i> , Mario Alberto Martínez Partida, Adriana Margarita Longoria Hernández, Nehemías Leija Martínez, Rubén Darío Cadena Nava, Eduardo Gómez García y Jaime Ruíz García. Instituto de Física, UASLP

IV Meeting of the Signal Transduction Branch of the Mexican Society of Biochemistry

San Luis Potosí, Noviembre 10 al 13 de 2013

Auditorio Rafael Nieto del Edificio Central, Universidad Autónoma de San Luis Potosí

97.	Degradación de las oncoproteínas Ski y SnoN por el antibiótico anisomicina en células de melanoma. <i>Diana Grisel Ríos López, Jacqueline Hernández Damián, Marcela Sosa Garrocho y Marina Macías-Silva.</i> Instituto de Fisiología Celular, UNAM
98.	Caracterización de PHB2 y PBX3 como corre reguladores del receptor de andrógenos en líneas celulares de cáncer de próstata. <i>Miguel A. Rivas Torres, Ángel Salmerón Hernandez, Yamilet Noriega Reyes, Noemi Baranda Ávila y Elizabeth Langley.</i> Instituto Nacional de Cancerología
99.	Los Ácidos Grasos y la Proteína Cinasa C inducen la Activación del GPR120 (El receptor 4 para Ácidos Grasos). <i>Ma. Teresa Romero Ávila Omar B. Sánchez Reyes, Jean A. Castillo Badillo, Yoshinori Takei, Akira Hirasawa, Gozoh Tsujimoto, Rafael Villalobos Molina y J. Adolfo García Sáinz,</i> Instituto de Fisiología Celular, UNAM
100.	CD38 promueve la proliferación y fosforilación de ERK en precursores de linfocitos B de médula ósea de ratones C57BL/6. <i>Héctor Romero Ramírez, Monserrat Teresa Morales Guadarrama, Rosana Pelayo, Rubén López Santiago y Leopoldo Santos Argumedo.</i> CINVESTAV-IPN
101.	Cambios en la morfología del citoesqueleto de actina en la célula glial de Bergmann después de exposición a etanol y glutamato. <i>Rebeca Rosas, Yadira Bastián, J Alfredo Méndez.</i> Instituto de Física, UASLP
102.	Estudio de la participación de las microvesículas secretadas por las células MDA-MB-231 estimuladas con colágena tipo IV nativa en el proceso de migración de las células MCF10A. <i>Cecilia Yazmín Rodríguez Monterrosas, José Eduardo Pérez Salazar.</i> CINVESTAV - IPN
103.	Análisis del sinergismo entre BCAS2 y otros coactivadores del receptor de estrógenos α en células de cáncer de mama. <i>Angel Salmerón Hernández, Miguel Angel Rivas Torres, Noemi Baranda Avila y Elizabeth Langley McCarron.</i> Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM
104.	Participación de canales de K^+ Slo en la hiperpolarización asociada a la capacitación del espermatozoide de humano. <i>Oscar Sánchez Carranza, Ignacio López González, Paulina Torres Rodríguez, Alejandra Solís López, Celia María Santi, Alberto Darszon y Claudia Lydia Treviño.</i> Instituto de Biotecnología, UNAM
105.	Activación de la región promotora del gen Fra-1 por el complejo β-Catenina/TCF en la línea celular CasKi de cáncer cérvicouterino. <i>Jessica Nayelli Sánchez Carranza y Leticia González Maya.</i> Facultad de Farmacia, UAEM
106.	Participación de LOXs y de COX-2 en la activación de FAK y en la migración celular inducida por ácido linoleico en células de cáncer de mama MDA-MB-231. <i>Nathalia Serna Márquez, Cecilia Yazmín Rodríguez Monterrosas, Sócrates Villegas Comonfort, Octavio Galindo Hernández, Napoleón Navarro Tito, Eduardo Pérez Salazar.</i> CINVESTAV-IPN
107.	Identificación de genes blanco de las señales de la citocina TGF-beta durante la regeneración hepática. <i>Manuel Tavares Cornejo, Cassandre Caligaris, Marina Macías Silva.</i> Instituto de Fisiología Celular, UNAM

IV Meeting of the Signal Transduction Branch of the Mexican Society of Biochemistry

San Luis Potosí, Noviembre 10 al 13 de 2013

Auditorio Rafael Nieto del Edificio Central, Universidad Autónoma de San Luis Potosí

108.	Claudinas -6 y -9 regulan la activación de MMP-2 y MMP-9 en células de adenocarcinoma gástrico humano. <i>Ana C. Torres Martínez, Jane E. Nieto Landaverde, Priscila J. Torres Granados, Rosalba Pacheco Bautista, Luis F. Montaña Estrada y Erika P. Rendón Huerta.</i> Facultad de Medicina, UNAM
109.	Bases moleculares de la resistencia a insulina inducida por RBP-4 en células de músculo esquelético de rata. <i>Rafael Torres Montiel, Antonio Hernández Ortiz, Patricia Fügüeman Martínez y Eduardo Monjaraz Guzmán.</i> Instituto de Fisiología, BUAP
110.	Efecto del flavonoide Naringina sobre cardiomicitos H9c2 de ratón neonatal estimulados con LPS. <i>Cesar Emmanuel Torres Pineda.</i> Facultad de Odontología, UNAM
111.	Estudio de la interacción entre MDM2 y el <i>mRNAp53</i>. <i>Ángel Andrés Torres Rosales, Paola García Beltrán, Nehemias Leija y Vanesa Olivares-Illana.</i> Instituto de Física, UASLP
112.	Efecto antineoplásico y coadyuvante de compuestos de coordinación de cobre con los fármacos de elección para el tratamiento del rabdomiosarcoma <i>in vitro</i>. <i>Dulce Dinora Uribe Rosales, María Dolores Jiménez Farfán, Claudio Amador Viveros, Juan Carlos Hernández Guerrero y María Cristina Trejo Solís.</i> Facultad de Odontología, UNAM
113.	Papel de la progesterona en la expresión del factor de bloqueo inducido por progesterona (PIBF) y en la regulación del factor transcripcional STAT6 en células derivadas de astrocitomas humanos. <i>Paulina Valadez Cosmes, Carolina Jiménez Arellano, Aliesha González Arenas e Ignacio Camacho Arroyo.</i> Facultad de Química, UNAM
114.	Detección de mutaciones en el EGFR, en exones 19 y 21 en líneas celulares de carcinoma de cérvix CALO e INBL. <i>Arturo Valle Mendiola, Evelin Damian e Isabel Soto Cruz.</i> Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM
115.	Regulación de los niveles de la proteína Ski en los hepatocitos durante el proceso de regeneración hepática. <i>Genaro Vázquez Victorio, Cassandre Caligaris, Marcela Sosa Garrocho, Eugenio Del Valle Espinosa, Nelly R. González Arenas, Guadalupe Reyes Cruz y Marina Macías Silva.</i> Instituto de Fisiología Celular, UNAM
116.	<i>Mycobacterium bovis</i> BCG altera el patrón de proteínas fosforiladas por PKC durante la invasión del macrófago. <i>Tomás Villaseñor Toledo, Álvaro Torres Huerta, Yvonne Rosenstein, Leonor Pérez Martínez y Gustavo Pedraza Alva.</i> Instituto de Biotecnología, UNAM
117.	La leptina promueve la expresión de marcadores de la transición epitelio-mesénquima en las células de epitelio de mama no tumoral MCF10A. <i>José Alfredo Villanueva Duque, Eduardo Castañeda Saucedo, y Napoleón Navarro Tito.</i> Universidad Autónoma de Guerrero
118.	Análisis Cuantitativo y Funcional de Células T reguladoras CD69+ NKG2D+ T en individuos sanos. <i>Vitales Noyola M, Álvarez Quiroga C, Monsiváis Urenda A, Layseca Espinosa E y González Amaro R.</i> Facultad de Medicina, UASLP

IV Meeting of the Signal Transduction Branch of the Mexican Society of Biochemistry

San Luis Potosí, Noviembre 10 al 13 de 2013

Auditorio Rafael Nieto del Edificio Central, Universidad Autónoma de San Luis Potosí

119.	Efecto de la inhibición de MUC1 y c-Met en la actividad proliferativa e invasiva del carcinoma oral de células escamosas <i>in vitro</i>. <i>Claudio Viveros Amador</i> , María Dolores Jiménez Farfán, Juan Carlos Hernández Guerrero y Cristina Trejo Solís. Facultad de odontología, UNAM
120.	Activación de PI3K: Elemento clave como blanco terapéutico para la diabetes mellitus tipo 2. <i>Rocio Zapata Bustos</i> , Ángel Josabad Alonso Castro, Luis A. Salazar Olivo. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica
121.	Papel de las especies reactivas del oxígeno en la activación de la vía de las MAPK involucrada en la muerte neuronal apoptótica. <i>Marco Antonio Zaragoza Campillo</i> y Julio Morán Andrade. Instituto de Fisiología Celular, UNAM

Orales



Pleiotropic effects of cavin-1 deficiency on lipid metabolism

Paul F. Pilch^{1,2}, Shi-Ying Ding¹, Mi-Jeong Lee^{2,4}, Ross Summer^{2,3}, Libin Liu¹ and Susan K. Fried^{2,4}

Departments of ¹Biochemistry and ²Medicine; ⁴Division of Endocrinology, Diabetes and Nutrition, ³Pulmonary Center, Department of Medicine, Boston University School of Medicine, Boston, MA 02118

Caveolae are small flask-shaped plasma membrane invaginations that are especially abundant in adipocytes, endothelial and smooth muscle cells. Mice and humans lacking caveolae due to gene knockout and inactivating mutations of *cavin-1/PTRF*, one of the caveolar proteins have numerous pathologies including markedly aberrant fuel metabolism, lipodystrophy and muscular dystrophy. We characterized in detail the physiologic/metabolic profile of *cavin-1* null mice and determined that they were lean due to reduced fat in all white adipose depots. *Cavin-1* null mice had abnormal lipid metabolism in the major metabolic organs including white and brown fat and liver and the mice were resistant to diet-induced obesity. White fat cells from *cavin-1* null mice were small and insensitive to signaling by insulin and β -adrenergic agonists resulting in impaired glucose uptake and lipolysis, such that reduced adipocyte lipid storage resulted. Moreover, the adipose tissue of *cavin-1* null mice was fibrotic and macrophage infiltrated. The fibrosis may derive from a non-caveolar function of cavin-1, namely its first noted nuclear function as polymerase 1 transcription releasing factor. High fat feeding did not aggravate the glucose intolerance in *cavin-1* null mice. The livers of *cavin-1* null mice were mildly steatotic and enlarged, and did not accumulate more lipid after high-fat feeding, while the liver glycogen storage in *cavin-1* null mice was significantly increased with high fat feeding. In brown adipose tissues of *cavin-1* null mice, the cell size was smaller and they exhibited decreased fatty acid oxidation due to decreased mitochondria protein expression. Inflammation was also observed in brown fat of *cavin-1* null mice. Taken together, these data suggest that dysfunction in white fat, brown fat and liver metabolism in *cavin-1* null mice causes a pleiotropic phenotype, one apparently identical to that of humans with a universal deficiency of caveolae.



The importance of structural dynamics in phosphoinositide 3-kinase signalling

Roger L. Williams¹, John E. Burke¹, Oscar Vadas¹, Olga Perisic¹, Hashem A. Dbouk², Aliaksei Shymanets³, Christian Harteneck³, Bernd Nürnberg³, and Jonathan M. Backer². Email: rlw@mrc-lmb.cam.ac.uk.

¹MRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge, UK; ²Depts. of Molecular Pharmacology, Albert Einstein College of Medicine, Bronx, NY, USA;

³Institute for Pharmacology and Toxicology, Eberhard-Karls-Universität Tübingen, Tübingen, Germany

The class I and III phosphoinositide 3-kinases (PI3Ks) associate tightly with adaptor subunits enabling their activation in signaling and vesicle sorting pathways. X-ray crystallography combined with hydrogen/deuterium exchange mass spectrometry (HDX-MS) reveal key dynamic processes that accompany activation of PI3K complexes on membranes.

The ubiquitous class IA phosphoinositide 3-kinases, PI3Kalpha and PI3Kbeta, have 110 kDa catalytic subunits with very little activity in their basal state, but activation of either enzyme can result in oncogenesis. Both of these isotypes can be mutated in human cancers and p110beta can drive transformation of cells where the gene for the 3-phosphatase PTEN is deleted. Uniquely among the PI3Ks, PI3Kbeta is directly activated downstream of GPCRs and by binding to phosphorylated tyrosine motifs downstream of tyrosine kinases. It has been shown that the PI3K pathway is mutated in about half of human cancers, suggesting that inhibitors of PI3Ks might have utility in anti-cancer applications.

Using HDX-MS, we have been able to locate the site of interaction of Gβγ heterodimers on the surface of the 100 kDa catalytic subunits of PI3Kbeta and PI3Kgamma. The p101 regulatory subunit of PI3Kgamma also interacts with Gβγ heterodimers. With knowledge of these interactions, we have constructed PI3Ks that have unaltered activity except that they are no longer activated downstream of GPCRs.

By combining X-ray crystallography with hydrogen/deuterium exchange mass spectrometry (HDX-MS) we have developed a new understanding how PI3K complexes interact with their regulatory complexes to activate the enzymes on membranes. The class I PI3Ks change from a closed, inactive form in the cytosol to an open, active state on membranes. Four allosteric changes accompany this transition. Oncogenic mutations, association with pY motifs in RTKs and association with Gβγ heterodimers all potentiate one or more of these basic events.

Support by the Medical Research Council (file reference number U105184308) and the British Heart Foundation (PG11/109/29247).



Species sequence differences influence the interaction of GnRH receptor with chaperone protein calnexin

Alejandro Cabrera-Wrooman, Jo Ann Janovick, P. Michael Conn.

Oregon National Primate Research Center, Oregon Health and Science University,
505NW 185th Avenue, Beaverton, OR 97006, USA (55)56225649
awrooman@email.ifc.unam.mx

Proteins are synthesized and processed in the reticulum endoplasmic (ER) and Golgi apparatus. Quality control system (QCS), check the integrity and correct folding of new proteins in the ER. The calnexin is among the chaperone proteins of the QCS. The G-protein coupled receptors (GPCR) are synthesized in the ER like others proteins. Human gonadotropin hormone receptor (GnRHR) is part of the family of GPCR. The GnRHR is stabilized by Cys¹⁴-Cys²⁰⁰ bridge required by the cellular QCS. Previous studies showed that there are differences in the GnRHR amino acid sequence among species. One of the most important differences is the presence of Lys¹⁹¹ in the human, which is absent in mouse and rat. Another important difference between GnRHR species is the interaction with calnexin. There are 4 amino non-contiguous "motif" (Leu¹¹², Gln²⁰⁸, Leu³⁰⁰, Asp³⁰²), that participate in the stabilization of Cys¹⁴-Cys²⁰⁰ bridge. The results show that the deletion of Lys¹⁹¹ in the human GnRHR (hGnRHR) increased the inositol phosphate (IP) production compared with WT hGnRHR. When rat GnRHR contains Lys¹⁹¹ the IP production decreased considerably compared with WT rat GnRHR. The expression and the IP production of hGnRHR decreased ~50% when is co-expressed with calnexin. When rat GnRHR is co-expressed with calnexin the IP production decreased only ~10%. When the human sequence contains the rat motif, IP production is closer to that of rat GnRHR when is co-expressed with calnexin. Here we showed the participation of the Cys¹⁴-Cys²⁰⁰ bridge over the expression and IP production of GnRHR. The motif sequence appears to be a determinant of calnexin recognition.



Tuning calcineurin: substrate specificity and its potential effects in synucleinopathies

Gabriela Caraveo^{1,2}, Pavan K. Auluck^{1,3}, Luke Whitesell¹, CheeYeun Chung¹, Valeriya Baru^{1,2}, Eugene V Mosharov⁴, Xiaohui Yan⁵, Manu Ben Johny⁶, Martin Soste⁷, Paola Picotti⁷, Hanna Kim⁵, Kim. A. Caldwell⁵, Guy A. Caldwell⁵, David Sulzer⁴, David T. Yue⁶, Susan Lindquist^{1,2}.

¹ Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge, MA 02142, USA.

² Howard Hughes Medical Institute, Department of Biology, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, MA 02139, USA.

³ Department of Pathology, Massachusetts General Hospital, Boston, MA 02114

⁴ Department of Neurology, Columbia University Medical Center, New York, NY 10032.

⁵ Department of Biological Sciences, University of Alabama, Tuscaloosa, AL 35487

⁶ Departments of Biomedical Engineering and Neuroscience, The Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD 21205, USA.

⁷ Department of Biology, Institute of Biochemistry, ETH Zurich, Switzerland

Gabriela Caraveo-caraveop@wi.mit.edu

Calcineurin is a highly conserved Ca^{2+} -calmodulin-dependent phosphatase that plays a key role in sensing Ca^{2+} concentrations and transducing that information into cellular responses. Ca^{2+} homeostasis is disrupted by α -Synuclein (α -syn), whose misfolding and accumulation in Lewy Bodies is a pathological hallmark of several neurodegenerative diseases. Here we reveal a highly conserved mechanism by which perturbations of Ca^{2+} homeostasis cause cell death in response to toxic levels of α -syn. From yeast to neurons, sustained and highly elevated levels of cytoplasmic Ca^{2+} activate a pathological calmodulin-calcineurin cascade that engages substrates which result in toxicity. Modulating calmodulin can shift the spectrum of substrates towards protective pathways. Genetic and pharmacological modulation of calcineurin does the same. We demonstrate that calcineurin phosphatase activity can be re-directed from toxic to beneficial substrates, and suggest a therapeutic strategy for synucleinopathies including Parkinson Disease.



Aminopeptidasa N (CD13): Un receptor involucrado en fagocitosis y procesos de adhesión en células monocíticas

Enrique Ortega, Ileana Licona, Iraís Villaseñor, Ma. Guadalupe García Patiño, Claudia Garay. Departamento de Inmunología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México. Cd. Universitaria, DF, 04510, Mexico. Tel 55 5622 3834. ortsoto@unam.mx

La Aminopeptidasa N, o CD13, es una glicoproteína de membrana con actividad de exopeptidasa, expresada en varios tipos celulares. En células hematopoyéticas su expresión está restringida a monocitos, macrófagos, células dendríticas y sus precursores. CD13 participa en múltiples funciones, como el procesamiento de quimiocinas, péptidos vasoactivos, citocinas, encefalinas y hormonas, y se ha demostrado su participación en adhesión celular, en angiogénesis y en la invasividad de células tumorales. Aunque CD13 es altamente expresada en monocitos, macrófagos y células dendríticas, su participación en las funciones de estas células en la respuesta inmune ha sido poco explorada.

En nuestro laboratorio, decidimos estudiar la posible participación de CD13 en procesos fagocíticos llevados cabo por estas células. Inicialmente, evaluamos la posible interacción funcional entre CD13 y receptores para IgG (FcγRs). Demostramos que en la fagocitosis de eritrocitos mediada por FcγRs, CD13 redistribuye a la copa fagocítica y es internalizado en el fagosoma. Además, cuando los eritrocitos interactúan simultáneamente con FcγRI y con CD13 sobre la membrana de la célula, son fagocitados más eficientemente que cuando se unen únicamente a través del FcγRI. La coagregación de CD13 y FcγRI induce una activación de la cinasa Syk más intensa y sostenida por tiempos más largos. Estos resultados demostraron que CD13 y los FcγRs interaccionan funcionalmente, sugiriendo que CD13 puede participar en procesos fagocíticos como co-receptor, regulando positivamente o contribuyendo a la fagocitosis mediada por otros receptores en células monocíticas. (A la capacidad de CD13 de modular la fagocitosis mediada por otros receptores, le llamamos actividad de co-receptor). Posteriormente, demostramos que CD13 puede modular positivamente la fagocitosis mediada por receptores distintos, como la fagocitosis de partículas de zymosan y de bacterias muertas por células dendríticas y macrófagos.

Recientemente, hemos demostrado que en monocitos y macrófagos humanos, CD13 es un receptor fagocítico primario, ya que es capaz de mediar la fagocitosis de partículas que se unen a la célula monocítica únicamente a través de CD13. Esta fagocitosis depende de la polimerización de actina, y es mediada por una vía de traducción de señales que involucra a Syk y PI3K. Estos resultados dan evidencia de que CD13 funciona como un receptor que participa procesos fagocíticos en monocitos y macrófagos.



Receptores de inmunidad innata y enfermedad

Roberto González-Amaro. Depto. de Inmunología, Facultad de Medicina, UASLP. Ave. V. Carranza 2405, 78210 San Luis Potosí, SLP. Tel. (444) 8177706. rgonzale@uaslp.mx

Los receptores de inmunidad innata pueden tener un papel importante en diferentes patologías inflamatorias y autoinmunes. En los últimos años nuestro laboratorio ha estudiado diversos aspectos de la posible relación entre algunos receptores de inmunidad innata y enfermedad. **A)** Con relación a la dectina-1, hemos encontrado que los monocitos de pacientes con lupus eritematoso generalizado (LEG) muestran una expresión disminuida de este receptor, pero que su entrecruzamiento resulta en un incremento anormal en el $[Ca^{2+}]_i$ y una liberación incrementada de citocinas pro-inflamatorias (IL-1, IL-6, TNF- α) [1]. En monocitos de pacientes con artritis reumatoide detectamos fenómenos similares [1]. En pacientes con diabetes mellitus tipo 2 también encontramos anomalías en la expresión de dectina-1 y en diversos parámetros de su función, principalmente en aquellos pacientes con hiperglucemia [2]. **B)** En otros trabajos hemos analizado el efecto de infecciones virales y vacunación sobre el repertorio de receptores de células NK. Hemos encontrado que, en pacientes pediátricos, la infección por citomegalovirus se asocia a un incremento en la expresión de NKG2C en linfocitos NK y T, así como un aumento de linfocitos T ILT2+ [3]. Además, encontramos que la inmunización en contra del virus del papiloma humano (HPV) se asocia con un incremento en la expresión de ILT2 y de su función inhibitoria. Asimismo, esta inmunización resultó en un incremento en la expresión de NKG2D, NKp30 y NKp46 por linfocitos NK y NKT [4]. Por otra parte, los pacientes con influenza severa muestran un incremento de linfocitos NK NKp44+ y NKp46+, así como un aumento en la expresión de KIR2DL1 y KIR3DL1 en células NK y NKT. En contraste, la inmunización en contra de la influenza no se asoció con cambios significativos en el repertorio de receptores de células NK [5]. **C)** También hemos explorado la expresión y la función del receptor ILT2 en linfocitos y células dendríticas de pacientes con enfermedades autoinmunes (LEG, tiroiditis) [6-8], así como la relación entre linfocitos NK, LEG e infección por HPV.

1) Salazar-Aldrete C, et al. *J Clin Immunol* 33:368-77, 2013. **2)** Cortez-Espinosa N, et al. *Metabolism* 61:1538-46, 2012. **3)** Monsiváis-Urenda A, et al. *Eur J Immunol*. 40:1418-27, 2010. **4)** Colmenares V, et al. *Clin Vaccine Immunol*. 19:1005-11, 2012. **5)** Juárez-Reyes A, et al. *Clin Vaccine Immunol*. 20:1291-7, 2013. **6)** Doníz-Padilla L, et al. *Eur J Endocrinol*. 165:129-36, 2011. **7)** Monsiváis-Urenda A, et al. *J Autoimmun*. 29:97-105, 2007. **8)** Monsiváis-Urenda A, et al. *Hum Immunol*. 74:1088-96, 2013. **9)** *Arch Dermatol Res*. 305:117-23, 2013.



p53 y sus reguladores MDM2 y MDMX

Vanesa Olivares Illana

Instituto de Física, UASLP

Av. Manuel Nava 6, Zona Universitaria CP 78290, San Luis Potosí, SLP

p53 es el factor de transcripción que mantiene la integridad genómica previniendo la iniciación y progresión tumoral, modulando la expresión de una enorme cantidad de genes. Debido a su enorme importancia como supresor de tumores, es altamente regulado. Las proteínas parálogas MDM2 y MDMX han sido consideradas como sus reguladores negativos por excelencia. Por un lado, MDM2 es una E3 ubiquitin ligasa que degrada a p53 mientras que MDMX inhibe la actividad transcripcional de p53 vía interacción proteína-proteína. Bajo condiciones de estrés genotóxico, ambas proteínas son capaces de unirse al *mRNA de p53* en el IRES (la secuencia interna de entrada al ribosoma) y potenciar su traducción cambiando de reguladores negativos a promotores de la síntesis de p53. Nuestros resultados muestran como MDMX y MDM2 bajo condiciones de estrés genotóxico, actúan de manera no redundante, como ITAFs (factores de regulación de IRES) sobre el *mRNA de p53*, dando como resultado un efecto sinérgico en la activación de p53.

CONACyT CB-166233

PROMEP/103.5/12/3953

Fondo de Apoyo a la Investigación (C13-FAI-03-57.57)



Cell cycle machinery in development and cancer

Peter Sicinski. Dana-Farber Cancer Institute and Harvard Medical School. 44
Binney Street, Boston, MA 02115, USA. Email:
peter_sicinski@dfci.harvard.edu

Cyclins and their associated cyclin-dependent kinases represent components of the core cell cycle machinery. Genes encoding these proteins are frequently amplified and proteins overexpressed in many human cancer types.

In my talk I will describe our genetic studies aiming at elucidation of the functions for these proteins in normal development and in cancer formation. I will discuss an unexpected function for the D-type cyclins is survival of adult stem cells. I will also discuss the potential of targeting individual cell cycle components for cancer therapy.



Nuevas funciones de la superfamilia del TGF β en la regulación del sistema inmune

Gloria Soldevila Melgarejo. Departamento de Inmunología. Instituto de Investigaciones Biomédicas. UNAM. Circuito Escolar s/n. Apartado Postal 70228, Colonia Copilco, Delegación Coyoacán, México DF-04510. e-mail: soldevi@unam.mx

La superfamilia del TGF β está conformada por un conjunto de ligandos diméricos solubles involucrados en diversos procesos celulares importantes, tales como la diferenciación, proliferación y apoptosis. Los miembros de esta superfamilia incluyen las familias de los TGF β s, BMPs y Activinas/Inhibinas. Recientemente, se ha evidenciado que todos ellos están involucrados en el sistema inmune, y de manera específica regulan en el desarrollo de los linfocitos T durante su maduración en el timo, modulando distintos procesos de diferenciación y selección de los timocitos. En específico, nuestro grupo ha demostrado que las Inhibinas son los principales ligandos expresados en el timo, preferentemente por células estromalestímicas. De manera interesante, el análisis del ratón Inhibinko demostró que las Inhibinas son importantes para la transición del estadio del timocitos DN a DP y que en ausencia de Inhibinas existe un defecto en la diferenciación de timocitos *in vitro*. Recientemente, hemos evaluado el papel de las inhibinas en la diferenciación y función de las células estromalestímicas, incluyendo células dendríticas, células epiteliales corticales y medulares, y nuestros datos indican que la ausencia de inhibina afecta la maduración de estas células y como consecuencia altera la selección de linfocitos CD4⁺ y de células T reguladoras naturales. Por otro lado, las funciones de los miembros de la superfamilia del TGF β está regulada por correceptores como el Betaglicano (T β RIII, o receptor tipo III para TGF β) quien interacciona con TGF β s, BMPs y Inhibinas potenciando sus funciones. T β RIII se expresa diferencialmente durante la ontogenia del linfocitos T. De manera interesante, el análisis del timocitos deficientes para T β RIII, así como el bloqueo de T β RIII en cultivos de órgano timico fetal demostró el papel de este correceptor en la diferenciación de los linfocitos T, protegiendo a los timocitos de la apoptosis. En resumen, nuestros datos indican que las Inhibinas y el T β RIII podrían funcionar como un par molecular que regula el desarrollo y función de los linfocitos T y posiblemente de otras células del sistema inmune.



LUMIER and TGF-beta protein interaction networks

Miriam Barrios Rodiles¹, Guoxiong Xu², Michelle Letarte² and Jeffrey L. Wrana¹.¹Center for Systems Biology, Lunenfeld-Tanenbaum Research Institute. Mount Sinai Hospital. 600 University Avenue, M5G 1X5. Toronto, Canada.(416)-586-4800.

miriam@lunenfeld.ca² Molecular Structure and Function Program, The Hospital for Sick Children. 555 University Avenue, M5G1X8.Toronto, Canada.

Protein-protein interactions (PPIs) play an essential role in all biological processes. *In vivo*, PPIs occur dynamically and depend on extracellular cues. To analyze dynamic protein-protein interactions in mammalian cells, we have developed a high-throughput automated method called LUMIER (LUMinescence-based Mammalian IntERactome). In this method, we co-express a Luciferase (LUC) tagged fusion protein along with a Flag-tagged protein in HEK-293T cells. The interaction between these proteins is determined by coimmunoprecipitation using an anti-Flag antibody, and the presence of the LUC-tagged interactor in the complex is revealed via its luciferase activity. LUMIER can easily detect transmembrane receptor partners, interactions that are signaling-dependent and those that occur only in the presence of post-translational modifications. Using a collection of ~600 Flag-tagged proteins and more than 10,000 tests, we generated a network of ~900 PPIs for TGF-beta family members. Analysis of this TGF-beta network revealed pathway components connected to the polarity complex and occludin, a tight junction constituent. We have shown that these PPIs are important during TGF-beta-dependent epithelial to mesenchymal transition, a crucial step in cancer metastasis. Recently, we have used LUMIER to identify novel PPIs relevant to hereditary hemorrhagic telangiectasia (HHT), a disease characterized by endothelial dysfunction and arteriovenous malformations. HHT is caused by mutations in the endoglin (ENG) and activin receptor-like kinase 1 (ACVRL1) proteins, also members of the TGF-beta family. A novel interaction between ENG and the regulatory subunit of protein phosphatase 2A (PP2A) was found. The relevance of this interaction on the phosphorylation status of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) for vascular endothelial function will be discussed. In conclusion, LUMIER is a valuable tool for the identification and characterization of dynamically regulated PPIs in mammalian systems.



Cómo los antibióticos contribuyen a que el ribosoma entienda las señales del péptido naciente

Nora Vázquez-Laslop

Center for Pharmaceutical Biotechnology
University of Illinois, Chicago, Illinois, USA
nvazquez@uic.edu

El ribosoma es un experto transductor de señales: lee la información contenida en el mRNA y cataliza la formación de enlaces peptídicos entre los aminoácidos especificados por este mensaje para sintetizar todas las proteínas celulares. Aunque éstas son sus habilidades más conocidas, más recientemente hemos aprendido que el ribosoma también tiene la capacidad de entender mensajes que provienen del péptido naciente, la cadena de aminoácidos que, aún esterificada al tRNA, reside transitoriamente en el túnel de salida ribosomal.

El túnel de salida de las proteínas nacientes es una estructura que comienza en el centro de peptidil transferasa de la subunidad grande, la atraviesa longitudinalmente y se abre en el lado opuesto de la misma.

Aunque unas cuantas proteínas ribosomales tienen extensiones que alcanzan el lumen del túnel, los principales elementos estructurales de la cavidad son nucleótidos de RNA ribosomal.

Hasta hace relativamente poco se consideraba que el paso de las proteínas nacientes por el túnel de salida no era más que un proceso pasivo, sin consecuencia funcional alguna. Sin embargo, ahora sabemos que una gran variedad de péptidos nacientes interactúan frecuentemente con elementos específicos de las paredes del túnel. Esta red de interacciones no es simplemente un conjunto de encuentros fortuitos: está orquestrada para modular funciones ribosomales. En casos extremos, las interacciones entre el ribosoma y el péptido naciente, a veces con la ayuda clave de moléculas pequeñas como antibióticos o metabolitos, forzan al ribosoma a descapacitar su centro catalítico, interrumpiendo así la síntesis del péptido.

Estos ribosomas descapacitados, atorados sobre un codón específico en el mRNA de regiones líderes reguladoras controlan la expresión de genes como, por ejemplo, los genes inducibles de bacterias patógenas que las hacen resistentes a antibióticos de gran importancia clínica. De manera muy interesante, el estancamiento programado de ribosomas responsables de la activación de estos genes de resistencia, está modulado por los péptidos codificados en las regiones líder en conjunto con los antibióticos cuyo sitio de unión es el túnel ribosomal.

Nuestro grupo está interesado en entender a nivel molecular cómo el ribosoma está capacitado para recibir y responder funcionalmente a los mensajes generados por péptidos nacientes y antibióticos. El entendimiento de estas interacciones revela al ribosoma como un integrador de señales que permiten que la célula ajuste adecuadamente sus funciones.



Como Instruir a los Ribosomas para Detectar Triptófano en la Célula

Luis Rogelio Cruz Vera

University of Alabama in Huntsville, Alabama 35899, USA

Tel: 012568246261, email: Luis.Cruz-Vera@uah.edu

Durante la expresión génica la maquinaria de síntesis de proteínas, los ribosomas traducen la información genética de los RNA mensajeros. La velocidad y eficiencia con la que los ribosomas producen proteínas determinan la funcionalidad de genes en la célula. Este fenómeno se observa durante la expresión de la enzima de *Escherichia coli* denominada Triptofanasa. La Triptofanasa convierte triptófano en indol, un compuesto que funciona como señal química para las bacterias. Para expresarse, esta enzima requiere que la concentración del amino ácido triptófano incremente tanto fuera como dentro de la célula. Una vez que se alcanza la concentración óptima, las moléculas de triptófano interactúan con los ribosomas que sintetizan un péptido de 24 amino ácidos denominado TnaC. El gen de TnaC forma parte de un grupo de genes que se expresan junto con la Triptofanasa, este grupo se denomina operon de la Triptofanasa. Las moléculas de triptófano unidas a los ribosomas inhiben la síntesis de TnaC. Usando técnicas de genética y biología molecular en nuestro laboratorio hemos demostrado que el péptido TnaC interactúa con el ribosoma promoviendo la formación de un sitio de unión selectivo para el amino ácido triptófano. Una vez que el triptófano interactúa con el ribosoma, la estructura de este último se modifica adquiriendo un estado no funcional. Como consecuencia el ribosoma se detiene en el RNA mensajero afectando la síntesis de TnaC e incrementando la expresión de los otros genes del operon de la Triptofanasa. Estudiando este modelo podemos entender cómo péptidos que se encuentran en el proceso de ser sintetizados inducen al ribosoma a ser un receptor de señales químicas que modifican la expresión de genes, un nuevo concepto en la transducción de señales.



Crosstalk and Cell Signalling Mediated by ATP-gated P2X Cation Channels

Jorge Arreola

P2X1 to P2X7 receptors are homo- or hetero-trimeric ATP-gated cation channels widely distributed in mammalian cells. P2X4 and P2X7 receptors (P2X4R and P2X7R) are co-expressed in various tissues such as immune system, nervous system, respiratory system and secretory epithelia. Several physiological functions such as release of pro-inflammatory cytokines, increased permeability to molecules of 900 Da, production of reactive oxygen species, morphological changes of cells, apoptosis and pain transduction among others are triggered or regulated by activation of these receptors.

In this talk I will describe the relevance of P2X7R to reactive oxygen species (ROS) in macrophage cells and the signalling cascade involved in this process. We studied ROS generation induced by purinergic stimulation of mouse macrophages or of HEK293 cells expressing P2X7 receptor (P2X7R) channels plus NOX2, RAC1, p47^{phox} and p67^{phox}. In these cells ROS generation is strictly dependent on an intracellular Ca²⁺ increase due to Ca²⁺ entry via P2X7R. Furthermore, PKC, ERK1/2 and c-Src are important for oxidative stress but PI3K, p38 MAPK and Pyk2 are not.

A cross-talk between P2X4 and P2X7 was demonstrated by co-expressing P2X4R and P2X7R in HEK-293 cells and record the whole cell current carried by TEA cations. TEA can go through P2X7R pore but not through P2X4R pore, thus, changes in TEA currents kinetics are due to P2X7R regulation by P2X4R. Co-expressed channels generated a TEA⁺ current that displayed faster decay during ATP stimulation than P2X7R alone. Also, the rate of EtBr uptake induced by P2X7R activation was slower when P2X4R was present. Further evidence for interaction between P2X4R and P2X7R by a protein-protein mechanism was obtained using FRET. The FRET signal increased during activation of P2X7R, but not when P2X4R was activated. Taken together our data demonstrate a functional interaction between P2X7 and P2X4 receptors. Such interaction might occur in cells to shape the response to extracellular ATP.



Regulation of the renal NaCl cotransporter activity by the WNK kinases signaling network

Gerardo Gamba¹.

¹Molecular Physiology Unit. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán and Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

Vasco de Quiroga No. 15, Tlalpan 14000, México, D.F., México.
gamba@biomedicas.unam.mx

The renal NaCl cotransporter NCC is the major salt transport pathway in the distal convoluted tubule of the mammalian nephron. NCC plays a key role in the regulation of arterial blood pressure. Inhibition of NCC with thiazide type diuretics is one of the cornerstones for the treatment of arterial hypertension. Inactivating mutations of NCC in the Gitelman disease results in arterial hypotension with hypokalemic metabolic alkalosis. In contrast, increased activity of NCC in the Familial Hyperkalemic Hypertension syndrome (FHH), also known as pseudohypoaldosteronism type II, results in hypertension with hyperkalemic metabolic acidosis. Increased activity of NCC in FHH is the consequence of mutations in regulatory proteins. Four genes have been demonstrated to produce FHH. Two with no lysine kinases, WNK1 and WNK4, and two proteins known as Kelch-3 and Cul3 that together form a RING-type ubiquitin ligase complex. Recent studies suggest that WNK1 and WNK4 are the targets for Kelch-3/Cul3 ubiquitylation system and thus, FHH due to mutations in Kelch3/Cul3 produce the disease by affecting WNK1 and WNK4 expression. The mechanisms involved in the regulation of NCC by WNKs are thus a very important pathway to be defined. Initial studies using in vitro systems and in vivo transgenic mice models suggested that WNK4 is an inhibitor of NCC and that FHH mutations in WNK4 prevent this inhibition. The model localizes WNK1 upstream of WNK4 suggesting that WNK1 inhibits the activity of WNK4 and thus, increased expression of WNK1 in FHH produces the disease by preventing WNK4 inhibition of NCC. Recent studies in our laboratory provided us with data in both, in vitro and in vivo systems, to propose a different model: WNK1 and WNK3 are potent activators of NCC and WNK4 is an inhibitor of WNK1/WNK3. This last effect is prevented by angiotensin II, providing a working model to explain, at least in part, the angiotensin II induced arterial hypertension.



Neuronal differentiation of stem cells aimed to treat neurological disorders

Iván Velasco

Instituto de Fisiología Celular-Neurociencias, Universidad Nacional Autónoma de México.

AP 70-253, México, D.F.-04510, México. ivelasco@correo.ifc.unam.mx

Neural stem cells with neuronal differentiation potential are present throughout Central Nervous System development, and also in restricted areas of the adult brain. Embryonic stem cells can be induced to form neural tissue as well, including neuronal and glial cells. We have recently found that Activin is a neuronal instructive signal for cultured neural stem/progenitor cells (NSPC) from the cerebral cortex. In addition, we have studied the neuronal-inducing effects of Histamine (HA) on cortical NSPC, which involves increases of intracellular calcium, transcriptional up-regulation of proneural genes and also of fibroblast growth factor receptors, resulting in the expression of FOXP2, a marker of deep cortical layers. However, HA precludes dopamine neuron differentiation of cultured ventral midbrain NSPC; furthermore, this amine specifically interferes with dopamine neuron development when administered in the developing brain through intrauterine injection, without affecting neither gabaergic nor serotonergic neurons. Such effects are mediated by histamine receptor type 1, activated on neural precursors, because HA administration at later developmental stages did not affect dopamine neurons. On the other hand, embryonic stem cells have been shown to produce dopamine neurons in culture; these neurons provide behavioral recovery of parkinsonian rats when grafted in the striatal area. We have recently characterized the axonal responses of cultured mouse stem cell-derived dopamine neurons to some class 3 Semaphorins. Specifically, we found that Semaphorin (Sema)3A increases dopamine axonal growth and Sema3C stimulated axonal extension and also attracted dopaminergic axons. These effects are preserved *in vivo*, since intranigral grafting of embryonic stem cell-differentiated dopamine neurons responded to transfected cells secreting Sema3C located towards the striatum, and new axons connecting the *substantia nigra* with the striatal area were found. Accordingly, we detected dopamine release in the striatum with microdialysis and overt behavioral recovery of parkinsonian rats. Taken together, these results indicate that different signaling pathways are involved in the induction, differentiation, survival and axonal extension of neurons during development, and also in the adult diseased brain.

Supported by DGAPA, UNAM (PapiitIN208713) and Conacyt (131281).



Whole-organ Assembly: Moving Toward Liver Transplantation on Demand

Dr. Alejandro Soto-Gutiérrez, Department of Pathology, Transplantation Section of Children's Hospital of Pittsburgh, McGowan Institute for Regenerative Medicine and Thomas E. Starzl Transplantation Institute, University of Pittsburgh, Pittsburgh, Pennsylvania, USA

La hepatopatía crónica es la sexta causa de mortalidad en Latinoamérica. Actualmente el único manejo definitivo para la hepatopatía terminal es el trasplante hepático. En México en la última década tan solo se ha realizado en promedio 100 trasplantes de hígado anualmente, cubriendo apenas 1-2% del total de pacientes. En la actualidad el mayor problema es la escasez de órganos para trasplante.

Hemos desarrollado y optimizado protocolos de descelularización de hígados isquémicos no aptos para trasplante en ratas y cerdos utilizando diferentes criterios de evaluación (estructura de la matriz extracelular, componentes, contenido de DNA y estudios proteómicos). Además hemos creado protocolos reproducibles para restablecer el parénquima hepático con hepatocitos, el sistema vascular con células endoteliales y las vías biliares con células del epitelio biliar.

Hemos logrado que un 80-90% de la vasculatura de todo el hígado haya sido adecuadamente recelularizada así como un 60-80% de las vías biliares han sido de igual manera reestablecidas. Este nuevo tejido creado utilizando técnicas de bioingeniería y patología ha sido evaluado (endotelial: metabolismo de LDL y respuesta secretora de tPA; Hepática: síntesis de albumina, secreción de urea y sales biliares) y demostrado su funcionalidad. Este tipo de tecnología tiene el potencial de ser utilizada para producir modelos de patologías hepáticas, realizar estudios farmacológicos e inclusive llegar a crear órganos completos para trasplante.



Estudios del reconocimiento de nucleótidos de guanina por GTPasas involucradas en la síntesis de ribosomas

Nuria Sánchez Puig, Abril GijbersAlejandre, Adrián García Márquez, Axel LuvianoJardón y Luis Fernando Olguín Contreras^a.

Departamento de Química de Biomacromoléculas, Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad 3000, Ciudad Universitaria, C.P. 04510, México, D.F., México.^a Departamento de Biofísicoquímica, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad 3000, Ciudad Universitaria, C.P. 04510, México, D.F., México.

Los ribosomas son la maquinaria encargada de la síntesis proteica en la célula. El ensamblaje de las 4 moléculas de RNAr y las 80 proteínas que conforman el ribosoma maduro requiere de la acción coordinada de más de 150 proteínas accesorias. La GTPasa EFL1 es una de estas proteínas accesorias quien junto con Sdo1 promueven la disociación del factor de anti-asociación, Tif6, para que las subunidades pre-40S y pre-60S se unan formando el ribosoma maduro. Más aún, el ortólogo humano de Sdo1, SBDS, se encuentra mutado en el Síndrome Swachman-Diamond. Poco es lo que se conoce de las propiedades bioquímicas y biofísicas que rigen el reconocimiento molecular de EFL1 con Sdo1. Ni como es que la desregulación de esta ruta celular en humanos resulta en la patología antes mencionada. Para ello, las GTPasas EFL1 y su ortólogo humano, EFTUD1, se expresaron de forma recombinante en *S. cerevisiae*. Estudios de espectroscopia de dicroísmo circular y calorimetría de barrido diferencial demostraron que apesar de que ambas proteínas comparten un 40% de identidad, su estabilidad térmica es muy diferente. La GTPasa humana EFTUD1 es altamente resistente a la desnaturalización térmica, mientras que el ortólogo de levadura sigue un proceso de desnaturalización complejo con la presencia de intermediarios. La caracterización enzimática de EFL1 y EFTUD1 mostraron que en presencia de sus respectivas biomoléculas blanco, Sdo1 y SBDS, la actividad de las GTPasas y es mayor debido a un aumento en su afinidad por GTP mientras que su actividad catalítica no se ve alterada. En contraparte, estudios por espectroscopia de fluorescencia mostraron que la afinidad de estas GTPasas por GDP es muy baja. En conjunto, los resultados anteriores sugieren que las proteínas Sdo1 y SBDS modulan la actividad de EFL1 y EFTUD1 actuando como factores intercambiadores de nucleótidos o GEFs favoreciendo la unión a GTP.



Exploring the nuclear functions of Rac1 in cervical cancer

Eduardo Castañeda Saucedo
Universidad Autónoma de Guerrero

Rac1 is a member of the Rho GTPase family. It participates in the regulation of several biological processes such as cell cycle progression, cell polarity, migration and invasion. Overexpression of Rac1 has been reported in several human cancers including colon, breast, and cervical cancer. Recent studies showed the presence of Rac1 in the nucleus in several cell lines, and suggest that it may have an important role in regulating gene expression. Recently, we showed by immunocytochemistry the presence of Rac1 in the nucleus of epithelial cells on cervical premalignant lesions and cervical cancer biopsies, and in cervical cancer derived cell lines in culture. Interestingly, we found that estrogen treatment induces the nuclear accumulation of Rac1 in cervical epithelial cells from wild-type mice, and in non-tumorigenic immortalized keratinocytes (Hacat) in culture. We are currently using molecular and biochemical approaches to explore the mechanism leading to the accumulation of Rac1 in the nucleus of cervical cancer cell lines, and the nuclear accumulation of Rac1 in Hacat cells in response to estrogen-treatment.



Context dependent protein regulation through SUMO modification

Jorge Alberto Iñiguez Lluhí

Department of Pharmacology, University of Michigan Medical School
1301 MSRB III, Ann Arbor, MI 48109, USA.
(734) 615 6565, iniguez@umich.edu

The reversible conjugation of Small Ubiquitin-like MOdifier (SUMO) proteins has emerged as a prevalent and versatile mechanism for the regulation of proteins in multiple cellular locales. Using both transcription factors and ion channels as paradigms, I will illustrate the basic mechanisms of SUMO conjugation and deconjugation and examine the fundamental principles by which this modification can alter protein function and activity. By taking advantage of molecular information derived from human patients and animal models, I will describe how alterations in this post-translational mechanism are key components of the pathophysiology of a wide spectrum of diseases spanning male sexual differentiation, cancer, polyglutamine mediated neurodegeneration and cardiovascular disease. I will also describe our efforts to discover and develop novel small molecules that target this pathway for therapeutic intervention.



Deciphering the ubiquitin code

Michael Rape

Howard Hughes Medical Institute and Department of Molecular and Cell Biology,
University of California at Berkeley, USA

Posttranslational modification with ubiquitin, a reaction referred to as ubiquitylation, is essential for accurate cell division and differentiation in all eukaryotes, and accordingly, the aberrant regulation of ubiquitylation enzymes is one of the most frequent causes for tumorigenesis. Ubiquitylation enzymes synthesize different types of modifications, such as polymeric ubiquitin chains of distinct topology, and depending on the type of the ubiquitin mark, ubiquitylation can differentially regulate the activity, localization, or stability of critical cell cycle regulators. Unfortunately, most ubiquitylation enzymes have not been paired with their important substrates and the biological consequences of most ubiquitin marks remain poorly understood. As a consequence, powerful strategies to target ubiquitylation enzymes for therapeutic benefit have not been developed. Here, I will discuss recent progress in identifying new ubiquitin modifications and determining their functions in cell cycle control. Moreover, I will present novel approaches to isolate ubiquitylation enzymes and substrates that play crucial roles in ensuring accurate cell division. Our findings have revealed an intriguing new role for ubiquitylation in ensuring proper assembly of oligomeric complexes required for cell division, and accordingly, loss of the processes identified in this work can lead to tumorigenesis. Our work, therefore, identifies an important role for mitotic quality control in tumor suppression.

Carteles



Integración de las cascadas de fosforilación de las cinasas mTOR y PKA mediante su asociación con P-Rex1, un GEF para Rac

Sendi Rafael Adame García, Lydia Chavez Vargas, Guadalupe Reyes Cruz y José Vázquez Prado

Departamento de Farmacología, CINVESTAV-IPN, Apartado Postal 14-740, 07000 México, D.F. Teléfono: 5747 3800, jvazquez@cinvestav.mx

La angiogénesis es la formación de vasos sanguíneos a partir de los ya existentes y es un componente necesario en la metástasis. La caracterización de los componentes moleculares que participan en las cascadas de transducción de señales involucradas en la angiogénesis tumoral permitirá la identificación de potenciales blancos farmacológicos para el tratamiento de diversos tipos de cáncer.

Anteriormente hemos demostrado que P-Rex1, un intercambiador de nucleótidos de guanina para la GTPasa Rac (RacGEF), es capaz de interactuar con varias proteínas de transducción de señales, entre las que se encuentran mTOR y PKA, que son cinasas de serina/treonina filogenéticamente conservadas que participan en procesos celulares tan importantes como crecimiento, metabolismo y migración celular.

En este trabajo hemos caracterizado interacciones novedosas entre P-Rex1 y ambas cinasas a través de varios dominios del RacGEF. Adicionalmente estudiamos la cinética de la interacción entre el P-Rex1 y PKA en respuesta a estímulo con suero fetal bovino, que demuestra que la asociación entre el RacGEF y la cinasa es de tipo dinámica y que podría tener repercusiones tanto en la actividad del P-Rex1 sobre Rac como en la fosforilación de ciertos sustratos de PKA. Con la finalidad de evaluar la posible participación de P-Rex1 como acarreador de sustratos de la cinasa PKA utilizamos una estrategia de Pull Down con diversas construcciones de los dominios de P-Rex1 fusionados a Glutación S Transferasa e inmunodetección con anticuerpos que reconocen la secuencia consenso de fosforilación de PKA. Interesantemente encontramos que todas las construcciones que incluyen el par de dominios DEP de P-Rex1 son sensibles a la detección por el anticuerpo para los sustratos de PKA, por lo que desarrollamos un mapeo más preciso utilizando construcciones más restringidas de los dominios del RacGEF. Los mapeos demostraron que el primer dominio DEP era el responsable de la señal de fosforilación y un análisis *in silico* de la secuencia reveló un potencial sitio de fosforilación por PKA en la Serina 436 (DEP₁) de P-Rex1. Considerando que la región de los dominios DEP constituye el sitio de interacción de la cinasa mTOR, la fosforilación de esta región por la PKA podría regular la asociación con mTOR. Estos hallazgos indican un nuevo nodo de convergencia así como de regulación de P-Rex1 por PKA que podría repercutir en la activación de Rac y en la señalización de mTOR involucrada en migración celular polarizada.



Efecto de la terapia con Tocilizumab sobre la capacidad de las células dendríticas para inducir linfocitos Th17 en pacientes con artritis reumatoide.

Crisol Álvarez Quiroga¹, Liliana Portales Cervantes¹, Carlos Abud Mendoza^{1,2},
Lourdes Baranda Cándido^{1,2}, Roberto González Amaro¹.

¹Departamento de Inmunología, Facultad de Medicina, UASLP

²Unidad Regional de Reumatología y Osteoporosis, Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto". San Luis Potosí, S.L.P., México.

INTRODUCCIÓN: La terapia con agentes biológicos es de particular efectividad en el tratamiento de enfermedades inflamatorias crónicas. Los linfocitos TH17 tienen un papel importante en la patogenia de diversas enfermedades autoinmunes, a través de su capacidad de producir citocinas (IL-17A, IL-17F, IL-22), que a su vez inducen la síntesis y secreción de diversos mediadores de inflamación por células inmunes.

OBJETIVO: Estudiar el efecto de la terapia con Tocilizumab (anti-IL-6R) sobre la capacidad de las células dendríticas (DCs) para inducir linfocito Th17 así como el analizar el efecto de esta terapia sobre el número de linfocitos T reguladores (Treg) en pacientes con artritis reumatoide.

MATERIAL Y MÉTODOS: El porcentaje de células T reguladoras y linfocitos TH17 fue analizado en muestras de sangre periférica de 14 pacientes con artritis reumatoide por citometría de flujo. Se indujo la diferenciación de linfocitos CD4+ a linfocitos Th17 por DCs autólogas con la adición o no de citocinas exógenas, en estos cultivos se cuantificaron los linfocitos Th17 por citometría de flujo y la producción de la citocina IL-17 por ELISA a las 0, 4 y 12 semanas de tratamiento con Tocilizumab.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN: La terapia con anti-IL-6R no se asoció con un cambio en el número de células T reguladoras y TH17 en CMN de los pacientes. Se observó una disminución significativa en la inducción de linfocitos Th17 en co-cultivo con DCs autólogas y citocinas exógenas a las 4 semanas de tratamiento, sin embargo, se observó una tendencia a incrementar a las 12 semanas. De manera importante encontramos que la producción de IL-17 en pacientes con AR fue mayor cuando las células TCD4+ estuvieron en contacto con las DC's ($p < 0.05$) a las 4 semanas de terapia, sin embargo la síntesis de esta citocina disminuyó a las 12 semanas. **CONCLUSIÓN:** La terapia con anti-IL-6R afecta la capacidad de las DCs para inducir la diferenciación de células CD4+ a TH17. Sin embargo, no podemos aún precisar si el efecto en la disminución de síntesis de IL-17 a las 12 semanas es debida únicamente a la acción del Tocilizumab sobre las CD4+.



Caracterización de la familia de Cinasas Dependientes de Ciclinas en *Trichomonas vaginalis*

Erick Amador Gaytán e Imelda López-Villaseñor. Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. Tercer Circuito Exterior, Ciudad Universitaria. C.P. 04510.

Tel. 56 22 89 52 imelda@biomedicas.unam.mx; amadorge@gmail.com

Trichomonas vaginalis es un parásito protozoario, agente causal de la tricomoniasis en el humano, enfermedad catalogada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como la enfermedad de transmisión sexual no viral de mayor incidencia en el mundo, siendo los más afectados los países en vías de desarrollo. Además de su importancia en salud pública, la investigación básica de *T. vaginalis* es relevante ya que diversos procesos biológicos no han sido definidos en este organismo, como es el caso del control del ciclo celular.

Se sabe que el control del ciclo celular en eucariontes depende en gran medida de una familia de proteínas reguladoras denominadas cinasas dependientes de ciclinas (Cdk's por sus siglas en inglés) muchas de las cuales son altamente conservadas entre especies. Las Cdk's forman heterodímeros con proteínas denominadas ciclinas, subunidades regulatorias positivas que se requieren para la activación enzimática de la Cdk. Las Cdk's regulan la actividad de múltiples proteínas involucradas en la replicación del DNA y en la mitosis, mediante fosforilación de sitios específicos que pueden resultar en la activación ó inhibición de sus sustratos coordinando de esta manera sus actividades. Por lo cual el ciclo celular no puede progresar hasta que la etapa previa se haya completado.

A partir de un análisis *in silico* realizado por la Lic. en IBB Olivia Arizmendi Pérez en el laboratorio de la Dra. Imelda López Villaseñor se encontraron ocho genes, presentes en el genoma anotado de *T. vaginalis*, como candidatos para codificar proteínas de tipo Crk (Se denominan Crk's en protozoarios por sus siglas en inglés "Cdc28 Related kinase"). El objetivo de este trabajo es la caracterización de estos genes putativos para Crk's y de sus productos proteicos.

Hasta el momento se ha determinado la expresión a nivel de RNA mensajero de las Crk's, lo que sugiere fuertemente que los productos proteicos están presentes en *T. vaginalis*. Se ha logrado la obtención de las proteínas recombinantes con una etiqueta de Histidinas. Se ha determinado que cuatro Crk's interactúan con la proteína p13^{suc1} de *S. cerevisiae*, una proteína reguladora que ha sido utilizada como un criterio de análisis para la identificación de proteínas tipo Crk debido a su alta afinidad *in vitro*. Resultados preliminares indican que algunas TvCrk's por si solas tienen la capacidad de fosforilar a la Histona H1 y a pRB *in vitro* indicando que tienen actividad de cinasas. Las TvCrk's no tienen la capacidad de complementar a la levadura diploide mutante Cdc28 lo que sugiere que estas proteínas tienen características especie específica, ya sea en cuanto a su función y/o regulación.

Los siguientes objetivos contemplan la realización de ensayos de interacción de las TvCrk's propuestas con las proteínas candidatas para ciclinas y Cks de *T. vaginalis* mediante ensayos de doble híbrido en levadura, y la realización de ensayos de fosforilación de la histona H1 y pRb con los complejos de los candidatos de TvCrk's y ciclinas recombinantes de *T. vaginalis*.



Efecto inhibitorio de las vasoinhibinas sobre el aumento de la permeabilidad vascular retiniana y de la producción de especies reactivas de oxígeno asociado a la diabetes: contribución del sistema calicreína cinina

David Arredondo Zamarripa, Carmen Clapp y Stéphanie Thebault.
Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México. Querétaro QRO. México, C.P. 76230, Tel. (442) 2381029. stephaniethebault@gmail.com

Las vasoinhibinas son péptidos derivados de la hormona prolactina capaces de inhibir la angiogénesis, así mismo inhiben el incremento de la permeabilidad vascular retiniana (PVR) asociado a la diabetes. El incremento de la PVR se atribuye en parte a la sobre activación del sistema calicreína cinina (SCC) cuyo efector principal es la bradicinina (BK). Este péptido se une al receptor B2 expresado constitutivamente o puede ser metabolizado a des-Arg-BK ligando del receptor B1 que se expresa sólo en condiciones de inflamación y daño tisular. Interesantemente, se ha descrito una sobre expresión del receptor B1 debido a la producción excesiva de especies reactivas de oxígeno (ERO) en retina de ratas diabéticas. En este trabajo evaluamos si las vasoinhibinas inhiben el incremento de la PVR inducido por la BK, así como sus efectos sobre la producción de ERO y la expresión del receptor B1 en retina de ratas Wistar. Utilizando el método de azul de Evans encontramos que el incremento de la PVR inducido por la inyección intravitreal de BK (1 nM) es prevenido por las vasoinhibinas (1 μ M), efecto que es similar a un antagonista del receptor B2 (HOE-140, 3 μ M). Por otro lado, la producción de las ERO se determinó aplicando dihidroetidio en criocortes (20 μ M) de retina. Encontramos que las vasoinhibinas disminuyen la producción basal e incrementada de ERO en retina de ratas sanas y diabéticas respectivamente. Finalmente se evaluó la expresión retiniana del receptor B1 por PCR cuantitativa, inesperadamente la inyección intravitreal de vasoinhibinas indujo la expresión de dicho receptor en ratas sanas y diabéticas. En conclusión, las vasoinhibinas inhiben el incremento de la PVR inducido por la BK a través del receptor B2, así mismo reducen la producción de ERO e inducen la expresión del receptor B1 en retina de ratas sanas y diabéticas. Proyecto auspiciado por CONACYT 161594.



Estudio del factor de transcripción NFAT en células dendríticas derivadas de monocitos humanos

Baltazar-Benítez N₂, Ocegüera-Maldonado B₂, Layseca-Espinosa E₂, Chi-Ahumada E₄, Hernández-Castro B₂, Baranda L₃, González-Amaro R₂, Niño-Moreno P₁

1Laboratorio de Genética y Diagnóstico molecular; Facultad de Ciencias Químicas, UASLP. Manuel Nava #6, Zona Universitaria., 2Departamento de Inmunología; Facultad de Medicina, UASLP, 3Departamento de Reumatología, Hospital Central "Ignacio Morones Prieto", SLP., 4Departamento de Bioquímica; Facultad de Medicina, UASLP.

Introducción: Las células dendríticas (DCs) son las células presentadoras de antígeno más potentes, involucradas en la iniciación de la respuesta inmune innata y adaptativa. En particular, la eficiencia de la respuesta adaptativa está relacionada con la supervivencia de las DCs, ya que un defecto en su muerte celular programada o apoptosis puede llevar a autoinmunidad. NFAT es una familia de factores de transcripción dependientes de calcio/calcineurina recientemente involucrado en la apoptosis de células dendríticas de ratón. Cuatro de estos miembros (NFATc1-c4) son regulados por la CaN y solo NFATc1, c2 y c3 son expresadas principalmente en las células del sistema inmune. A pesar de que esta familia se encuentra bien estudiada en células del sistema inmune humano como linfocitos T, B, células cebadas y macrófagos, su presencia y papel en el ciclo de vida de las células dendríticas humanas aún no es claro.

Objetivo: Identificar las isoformas de la familia de NFAT expresadas en células dendríticas inmaduras y maduras.

Metodología: Se realizaron cultivos de células dendríticas mieloides derivadas de monocitos humanos de sangre venosa periférica. Por citometría de flujo se detectaron marcadores de superficie de fenotipo maduro, así como la identificación isoformas de NFAT presentes en ambos estadios funcionales del ciclo celular de estas células. La localización subcelular de NFAT se realizó Inmunocitoquímica para cada una de las isoformas encontradas. Se determinaron mediante el uso del Kit de *ensayo FLIPR Calcium 3* (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) cambios en las concentraciones de calcio intracelular a lo largo de 72 horas posteriores a la estimulación.

Resultados: Nuestros resultados muestran la presencia de las isoformas de NFAT c1, c2, c3 y c4, esta última no ha sido aún reportada en células del sistema inmune. Demostramos también, la presencia de NFAT en ambos estadios funcionales del ciclo celular de células dendríticas mieloides humanas derivadas de monocitos. En este estudio, identificamos la existencia de oscilaciones de calcio a lo largo de 72 horas, posteriores a la estimulación.

Conclusiones: Estos datos proveen información novedosa no reportado hasta el momento por ningún otro grupo y nos sugiere fuertemente que el papel de esta familia de factores de transcripción es más complejo de lo supuesto hasta ahora.



Señal de Ca^{2+} Intracelular Evocada por Histamina en Fibroblastos de Pulmón Humano

Roberto Berra Romani, Fabiana Romano Bernabe, Julián Torres Jácome, Francesco Moccia, Franco Tanzi, Luis Guillermo Vázquez de Lara.

¹Facultad de Medicina, ²Instituto de Fisiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México. Departamento de Biología y Biotecnologías, Universidad de Pavia, Pavia, Italia. 13 Sur 2702. Col. Volcanes 72410 Puebla, Pue. México. Tel: (222) 2295500 Ext: 6053, rberra001@hotmail.com.

La histamina liberada de mastocitos, contribuye a la formación de eventos fibróticos, incluyendo aumento de la proliferación, migración y producción de colágeno por parte de fibroblastos pulmonares. A la fecha se desconocen los mecanismos moleculares por los cuales la histamina causa estos efectos. El calcio intracelular es un importante segundo mensajero que participa en una gran variedad de procesos celulares, incluyendo proliferación y migración celular. Por esto, el objetivo del presente proyecto fue el de estudiar el efecto de la histamina sobre la concentración de calcio intracelular ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) en fibroblastos de pulmón humano sano (FPHN) en cultivo. Los FPHN fueron incubados con el colorante Fura-2 y la señal de Ca^{2+} fue estudiada por medio de técnicas de microfluorimetría convencional. Nuestros resultados muestran que: **1)** la aplicación de histamina, causa diferentes patrones de señal de Ca^{2+} en FPHN incubados con Fura-2. La señal de Ca^{2+} evocada por histamina consistió en un rápido aumento de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ (pico), seguido por: a) un rápido descenso de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ hacia los niveles basales; b) un aumento sostenido de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ por arriba de los niveles basales (meseta); c) oscilaciones de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$; o d) oscilaciones de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ sobrepuestas en la meseta. **2)** la amplitud del pico de la señal de Ca^{2+} evocada por histamina fue dosis-dependiente con una $\text{EC}_{50} = 5\mu\text{M}$. **3)** el efecto de la histamina fue reproducido por la aplicación de N-metilhistaprodifen y amtamina, agonistas específicos de los receptores histaminérgicos H1 y H2, respectivamente. Los agonistas específicos de los receptores H3 y H4, (R) (-)- α -metilhistamina y clozapina, causaron aumentos no significativos de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ en FPHN. **4)** La señal de Ca^{2+} evocada por histamina fue bloqueada en células pre-tratadas con ácido-ciclopiazónico (CPA) y U73122, inhibidores selectivos de la Ca^{2+} -ATPasa del retículo endoplásmico y de la fosfolipasa C, respectivamente. **5)** La subsecuente fase de meseta y las oscilaciones de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ causadas por la aplicación de histamina, fueron dependientes de la presencia de Ca^{2+} en el medio extracelular y fueron bloqueadas por 2APB, un inhibidor de los canales de Ca^{2+} dependientes de los almacenes intracelulares. Estos resultados indican que la histamina causa una señal de Ca^{2+} en FPHN a través de: la activación de receptores histaminérgicos H1 y H2, activación de la fosfolipasa C, liberación de Ca^{2+} del retículo endoplásmico y entrada de Ca^{2+} del medio extracelular a través canales de Ca^{2+} dependientes de los almacenes intracelulares.



Mecanismos alternos de obtención de sustratos metabólicos en condiciones limitantes de glucosa en células de glioblastoma multiforme

Lucy Camberos Luna, Rodrigo Díaz Ruíz, Estefanía Ochoa Ruíz, Salvador Uribe Carvajal, Antonio Velázquez Arellano.

Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.

Torre de investigación INP, Av. IMAN No.1 piso 4, colonia Insurgentes Cuicuilco, México D.F., C.P. 04530. Teléfono: 56226421.

E-mail: ln.aniicl@hotmail.com

INTRODUCCIÓN.- El glioblastoma multiforme (GBM) es un tipo de tumor de alto grado originado en el sistema nervioso central (astrocitos), cuyas características principales son neovascularización, infiltración y necrosis, haciéndolo altamente resistente a la quimioterapia, radioterapia y terapia antiangiogénica, dejando a los pacientes con una pobre tasa de sobrevida.

Dado que los glioblastomas presentan zonas pobremente irrigadas, las células requieren activar mecanismos alternos de aprovechamiento de sustratos metabólicos para sobrevivir en condiciones limitantes de glucosa; en el presente estudio se plantea que uno de esos mecanismos podría ser la gluconeogénesis, vía metabólica que sucede en astrocitos y que pudiera estar conservada aún en cáncer; además, dicha característica metabólica pudiera estar relacionada con la alta capacidad infiltrativa de las células. Si es así, entonces la interrupción de la gluconeogénesis podría ser útil para evitar la infiltración celular en GBM y así mejorar el pronóstico de los pacientes.

Para comenzar a investigar los fenómenos descritos anteriormente, se eligió como modelo experimental a líneas celulares de GBM, U87 y U373, se cultivaron con DMEM con glucosa 0.5mM, y sus respectivos controles con DMEM 5mM de glucosa, que es la concentración de glucosa en condiciones normales en humanos.

Con el objetivo de evaluar la capacidad de proliferación y viabilidad de las líneas celulares de GBM en condiciones limitantes de glucosa (0.5mM), se realizó una curva de crecimiento y se observó que al 3er día (72hrs.), las células muestran una disminución en el ritmo de crecimiento, en comparación con los controles que mantienen un ritmo constante, sin embargo, son capaces de proliferar y triplicar su número a los siete días.

Luego de haber observado la disminución en el ritmo de crecimiento a las 72hrs., se decidió cultivarlas por ese mismo tiempo con medio con 0.5mM de glucosa para posteriormente evaluar su viabilidad; se obtuvo un 100% de viabilidad, ya que no se encontraron células teñidas de azul.

Posteriormente, para comenzar a indagar acerca de la gluconeogénesis en los GBM, se realizó un western blot para evaluar la expresión de fosfoenolpiruvato carboxicina (PEPCK), enzima principal de dicha vía; se vio más expresada en condiciones de baja glucosa, además, su factor de transcripción, FOXO1, se vio mayormente activo en dichas condiciones.

Los resultados anteriores confirman que las células pueden mantenerse viables aún en concentraciones limitantes de glucosa y sugieren que la gluconeogénesis o por lo menos su principal enzima, PEPCK, tienen una participación importante en GBM.



Regulación de la estabilidad del transcrito de SnoN por miR-155 en el contexto de las señales del TGF- β .

Aura Nirva Campero Romero, Ángeles C. Tecalco Cruz, Marina Macías Silva. Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito Exterior S/N Ciudad Universitaria, Coyoacán, 04510 México D.F. Tel: (52) (55) 56225729. mmacias@ifc.unam.mx

La proteína SnoN regula negativamente la señalización mediada por el TGF- β , por lo que los niveles de SnoN repercuten sobre su función. La expresión de SnoN se encuentra elevada en diversos tipos de cáncer humano, mientras que normalmente SnoN es expresado ubicuamente a bajos niveles tanto en tejidos embrionarios como en tejidos adultos. El TGF- β es un factor importante en la regulación de la expresión de la proteína SnoN. En distintos tipos celulares, se ha reportado que el tratamiento con ésta citocina en tiempos cortos de estimulación (15-30 min) induce la degradación de la proteína SnoN; posteriormente, 1 ó 2 h después del estímulo con TGF- β se observa un incremento en los niveles del mRNA y de la proteína SnoN, los cuales disminuyen después de 4-8 h del estímulo de TGF- β , sin embargo, en células tumorales, la expresión de SnoN se mantiene elevada incluso 24 h después del estímulo con TGF- β ; las vías y mecanismos implicados en ésta regulación diferencial de SnoN en células normales y células tumorales no se han aclarado.

De manera interesante la estabilidad del RNAm de SnoN parece ser conferida por la vía TGF- β /Smad, dado que al inhibir dicha vía se disminuyen los niveles del mRNA de SnoN. El TGF- β induce la expresión de 2 transcritos de la isoforma SnoN de diferente tamaño, lo cual probablemente se deba a las diferentes longitudes de sus regiones no codificantes 3'(UTRs). Mediante análisis *in silico* de la región 3'UTR del transcrito de SnoN, se identificaron sitios blanco no canónicos de miR-155, un miRNA involucrado en procesos de inmunidad, diferenciación de linaje hematopoyético, y en cáncer, entre otros.

El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de la regulación mediada por miR-155 en los niveles de las isoformas del extremo 3'UTR del mRNA de SnoN, y si ésta modulación tiene impacto en la regulación bifásica de TGF- β sobre los niveles de la proteína SnoN en células normales, así como en la expresión elevada y prolongada de SnoN mediada por TGF- β en células tumorales.

Este trabajo está apoyado por donativos de PAPIIT/DGAPA/UNAM y CONACyT.



La Proteína Cinasa C delta modula negativamente la vía de señalización Wnt en líneas celulares de cáncer de colon.

María Cristina Castañeda Patlán, José G. Hernández Maqueda, Luis Bernardo Luna-Ulloa, Paula Santoyo Ramos y Martha Robles Flores.

UNAM, Facultad de Medicina, Departamento de Bioquímica, Lab. Biología Molecular. Ap. Postal 70-159, México D.F. 04510. Tel 55 56 23 22 58 e-mail: rmartha@unam.mx

El gen supresor de tumor Adenomatous Polyposis coli (APC) se encuentra mutado la gran mayoría de los cánceres de colon. La inactivación de APC es un evento temprano esencial para la progresión tumoral, como también lo son alteraciones en la expresión de la Proteína cinasa C (PKC).

En la vía Wnt canónica, cuando no hay ligando Wnt, β -catenina es fosforilada y degradada por un complejo destructor, el cual está formado por APC, axina y las cinasas GSK3 β y Casein cinasa I. La estimulación por los ligandos Wnt conduce a desestabilizar el complejo y β -catenina se acumula en el citoplasma para translocarse al núcleo y activar los genes blancos de Wnt.

En este trabajo se demostró que los niveles de expresión de la isoforma PKC δ disminuyen en líneas celulares de carcinoma de colon con respecto a células no malignas. Mediante ensayos de co-inmunoprecipitación e inmunofluorescencia se observó que PKC δ interactúa específicamente con la proteína APC completa (células normales) o truncada (células cancerosas) tanto en citoplasma como en núcleo.

Interesantemente, un inhibidor selectivo de PKC δ afectó negativamente la actividad transcripcional mediada por β -catenina, la proliferación celular y la expresión de los genes blanco Wnt, c-myc y Cyclina D1, solo en las células RKO que poseen un complejo de destrucción de β -catenina normal. En cambio, en las células SW480, que no presentan este complejo funcional, no se observan cambios en presencia del inhibidor. Estos efectos negativos en células RKO se confirmaron usando el siRNA de PKC δ , así como con la expresión de una dominante negativa de PKC δ . Más aún, la capacidad tumorigénica está aumentada en células RKO que no expresan la isoforma PKC δ , con respecto al control.

Por lo anterior, se sugiere que el mecanismo por el cual PKC δ modula negativamente la ruta Wnt canónica es a través de regular la degradación de β -catenina, debido a que la inhibición farmacológica de PKC δ estabiliza a β -catenina en el citoplasma y en el núcleo y la expresión de una forma dominante de PKC δ disminuye la fosforilación de APC, importante para su función en el complejo de degradación.



Translocación nuclear del factor de transcripción C/EBP δ por estímulo con LPS a través del receptor TLR-4 en células cebadas

Jorge Ivan Castillo Arellano^{1,2}., Alfredo Ibarra Sánchez².
y Claudia González Espinosa².

1.Alumno Maestría en Ciencias Bioquímicas, UNAM., 2.Cinvestav Sede Sur

Calzada de los Tenorios No. 235, Col. Granjas Coapa, Deleg. Coyoacan, México D.F.,
C.P. 14330, Tel. 5483-2800 Ext. 1224. cgonzal@cinvestav.mx

El receptor TLR-4 forma parte de los receptores de la inmunidad innata encargado de reconocer a Patrones moleculares de reconocimiento de patógenos (PAMPs) como es el caso del Lipopolisacárido (LPS) de bacterias Gram negativas como la *Escherichia coli*. Se sabe que este ligando del TLR-4 activa la vía canónica de transducción de señales del factor de transcripción NF κ B en células cebadas, que lleva a la transcripción de genes proinflamatorios como IL-2, TNF- α , IL-6. Sin embargo poco se sabe acerca de la activación y las vías de transducción de señales que llevan a la activación de otros factores de transcripción como es el caso de C/EBP β/δ , que activan genes de citocinas pro-inflamatorias a dosis bajas.

Este trabajo tiene como objetivo el analizar el mecanismo de activación de C/EBP δ en células cebadas murinas derivadas de médula ósea (BMMCs), utilizando algunos inhibidores farmacológicos. Además, pretendemos evaluar si la cinasa Fyn participa en la regulación de C/EBP δ en respuesta al LPS, utilizando BMMCs derivadas de ratones *knock out* para esa cinasa.

Utilizando técnicas como el western blot y el ensayo de retardo de movilidad electroforética (EMSA) hemos logrado encontrar que el estímulo con LPS de BMMCs en un curso temporal (0, 3, 6 y 18 h) induce una mayor translocación al núcleo de C/EBP δ en BMMCs de ratones Fyn Knock Out, que en BMMCs de ratones silvestres, lo que sugiere claramente una actividad reguladora negativa de la cinasa Fyn en el desarrollo de la inflamación desencadenada por el TLR-4.

De manera adicional se ha encontrado que el sensibilizar a las BMMCs con inmunoglobulina E, se induce la activación y translocación al núcleo de C/EBP δ sin necesidad de la presencia del antígeno, esto indica que las vías de activación de C/EBP δ por el TLR-4, son compartidas con el receptor Fc ϵ RI, este evento no ha sido descrito hasta la fecha y representa una importante línea de investigación novedosa en el papel activador de la inflamación que tienen algunas inmunoglobulinas.

Este proyecto fue apoyado por el donativo 188565 de CONACyT y la beca 444382



Diferencias del tráfico vesicular del receptor α -1B adrenérgico, desensibilización homóloga y heteróloga

Jean A. Castillo-Badillo^{1*}, Omar B. Sánchez-Reyes¹, Guadalupe Reyes-Cruz² J. Adolfo García-Sáinz¹.

¹Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 México DF, México. ²Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional CINVESTAV, Av. Instituto Politécnico Nacional No. 2508, Colonia San Pedro Zacatenco, CP 07360, México, D.F. acastillo@email.ifc.unam.mx agarcia@ifc.unam.mx

La activación por sus agonistas de los Receptores acoplados a proteínas G (por sus siglas en inglés GPCRs) por sus agonistas, además de activar vías de señalización, promueve la redistribución de los receptores de la membrana plasmática hacia el interior de las células. La internalización de los GPCRs se inicia en cuestión de segundos en respuesta al agonista y contribuye tanto a la desensibilización como a la capacidad de respuesta de los GPCRs.

Las GTPasas Rab controlan la endocitosis, el tráfico vesicular, la fusión endosomal y exocitosis. Una de las propiedades más notables de la familia de las proteínas Rab es la distribución diferencial de sus diferentes miembros en la superficie de distintos organelos. En la vía endocítica, la GTPasa Rab5 controla el tráfico de la membrana plasmática hacia endosomas tempranos, mientras que las Rab4 y Rab11 regulan el reciclamiento de proteínas de endosomas tempranos hacia la membrana plasmática. Por otro lado, la Rab7 regula el tráfico de endosomas tardíos hacia lisosomas. Con respecto al tráfico vesicular de GPCRs, varios grupos han investigado el papel de las Rab4, Rab5, Rab7 Rab11 en la regulación de su endocitosis.

En el laboratorio hemos observado que la esfingosina 1-fosfato induce la desensibilización e internalización del receptor α -1b adrenérgico en células HEK 293 transfectados con el receptor adrenérgico humano ligado a la proteína roja fluorescente, DsRed. En el presente trabajo, estudiamos el tráfico vesicular del receptor α -1b adrenérgico y su asociación con las proteínas Rab, las cuales son marcadores de vesículas. El receptor α -1b adrenérgico humano está fusionado a la proteína roja fluorescente (DsRed) la cual se ha reportado ser un buen aceptor en FRET con la proteína verde fluorescente (GFP). Hemos observado que el receptor α 1b-DsRed interacciona con diferentes proteínas Rabs, dependiendo del estímulo o tipo de desensibilización. Encontramos que cuando se estimula con el agonista del receptor, noradrenalina, éste se acopla a la proteína Rab5 (endosomas tempranos), mientras que cuando se estimulan las células con S1P, el receptor α 1b-DsRed se acopla a las proteínas Rab 9 y 7, marcadores para endosomas tardíos. Estos datos indican que el receptor α -1b adrenérgico es redireccionado a diferente vesículas endocíticas, dependiendo del tipo de desensibilización (homóloga o heteróloga).

Al utilizar las mutantes dominantes negativas y constitutivamente activas de dos de las proteínas de endosomas mas representativas para endosomas tempranos y tardíos, Rab5 y Rab9 respectivamente, al estudiar la interacción del receptor con la forma inactiva de las proteínas Rabs no hubo interacción al no registrar cambio en el índice de FRET verificando que el índice de FRET registrado es debido a la interacción entre las proteínas Rabs y el receptor adrenérgico. Mientras que al usar una mutante constitutivamente activa de Rab5 (Rab5-GTP) el receptor adrenérgico es retenido en endosomas tempranos impidiendo el paso a endosomas tardíos, y al usar una mutante constitutivamente activa de Rab9 (Rab9-GTP) el receptor es retenido en endosomas tardíos evitando probablemente su reciclamiento a la membrana ya que debido al registro de su interacción con el receptor desde el estado basal.

El proyecto está apoyado por Donativos de CONACyT (177556) y DGAPA (IN200812). JACB es estudiante del Doctorado en Ciencias Bioquímicas y OBSR es estudiante de Maestría del mismo programa. Ambos están siendo apoyados por becas del CONACyT.



Disminución de la fosforilación del residuo Thr³⁰⁸ de PKB/Akt de la captura de glucosa inducida por insulina en miotubos de adolescentes Mexicanas con Síndrome de Ovarios Poliquísticos

Jesús Castillo Hernández², Gloria Queipo, Nayely Garibay, Yadira Pastrana y J. Alberto Olivares Reyes¹.

1. Depto. de Bioquímica del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. México D.F.
2. Escuela de Enfermería de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Unidad Académica Multidisciplinaria Zona Media. Rioverde San Luis Potosí, México.

CINVESTAV-Zacatenco, México D. F. 52-55-5747-3951. jolivare@cinvestav.mx

Introducción.

El Síndrome de Ovarios Poliquísticos (SOP) es el desorden endocrinológico más común presente en las mujeres en edad reproductiva y se caracteriza principalmente por hiperandrogenismo y oligo-ovulación. El SOP observa una estrecha asociación con resistencia a la insulina que es clave en las alteraciones metabólicas desarrolladas a largo plazo en estos pacientes. Insulina activa principalmente dos vías de señalización: Ras-ERK y la vía IRS-PI3K-Akt, ésta última está asociada al transporte de glucosa mediado por insulina en el músculo esquelético y en el adipocito¹. Estudios experimentales han mostrado que la translocación de GLUT-4 inducida por insulina depende de la fosforilación de Akt; particularmente la fosforilación del residuo de treonina³⁰⁸ de Akt (pTre³⁰⁸Akt) parece ser clave en la respuesta metabólica de insulina². Hasta la fecha el principal mecanismo molecular que aparentemente explica las alteraciones metabólicas en el SOP es la fosforilación aumentada de los residuos de serina³¹² de IRS-1 y una disminución en la actividad de PI3K asociada a IRS-1 que se correlaciona con una disminución en la disposición de glucosa³. El propósito de este estudio fue comparar el estado de fosforilación de los residuos Serina 473 y treonina 308 de Akt su correlación con la captura de glucosa inducida por insulina en cultivo primario de células de músculo esquelético (CME) provenientes de adolescentes con: SOP, Hiperplasia suprarrenal congénita (CAH) y Controles sanos. **Conclusiones.** Los resultados obtenidos sugieren que la disminución en la captura de glucosa inducida por insulina que se observó en miotubos de niñas con SOP está asociada a una menor pTre³⁰⁸Akt.

1. Sakamoto, K and Holman, G.D. (2008) Emerging role for AS160/TBC1D4 and TBC1D1 in the regulation of GLUT4 traffic. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 295: E29–E37
2. Bayascas, J.R., Wullschlegel S, Sakamoto K, Garcia-Martinez J.M., Clacher C, Komander D, van Aalten D, Boini K.M., Lang F, Lipina C, Logie L, Sutherland C., Chudek J.A., van Diepen J, Voshol P.J., Lucocq J.M. and Alessi D.R. (2008) Mutation of PDK1 PH domain inhibits PKB/Akt leading to small size and insulin-resistance. *Molecular and Cellular Biology* (may) 3258–3272.
3. Anne Corbould, Young-Bum Kim, Jack F. Youngren, Celia Pender, Barbara B. Kahn, Anna Lee, and Andrea Dunaif. (2005). Insulin resistance in the skeletal muscle of women with PCOS involves intrinsic and acquired defects in insulin signaling. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 288: E1047–E1054



RhoGEFs como potenciales efectores de la transducción de señales angiogénicas: papel del grupo conformado por PLEKHG5, RGS-RhoGEFs, Intersectinas, NGEF y sus más cercanos homólogos

Alejandro Castillo Kauil¹, Ricardo Hernández García¹, Guadalupe Reyes Cruz² y José Vázquez Prado¹

Departamentos de ¹Farmacología y ²Biología Celular, CINVESTAV-IPN, Av. Instituto Politécnico Nacional 2508. Col. San Pedro Zacatenco, 07360, México D.F., México
Teléfono: 5747 3800 Correo electrónico: jvazquez@cinvestav.mx

Las GTPasas de la familia de Rho son ampliamente estudiadas por su participación en la remodelación del citoesqueleto de actina, un evento celular que lleva a cambios en la morfología celular y favorece un fenotipo migratorio. La regulación de las Rho GTPasas es dependiente, por una parte, de factores intercambiadores de nucleótidos de guanina (GEFs) que permiten su activación, mientras que proteínas activadoras de GTPasas (GAPs) e inhibidores de la disociación de GDP (GDIs) regulan su inactivación. La relevancia del proceso regulatorio de las Rho GTPasas es evidenciada por el hecho de que el número de GEFs supera al de GTPasas en aproximadamente 3 a 1. El genoma humano codifica para 22 Rho GTPasas y 63 RhoGEFs, sugiriendo que alteraciones en sus funciones pueden resultar en eventos de carácter patológico. Algunas de estas GTPasas han sido identificadas con mutaciones y cambios en su expresión que acompañan a un proceso patológico. Recientemente, los RhoGEFs están siendo caracterizados en busca de alteraciones similares y su posible contribución en procesos como la angiogénesis tumoral y metástasis.

Este trabajo pretende contribuir a caracterizar el potencial angiogénico de algunos miembros de la familia de RhoGEFs. De acuerdo a estudios de expresión de RhoGEFs en células endoteliales, y usando criterios entre los que se incluyen sus características estructurales, se eligió abundar en el estudio de un grupo de 20 RhoGEFs. Para ello generamos algunas variantes constitutivamente activas, a partir de la amplificación por PCR del cDNA codificante de los dominios catalíticos DH-PH de cada RhoGEF y su clonación en el vector pCEFL-EGFP-CAAX que da lugar a la expresión de proteínas fluorescentes ancladas a la membrana plasmática. Hemos obtenido varias construcciones con las apoyamos la hipótesis de que expresando los dominios DH-PH y localizándolos en la membrana plasmática, a través de isoprenilación, estos activan de forma constitutiva a diversas Rho GTPasas. Los primeros ensayos con los EGFP RhoGEFs-DH-PH_CAAX muestran que estos activan, con diferente especificidad, a GTPasas de la familia de Rho en células HEK293T no expuestas a estímulos extracelulares. Los estudios en curso están orientados a evaluar su contribución en la respuesta angiogénica, por medio de ensayos de activación de GTPasas, ensayos de actividad de GEF, tinción del citoesqueleto y migración celular. Posteriormente, inhibiremos la expresión endógena de aquellos cuyas variantes constitutivamente activas contribuyan a un fenotipo angiogénico, esperando interferir con la señalización de factores angiogénicos. Nuestros estudios alientan a explorar con mayor profundidad el papel de diversos RhoGEFs en eventos patológicos como la angiogénesis tumoral y la metástasis, e incluso considerarlos como novedosos blancos terapéuticos.



Efecto del benzo [a] pireno sobre la migración y capacidad invasiva de las células mamarias tumorales MDA-MB-231

¹Castillo -Sánchez R., ¹Gómez-Ortega R. y ^{2*}Pérez –Salazar E.

¹Departamento de Toxicología. ²Departamento de Biología Celular. Cinvestav-IPN. Av IPN # 2508. San Pedro Zacatenco. México, DF. C.P.07360. *Autor correspondiente: Eduardo Pérez Salazar PhD., Teléfono: 52 -55- 5747-3991., Fax : 52 -55- 5747-3393., E-mail: jperez@cell.cinvestav.mx

La estrecha relación propuesta entre cáncer mamario y algunos contaminantes ambientales se ha fortalecido a través de diversos estudios. En particular el benzo a pireno (B[a]P) es un carcinógeno que participa en el inicio y progresión de cáncer mamario, así mismo, diversos reportes demuestran que el B[a]P induce proliferación e invasión en células de cáncer mamario. Este estudio fue realizado para investigar los efectos del B[a]P en las vías de transducción de señales a través de las cuales influye en la migración e invasión de las células de cáncer mamario. Nuestros resultados demuestran que B[a]P (3.0 μ M) produce un incremento en tiempo cortos de la fosforilación en proteínas FAK, Src y ERK1/2 dependiente del tiempo, así como también B[a]P induce secreción de MMPs y un incremento en la expresión $\alpha\beta$ 3integrina de manera dependiente de la dosis. Además, la inhibición de la actividad de proteínas como LOX previene la migración y activación de FAK inducida por el B[a]P. En conclusión, nuestros resultados demuestran que B[a]P estimula las vías de señalización de FAK, Src y ERK1/2, así como nuestros resultados demuestran que LOX juega un papel importante en la activación de FAK inducida por el B[a]P en células de cáncer mamario MDA-MB-231. Con base en esto, el presente estudio hace una significativa contribución de los mecanismos de acción moleculares inducidos por el B[a]P en la progresión del cáncer mamario.



Caracterización de los mecanismos de activación de GTPasas de la familia de Rho durante la migración de células progenitoras endoteliales

Rodolfo Daniel Cervantes Villagrana, Ricardo Hernández García, Lydia Chávez Vargas, Guadalupe Reyes-Cruz² y José Vázquez Prado. Departamentos de Farmacología y ²Biología Celular, CINVESTAV-IPN. Responsable: José Vázquez Prado: Av. Instituto Politécnico Nacional No. 2508 Col. San Pedro Zacatenco 07360, México D.F. Tel. 57473800 ext 3380 jvazquez@cinvestav.mx.

La formación de nuevos vasos sanguíneos (neovascularización) es un proceso indispensable para el crecimiento de tumores y el establecimiento de metástasis. La neovascularización ocurre de manera coordinada a través de la ramificación de los vasos adyacentes al tumor y de la incorporación de células precursoras que se desplazan desde la médula ósea, conocidas como células progenitoras de endoteliales (EPC); tales procesos son conocidos como angiogénesis y vasculogénesis, respectivamente, en referencia al origen distinto de las células que forman los nuevos capilares. Los tumores en crecimiento secretan diversas sustancias pro-angiogénicas (VEGF, SDF-1, FGF, EGF, entre otras) que reclutan a EPCs mismas que activan vías de señalización, en respuesta a la estimulación de receptores acoplados a proteína G (GPCR) y receptores acoplados a cinasas, que promueven la migración celular desde la médula ósea hasta los tumores y futuros nichos metastásicos. Este proceso depende de la activación de GTPasas de la familia de Rho (Rac, Rho y Cdc42) por factores intercambiadores de nucleótidos de guanina (Rho-GEFs). Los RhoGEFs son proteínas multi-dominio con la capacidad de integrar cascadas de señalización de receptores membranales para activar selectivamente a una o varias Rho-GTPasas. Existen ~68 RhoGEFs codificados en el genoma de ratones y son expresados diferencialmente en los tejidos. El objetivo de este trabajo es determinar cuáles son los RhoGEFs que son expresados en las EPC e identificar aquellos que son fundamentales (y posibles blancos terapéuticos) para el movimiento polarizado de las células progenitoras de endoteliales hacia estímulos angiogénicos. La población de células progenitoras de endoteliales fue obtenida a partir de la médula ósea de ratones (cepa FVB/NHSD y C57/BL6) cultivada en medio para células endoteliales suplementado (EGM-2). Transcurridos 15 días de cultivo, la población de EPC con marcadores Tie2, CD34, CD31 y VEGFR2 fue aislada mediante citometría de flujo. La expresión de RhoGEFs y de marcadores celulares se determinó mediante PCR punto final. El efecto de diferentes estímulos angiogénicos sobre las EPC se evaluó mediante Western blot usando anticuerpos que reconocen a cinasas activas, experimentos de migración celular en cámara de Boyden y cierre de herida y pruebas de angiogénesis *in vitro*. Nuestros resultados revelan la existencia de una gran diversidad de RhoGEFs expresados en EPC.



Regulación de la expresión de claudinas vía MAPKs por LPS de *Helicobacter pylori*.

Christian O. Chavarría-Velázquez, Monserrat Carrera-Martínez, Antonio de Jesús Paz-Martínez, Luis F. Montañó-Estrada, Erika P. Rendón-Huerta. Departamento de Biología Celular y Tisular, Facultad de Medicina, UNAM. Código postal 04510, Tel 56232191, chavarríavelazquez@gmail.com

Helicobacter pylori se asocia con el desarrollo de enfermedades gastroduodenales y adenocarcinoma gástrico. La endotoxina lipopolisacárido (LPS) de *H. pylori* es reconocida por células inmunes y células epiteliales gástricas a través de Receptores Tipo Toll (TLRs), activando la síntesis y secreción de citocinas inflamatorias e interferones tipo I. *H. pylori* se adhiere a las células epiteliales y altera la estructura y función de las claudinas, constituyentes esenciales de las uniones estrechas (UE). *H. pylori* altera la función de barrera epitelial a través de la deslocalización de claudinas 4 y 5. Por otro lado se ha reportado el aumento en la expresión de claudinas 6, 7 y 9 y su deslocalización a citosol en biopsias de estómago de pacientes positivos a *H. pylori*. Sin embargo el proceso mediador de estas alteraciones así como su relación con *H. pylori* se desconoce.

En este trabajo se empleó un modelo *in vitro* con células de adenocarcinoma gástrico humano (AGS), para evaluar si la exposición con el LPS de *H. pylori* modifica la expresión y localización de claudinas 6, 7 y 9 a través de la participación de TLR2 y TLR4. Los resultados revelaron que, la exposición con el LPS aumentó los niveles de TLR2 y disminuyó TLR4 y las claudinas incrementaron su expresión en la membrana plásmatica y el citosol.

Las proteínas ERK 1/2 participan en la fosforilación de las claudinas, modificando su expresión y localización. Dado que la activación de los TLRs y las claudinas está relacionada con la activación de la vía ERK 1/2, se analizó si la activación de TLRs a través del LPS de *H. pylori* promovía la activación de ERK 1/2. Los resultados mostraron un incremento en la expresión de ERK 1/2 proporcional al tiempo de incubación. El aumento de ERK 1/2 en el núcleo sugiere que los cambios observados en la expresión de las claudinas son inducidos, muy probablemente, por la síntesis de citocinas proinflamatorias a través de estas cinasas. Cabe señalar que otra posibilidad es que ERK 1/2 promuevan los cambios en las claudinas a través de la fosforilación directa.

Nuestros hallazgos indican que ante una reacción de inflamación ocasionada por el LPS de *H. pylori*, TLR2 media a corto plazo, a través de la vía ERK 1/2 las modificaciones en las claudinas 6, 7 y 9 aumentando su expresión y promoviendo alteraciones en los complejos de las uniones estrechas.



Efecto de la glicina sobre la vía de activación de NF- κ B en adipocitos.

Erika Contreras Nuñez¹, Gerardo Blancas Flores², Julio Almanza Pérez², Miguel Cruz Lopéz³, Rubén Román Ramos², José Luis Ventura Gallegos ⁴, Alejandro Zentella Dehesa ⁴, Francisco Javier Alarcón Aguilar².

¹Posgrado en Biología Experimental, DCBS, UAM-Iztapalapa.

²Lab. Farmacología, Depto. Ciencias de la Salud, DCBS, UAM-Iztapalapa.

³UIM en Bioquímica, Hospital de especialidades, CMNSXXI, IMSS.

⁴Depto. Bioquímica, INCMNSZ e Investigaciones Biomédicas, UNAM.

Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina, México, D.F, C.P.09340 Apdo. Postal 555-320-9000, Tel: 5804-4880 y 5804-4883. E-mail: biologaexp_kyka@hotmail.com

Resumen

La glicina aminoácido no esencial tiene propiedades antioxidantes y antiinflamatorias demostradas en macrófagos y adipocitos. Estas células durante el proceso inflamatorio liberan potentes mediadores proinflamatorios, como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleucina 6 (IL-6) y leptina. La glicina es considerada como un protector celular ya que reduce los niveles séricos de citocinas proinflamatorias y aumenta los niveles de citocinas antiinflamatorias en células 3T3-L1 y en ratones obesos inducidos con glutamato monosódico (GMS/Ob). Recientemente Hasegawa y col. (2011) reportaron que estos efectos están relacionados con la reducción en la activación del NF- κ B. Este factor de transcripción es esencial para la respuesta inflamatoria; de igual manera, Blancas y col. (2012) reportaron que la glicina inhibe la activación de NF- κ B, inducida por TNF- α , generando un aumento parcial de I κ B- α y suprimiendo la expresión de TNF- α e IL-6. Es evidente la participación de glicina en la regulación de NF- κ B, pero aún se desconoce cuál es el mecanismo de regulación de glicina en esta vía. Por lo tanto, El objetivo de la presente investigación fue determinar cuál es el nivel de regulación de la glicina sobre la vía de señalización de TNF- α que activa al NF- κ B y su asociación con la modulación en la secreción de citocinas. Los resultados mostraron que el pretratamiento con glicina inhibe la activación de NF- κ B inducida por TNF- α , aumentando la actividad de IKK- α y regulando la secreción de moléculas con carácter proinflamatorio, como TNF- α y leptina. Los resultados apoyan la idea de que la glicina podría estar regulando el proceso inflamatorio crónico característico de la obesidad a través de un mecanismo que involucra la participación de estos mediadores.



Factores de transcripción involucrados en la polarización linfocitaria: efecto por la vacuna BCG y la terapia antifímica

Nancy Elizabeth Corral Fernández, Mariana Salgado Bustamante, Silvia Romano Moreno, Susanna Edith Medellín Garibay, José de Jesús Macías Mendoza, Diana Patricia Portales Pérez

Laboratorio de Inmunología Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Químicas, UASLP, San Luis Potosí, SLP.

Salvador Nava #6, 826 24 40 ext. 6550, dportale@uaslp.mx

Introducción: La tuberculosis causada por el patógeno intracelular *Mycobacterium tuberculosis*, es un problema de salud mundial debido a la co-infección con el VIH y la asociación con diabetes mellitus tipo 2. Una de las estrategias para evitar la propagación del patógeno es mediante el uso de la vacuna BCG, sin embargo, confiere protección parcial solo en la forma pulmonar de la tuberculosis. Al establecerse la enfermedad, los macrófagos infectados pueden inducir distintas subpoblaciones de linfocitos Th, como las Th1 (*TBET*) que confieren protección frente a la micobacteria, los Th2 (*GATA3*) que promueven el proceso inflamatorio, los Th17 (*RORC2*) que posiblemente contribuyen a la protección y las células Treg (*FOXP3*) involucradas en la patogénesis de la enfermedad. Sin embargo, no se conoce el papel de las células Th posterior a la terapia antifímica y después del uso de la vacuna BCG.

Objetivo: evaluar los niveles de expresión de los factores de transcripción involucrados en la diferenciación linfocitaria en pacientes con tuberculosis pulmonar después del tratamiento y en sujetos sanos que recibieron la vacuna BCG.

Material y métodos: se reclutaron a 10 sujetos sanos que aceptaron recibir la vacuna BCG y pacientes con tuberculosis pulmonar que recibieron la terapia antifímica. Se recolectaron muestras sanguíneas a los tiempos 0, 2 y 6 meses después de recibir la vacuna o el tratamiento. Se separaron las células mononucleares y se cultivaron durante 48 horas en presencia de antígenos de la micobacteria como ESAT-6 (10 µg/ml) y CFP-10 (10 µg/ml). Se recolectaron las células y se realizó una PCR en Tiempo Real para determinar los factores de transcripción involucrados en la polarización linfocitaria.

Resultados: para los sujetos con vacuna BCG, se encontró una disminución en la expresión de *FOXP3* y *RORC2* después de 2 meses de haber recibido la vacuna y un incremento de la expresión de *RORC2* después de 6 meses. Para los pacientes con tuberculosis, al inicio del tratamiento se encontró una alta expresión de *FOXP3* y en contraste bajos niveles de expresión de *RORC2*. Posterior a 2 meses de tratamiento antifímico, se encontró un decremento en los niveles de expresión de *TBET* y *FOXP3* y un incremento de los factores de transcripción *GATA* y *RORC2*.

Conclusión: Nuestros resultados sugieren que por efecto de la vacuna BCG se induce un fenotipo Th17 contribuyendo a la protección en los sujetos sanos y en cambio por efecto de la terapia antifímica se presenta una disminución del proceso inflamatorio en los pacientes con tuberculosis

Referencias:

1. Zumla, A., Raviglione, M., Hafner, R., and von Reyn, C. F., Tuberculosis. *N. Engl. J. Med.* 2013. 368: 745-755
2. Sasindran, S. J., and J. B. Torrelles. 2011. *Mycobacterium Tuberculosis Infection and Inflammation: what is Beneficial for the Host and for the Bacterium?* *Front Microbiol.* 2: 2.
3. Sutherland, J. S., B. C. de Jong, D. J. Jeffries, I. M. Adetifa, and M. O. Ota. 2010. Production of TNF-alpha, IL-12(p40) and IL-17 can discriminate between active TB disease and latent infection in a West African cohort. *PLoS. One.* 5: e12365



Evaluación de P2X7 y ART1 en linfocitos Treg CD39+

Juan D Cortés-García¹, Nancy Cortez-Espinosa¹, Juan M Guzmán-Flores¹, Esther Layseca-Espinosa², Mariana H García-Hernández³, Diana P. Portales-Pérez¹

¹Laboratorio de Inmunología y Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Químicas, UASLP, San Luis Potosí, SLP, México

Las células T reguladoras que expresan CD39 (Treg CD39) muestran propiedades inmunomoduladoras específicas. CD39 es una ectonucleotidasa responsable de la hidrólisis del ATP y ADP. El ATP al unirse a los receptores P2X7 induce su activación. Sin embargo, no se ha definido la función de P2X7 en los linfocitos Treg con fenotipo CD4+CD25+ o en los Treg CD39+. Por otro lado, el nucleótido NAD puede activar P2X7 y depletar las células Treg por la actividad de ART2.2 en modelos murinos y en humanos por ART1. Por lo tanto, el ATP y el NAD pueden ser necesarios para la activación de P2X7, marcando así un mecanismo de control de la muerte celular que se podría extrapolar a los linfocitos Treg CD39+. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar la expresión y función de P2X7 y ART1 en los linfocitos Treg CD39+ bajo presencia o ausencia de los nucleótidos ATP y NAD. Se aisló células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de sujetos sanos por Ficoll-Hypaque y se purificaron los diferentes subtipos de linfocitos analizados (CD4+, CD4+CD25+ y CD4+CD25+CD39+) en el FACS Aria II. Se evaluó la expresión de P2X7 y ART1 por citometría de flujo y por PCR de tiempo real. Se determinó apoptosis (Anexina V-FITC/Yoduro de Propidio) y proliferación celular (dilución de la carboxifluoresceína) por citometría de flujo. Nuestros resultados mostraron que el porcentaje de células P2X7+ es menor en linfocitos Treg CD39+. Por el contrario, los Treg CD39+ presentan mayor porcentaje de células ART1 positivas que los otros subtipos estudiados. En cuanto a la activación de P2X7 por la pérdida de CD62L, se encontró que en las poblaciones de PBMC y Treg CD4+CD25+ solamente el ATP induce activación de P2X7, mientras que el NAD o ATP no tienen efecto en las células Treg CD39+. Además, se observó que el NAD no induce apoptosis en los distintos tipos celulares analizados (PBMC, Treg CD4+CD25+ y Treg CD39+) pero inhibe la proliferación dependiente de P2X7 en PBMC y linfocitos T CD4+. En conclusión, nuestros resultados sugieren que la expresión y función alterada de P2X7 y ART1 en las células Treg CD39+ podrían participar en la resistencia a la muerte celular inducida por ATP o NAD.

Autor responsable:

Dra. Diana Patricia Portales Pérez
Laboratorio de Inmunología y Biología Celular y Molecular
Facultad de Ciencias Químicas, UASLP
Ave. Manuel Nava No. 6
78210 San Luis Potosí, SLP, México
Phone and FAX: (52-44) 82624-40, ext 6550 and 6594
E-mail: dportale@uaslp.mx



Estudio de una interacción física directa entre las GTPasas Gpn1 y Gpn3 mediante FRET en células vivas.

¹Gema Rosa Cristóbal Mondragón, ²Victor De la Rosa Jiménez, ²León David Islas Suárez, ¹Roberto Sánchez Olea, ¹Mónica R. Calera. ²Facultad de Medicina, UNAM, Circuito Interior, Ciudad Universitaria. ¹Instituto de Física, UASLP. Av. Manuel Nava 6, Zona Universitaria, C.P. 78290, San Luis Potosí, SLP. Tel: (444) 826-2300 ext 5717. Email: mcalera@ifisica.uaslp.mx.

La familia de proteínas GPN incluye tres miembros, Gpn1, 2 y 3, que poseen un motivo estructural distintivo glicina-prolina-asparagina (Gpn) que le confiere el nombre a la familia. Se les considera GTPasas debido a que conservan el dominio canónico de GTPasa, sin embargo, solo se ha demostrado actividad de GTPasa para la Gpn1. Gpn1 es esencial para la importación nuclear de la RNA polimerasa II (RNAPII) (Forget *et al.*, 2010; Starensincic, 2011; Carré *et al.*, 2011). La proteína Gpn3 se describió originalmente por su habilidad para interactuar con Apaf-1 (Sánchez-Olea *et al.*, 2008) y posteriormente se demostró que al igual que Gpn1, Gpn3 es necesaria para la acumulación nuclear de la RNAPII (Calera *et al.*, 2011; Carré *et al.*, 2011). Existe evidencia experimental reciente que muestra que Gpn1 y Gpn3 interactúan entre sí (Grass *et al.*, 2007; Carré *et al.*, 2011), sin embargo, se desconoce si esta interacción es directa o indirecta. El presente proyecto tiene el propósito de investigar si existe una interacción física directa entre las proteínas Gpn1 y Gpn3 en células vivas utilizando la técnica de FRET. Para esto generamos construcciones moleculares de Gpn1 y Gpn3 con las proteínas fluorescentes eYFP o CFP (amarilla y cian, respectivamente) en los extremos N o C terminales. Las construcciones moleculares obtenidas se transfectaron en células HEK293 y la expresión de las proteínas quiméricas se evaluó en un microscopio de epifluorescencia y mediante Western Blot con anticuerpos específicos para Gpn1 o Gpn3. Para evaluar la eficiencia de FRET se co-transfectaron diferentes combinaciones de las construcciones generadas. Se evaluó la combinación eYFP-Gpn1/Gpn3-CFP (eYFP en N-terminal de Gpn1 y CFP en C-terminal de Gpn3) obteniendo una eficiencia de FRET de 24% (n = 30), mientras que la combinación eYFP-Gpn3/Gpn1-CFP mostró una eficiencia de FRET de 14% (n = 10). Con el fin de descartar que la señal de FRET fuera causado por la dimerización de las proteínas fluorescentes, se evaluó la combinación Gpn1-CFP/eYFP. De esta combinación se obtuvo una eficiencia de FRET de 0% (n = 10). Estos resultados indican que la interacción entre Gpn1 y Gpn3 es directa, lo que, aunado a que ambas proteínas son esenciales para la localización nuclear de la RNAPII, sugiere que estas dos GTPasas funcionan como un complejo proteico único. Este trabajo se realizó con los apoyos de los proyectos CONACYT no. 106139 a MRC, no. 180825 a RSO y no. 151297 y DGAPA-PAPIIT IN212612 a L.D.I.



Análisis de la función reguladora de los linfocitos NK en pacientes con lupus eritematoso generalizado(LEG)

1M.C Daniela de Jesús Cruz-González, 1* Dra. Adriana Elizabeth Monsiváis-Urenda.

1 Departamento de Inmunología, Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

*Autor correspondiente: Av. Venustiano Carranza 2405 CP. 78210 Teléfonos: 444-8262344 ext. 6658 adriana.urenda@uaslp.mx

Introducción: Las células asesinas naturales (natural killer, NK) son linfocitos granulares grandes que pertenecen a la inmunidad innata, cuyas principales funciones son la lisis de células tumorales e infectadas por virus, así como la secreción de citocinas como IFN- γ . Recientemente se ha reportado que son capaces de participar en la regulación del sistema inmune adaptativo. Los receptores de NK (NKR) regulan su activación e inhibición e incluyen a la familia de receptores semejantes a inmunoglobulina (KIRs), receptores de lectina tipo-C (CD94/NKG2, NKG2D), y transcritos semejantes a inmunoglobulina (ILTs), así como los receptores de citotoxicidad natural (NKp30, NKp44, NKp46). Se han demostrado diversos mecanismos por los cuales las células NK regulan la inmunidad adaptativa, estos incluyen la adquisición de moléculas MHC clase II y moléculas co-estimuladoras en niveles sub-óptimos los cuales inducen anergia en linfocitos T. Por otra parte se ha visto que los linfocitos NK son capaces de lisar células dendríticas (DCs) autólogas e inhibir la proliferación de linfocitos T. El lupus eritematoso generalizado (LEG), es una enfermedad autoinmune la cual resulta de numerosas alteraciones inmunológicas. En los pacientes con LEG se ha encontrado una disminución tanto en los niveles como en la función citotóxica de células NK. Por lo anterior, el objetivo de este estudio es evaluar la expresión de NKR así como la capacidad inhibidora de las células NKs de pacientes con LEG.

Métodos: Se incluyeron cinco pacientes con diagnóstico de LEG de acuerdo a los criterios del American College of Rheumatology, así como cinco sujetos sanos. Se obtuvieron células mononucleares de sangre venosa periférica (CMN) y se analizó la expresión de los receptores NKG2D, NKG2C, NKG2A, NKp46, NKp30, ILT2, CD161, y la expresión de moléculas coestimuladoras mediante citometría de flujo multiparamétrica. Para evaluar la función inhibidora de las células NK, se realizaron co-cultivos de células NK con células dendríticas y se evaluó el porcentaje de lisis de DCs, así como el porcentaje de citotoxicidad de células NK. También se analizó la capacidad de las células NK de inducir células T reguladoras (Treg).

Resultados y Conclusiones: Los pacientes con LEG mostraron un patrón alterado de expresión de NKR además de una capacidad deficiente de lisar DCs e inducir células Treg comparados con los sujetos sanos, lo cual nos sugiere que la regulación de la respuesta inmune mediada por células NK en LEG está alterada y puede contribuir a la fisiopatología de esta enfermedad.



Localización subcelular de PKC ζ y comportamiento del factor inducible por hipoxia (HIF) en etapas tempranas de un modelo de carcinogénesis renal inducida con FeNTA

Patricia Curiel-Muñiz, José Solano, Francisco Aguilar-Alonso, Chabetty Vargas-Olvera, Telma Pariente-Pérez, Rocío Navarro-García, Alfredo Rangel-Gómez, María Elena Ibarra-Rubio*

Departamento de Biología, Edificio F, Laboratorio 120, Facultad de Química, UNAM, México, D.F. 04510. Tel. (5255)56223869, patykury12@hotmail.com, meir@unam.mx*

Entre los tipos de cáncer menos comprendidos se encuentra el carcinoma de células renales (CCR) que es la neoplasia renal más común en adultos. Este cáncer presenta muchas complicaciones que llevan a una alta tasa de mortalidad, entre las que está su detección generalmente en estadios muy avanzados, por lo que su estudio en etapas tempranas es casi imposible. En nuestro laboratorio hemos montado un modelo de inducción de CCR en ratas por exposición a nitrilotriacetato de hierro (FeNTA) durante 4 meses, y hemos demostrado que un antioxidante, un extracto de semillas de tamarindo (EST), disminuye la incidencia y el grado de avance de los tumores. Así mismo, se han encontrado algunas alteraciones procarcinogénicas en vías de señalización después de uno y dos meses de tratamiento con el FeNTA, como son un incremento de los niveles renales de PKC ζ total y fosforilada (p-PKC ζ), así como la presencia de lesiones pre-neoplásicas.

Bajo diferentes circunstancias se ha demostrado una correlación entre el aumento en los niveles de PKC ζ y aquéllos de HIF. PKC ζ es una enzima que se encuentra ligada a diferentes vías de señalización en el citoplasma y recientemente, se ha demostrado su translocación al núcleo donde aún no están claras sus funciones; sin embargo, en líneas celulares de CCR se ha demostrado su participación en la vía CDP-FIH-HIF, ya que en el núcleo de estas células PKC ζ lleva a cabo la fosforilación del represor transcripcional CDP, el cual se une al promotor del gen del inhibidor del factor inducible por hipoxia (FIH), lo que lleva a un aumento de los niveles de HIF y a su translocación al núcleo. Sin embargo, existen diferentes isoformas de HIF que pueden inducir la expresión de diferentes genes blanco, lo cual también se ha observado en líneas celulares de CCR.

Por todo lo anterior se consideró de gran interés determinar la localización subcelular de PKC ζ , así como el comportamiento de las isoformas HIF 1 α y 2 α en tejido renal de ratas expuestas al carcinógeno durante 1 y 2 meses.

Nuestros resultados demuestran que PKC ζ se transloca al núcleo y que sus niveles aumentan tanto en el núcleo como en el citoplasma, siendo más notorio el aumento en el núcleo a los dos tiempos de exposición al carcinógeno. Por otro lado, y muy interesantemente, los niveles de HIF-1 α no se alteran en ninguno de los tiempos de exposición al carcinógeno, en cambio, los niveles renales de HIF-2 α , aunque tampoco se alteran a un mes, a dos meses de exposición al FeNTA se incrementan notoriamente. Entonces, se puede decir que existe una correlación entre el aumento de los niveles de PKC ζ y HIF-2 α , lo que refuerza la relación de la cinasa con la vía CDP-FIH-HIF y sugiere su participación en la carcinogénesis inducida con FeNTA. Así mismo, nuestros resultados demuestran las diferencias en el comportamiento de las isoformas HIF 1 α y 2 α y justifican ampliamente el profundizar en el comportamiento de la vía CDP-FIH-HIF y su relación con PKC ζ en este modelo experimental de CCR.



Factores de maduración ribosomal asociados con ribosomopatías

Eugenio De la Mora, Nina Castro, Adrián García, Abel Moreno, Nuria Sánchez.

Departamento de Química de Biomacromoléculas, Instituto de Química.
Universidad Nacional Autónoma de México

Las ribosomopatías son patologías hereditarias provocadas por deficiencias/defectos en la regulación de la biogénesis ribosomal. Las mutaciones en el gen SBDS (*Shwachman-Bodian-Diamond Syndrome*) son las responsables del desarrollo del síndrome de Shwachman-Diamond que se caracteriza por la baja estatura de quienes lo padecen y por el desarrollo de leucemia en etapas avanzadas.

La proteína SBDS, Sdo1 en *S. cerevisiae*, es necesaria para liberar el factor de inhibición Tif6 de la subunidad 60S ribosomal y permitir la formación de una partícula 80S funcional. Para liberar a Tif6, SBDS/Sdo1 actúa junto con la GTPasa Efl1 mediante un mecanismo desconocido. En este trabajo sobreexpresamos, purificamos y caracterizamos las proteínas de levadura y humano para determinar la estructura de los complejos moleculares que nos permitirán comprender a detalle el mecanismo de liberación de Tif6. Durante la caracterización de las GTPasas Efl1/EFTUD1 identificamos fosforilaciones no descritas anteriormente que sugieren la participación de cinasas celulares en su regulación. Mediante espectroscopía de masas MALDI-TOF identificamos una fosforilación en el residuo T982 aunque se desconoce la función de dicha modificación.



Estudio de las modificaciones postraduccionales que modulan la función y estabilidad de la oncoproteína Ski.

Eugenio Del Valle-Espinosa, Genaro Vázquez-Victorio, Marina Macías-Silva. Departamento de Biología Celular y Desarrollo. Instituto de Fisiología Celular. Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito Exterior S/N Ciudad Universitaria, Coyoacán, 04510 México D.F. edelvalleespinosa@gmail.com

La familia del TGF β se encuentra involucrada en muy diversos procesos celulares. Mucho se ha investigado respecto a la vía canónica de señalización mediada por esta citocina, la cual se sabe que inicia con la interacción entre el TGF β y sus receptores de superficie celular, seguido de la activación por fosforilación de los factores transcripcionales R-Smad (Smad2 y Smad3), los cuales forman un complejo con la proteína Smad común (Smad4). Este hetero-trímero se transloca al núcleo donde se une a secuencias específicas del DNA, regulando genes blanco con ayuda de otros factores transcripcionales.

Actualmente, se sabe que la regulación de esta vía de señalización ocurre a distintos niveles. La oncoproteína Ski, el homólogo del componente transformante del virus Sloan-Kettering, es uno de los reguladores negativos de esta vía. Se conoce que interacciona con las proteínas Smad, que se activan por el TGF β durante la transducción de señales intracelulares, para bloquear la cascada de señalización al reclutar a otros correpresores y a desacetilasas de histona hacia los promotores de genes blanco de la vía.

Aunque algunos sitios de fosforilación han sido recientemente descritos en la secuencia de aminoácidos de la proteína Ski, se sabe muy poco respecto a otras modificaciones postraduccionales que pudiera sufrir la proteína. Se ha observado que al estudiar a la proteína Ski endógena mediante técnicas de inmunoprecipitación e inmunotransferencia, esta proteína se expresa en 4 formas con diferentes pesos moleculares en células de origen humano o de ratón. Aún no se ha dado ninguna explicación respecto al origen de las variaciones de los pesos moleculares de esta proteína, sin embargo se ha propuesto que no son isoformas derivadas por "splicing" alternativo del RNAm. Lo anterior, hace pensar que la presencia de modificaciones postraduccionales en la proteína Ski sean las causantes de estas variaciones en el peso molecular que se observan en los WB, y es lo que motiva al desarrollo de este trabajo.

El objetivo de este trabajo es demostrar la presencia de modificaciones postraduccionales que ocurran sobre la proteína Ski y relacionarlas con cambios en la función y estabilidad de la proteína en modelos celulares de líneas transformadas y no transformadas. Este tipo de estudios ayudarán a buscar nuevas formas de modular la actividad de reguladores negativos de la vía del TGF β , lo cual resulta de gran importancia ya que se han encontrado alteraciones en los niveles de expresión de estas proteínas en distintos tipos de patologías de tipo neoplásico y no neoplásico.

Este trabajo esta apoyado por donativos de CONACYT y DGAPA/UNAM.



Efecto de la interacción de VPS28, una proteína del ESCRT I y del heterodímero $G\beta\gamma$ de las proteínas G en la división celular.

Misael Neri Dionisio Vicuña¹, José Vázquez Prado² y Guadalupe Reyes Cruz^{1*}.

Departamentos de ¹Biología Celular y ²Farmacología, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Apartado postal 14-740, México, D.F., MEXICO. 07360. Teléfono: 57473989, guadaluper@cell.cinvestav.mx

Las proteínas G heterotriméricas están conformadas por tres subunidades, $G\alpha$, $G\beta$ y $G\gamma$. La función mejor caracterizada de las proteínas G es como interruptores moleculares que transmiten señales al interior de la célula y esto es en respuesta a la activación de los receptores acoplados a proteínas G (GPCRs) promovidos por estímulos extracelulares. Sin embargo, hace más de una década se describió que las proteínas G y sus reguladores (activadores) tienen una localización diferente a la de la membrana plasmática, específicamente existen evidencias que demuestran la asociación de las subunidades de las proteínas G, particularmente el dímero $G\beta\gamma$ con la red de microtúbulos y por tanto parecen regular ciertos procesos de la división celular. No obstante, existe poca evidencia de la participación de $G\beta\gamma$ en la división celular en mamíferos. Por otro lado, existen un gran número de complejos proteicos que también regulan la división celular, entre ellos destacan los Complejos de Direccionamiento Endosomal Requeridos para el Transporte (ESCRTs), la maquinaria de los ESCRTs consiste de 4 complejos, el ESCRT 0, I, II y III y su participación es esencialmente en las etapas terminales de la división celular como la citocinesis. En esta última etapa, las células permanecen conectadas por un fino tallo de membrana, el midbody, el corte del midbody es necesario para completar el proceso de la división celular. Estudios en células humanas demuestran que la maquinaria de los ESCRTs particularmente el ESCRT I y III son los complejos proteicos involucrados en el corte del midbody en asociación con otras proteínas del midbody como CEP55 y proteínas citoplasmáticas como Alix. Sin embargo, la participación de los ESCRTs en etapas previas a la citocinesis no se ha descrito. De particular interés en nuestro trabajo es el ESCRT I, conformado por las proteínas TSG101, VPS37 A, B, C y D y por VPS28, ésta última es un elemento clave para nuestro trabajo de investigación. Al realizar previamente un "screening" con el sistema de doble híbrido en levaduras se encontró que la proteína $G\beta_1$ interacciona específicamente con la proteína VPS28. En este trabajo nos enfocamos en caracterizar la interacción entre estas dos proteínas en células de mamífero y dilucidar su participación en la división celular. Los resultados obtenidos hasta el momento indican que VPS28 interacciona con $G\beta_1$ independientemente de la activación de receptores de membrana incluyendo a los GPCRs.

MNDV es estudiante de posgrado apoyado con beca de CONACyT. Este trabajo es realizado en el Laboratorio 19 del Departamento de Biología Celular en el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional.



LA SEÑALIZACIÓN DE PDGFR β VIA MAPK SE BLOQUEA POR INHIBIDORES DE TIROSINA CINASA DE USO CLINICO EN CULTIVOS PRIMARIOS DE CANCER DE MAMA

José Esparza-López, Diego Alonso-Muñiz, Elizabeth Escobar-Arriaga, Leticia Rocha-Zavaleta, Heriberto Medina-Franco, Eucario León-Rodríguez, y María de Jesús Ibarra-Sánchez

Unidad de Bioquímica, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán". Vasco de Quiroga # 15, Col. Sección XVI, C. P. 14000, México, D. F.

Tel. 54870900 ext. 2606, jesparza@biomedicas.unam.mx

El Receptor del Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas Beta (PDGFR- β) es un receptor que participa en procesos biológicos como proliferación, migración y sobrevivencia de células derivadas de mesénquima. El PDGFR- β se encuentra activo en ciertos tipos de cáncer como glioblastomas y dermatofibrosarcomas. Recientemente, la importancia de este receptor se ha puesto de manifiesto por el uso clínico de inhibidores de tirosina cinasa (TKI) que tienen como blanco al PDGFR- β (Imatinib, Sunitinib y Sorafenib). Diferentes tipos de cáncer (renal, hepático) y tumores como los gastrointestinales son tratados con estos TKIs. Sin embargo, la relevancia del PDGFR- β no ha sido completamente establecida en cáncer de mama. En este trabajo estudiamos la importancia del PDGFR- β tanto en líneas celulares (T47D), como en cultivos primarios de cáncer de mama obtenidos de pacientes con carcinoma ductal infiltrante (MBCD25, MBCD17, MBCDF y MBCD5); (Comité de Ética en Investigación, del INCMNSZ, Ref. 159). Primeramente, se analizó el estado de fosforilación de los residuos de tirosina del PDGFR- β , específicamente en la tirosina 751 (Y751). Se encontró que en la línea T47D y en 3 de 4 de los aislados primarios de cáncer de mama el PDGFR- β se encuentra constitutivamente fosforilado en los residuos de tirosina y en la Y751. Interesantemente, el cultivo primario MBCD5 no mostró niveles detectables de PDGFR- β por Western Blot. El tratamiento con Imatinib, Sorafenib y Sunitinib inhibió la fosforilación de la Y751 y la basal del PDGFR- β . Posteriormente, se evaluaron las vías de señalización río abajo de PDGFR- β que podrían afectarse por el tratamiento con los TKIs. Se analizó la señal de sobrevivencia mediada Akt fosforilada en la serina 436 (S436). Los resultados mostraron que tanto la línea celular (T47D) como los cultivos primarios MBCD25, MBCD17 y MBCDF no mostraron cambios significativos en el grado de fosforilación de p-Akt S463. Las células deficientes en PDGFR- β (MBCD5) mostraron niveles elevados de p-Akt S463 que no fueron afectados por el tratamiento con los TKIs. El análisis de la vía de MAPKs mostró que el tratamiento con los TKIs inhibió la fosforilación basal de las pMAPKs Y204/T202 en células positivas para PDGFR- β . Las células MBCD5 mostraron niveles elevados de pMAPKs Y204/T202 que no fueron inhibidos por el tratamiento con los TKIs. Los ensayos de citotoxicidad utilizando Imatinib, Sorafenib y Sunitinib mostraron una disminución en la viabilidad entre el 30% y el 50% en células positivas para PDGFR- β . Las células deficientes en PDGFR- β (MBCD5) el tratamiento con los TKIs en ensayos de citotoxicidad no afectó la viabilidad celular. Estos resultados sugieren que en células de cáncer de mama los TKIs pueden inhibir la vía de PDGFR- β afectando señales mitogénicas. CONACYT 102825



MECANISMOS MOLECULARES POR LOS CUALES 8BR-CGMP PRODUCE RELAJACION DEL MÚSCULO LISO DE LAS VÍAS AÉREAS DE COBAYO.

Ricardo Espinosa Tanguma¹, Paola Algara Suarez², María del Carmen González Castillo³, Adriana B. Rousset Román¹. ¹Facultad de Medicina, ²Facultad de Enfermería, ³Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Av. V. Carranza 2405, San Luis Potosí, S.L.P. C.P. 78210. Tel. 444-8262348 ext. 6648. espinosr@uaslp.mx.

Se ha probado que el cGMP y la cinasa de proteína dependiente de cGMP (PKG) regulan varios procesos relacionados con la homeostasis de Ca^{2+} y la relajación muscular. Por otro lado, el cAMP y la cinasa de proteína dependiente de cAMP (PKA) causan relajación a través de diferentes mecanismos: (1) inactivación de la cinasa de la cadena ligera de la miosina y (2) apertura de los canales BK_{Ca} (canales de potasio de alta conductancia dependientes de Ca^{2+}). Es común asumir que cAMP actúa solo a través de la activación de PKA y que cGMP solo por la activación de PKG. Sin embargo, varios estudios sugieren un proceso de comunicación cruzada (crosstalk) entre las vías de señalización del cAMP y del cGMP. Se cuenta con evidencia de que el cGMP activa PKA y este, a su vez, estimula los canales BK_{Ca} en arteria coronaria y en arteria pulmonar. En el presente trabajo se propuso investigar los mecanismos de señalización cruzada entre el 8Br-cGMP, un análogo no hidrolizable del cGMP, y PKA que causan relajación del músculo liso de vías aéreas de cobayo. Se realizaron registros de tensión isométrica en anillos de la tráquea de cobayo, libres de tejido graso y conectivo, colocados en cámaras para órgano aislado. Los cambios de tensión isométrica fueron registrados por un transductor de tensión Grass FT 03 y amplificados en un polígrafo Grass 79 D. Se colocó 8Br-cGMP en el pico máximo de la contracción inducido con Histamina ($10 \mu M$) y se observó una relajación del $89.8 \pm 7.6\%$. Posteriormente la pre incubación de Rp-8-Br-cAMPS (inhibidor de PKA) redujo la relajación provocada por 8Br-cGMP ($24.42 \pm 4.93\%$). La participación de los canales BK_{Ca} fue evaluada a través de estudios de Western Blot en donde se observó la fosforilación del canal a través de PKA. Finalmente, con el objetivo de evaluar la participación de las fosfodiesterasas III y V en la vía de relajación, se utilizaron inhibidores selectivos para cada una de estas. Se realizaron curvas dosis-respuesta para los inhibidores Trequinsina y Zaprinast (inhibidor de PDE III y V respectivamente), de las que se obtuvieron las IC_{50} para cada uno de ellos: $IC_{50} = 2.5 \pm 1.3 \mu M$ y $81.5 \pm 1.3 \mu M$, respectivamente. También se colocó los inhibidores en el pico de la contracción máxima inducida por Histamina y se observó un efecto relajante de $88.8 \pm 1.7\%$ con Trequinsina, mientras que para Zaprinast fue de $56.0 \pm 7.8\%$. Los datos obtenidos en este trabajo confirman resultados previos obtenidos en el laboratorio y sugieren la participación de fosfodiesterasas así como de los canales BK_{Ca} en el proceso de relajación de músculo liso de vías aéreas mediado por la comunicación cruzada entre PKA y cGMP. Apoyado por UASLP: C12-FAI-03-64.64 a RET.



Papel de los Andrógenos en la Regulación de la Señal de la Insulina en Células Musculares

Dennys Paola Ferreyra Picazo, Judith Hernández Aranda, ¹Gloria E. Queipo García y *Jesús Alberto Olivares Reyes. Departamento de Bioquímica, CINVESTAV-IPN, A.P. 14-740, C.P 07360, México, D.F.* jolivare@cinvestav.mx, Tel: 55-5747-3951 y ¹Departamento de Genética, Hospital General de México, C. P. 06726, México, D. F.

La resistencia a la insulina (RI), definida como la incapacidad del organismo de responder normalmente a las acciones de la insulina, constituye un trastorno metabólico común y ampliamente prevalente que parece regir la fisiopatología de diversos padecimientos como la diabetes mellitus tipo 2 (DM2), el síndrome metabólico y la obesidad. Además, la RI se encuentra asociada a diversas enfermedades endocrinas, incluyendo el síndrome de ovario poliquístico (SOP), enfermedades de tiroides y adrenales, así como de sus complicaciones. En los últimos años, evidencias clínicas sugieren que los andrógenos y en particular, la testosterona desempeña un papel significativo en la homeostasis de la glucosa y el metabolismo de los lípidos. Estudios epidemiológicos han reportado una correlación directa entre la testosterona plasmática y la sensibilidad a la insulina, asociándose el exceso de andrógenos (hiperandrogenismo) al desarrollo de RI en mujeres con SOP, en donde se han asociado defectos en alguna de las vías de señalización de la insulina. Sin embargo, a la fecha se desconocen los mecanismos involucrados en el desarrollo de RI por acción de los andrógenos. Los andrógenos son un grupo de hormonas sexuales masculinas que incluyen a la testosterona, entre otros, que desempeña funciones fisiológicas cruciales en el establecimiento y mantenimiento del fenotipo masculino. Además, los andrógenos también tienen acciones anabólicas en varias estructuras extragenitales incluyendo el músculo y el hueso. El modelo clásico de acción de la testosterona ha sido descrito tradicionalmente mediado por el receptor de andrógenos (RA) un miembro de la superfamilia de receptores nucleares. Sin embargo, cada vez hay más evidencias donde se reporta que los andrógenos desempeñan su función a través de receptores de membrana (principalmente receptores acoplados a proteínas G). Trabajos realizados en la línea celular de músculo esquelético de ratón (C2C12) se reporta que la respuesta a andrógenos es mediada por el RA clásico localizado en membrana, demostrado por la presencia del RA en balsas lipídicas y caveolas, asociación que se pierde después del tratamiento con testosterona. Debido a la necesidad de comprender el papel que juegan los andrógenos en el desarrollo de RI, el objetivo principal del proyecto de investigación es el de identificar las posibles alteraciones postransduccionales en la vía de señalización de la insulina por acción de la testosterona en células musculares C2C12, así como identificar si estas acciones son promovidas en respuesta a la vía clásica de los RA o a los RA de membrana. El trabajo realizado nos ha permitido caracterizar la respuesta de la insulina en células musculares C2C12 en donde la insulina induce la activación de su receptor y la fosforilación de IRS en función de la dosis y el tiempo. Esta activación lleva a la activación de Akt y de las MAP cinasas ERK1/2. Por su parte, la testosterona induce la activación de ERK1/2, pero no la de Akt, en función del tiempo y la concentración, efecto que puede atribuirse a una vía no genómica ya que el mismo se observa en tiempos menores a 2 horas de estímulo con testosterona. En relación al efecto que ejerce la testosterona en las acciones de la insulina, hemos encontrado que la testosterona inhibe la activación de ERK1/2 inducida por la insulina a tiempos cortos, pero no así la de Akt, efecto posiblemente dependiente de la activación de una vía no genómica a través de la activación del receptor de andrógenos o mediante la activación de receptores de membrana. Actualmente nos encontramos evaluando el efecto de la testosterona sobre las acciones de insulina a tiempos largos que van de 2 a 24 hrs de preestímulo con la testosterona.

Proyecto parcialmente apoyado por el CONACYT (167673) a JAOR y por una beca CONACYT a DFPF (No. 263882)



EFECTO DE LA EPIGALOCATEQUINA 3-GALATO EN LA EXPRESIÓN DE HMGB-1 EN LAS CÉLULAS GANGLIONARES DE LA RETINA EN UN MODELOS DE ISQUEMIA/REPERFUSIÓN

José Javier Flores-Estrada[&], Javier Flores Preciado*, Julia Toscano Garibay[&], Mario Adán Moreno Eutimio[&], Francisco Alvarado*, Abelardo A. Rodríguez Reyes*.

* Asociación para Evitar la Ceguera en México, IAP. Dr. Luis Sanchez Bulnes. [&] División de Investigación, Hospital Juárez de México, SSA.

Javier Flores-Estrada Laboratorio 5, División de Investigación, Hospital Juárez de México, Av. IPN #5160, Col. Magdalena de las Salinas 07760, Gustavo A. Madero, México, DF. tel. 57477560 ext. 7476. Javier_70_1999@yahoo.com

Introducción: La isquemia-reperfusión (I/R) en retina desencadena la muerte de las células ganglionares; el incremento del estrés oxidativo y la producción de varios mediadores proinflamatorios, entre otros, actúan de manera retroalimentaria contribuyendo al proceso crónico degenerativo ocasionando neuropatías ópticas como glaucoma. La proteína no histónica HMGB1 (del inglés High Mobility Group Box-1) es un mediador proinflamatorio de fase tardía, su incremento en retinas dañadas por I/R está relacionada a la muerte de las células ganglionares por lo que la hace blanco de estudio (1). Por otro lado, los estudios con el antioxidante (-)-Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) en el daño por I/R muestran que EGCG presenta un efecto protector en las células ganglionares de la retina, regulando las vías apoptóticas e inhibiendo expresión de Oxido nítrico sintasa (NOS) (2). En sepsis, HMGB-1 es atenuado por la administración de EGCG en un modelo murino. Estos datos sugieren que la administración de EGCG en un proceso de isquemia-reperfusión puede reducir la muerte de las células ganglionares de la retina en relación a la disminución del estrés oxidativo así como la secreción de HMGB1.

Objetivo: Demostrar a manera de dosis dependiente si la Epigalocatequina 3-galato ejerce un efecto protector de muerte en las células ganglionares, reduciendo la producción de ,etabolitos oxidados y secreción de HMGB-1 en las retinas dañadas por Isquemia/reperfusión.

Material y Métodos: Se produjo un daño por isquemia/reperfusión en las retinas de conejo por una hora, 30 min. antes de la reperfusión se administraron diferentes concentraciones de EGCG. A las 48 horas se evaluaron los cambios morfológicos de la retina, muerte de las células ganglionares, así como la peroxidación de lípidos, daño oxidativo al DNA, producción de nitritos/nitratos y secreción de HMGB1 en vítreo.

Resultados: El tratamiento con diferentes concentraciones de Epigalocatequina 3-galato en las retinas con Isquemia/reperfusión, mostraron leves cambios morfológicos comparados al grupo sin tratamiento y confirmado por el ensayo de apoptosis. Similarmente, hubo una reducción significativa al incrementar la concentración de EGCG en la producción de malonaldehído, nitritos/nitratos y secreción de HMGB1. En todos los estudios se observó una significancia de $P \leq 0.05$.

Conclusiones: La Administración intraperitoneal de la epigalocatequina 3-galato en retinas dañadas por isquemia/reperfusión mostro un efecto protector antioxidante y antiinflamatorio de manera dosis dependiente.

Referencias

- 1.- Dvorientchikova G, *et. al.* The high-mobility group box-1 nuclear factor mediates retinal injury after ischemia reperfusion. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(10):7187-94.
- 2.- Peng PH, *et. al.* Epigallocatechin-3-gallate reduces retinal ischemia/reperfusion injury by attenuating neuronal nitric oxide synthase expression and activity. *Exp Eye Res.* 2008;86(4):637-46.



Estudio de la regulación transcripcional del gen *ATP2A3* durante la diferenciación de líneas celulares de cáncer gástrico y de colon

- Rodríguez y Ángel Zarain-Herzberg¹.
Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM, México D.F.

¹Apdo. Postal 70-159, México D.F. 04510, Tel. (55) 5623-2258, FAX(55) 5616-2419, E-mail: zarain@unam.mx

El gen de la ATPasa de Ca^{2+} del retículo sarco(endo)plásmico, *ATP2A3*, se expresa abundantemente en epitelio gastrointestinal, pero su expresión se ha encontrado disminuida o casi ausente en cáncer gastrointestinal. Sin embargo, estudios de diferenciación *in vitro* usando líneas cancerosas humanas reportan aumento en la expresión de la proteína SERCA3. En este trabajo, se indujo la diferenciación de dos líneas celulares humanas, una de cáncer gástrico (KATO-III) y otra de colon (Caco-2), encontrando un aumento muy marcado en la expresión de ARNm de SERCA3, superior a 50 veces. El tratamiento con Actinomicina D, un inhibidor de la transcripción, permitió identificar que el incremento observado en la expresión de SERCA3 ocurre a nivel de la transcripción del gen. Usando diferentes construcciones del promotor humano del gen *ATP2A3* en pGL3 fue posible identificar un aumento superior a 20 veces en su actividad transcripcional después de la inducción de la diferenciación. Se identificó que la región de -135 a +142 pb contiene los elementos de respuesta a la diferenciación celular de células cancerosas. En esta región proximal del promotor existen 8 sitios putativos para factores de transcripción de la familia Sp, que en reportes previos han mostrado tener un papel importante en la regulación transcripcional del gen. A través de ensayos de mutagénesis dirigida de los sitios putativos para los factores de transcripción Sp1 y Sp3, fue posible identificar que dichos elementos son funcionales y necesarios tanto para la transcripción basal del gen *ATP2A3* así como para la inducción de la expresión tras la diferenciación celular *in vitro*. La familia de factores de transcripción Sp es muy extensa, con más de 20 miembros, sin embargo, su expresión es diferencial en diferentes tejidos. El factor de transcripción KLF4, al igual que SERCA3 se expresa de forma abundante en epitelios intestinales. Varios grupos de investigación han reportado que la expresión de KLF4 se encuentra disminuida en cáncer gástrico y de colon, y que además de forma similar a la de SERCA3, ambos incrementan su expresión después de la inducción de diferenciación. Mediante ensayos de interacción ADN-proteína, como inmunoprecipitación de la cromatina (ChIP), y ensayos de retardo de la movilidad electroforética (EMSA), identificamos que KLF4 se une al promotor proximal de *ATP2A3*, promoviendo la expresión del gen. Proponemos que la regulación de la transcripción del gen *ATP2A3* por parte de KLF4 ocurre en forma de un complejo co-activador con la acetil transferasa de histonas p300. Además, los resultados sugieren que Sp3 funciona como un represor de la transcripción del gen *ATP2A3*, manteniendo baja la expresión de la bomba SERCA3 en el estado indiferenciado o neoplásico. Apoyado por PAPIIT-UNAM IN213613 y CONACYT 215102.



MODULACION DIFERENCIAL DE LAS VIAS DE SEÑALIZACION DE MUERTE CELULAR POR PROTEINAS DE LAS VARIANTES INTRATIPO DE VPH18 E2

Fuentes González Alma M, Lizano Soberón Marcela.

Unidad de Investigación Biomédica en Cáncer. Instituto Nacional de Cancerología/Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

Av. San Fernando 22 Belisario Domínguez Sección 16, Tlalpan, 14080 Ciudad de México, Distrito Federal. Tel.01 55 5628 0400. Correo:mariana_alma@hotmail.com, lizanosoberon@gmail.com

ANTECEDENTES. El factor de riesgo más importante para el desarrollo del cáncer de cérvix (CaCu) es la infección persistente por el virus del papiloma humano (VPH). En usualmente todos los tipos de VPH, se pueden identificar variantes genómicas intratipo las cuales se considera que difirieren en su potencial oncogénico. Mediante la secuenciación genómica del VPH18 se han se han identificado tres ramas filogenéticas: Europea, Africana y Asiático–Amerindia (prototipo).La proteína viral E2 juega un rol crítico en el ciclo infeccioso del VPH regulando tanto a la replicación del DNA viral como la transcripción de los oncogenes virales E6 y E7, además de estar vinculada con diversos efectos biológicos, como arresto en el ciclo celular, anti-proliferación y efecto apoptótico. En el área de vías de señalización, hasta hoy se le ha vinculado con la activación de la caspasa 8, a través de la participación del dominio de transactivación de E2 del VPH18, implicando la participación de la vía extrínseca. Sin embargo, falta esclarecer la participación de esta proteína en la transducción de señales hacia la inducción de apoptosis.

OBJETIVO. Analizar los elementos modulados por la proteína E2 de VPH18 en las vías de señalización de apoptosis, utilizando como modelo células que no contienen secuencias de VPH (Hek 293) y células con VPH (HeLa).

MATERIALES Y METODOS. Se realizaron transfecciones transitorias con plásmidos de expresión con los genes de E2 de VPH18 de las diferentes variantes intratipo y se determinaron los efectos apoptóticos de las variantes por ensayos de TUNEL, Anexina V y Western blot.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES.- Las variantes intratipo del gen E2 mostraron un efecto diferencial en la activación de vías de apoptosis. En células que expresaban las distintas variantes de E2 se observó una clara disminución en la proliferación celular y al comparar este efecto entre las variantes intratipo observamos un efecto más claro con la variante Af de E2. Se comprobó que las variantes intratipo de E2 VPH18 son capaces de inducir apoptosis, siendo el efecto mayor en las células que expresan E2 Africana. La modulación de la apoptosis por E2 recae en su capacidad de activar Bid y caspasa 9 diferencialmente.

Este proyecto cuenta con el financiamiento parcial de CONACYT fondo PY166808



Estudio de la correlación entre el número de microvesículas en sangre periférica y pacientes con cáncer mamario

Octavio Galindo Hernández^a, María Cristina González Vázquez^a, Fernando Candanedo^a, Claudia Vanessa Arellano Gutierrez^b, Octavio Daniel Reyes Hernández^b, Mónica Sierra Martínez^b y Eduardo Pérez Salazar^a.

^aDepartamento de Biología Celular. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. México D.F., México

^bLaboratorio de Genética y Diagnóstico Molecular, Unidad de Investigación, Hospital Juárez de México, México D.F., México

Dr. Eduardo Pérez Salazar, Departamento de Biología Celular, CINVESTAV-IPN, Av. IPN #2508, 07360 México, D.F., México; Teléfono: (+52) (55) 5747-3991; E-mail: jperez@cell.cinvestav.mx

Antecedentes y objetivos. El cáncer de mama es el cáncer más común y la principal causa de muerte por cáncer en mujeres en el mundo. Las microvesículas (MVs) son fragmentos (vesículas) de membrana plasmática secretadas por células normales y tumorales. Un incremento en el número de MVs esta presente en la sangre periférica de pacientes con diversas enfermedades incluyendo el cáncer. Nuestra hipótesis es que el número de MVs y la cantidad relativa de la cinasa de adhesión focal (FAK) y del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) presentes en las mismas, en fracciones de plasma enriquecidas en MVs y depletadas de MVs plaquetarias están relacionados con la presencia de cáncer de mama.

Métodos. Las fracciones de plasmas enriquecidas con MVs y depletadas de MVs plaquetarias fueron obtenidas por centrifugación diferencial de las muestras de sangre de pacientes y controles sanos. El número de MVs se evaluó mediante tubos BD TruCOUNT (BD Biosciences). Las proteínas FAK y EGFR se analizaron mediante Western blot de las fracciones de MVs.

Resultados. El número de MVs es mayor en las pacientes de cáncer de mama en los estadios I-IV así como con tumores T2-T4, en comparación con el grupo control. Además, las fracciones de MVs presentan las proteínas FAK y EGFR, estando su concentración relativa incrementada en algunos estadios del cáncer de mama, en comparación con el grupo control.

Conclusiones. Nuestros resultados sugieren fuertemente que el número de MVs y la cantidad de FAK y EGFR en fracciones de MVs están asociadas con los diversos estadios del cáncer de mama.

Programa apoyado por el CONACYT

Investigación financiada por donativo de CONACYT (83802)



α_{1D} -adrenoceptors play a important role in angiotensin II-dependent vascular remodeling independently of hypertension.

Itzell Alejandrina Gallardo-Ortíz, and Rafael Villalobos-Molina.

Unidad de Biomedicina, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, Tlalnepantla, México.
Av. de los Barrios No. 1, Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México.
C.P. 54090, México.

itzellg@gmail.com y/o villalobos@campus.iztacala.unam.mx

Tel: 5623-1333 Ext. 39795

Angiotensin II (Ang II) is very important in regulating blood pressure. Interestingly, it is known that renin-angiotensin system components are enhanced in young SHR (plasma renin activity and angiotensinogen concentration), which might contribute to pathogenesis of genetic hypertension. In addition Ang II induces cardiovascular remodeling and hypertension, and increases α_1 -adrenoceptors (α_1 -ARs) expression. On the other hand, in the cardiovascular system α_1 -adrenoceptors regulate processes such as cardiac and arterial smooth muscle contraction and they have been implicated in pathologies like cardiac hypertrophy or ischemia-induced cardiac arrhythmias.

α_1 -ARs role in Ang II-induced hypertension and vascular remodeling and dysfunction remains unclear. The aim of this work was to explore the cardiovascular effects of Ang II continuous focusing on $\alpha_{1A/1D}$ -ARs functional expression and hypertrophy in aorta and caudal arteries of Wistar rats. Minipumps filled with Ang II (200 ng/kg/min), were implanted in male Wistar rats. Some rats were co-treated, Ang II+losartan, AT_1R blocker, or Ang II+BMY7378, α_{1D} -AR antagonist. Blood pressure (SBP) was measured by tail-cuff; after 2 weeks vessels were isolated for functional and structural analyses, Ang II increased SBP (170 ± 10 vs 120 ± 5 mmHg). Phenylephrine- or A61603-induced contraction in aorta was $\approx 40\%$ higher in Ang II-treated rats; responses in tail arteries were similar among rat groups. Ang II hypertrophied aorta, α_{1D} -AR vessel, while no change occurred in tail artery, α_{1A} -AR vessel. Losartan prevented hypertension and hypertrophy; BMY7378 prevented hypertrophy without preventing hypertension. Data indicate that Ang II-induced hypertrophy involves AT_1R and α_{1D} -AR, but not α_{1A} -AR. Ang II-induced α_{1D} -AR-mediated vascular remodeling occurs independently of hypertension. These findings identify a α_{1D} -AR-sensitive mechanism whereby Ang II influences hypertrophy independently of blood pressure elevation.

Acknowledgements: This work was supported by PAPIIT-IN214812, UNAM.



La emetina libera Ca^{2+} de depósitos intracelulares vía un nuevo canal iónico

Martín Leonardo Gallegos Gómez y Agustín Guerrero Hernández

Depto. de Bioquímica, CINVESTAV-IPN, México, DF. AP. 14-740, Tel. 5747-3800 Ext. 5249, lion_gallegos@hotmail.com

El incremento de la concentración intracelular de Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) modifica la conducta celular. Las dos fuentes principales de Ca^{2+} son el espacio extracelular y los depósitos intracelulares siendo el retículo endoplásmico (RE) el principal depósito de Ca^{2+} , que almacena este ion por acción de la bomba SERCA y lo libera al citoplasma vía dos canales principales como son los receptores de IP_3 (RIP_3) y de ryanodina (RyR).

Sin embargo el RE no es el único depósito intracelular de Ca^{2+} puesto que el sistema endolisosomal o vesículas de secreción también pueden liberar Ca^{2+} . Así se ha demostrado que el NAADP puede liberar Ca^{2+} de depósitos intracelulares por canales diferentes al RyR o el RIP_3 . Este depósito de Ca^{2+} se puede vaciar mediante la alcalinización con NH_4Cl (1). Recientemente, demostramos en células de músculo liso de la vejiga de cobayo que la emetina, un inhibidor de la síntesis de proteínas que se encuentra en el jarabe de la ipecacuana, libera Ca^{2+} del RE a través del RyR y sabemos que el consumo crónico de este jarabe se asocia con formas reversibles de miopatías cardíacas y esqueléticas, que se pudieran deber a alteraciones del RyR más que a su efecto como inhibidor de la síntesis de proteínas (2).

Apoyado en estos antecedentes experimentales, decidimos estudiar el efecto de la emetina en el RE de las células HeLa mediante la medición simultánea de cambios en la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ y el Ca^{2+} luminal del RE utilizando fura-2 y Magfluo-4, respectivamente. La emetina reduce el nivel del Ca^{2+} luminal mediante un proceso de alta cooperatividad, sin incrementar la $[\text{Ca}^{2+}]_i$. El vaciamiento irreversible del RE mediante la activación del RIP_3 y la inhibición simultánea de la bomba SERCA con tapsigargina, aunque redujo la respuesta luminal a emetina, no la inhibió por completo. Esto fue cierto aún en ausencia de Ca^{2+} externo. Estos datos sugieren que la emetina libera Ca^{2+} de un depósito intracelular diferente al RE. Por otro lado la aplicación de emetina antes de la activación del RIP_3 , produjo una reducción en la respuesta de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$, lo cual sugiere que el canal activado por emetina está también en el RE. La alcalinización del citoplasma con NH_4Cl redujo parcialmente la respuesta a emetina. Estos datos apuntan a que el depósito que responde a emetina está formado por el sistema endolisosomal. Proponemos que la emetina activa una canal que está tanto en el RE como en el sistema endolisosomal, que libera Ca^{2+} hacia la membrana plasmática y que no parece ser el RyR. Este canal puede modular la liberación de Ca^{2+} inducida por la activación del RIP_3 .

(1) Churchill G., Okada Y., Thomas J., Genazzani A., Patel S., Galione A. 2002. NAADP Mobilizes Ca^{2+} from Reserve Granules, Lysosome-Related Organelles, in Sea Urchin Eggs. *Cell* 111: 703–708. (2) Rashid N., M.D. 2006. Medically Unexplained Myopathy Due to Ipecac Abuse. *Psychosomatics* 47:167–169



Proteínas Rho y Rac involucradas en la producción de ATP en mitocondrias de cerebro de rata

Claudia Isabel García Berumen¹, Alfredo Saavedra Molina¹, Esperanza Meléndez Herrera², Salvador Manzo Avalos¹. ¹Laboratorio de Bioquímica, Instituto de Investigaciones Químico Biológicas. ²Laboratorio de Eco-fisiología, Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán, México. ¹smanzo@umich.mx

El cerebro es el componente principal del sistema nervioso central, constituye el 92% del mismo. Sus diferentes estructuras rigen la sensibilidad, los movimientos, la inteligencia y el funcionamiento de los órganos. Por lo que su actividad metabólica es constante a lo largo del tiempo, demandando grandes cantidades de energía y oxígeno. En las neuronas se ha reportado la presencia de las proteínas Rho y Rac1, las cuales se encuentran regulando el citoesqueleto de actina, la plasticidad neuronal y la formación de neuritas. El suministro de energía neuronal está controlado por los mecanismos moleculares que regulan la dinámica mitocondrial, en la cual se sabe que también están involucradas las proteínas Rho y Rac1. Con base en lo anterior, se ha propuesto que las proteínas Rho y Rac podrían estar participando en la producción del ATP mitocondrial. Para abordar lo anterior, a las mitocondrias de cerebro, previamente incubadas con los inhibidores específicos de las proteínas Rho (exoenzima C3 de *C. botulinum*) y Rac (compuesto NSC23766), se les determinó el efecto que tienen estas proteínas sobre la síntesis de ATP y la actividad de la ATPasa mediante luminiscencia y colorimetría, respectivamente. Los resultados muestran que al aplicar el inhibidor de las proteínas Rho se observa una disminución del 17% y del 26% en los niveles de ATP con las concentraciones 0.15 y 1.5 y 7.5 µg de la exoenzima C3, respectivamente. En el caso de la proteína Rac hubo una disminución del 26%, 30% y 37% con las concentraciones 50, 100 y 200 µM del compuesto NSC23766, con respecto al control. En cuanto a la actividad de la ATPasa, se observó una disminución del 18% y 21% con las concentraciones 0.15 y 1.5 µg de la exoenzima C3, respectivamente. Para el caso de la proteína Rac se observa una disminución del 22% y 37% con las concentraciones 50 y 100 µM del compuesto NSC23766, con respecto al control. Los datos nos sugieren que las proteínas Rho y Rac están involucradas en los parámetros relacionados con la producción de energía en las mitocondrias de cerebro de rata. **Agradecimientos:** los autores agradecen el apoyo parcial de la CIC-UMSNH (2.16, ASM; 2.37, SMA). CIGB es becaria de Conacyt (258622).



Modulación de la actividad enzimática de las GTPasas ribosomales Efl1/EFTUD1 por la proteína mutada en el síndrome Shwachman-Diamond

Abril Gijssbers Alejandre ^{*1}, Luis F. Olgún Contreras ² y Nuria Sánchez Puig ¹

1. Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, 04510 México, DF, México. 2. Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Escolar, Ciudad Universitaria, 04510 México, DF, México. *abrilgijssbers@hotmail.com Tel. (55) 56224468.

Los ribosomas son la maquinaria molecular esencial que codifica el mRNA en proteínas en la célula y por lo tanto, su producción es fundamental para el desarrollo de ésta. En organismos eucariontes, los ribosomas están compuestos por una subunidad 40S y una 60S, que se asocian para generar un complejo 80S capaz de llevar a cabo la traducción proteica. El inicio de la biogénesis ribosomal en núcleo y la exportación al citoplasma involucra la síntesis coordinada de 4 moléculas ARNr, alrededor de 70 ARNs pequeños nucleolares, 80 proteínas ribosomales y más de 150 proteínas accesorias con diversas actividades. Entre estas diferentes clases de proteínas se encuentran las GTPasas y un ejemplo de ellas son la proteína de levadura Efl1 y su ortóloga en humano, la EFTUD1, quienes en colaboración con la proteína Sdo1 y SBDS, respectivamente, promueven la disociación del factor de anti-asociación, Tif6/eIF6, para permitir la formación del ribosoma madura a partir de las subunidades pre-40S y pre-60S.

La hidrólisis de GTP es una reacción fundamental en un organismo controlando numerosos procesos y las GTPasas lo realizan por medio de un cambio de conformación pasando de forma activa uniéndose a GTP, a inactiva unida a GDP. Para llevar a cabo este recambio se necesitan factores que promuevan la unión al GTP (GEFs) y aquellos que aceleren la hidrólisis (GAPs). Se han realizado una gran variedad de estudios sobre este tipo de proteínas, entre ellos se encuentra el estudio de la actividad cinética de la enzima que estudia la velocidad a la que ocurre la reacción catalizada por la proteína. Para medir esta propiedad se realiza a través de la técnica de espectrofotometría, ya sea por la desaparición del reactivo o la aparición del producto de la reacción principal, o se acopla una segunda reacción que utilice como reactivo el producto de la primera. Para evaluar la actividad de GTPasa de Efl1 y EFTUD1 se utilizó un ensayo acoplado dependiente del fosfato inorgánico (P_i) liberado durante la hidrólisis de GTP. La enzima PNP (purine nucleoside phosphorylase) utiliza como sustratos al MESG (2-amino-6-mercapto-7-metilpurin ribonucleósido) y P_i para generar ribosa-1-fosfato y AMMP (2-amino-6-mercapto-7-metilpurina) cuyo espectro de absorción UV a 360 nm es medido en forma continua a lo largo del tiempo. Las proteínas en estudio se obtuvieron de forma recombinante en *S. cerevisiae* para Efl1/EFTUD1 y en *E. coli* para Sdo1/SBDS. La caracterización cinética mostró que en presencia de Sdo1/SBDS la actividad de ambas GTPasas es mayor debido a un aumento del doble en su afinidad por GTP mientras que los correspondientes valores de k_{cat} no se ven alterados. El cambio en la afinidad de Efl1/EFTUD1 por GTP es resultado de la interacción directa entre las GTPasas y las proteínas efectoras que se demostró mediante estudios de calorimetría de titulación isotérmica.



La prolactina y las vasoinhibinas poseen efectos vasculares opuestos. Papel del glicocalix endotelial

Carmen González¹, Héctor Rosas-Hernández¹, Pedro Pablo Martínez-Cuevas¹, Jesús Ramón Castillo-Hernández², Juan Manuel Ramiro-Díaz², Sandra Aguilar², Mayda Ramírez¹ y Rafael Rubio². ¹Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Ciencias Químicas, San Luis Potosí, México. ²Facultad de Medicina, San Luis Potosí, México. Av. Manuel Nava Num. 6. Col. Universitaria. CP. 78210, San Luis Potosí; S.L.P. México. Tel. 8262440 (Ext. 6521/6542). E-mail: cgonzalez.uaslp@gmail.com

El endotelio es un órgano dinámico que regula una serie de procesos vasculares como la angiogénesis, el tono muscular liso y flujo sanguíneo. Sin embargo, el desarrollo y progresión de patologías cardiovasculares promueven la disfunción endotelial, y la consecuente vasoconstricción, misma que puede ser revertida por medio de agentes vasodilatadores como el óxido nítrico (NO) endotelial, quien estimula la angiogénesis y la relajación de los vasos sanguíneos, a través de activar a la sintetasa de óxido nítrico endotelial (eNOS). La prolactina (PRL) es una hormona que puede ser procesada por enzimas proteolíticas para generar fragmentos peptídicos amino terminales denominados vasoinhibinas (Vi), que al actuar sobre las células endoteliales bloquean la activación de eNOS inhibiendo la angiogénesis y la vasodilatación, a través de un receptor no identificado. Por otro lado, el papel de la PRL en la función vascular no ha sido del todo dilucidado. En el presente trabajo investigamos si la PRL y las Vi ejercen efectos opuestos sobre la regulación de la función vascular (vasodilatación, contractilidad cardíaca (CC) y proliferación celular), y el posible mecanismo de acción asociado a estos efectos. Demostramos que la PRL estimuló, a corto plazo (min) la vasodilatación y la CC inducida por NO en corazones aislados y perfundidos de rata y cobayo, ya que este efecto se bloqueó en presencia de L-NAME, inhibidor de NOS. De forma semejante, las Vi bloquearon la vasodilatación y la CC inducida por la PRL, a través de bloquear la fosforilación/activación de eNOS. Por otro lado, a largo plazo (horas), la PRL estimuló la proliferación de células endoteliales coronarias (CEC) inducida por NO, que también fue bloqueada por las Vi. Asimismo, encontramos que la forma corta del receptor de PRL (PRLR) se expresa de manera constitutiva en las CEC, se encuentra glicosilado y presenta afinidad a N-acetilglucosamina, uno de los principales componentes del hialuronato en el glicocalix, y más aún, evidenciamos que la inhibición promovida por Vi sobre la proliferación celular dependiente de NO inducida por PRL, fue bloqueada por la adición de hialuronidasa (Hial; enzima que hidroliza el hialuronato), potenciando la proliferación inducida por la PRL sola. Estos hallazgos sugieren que las Vi podrían estar inhibiendo la señalización del PRLR glicosilado y que el hialuronato podría representar un sitio de unión/receptor para las Vi.



Vías de señalización reguladas por la citocina TGF- β en Células estrelladas Hepáticas durante su proceso de activación.

Nelly Raquel González-Arenas, Genaro Vázquez-Victorio, Francisco G. Vázquez-Cuevas, Aleida Vázquez-Macías y Marina Macías-Silva. Departamento de Biología Celular y Desarrollo, Instituto de Fisiología Celular, UNAM. Apdo. postal 70-243, 04510 México, D.F. tel. 56221729 narenas@email.ifc.unam.mx

El factor de crecimiento transformante β (TGF- β) es una citocina pleiotrópica, ejerce sus efectos celulares a través de la fosforilación de las proteínas Smads (vía canónica) o a través de vías independientes de estas proteínas. La vía TGF- β /Smads está regulada negativamente por correpresores transcripcionales como Ski y SnoN, quienes a través de su unión a los factores de transcripción R-Smad evitan el posicionamiento de estos en los promotores de los genes que regulan.

En el hígado dañado, el TGF- β actúa sobre las células estrelladas hepáticas (HSC) promoviendo su transdiferenciación a miofibroblastos (MFB) y llevando al desarrollo de fibrosis.

Estudios recientes muestran que en las HSC la respuesta al TGF- β está mediada a través de la vía canónica, que involucra la fosforilación de las R-Smads en su extremo carboxilo, mientras que en las HSC activadas o MFB la respuesta al TGF- β está determinada tanto por la activación de la vía canónica como por la activación de las cinasas CDK4 y JNK, que llevan a la fosforilación de las R-Smads en su extremo carboxilo y en su región "linker", lo cual lleva a un cambio en la regulación de los genes blanco del TGF- β .

En este trabajo estudiamos si los niveles de expresión de la proteína SnoN controlados por las proteínas R-Smad2/3 contribuyen en la respuesta al TGF- β observada en HCS y MFB. Nosotros hemos observado que hay una regulación diferencial al TGF- β en HSC y MFB, ya que las HSC responden a la señal del TGF- β activando a los efectores R-Smads a través de su fosforilación por T β RI y regulando la expresión de genes blanco como *snoN* y *smad7*. Por el contrario, la vía canónica del TGF- β en MFB se encuentra constitutivamente activa, ya que en condiciones basales las proteínas R-Smad se encuentran fosforiladas y la inducción del gen blanco *snoN* no responde a la señal. En MFB, la proteína SnoN y su RNAm se encontraron expresados en niveles mayores a los observados en HSC, y además se observó que la vía del TGF- β no indujo cambios en dicha expresión a pesar de que se SnoN se encontró asociada a p-Smad2 (complejo que comúnmente induce la degradación). Los mecanismos moleculares están bajo estudio.

Este trabajo está apoyado por donativos de CONACYT y DGAPA/UNAM.



Papel de la proteína cinasa C en la fosforilación, degradación y activación del receptor a progesterona en astrocitomas humanos.

Aliesha González Arenas, Miguel Ángel Peña Ortiz, Valeria Hansberg Pastor, Alejandro Cabrera Wrooman, Ignacio Camacho Arroyo. Facultad de Química, Departamento de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad 3000, Ciudad Universitaria, Coyoacán 04510, México DF, México, Tel: (52)55 5622 3732, alieshagonzalez@gmail.com

La progesterona (P) desempeña un papel importante en la regulación de diversas funciones incluido el crecimiento de astrocitomas, los cuales son los tumores cerebrales más frecuentes y agresivos en el ser humano. La P lleva a cabo muchos de sus efectos mediante su receptor intracelular (RP), un factor de transcripción activado por ligando que tiene 2 isoformas: RP-B y RP-A. Una vez activado el RP por la P, este es fosforilado por diversas cinasas que modifican su actividad transcripcional e inducen su degradación. Estudios *in silico* realizados con el programa KinasePhos permitieron identificar dos residuos (Ser400 y Thr430) que podrían ser fosforilados por la Proteína cinasa C (PKC). Tanto en astrocitomas como en otros tipos de cáncer, se ha encontrado que estas cinasas participan en procesos de malignidad como invasión y migración. De acuerdo a trabajos previos de nuestro laboratorio, la activación del RP por su ligando incrementa el número de células de la línea U373 derivada de astrocitomas humanos *grado* III. Es por ello que se utilizó la línea U373 como modelo para estudiar el papel de las PKCs (α , δ y ϵ) en la fosforilación, activación y degradación de las isoformas del RP. Al estimular estas células con un activador de las PKC clásicas y nuevas (TPA), se observó que la fosforilación del RP en la Ser400 incrementó a los 5 minutos del tratamiento y esta señal indujo la degradación de ambas isoformas del RP desde las 3 hasta las 5 horas post tratamiento. La actividad transcripcional del receptor se incrementó después de la activación de PKCs. Al silenciar la expresión de las isoformas α , δ y ϵ de PKC y tratar a las células con TPA, se observó que la fosforilación del RP en la Ser 400 depende de PKC α y δ . Ambas isoformas de PKC fueron capaces de asociarse con las isoformas del RP con un afinidad y temporalidad diferente. PKC α se encontró basalmente asociada con ambas isoformas del RP, dicha asociación incrementó a los 5 minutos de tratamiento con TPA, mientras que PKC δ solo se encontró asociada basalmente con RP-B y esta asociación incrementó a los 60 minutos de tratamiento. Este trabajo fue apoyado por CONACYT, proyecto 132037.



Purificación y cristalización de la GTPasa Gpn1, una proteína esencial para la acumulación nuclear de la RNA polimerasa II.

¹Rogelio González González, ¹José Alberto Guerra Moreno, ²Gabriela M. Montero Morán, ¹Sonia Griselda Peña Gómez, ¹Jorge Jaime Juárez Lucero, ³Luis Brieba de Castro, ⁴Nuria Sánchez Puig, ²Samuel Lara González, ¹Roberto Sánchez Olea y ¹Mónica R. Calera. ⁴Instituto de Química, ³Langebio; ²IPICYT; ¹Instituto de Física, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Av. Manuel Nava 6, Zona Universitaria, C.P. 78290, San Luis Potosí, SLP. Tel: (444) 826-2300 ext 5717. Email: mcalera@ifisica.uaslp.mx.

Gpn1 es una GTPasa conservada en todos los organismos eucariontes y esencial para la vida, lo cual se explica al menos en parte debido a que Gpn1 es una proteína necesaria para el proceso de acumulación nuclear de la RNA polimerasa II (RNAPII). La RNAPII posee 12 subunidades de manera estable y se asocia con otras proteínas para generar los RNAs mensajeros que posteriormente van a dirigir la síntesis de todas las proteínas en las células eucariontes. Aunque no se conocen los detalles del mecanismo molecular controlado por Gpn1, esta GTPasa es transportada entre el núcleo y el citoplasma de la célula. En nuestro grupo de trabajo describimos recientemente una señal de exportación nuclear en Gpn1 (Reyes-Pardo et al., 2012, BBA 1823:1756). Esta señal es necesaria para la movilización de Gpn1 del núcleo al citoplasma de la célula y es suficiente para mediar la exportación nuclear de la proteína fluorescente EYFP. El modelaje molecular realizado con base a la estructura cristalográfica de la única proteína Gpn en la especie arquea *Pyrococcusabyssi* reveló que dicha secuencia de exportación nuclear se localiza en un dominio ácido de Gpn1 que es exclusivo de la versión eucarionte de la proteína. El modelaje molecular también permitió establecer la razón por la que solo una de las seis posibles secuencias de exportación nuclear es funcional, ya que esta última corresponde con la que se predice tiene una mayor exposición al solvente y por lo tanto, muy posiblemente a Crm1, el factor de exportación nuclear que directamente reconoce las señales de exportación nuclear. El objetivo del presente trabajo fue establecer las condiciones de purificación de Gpn1 para posteriormente generar cristales de la proteína y determinar su estructura tridimensional por difracción de rayos x. Generamos construcciones moleculares capaces de expresar Gpn1 en bacterias como proteína recombinante unida a una secuencia de seis histidinas tanto para la Gpn1 completa como para una versión truncada de Gpn1 que carece del dominio ácido en el extremo carboxilo terminal. Establecimos las condiciones de solubilización y purificación de ambas formas de Gpn1, las cuales al final se obtuvieron con una alta pureza y concentración de proteína. Asimismo, el estudio por dispersión dinámica de luz (DLS) permitió establecer que Gpn1 se encuentra como una especie homodimérica monodispersa. Finalmente, determinamos las condiciones apropiadas para la obtención de los cristales de ambas formas de Gpn1, lo cual nos permitirá determinar su estructura por difracción de rayos x. La estructura permitirá analizar las consecuencias de mutaciones en Gpn1 en diversos tumores.



Cuantificación de los receptores a cannabinoides CB1 en un modelo de Hemiparkinson experimental

Brenda González-Hernández^{1*}, Melissa Ivonne Leija Salazar¹, Azucena del Carmen González-Horta¹, Mario Abelardo Bermúdez de León²

¹ Universidad Autónoma de Nuevo León, UANL Facultad de Ciencias Biológicas Laboratorio de Ciencias Genómicas. México

² Centro de Investigación Biomédica del Norestes, IMSS Laboratorio de Biología Molecular. México

* Av. Universidad S/N Ciudad Universitaria San Nicolás de los Garza Nuevo León, CP 66451 México. Tel 83294110 ext 3657, e-mail:gonzalebrenda@yahoo.com

Introducción: Los receptores a cannabinoides CB1, se encuentran densamente expresados en núcleos subcorticales implicados en el control motor voluntario, como es el estriado y el globo pálido, este hecho ha propuesto que estos receptores pueden modular salida motora en condiciones normales así como en condiciones patológicas como es la Enfermedad de Parkinson. Estudios han mostrado que la administración de agonistas para los receptores a cannabinoides CB1, inducen hipoactividad la cual puede ser revertida por al administración de su antagonista en ratas normales, interesantemente en la Enfermedad Parkinson los efectos de los cannabinoides pueden ser más benéficos ya que se ha propuesto el uso de los agonistas y antagonistas para tratar la enfermedad dependiendo de la etapa y el síntoma, pero hasta el momento hay poca literatura que muestre cambios en la expresión de los receptores CB1 tanto en condiciones normales como en la enfermedad de Parkinson, lo cual puede ser de gran ayuda para tener una mejor selección del fármaco a usar en la enfermedad. Por lo que el propósito de este trabajo, es cuantificar por medio de PCR en tiempo real la expresión del receptor a cannabinoides CB1 en ambas condiciones. **Método:** Se utilizaron ratas macho, de la cepa Sprague-Dawley (180-200g), las cuales fueron sometidas a cirugía estereotaxica para crear un hemiparkinson (solo se lesiono el hemisferio izquierdo), mediante la inyección en el haz medio del cerebro anterior de la toxina 6-OHDA, la cual degenera de manera selectiva las neuronas dopaminérgicas (implicadas en esta enfermedad). Cinco días poscirugía, se sometieron a una prueba de giro para evaluar el grado de lesión, ratas con más de 6 giros por minuto se consideraron con Parkinson. Después de 2 días, las ratas se sacrificaron y se obtuvo por cortes en vibratomo el estriado y el globo pálido, donde se realizaron las cuantificaciones por PCR en tiempo real. **Resultados:** La inyección de 6-OHDA (16µg/2µL) degenera a las neuronas dopaminérgicas en un 80%, teniendo como promedio de giros contralaterales 6 a 9 giros por minuto, en ratas normales o con falsa lesión no se observa giro. En ratas normales se encontró la expresión de los receptores a cannabinoides CB1, mayor en el estriado que el globo pálido. En ratas con Parkinson se observo una disminución en el estriado, pero siendo más significativa en el globo pálido.

Conclusión: Estos resultados sugieren que los receptores CB1, cambian en la enfermedad de Parkinson lo cual puede ayudar para su tratamiento.

Palabras claves: conducta motora, parkinson, receptores cannabinoides CB1, PCR tiempo real



Caracterización de la expresión de B7-H3 durante la formación de lesiones pre-neoplásicas en hepatocarcinogénesis química en rata.

Christian González-Reyes^{1,2}, Nancy Cervantes Anaya¹, Verónica Rocío Vázquez-Garzón¹, Saúl Villa-Treviño¹.

¹Departamento de Biología Celular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, México D.F., México. ²Universidad Autónoma de Nayarit, Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas y Farmacéuticas. Tepic, Nayarit.

Dr. Saúl Villa-Treviño, Av. IPN No. 2508, 07360, México D.F., México. Tel: (55) 57473993. Fax: (55) 57473393. svilla@cell.cinvestav.mx

Durante la carcinogénesis se llevan a cabo una serie de procesos bioquímicos, celulares y tisulares que resultan en la formación de tumores malignos. La hepatocarcinogénesis química en la rata es un modelo útil que permite el estudio de los cambios durante la progresión del cáncer. Los cambios que se reflejan precozmente en la sobreexpresión de ciertos genes y sus respectivas proteínas pueden ser marcadores tempranos de esta neoplasia. B7-H3 es una proteína transmembranal tipo I, designada como CD276. Recientemente, la expresión de B7-H3 se ha encontrado en varios tipos de cáncer, incluyendo carcinoma renal de células claras, cáncer de próstata, pancreático, gástrico, ovárico, colorrectal y carcinoma de células uroteliales. En este estudio analizamos el patrón de expresión de B7-H3 en tejido hepático de ratas tratadas con el modelo modificado del hepatocito resistente durante la formación de lesiones pre-neoplásicas. Encontramos que existe una correlación a nivel transcripcional y traduccional de B7-H3, a nivel de RNAm y proteína, observando aumento en los niveles conforme avanza el proceso de formación pre-neoplásica. También evidenciamos que existe una mayor expresión de B7-H3 en regiones nodulares que en hepatocitos del tejido que la rodea; la localización de B7-H3 es en membrana así como en citoplasma y existe mayor cantidad de células T citotóxicas CD8⁺ en estas regiones, lo que sugiere que exista una relación funcional entre éstas moléculas.



Purificación y cristalización de la GTPasa Gpn3, una proteína esencial para la acumulación nuclear de la RNA polimerasa II.

¹José Alberto Guerra Moreno, ¹Rogelio González González,²Gabriela M. Montero Morán, ¹Jorge Jaime Juárez Lucero, ³Luis Brieba de Castro,⁴Nuria Sánchez Puig,²Samuel Lara González, ¹Mónica R. Calera y ¹Roberto Sánchez Olea.⁴Instituto de Química, UNAM,³Langebio, ²IPICT, ¹Instituto de Física, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Av. Manuel Nava 6, Zona Universitaria, C.P. 78290, San Luis Potosí, SLP. Tel: (444) 826-2300 ext 5717. Email: rsanchez@ifisica.uaslp.mx.

Gpn3 fue identificada inicialmente por su habilidad para unir a la proteína proapoptótica Apaf-1 (Sánchez-Olea et al., 2008, JBC 283:24400) y denominada *Parcs* (*proapoptotic protein required for cell survival*), debido a que Gpn3 es requerida para una actividad óptima de Apaf-1 y es, además, necesaria para la sobrevivencia celular. Gpn3 se identificó posteriormente como una proteína asociada a la RNA polimerasa II (RNAPII) (Jerónimo et al., 2007, Mol Cell 27:262). Nuestro grupo de trabajo fue el primero en demostrar que Gpn3 es necesaria para la localización nuclear de la RNAPII (Calera et al., 2011, BBA 1813:1708). Esta enzima se sintetiza en el citoplasma pero funciona en el núcleo celular, donde sintetiza, entre otros, los RNAs mensajeros que posteriormente dirigen la síntesis de todas las proteínas en las células eucariontes. Gpn3 pertenece a un grupo de GTPasas llamadas GPN, debido a la presencia invariable del tripéptido glicina-prolina-asparagina que se encuentra presente en todos sus miembros. Gpn3 se encuentra conservada en todos los organismos eucariontes y es una proteína esencial. El objetivo general de este trabajo fue purificar a Gpn3 como una proteína recombinante producida en bacterias y encontrar las condiciones apropiadas para generar un cristal que nos permita en un futuro cercano determinar la estructura tridimensional de esta GTPasa por cristalografía de rayos x. Establecimos los métodos de solubilización y purificación de la proteína Gpn3 unida a seis histidinas, la cual se obtuvo finalmente con un alto grado de pureza y a concentraciones lo suficientemente elevadas como para realizar ensayos de cristalogénesis. La proteína purificada es monodispersa en ensayos de dispersión dinámica de luz (DLS), una condición que favorece grandemente la formación de cristales proteicos. En este ensayo His-Gpn3 tiene un tamaño consistente con la formación de homodímeros en solución. Con el fin de identificar las condiciones de cristalización de His-Gpn3, se ensayaron numerosas soluciones de composición iónica y valores de pH variables en un ensayo de cristalogénesis de gota sentada. Hemos obtenido con éxito y de manera reproducible cristales de His-Gpn3 utilizando un número reducido de soluciones iónicas. En trabajo futuro analizaremos si estos cristales proteicos son capaces de difractar los rayos x con el fin de determinar la estructura tridimensional de esta proteína. Los resultados obtenidos serán importantes para evaluar las consecuencias estructurales y funcionales de las mutaciones en Gpn3 descritas recientemente en diversos tipos de tumores humanos.



Determinación de la Importancia Funcional de la Señal de Exportación Nuclear (NES) de *GPN1*, en *Sacharomyces cerevisiae*

Gehenna Lobo Guerrero Serrano^a, Alejandro de las Peñas Nava^b, Lina Raquel Riego Ruíz^b Mónica R. Calera^a y Roberto Sánchez Olea^a. ^bInstituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, Camino a la Presa San José 2055, CP 78216, San Luis Potosí, S.L.P. ^aInstituto de Física, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Manuel Nava 6, Zona Universitaria, C.P. 78290, San Luis Potosí, México. Email: rsanchez@ifisica.uaslp.mx

Las proteínas Gpn pertenecen a una nueva familia de GTPasas que incluye a tres miembros (Gpn1-3) (Leipe *et al.* 2002) Estas proteínas se encuentran altamente conservadas durante la evolución y las son esenciales para la vida en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Aunque se desconoce su función a nivel molecular, se ha demostrado que las proteínas Gpn se requieren para la actividad óptima de la RNA polimerasa II tanto en levaduras (Jeronimo *et al.* 2007) como en humanos (Calera *et al.* 2011).

La proteína Gpn1 se asocia físicamente con la RNA polimerasa II y es esencial para que ésta se acumule en el núcleo. Gpn1 sufre un ciclo de transporte núcleo-citoplasmático (Lembo *et al.* 2003). En nuestro laboratorio hemos identificado la señal de exportación nuclear (NES) que media el transporte de Gpn1 del núcleo al citoplasma (Reyes-Pardo *et al.* 2003). Esta NES contiene todas las características descritas para una NES muy efectiva, incluyendo el espaciamiento entre los aminoácidos hidrofóbicos, y la presencia de un quinto aminoácido hidrofóbico descrito recientemente en estudios estructurales. El alto grado de conservación de la NES en Gpn1 en diversas especies sugiere que esta secuencia es importante para la función de la proteína.

En nuestro laboratorio se realizó un modelaje estructural para la proteína GPN1 humana de acuerdo a la información disponible para su ortólogo en *Pyrococcus abyssi*, PAB0955. *GPN1* eucariota tiene un dominio amino terminal de GTPasa y una extensión carboxilo terminal la cual está ausente en Arqueas. Estos dos dominios se organizan independientemente unidos por una larga alfa hélice, de acuerdo a este modelaje la NES funcional se encuentra al final de esta alfa hélice y principio del carboxilo terminal (Reyes-Pardo *et al.* 2003).

En el presente trabajo tenemos como objetivo determinar la relevancia funcional del extremo carboxilo y de la NES de GPN1 en *Sacharomyces cerevisiae*. Evaluaremos si la porción amino terminal es suficiente para complementar la ausencia de *GPN1*. Así mismo en el presente trabajo determinamos el efecto de la ausencia de la NES de *GPN1*.



“Determinación del papel de la proteína AMSH en la regulación de la activación de Rac y la migración celular polarizada”

Tania Yareli Gutiérrez-López, Margarita Valadez-Sánchez, José Vázquez-Prado y Guadalupe Reyes-Cruz

Departamento de Biología Celular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Av. Instituto Politécnico Nacional 2508, Col. San Pedro Zacatenco, Delegación Gustavo A. Madero, México D.F. Código Postal 07360. guadaluper@cell.cinvestav.mx

La migración celular polarizada es un proceso altamente integrado y regulado que participa en eventos fisiológicos así como en el desarrollo de varias patologías. Las células que migran polarizadamente muestran un polo de avance y un polo de retracción bien definidos. En el polo de avance se forman estructuras conocidas como lamelipodios, que son extensiones anchas y aplanadas de la célula, formadas por una red enmarañada de filamentos de actina. La formación de estas estructuras está regulada principalmente por Rac, una GTPasa de la familia de Rho. Esta proteína puede encontrarse en un estado activo, unida a GTP, en el cual promueve la formación de lamelipodios; o puede encontrarse en un estado inactivo, unida a GDP. El ciclo de activación-inactivación de esta GTPasa es regulado por moléculas conocidas como GEFs y GAPs. Los GEFs promueven el intercambio de GDP por GTP, mientras que los GAPs incrementan la actividad intrínseca de GTPasa de la proteína, haciendo que hidrolice el GTP a GDP. Diversos estímulos promueven la actividad de los GEFs o los GAPs y regulan la activación o inactivación de Rac y la migración celular polarizada. IL-8 es un agente quimiotáctico, que al unirse a su receptor el CXCR2, promueve la activación de Rac y la migración de diversos tipos celulares. En nuestro laboratorio se encontró que la proteína AMSH interacciona con el carboxilo terminal del CXCR2 y dado que a través de este receptor se promueve la activación de Rac y la migración celular, decidimos determinar el efecto de la interacción AMSH-CXCR2 sobre estos eventos celulares. Nuestros resultados señalan que la sobre-expresión de AMSH disminuye la activación de Rac, dada por el estímulo con IL-8. Dicha disminución alcanza niveles de Rac-GTP por debajo de los observados en condiciones basales. La sobre-expresión de AMSH también regula negativamente la formación de lamelipodios y la quimiotaxis en respuesta IL-8. La región RXXK-JAMM de AMSH es necesaria para que se genere la disminución de los niveles de Rac-GTP. Una mutante en la que se ha cambiado el motivo RXXK de AMSH es incapaz de regular negativamente los niveles de Rac-GTP. En conclusión, se encontró que la proteína AMSH regula negativamente la activación de la GTPasa Rac y la formación de lamelipodios, que son eventos necesarios para la migración celular polarizada.



Mecanismos moleculares involucrados en la regulación de las acciones de insulina por la angiotensina II en células adiposas

Citlaly Gutiérrez Rodelo, Araceli Arellano Plancarte, Judith Hernández Aranda, J. Alberto Olivares Reyes*

Departamento de Bioquímica, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, A.P. 14-740, C.P. 07360, México, D.F.* jolivare@cinvestav.mx, Tel: 55-5747-3951

A nivel celular, el término de resistencia a la insulina se define como una inadecuada señalización de esta hormona, desde el receptor de insulina hasta los sustratos proteicos finales que intervienen en múltiples aspectos metabólicos y mitogénicos de la función celular. Entre las alteraciones más comunes en la vía de señalización de insulina se encuentran la disminución en el número de receptores y de su actividad de cinasa; un aumento en el estado de fosforilación en residuos de Ser/Thr de proteínas clave como el receptor y su sustrato; la disminución de la actividad de las cinasas PI3K y Akt, y defectos en la expresión y función del transportador GLUT4. Por otra parte, existen estudios en donde se sugiere un mecanismo de regulación a nivel de la activación del receptor de insulina (IR) que pudiera estar relacionado con la resistencia a insulina, el cual está determinado por la acción de proteínas fosfatasa de residuos de tirosina (PTP's) que defosforilan al receptor y lo inactivan. La PTP1B es una de las fosfatasas reguladoras más importantes de la señalización del IR. En este contexto, se ha observado que la defosforilación del IR por esta fosfatasa induce una disminución en la incorporación de glucosa en tejido muscular y adiposo y alteraciones a nivel metabólico. Distintos agentes y condiciones metabólicas han sido implicados como inductores de la resistencia a la insulina, entre los que se encuentran los ácidos grasos libres y sus metabolitos; el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) y otras citocinas; hormonas catabólicas como la epinefrina, el glucagón y la angiotensina II (Ang II), y hormonas secretadas por el tejido adiposo como la resistina. La Ang II es una hormona multifuncional que tiene un papel muy importante en regular la presión sanguínea y la homeostasis cardiovascular; es generada a partir de angiotensinogeno por el sistema renina angiotensina (RAS). Estudios de pacientes con obesidad e hipertensión, demuestran un aumento de Ang II en tejido adiposo, lo que sugiere que esta hormona está implicada en la patogénesis de obesidad y resistencia a insulina. Por otra parte, diversos estudios clínicos han demostrado que el riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es mayor en personas hipertensas y que con el tratamiento de inhibidores de la enzima convertidora de Angiotensina (ECA) y antagonistas del receptor AT₁ para la Ang II se disminuye el riesgo de desarrollar DM2 en personas hipertensas. A nivel molecular el efecto de la Ang II sobre las acciones de la insulina es controversial. Se ha reportado que en adipocitos humanos obtenidos quirúrgicamente de tejido adiposo, el tratamiento con Ang II no tuvo ningún efecto sobre la actividad de cinasa del IR. Sin embargo, estudios recientes han demostrado que el tratamiento con Ang II aumenta la fosforilación del IR en residuos de tirosinas estimulados con insulina en adipocitos de rata, así como la activación de Akt y la translocación de GLUT4 a la membrana plasmática, proporcionando evidencia que la Ang II puede potenciar el efecto de la insulina en la captura de glucosa a través del receptor AT₁. En el presente trabajo demostramos, que al contrario de las evidencias anteriores, la Ang II inhibe la vía de señalización de la insulina a través de disminuir la fosforilación en tirosina del IR y del sustrato del receptor de insulina (IRS-1), la activación de Akt y la incorporación de glucosa en adipocitos 3T3-L1, a través de un mecanismo que depende parcialmente de la PKC. Además, en el presente trabajo también se evalúa si PKC y otras cinasas de serina participan en la fosforilación en serinas del IR y del IRS así como el papel de esta fosforilación en la defosforilación del receptor de insulina y posiblemente de su sustrato por acción de la fosfatasa PTP-1B. Nuestros resultados muestran que la insulina induce la fosforilación en serinas tanto del IR como del IRS en función del tiempo de estímulo. Sin embargo, Ang II induce la fosforilación solo del IR y no de IRS, sugiriendo que la desensibilización inducida por Ang II se inicia desde la regulación del propio receptor de insulina y no a nivel de IRS. Bajo nuestras condiciones experimentales también hemos podido detectar la presencia de la fosfatasa PTP1B y actualmente nos encontramos determinando el papel de esta en la defosforilación de IR y el papel de la fosforilación en serina en las acciones de la fosfatasa.



Efecto de la adrenalina como mediador del estrés sobre la respuesta inmune innata mediada por células cebadas.

Guzmán-Mejía F., López-Rubalcava, C., y González-Espinosa, C.

Departamento de Farmacobiología, Cinvestav, Sede Sur. Calzada de los Tenorios # 235, Colonia Granjas Coapa, México, D. F., CP 14330. fabiolagm03@gmail.com

ANTECEDENTES. Las células cebadas (CC) contribuyen de manera importante a las respuestas locales de inmunidad innata, se sabe que las CC residentes en la cavidad peritoneal son capaces de responder al lipopolisacárido bacteriano (LPS), y secretar cantidades considerables del factor de necrosis tumoral (TNF) durante las 2 primeras horas posteriores al estímulo. La adrenalina es uno de los neurotransmisores secretados durante la respuesta al estrés, y aunque su principal función es mantener en alerta al organismo, diversos estudios han demostrado que es un modulador de la respuesta inmune. Algunos estudios llevados a cabo en el laboratorio indican que el sistema nervioso simpático mantiene un tono inhibitorio sobre esta respuesta innata mediada por CC. En ratones SW adrenalectomizados o tratados con un agente que depleta las pozas de catecolaminas (DSP-4) la administración ip de LPS incrementa hasta 3 veces la secreción de TNF en la cavidad peritoneal (1000 pg/lavado peritoneal) en comparación con los ratones control, en donde el LPS induce la secreción de aproximadamente 300 pg/lavado peritoneal de TNF.

OBJETIVO. Caracterizar el efecto de la adrenalina y un agonista α 2-adrenérgico sobre la respuesta inmune innata de secreción de TNF inducida por LPS en las CC en un modelo murino de endotoxemia y en CC derivadas de médula ósea (BMMCs).

MATERIALES Y MÉTODOS. Para evaluar el efecto del agonista α 2-adrenérgico (clonidina) sobre este proceso de secreción, los ratones fueron administrados con clonidina 5mg/Kg i.p o LPS (1mg/Kg) y una hora después de sacrificaron para evaluar el TNF secretado en la cavidad peritoneal. Para los estudios *in vitro*, se utilizaron BMMCs pre-tratadas con adrenalina o clonidina (10^{-9} - 10^{-5} M) y estimuladas con LPS (500 ng/ml), se cuantificó la producción de TNF por ELISA y se evaluó la fosforilación de algunas proteínas involucradas en el proceso de secreción en la vía de señalización del TLR-4 (ERK, P-38 e IKK) por western blot.

RESULTADOS. 1) En los ratones C57BL/6 la clonidina inhiben la secreción de TNF estimulada por LPS en las CC de la cavidad peritoneal. 2) En BMMCs la adrenalina no modifica la secreción de TNF inducida por LPS, pero la clonidina, a una concentración de 1nM, inhibe dicha secreción. Este efecto que fue revertido por el antagonista α 2-adrenérgico RX-89001. 3) El mecanismo molecular mediante el que la clonidina inhibe el proceso de secreción en las BMMCs involucra una disminución en la fosforilación de ERK, mientras que la fosforilación de IKK y P-38 no sufre modificaciones.

CONCLUSIÓN. La activación de los receptores α 2-adrenérgicos durante la respuesta al estrés contribuye en el efecto inhibitorio sobre la secreción de TNF estimulada por LPS en las CC mediante mecanismos que involucra la inhibición de ERK. Proyecto apoyado por el donativo de Conacyt No. 83079.



Mecanismo Molecular de Secreción de Factores Angiogénicos y Quimiotácticos Mediado por el Receptor Sensor de Calcio Extracelular en Células de Cáncer de Mama MDA MB-231.

Marco Antonio Hernández-Bedolla¹, Jorge Carretero-Ortega², Margarita Valadez-Sánchez¹, José Vázquez-Prado² y Guadalupe Reyes-Cruz^{1*}.

Departamentos de ¹Biología Celular y ²Farmacología del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Apartado postal 14-740, México, D.F., MEXICO. 07360. Teléfono: 57473989.
guadaluper@cell.cinvestav.mx

El receptor sensor de calcio extracelular (CaR) tiene como principal función mantener la homeostasis de calcio a través de la regulación de la secreción de diferentes péptidos desde la glándula paratiroidea. Además, el CaR participa en eventos tales como, proliferación, migración y diferenciación celular, entre otras funciones biológicas. También, es un mediador clave en cáncer de próstata y mama. Sin embargo, su participación en la progresión y metástasis del cáncer no está completamente explorado. Considerando el papel del CaR como un modulador de la secreción, exploramos si el CaR promueve la secreción de factores quimiotácticos y angiogénicos en células de cáncer de mama MDA MB-231. Encontramos que medios condicionados provenientes de estas células cancerosas estimuladas con R-568, un modulador alostérico positivo para el CaR o la mutante activante del CaR $\Delta 895-1075$, induce una respuesta quimiotáctica y una respuesta angiogénica en células endoteliales de aorta de porcino. Por otra parte, la inhibición del CaR, ya sea con anticuerpos monoclonales o con NPS 2143 (un modulador alostérico negativo) o con el sh RNA del CaR, disminuye la secreción de estos factores. El uso selectivo de inhibidores de vías de señalización nos permitió encontrar que la vía PI3K-AKT-mTOR y la transactivación con la vía de señalización de EGFR pueden estar involucradas en la secreción de estos factores. Asimismo, hemos determinado la identidad de los factores secretados con el uso de arreglos de Anticuerpos de Citocinas Humanas. Nuestros datos indican que el CaR promueve una respuesta angiogénica por la estimulación de la secreción de factores quimiotácticos y angiogénicos.

Este trabajo es apoyado por los proyectos: CONACyT (79249) y el proyecto del ICyT-DF (342). MAHB es estudiante de posgrado apoyado con beca de CONACyT. Este trabajo es realizado en el Laboratorio 19 del Departamento de Biología Celular en el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN.



La regulación negativa de las oncoproteínas Ski/SnoN por los antibióticos anisomicina y puromicina modula positivamente la señalización del TGF-beta.

Jacqueline Hernández-Damián¹, Angeles C. Tecalco-Cruz¹, Diana G. Ríos-López¹, Genaro Vázquez-Victorio¹, Aleida Vázquez-Macías¹, Cassandre Caligaris¹, Marcela Sosa-Garrocho¹, Blas Flores-Pérez², Margarita Romero-Avila² and Marina Macías Silva¹

¹Departamento de Biología Celular y Desarrollo, Instituto de Fisiología Celular.
²Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F., 04510 México. email: mmacias@ifc.unam.mx

Las proteínas supresoras de tumores Ski y SnoN actúan como moduladores negativos de la vía del TGF-beta/Smads y son reguladas por el Sistema Ubiquitina-Proteosoma. El TGF-beta es uno de los principales estímulos que regulan los niveles de Ski y SnoN, induciendo una degradación de la proteína vía el proteosoma, con la participación de proteínas como R-Smads fosforiladas y ligasas de ubiquitina (Smurf2, APC y Arkadia). Anisomicina y puromicina son inhibidores de la síntesis de proteínas y un moduladores de distintas vías de señalización en células de mamífero. Se ha demostrado que estos antibióticos actúan como inductores de la degradación de Ski y SnoN vía el proteosoma. Esta modulación negativa de Ski/SnoN es capaz de modular la señalización del TGF-beta en distintas líneas celulares, mediante la activación transcripcional de distintos genes blancos de esta citocina. Resultados con distintos inhibidores farmacológicos del receptor ALK5, así como la disminución de los niveles de proteína de ALK5 y Smad2 por shRNA, sugieren que la señalización por la vía ALK5/Smads es esencial para la degradación de las proteínas Ski y SnoN inducida por anisomicina y puromicina.

Este trabajo fue apoyado por donativos de DGAPA/UNAM y CONACyT.



La morfina previene la secreción de TNF inducida por LPS en células cebadas bloqueando la activación de IKK y la fosforilación de SNAP-23. Correlación de la formación del complejo β -Arrestina/TRAF-6

Alfredo Ibarra-Sánchez, Iris K. Madera-Salcedo, Silvia L. Cruz,
Claudia González-Espinosa* [*cgonzal@cinvestav.mx](mailto:cgonzal@cinvestav.mx)
Departamento de Farmacobiología, Cinvestav, Calzada de los Tenorios 235, Col.
Granjas Coapa, Mexico, D.F., 14330, Mexico.

Como se ha demostrado anteriormente que el pre-tratamiento con morfina inhibe la producción de TNF por células cebadas después de la inyección de LPS en la cavidad peritoneal de ratón, en el presente trabajo hemos utilizado células cebadas derivadas de médula ósea (BMMCs) para investigar los mecanismos moleculares de tal inhibición. Se encontró que la morfina impide la secreción de TNF inducida por LPS en estas células. La inhibición observada no es debida a la internalización del receptor TLR-4 inducida por morfina y que está relacionado con la obstrucción de la secreción de TNF preformado. La secreción de TNF inducida por LPS en BMMCs es dependiente de VAMPs insensibles a la toxina tetánica y de la movilización de calcio, así como de la activación de PI3K, MAPK e IKK. La secreción de TNF también se asocia a la fosforilación de SNAP-23, que se encuentra formando un complejo con IKK en BMMCs activados por LPS. El pre-tratamiento con morfina impide la fosforilación de ERK e IKK dependientes de la estimulación del receptor TLR-4. En el análisis de la señalización de eventos de activación de IKK, encontramos disminuida la fosforilación de TAK1 y la ubiquitinación de TRAF-6 en BMMCs pre-tratadas con morfina y estimuladas con LPS. El pre-tratamiento con morfina provoca un marcado incremento en la formación de un complejo molecular compuesto por TRAF-6 y β -arrestina 2. La naloxona y una combinación de antagonistas de los receptores μ y δ previenen las acciones inhibitoras de la morfina. En conclusión, nuestros resultados muestran que la activación de los receptores opioides μ y δ con morfina suprime la liberación de TNF inducido en las células cebadas y la prevención de la fosforilación dependiente de IKK-SNAP-23, que es necesaria para la secreción de TNF, y esta inhibición se correlaciona con la formación de un complejo de β -arrestina 2/TRAF-6. Estos resultados constituyen la primera evidencia de un entrecruzamiento molecular entre los receptores opioides y TLR-4 del sistema de transducción de señales en las células cebadas.



Doxorrubicina induce una señalización atípica de NF- κ B a través de la fosforilación de I κ B α y la actividad de c-Abl.

María de Jesús Ibarra-Sánchez, Heriberto Medina-Franco, Elizabeth Escobar-Arriaga, Eucario León-Rodríguez, Alejandro Zentella-Dehesa, José Esparza-López
Unidad de Bioquímica, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición
"Salvador Zubirán", Vasco de Quiroga # 15, Distrito Federal, CP 14000, México.
Tel: (55) 54870900 ext 2606, email:mibarra@correo.biomedicas.unam.mx

El factor de transcripción NF- κ B ha sido asociado con el desarrollo del cáncer y la quimioresistencia. Por esta razón, en los últimos años se han desarrollado diversas investigaciones encaminadas a entender los mecanismo por los cuales NF- κ B participa en estos procesos. En el presente trabajo, estudiamos la señalización de NF- κ B activada por doxorrubicina (DOX) en células de cáncer de mama. Utilizamos las líneas celulares T47D y ZR75.30 y un cultivo primario de cáncer de mama (MBCDF) establecido a partir de una biopsia obtenida de una mastectomía radical (Protocolo aprobado por el Comité de Ética del INCMNSZ, Ref 159). Primero evaluamos si NF- κ B era activado por DOX utilizando EMSA. Encontramos dos cinéticas de activación de NF- κ B que correlacionan con la sensibilidad al efecto citotóxico de la DOX. En líneas celulares más resistentes a DOX, NF- κ B se mantiene activado por un mayor tiempo, fenómeno observado en la línea celular T47D y en el cultivo primario MBCDF. En las células ZX75.30 sensibles a DOX, encontramos una activación transitoria de NF- κ B. Analizamos la activación canónica de NF- κ B a través de la fosforilación de I κ B α en los residuos Ser-32/36 y su subsecuente degradación. Los resultados mostraron que DOX no induce ni fosforilación, ni degradación de I κ B α en ninguno de los cultivos de cáncer de mama. Estos datos sugieren que NF- κ B es activado por DOX a través de una vía de señalización atípica. Por esta razón, decidimos investigamos si I κ B α se fosforilaba en residuos de tirosina, ya que este tipo de fosforilación ha sido asociado a una señalización atípica de NF- κ B. Los resultados mostraron que I κ B α esta fosforilado en residuos de tirosina en niveles basales. El tratamiento con DOX no tuvo efecto sobre la fosforilación de I κ B α en células resistentes (T47D y MCBDF). Interesantemente, en las células sensibles, ZR75.30, induce reducción de los niveles de fosforilación en residuos de tirosina, Una de las cinasas que se conocen que fosforilan a I κ B α es c-Abl, para corroborar si esta cinasa participa en la activación atípica de NF- κ B utilizamos el inhibición farmacológica con Imatinib o sobreexpresando la forma dominante negativa de c-Abl (K290R). Ambas formas de inhibición de c-Abl induce disminución de la fosforilación de I κ B α en residuos de tirosina y la activación de NF- κ B. Estos resultados sugieren que DOX induce una vía de activación atípica en células de cáncer de mama a través de la fosforilación de I κ B α y la actividad de cinasa de c-Abl.

Este trabajo fue apoyado por CONACYT 102825



Análisis de la función de Gln3, Gat1 y Ure2 en la asimilación de nitrógeno en *Lachancea kluyveri*

José Ángel Jiménez Benítez y Lina Raquel Riego Ruiz.

IPICT. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica. División de Biología Molecular. Camino a la Presa San José # 2055 Col. Lomas 4ª Sección. San Luis Potosí, SLP, México. C.P. 78216. Tel. 444 8342000 ext., 2050 angel.jimenez@ipicyt.edu.mx

RESUMEN

La asimilación del nitrógeno es un proceso esencial para los seres vivos. Las levaduras son capaces de adaptar su metabolismo de acuerdo a la fuente de nitrógeno disponible. En *Saccharomyces cerevisiae* la capacidad de adaptarse a buenas o malas fuentes de nitrógeno es conocida como Represión Catabólica Nitrogenada (NCR). Una buena fuente de nitrógeno es transportada al interior de la célula y requiere menos pasos metabólicos para convertirse en glutamina o glutamato; en cambio, las malas fuentes de nitrógeno requieren de más pasos metabólicos para formar glutamina o glutamato. La NCR en *S. cerevisiae* es regulada por la proteína Ure2 y por cuatro factores de transcripción tipo GATA: Gln3, Gat1 (activadores), Dal80 y Gzf3 (represores). Los factores de transcripción tipo GATA están conservados en las levaduras. *Lachancea kluyveri* es una levadura del grupo de los hemiascomicetos, el cual incluye a *S. cerevisiae*. En este trabajo de investigación, encontramos que *L. kluyveri* tiene genes ortólogos que codifican para los factores de transcripción *GLN3*, *GAT1* y *URE2*. Para elucidar el papel de *GLN3*, *GAT1* y *URE2* de *L. kluyveri* en la asimilación de nitrógeno generamos cepas mutantes sencillas en estos genes (*gln3Δ*, *gat1Δ* y *ure2Δ*). Estas cepas fueron evaluadas en tres fuentes de nitrógeno [glutamina, (buena fuente), amonio (intermedia) y prolina (mala fuente)]. En glutamina y prolina no observamos diferencias en la velocidad de crecimiento de las cepas mutantes comparadas con la cepa parental; sin embargo, en amonio observamos una drástica disminución en la velocidad de crecimiento de las cepas *gln3Δ* y *ure2Δ*. Nuestros resultados sugieren que estas proteínas están involucradas en la asimilación de malas fuentes de nitrógeno. Para elucidar si hay un mecanismo de NCR en *L. kluyveri* vamos a cuantificar, por qRT-PCR, la transcripción de algunos de los genes implicados en el transporte y el catabolismo de las fuentes de nitrógeno ensayadas y determinar si los factores Gln3 y Gat1 tienen la misma función en *L. kluyveri* como las que presentan los ortólogos de estos factores en *S. cerevisiae*.

Palabras clave: Nitrógeno, Represión Catabólica Nitrogenada, *GLN3*, *GAT1*, *URE2*, *L. kluyveri*.



Empleo de los aminoácidos arginina o lisina para la purificación de la GTPasa hGpn2 como proteína recombinante.

Jorge Jaime Juárez Lucero, Roberto Sánchez Olea y Mónica R. Calera. Instituto de Física, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Av. Manuel Nava 6, Zona Universitaria, C.P. 78290, San Luis Potosí, SLP. Tel: (444) 826-2300 ext 5717. Email: mcalera@ifisica.uaslp.mx.

Para estudiar interacciones entre proteínas o el efecto de alguna proteína sobre una ruta metabólica es necesario que la proteína sea soluble y pura. Se han realizado experimentos para aumentar la solubilidad de las proteínas. Sin embargo la metodología mas económica y simple consiste en realizar la purificación de la proteína, posteriormente agregar al buffer arginina y ácido glutámico en concentraciones equimolares y por último concentrar la proteína hasta obtener la cantidad requerida para el experimento deseado [Golovanov 2004]. Sin embargo, el uso de arginina interfiere con la retención de la proteína recombinante en las columnas de intercambio iónico impidiendo su purificación.

Por otro lado, la lisina (K) coincide con la arginina (R) en que a pH fisiológico ambas poseen carga neta positiva. Se diferencian en que K es mas hidrofóbica y realiza menos enlaces por puentes de hidrógeno de los que puede realizar la arginina. Como el pK_2 y el pK_3 de la R es mayor que el de la K le permite generar interacciones iónicas mas estables [Sokalingam 2012]. De tal forma, se han realizado mutaciones puntuales reemplazando aminoácidos por K o R y se ha logrado entre otros resultados que la proteína fluorescente verde (GFP) sea resistente a desnaturalizantes [Sokalingam 2012]; que se incremente la captación celular de la onconasa [Sundlass 2011], que se aumente la solubilidad de la proteína 4ANK a diferentes pH [Mosavi 2003] y el incremento en la solubilidad y estabilidad de la ribonucleasa Sa [Shaw 2001].

Nuestro laboratorio está interesado en el estudio de la familia de GTPasas llamadas Gpn [Calera 2011], la cual se encuentra constituida por tres proteínas (Gpn1, Gpn2 y Gpn3) que contienen un motivo conformado por los aminoácidos glicina (G), prolina (P) y asparagina (N), son de función desconocida y su estructura no es totalmente predicha con el empleo de servidores de modelado molecular. Por ello, estamos realizando esfuerzos para lograr primero su purificación y posteriormente su análisis estructural por cristalografía de rayos X. En este trabajo se estudió el efecto que presenta emplear como agregados al buffer los aminoácidos ácido glutámico y lisina o arginina en concentraciones equimolares durante el proceso de purificación de la GTPasa hGpn2 producida en bacterias como proteína recombinante. La diferencia presente entre los dos aminoácidos positivos y sobre todo su capacidad para realizar puentes de hidrógeno provocaron que cuando se utilizó la arginina la cantidad de proteína pura que se recuperó fue mínima. En cambio, cuando se emplea la lisina se obtuvo hasta 2 mg/ml de proteína pura. Estos resultados facilitarán la purificación de hGpn2 para la realización de estudios para determinar tanto la estructura como la función de la GTPasa hGpn2.

Este trabajo se realizó con los apoyos de los proyectos CONACYT no. 49145 a JJJL, no. 106139 a MRC, no. 180825 a RSO.



Estudio de la función del receptor de hidrocarburos de arilo en células dendríticas

Brenda Berenice Jurado Manzano, Brenda Esther Ocegüera Maldonado, Nubia Baltazar Benítez, Dulce Bethzy González Velasco, Roberto Fidencio González Amaro, Esther Layseca Espinosa.

Departamento de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí; S.L.P. México.

Av. Venustiano Carranza # 2405 CP 78210, Tel. (444) 826-23-44 ext. 6686, San Luis Potosí; S.L.P., México.

E-mail: esther.layseca@uaslp.mx

Las células dendríticas (DC) son un grupo heterogéneo de células presentadoras de antígeno profesionales que sirven de enlace entre la respuesta inmune innata y la adaptativa. Su implicación en la activación de linfocitos, es decir, en la regulación de la respuesta inmune adaptativa, hace que la búsqueda de la inducción de un fenotipo tolerogénico como un posible blanco terapéutico, para ciertas patologías, haya sido propuesta. El receptor de hidrocarburos de arilo (AhR), un factor de transcripción activado por ligando perteneciente a la superfamilia de las PAS (Per-Arnt-Sim), ha sido estudiado como mediador de la toxicidad de contaminantes ambientales y recientemente ha sido implicado en la regulación del sistema inmune. En modelos murinos, el AhR ha mostrado ser capaz de inducir un fenotipo tolerogénico en las DC que involucra la alteración de la vía de señalización del NF- κ B, la regulación de genes (IDO, TGF- β) y la capacidad de inducir diferenciación de linfocitos Tnaive hacia T reguladores.

El objetivo del presente proyecto, es estudiar el efecto de la activación del AhR en DCs derivadas de monocitos de sangre periférica de sujetos sanos. Para llevar a cabo el cumplimiento de nuestro objetivo, se realizará el aislamiento de monocitos de sangre periférica de sujetos sanos los cuales se diferenciarán a DCs. Estas células serán cultivadas en presencia de diferentes ligandos del AhR bajo distintas condiciones experimentales para posteriormente evaluar su fenotipo y función. Hasta el momento, se ha evaluado el efecto de los ligandos del AhR FICZ, ITE y TCDD, a diversas concentraciones sobre las DCs, observándose una tendencia a la disminución de la expresión de las moléculas CD80, CD83, CD86 y MHC II en dichas células.

Las perspectivas de este trabajo, son la generación de nuevos conocimientos acerca de la participación del AhR en la regulación de las DC de sujetos sanos, que den la pauta para extender estos conocimientos, en su posible implicación en la patogenia de algunas enfermedades y en consecuencia de la búsqueda de nuevos blancos terapéuticos.



Efecto de IL-2 sobre la fosforilación de JAK3, STAT3 Y STAT5 y la proliferación de las líneas de carcinoma de cérvix

María del Carmen Lagunas Cruz, Arturo Valle Mendiola, Marcela Muñoz Calderón, Benny Weiss Steider, Isabel Soto Cruz

Lab. Oncología Molecular, UMIEZ, Campus I FES Zaragoza, UNAM.

lagunascruzmaryc@comunidad.unam.mx

La IL-2 promueve el crecimiento y diferenciación de linfocitos T, está implicada en múltiples procesos de activación y diferenciación de células B, producción de anticuerpos, regulación del crecimiento y actividad de células citotóxicas, modulación de la expresión del receptor de IL-2, regulación de la actividad tumoral, entre otros. La principal vía de señalización desencadenada por IL-2 se activa a través de la fosforilación de las cinasas JAK y de los factores de transcripción STAT. Las líneas celulares de carcinoma de cérvix CALO e INBL presentan el receptor funcional para IL-2, por lo que son consideradas como modelo biológico de estudio para dilucidar el efecto de esta citocina sobre la vía JAK-STAT.

Alvarado (2002) y Rangel (2011) mostraron que al tratar las líneas celulares CALO e INBL con 10UI de IL-2 la fosforilación de algunos miembros de la vía JAK-STAT aumentaron su fosforilación manteniendo la vía activa de manera permanente lo que desencadenó mayor proliferación celular. También se observó que el tratamiento con 100UI de IL-2 disminuyó la fosforilación de la vía. Con base en estos antecedentes, el presente trabajo consistió en tratar células de cáncer de cérvix con diferentes concentraciones de IL-2 para determinar su efecto sobre la fosforilación de las proteínas que participan en la vía y cómo esto afecta la proliferación de las células del cáncer de cérvix.

Las células se trataron con 100UI de IL-2 a diferentes tiempos, se determinó la presencia y fosforilación de JAK3, STAT3 y STAT5 utilizando el lisado celular sometido a inmunoprecipitación proteica, la separación de proteínas se llevó a cabo por electroforesis SDS-PAGE, y un inmunoblot utilizando anticuerpos específicos y antifosfotirosina respectivamente. JAK3 y STAT3 permanecieron fosforiladas constitutivamente en ambas líneas aun en presencia de IL-2; STAT 5 disminuyó su fosforilación a los 10 y 30 minutos en la línea CALO, y en INBL a los 5 y 30 minutos .

Mediante la tinción con cristal violeta se obtuvieron datos de densidad óptica que representa la proliferación celular obtenida a 24, 48, 72 y 96 horas posteriores a la estimulación con 10, 25, 50, 75 y 100 UI de IL-2. Se observó disminución celular sin recuperación a partir de las 10UI del IL-2 y sin observar cambios a lo largo del tiempo.

Utilizando la tinción con Anexina V y análisis por citometría de flujo se determinó que la disminución celular no era debido a un proceso de apoptosis. Finalmente, se relizaron ensayos de determinación de fases del ciclo celular por citometría de flujo en los cuales se observó que el 27% de la población celular se encuentra en la fase G1.

En conclusión, la fosforilación constitutiva o la disminución de ésta afecta la función de las proteínas JAK-STAT interviniendo en la correcta transducción y transcripción de genes involucrados en proliferación celular, esto propicia el arresto del ciclo en fase G1 evitando de esta manera la proliferación de células de carcinoma de cérvix.



Alteraciones en la acumulación nuclear de la RNA polimerasa II dependiente de la proteína Gpn3 en el cáncer de mama.

Bárbara Lara Chacón, Angélica Y. Robledo Rivera, Mónica R. Calera, Roberto Sánchez Olea. Instituto de Física, UASLP. Av. Manuel Nava 6, Zona Universitaria, C.P. 78290, San Luis Potosí, S.L.P. Tel: (444) 826-23-00 ext 5717.

Email: rsanchez@dec1.ifisica.uaslp.mx

La proteína Gpn3/Parcs pertenece a una familia de GTPasas que también incluye a Gpn1 y Gpn2; las tres proteínas se encuentran altamente conservadas desde la levadura hasta los seres humanos. Gpn3 se expresa de manera ubicua y se identificó inicialmente por su habilidad para unir la proteína Apaf-1 (Sánchez-Olea et al., 2008), una proteína involucrada en el proceso de muerte celular por apoptosis. Nuestro grupo de trabajo demostró que Gpn3 es una proteína necesaria para la acumulación nuclear de la RNA polimerasa II (RNAPII) (Calera et al., 2011). La RNAPII es responsable de la síntesis de todos los RNA mensajeros y algunos otros tipos de RNAs. En el laboratorio demostramos que mientras que en las células de mama no tumorogénicas MCF-12A la acumulación nuclear de la RNAPII procede por un mecanismo dependiente de Gpn3, en las células de mama tumorogénicas MDA-MB-231 la RNAPII se localiza en el núcleo aún en aquellas células en las que la expresión de Gpn3 se ha suprimido de manera muy eficiente por medio de la técnica de RNA de interferencia (Calera et al., 2011). El presente proyecto tiene el propósito de determinar si la importancia de Gpn3 en la acumulación nuclear de la RNAPII se altera de manera diferencial conforme al carácter tumorogénico en otras líneas celulares provenientes de tejido de mama. Para ello se generaron partículas retrovirales capaces de expresar un shRNA eficiente para suprimir potentemente la expresión de Gpn3, las cuales se utilizaron posteriormente para inhibir la expresión de esta proteína en las células tumorogénicas SK-BR3, BT20, BT474 y no tumorogénicas MCF-10A, todas ellas derivadas de glándula mamaria humana. La supresión de Gpn3 se analizó mediante ensayos de Western blot y la localización subcelular de la Rpb1, la subunidad de mayor tamaño de la RNAPII, se determinó en ensayos de inmunofluorescencia. Nuestros resultados confirmaron que en células no tumorogénicas (MCF-10A) la Rpb1 depende de Gpn3 para su acumulación en el núcleo celular. Sin embargo, en las líneas tumorogénicas la acumulación nuclear de Rpb1 ocurre por un proceso significativamente menos dependiente de Gpn3. Estos resultados apoyan la propuesta de que las células tumorogénicas presentan mecanismos de acumulación nuclear de la RNAPII distintos a los de las células normales. Este trabajo se realizó con los apoyos de los proyectos CONACYT no. 106139 a MRC y el Fondo de Salud-CONACYT no. 180825 a RSO.



El papel de la trombina en la proliferación de las células de Müller de la retina.

Irene Lee Rivera, Miriam Gabriela Carranza Pérez, Edith López Hernández, Ana María López Colomé Instituto de Fisiología Celular, UNAM, Circuito Exterior s/n, Ciudad Universitaria, México, D.F. C.P. 04510, Mexico. Tel.: +52 55 5622 5617; acolome@ifc.unam.mx

La alteración de la barrera hematorretiniana por trauma, isquemia, anoxia o desequilibrio metabólico se ha establecido como un factor determinante en el desarrollo de enfermedades oculares proliferativas, como la neovascularización subretinal, la vitreorretinopatía proliferativa (VRP) y la retinopatía diabética. Las células de Müller (CM) juegan un papel central en el mantenimiento de la barrera hematorretiniana, y en condiciones patológicas, actúan como moduladores de la respuesta inflamatoria. Dependiendo de la severidad del daño, estas células activan un programa de proliferación que, en los mamíferos, origina cicatrices fibrosas que contribuyen a la formación de membranas epirretinales que generan fuerza contráctil, con el consecuente desprendimiento de la retina. Por lo anterior, el esclarecimiento de los mecanismos que regulan la proliferación de las CM, podría ser clínicamente significativo.

La trombina es una proteasa de serina que, además de su función en el proceso de coagulación, se ha relacionado con la proliferación celular a través de la modulación de procesos iniciados por la activación proteolítica de los “receptores activados por proteasas” (PARs). Hemos demostrado que las células del epitelio pigmentado de la retina (EPR), otro componente mayoritario de las membranas epirretinales contráctiles, responde *in vitro* a la estimulación con trombina. En estas células, la activación de PAR1 induce la proliferación a través de la fosforilación de ERK1/2, la activación de la vía de la PKC, y el aumento en la expresión de la ciclina D1. El objetivo de este trabajo es analizar el efecto de la trombina sobre la proliferación y migración *in vitro* de las células de Müller. Demostramos que las CM expresan PAR1, PAR2, y PAR3 y en menor medida PAR4. Mediante ensayos de “wound-healing se demostró que la trombina induce la proliferación y/o la migración de las CM. Se demostró la especificidad del efecto utilizando inhibidores de la trombina. Mediante la reducción de MTT, se demostró que la proliferación de las CM se detecta desde las 24 horas de estimulación con trombina, y alcanza un incremento máximo de 44% sobre el nivel basal, a las 72 horas de estimulación, con una EC_{50} de 0.86 nM. En conclusión, demostramos que las células de Müller expresan receptores activados por proteasas, cuya activación podría mediar la proliferación inducida por la trombina. Este efecto podría jugar un papel importante en las patologías oculares proliferativas.

Este trabajo fue financiado por los proyectos IN201812 de PAPIIT-UNAM y 176347 de CONACyT



¿Qué tan Lejanas Están las Terminales 5'-3' en Moléculas de RNA?

¹Nehemías Leija-Martínez, ²Ruben D. Cadena-Nava, ¹Alfredo Méndez-Cabañas, ³Sergio Casas-Flores, ⁴Joan Anto, ¹Eduardo Gómez, ¹Jaime Ruiz-García.

¹Instituto de Física, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Álvaro Obregón 64, San Luis Potosí, S.L.P., México

²CNyN-UNAM, Km. 107 Carretera Tijuana-Ensenada, Ensenada, Baja California, México.

³IPICYT, Camino a la Presa San José 2055, Lomas 4 sección, San Luis Potosí S.L.P, México

⁴Dep. de Óptica y Optometría, Universitat Politècnica de Catalunya. España

Recientes resultados teóricos deducidos por principios de mínima energía y combinatoria, predicen que las terminales 5' y 3' de RNAs de longitud mayor a 500 nt son necesariamente cercanas y con posibles consecuencias biológicas en la interacción mRNA-Ribosoma, proteína-RNA, la ciclación y eficiente replicación de RNAs virales. Nosotros verificamos experimentalmente esta predicción utilizando FRET de moléculas individuales. Preparamos RNAs de distintas longitudes proveniente tanto de un hongo (*Trichoderma Atroviride*) como virales (CCMV y BMV). Pegamos el fluoróforo donador (Alexa Fluor-546) al extremo 3' y el aceptor (Alexa Fluor-647) al extremo 5'. Excitamos las moléculas en solución y observamos la fluorescencia por separado del donador y aceptor a nivel de moléculas individuales. La eficiencia de transferencia de energía del donador al aceptor es una medida (calibrada anteriormente) de la separación de los extremos. Demostramos experimentalmente, que efectivamente la separación se mantiene en un rango de separación pequeña y constante, entre 6 y 8 nm, para RNAs de 500 y hasta 5500 nucleótidos.



El 2-aminoetoxidifenil borato no siempre inhibe al receptor de IP₃ activado por diferentes agonistas.

Daniel León-Aparicio y Agustín Guerrero-Hernández

Departamento de Bioquímica, CINVESTAV-IPN, Apdo Postal 14-740, México D.F. Tel 5747 3800 ext 3950. daparicio@cinvestav.mx

La regulación de la concentración de Ca²⁺ citoplásmica ([Ca²⁺]_c) en células no excitables depende de varios canales y bombas. La [Ca²⁺]_i en estado de reposo es aproximadamente de 100 nM, mientras que la [Ca²⁺] extracelular es de 1–2 mM, y la [Ca²⁺] en el principal depósito intracelular, el retículo endoplásmico (RE), se estima que es sólo un poco menor, en el rango de 0.1-1 mM ([Ca²⁺]_{RE}). Cuando las células son estimuladas, la [Ca²⁺]_c incrementa rápidamente debido tanto a la liberación de Ca²⁺ de los depósitos intracelulares, como a una entrada de Ca²⁺ del medio extracelular. La unión de agonistas, tales como el ATP e histamina a sus receptores, P2Y y H1, respectivamente, inducen la activación de la fosfolipasa C (PLC), la cual a su vez, incrementa los niveles de inositol 1,4,5-trifosfato (IP₃), el cual difunde en el citoplasma y activa al receptor de IP₃ (RIP₃), un canal liberador de Ca²⁺ del RE. La disminución de la [Ca²⁺]_{RE} conduce a la activación de la entrada de Ca²⁺ operada por depósito (SOCE), el cual genera un aumento en la [Ca²⁺]_c que regula una amplia variedad de funciones celulares. Se ha descrito que el 2-APB (2-Aminoetoxidifenil borato) además de ser, un inhibidor del RIP₃ (1), también modula a SOCE (2-3) y por último induce la reducción de la [Ca²⁺]_{RE} por la activación de un canal desconocido (2, 4-5).

El objetivo de este trabajo es determinar si la reducción de la [Ca²⁺]_{RE} inducida por 2-APB pudiera explicar su efecto inhibitorio en los incrementos de Ca²⁺ en respuesta a diferentes agonistas (ATP e histamina) y la taspigargina (un inhibidor de la bomba SERCA). Con este fin llevamos a cabo registros simultáneos de los cambios en la [Ca²⁺]_c y del [Ca²⁺]_{RE} en células HeLa.

La aplicación de ATP ó histamina indujeron un incremento inmediato de la [Ca²⁺]_i y la consecuente reducción de la [Ca²⁺]_{RE}. La aplicación de taspigargina (TG) indujo un incremento inmediato de la [Ca²⁺]_c pero con un retraso sustancial (~ 70 seg) en la reducción de la [Ca²⁺]_{RE}. Ninguno de los agonistas vaciaron por completo el depósito intracelular, ya que la aplicación de TG, 10 min después de los agonistas, indujo un incremento de la [Ca²⁺]_c y la disminución de la [Ca²⁺]_{RE}. Sin embargo, TG sí provocó un vaciamiento completo puesto que la aplicación posterior de agonistas no resultó en ningún cambio. La pre-incubación con 2-APB (50 μM) redujo lentamente la [Ca²⁺]_{RE} sin incrementar [Ca²⁺]_c. El 2-APB inhibió SOCE como se había reportado, pero con diferente potencia en las respuestas de [Ca²⁺]_c según la secuencia de ATP>TG>histamina. Nuestros datos están de acuerdo con el efecto reportado de 2-APB en SOCE. El vaciamiento paulatino del RE por 2-APB no tiene relación con la potencia para inhibir las respuestas [Ca²⁺]_c y el 2-APB parece ser un inhibidor del RIP₃ poco confiable puesto que si inhibe la liberación inducida por ATP y no por histamina.

1. Maruyama et al. (1997) J. Biol. Chem. 122, 498-505
2. Braun et al. (2003). Mol. Pharmacol. 63, 1304-1311.
3. DeHavenet al. (2008). J. Biol. Chem. 283(28) 19265-19273
4. Park et al. (2002) Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 365, 399–405.
5. Giunti, et al. (2007). Archiv of Biochem Biophys. 462, 115.121.



Caracterización de la autofagia inducida por los ácidos ursólico y oleanólico en células A549 y THP-1

Kahiry Leyva-Paredes¹, Julieta Luna-Herrera¹, Blanca Estela García-Pérez¹.

¹Departamento de Inmunología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN

Prol. Carpio y Plan de Ayala s/n, Casco de Santo Tomas C.P. 11340 D.F., 57296000

ext. 62371, abrilestela@hotmail.com

Introducción.

La autofagia es un proceso de captura y degradación de componentes intracelulares por vesículas de doble membrana y se ha descrito como un proceso de liberación de estrés al evitar la acumulación de componentes tóxicos para la célula (ejemplo, proteínas y organelos no funcionales, ROS, etc), y por su conexión con la vía de señalización PI3K/AKT (vía involucrada en la proliferación celular) se ha vuelto un punto de interés para analizar, comprender y evaluar el uso de terapias alternativas en células cancerígenas.

Objetivo.

Evaluar la inducción de la autofagia por la estimulación con los ácidos ursólico y oleanólico (triterpenos).

Metodología.

Para evaluar si los ácidos ursólico y oleanólico inducen autofagia en las células A549 y THP-1 se prepararon monocapas de estas células y se estimularon durante 2, 6, 24 y 48 horas con 0.5, 2, 5, 10, 20 y 40 µg/ml de los ácidos ursólico y oleanólico, la autofagia se determinó evidenciando la presencia de la proteína LC3II por inmunofluorescencia y ultraestructuralmente por MET. La citotoxicidad de estos triterpenos se evaluó por exclusión del colorante azul tripano.

Resultados.

El ácido ursólico fue el que causó mayor citotoxicidad en ambos modelos celulares. En las células A549 la viabilidad celular disminuyó a menos del 80% a las 2 h de estimulación con 10 µg/ml y en las

células THP-1 este porcentaje se observó a las 24 h de estimulación. Por el contrario, la concentración del ácido oleanólico que disminuyó la viabilidad a 80% fue de 40 µg/ml, a las 2 h de estímulo en las células A549 y a las 24 h en las células THP-1. El proceso autofágico fue evidente a las 24 y 48 h de estimulación con 10 µg/ml de ácido ursólico y con 10, 20 y 40 µg/ml de ácido oleanólico. El análisis por MET reveló la presencia de vesículas de doble membrana (autofagosomas) y la inducción de alteraciones morfológicas mitocondriales en las células estimuladas por 48 horas con 10 y 20 µg/ml de ácido ursólico y con 20 y 40 µg/ml de ácido oleanólico.

Conclusiones.

La inducción de la autofagia en respuesta a la estimulación con los triterpenos sugiere que estos son reconocidos por las células e inducen una respuesta celular que probablemente compromete la morfología mitocondrial.

Referencias.

Shin S. W., Kim S. Y., Park J-W. Autophagy inhibition enhances ursolic acid-induced apoptosis in PC3 cells. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2012;451-457

Mehrpour M., Esclatine A., Beau I., Codogno P. Overview of macroautophagy regulation in mammalian cells. *Cell research*. 2010. 20:748-762.

Croteau R., Kutchan T., Lewis N. Natural products (secondary metabolites). *Biochemistry and molecular biology of plants*. Eds Buchanan B., Griseham W., Jones R. Chapter 24. 1250-1318.



La activación del complejo 1 de mTOR (mTORC1) por la trombina estimula la proliferación del Epitelio Pigmentado de la Retina.

Ana María López Colomé*, Alejandro Parrales y Edith López Instituto de Fisiología Celular, UNAM. Apartado Postal 70-253, México, D.F. C.P. 01070.

*acolome@ifc.unam.mx. 52(55) 5622-5617

Las funciones del epitelio pigmentado de la retina (EPR) son indispensables para la supervivencia de la retina neural y la función visual. El EPR es el componente mayoritario de la barrera hematorretiniana, cuya alteración tiene como consecuencia la transformación epitelio-mesénquima (TEM) de las células del EPR que se traduce en contractilidad celular, migración de las células transformadas al vítreo y proliferación acelerada que resulta en la formación de membranas celulares contráctiles sobre ambas superficies de la retina, el desprendimiento de la misma y el desarrollo de ceguera.

En condiciones patológicas que involucran la alteración de la BHR por trauma, desprendimiento de retina, desequilibrio metabólico o intervenciones quirúrgicas, las células del EPR entran en contacto directo con factores tróficos y agentes inflamatorios contenidos en el suero sanguíneo que, a través de la activación de receptores específicos, inducen la progresión del ciclo celular y la proliferación.

La trombina, una proteasa inflamatoria contenida en suero, activa mediante proteólisis (Ser/Treo) a los Receptores Activados por Proteasas (PARs 1-4), acoplados a proteínas G. Hemos demostrado que la trombina promueve la proliferación de las células del EPR a través del señalamiento de PAR-1 y la expresión de Ciclina D1, mediada por la activación de ERK1/2 y la PI3K. Dado que esta vía enzimática tiene como blanco al complejo mTOR, cuya actividad regula el proceso de traducción, se analizó la intervención de los complejos mTORC1 y mTORC2 en la expresión de ciclina D1 y la proliferación del EPR inducidos por la trombina en células de la línea celular RPE-J. La proliferación se cuantificó por incorporación de Timidina-H3 y reducción de MTT. La expresión de ciclina D1 se analizó mediante RT-PCR y Western blot. La participación de las vías de señalamiento intracelular se demostró por el efecto de inhibidores farmacológicos específicos y mRNA de interferencia (imRNA) sobre la expresión de ciclina D1 y la proliferación celular.

Los resultados demuestran que la proliferación inducida por la trombina requiere la fosforilación de mTOR en la Ser 2448 por MEK/ERK/1/2, independiente de Akt (PKB), y la activación de la vía Akt/ mTORC1/ p70S6K que promueve la expresión de la ciclina D1 y la proliferación.

Financiado parcialmente por los donativos CB-176347 de CONACYT y IN-201812 de PAPIIT/UNAM.



La Trombospondina-1 en la formación de espinas dendríticas en ratones expuestos a ambientes enriquecidos.

Janintzic López-Niño, Jessica Nayeli Romero-Ojeda, Irma López-Martínez, Ivonne Sánchez-Cervantes, Laura Colín-Barenque, Octavio García¹

¹Coordinación de Psicofisiología, Facultad de Psicología, UNAM
Av. Universidad 3004, Edif. B, Primer Piso Col. Copilco-Universidad,
04510 Coyoacán, México D.F. Tel. 55 51 03 23 10 E-mail. ogarciag@unam.mx

Las espinas dendríticas son pequeñas protuberancias que emergen de las dendritas de la neurona y constituyen el principal sitio de sinapsis excitatorias en el cerebro. El desarrollo y morfología de las espinas están influidos por la propia actividad cerebral y la estimulación ambiental, teniendo un papel importante en la plasticidad sináptica. Nosotros previamente demostramos que la trombospondina-1 (TSP-1), una glicoproteína de la matriz extracelular secretada por los astrocitos, puede modular la formación de espinas en cultivos de neuronas hipocampales. Los ambientes enriquecidos (AE) son utilizados como modelos de plasticidad cerebral dependiente de experiencia que favorecen la formación de espinas dendríticas en roedores. Sin embargo, los mecanismos celulares involucrados en este proceso se desconocen. En este trabajo, nosotros estudiamos si la formación de espinas dendríticas en roedores expuestos a AE es dependiente de TSP-1. Ratones wild type (WT) y knockout en TSP-1 (KO TSP-1) fueron expuestos a AE durante cuatro semanas, después de este periodo los cerebros fueron procesados para una tinción rápida de Golgi. Nuestros resultados muestran que los ratones KO TSP-1 presentan una disminución significativa en el número de espinas dendríticas. La exposición de ratones KO TSP-1 a AE, incrementa el número de espinas similar a los grupos WT controles, sin embargo, el número de espinas es menor que el encontrado en ratones WT expuestos a AE. Estos resultados sugieren que la TSP-1 tiene un papel importante, pero no exclusivo en la formación de espinas dendríticas. Trabajos en proceso son encaminados a dilucidar qué dominios y receptores de la TSP-1 están involucrados en la formación de espinas.

Este trabajo fue apoyado por PAPIIT-UNAM IN217211-3



La activación de PKC durante la infección del macrófago con *Mycobacterium bovis* depende de la movilización de calcio

Rafael Alejandro Maldonado Bravo, Tomas Villaseñor Toledo, Leonor Pérez Martínez y Gustavo Pedraza Alva. Departamento de Medicina Molecular y Bioprocesos, Instituto de Biotecnología/UNAM. Av. Universidad No. 2001, Col. Chamilpa, C.P. 62210, Cuernavaca, Morelos, Tel. (777) 3290869, Correo electrónico: gustavo@ibt.unam.mx

Mycobacterium tuberculosis, el agente causante de la tuberculosis, es una bacteria de lento crecimiento, capaz de sobrevivir dentro del macrófago. Las micobacterias han desarrollado distintas estrategias para subyugar la maquinaria celular e impedir los mecanismos moleculares que llevarían a su destrucción y eliminación, entre otros, la fusión fagosoma-lisosoma. Una de estas estrategias es la inducción del recubrimiento del fagosoma con la proteína Coronina-1, la cual previene la maduración del fagosoma promoviendo flujos de calcio y activando la fosfatasa dependiente de Ca^{2+} , calcineurina. Por otra parte, la mayoría de los receptores que usa *M. tuberculosis* para invadir al macrófago, activan la vía de señalización de la familia de las proteínas cinasas C (PKC). Esta proteína regula procesos básicos de la fagocitosis, y dado que las isoformas α y β de PKC son reguladas por calcio y a su vez pueden regular la función de canales de calcio, proponemos que éstas isoformas de PKC participan en el mecanismo molecular que previene la fusión fagosoma-lisosoma, favoreciendo la sobrevivencia de la micobacteria. En este trabajo mostramos que la infección de macrófagos con *M. bovis* (BCG) a una multiplicidad de infección de 1:1 y 1:5 induce de manera transitoria la fosforilación de las isoformas α y β de PKC, y que esto depende de la movilización de calcio tanto intracelular como extracelular. De acuerdo con esto, bloquear la movilización de calcio e inhibir PKC durante la infección con *M. bovis* previene la activación de ERK. Para evaluar si la activación de PKC se requiere para mantener elevados los niveles de calcio durante la infección del macrófago con *M. bovis*, estamos realizando experimentos de silenciamiento de PKC α y β . Los resultados de estos experimentos también se discutirán.

Este trabajo fue financiado por la DGAPA/UNAM (IN227510, ININ209212), el CONACYT (155290 y 154542) y el ICGB (CRP/MEX11-01).



Participación de PKA en la regulación transcripcional de los transportadores de glucosa dependientes de sodio en un epitelio renal en cultivo derivado de túbulo proximal

Martha Imelda Maldonado Cervantes¹; Mariana Saray Silva López²; Jesús Flavio Martínez Morales²

¹Unidad Académica Multidisciplinaria Zona Media

²Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí*

*Institución donde se realizó el trabajo.

Autor responsable y jefe del grupo: Jesús Flavio Martínez Morales. 2405 Carranza Avenue 78210-Los Filtros San Luis Potosí, SLP Mx. Tel 52 (444) 8262345 Ext. 525-526. Fax 52 (444) 8176976 E-mail: martinej@uaslp.mx

RESÚMEN

En los riñones, la glucosa se filtra libremente por el glomérulo y posteriormente se reabsorbe en su totalidad a nivel del túbulo proximal mediante dos mecanismos de transporte, un mecanismo activo secundario que se lleva a cabo por SGLT1 y SGLT2 y un mecanismo pasivo dado por GLUT1 y GLUT2. Anteriores estudios identificaron una proteína de unión a la región URE (región rica en uridina) del mRNA de SGLT1, dicha proteína aumenta la estabilidad del mRNA aumentando de esta manera la expresión y actividad de este transportador en la línea celular LLC-PK₁; la unión al mRNA fue dependiente de cAMP. Por otro lado Stephens y col. han reportado que el mRNA de GLUT1 posee regiones ricas en uridina que participan en la estabilidad de dicho mRNA. Estos antecedentes nos permiten formularnos la siguiente hipótesis: la vía de señalización de PKA participa en la regulación transcripcional de los transportadores de glucosa a nivel renal a través de la estabilidad del mRNA. Objetivo: dilucidar el papel que juega la vía de la proteína cinasa dependiente de cAMP (PKA) en la regulación transcripcional de los transportadores de glucosa a nivel renal. Por lo cual se trabajó con la línea celular LLC-PK₁ que posee fenotipo de túbulo proximal renal, las células fueron incubadas con IBMX el cual es inhibidor de la fosfodiesterasa, enzima responsable de la degradación de cAMP y con H89, inhibidor selectivo de PKA, y en estas condiciones se evaluó la expresión a nivel de RNAm de dichos transportadores. Previo a esto se evaluó la actividad de los transportadores de glucosa. Los resultados muestran una disminución en la expresión de SGLT-1 y SGLT-2 cuando se inhibió la vía de PKA. Lo que demuestra que ésta vía participa en la regulación de estos transportadores de glucosa dependientes de Na⁺ y que dicha vía es importante para la expresión de estos transportadores. Por otro lado GLUT1 y GLUT2 no modificaron su expresión con ninguno de los dos compuestos por lo se sugiere que la vía de PKA no participa en su regulación. Lo siguiente sería dilucidar las posibles vías de regulación para los GLUT's; así como evaluar la expresión de los transportadores SGLT's a nivel de proteína y de actividad. Como conclusión, se logró identificar la vía que participa en la regulación de los transportadores de glucosa dependientes de Na⁺. La importancia de este hallazgo radica en que estos transportadores son los encargados de la reabsorción de glucosa a nivel renal y que son susceptibles de modificarse por vías de señalización intracelular. Cambios en la expresión de proteínas del túbulo proximal anteceden al daño glomerular que conlleva al daño renal en pacientes con DM2 y obesidad.



Papel de la proteína TBK-1 en el desarrollo de resistencia a la insulina en las balsas lipídicas de neuronas.

Roger Alexis Maldonado Ruiz^a, Ilse Delinta, Antonio Vidal-Puig^b y Alberto Camacho^{a,c}. ^a Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Nuevo León. México. ^b University of Cambridge Metabolic Research Laboratories, NIHR Cambridge Biomedical Research Centre Institute of Metabolic Science, Addenbrooke's Hospital, Cambridge, UK.

Dirección Postal: Facultad de Medicina. Madero y Dr. Aguirre Pequeño. Col. Mitras Centro sin número. Monterrey, N.L. México. C.P. 64460. Teléfono: 8112423604. Email: rogalmalruiz@gmail.com, acm590@hotmail.com.

Las balsas de lípidos (BL) son subdominios de membrana enriquecidos en colesterol, glicolípidos y esfingolípidos que contienen ácidos grasos saturados. Las BL permiten la acumulación de proteínas modificadas por la adición de ácidos grasos saturados a sus secuencias, un proceso conocido como palmitoilación. Por su parte, la ingesta de ácidos grasos saturados promueve inflamación y resistencia a la insulina, en parte, mediante la interrupción de la vía de señalización de insulina. En el presente trabajo investigamos si la toxicidad inducida por la obesidad se correlaciona con la composición alterada de proteínas de señalización relacionadas con la señal de insulina en las BL de cerebro de ratones y en cultivo de neuronas. Empleando gradiente de sacarosa, ultracentrifugación y westernblot se demostró que el receptor de la insulina (RI) se acumula predominantemente en la fracción de BL en comparación con la densidad soluble o la región postsináptica (PSD). Análisis de las BL de hipotálamo de ratón obeso mostraron decremento significativo de la proteína AKT e interesantemente la acumulación de la cinasa TANK 1 (TBK1). No se encontraron cambios de AKT, IR y TBK1 en las fracciones solubles de obesos en comparación con los ratones delgados. Experimentos in vitro empleando cultivos primarios de neuronas y de la línea celular CLU-472 mostraron que la incubación con el lípido saturado, ácido palmítico (60 μ M) durante 12 hr, incrementa la acumulación de TBK1 en la fracción de PSD, así como la fosforilación de la proteína TBK1. Estos datos apoyan la hipótesis de que la hiperlipidemia asociada a la obesidad promueve la alteración de proteínas relacionadas con la vía de la insulina posiblemente generando resistencia a la insulina.



Participación de la vía PI3K/Akt en la migración e invasión celular inducida por ácido oleico en la línea celular de cáncer mamario MDA-MB-231.

M.C. Ma. Cleofas Marcial Medina, Dr. José Eduardo Perez Salazar.

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional

Jefe de grupo: José Eduardo Perez Salazar

Dirección postal: Av. IPN 2508 México D.F., 07360. Departamento de Biología Celular.

Correo Electrónico: jperez@cell.cinvestav.mx

Teléfono: +52-(55)-5747-3991

El cáncer de mama es la principal causa de muerte en la población femenina, convirtiéndose en el padecimiento con más decesos a nivel mundial. En las últimas décadas en nuestro país la mortalidad por cáncer de mama ha mantenido una tendencia ascendente vinculada a la transición demográfica y cambios en el estilo de vida. Estudios epidemiológicos y experimentales usando modelos animales y cultivos celulares han demostrado una asociación entre una dieta rica en ácidos grasos y la incidencia de cáncer de mama. Existen receptores acoplados a proteínas G tales como GPR40 y GPR120, los cuales son activados por ácidos grasos libres de cadena mediana y larga, incluido el ácido oleico (AO). Sin embargo, no se han descrito las vías de transducción de señales mediante las cuales el AO regula procesos implicados en la progresión tumoral. El objetivo de este trabajo fue estudiar la participación de la vía PI3K/Akt en la migración e invasión de células de cáncer de mama. Nosotros determinamos que la estimulación de células MDA-MB-231 con AO 100 μ M, induce migración e invasión en matrigel de manera dependiente de la actividad de PI3K y Akt2. Los resultados también muestran que la activación de Akt2 requiere de la actividad del EGFR y que se requiere de la actividad de PI3K para el desensamble de los contactos focales durante la migración celular. Por último el AO también induce la activación del factor nuclear NF- κ B.



Importancia del ciclo de transporte núcleo-citoplasmático de la GTPasa Gpn1 en la acumulación nuclear de la RNA polimerasa II.

Mayra Martínez Sánchez, Mónica R Calera y Roberto Sánchez Olea. Instituto de Física, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Av Manuel Nava 6, Ciudad Universitaria, C.P. 78290, San Luis Potosí, SLP. Tel. (444) 823-2600 ext 5717. Email: rsanchez@ifisica.uaslp.mx.

La RNA polimerasa II (RNAPII) es un complejo multienzimático de 12 subunidades que sintetiza todos los RNAs mensajeros y otros RNAs en células eucariontes. Aunque se ha descrito que múltiples proteínas regulan la actividad de este complejo durante la transcripción, se desconoce el mecanismo de transporte de la RNAPII del citoplasma, donde se sintetizan las diversas subunidades, al núcleo celular donde cumple su función. Entre las proteínas asociadas a la RNAPII se encuentran las GTPasas Gpn (Jeronimo et al., 2007, Mol Cell 27:262). Estas GTPasas no sólo se asocian físicamente a la enzima sino que son necesarias para su actividad, tanto en levadura (Jeronimo et al., 2007, Mol Cell 27:262) como en células humanas (Calera et al., 2011; BBA 1813:1708). La acumulación nuclear de la RNAPII muestra una dependencia absoluta de Gpn1 (Forget et al., 2010, Mol Cell Prot 9:2827) y de Gpn3 (Calera et al., 2011; BBA 1813:1708). En nuestro laboratorio describimos recientemente una señal de exportación nuclear en la proteína Gpn1 que es necesaria para el transporte de Gpn1-EYFP del núcleo al citoplasma, y suficiente para la exportación nuclear de EYFP (Reyes-Pardo et al., 2012, BBA 1823:1756). Se desconoce la relevancia de esta señal de exportación nuclear y del ciclo de transporte núcleo-citoplasmático en la función de la proteína Gpn1 endógena, y en particular, en la acumulación nuclear de la RNAPII.

El bloqueo global de la exportación nuclear de proteínas por medio de la inhibición del factor de exportación Crm1 con leptomicina B resulta en la retención de la RNAPII en el citoplasma (Forget et al., 2010), lo que sugiere que alguna proteína esencial para la acumulación nuclear de la RNAPII queda atrapada en el núcleo en presencia de leptomicina B. Sin embargo, la identidad de esta proteína se desconoce, ya que Crm1 media la exportación nuclear de cientos de sustratos. En el presente trabajo investigamos la hipótesis de que la proteína crítica es la GTPasa Gpn1. Para probar esta hipótesis evaluaremos el efecto de reemplazar la Gpn1 endógena en las células MCF-12A por una versión recombinante de Gpn1 silvestre o una versión deficiente en el proceso de exportación nuclear, en la localización subcelular de la RNAPII. La exportación nuclear de Gpn1 se inactivó a través de la mutación de los aminoácidos hidrofóbicos 3 y 4 de la señal de exportación nuclear a alaninas (V302A/L304A). La estrategia de reemplazo molecular consiste en la utilización secuencial de dos vectores retrovirales que confieren resistencia a antibióticos distintos y permiten la generación de líneas celulares estables, uno para expresar las versiones recombinantes de Gpn1, y el otro para dirigir la expresión de un shRNA efectivo para suprimir selectivamente la expresión de la Gpn1 endógena por el mecanismo de RNA de interferencia. Se presentarán y discutirán los avances alcanzados en el desarrollo de este proyecto.



“La fusión de una secuencia de degradación tipo PEST de la SPMS1 de maíz a la proteína reportera GUS facilita su degradación vía el proteosoma 26S”

Israel Maruri-López^a, Margarita Rodríguez-Kessler^b, Aida Araceli Rodríguez-Hernández^a, Juan Elías Olivares-Grajales^c and Juan Francisco Jiménez-Bremont^{a*}

^aDivisión de Biología Molecular, Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica A. C., 78216 San Luis Potosí, SLP, México

^bFacultad de Ciencias, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Av. Salvador Nava s/n, Zona Universitaria, 78290 San Luis Potosí, SLP, México

^cDepartamento de Biología Molecular de Plantas, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad 2001, Colonia Chamilpa, 62210, Cuernavaca, Morelos, México

* e-mail: jbremont@ipicyt.edu.mx

Las poliaminas son compuestos alifáticos de bajo peso molecular implicadas en diversos procesos bioquímicos, celulares y fisiológicos en todos los organismos. En las plantas, los genes implicados en la biosíntesis de poliaminas y catabolismo están regulados a nivel transcripcional, traduccional y postraduccional. En este trabajo nos centramos en la caracterización de una región putativa de degradación tipo PEST de la espermina sintasa de maíz (ZmSPMS1). Para este objetivo, fusionamos 123 pb que codifican para 40 aminoácidos de la región C-terminal de la enzima ZmSPMS1 que contienen la secuencia PEST con el gen reportero *GUS*. Esta fusión se evaluó en líneas transgénicas de *Arabidopsis thaliana*. Nuestros resultados muestran que el proteosoma 26S está implicado en la degradación de la fusión GUS::PEST en *Arabidopsis*. Las secuencias PEST parecen estar conservadas en la familia aminopropil transferasas de plantas. La presencia de secuencias PEST en las enzimas aminopropil transferasas abre nuevos escenarios en la regulación de estas enzimas y el mantenimiento de los niveles de poliaminas en las plantas.

Palabras clave: aminopropil transferasas, PEST, poliaminas, proteosoma 26S, espermina sintasa.



“LA ESTIMULACIÓN DE RECEPTORES P2X7 EN MACRÓFAGOS DE RATÓN INDUCE ESTRÉS OXIDATIVO DEPENDIENTE DE Ca^{2+} A TRAVÉS DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN c-Src/Pyk2-PKC-ERK1/2”

Guadalupe Martel-Gallegos^{a,e}, Griselda Casas-Pruneda^b, Filiberta Ortega-Ortega^a, Sergio Sánchez-Armass^a, Jesús Alberto Olivares-Reyes^c, Becky Diebold^d, Patricia Pérez-Cornejo^a, Jorge Arreola^e

^{a,e}Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí,

^bFacultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí

^cDepartamento de Bioquímica, CINVESTAV-IPN, México, DF

^dDepartment of Pathology and Laboratory Medicine, Emory University School of Medicine, Atlanta

^eInstituto de Física, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí

Autor responsable: Guadalupe Martel-Gallegos, Facultad de Medicina Av. Venustiano Carranza #2405 Col. Los Filtros CP 78210. Tel. (444)252-57-82. lupita_martel@hotmail.com

Las vías de señalización involucradas en la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) por la estimulación de P2X7 en macrófagos aún no están bien definidas. En el presente trabajo se muestra que la estimulación purinérgica de macrófagos de ratón derivados de la línea celular J774 causa la producción de ERO vía P2X7. Esta producción fue mediada por la NADPH oxidasa 2 (NOX2) sensible a DPI y mostró dependencia con el incremento en calcio intracelular producido por la entrada de calcio vía el receptor P2X7. La estimulación de macrófagos con Bz-ATP, un agonista del receptor P2X7, activó a las proteínas cinasas PKC α , PKC δ y a las cinasas reguladas por señal extracelular 1/2 (ERK1/2), mientras que PKC ζ permaneció sin cambios. La activación de PKC δ fue inhibida por A438079, un antagonista del receptor P2X7, y potenciada por la ausencia de Ca^{2+} externo. En contraste, los inhibidores de PI3K (LY294-002 y Wortmanina) y de p38 MAPK (SB203580 y SB239063) no tuvieron efecto alguno sobre la producción de ERO, lo cual sugiere que las cinasas PI3K y p38 MAPK no participan en la vía de señalización. En cambio, inhibidores de la proteína cinasa activada por MEK1/2 (PD98059 y U0126) abolieron la activación de ERK1/2 y la producción de ERO, demostrando así el papel relevante de ERK1/2. Sorpresivamente inhibidores de PKC que completamente abolieron la activación de ERK1/2 solo redujeron parcialmente (55%) el estrés oxidativo inducido por Bz-ATP, lo cual sugiere que la activación de PKC regula la producción de ROS por dos vías, una que depende de ERK1/2 y otra que es independiente de ERK1/2. Además, la activación directa de PKC con PMA indujo solo el 50% de la producción de ERO inducida por Bz-ATP. Finalmente, el complejo c-Src/Pyk2 también juega un papel en la producción de ERO. PP2, un inhibidor de la tirosina cinasa c-Src, inhibió la activación de ERK1/2 y el estrés oxidativo. Pyk2, una tirosina cinasa cuya activación depende de Ca^{2+} y participa en la vía de señalización MAPK, también fue activada al estimular al receptor P2X7. Todos estos datos demuestran que las cinasas PKC, ERK1/2 y c-Src/Pyk2 son activadas al estimular la entrada de calcio extracelular vía el receptor P2X7 y que otras cinasas como PI3K y p38 MAPK no juegan un papel en la producción de ERO. La vía de señalización propuesta es la siguiente: en macrófagos la entrada de Ca^{2+} a través del receptor P2X7 activa PKC y c-Src/Pyk2 lo cual permite la fosforilación de ERK1/2 y finalmente el ensamble de NOX2 para producir ERO. PKC por sí misma, puede también inducir parcialmente la activación de NOX2, sin embargo, existe una vía adicional para la producción de ERO que también es sensible a calcio extracelular y que aun no ha sido caracterizada.



Caracterización de la cinética del ingreso de Ca^{2+} mediado por GABA, Glicina y Acetilcolina en espermatozoides de humano

Esperanza Mata Martínez, Alberto Darszon y Claudia L. Treviño.
Instituto de Biotecnología-UNAM. Av. Universidad No. 2001, Col. Chamilpa
Cuernavaca, Morelos C.P. 62209; Apdo. Postal 510-3.
emata@ibt.unam.mx; ctrevino@ibt.unam.mx

La fecundación es un evento esencial para la generación de un nuevo individuo, el cual es resultado de la fusión de un óvulo y un espermatozoide. Se ha demostrado que el calcio (Ca^{2+}) es esencial en la regulación de los procesos que ocurren en el espermatozoide después de la eyaculación (hiperactivación, capacitación y reacción acrosomal). Diferentes clases de canales y bombas permeables a Ca^{2+} permiten el movimiento de este catión a través de la membrana plasmática o las membranas de los reservorios intracelulares de Ca^{2+} en el espermatozoide.

La reacción acrosomal (RA) consiste en la exocitosis del granulo acrosomal que se caracteriza por la formación de múltiples puntos de fusión de la membrana plasmática y la membrana acrosomal externa, en la región anterior de la cabeza del espermatozoide. Este proceso es necesario para que el espermatozoide: 1) atraviese la zona pelúcida (ZP), matriz glicoproteica que recubre al óvulo, y 2) presente una nueva membrana que le permita fusionarse con él.

Aunque una de las glicoproteínas de la matriz externa del óvulo (ZP3) se ha considerado como el inductor natural de la RA, otros estudios han demostrado que diversos compuestos son capaces de inducir esta reacción con la consecuente movilización de Ca^{2+} en el espermatozoide.

Muchos de dichos compuestos se encuentran en el tracto genital femenino por lo que sería importante investigar su relevancia fisiológica. Esta idea se ha fortalecido con resultados recientes que muestran, que al menos en ratón, los espermatozoides que logran fecundar al óvulo son aquellos que sufrieron la RA antes de entrar en contacto con la ZP.

En este trabajo demostramos tanto en experimentos en población como en célula única que en espermatozoides de humano capacitados, GABA, Glicina y Acetilcolina son capaces de inducir la RA y estimular un aumento en la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ que depende de Ca^{2+} extracelular. Por otra parte, Mibefradil y NNC55-0396, inhibidores del canal iónico CatSper, inhiben la movilización de Ca^{2+} mediada por GABA.



MDM2 y MDMX, como reguladores de p53.

Ixaura Celeste Medina Medina y Vanesa Olivares Illana.

Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Instituto de Física.

Av. Manuel Nava 6, 78290, San Luis Potosí, S. L. P., México.

Teléfono: (52) 44 48 26 23 62 al 65

Fax: (52) 44 48 13 38 74

vanesa@ifisica.uaslp.mx

p53 es un supresor de tumores que responde diversos estreses celulares. La importancia de este supresor de tumores se debe al hecho de que en la mitad de los cánceres humanos está mutado y en la otra mitad alguna de sus vías está interrumpida o desregulada. Mdm2 es el regulador de p53 mejor estudiado. Bajo condiciones de estrés celular. En condiciones normales, Mdm2 degrada a p53, evitando con ello el arresto celular o muerte celular. Bajo condiciones de estrés genotóxico, Mdm2 sufre modificaciones post-traduccionales que lo convierten en un regulador positivo de p53 vía su interacción con el mRNA de p53. MdmX es un homólogo de Mdm2, posee un dominio que se une a p53 y un dominio RING. MdmX es también regulador negativo de p53 vía interacción proteína-proteína. Estudios genéticos demuestran que en la ausencia de la expresión de MdmX sigue una letalidad embrionaria, dejando intacto a Mdm2, y de igual manera para Mdm2. Esto revela que Mdm2 y MdmX poseen una gran importancia y un rol independiente en la regulación de p53, ya que a pesar de su alta homología, no puede compensarse la ausencia de uno o de otro. Mdm2 y MdmX son necesarios para la integridad celular. Se ha observado que Mdm2 forma hetero-oligómeros con MdmX a través de su dominio RING C-terminal. La pregunta que surge entonces, es si cada uno juega un papel distinto en la regulación de p53 o Mdm2 y MdmX funcionan como hetero-oligómero tanto en la regulación positiva como en la negativa de p53. En este trabajo pretendemos observar la estabilidad del estado de oligomerización de Mdm2 y MdmX usando únicamente los C-terminal de cada proteína expresada en *E. coli* de la cepa bl21. La purificación de cada proteína se llevó a cabo mediante una columna de afinidad con esferas de níquel y se concentró la proteína. Para estudiar la oligomerización de cada proteína, se realizaron geles nativos al 10% y posteriormente se hizo uso de la técnica de western blot.



Papel de los receptores a endotelina en el desarrollo de la hipertrofia cardiaca.

Tzindilú Molina-Muñoz¹, Hugo Aldana-Quintero¹, Jaime Balderas-Villalobos¹, Maritza Mayorga Luna¹, Benito Chavez-Renteria², David Cruz-Robles², Alberto Aranda-Fraustro & Norma Leticia Gómez-Viquez^{1*} letyviquez@hotmail.com

¹ Departamento de Farmacobiología. Cinvestav. Calzada de los Tenorios #235, Col. Granjas Coapa, 14330. México DF. Tel 54832800 Ext.1211

² Instituto Nacional de Cardiología, Ignacio Chávez. Av. Juan Badiano 1. Sección XVI, México, DF.

En el corazón, la hipertensión arterial (HA) induce el desarrollo de hipertrofia ventricular izquierda (HVI), la cual, al perpetuarse, da lugar a la insuficiencia cardiaca congestiva (ICC). La HVI involucra la reactivación de un programa genético fetal caracterizado por la expresión de genes que sólo se expresan en el miocardio en etapas tempranas del desarrollo. Diferentes estudios han demostrado que este programa génico de hipertrofia se asocia con un aumento en la señalización de los receptores acoplados a proteínas G (GqPCR), la cual incluye a los receptores de IP₃, la proteína cinasa dependiente del complejo calcio/calmodulina (CaMKII δ), la proteína cinasa D (PKD), las desacetilas de histonas tipo II (HDACs) y el factor de transcripción MEF2. Hasta la fecha, se desconoce si todos los tipos de GqPCR presentes en el corazón, y de manera particular los receptores a endotelina-1 (ETR) tienen la misma participación en el inicio y mantenimiento de la HVI. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue definir el papel que tienen los ETR en la activación del programa génico de hipertrofia durante las diferentes fases de la HVI en un modelo de coartación aórtica (CA) en ratas. Nuestros datos muestran que la CA produce un aumento inmediato en la presión arterial, y que la HVI se observa a partir del día 5 de la CA. Estudios histológicos corroboran el desarrollo de la HVI a partir del día 5 por el aumento en el grosor de la pared ventricular izquierda y la presencia de fibrosis. Con estos datos se pudo establecer una etapa en la HA en el cual aún no se presenta la HVI y el punto de inicio de ésta. De acuerdo con los datos anteriores, nosotros encontramos que en etapas tempranas y de mantenimiento de la HA ocurre un aumento en la actividad de la vía de señalización mediada a través de los ETR, ya que existe un aumento significativo en la fosforilación de las proteínas CaMKII y PKD en miocitos de ratas con (CA) de 1 y 5 días de evolución. Además se observó que al estimular con ET-1, se incrementa la fosforilación de estas proteínas. En conjunto estos datos muestran que en respuesta a HA, se intensifica la vía de señalización hipertrófica, participando proteínas importantes como la CamKII δ y la PKD al inicio y durante el mantenimiento de la HVI y que estos cambios en la función de las proteínas están mediados por la activación de los ETR.



“Detección del Betaglicano durante el desarrollo embrionario del pez cebra (*D. rerio*)”

Tonatiuh Molina Villa, Valentín Mendoza Rodríguez, Andrés Kamaid Toth, Fernando López Casillas*

Instituto de Fisiología Celular, UNAM.

*Instituto de Fisiología Celular, UNAM. Circuito Exterior S/N Ciudad Universitaria, Coyoacán, México D.F. Tel.(55) 56225625, fcasilla@ifc.unam.mx

Betaglicano es un correceptor perteneciente a la familia de TGF β capaz de unir a las tres isoformas de TGF β , inhibina A, inhibina B, y ciertas BMP's a través de su dominio extracelular. Debido a su unión a múltiples ligandos y a su complejo modo de acción, el papel de betaglicano durante el desarrollo embrionario es poco entendido.

En este trabajo se planteó determinar la expresión del RNAm y de la proteína de betaglicano durante las etapas del desarrollo embrionario del pez cebra (*D. rerio*).

Se realizaron experimentos de RT-PCR con el propósito de determinar la presencia de RNA mensajero en diferentes estadios del desarrollo del pez cebra (5h (50% epibolia), 8hpf (75% epibolia), 14hpf (10-somitas), 24hpf, 48hpf, 72hpf y 144hpf (6d)). Se determinaron los niveles de expresión relativa del RNAm a través de PCR en tiempo real.

La presencia de transcritos de RNAm del gen de betaglicano se identificó a partir de las 8hpf, y hasta las 144 hpf. La expresión del RNAm de betaglicano es de origen cigótico y no materno. Los niveles de expresión relativa de betaglicano a las 72 y 144 hpf son 1.5 y 3 veces mayores, respectivamente, a los observados en los estadios de 14, 24 y 48 hpf. Los niveles encontrados a 8hpf son cercanos a 0.

Con el fin de obtener anticuerpos específicos para el BG del pez cebra, se realizó la sobreexpresión y purificación de su ectodominio, el cual se ha usado como antígeno para generar anticuerpos policlonales en conejo, los cuales están en proceso de caracterización.

El presente trabajo recibe apoyo de: CONACYT (131226) y PAEP.



La adaptación de las transaminasas Bat1 y Bat2 a la biosíntesis y catabolismo de los aminoácidos de cadena ramificada: valina, isoleucina y leucina

Javier Montalvo-Arredondo, José Ángel Jiménez-Benítez, Lina Riego-Ruiz^a

Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica A. C. Camino a la presa de San José #2055 CP 78216, San Luis Potosí, SLP, México.

Tel: 01-444-834-2050, ^alina@ipicyt.edu.mx

Las transaminasas Bat1 y Bat2 son isoenzimas codificadas por dos genes duplicados originados en el evento de la duplicación completa del genoma del ancestro que dio lugar al linaje de *Saccharomyces cerevisiae*. Ambas enzimas catalizan la transferencia del grupo amino del glutamato hacia el grupo α – ceto de los α – cetoácidos (α – cetoisovalerato, α – cetometilvalerato y α – cetoisocaproato), precursores de los aminoácidos de cadena ramificada (BCAAs), valina, isoleucina y leucina.

El paso que catalizan estas isoenzimas es totalmente reversible, por lo que también participan en la ruta del catabolismo de estos aminoácidos, utilizándolos por ejemplo: como fuente de nitrógeno, precursores en rutas anapleróticas o precursores en rutas del metabolismo secundario.

Durante la evolución de la levadura ancestral que dio origen al linaje de *S. cerevisiae*; los genes (*BAT1* / *BAT2*) que codifican estas transferasas, fueron mantenidos en el genoma. La regulación transcripcional de ambos genes divergió, así como también divergió la secuencia de la región codificante.

Se ha observado que el gen *BAT1* está involucrado principalmente en la biosíntesis de los aminoácidos BCAAs, y al contrario, el gen *BAT2* está involucrado principalmente en el catabolismo de los mismos. Sin embargo, no está claro si esto es debido a: 1) que estos genes codifican enzimas con propiedades cinéticas diferentes, afines ya sea a la biosíntesis o al catabolismo, 2) la divergente regulación transcripcional de estos genes que pudiera contribuir en los diferentes papeles en los que están involucrados, ya que la transcripción de *BAT1* se induce bajo condiciones biosintéticas; y la transcripción de *BAT2* se induce bajo condiciones catabólicas o 3) la diferente localización celular de las enzimas Bat1 y Bat2, ya que Bat1 se localiza en la matriz mitocondrial, favoreciendo la biosíntesis, y Bat2 se localiza en el citosol, favoreciendo el catabolismo de estos aminoácidos.

Los resultados que hemos obtenido hasta el momento sugieren que Bat1 es más afín para catalizar el paso que involucra la biosíntesis, por otro lado, Bat2 es más afín al catabolismo de estos aminoácidos BCAAs.

En el caso de la biosíntesis, la contrastante divergencia de la regulación transcripcional que tienen estos genes duplicados parece jugar un papel importante en los diferentes papeles metabólicos en los que están involucradas las isoenzimas, pero no es importante la localización celular de las mismas, ya que en la biosíntesis, el paso de la transaminación puede llevarse a cabo tanto en mitocondria como en citosol.

En el caso del catabolismo de los aminoácidos, los resultados sugieren que la localización de las enzimas es un factor importante ya que si la levadura carece de una enzima transaminasa de BCAAs en el citosol, el catabolismo de éstos es ineficiente en mitocondria ya que nosotros pensamos que la velocidad en el transporte de los aminoácidos o del glutamato a la matriz mitocondrial no es eficiente.



Los receptores para adenosina regulan la expresión y actividad de las isoformas de ciclooxigenasa en células epiteliales renales humanas en cultivo

Angélica Montoya-Contreras, Othir Galicia-Cruz, Martha Maldonado-Cervantes, Flavio Martínez-Morales. Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Av. Venustiano Carranza 2405, Lomas Los Filtros, San Luis Potosí, S.L.P., C.P. 78210, (444) 826-2342 ext. 6624, martinej@uaslp.mx

En este estudio se investigó la modulación de la expresión y actividad enzimática de ciclooxigenasa 1 (COX-1) y ciclooxigenasa 2 (COX-2) mediada por los receptores para adenosina (AR) en células epiteliales renales humanas. Se ha reportado que la adenosina y los metabolitos de COX tienen un importante papel en el mantenimiento de la homeostasis renal y procesos patológicos renales tales como isquemia, hipoxia, inflamación y nefropatía diabética. Nuestra hipótesis es la existencia de un mecanismo regulatorio entre AR y las isoformas de COX. Se utilizaron células renales, crecidas en monocapa, las cuales se incubaron durante 12 h con agonistas específicos para cada uno de los subtipos de AR (A1AR, A2aAR, A2bAR y A3AR) y se evaluó el efecto sobre la expresión del mRNA y proteína, así como de la actividad enzimática de COX-1 y de COX-2. En las células HK-2, la expresión del mRNA de COX-1 no sufrió cambios significativos cuando los AR se activaron; la expresión del mRNA de COX-2 se incrementó de manera significativa solo cuando se activó A2aAR. Los niveles de expresión de las proteínas COX-1 y COX-2 aumentaron cuando A2aAR se activó. Estos resultados indican que adenosina modula la expresión de COX a través de A2aAR. También se investigó la participación de las vías de señalización MEK y PKA. Empleando inhibidores específicos de estas vías de señalización (PD98059 y H89, respectivamente) se observa una disminución de la expresión del mRNA, expresión de la proteína y actividad enzimática de COX-1 y COX-2, confirmando que tienen un importante efecto sobre COX. Dado que en presencia del agonista de A2aAR, CGS21680, la expresión del mRNA, la expresión de la proteína y la actividad enzimática de COX-2 se vieron incrementadas, se demuestra la participación de este receptor en la regulación de COX-2. Al inhibir las vías de señalización de MEK y PKA la expresión de ambas isoformas de COX se disminuye pero no se abolen completamente, lo que nos sugiere la participación de una vía de señalización adicional independiente de AMPc.

Palabras clave: receptores para adenosina, agonistas de adenosina, isoformas de ciclooxigenasa, COX-1, COX-2, células renales humanas.



CARACTERIZACIÓN DE LA SUBUNIDAD REGULADORA CKS DE CINASAS DEPENDIENTES DE CICLINAS DE *TRICHOMONAS VAGINALIS*.

Nataly Morales Galeana e Imelda López-Villaseñor. Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. Tercer Circuito Exterior, Ciudad Universitaria. C.P. 04510. Tel. 56 22 89 52 e-mail:imelda@biomedicas.unam.mx; natmog22@gmail.com

Trichomonas vaginalis es un protozoario parásito, causante de la tricomoniasis humana, una enfermedad de transmisión sexual; forma parte de la clase Parabasalia, que se caracteriza por agrupar a eucariontes de divergencia evolutiva temprana; ambas razones hacen de este organismo un interesante objeto de estudio tanto por su importancia médica como por el conocimiento básico de su biología.

En el control del ciclo celular eucarionte participan cinasas dependientes de ciclinas (Cdk's) y ciclinas (Cyc), proteínas altamente conservadas. Los complejos ciclina-Cdk regulan eventos celulares particulares y fundamentales, tales como el crecimiento, la replicación del DNA y la mitosis. La formación y funcionalidad de estos complejos depende en gran medida de las modificaciones postraduccionales de las que son objeto las Cdk's tales como fosforilación, desfosforilación, y su unión a la subunidad reguladora de cinasas dependientes de ciclinas (Cks).

Las proteínas Cks son de bajo peso molecular, en su forma monomérica se unen al extremo carboxilo de las Cdk's y funcionan como un sitio accesorio que reconoce sustratos fosforilados, gracias a lo cual incrementan la afinidad de las Cdk's y su actividad de cinasa aumenta. Se han descrito Cks en levaduras, protozoarios y mamíferos.

En nuestro laboratorio están siendo caracterizadas algunas proteínas identificadas como posibles Cdk's y Cyc que pudieran estar involucradas en la regulación del ciclo celular de *T. vaginalis*. El M. C. Erik Amador Gaytán demostró *in vitro* que cuatro de ocho proteínas candidatas a Crk's (denominadas así en protozoarios por sus siglas en inglés "Cdc28 Related kinase") son capaces de interactuar *in vitro* con una Cks heteróloga de levadura, denominada p13suc1.

Mediante un análisis *in silico* del genoma de *T. vaginalis* se identificaron dos genes putativos para Cks: TvCks20 (TVAG_164620 GenBank: EAY13352.1) y TvCks60 (TVAG_142260 GenBank: EAY07872.1). Los dos genes codifican para proteínas de 82 aminoácidos. Mediante el programa phyre2 (<http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2/html/page.cgi?id=index>) se modelaron las estructuras de las dos proteínas, resultando estructuras similares a las Cks de humano. En este trabajo se pretende caracterizar la Cks1 y Cks2 de *T. vaginalis*, a través de ensayos de doble híbrido en donde se evalúe *in vivo* la interacción de las proteínas recombinantes Cks y Crk's de *T. vaginalis*.



Efecto de las mutaciones del gen GPN1 presentes en cáncer humano en la estructura y función de la GTPasa Gpn1. ¹Carlos A. Moreno Aguilar, ¹Olga Ramírez Ramírez, ¹Selene Acosta Morales, ¹Angelica Y. Robledo Rivera, ²Gabriela M. Montero Morán, ²Samuel Lara González, ¹Mónica R. Calera y ¹Roberto Sánchez Olea.²IPICYT.¹Instituto de Física, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Av. Manuel Nava 6, Zona Universitaria, CP 78290, San Luis Potosí, SLP. Tel. (444) 826-23-00 ext 5717. Email: rsanchez@ifisica.uaslp.mx.

Las células cancerosas poseen características que las distinguen de las células normales, incluyendo la habilidad de proliferar de manera acelerada e indefinida, mayor resistencia a la muerte celular y una capacidad para inducir la formación de vasos sanguíneos, entre otras. Esto ocurre debido a que algunas proteínas de las células cancerosas sufren modificaciones en su función, lo que resulta en una alteración de diferentes vías de señalización que normalmente se mantienen bajo estricto control. La mayoría de estas modificaciones son causadas por mutaciones en el genoma celular que alteran los niveles y/o función de las proteínas correspondientes. Los estudios globales acerca de las alteraciones del genoma en células cancerosas nos brinda una gran cantidad de información disponible para su análisis. Para entender mejor el papel que desempeñan las mutaciones en el cáncer, la base de datos COSMIC (Catalogue Of Somatic Mutations in Cancer) se encarga de recopilar y organizar la información disponible acerca de las alteraciones genéticas que se han descrito en diferentes tipos de cáncer humano. Entre los genes que se reportan con mutaciones en cáncer se encuentra el gen GPN1. Gpn1 es una GTPasa esencial para la vida y conservada desde levadura hasta el ser humano. Aunque no se tiene completamente dilucidada su función, se ha reportado que Gpn1 es una proteína necesaria para la localización nuclear de la RNA polimerasa II. De manera interesante, las mutaciones en cáncer que alteran la secuencia de aminoácidos de Gpn1 se encuentran concentradas en el primer tercio de la proteína, lo que sugiere que estas mutaciones no ocurrieron al azar y que muy posiblemente alteran su función en las células cancerosas.

Como un primer paso en el análisis de las alteraciones en la función de Gpn1, nos dimos a la tarea de generar versiones mutantes de Gpn1 reportadas en COSMIC que resultan en la sustitución de un aminoácido por otro (L39R, G47V, G86A, E103H, F108C, E110K y S364L). Para generar estas mutantes, usamos dos cDNAs de Gpn1, uno que codifica para la Gpn1 humana unido a la secuencia codificante para el péptido Flag y el otro para el ortólogo de Gpn1 en ratón, las cuales nos permiten distinguir a las proteínas mutantes de la proteína Gpn1 endógena. Las mutaciones fueron introducidas en el cDNA correspondiente mediante mutagénesis sitio dirigida por PCR y las mutantes resultantes fueron completamente secuenciadas y posteriormente subclonadas en el vector retroviral pLNCX2neo, lo que facilita el establecimiento de células de mamíferos que expresen a estas proteínas de manera estable. Para analizar la relevancia estructural de las mutaciones no conservativas en Gpn1, realizamos simulaciones moleculares de 1 ns para cada una de las mutantes, utilizando un modelo computacional de Gpn1 obtenido con base en la estructura cristalográfica de su ortólogo en *Pyrococcus abyssi*. Como resultado de las simulaciones moleculares, obtuvimos que el efecto de estas mutaciones en la estructura y estabilidad de las proteínas mutantes es casi nulo a excepción de la mutante S364L, la cual logra desestabilizar a la proteína de manera significativa, impidiendo un plegamiento correcto de su extremo carboxilo. El objetivo del proyecto a largo plazo es determinar posibles alteraciones en las células expresando las versiones mutantes de Gpn1. Este trabajo se realizó con el apoyo de los proyectos Fondo de Salud-Conacyt 180825 a RSO y Ciencia Básica Conacyt 106139 a MCR.



Regulación de proteínas blanco de la vía de Wnt por variantes intratipo del oncogén E6 de VPH 18

Jesús Omar Muñoz Bello, Alma Mariana Fuentes González, Leslie Olmedo Nieva, Marcela Lizano Soberón.

Unidad de Investigación Biomédica en Cáncer, Instituto Nacional de Cancerología/
Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

Av. San Fernando No. 22, Col. Sección XVI, México DF, CP. 14080. Tel. 015556280400 ext. 133.

omarmube@gmail.com

Introducción

El cáncer cervical es la segunda causa de muerte en mujeres entre todas las neoplasias femeninas en el mundo. La infección persistente por Virus del Papiloma Humano (VPH) es el principal factor de riesgo asociado al proceso oncogénico, debido a la expresión de las proteínas virales E6 y E7. Recientemente se ha observado que las variantes intratipo de la oncoproteína E6 pueden regular diferencialmente vías de señalización involucradas en proliferación. Se han propuesto otros mecanismos que colaboran en la progresión hacia el genotipo transformante, como la activación de la vía de señalización Wnt, en la cual la oncoproteína E6 ha sido recientemente asociada; sin embargo, su participación aun no es del todo clara.

Material y Métodos

Se utilizaron células Hek293 transfectadas con el plásmido p3x FLAG, p3x FLAG E6 VPH 18 Asiática-América, Europea y Africana. 24 horas postransfección se realizó la extracción de proteínas totales y se hizo la inmunodetección de proteínas c-Myc, c-Fos, ciclina D1 y β -catenina por Western blot.

Resultados

Al analizar los niveles de las proteínas blanco de la vía de Wnt, se pudo observar que los niveles de la proteína Ciclina D1 se encuentran disminuidos en células que contienen a la variante E6 Africana; mientras que β -catenina aumentó en presencia de E6 Europea. En contraste, los niveles proteicos de c-Myc y c-Fos no sufrieron cambios. Estos resultados sugieren que el oncogén E6 de VPH 18 modula la vía de Wnt y que las variaciones intratipo presentan un efecto diferencial en esta vía.

Este trabajo fue parcialmente apoyado por CONACyT PY166808.



La redistribución de colesterol durante la capacitación espermática permite la remodelación del citoesqueleto de actina y espectrina

Aide A. Muñoz Sánchez, Ana L. Roa Espitia, Rafael Baltiérrez Hoyos, Enrique O. Hernández González.

Departamento de Biología Celular, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN. Av. IPN 2508, San Pedro Zacatenco, México DF, México. CP07360.

En los espermatozoides de mamíferos, para que se dé un eficaz proceso de capacitación, reacción acrosomal (RA) y por tanto de fertilización, es indispensable la remoción o remodelación del colesterol de la membrana plasmática (MP). Alteraciones en los niveles de colesterol lleva a cambios significativos en varias funciones celulares como; señalización, adhesión, motilidad y remodelación del citoesqueleto. En células somáticas la remoción de colesterol lleva a una restructuración del citoesqueleto, específicamente la actina-F tiende a asociarse más fuertemente con la MP. Es conocido que la remodelación del citoesqueleto es un paso importante para la capacitación, sin embargo es desconocido si el colesterol puede participar en dicho procesos. Por tanto el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la remoción del colesterol en la remodelación del citoesqueleto de actina y espectrina durante la capacitación. La distribución de colesterol fue determinada mediante filipina; el análisis de microscopía de epifluorescencia mostró que en espermatozoides no capacitados el colesterol se encuentra concentrado en la región apical y en todo el flagelo. Durante la capacitación el colesterol que se encuentra en la región apical comienza a redistribuirse hacia todo el acrosoma, siendo esta redistribución dependiente de la presencia de Ca^{2+} . El anterior resultado coincide con la remodelación del citoesqueleto de espectrina y actina, los cuales durante la capacitación pasan de la región acrosomal a la región apical del acrosoma. Un efecto similar fue obtenido cuando espermatozoides no capacitados fueron tratados con 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina. Para confirmar que el efecto observado en la remodelación del citoesqueleto de actina y espectrina era dependiente del eflujo de colesterol, se capacitaban los espermatozoides con un exceso de colesterol (30 μ M). El análisis mediante microscopía confocal mostro que la remodelación tanto del citoesqueleto de actina y el de espectrina no se llevaba a cabo en espermatozoides capacitados. Ambos citoesqueletos permanecen en todo el acrosoma y a lo largo del flagelo como lo presentan los espermatozoides no capacitados. Para determinar el estado fisiológico de los espermatozoides (no capacitados, capacitados o con RA) ellos fueron analizados mediante la técnica de clortetraciclina (CTC). Los resultados mostraron un claro incremento en de los patrones de capacitación y RA a los 60 min de capacitación, efectos que fueron inhibidos cuando los espermatozoides fueron capacitados en presencia de un exceso de colesterol. En conclusión los resultados muestran que el colesterol es redistribuido durante la capacitación, lo que permite la remodelación del citoesqueleto de espectrina y actina, el bloqueo de este proceso conlleva a la inhibición de la capacitación y la RA. La participación del colesterol en la remodelación del citoesqueleto durante la capacitación representa un nuevo papel para esta molécula.

CONACYT: 79921



La degradación de espectrina es un proceso esencial para la capacitación

Aide A. Muñoz Sánchez, Ana L. Roa Espitia, Rafael Baltiérrez Hoyos, Enrique O. Hernández González.

Departamento de Biología Celular, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN. Av. IPN 2508, San Pedro Zacatenco, México DF, México. CP07360.

Un paso importante que ocurre durante el proceso de capacitación, consiste en una serie de cambios en la estabilidad de la membrana plasmática, con el fin de hacerla fusogénica a la membrana del óvulo y tener una reacción acrosomal (RA) exitosa. Entre estos cambios se encuentra la remodelación del citoesqueleto de actina, el cual implica un incremento en la cantidad de actina-F, así como cambios en su localización. Otro evento importante es la degradación del citoesqueleto de espectrina localizado en la región acrosomal, la cual es llevada a cabo por cistein-proteasas dependientes de Ca^{2+} denominadas como calpaínas. Nuestro grupo ha demostrado que calpaina-1 está relacionada con la degradación de espectrina durante la capacitación, proceso dependiente de Ca^{2+} y que al ser bloqueado por inhibidores de calpaína (calpeptina) se impide la reacción acrosomal. A pesar de conocer que calpaína-1 participa en la regulación de la RA, desconocemos si la inhibición de calpaína-1 y la consecuente no degradación de espectrina afecta la capacitación y la remodelación del citoesqueleto de actina. Por tanto el objetivo del presente trabajo fue determinar los efectos de la inhibición de calpaina-1 sobre la capacitación y remodelación del citoesqueleto de actina. Mediante inmunofluorescencia, espectrina fue localizada en la región acrosomal de espermatozoides no capacitados. Durante la capacitación, espectrina solo pudo ser observada en la región apical del acrosoma, sugiriendo su posible degradación. Este cambio fue inhibido cuando los espermatozoides fueron capacitados en presencia de calpeptina (10 μM); espectrina fue localizada de manera similar a los espermatozoides no capacitados. Para determinar si la inhibición de calpaína también altera la remodelación de actina-F, esta fue detectada mediante faloidina-TRITC. Espermatozoides no capacitados mostraron actina-F en todo el acrosoma y a lo largo del flagelo, mientras que en los capacitados la actina-F fue observada en la región apical del acrosoma y a lo largo del flagelo, así como un incremento en la fluorescencia; la capacitación en presencia de calpeptina inhibió estos cambios. Para demostrar el estado fisiológico de los espermatozoides (no capacitados, capacitados o con RA) estos fueron valorados mediante la técnica de clortetraciclina (CTC). Los resultados mostraron un claro incremento de espermatozoides capacitados entre los 30-60 minutos de capacitación, así como un incremento de la RA a los 60 min; efectos que fueron inhibidos por la incubación con calpeptina. En conclusión los resultados muestran que la inhibición de calpaina-1 conlleva al mantenimiento del citoesqueleto de espectrina, a la no remodelación del citoesqueleto de actina y a la inhibición de la capacitación. Por tanto, podemos sugerir que la degradación de espectrina puede ser un paso esencial para que se lleve a cabo exitosamente la capacitación y la RA.

CONACYT: 79921



ACTIVACION DE LA VIA DE PI3K-AKT EN LA DEFICIENCIA DE BIOTINA Y SU EFECTO SOBRE LA BIOGENESIS MITOCONDRIAL

Estefanía Ochoa Ruiz, Rodrigo Díaz Ruiz, Lucy Anita Camberos Luna, Alain Hernández Vázquez, Salvador Uribe Carvajal, Antonio Velázquez Arellano. Instituto de Investigaciones Biomédicas. Torre de Investigación INP, avenida del Iman 1 piso 4, Colonia Insurgentes Cuicuilco, Mexico DF, CP 04530. Teléfono 56 22 64 21. Correo electrónico: estefania.ochoa@yahoo.com.

La biotina es una vitamina hidrosoluble que forma parte del complejo B. Su función más conocida es la de ser el grupo prostético de cuatro carboxilasas: piruvato carboxilasa, propionil coenzima A carboxilasa, metil crotonil coenzima A carboxilasa y acetil coenzima A carboxilasa. En resultados obtenidos previamente se observó que la deficiencia de biotina provoca una disminución en la fosforilación oxidativa, la actividad del complejo IV y el número de mitocondrias, así como un incremento en la glucólisis. Para explicar los cambios anteriores se propuso que en la deficiencia de biotina existen alteraciones en vías de señalización, en particular PI3K-AKT, las cuales pueden ser responsables de las alteraciones metabólicas observadas previamente. Por lo cual, el objetivo del presente trabajo fue estudiar la activación de la vía de PI3K-AKT en la deficiencia de biotina y su efecto sobre la biogénesis mitocondrial. Como modelos experimentales se usaron: cultivo primario de hepatocitos y la línea celular HepG2. Se obtuvieron los siguientes resultados: se demostró en los hepatocitos deficientes de biotina que AKT está más fosforilada en la ser308, lo anterior indica mayor activación. En estas mismas células se determinó que la expresión proteica de PGC-1 α y a TFAM estaba considerablemente reducida. Con el fin de demostrar que la activación de AKT precede a los cambios en la expresión de PGC-1 α , TFAM y el número de mitocondrias, se utilizó el cultivo de HepG2. Las células fueron sembradas en un medio libre de biotina, y se recolectaron muestras cada 48 horas hasta el día 11 de cultivo. Con lo anterior se observó que AKT está más fosforilada en las deficientes de biotina, desde el día 7, mientras que los cambios en el número de mitocondrias y la expresión de PGC-1 α y TFAM se pueden apreciar a partir del día 9. Posteriormente se estudió el efecto de la inhibición de AKT sobre el número de mitocondrias en células deficientes de biotina, para lo cual se utilizó el inhibidor de AKT VIII, como resultado se obtuvo que las células deficientes de biotina que fueron expuestas este inhibidor, presentaron una masa mitocondrial y expresión de TFAM muy similares a la de los controles. En conclusión, la disminución en la masa mitocondrial que se observa en la deficiencia de biotina puede ser explicada por alteraciones en la vía de PI3K-AKT. Lo anterior contribuye al entendimiento de la regulación de la biogénesis mitocondrial, ya que se conoce muy poco sobre los mecanismos que controlan este proceso. Este mecanismo de regulación puede tener implicaciones en otras afecciones humanas, tales como el cáncer, la diabetes o la enfermedad de Parkinson.



Regulación Diferencial de la Señal de Insulina por Acción del Factor Liberador de Corticotropina y Urocortinas a través Activación de los Receptores CRF₁ y CRF₂

Jesús Alberto Olivares Reyes*; María de la Luz Huidobro Gálvez; Fernanda Elizabeth Zúñiga Aragón; Judith Hernández Aranda y Richard Hauger¹. Departamento de Bioquímica, Centro de investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, A.P. 14-740, C.P 07360, México, D.F.* jolivare@cinvestav.mx, Tel: 55-5747-3951 y ¹Department of Psychiatry, University of California, San Diego, 9500 Gilman Drive, La Jolla, CA92093, USA

Se ha determinado que en las sociedades occidentales, los índices de estrés se correlacionan directamente con aumento de las tasas de Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2), obesidad y síndrome metabólico, en parte a través de inducir resistencia a la insulina en varios tejidos y también por afectar directamente la función de las células β -pancreáticas y células endoteliales. Datos recientes indican que el estrés crónico conlleva directamente a una constante excitación hipotalámica que resulta en una activación paralela del eje HPA, el incremento en la secreción de cortisol y la activación del sistema nervioso simpático, lo cual favorece la resistencia a la insulina, obesidad visceral, dislipidemia, hipertensión y DM2. En este contexto, se ha demostrado que el estrés persistente como el estrés laboral, alteraciones del sueño o desordenes de estrés postraumático se encuentran asociadas al desarrollo de síndrome metabólico y/o DM2. Aunque es claro que el cortisol es considerado como el elemento clave en los efectos generados por el estrés en alteraciones de las funciones de la insulina a nivel metabólico y que el CRF desempeña funciones importantes en la regulación de las respuestas conductuales relacionadas al estrés a través del eje HPA, en años recientes se ha determinado que este factor y las urocortinas (UCNs) se encuentran también implicados, tanto directa como indirectamente, en la regulación del balance energético en el SNC y posiblemente en el desarrollo de resistencia a la insulina. De hecho existe evidencia experimental de que los receptores CRF₁ y CRF₂ están altamente expresados en regiones hipotalámicas directamente asociadas con el control de la alimentación. Evidencias recientes sugieren además que el CRF, sus péptidos relacionados y sus receptores también están altamente expresados en varios tejidos periféricos regulando la homeostasis de la glucosa y el metabolismo energético, actuando localmente en tejidos metabólicamente importantes, como el músculo esquelético, el tejido adiposo, el tejido hepático y el páncreas. Por lo anterior, en el presente trabajo estudiamos el efecto del CRF y las UCNs en la regulación de las acciones de la insulina a través de la activación de los receptores CRF₁ y CRF₂. Nuestros resultados indican que la expresión del receptor CRF₁ en células COS-7 y su activación por CFR y UCN1, promueven sensibilización de la respuesta a la insulina a nivel de la activación de Akt y de la fosforilación de los sustratos protéicos de Akt, GSK3 y SK6. Este efecto parece ser mediado por un incremento en el estado activo del receptor de insulina (IR), ya que el pretratamiento con CRF induce un aumento en la fosforilación de la Tyr1158, inducida por la insulina. De manera interesante, la activación del receptor CRF₂ que se expresa de manera endógena en células musculares C2C12, por UCN2 disminuye la activación de ERK1/2, Akt y la incorporación de glucosa inducida por insulina. Encontramos que este efecto regulador negativo se asocia a una disminución de la fosforilación en tirosina del IR e IRS y posiblemente debido a un aumento en el estado de fosforilación en serinas de ambas proteínas. De esta forma, el CRF y las UCNs regulan de manera diferencial las acciones de la insulina en función del tipo de receptor activado.



Participación de la proteína E6* (estrella) de VPH-18 en la modulación de la vía de Wnt en Cáncer Cérvico-Uterino

Leslie Olmedo Nieva, Jesús Omar Muñoz Bello, Marcela Lizano Soberón.

Unidad de Investigación Biomédica en Cáncer, Instituto Nacional de Cancerología/Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.

Av. San Fernando No.22 Col. Sección XVI, México D.F., CP.14080 Tel.015556280400 Ext.133
leslie_azul25@hotmail.com

Introducción

La infección persistente por el Virus del Papiloma Humano (VPH) es el principal factor de riesgo para el desarrollo del carcinoma cervical. Los tipos virales más frecuentes en esta neoplasia y que son considerados como de alto riesgo (VPH-AR) son: VPH-16 y VPH-18, aunque se ha puesto particular interés en el VPH-18 debido a que se encuentra asociado a tumores más agresivos y con peor pronóstico. La proteína E6 de los VPH-AR presenta una acción clave en la progresión hacia la transformación maligna y se ha visto involucrada en la regulación de vías de señalización relacionadas con proliferación celular, como la vía de Wnt. Además se ha observado que en células tumorales infectadas con VPH18 se encuentra una forma pequeña del transcrito de E6 llamada E6*, proveniente del procesamiento alternativo. Las funciones de E6* actualmente son poco conocidas, y se ha descrito que esta isoforma no presenta un patrón de oncogenicidad o supresor de tumores, aunque se ha observado que en ciertos casos tiene un papel contrario a E6, por lo cual es de interés evaluar su participación en la vía de Wnt.

Material y métodos

Se utilizaron células HEK 293 transfectadas con los plásmidos p3XFLAG, p3XFLAG-E6, p3XFLAG-E6SM y p3XFLAG-E6*. Luego de esto se extrajeron proteínas totales a las 24 horas postransfección y se realizó la inmunodetección de las proteínas blanco de la vía de Wnt: c-JUN, c-FOS, c-MYC y ciclina D1 por Western blot. La expresión de los distintos productos de E6 fue confirmada en las células transfectadas mediante RT-PCR y Western Blot dirigido con anticuerpos dirigidos contra el fragmento Flag.

Resultados

Se logró la clonación y expresión de los distintos productos de E6 de VPH18 en células HEK 293. Actualmente se analiza si los niveles de las distintas proteínas de la vía de Wnt se encuentran modulados por E6 y E6*.

Conclusión

El estudio de la proteína E6* provee un amplio campo para la investigación de su papel en el desarrollo del cáncer cérvicouterino. La presencia mayoritaria del transcrito codificante para E6*, en relación con el de E6 completo, en algunas variantes del virus sugiere una acción importante tanto en la regulación de E6, como en posibles actividades independientes aun no descritas. Este trabajo cuenta con apoyo parcial de CONACyT PY 166808.



La proteína fosfatasa PP2C de *Leishmania* regula la apoptosis del parásito

Marco Ornelas-Cruces¹, Alma Reyna Escalona-Montaño¹, Norma Salaiza-Suazo¹,
Laila Gutiérrez Kobeh¹, Patricia García-López², Magdalena Aguirre-García¹

¹ Departamento de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Dr. Balmis 148, Col. Doctores, México 06726, D. F., México. Tel.: 56232657, E-mail: maquirre@unam.mx

² Laboratorio de Farmacología, Subdirección de Investigación Básica, Instituto Nacional de Cancerología, México D.F., México.

INTRODUCCIÓN. La muerte celular juega un papel crítico en el desarrollo y mantenimiento de la homeostasis en eucariontes. Actualmente, existen evidencias experimentales de muerte celular en eucariontes unicelulares incluyendo a los tripanosomátidos del género *Leishmania*. En estos parásitos, la apoptosis es inducida por diferentes estímulos como shock calórico, especies reactivas del oxígeno (ROS), ausencia de nutrientes y antiparasitarios, entre otros. Una vez que la apoptosis es desencadenada en estos parásitos, comienza la cascada de eventos comunes a la apoptosis de mamíferos como la producción de ROS, incremento de los niveles de Ca^{2+} citosólico, cambios en el potencial de membrana mitocondrial, exposición de la fosfatidilserina, liberación de citocromo c, inducción de proteasas y ruptura del DNA. Una proteína que ha sido relacionada con la muerte celular es la proteína fosfatasa PP2C ya que desfosforila sustratos intracelulares como las cinasas dependientes de ciclinas, MAPcinasas y Bad. La sanguinarina es un alcaloide aislado de la planta *Sanguinaria canadensis* que inhibe la actividad enzimática de la PP2C, induce la apoptosis en células tumorales y el mecanismo aun es desconocido. Se ha propuesto un modelo de inducción de apoptosis a través de la inhibición de la actividad enzimática de la PP2C y la fosforilación de la cinasa MAPp38 en células tumorales. Nuestro grupo ha clonado y caracterizado la PP2C en *Leishmania major* y *Leishmania mexicana* y ésta presenta características bioquímicas semejantes a la PP2C de eucariontes superiores. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue determinar si la PP2C de los promastigotes de ambas especies de *Leishmania* participa en la modulación de la apoptosis a través de la vía MAPp38.

MÉTODO. Los promastigotes de *L. major* y *L. mexicana* se incubaron con diferentes concentraciones de la sanguinarina por tres días. Transcurrido el tiempo se analizó la actividad de fosfatasa, se observó la apoptosis por la técnica de TUNEL y se identificó la fosforilación de la cinasa MAPp38 y la proteína antiapoptótica Bcl₂ por Western Blot.

RESULTADOS. La sanguinarina inhibió de manera dosis-dependiente el crecimiento de los parásitos y la actividad de fosfatasa en los extractos de ambas especies de *Leishmania*. Asimismo, la técnica de TUNEL permitió demostrar que a mayor concentración de sanguinarina hubo mayor porcentaje de parásitos en apoptosis. Los ensayos de Western Blot mostraron que existe una fosforilación en la cinasa MAPp38 de manera diferencial en ambas especies de *Leishmania*. Los resultados sugieren que la inhibición con sanguinarina de la PP2C incrementa la fosforilación de la cinasa MAPp38 e induce la apoptosis del parásito.

Este trabajo fue financiado por DGAPA-PAPIIT IN218412 y CONACYT 152433



Localización *in situ* de RhoA, su estado de activación y moléculas efectoras (ROCK1, ROCK2, PKN y Dia1) en la placenta durante la preeclampsia

Erika Gabriela Orozco Hernández¹, Alfredo Saavedra Molina¹, Alma Lilia Fuentes Farías², Salvador Manzo Avalos¹. ¹ Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, UMSNH. ² Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales, UMSNH. smanzo@umich.mx

La preeclampsia (PE) es un trastorno específico del embarazo, caracterizado por presentar hipertensión y proteinuria. La placenta es necesaria para que se origine la PE. La proteína RhoA es un regulador importante de las interacciones actina-miosina en las células del músculo liso de los vasos sanguíneos. Se ha demostrado que RhoA está involucrada en el desarrollo de la hipertensión arterial dada por la vasoconstricción y debido a esto pudiera contribuir a la etiología de la patogénesis de la PE. Estas GTPasas en estado activo (unidas a GTP) funcionan como interruptores moleculares interactuando con moléculas efectoras para generar respuestas celulares. Las moléculas efectoras ROCK1, ROCK2, PKN y Dia1 efectúan cambios en la actividad de la fosfatasa de la cadena ligera de miosina, generando un aumento en la actividad contráctil. Debido a su importancia y a los pocos antecedentes sobre la presencia de la proteína RhoA en placentas con PE, determinamos su localización *in situ*, su estado de activación y los niveles de sus moléculas efectoras en la vena (VU) y la arteria (AU) del cordón umbilical y en el cotiledón (CP) de placentas con PE. Los resultados del ensayo de inmunohistoquímica mostraron que RhoA se encuentra principalmente distribuida en la túnica íntima de los vasos sanguíneos del cordón umbilical y en los cotiledones de la placenta con PE. Por medio de la técnica pull-down, RhoA mostró un aumento significativo en su estado de activación en las muestras preeclámpticas a diferencia de los normales. Por Western blot se observó que los niveles de las proteínas PKN y Dia1 aumentaron en la VU, la AU y el CP en los tejidos preeclámpticos. ROCK2 mostró un aumento en el CP en las muestras preeclámpticas, no observándose en la VU y la AU. ROCK1 sólo estuvo presente en las muestras del CP con PE. Al encontrarse una diferencia en la localización *in situ* de la proteína RhoA, así como un aumento en su estado de activación y las diferencias en los niveles de sus moléculas efectoras en los tejidos preeclámpticos nos sugiere su posible participación en los procesos patológicos en los vasos sanguíneos involucrados en la hipertensión y como consecuencia su relación en la PE. **Agradecimientos:** los autores agradecen el apoyo parcial de la CIC-UMSNH (2.16, ASM; 2.37, SMA). EGOH es becaria de Conacyt (258546).



Efecto del flavonoide Naringina sobre la señalización intracelular inducida por el ácido lipoteicoico en cardiomiocitos de ratón neonatal (H9c2).

Ostoa Pérez María Fernanda, Gutiérrez Venegas Gloria

Laboratorio de Bioquímica, División de Estudios de Posgrado e Investigación, Facultad de Odontología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

Tel 56225554, correo electrónico: gloria@fo.odonto.unam.mx

Investigaciones recientes, fundamentadas en estudios epidemiológicos, sostienen que una infección local dental, como la periodontitis, incrementa el riesgo de diseminación a una infección crónica sistémica, por ejemplo, la endocarditis, que se desarrolla como resultado de la diseminación por vía hematogena de bacterias de la flora bucal, a causa de procedimientos traumáticos durante algunas terapias dentales; aproximadamente el 50% de los casos de endocarditis son causados por *Streptococcus sanguinis* y *Streptococcus mutans*, bacterias presentes en la placa dentobacteriana.

La superficie de *S. sanguinis* contiene ácido lipoteicoico (LTA). LTA al unirse al receptor de superficie celular CD14 y al receptor transmembranal TLR2 activa mecanismos de transducción como la activación de la familia de MAPK, que conducen a la liberación de citocinas proinflamatorias que finalmente convergen en la activación de un factor de transcripción, el factor nuclear kappa B (NFκB).

Por otra parte, los flavonoides son compuestos polifenólicos, que presentan una amplia variedad de actividades biológicas. La Naringina es una flavanona presente en frutas cítricas, se ha demostrado que presenta propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, anticancer, antibacteriales, así como propiedades antihipertensivas, además de reducir los niveles de colesterol en sangre, previniendo trombosis.

El efecto de algunos flavonoides en la regulación de vías de señalización inducidas por lipopolisacárido ya ha sido estudiado, sin embargo, para LTA no hay evidencia.

En el presente trabajo se estudió el efecto del flavonoide Naringina sobre la señalización intracelular inducida por LTA en cardiomiocitos de ratón neonatal (H9c2). Se realizaron ensayos dosis-respuesta mediante Western-Blot, un ensayo de viabilidad celular y un RT-PCR para analizar la expresión de IL-1β. La fosforilación de MAPK's (ERK y p38) así como la expresión de IL-1β es mediada por LTA en células H9c2 y ésta es inhibida con el tratamiento del flavonoide Naringina de manera dependiente de la dosis.



Perfil de expresión de moléculas antagonistas de la vía WNT en el osteoblasto.

Alma Y. Parra-Torres, Frank Jiménez-Ortega, Margarita Zepeda-Mendoza, Vanessa Cárdenas Repizo, Rafael Velázquez-Cruz.

Laboratorio de Genómica del Metabolismo Óseo, Instituto Nacional de Medicina Genómica. Periférico Sur No. 4809, Col. Arenal Tepepan, Delegación Tlalpan. México, D.F. C.P. 14610. Tel. 5350 1149. rvelazquez@inmegen.gob.mx

El osteoblasto es una célula de origen mesenquimal que se encarga de la formación de hueso durante el proceso de remodelado óseo, alteraciones en este proceso puede conducir a enfermedades tal como la osteoporosis, que se caracteriza por disminución de la masa ósea y en gran parte debido a la disminución de la actividad osteoblástica. El osteoblasto tiene la habilidad de producir y mineralizar matriz extracelular, este proceso es orquestado por la expresión selectiva de determinados genes, una de las vías que juegan un papel importante es la WNT. Se ha propuesto que la regulación de la vía WNT tanto negativa como positiva modula la función del osteoblasto y depende del estado de diferenciación de la célula. La familia de SFRPs comprende cinco moléculas que antagonizan la señalización WNT, poseen un dominio CRD similar al dominio CRD en los receptores FZDs e inhiben la señalización interactuando con este receptor o con las proteínas Wnt. Se propone que la expresión selectiva de estos genes regula la diferenciación osteoblástica y por lo tanto es necesario conocer el perfil de expresión de estas moléculas en el desarrollo del osteoblasto. *Objetivo:* Evaluar el perfil de expresión a nivel de mensajero de la familia de proteínas SFRP en cultivos de osteoblastos. *Método:* La línea celular osteoblástica hFOB 1.19 se cultivó a 37°C en una atmósfera de CO₂ durante 30 días. En diferentes tiempos las células se procesaron para determinar la expresión génica de *SFRP1*, *SFRP2*, *SFR3*, *SFRP4* y *SFRP5*, usando la técnica de PCR en tiempo real, el análisis se hizo por $\Delta\Delta Ct$. *Resultados:* Se encontró la expresión de todas las moléculas a excepción de *SFRP5*, lo que concuerda con lo que se ha reportado previamente. La expresión de *SFRP1* tiene la tendencia a incrementar con el tiempo durante la proliferación y mantenimiento durante la diferenciación. Por otro lado, *SFRP2* encuentra su pico máximo de expresión a mediados de la diferenciación mientras que *SFRP4* incrementa significativamente también durante esta etapa. La expresión de *SFRP3* permaneció constante a lo largo del tiempo. *Conclusiones:* Se observó *SFRP1* se expresa principalmente durante la etapa de proliferación y se expresa normalmente durante la diferenciación en donde hay mayor expresión de *SFRP2* y *SFRP4*. Los resultados indican que la expresión de los antagonistas SFRPs de la vía WNT son necesarias para el desarrollo del osteoblasto, por lo que son necesarios más estudios para determinar en detalle su papel en este proceso.



Efecto de mutaciones en la GTPasa Gpn3 descritas en cáncer, en la localización subcelular de la proteína fluorescente Gpn3-EYFP.

Sonia G. Peña Gómez, Angélica Y. Robledo Rivera, Roberto Sánchez Olea, Mónica R. Calera. Instituto de Física, UASLP. Av. Manuel Nava 6, Zona Universitaria, C.P. 78290, San Luis Potosí, SLP. Tel: (444) 826-2300 ext 5717. Email: mcalera@ifisica.uaslp.mx.

La proteína Gpn3 pertenece a una familia de GTPasas denominada GPN. Gpn3 es una proteína esencial y se encuentra presente desde la levadura hasta el ser humano. Gpn3 interacciona físicamente con la RNA polimerasa II (RNAPII) y nuestro grupo de trabajo demostró que esta GTPasa es necesaria para la función de la RNAPII a través de mediar su acumulación nuclear (Calera *et al.*, BBA. 2011, 1813:1708). Recientemente se reportó en la base de datos *Catalogue of somatic mutations in cancer* (COSMIC), que el gen GPN3 presenta diferentes mutaciones que resultan en un cambio de residuo en la proteína. La localización subcelular de las proteínas es un determinante fundamental de su función. En este proyecto se investigó el efecto de algunas de las mutaciones descritas en cáncer en Gpn3 (R3W, C27G, D101N, F211I y D223N) en la distribución subcelular de una proteína híbrida Gpn3-EYFP. Para esto se generaron líneas celulares MCF-12A que expresaron establemente la versión silvestre o alguna de las mutantes descritas en cáncer para Gpn3, fusionada a la proteína EYFP. La expresión de las proteínas quiméricas se determinó por Western blot con un anticuerpo específico para Gpn3 y su localización fue evaluada mediante microscopía de fluorescencia. Todas las líneas celulares generadas expresaron las proteínas quiméricas Gpn3-EYFP y éstas presentaron el peso molecular esperado. La mutante Gpn3-EYFP R3W mostró niveles proteicos notablemente menores a los de la proteína Gpn3-EYFP silvestre. Mientras que la proteína Gpn3-EYFP silvestre mostró una distribución citoplasmática, interesantemente, la mutante Gpn3-EYFP R3W se localizó preferencialmente en el núcleo celular. El resto de las mutantes examinadas se localizaron en el citoplasma, de manera indistinguible de la proteína silvestre. Nuestros resultados sugieren que Gpn3 sufre un ciclo de transporte núcleo-citoplasmático como parte de su función y que mientras la localización de la proteína silvestre en estado estable es estrictamente citoplasmática, la mutación R3W causa un desequilibrio en este ciclo, ya sea facilitando la entrada al núcleo o bien, dificultando la salida del mismo. Las consecuencias funcionales de la relocalización subcelular de la mutante de Gpn3 RW3 son sujeto de estudio en nuestro laboratorio. Este trabajo se realizó con los apoyos de los proyectos CONACYT no. 106139 a MRC y del Fondo de Salud-CONACYT no. 180825 a RSO.



miR-7 y miR-146 promueven la transformación celular y metástasis a través de inhibir al supresor de tumores Merlín

Erick Israel Pérez García, Yaxem López Sevilla, Karla Fabiola Meza Sosa, Nohemí Camacho Concha, Leonor Pérez Martínez & Gustavo Pedraza Alva. Departamento de Medicina Molecular y Bioprocesos. Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. Av. Universidad No. 2001, Col. Chamilpa, C.P. 62210, Cuernavaca, Morelos. Tel. (777) 3290869. gustavo@ibt.unam.mx

El producto del gen NF2, Merlín (**Moesin Ezrin Radixin like-Protein**) es una proteína determinante para la morfología y remodelación de la membrana celular, el crecimiento y la proliferación, así como para la motilidad e invasión celular; pero su función más importante es la de supresor de tumores. De acuerdo con esto, su inactivación ya sea resultado de mutaciones en la línea germinal o de mecanismos postraduccionales que alteran su estructura o promueven su degradación, se ha visto asociada a diversos tipos de cáncer.

Por otra parte, se ha descrito que los microRNAs (miRNAs) participan en la regulación de una amplia gama de procesos celulares. Dicha regulación se da por complementariedad de secuencia entre el miRNA y la región no traducida 3' (UTR 3') del mRNA blanco lo que resulta en una regulación negativa de la expresión génica a través de la inhibición traduccional o la degradación del mRNA. Adicionalmente, la desregulación de la expresión de los miRNAs se ha visto involucrada en diversos tipos de cáncer. Por lo tanto, hipotetizamos que Merlin puede ser regulado negativamente por miRNAs favoreciendo así el proceso de transformación celular.

Mediante análisis bioinformáticos y bioquímicos demostramos que la UTR 3' de Merlín es blanco directo de los miRNAs 7 y 146. Utilizando células A549 como modelo *in vitro*, demostramos que Merlín es blanco directo de estos miRNAs ya que la sobreexpresión de ambos, redujo los niveles proteicos de Merlín. La expresión constitutiva de miR-146 en estas células indujo proliferación celular así como una mayor capacidad de cicatrización y migración. De acuerdo con estos resultados, la expresión de miR-146 promovió la formación de tumores en ratones nu/nu. Aunque los tumores derivados de las clonas que expresan miR-146 no mostraron diferencias significativas en su masa con respecto a los derivados de las clonas transfectadas con el vector vacío, se observó la inducción de metástasis. Interesantemente, clonas que expresan miR-146 y una forma de Merlín resistente a miR-146, no formaron metástasis. La caracterización de las vías de señalización que favorecen el proceso de transformación celular y metástasis como resultado de la inhibición de Merlin por los miRNAs 7 y 146 en células A549 se discutirá.

Este trabajo fue financiado por la DGAPA/UNAM (IN227510, ININ209212) y el CONACYT (155290 y 154542).



Estudio de la superficie de interacción entre las GTPasas Gpn1 y Gpn3.

Ana Estela Pérez Mejía, Lucía Elizabeth Méndez Hernández, Angélica Y. Robledo Rivera, Roberto Sánchez Olea, Mónica R. Calera. Instituto de Física, UASLP. Av. Manuel Nava 6, Zona Universitaria, C.P. 78290, San Luis Potosí, S.L.P. Tel: (444) 826-23-00 ext 5717. Email: mcalera@ifisica.uaslp.mx

Las proteínas Gpn constituyen una familia de GTPasas formada por tres proteínas esenciales llamadas Gpn1, Gpn2 y Gpn3, las cuales se encuentran altamente conservadas desde la levadura hasta los humanos. En el reino de las arqueas existe solo una proteína Gpn, lo cual sugiere que las proteínas Gpn1, Gpn2 y Gpn3 surgieron a partir de la evolución de este precursor. Este origen explicaría la gran similitud en la secuencia primaria de aminoácidos que existe entre estas tres proteínas. Al ser parte de la familia de las GTPasas, las proteínas Gpn conservan las secuencias específicas que caracterizan a estas proteínas. Las proteínas Gpn, además de contar con este dominio G, tienen una secuencia de aminoácidos invariable de glicina-prolina-asparagina (GPN), la cual forma un dominio estructural característico en la proteína Gpn de arquea. Debido a que este motivo es invariable, le da el nombre a esta familia. Estudios recientes han demostrado que la acumulación nuclear de la RNA polimerasa II (RNAPII), enzima que sintetiza todos los RNA mensajeros, depende tanto de Gpn1 como de Gpn3. Asimismo, se ha reportado que ambas GTPasas interactúan con las subunidades Rpb1 y Rpb2 de la RNAPII. Existe evidencia experimental reciente que muestra que Gpn1 y Gpn3 interactúan entre sí formando un complejo, sin embargo aún no se ha determinado la superficie de interacción entre estas GTPasas. En este aspecto, en la levadura se ha reportado que la interacción entre estas proteínas se rompe al mutar un ácido glutámico inmediato al motivo G3. El presente proyecto tiene el propósito de identificar las regiones responsables de la interacción entre Gpn1 y Gpn3. Para esto generamos versiones mutantes de Gpn1 y Gpn3, y versiones truncas de Gpn1. Las construcciones moleculares obtenidas se co-transfectaron en células HEK 293/T17 y se determinó la asociación entre Gpn1 y Gpn3 mediante microscopía de fluorescencia en un ensayo de retención citoplasmática de una de las dos GTPasas fusionada a la proteína EYFP por un exceso de la otra GTPasa. Los resultados de interacción también se confirmaron en experimentos de inmunoprecipitación y Western blot con anticuerpos específicos para ambas GTPasas. Este trabajo se realizó con los apoyos de los proyectos CONACYT no. 106139 a MRC y el Fondo de Salud-CONACYT no. 180825 a RSO.



Rac1 regula la movilidad espermática a través de WAVE3 y la polimerización de actina

Danelia Ramírez Ramírez^{1,2}, Ana L. Roa Espitia¹, Humberto González Marquez², Enrique O. Hernández González¹.

¹Departamento de Biología Celular, CINVESTAV-IPN. Av. IPN 2508, San Pedro Zacatenco, México DF, México. CP07360.

²Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México DF,

Durante la capacitación la polimerización de actina y el desarrollo de la movilidad hiperactivada son dos procesos muy importantes para la adquisición de la capacidad fertilizante de los espermatozoides. Sin embargo el mecanismo molecular que regula dichos procesos no ha sido completamente dilucidado. En células somáticas Rac1 promueve la polimerización de la actina, a través de su interacción con WAVE (WASP-like verprolin-homologous protein) y la activación del complejo Arp2/3. Aunque Rac1 ha sido localizada en los espermatozoides de los mamíferos, su papel en la fisiología espermática es desconocido. El objetivo del presente trabajo es elucidar la función de Rac1 en los espermatozoides. Mediante microscopía confocal se estudiaron los cambios que sufría Rac1 durante la capacitación. Los resultados muestran que Rac1 cambia su localización durante la capacitación; en espermatozoides no capacitados Rac1 fue localizada en todo el acrosoma y a lo largo del flagelo, mientras que en los capacitados fue localizada en la zona apical del acrosoma y a lo largo del flagelo. Para determinar si Rac1 actúa a través de WAVE, mediante western blot se detectó la presencia de dicha proteína, encontrando a la isoforma WAVE3 (Mr.de 60 KDa). Por inmunofluorescencia y mediante microscopia confocal, WAVE3 fue encontrada principalmente a lo largo de todo el flagelo tanto en espermatozoides no capacitados como en capacitados. Por doble marcaje, se observó la colocalización de Rac1 y WAVE3 únicamente a lo largo del flagelo. Con el fin de determinar el papel de Rac1 en la capacitación los espermatozoides fueron capacitados en presencia de un inhibidor específico para Rac1 (NCS23766), observándose cambios sobre la movilidad y la morfología del flagelo, que fueron dependientes de la concentración del inhibidor: la movilidad sufrió una disminución en comparación con los controles, mientras que el flagelo adquirió una morfología curva. Para determinar si estos cambios se debían a cambios en la actina-F, esta fue analizada mediante faloidina-TRITC. Los espermatozoides tratados con NCS23766 mostraron una baja fluorescencia a lo largo del flagelo, en comparación a los espermatozoides capacitados. En conjunto todos los resultados nos sugieren una posible función de Rac1 en la morfología y movilidad del flagelo de los espermatozoides a través de la polimerización de actina, la cual podría estar mediada por WAVE3.



Caracterización del promotor del receptor tipo III para TGF β (betaglicano) en pez cebra

Lizbeth Ramírez-Vidal, Valentín Mendoza-Rodríguez, Ernesto Maldonado-Olvera, Andres Kamaid-Toth y Fernando López-Casillas.

Instituto de Fisiología Celular, UNAM. Circuito Exterior S/N Ciudad Universitaria, Coyoacán, 04510 México D.F. Tel. (55) 56225625. Email: lramirez@email.ifc.unam.mx

Betaglicano (BG) es un proteoglicano de membrana que une TGF β e inhibina a través de su dominio extracelular y bFGF a través de sus cadenas heparan sulfato. BG ha sido descrito como un correceptor accesorio cuya función primordial es presentar TGF β 2 con sus receptores de señal, sin embargo ratones KO para BG mueren durante la gestación entre los días E14.5 y E16.5 lo que sugiere que este receptor tiene funciones no descritas. Los promotores de BG en rata y ratón presentan elementos de respuesta que modulan la actividad del promotor en respuesta a reguladores de la miogénesis como ácido retinoico, TGF β y MyoD.

Con el propósito de estudiar mecanismos que regulan la expresión del BG en pez cebra, nos hemos dado a la tarea de caracterizar el promotor de su gen. En el presente estudio se clonó una secuencia de 3.0 kb río arriba al primer exón de BG de pez cebra, el análisis "in silico" indica que esta secuencia presenta sitios de unión a factores transcripcionales conservados en las secuencias promotoras de BG de rata y ratón. Experimentos de transfección de reporteros bajo el control del promotor del BG de pez cebra indican que la conservación con el promotor murino también es funcional.

El presente trabajo recibe apoyo de: CONACYT (131226) y PAEP.



El papel de las proteínas Rho y de ROCK en la regulación de la capacitación a través de la polimerización de actina

Tania Reyes Miguel, Ana L. Roa Espitia, Enrique O. Hernández González.

Departamento de Biología Celular, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN. Av. IPN 2508, San Pedro Zacatenco, México DF, México. CP07360.

La capacitación es el último proceso de maduración por el que pasan los espermatozoides de los mamíferos y que los habilita para fecundar al óvulo. La capacitación implica una serie de cambios bioquímicos, metabólicos y fisiológicos, entre ellos la remodelación del citoesqueleto de actina, este es un evento crucial para que la capacitación y la reacción acrosomal sucedan exitosamente y para que los espermatozoides sean fértiles. Durante la capacitación se genera la primera remodelación del citoesqueleto de actina, permitiendo la relocalización de actina en la región apical acrosomal, formando así una barrera física entre la membrana plasmática y membrana acrosomal externa, que impide su fusión. Por otro lado para que la reacción acrosomal suceda exitosamente, el citoesqueleto de actina previamente descrito, debe de ser fragmentado, permitiendo la fusión de ambas membranas y la liberación de enzimas hidrolíticas contenidas en la matriz acrosomal. No obstante, la regulación del citoesqueleto de actina en los espermatozoides no es bien conocida. En células somáticas, la remodelación de actina está regulada principalmente por la familia de proteínas Rho. Esta familia está compuesta por 22 miembros, siendo Rac1, Cdc42, RhoA y RhoB los más estudiados. En espermatozoides de mamífero se ha reportado la presencia de estas proteínas Rho en la región acrosomal y en el flagelo, pero su participación en la remodelación del citoesqueleto de actina es aún desconocida. El propósito de este trabajo fue determinar el papel de las proteínas RhoA y RhoB, así como de su cinasa (ROCK) sobre la dinámica del citoesqueleto de actina durante la capacitación y reacción acrosomal en el espermatozoide del cobayo. Nuestros datos muestran que RhoA fue localizada en la región acrosomal y el flagelo de espermatozoides no capacitados, y donde podría participar en el mantenimiento del citoesqueleto de actina. La función de la RhoA depende de sus cinasas ROCK-1 y -2, las cuales fueron localizadas en las mismas regiones donde RhoA fue localizada. Además, el inhibidor de las ROCKs (Y-27632) disminuyó la cantidad de actina-F presente en los espermatozoides, incrementándose tempranamente los patrones de capacitación y la reacción acrosomal. En cuanto a RhoB, esta proteína fue localizada en la región subacrosomal y no sufrió ningún cambio durante la capacitación, lo que nos sugiere que ella podría no participar en los procesos de capacitación y reacción acrosomal, aunque si en la biogénesis del acrosoma. En conclusión, sugerimos que RhoA podría estar relacionada con mantener al citoesqueleto de actina en los espermatozoides no capacitados y que durante este proceso ella es desactivada para permitir la despolimerización de actina y su repolimerización en otros sitios del espermatozoide, donde otras proteínas Rho, como Cdc42 o Rac-1 podrían participar. Adicionalmente, su inadecuada inactivación podría acelerar la capacitación y la presentación de la reacción acrosomal.

CONACYT: 79921



Determinación de la activación del receptor c-Kit, PI3K/AKT, Src en linfoblastos BCR-ABL positivo en cultivo.

Reyes Sebastián Josefina. ENCB-IPN. Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n, Col. Santo Tomas C.P. 11340 Del. Miguel hidalgo. Tel 57296000 ext: 62393 correo:

ralezama@hotmail.com

En la leucemia linfoblástica aguda (LLA) puede presentarse la translocación t(9;22) la cual da origen a BCR-ABL, una tirosina cinasa no regulada que activa un amplio número de vías de señalización. En nuestro laboratorio se han estudiado células de pacientes con LLA que son BCR-ABL positivo y negativo; observándose en ambos casos la activación de las cinasas Src, PI3K/AKT, el factor de transcripción NF- κ B y una sobreexpresión de proteínas antiapoptóticas cIAP-1, BCL-2. Sin embargo, lo observado en los pacientes BCR-ABL negativos sugiere que otra cinasa diferente de BCR-ABL o receptor está activando a PI3K/AKT y Src. Un posible candidato podría ser un receptor de membrana como c-Kit; así mismo, no se puede excluir que este receptor este también presente en células BCR-ABL positivas. Por lo cual, el objetivo de este proyecto es evaluar el efecto de la activación del receptor c-Kit sobre la fosforilación de cinasas como AKT y Src, en linfoblastos BCR-ABL positivos en cultivo. Se determino el inmunofenotipo de la línea celular SUP-B15 por citometría de flujo, donde observamos que la línea celular SUP:B15 corresponde a linfoblastos en estadio Pre-B y con una expresión de 87% de c-Kit. Por inmunofluorescencia se comprobó que los linfoblastos expresan c-Kit; además de su activación e inhibición en presencia del su ligando factor de células tallo (SCF) y de SCF más el inhibidor del receptor. Se encontró que c-Kit aumenta la activación de PI3K/AKT al estimular las células con SCF. Observamos que al tratar las células con el inhibidor de Src disminuye la activación de PI3K/AKT lo cual indica que después de ser activado c-Kit, Src se activa primero que PI3K/AKT. Además, que la activación de c-Kit influye en la fosforilación de Src. Nuestros resultados sugieren que en linfoblastos BCR-ABL positivos puede establecerse una vía de señalización dependiente de c-Kit que involucra a PI3K/AKT y Src.



El colágeno tipo IV nativo induce activación de la vía PI3K/AKT/NFκB y migración celular en la línea de cáncer mamario MDA-MB-231

Emmanuel Reyes Uribe, Pedro Cortes Reynosa, Eduardo Pérez Salazar.

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (Cinvestav-IPN).

Departamento de Biología Celular, Cinvestav-IPN, Av. Instituto Politécnico Nacional # 2508, San Pedro Zacatenco, México, D. F., 07360, México.
Tel.: +52 55 5747 3800 ext. 5584; e-mail: jperez@cell.cinvestav.mx

La migración de las células tumorales mamarias y el establecimiento de la metástasis requieren de la degradación de la matriz extracelular, de manera particular, la membrana basal que rodea las células del epitelio mamario. La membrana basal está implicada de manera importante en diversos procesos celulares como son crecimiento, proliferación, migración y diferenciación. Estructuralmente está conformada en su mayor parte por colágeno tipo IV.

En los últimos años se ha descrito la participación de diferentes receptores en la progresión y metástasis del cáncer mamario. Los receptores con dominio de discoidina (DDR's) son receptores con actividad de tirosina cinasa (RTK's) que pueden reconocer colágeno en su conformación triple helicoidal nativa. La familia de los DDR's está compuesta por dos miembros, los DDR1 y los DDR2, particularmente los DDR1 reconocen el colágeno del tipo I, IV y el tipo VIII, mientras que los DDR2 reconocen colágeno fibrilar como el tipo I y el tipo III.

En el presente trabajo demostramos que el colágeno tipo IV nativo induce migración en las células de cáncer mamario de la línea MDA-MB-231, siendo dicho efecto dependiente de la activación del DDR1 y de la vía PI3K / AKT; además determinamos que el DDR1 promueve la activación del factor de transcripción NFκB, estando este factor de transcripción implicado en cáncer mamario en la expresión de genes que participan en procesos de sobrevivencia, proliferación, invasión, angiogénesis e inflamación.

Programa apoyado por el CONACYT

Investigación financiada por donativo de CONACYT (83802)



Estudio de la Cinética de Ensamblamiento del Virus del CCMV Mediante la Generación de Mutantes en la Superficie de la Cápside del Virus Acopladas con Alexa 546

Elizabeth ReynagaHernández, Mario Alberto Martínez Partida, Adriana Margarita Longoria Hernández, Nehemías Leija Martínez, Rubén Darío Cadena Nava, Jaime Ruíz García

Instituto de Física, Universidad Autónoma de San Luis Potosí

La dinámica de ensamblado del Cowpea Chlorotic Mottle Virus (CCMV) y los diferentes tipos de arquitecturas, pueden ser logradas variando las condiciones de ensamble. El entendimiento de estos sistemas se ha logrado mediante mutaciones en las subunidades proteicas y su análisis de ensamblaje *in vitro*. Basado en la estructura cristalina del CCMV obtenida por difracción de rayos-X, se ha postulado que hexámeros de dímeros nuclean el proceso de ensamble. En contraste, para Zlotnick y colaboradores en estudios *in vitro* con subunidades del CCMV en ausencia de RNA, son pentámeros de dímeros los que nuclean el ensamble.

Aunque ha habido estudios de dinámica de ensamblado-desensamblado del CCMV, existen etapas desconocidas como el esclarecimiento de la distribución de poblaciones de las diferentes estructuras formadas por las proteínas de la cápside bajo condiciones de pH y fuerza iónica. El objetivo del proyecto fue construir proteínas mutantes de la cápside del CCMV, para adherir una molécula fluorescente en su superficie externa. Esto nos permitirá seguir el autoensamblamiento de las proteínas de la cápside *in vitro*, conforme lleguen e interaccionen con el RNA viral, el cual se sujeta a una superficie de vidrio mediante un complejo Silano-PEG-Biotina. Se ha generado la mutación K131C en la proteína de la cápside del CCMV y se está en proceso de producción de la proteína para su análisis y caracterización, lo que facilitará la unión a Alexa 546 para estudiar la dinámica de interacción y acoplamiento de las proteínas individuales del CCMV a su genoma mediante fluorescencia de fotones individuales.



Degradación de las oncoproteínas Ski y SnoN por el antibiótico anisomicina en células de melanoma

Diana Grisel Ríos-López, Jacqueline Hernández-Damián, Marcela Sosa-Garrocho y Marina Macías-Silva

Departamento de Biología Celular y Desarrollo, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F 04510, mmacias@ifc.unam.mx Tel: (52) (55) 56225729

El Factor de Crecimiento Transformante β (TGF β) es una citocina que participa en el mantenimiento de la homeostasis celular y es reconocido por sus efectos antiproliferativos. Su vía de señalización es a través de las proteínas Smad2 y 3 que se activan al ser fosforiladas por el receptor ALK5; una vez activadas, oligomerizan con Smad4 y translocan al núcleo donde regulan a sus genes blanco. Esta señal es regulada negativamente por los correpresores transcripcionales Ski y SnoN.

En cáncer, existe una disminución de la respuesta celular al efecto antiproliferativo del TGF β y se ha relacionado con un incremento de los niveles de las proteínas Ski y SnoN, considerando así, que estas proteínas podrían bloquear los efectos antiproliferativos del TGF β ; sin embargo, su función ha resultado ser más compleja debido a que dependiendo de sus niveles proteicos pueden actuar como supresores de tumores o como oncoproteínas.

Para estudiar la estabilidad de las proteínas Ski y SnoN, empleamos el antibiótico anisomicina que de manera independiente a sus efectos ribotóxicos puede dependiendo del tipo celular, regular negativamente los niveles proteicos tanto de Ski como de SnoN, en un mecanismo que requiere de la participación del receptor tipo I de TGF β (ALK5) pero no así la activación de las proteínas Smad2 y 3.

Smads 2 y 3. Debido a que la anisomicina emplea componentes iniciales GF β como ALK5 para degradar a Ski y SnoN, en este trabajo, empleando un modelo de líneas celulares de melanoma que carecen de filamina A (células M2) y sus derivadas que presentan filamina (células A7), hemos determinado que filamina A también es importante en el mecanismo de anisomicina para inducir la degradación de Ski y SnoN.

Este trabajo está apoyado por donativos de PAPIIT/DGAPA/UNAM y CONACYT.



Caracterización de PHB2 y PBX3 como correguladores del receptor de andrógenos en líneas celulares de cáncer de próstata.

Miguel A. Rivas-Torres, Ángel Salmerón-Hernandez, Yamilet Noriega-Reyes, Noemi Baranda-Ávila y Elizabeth Langley*

*Subdirección de Investigación Básica, Unidad de Investigación Biomédica en Cáncer, Instituto Nacional de Cancerología. Av San Fernando No.22, Col Sección XVI, México, D.F., C.P. 14080. E-mail: rivastorres1984@hotmail.com

ANTECEDENTES: La próstata es órgano blanco de andrógenos los cuales son requeridos para estimular su crecimiento y proliferación normal e inhibir la muerte por apoptosis. Es poco conocida la etiología molecular que precede al Cáncer de Próstata (CaP), sin embargo se sabe que el Receptor de Andrógenos (AR) juega un papel primordial. AR es un factor de transcripción ligando dependiente, que al ser activado por Testosterona y la Dihidrotestosterona (T y DHT), sufre un cambio conformacional provocando una translocación al núcleo para unirse al DNA en Elementos de Respuesta a Andrógenos (ARE's) de los promotores de genes regulados por AR, donde recluta proteínas accesorias llamadas correguladores que modulan positiva (coactivadores) o negativa (correpresores) la actividad transcripcional del receptor. Con el fin de encontrar factores que interactuaran con AR en presencia de Flutamida, se realizó un ensayo de doble híbrido en levaduras, utilizando como carnada a AR para tamizar una genoteca de cáncer de próstata recurrente CWR22. Se identificaron las proteínas PHB2 y PBX3: PHB2, también llamado REA (Represor of Estrogen Receptor Activity), es correpresora de ERα por reclutar HDAC's. PBX3 es un Factor de transcripción pertenece a la familia de proteínas TALE, expresado principalmente en etapas embrionarias y reguladas por Acido retinóico.

OBJETIVOS Y METODOS:

- Mediante Pull-Down con GST y Coimmunoprecipitaciones se verificará la interacción de los posibles correguladores con el AR *In Vitro* e *In Vivo*.
- Mediante Inmunoprecipitación de Cromatina se Determinará si la interacción se lleva a cabo sobre promotores de genes con ARE's
- Para determinar la influencia de los correguladores sobre la actividad transcripcional de AR en presencia y ausencia de ligandos agonistas y antagonistas se realizarán Transfecciones transitorias de reporteros de luciferasa con promotores regulados por AR

RESULTADOS:

PHB2: Ensayos de Pull-down muestra interacción directa entre PHB2 con diferentes fragmentos de AR. Esta interacción es más fuerte en la región amino terminal. Ensayos de coimmunoprecipitación muestran evidencia que PHB2 mantiene interacción con complejos donde también se encuentra AR *in vivo* no importando que este activado por un ligando agonista o antagonista. En células de cáncer de próstata 22Rv1 y DU145 y en células CV1, PHB2 reprime la actividad transcripcional de AR de manera dosis dependiente a la cantidad de DNA transfectado en presencia de DHT y Flutamida.

PBX3: Ensayos de pull-down mostraron interacción directa entre PBX3 con diferentes fragmentos de AR, esta interacción es más fuerte en la región amino terminal. Ensayos de coimmunoprecipitación muestran evidencia que PHB2 mantiene interacción con complejos donde también se encuentra AR *in vivo*. En células de cáncer de próstata 22Rv1 y DU145 y en células CV1, PBX3 reprime la actividad transcripcional de AR en presencia de DHT y Flutamida; este efecto aumenta gradualmente dependiendo de la concentración de ADN transfectado.

CONCLUSIONES: Se demostró que PHB2 y PBX3 interaccionan con el Receptor de Andrógenos y funcionan como correpresores transcripcionales al ser activado por ligandos agonistas y antagonistas en un contexto de Cáncer de Próstata.



Los Ácidos Grasos y la Proteína Cinasa C inducen la Activación del GPR120 (El receptor 4 para Ácidos Grasos)

Ma. Teresa Romero-Ávila^a Omar B. Sánchez-Reyes^a, , Jean A. Castillo-Badillo^a, Yoshinori Takei^b, Akira Hirasawa^b, Gozoh Tsujimoto^b, Rafael Villalobos-Molina^c and **J. Adolfo García-Sáinz^a**

^aInstituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México. Ap. Postal 70-248; México D. F. 04510; ^bGraduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606-8501, Japan; ^cUnidad de Biomedicina, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, Tlalnepantla, Mexico.

El receptor 4 para Ácidos Grasos, el GRP 120, es un receptor acoplado a proteínas G recientemente des-huerfanizado, que se ha visto que juega un papel esencial en la regulación del metabolismo y en la patología del proceso de inflamación y de los desordenes metabólicos como la diabetes tipo II. En éste trabajo una fusión del receptor con la proteína Venus fue expresada en las células HEK293 Flp-In T-Rex y su función ha sido determinada por el estudio de la movilización de Ca^{2+} intracelular y por fosforilación. Se observo que la proteína de fusión migra en geles de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes, como una banda de una masa de 70-75 kDa, sin embargo otras bandas de un aparente peso molecular alto (>130 kDa) fueron también detectadas. La estimulación de las células con ácido decosahexanóico (DHA) o con ácido Linolénico inducen una movilización de Ca^{2+} intracelular dependiente de la concentración de la dosis, de igual forma se produce una fosforilación del receptor GPR120 . La activación directa de la Proteína Cinasa C con esteres de Forbol (PMA) inducen también una marcada fosforilación del receptor, pero no alteran la capacidad de 1 μ M de DHA para aumentar la concentración del calcio intracelular. Los esteres de forbol inducen la fosforilación del receptor GPR120, pero la fosforilación inducida por el DHA no fue bloqueada por inhibidores de la Proteína Cinasa C (la bisindolindil – maleimida I y el Gö 6976) sugiriendo que las isoformas convencionales de las cinasas median está acción. La ausencia de efectos de los inhibidores sobre la fosforilación del receptor GPR120 indica que estas cinasas no juegan un papael mayoritario en la fosforilación inducida por el agonista. El DHA induce una marcada inducción de la internalización, mientras que la inducida por esteres de forbol fue pequeña.

Apoyado por proyecto de CONACyT 153278



CD38 promueve la proliferación y fosforilación de ERK en precursores de linfocitos B de médula ósea de ratones C57BL/6.

Héctor Romero-Ramírez H, Monserrat Teresa Morales-Guadarrama, Rosana Pelayo, Rubén López-Santiago, Leopoldo Santos-Argumedo.

Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV). Av. IPN #2508, col. San Pedro Zacatenco, Del. Gustavo A. Madero, CP. 07360 México, DF. Tel: 5557473323 lesantos@cinvestav.mx

Durante el desarrollo en la médula ósea, en cada una de las fases de la diferenciación, el linfocito B recibe diferentes estímulos que promueven su maduración o su muerte por apoptosis. CD38 es una glicoproteína transmembranal que se encuentra expresada en células hematopoyéticas humanas y en linfocitos B murinos. CD38 activa la vía de señalización de ERK en las células B y T de humanos. Aunque ERK participa en la activación de linfocitos B maduros de ratón, se desconoce si ocurre lo mismo en las células B inmaduras. Por ello se decidió estudiar las moléculas que participan en la vía de señalización de CD38 y que intervienen en la ontogenia del linfocito B.

Se analizó la expresión de CD38 en los diferentes estadios de células B residentes en médula ósea (prepro B, pro B, pre B y B inmaduras). Se purificó cada una de estas poblaciones, y se estimularon con anti-IgM, LPS y con anti-CD38. Con estas células se hicieron ensayos de proliferación o apoptosis. También se compararon estas mismas poblaciones de la médula ósea de ratones silvestres o deficientes de CD38. CD38 se expresa desde el estadio preproB hasta las células B inmaduras, incrementando la expresión conforme las células van madurando. No se detectó la apoptosis en las células de la médula ósea inducida por el entrecruzamiento del CD38, ni tampoco diferencias en los números absolutos o el porcentaje de las poblaciones de linfocitos B de médula ósea entre el ratón silvestre y el deficiente de CD38. En cambio, el entrecruzamiento de CD38 indujo la proliferación de las células B inmaduras, coincidiendo con la fosforilación de ERK. Ambos fenómenos fueron independientes de la actividad enzimática de CD38. En conjunto estos resultados muestran la importancia de CD38 en la diferenciación de los linfocitos B.



Cambios en la morfología del citoesqueleto de actina en la célula glial de Bergmann después de exposición a etanol y glutamato.

Rebeca Rosas, Yadira Bastián, J Alfredo Méndez

Laboratorio de Biofísica Molecular, Instituto de Física. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Manuel Nava 6, Zona Universitaria. San Luis Potosí, México. CP 78240. (444)826-2300 X 5716

En la corteza cerebelar se lleva a cabo el procesamiento y la regulación de la función vestibular, el aprendizaje motriz y la plasticidad sináptica adaptativa entre otros. Estas funciones se codifican mediante la actividad sináptica que establecen la fibra paralela y la fibra trepadora con la célula de Purkinje. Estas sinapsis se encuentran rodeadas, y por lo tanto aisladas, por los procesos lamelares de las células gliales de Bergmann, por lo que la célula glial de Bergmann regula dinámicamente el funcionamiento de estas sinapsis, por ejemplo, la modificación de la permeabilidad a calcio en la célula glial de Bergmann induce un cambio en la morfología de los procesos lamelares de Bergmann y conlleva a un incremento en la amplitud de las corrientes derivadas de los receptores AMPA en la célula de Purkinje. Los cambios en la morfología de los procesos lamelares de Bergmann debe involucrar cambios en la estructura del citoesqueleto de la célula glial de Bergmann por lo que, el presente trabajo evalúa la participación de RhoA en la regulación dinámica del citoesqueleto de actina en la célula glial de Bergmann.

Tras la estimulación de rebanadas de cerebelo de ratón con glutamato 200 μ M o etanol 50 mM se indujo, versus control, un incremento en los niveles de RhoA activa. Estos cambios se acompañaron con un cambio en la organización en el citoesqueleto de actina, el cual fue revertido mediante el uso de GDP γ s.

La proteína G pequeña RhoA es parte de la vía de señalización que regula el citoesqueleto de actina, tanto FAK como PI3K y PKC, moduladores clásicos de RhoA, se activan en las células gliales de Bergmann tras la estimulación de los receptores AMPA. El presente trabajo muestra que una de las vías de señalización que participa en la remodelación del citoesqueleto en células gliales de Bergmann involucra a RhoA y que estos cambios pueden suceder en el corto plazo.

*Proyecto financiado mediante el proyecto PROMEP 103.5/10/7324 y UASLP-FAI C10-FAI-05-55.84



Estudio de la participación de las microvesículas secretadas por las células MDA-MB-231 estimuladas con colágena tipo IV nativa en el proceso de migración de las células MCF10A

Cecilia Yazmín Rodríguez Monterrosas, José Eduardo Pérez Salazar.
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico
Nacional.

Departamento de Biología Celular, Cinvestav-IPN, Av. IPN #2508.

San Pedro Zacatenco, México, DF 07360, México.

e-mail: jperez@cell.cinvestav.mx

El cáncer de mama es una grave amenaza para la salud de la mujer a nivel mundial. En México, desde el 2006 es la principal causa de muerte en mujeres, superando al cáncer cervicouterino. Diversos estudios han establecido variantes encontradas en células cancerosas con respecto a células sanas, como es el caso del receptor DDR1 cuya activación se lleva a cabo por la colágena tipo IV nativa y es sobreexpresado en cáncer mamario. Colágena tipo IV es el principal componente de la lámina basal (LB), la cual promueve procesos de adhesión y motilidad. La invasión tumoral y metástasis requiere la degradación de la matriz extracelular (MEC), al igual que el remodelamiento del tejido. En particular, la habilidad de degradar y penetrar la LB está relacionada con un incremento en el potencial metástasico. En la progresión tumoral es importante la comunicación intercelular, donde ha tomado importancia un nuevo tipo de comunicación basado en pequeñas partículas esféricas denominadas microvesículas (MVs). Las MVs son secretadas de forma basal. Sin embargo, se ha observado que en diferentes tipos de neoplasias se encuentra un número elevado de MVs circulantes en sangre. El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto de la colágena tipo IV sobre la secreción de MVs derivadas de la línea celular MDA-MB-231, con posterior análisis del papel que desempeñan las MVs en el proceso de migración. Nuestros resultados muestran que la colágena tipo IV induce un incremento de los niveles de MVs secretadas, sugiriendo que dicho proceso podría estar regulado a través de una ruta dependiente de DDR1. Así mismo, la colágena tipo IV promueve la secreción de FAK y ERK 1/2 asociado a MVs, así como la migración de las células no tumorales MCF10A.

Programa apoyado por el CONACYT

Investigación financiada por donativo de CONACYT (83802)



“Análisis del sinergismo entre BCAS2 y otros coactivadores del receptor de estrógenos α en células de cáncer de mama”

Angel Salmerón-Hernández, Miguel Angel Rivas-Torres, Noemi Baranda-Avila, Elizabeth Langley-McCarron*
Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Instituto Nacional de Cancerología, Doctorado en Ciencias Biomédicas. Av. San Fernando #22, Col. Sección XVI, Delegación Tlalpan, C.P.14080. México, D.F. *correo electrónico: langleyemx@gmail.com

Antecedentes. Se ha demostrado que los estrógenos representan un factor crítico para la carcinogénesis mamaria (McPherson *et al.*, 2000). El receptor de estrógenos contiene dos dominios de activación, conocidos como AF-1 y AF-2. La región de transactivación AF-1 es ligando-independiente, la región de transactivación AF-2 activa genes blanco en respuesta a la estimulación por el ligando (Xu *et al.*, 1999; Qi *et al.*, 2000). El receptor de estrógenos regula la transcripción por medio de coactivadores y correpresores. Una proteína que funciona como coactivadora y que se une a receptores nucleares es BCAS2 (breast cancer amplified sequence 2) (Qi *et al.*, 2005; Noriega-Reyes, en preparación). Se sabe que BCAS2 interactúa con el receptor de estrógenos en la región amino-terminal. Se ha demostrado que la sobreexpresión de esta proteína tanto in vivo como in vitro es capaz de aumentar la actividad transcripcional mediada por ER así como incrementar la proliferación estrógeno-regulada de células MCF7 de cáncer de mama. Así mismo, cuando BCAS2 es silenciado con siRNA se observó que disminuye la transcripción de genes blanco y la proliferación de células MCF7 (Qi *et al.*, 2005). **Objetivo:** Analizar el sinergismo entre BCAS2 y otros coactivadores del receptor de estrógenos α en células de cáncer de mama.

Metodología: En células de cáncer de mama MCF-7 se observó actividad transcripcional sobreexpresando BCAS2 en presencia de SRC1 y el analizando por medio de ensayos de luciferasa. Así mismo también se hacen co-transfecciones de BCAS2 y TIF2, AIB1 (familia p160) y CBP. Se utilizaron cajas de cultivo de 24 pozos y se sembraron 70, 000 células en cada pozo. Se realizaron estímulos con 10nM de E2, 100nM de Tamoxifen o una combinación de ambos, en presencia de suero fetal bovino libre de hormonas.

Resultados: Se analizó la expresión de BCAS2 en respuesta a estradiol y tamoxifen, de manera preliminar se observa que no hay cambios en los niveles de expresión. Las células transfectadas con BCAS2 y tratadas con E2 incrementan su actividad transcripcional mediada por el receptor de estrógenos, al tratamiento con tamoxifen se disminuye su actividad transcripcional, sin embargo, cuando las células reciben el tratamiento de E2 y tamoxifen las células recuperan su actividad transcripcional. BCAS2 y SRC-1 no mostraron actuar sinérgicamente en respuesta al tratamiento con estrógenos, sin embargo, de manera interesante se observó que BCAS2 podría estar participando en la resistencia al tamoxifen.

Referencias.

- Mcpherson, K., Steel, C. M & Dixon, J. M. ABC of breast diseases. Breast cancer epidemiology, risk factors, and genetics. (2000) BJM, 321, 624-8
- Noriega-Reyes MY, MA Rivas-Torres and Langley E. BCAS2 Regulates Estrogen Receptor Transactivation Functions Through AF1 (en preparación).
- Qi Chao, Yiwei Tony Zhu, Jeffrey Chang, et al. Potentiation of estrogen receptor transcriptional activity by breast cancer amplified sequence 2. Biochemical and Biophysical Research Communications 328 (2005) 393–398
- Qi, Y. Zhu, J.K. Reddy, Peroxisome proliferator-activated receptors, coactivators, and downstream targets, Cell Biochem. Biophys. 32 (2000) 1–18.
- Xu, C.K. Glass, M.G. Rosenfeld, Coactivator and corepressor complexes in nuclear receptor function, Curr. Opin Genet. Dev. 9 (1999) 140–147.



Participación de canales de K^+ Slo en la hiperpolarización asociada a la capacitación del espermatozoide de humano

Oscar Sánchez Carranza¹, Ignacio López González¹, Paulina Torres Rodríguez¹, Alejandra Solís López¹, Celia María Santi², Alberto Darszon¹ y Claudia Lydia Treviño¹.

¹Departamento de Genética del Desarrollo y Fisiología Molecular, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México.

²Department of Anatomy and Neurobiology, Washington University School of Medicine, USA.

Dirección: Av. Universidad 2001, Cuernavaca, Morelos, C.P. 62210, México.
Teléfono: (777) 329-1611. e-mail: ctrevino@ibt.unam.mx

La fecundación en animales de reproducción sexual consiste en la fusión del espermatozoide y del ovocito. El espermatozoide está equipado para encontrar, reconocer y unirse con el ovocito. Para que esto ocurra, el espermatozoide debe estar preparado a cambios constantes en el ambiente y sobrepasar muchas barreras físicas. Después de la diferenciación en el testículo, los espermatozoides continúan madurando en el epidídimo, y en el tracto femenino experimentan una capacitación, proceso complejo que se caracteriza por modificaciones fisiológicas y que prepara a los espermatozoides para llevar a cabo la reacción acrosomal una vez que se encuentra con el ovocito. Entre las modificaciones fisiológicas que ocurren en la capacitación están la remodelación de la membrana plasmática, fosforilación de tirosinas en proteínas, incremento de pH y Ca^{2+} intracelulares. En algunas especies como ratón, toro y caballo, la capacitación también se acompaña de una hiperpolarización de la membrana. Las entidades moleculares y los mecanismos involucrados en la hiperpolarización todavía no se conocen del todo. Sin embargo, los espermatozoides de ratón que no expresan el canal de K^+ Slo3, además de otros defectos, no se hiperpolarizan durante la capacitación y son infértiles. Hasta la fecha, los estudios en espermatozoides de humano no aportaban una clara evidencia de que existiera una hiperpolarización asociada a la capacitación. En este trabajo, nosotros determinamos por citometría de flujo que existe una subpoblación de espermatozoides de humano que presentan una hiperpolarización después de la capacitación. Este cambio en el potencial de membrana ($E_{m_{rep}}$) se bloquea completamente con altas concentraciones extracelulares de K^+ y es parcialmente sensible a diversos bloqueadores de canales de K^+ . Además, observamos que la expresión heteróloga en células CHO del canal Slo3 de humano (hSlo3) causa una hiperpolarización del $E_{m_{rep}}$ de esas células. El perfil farmacológico del canal hSlo3 expresado en las células CHO es consistente con la inhibición de la hiperpolarización del $E_{m_{rep}}$ causada por bloqueadores de canales de K^+ en espermatozoides de humano. Todos estos resultados nos dan evidencia que al menos dos canales de K^+ , posiblemente Slo1 y Slo3, participan en este proceso.



Activación de la región promotora del gen Fra-1 por el complejo β -Catenina/TCF en la línea celular CasKi de cáncer cérvicouterino

Jessica Nayelli Sánchez Carranza¹ y Leticia González Maya²

Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos ¹⁻²

Av. Universidad 1001. Col. Chamilpa. Cuernavaca, Morelos. C. P. 62209

E-mail: jes_chazaq@hotmail.com¹, letymaya@uaem.mx²

Introducción

La infección del virus del papiloma humano (VPH) particularmente de alto riesgo, es un factor importante y necesario, más no suficiente para desarrollar cáncer cérvico-uterino (CaCU). Razón por la cual existe un particular interés en identificar otras alteraciones celulares que promuevan la transformación celular. En CaCU se han identificado alteraciones en la vía Wnt (β -catenina). Por inmunohistoquímica se mostró a la proteína β -catenina deslocalizada, y el empleo de genes reporteros permitió cuantificar su actividad como factor de transcripción. La acumulación citoplasmática de esta proteína y su posterior translocación al núcleo, promueve su función como factor de transcripción al formar un complejo con los miembros de la familia TCF, e induce la expresión de genes involucrados en el control de la proliferación celular como c-Myc, MMP7, Fra-1, c-Jun, asociados al desarrollo de diferentes tipos tumorales. Por lo anterior, resulta de suma importancia estudiar la contribución que pudiera tener este complejo en la activación de oncogenes en CaCU, particularmente aquellos que estén involucrados en la activación de la expresión de los oncogenes virales del VPH, como Fra-1 y c-Jun.

Objetivo

Determinar el papel del complejo β -catenina/TCF en la activación de la región promotora del gen Fra-1 en la línea celular CasKi con HPV 16.

Metodología

1.- Plásmidos y construcciones. Se amplificó por PCR la región promotora del gen Fra-1 utilizando el kit Pyromix Start (Fermentas). Se digirió fragmento amplificado y el vector pGL2 (Luciferase Reporter Vectors, Promega) con las endonucleasas: KpnI(Biolabs) y SacI (Fermentas), se purificaron ambos por el método de gel (Qiagen). Se ligó vector:inserto con ligasa T4 (Fermentas) incubando a 22°C por 12 hrs. Posteriormente se transformaron células competentes DH5 α , se realizaron mini-preparaciones de DNA plasmídico. Se verificaron clones positivos por PCR. Las regiones clonadas se analizaron por secuenciación directa usando el kit Big Dye V3.1 (Applied Biosystems).

2.-Transfecciones. Para el análisis de la activación de de Fra-1 por el complejo β -catenina/TCF, se realizó la transfección del plásmido pGL2FRA-1 en las células CasKi y SW480 en placas de 96 pozos, con un total de 100 ng de DNA plasmídico y 5 μ l de lipofectamina (Invitrogen). Se determinó la actividad Luciferasa 48 h después transfección por luminiscencia con el kit Luciferase Duo (Promega) en un luminómetro. Se realizaron 3 repeticiones independientes. Se realizó un análisis estadístico de ANOVA con un valor de $p < 0.05$.

Resultados. Se obtuvieron clones positivos pGL2FRA-1 verificados por PCR y secuenciación. Los resultados de la actividad luciferasa indican que el complejo β -catenina/TCF tiene actividad como factor transcripcional sobre el promotor del gen Fra-1 acoplado al gen reportero luciferasa en la línea celular CasKi y SW480. La especificidad de la activación fue determinada por medio de un TCF mutante negativo, el cual fue capaz de reprimir la activación transcripcional del gen de luciferasa.

Conclusiones.

El complejo β -catenina/TCF presenta actividad como factor transcripcional sobre el promotor del gen Fra-1 acoplado al gen reportero luciferasa en la línea celular CasKi de cáncer cérvicouterino.



Participación de LOXs y de COX-2 en la activación de FAK y en la migración celular inducida por ácido linoleico en células de cáncer de mama MDA-MB-231

Nathalia Serna Márquez, Cecilia Yazmín Rodríguez Monterrosas, Sócrates Villegas Comonfort, Octavio Galindo Hernández, Napoleón Navarro Tito, Eduardo Pérez Salazar.

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (Cinvestav-IPN).

Departamento de Biología Celular, Cinvestav-IPN, Av. Instituto Politécnico Nacional # 2508, San Pedro Zacatenco, México, D. F., 07360, México. Tel.: +52 55 5747 3800 ext. 5584; e-mail: jperez@cell.cinvestav.mx

Diversos estudios epidemiológicos y modelos animales han sugerido una estrecha relación entre el alto nivel en la ingesta de grasas característico de las dietas occidentales y el incremento observado en el riesgo de desarrollar cáncer de mama. De manera particular, los ácidos grasos libres están involucrados en diversos procesos efectuados por células de cáncer de mama, los cuales incluyen proliferación, migración e invasión. El ácido linoleico (AL) es un ácido graso poli-insaturado n-6 que se obtiene a través de la dieta; en relación a éste último, se ha reportado que induce proliferación e invasión en células de cáncer de mama. Sin embargo, actualmente no se han estudiado a detalle las vías de señalización implicadas en estos procesos, incluyendo la contribución del AL a la activación de la cinasa de adhesión focal (FAK) y a la migración celular en células de cáncer de mama.

En el presente estudio demostramos que el AL promueve la activación de FAK y de la cinasa Src, así como también migración en la línea celular de cáncer de mama MDA-MB-231. La activación de FAK y la migración celular requieren de la actividad de proteínas G_i/G_o, así como de las enzimas lipooxigenasas (LOXs) y ciclooxigenasa 2 (COX-2), mientras que ambos efectos son independientes de la actividad de la enzima Δ^6 desaturasa. En adición, mostramos también que la migración celular inducida por el AL requiere de la actividad de FAK, cuya activación a su vez, depende de la actividad de Src, lo que sugiere un mecanismo de activación catalítico recíproco entre FAK y Src. En conclusión, nuestros hallazgos demuestran que el AL induce activación de FAK y migración en las células de cáncer de mama MDA-MB-231.

Programa apoyado por el CONACYT

Investigación financiada por donativo de CONACYT (83802)

Investigación financiada por donativo de Instituto Danone, A. C.



“Identificación de genes blanco de las señales de la citocina TGF-beta durante la regeneración hepática”

Manuel Tavares Cornejo, Cassandre Caligaris, Marina Macías Silva.
Departamento de Biología Celular y del Desarrollo, Instituto de Fisiología Celular,
UNAM. Tel. 56225729, E-mail: mmacias@correo.ifc.unam.mx

La familia de citocinas TGF-beta (*Transforming Growth Factor-beta*) esta compuesta por un gran gama de moléculas diméricas, tales como: los TGF-betas, las BMPs, activinas, inhibinas y nodal. El estudio de sus vías de señalización es de gran interés, ya que juegan papeles esenciales en diversos procesos celulares, como la proliferación, diferenciación, migración y apoptosis. Se sabe que las señales de esta familia se propagan gracias a receptores con actividad de cinasa de residuos de serinas/treoninas, los cuales activan a las proteínas Smads para que interactúen con otros cofactores, formando complejos transcripcionales que posteriormente se translocan al núcleo para regular la expresión de diferentes genes blanco. La desregulación de esta vía de señalización se ha visto relacionada con patologías como el cáncer, entre muchas otras.

Debido a lo anterior, mucha de la investigación realizada hasta ahora sobre la vía del TGF-beta se ha centrado principalmente en describir eventos relacionados con la progresión del cáncer y el desarrollo embrionario. Nosotros estamos interesados en ver la regulación genética que se lleva a cabo por la vía del TGF-beta en eventos de regeneración hepática, ya que a pesar de ser un potente agente anti-proliferativo de hepatocitos, éstos aparentemente se hacen insensibles durante la regeneración del hígado.

Dentro de los diferentes elementos que regulan a la vía, se encuentran las oncoproteínas Ski y SnoN. Estas dos, al unirse con las proteínas Smads en el núcleo, promueven que se recluten otros elementos que son capaces de reprimir activamente la expresión de los genes a cuyos promotores se unen. De igual forma, los niveles de los transcritos y de las proteínas Ski y SnoN se encuentran en grandes cantidades en las primeras fases de la regeneración hepática, lo que sugiere que pudieran tener un papel relevante en la insensibilidad hacia el TGF-beta.

Para establecer cómo afectan las proteínas Ski y SnoN la expresión génica teniendo como contexto la vía del TGF-beta en hígado en regeneración, trabajamos con tejido hepático directamente aislado de rata después de una hepatectomía parcial, modelo preferido para estudiar la regeneración hepática. Con éste se realiza un Re-ChIP utilizando anticuerpos contra Ski o SnoN y contra Smad4, considerado como un componente central de la vía por ser el punto en común de la señalización de las citocinas TGF-beta y BMPs. Una vez que se obtienen promotores a los cuales se unen estos complejos mediante el Re-ChIP, se identificaran a través de clonación y secuenciación. Una vez identificados, se planea establecer su relevancia en la regeneración hepática.

Con todo lo anterior, se obtendrán genes cuya regulación negativa sea importante para los diferentes procesos que se llevan a cabo en la regeneración del hígado en ratas, con lo que se podría obtener un conocimiento mayor de la señales del TGF-beta que actúan en condiciones fisiológicas poco estudiadas.

Este trabajo es apoyado por donativos de DGAPA/UNAM y CONACYT.



Claudinas -6 y -9 regulan la activación de MMP-2 y MMP-9 en células de adenocarcinoma gástrico humano.

Ana C. Torres-Martínez, Jane E. Nieto-Landaverde, Priscila J. Torres-Granados, Rosalba Pacheco-Bautista, Luis F. Montaña-Estrada, Erika P. Rendón-Huerta. Departamento de Biología Celular y Tisular Facultad de Medicina, UNAM, Apdo. Postal 70 600, 04510 México, D. F. Tel. 5623-2191, Fax 5616-2419.

erendon@bq.unam.mx

Las claudinas regulan el flujo paracelular en los epitelios y endotelios. Los cambios en la expresión de estas proteínas se asocian con el desensamble de las uniones estrechas y la pérdida de adhesión célula-célula, procesos que juegan un papel muy importante en la invasividad y metástasis. La alteración en la expresión de claudinas en algunos tipos de cáncer se ha asociado con un incremento en la capacidad invasiva como resultado del aumento en la actividad de metaloproteasas. Se ha reportado que claudinas-1,-2,-3 y -4 reclutan y promueven la activación de MMP-2 y que claudina-5 interacciona directamente con MMP-2 induciendo su activación. La sobreexpresión de claudinas-6 y -9 en células de adenocarcinoma gástrico (AGS) promueve la proliferación, migración e invasividad celular y aumentan la expresión de claudina-1 endógena. En este trabajo se evaluó si las claudinas-6 y -9 promueven invasividad a través de la activación de metaloproteasas -2 y/o -9 en células AGS. Para ello se estudió: 1) si la sobreexpresión de estas claudinas induce su interacción con MMP-2 y/o MMP-9, 2) si la actividad de estas metaloproteasas es inducida por la sobreexpresión de estas claudinas y 3) la participación de claudina-1 endógena como posible intermediario en la activación de estas MMPs. En las células que sobreexpresan claudina-9 se observó que claudina-9 co-localiza con las MMP-2 y MMP-9 sin promover su activación. Sin embargo, en las células que sobreexpresan claudina-6 se observó un aumento en la actividad de MMP-2 y la interacción de claudina-1 con MMP-2. Por ensayos de Inmunofluorescencia se observó la co-localización de claudina-1 endógena con MMP-2 y MMP-9 en células que sobreexpresan a claudina-6 y -9. Los resultados nos indican que claudina-1 tiene un papel importante en la activación de MMP-2 y/o -9 como resultado de la sobreexpresión de claudina-6.



Bases moleculares de la resistencia a insulina inducida por RBP-4 en células de músculo esquelético de rata.

Rafael Torres Montiel M en C, Antonio Hernández Ortíz, Patricia Fügüeman Martínez, Eduardo Monjaraz Guzmán D en C.

La resistencia a la insulina (RI) es la incapacidad que muestra la insulina para ejercer su efecto biológico sobre sus órganos blancos, y es además, la condición que precede al desarrollo de *diabetes mellitus* tipo 2 (DM2). Uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo de RI es la obesidad, desconociéndose a detalle el mecanismo molecular involucrado. Se ha propuesto que los niveles elevados de adipocinas, como leptina, TNF- α , IL-6 y RBP-4, presentes en la condición de obesidad, son inductores de RI en diferentes tejidos y órganos (músculo esquelético, hígado, páncreas y tejido adiposo). Bajo el efecto de la insulina, el músculo esquelético es el responsable del 80% de la captación de glucosa, por tal motivo, el propósito del trabajo es definir el mecanismo molecular involucrado a través del cual, RBP-4 induce resistencia a insulina en células L6, provenientes de músculo esquelético de rata.

Metodología: Las células L6 fueron mantenidas en presencia de RBP-4 a diferentes tiempos y concentraciones. Se evaluó la incorporación de 2-deoxi-³H-glucosa bajo el estímulo de insulina, con el fin de evaluar la incorporación de glucosa mediada por insulina. Además, se determinó por RT-PCR la presencia de ARNm que codifica a STRA6 (Receptor de RBP-4), receptor a insulina (IR), transportador GLUT-4 y SOCS-3.

Resultados: Las células L6 expresan el ARNm que codifica para STRA-6. RBP-4 induce disminución en la capacidad de incorporación de glucosa en células L6, estimuladas por insulina, presenta un efecto dosis-dependiente. Con respecto a los diferentes elementos moleculares que participan en la vía de señalización activada por el complejo RBP-4/STRAT6, se observó una reducción en los niveles de expresión del ARNm que codifica para IR y un incremento en los niveles de ARNm que codifica a SOCS-3 y GLUT-4.

Palabras claves: Resistencia a la insulina, RBP-4, Músculo Esquelético, Obesidad

Datos del Autor:

M en C. Rafael Torres Montiel

Laboratorio de Neuroendocrinología del Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. 14 sur 6301, Colonia San Manuel, Puebla, Puebla, México. CP 72570. Teléfono: (52)222-229-55-00 Ext 7311 Fax: (52)222-22900 Ext 7311. Email: qfbrafaeltorres@hotmail.com



Efecto del flavonoide Naringina sobre cardiomicitos H9c2 de ratón neonatal estimulados con LPS

Cesar Emmanuel Torres Pineda

Laboratorio de Bioquímica, División de Estudios de Posgrado e Investigación, Facultad de Odontología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

Tel 56225554, correo electrónico: gloria@fo.odonto.unam.mx

Resumen.

La periodontitis crónica es una de las enfermedades infecciosas más comunes a nivel mundial, donde ocurre una destrucción de los tejidos de soporte de los dientes. El desarrollo de la endocarditis infecciosa se ha asociado a enfermedades periodontales, donde las bacterias del periodonto entran al torrente sanguíneo y se adhieren al endocardio pudiendo dañar permanentemente las válvulas del corazón. *Porphyromonas gingivalis* es una bacteria Gram negativa (Gram -) que se encuentra en la profundidad de las bolsas periodontales en pacientes con periodontitis, *Porphyromonas gingivalis* contiene en su superficie el lipopolisacárido (LPS) que se une al receptor de superficie celular TLR-4, iniciando cascadas de señalización que desencadenan un proceso inflamatorio. La Naringina es un flavonoide que tiene propiedades antiinflamatorias y de esta manera puede regular los efectos del LPS. Por lo tanto, mediante técnicas de Western-Blot, RT-PCR, Inmunocitoquímica y viabilidad celular, se determinó la regulación de la Naringina sobre la inflamación inducida por el LPS. Con los resultados obtenidos se demostró que la Naringina es capaz de regular este proceso inflamatorio en diferentes etapas de la vía de señalización, como lo es en la vía de las MAPK, a nivel transcripcional o a nivel de la translocación de factores de transcripción; abriendo la posibilidad a una nueva alternativa de tratamiento a enfermedades como la endocarditis bacteriana.



Estudio de la interacción entre MDM2 y el *mRNAp53*

Ángel Andrés Torres Rosales, Paola García Beltrán, Nehemias Leija y

Vanesa Olivares-Illana

Instituto de Física, UASLP

Av. Manuel Nava 6, Zona Universitaria CP 78290, San Luis Potosí, SLP

p53 es un factor transcripcional capaz de activar un gran número de genes en respuesta a diferentes agresiones a la célula. p53 está regulado por dos proteínas parálogas, MDM2 y MDMX. MDM2 que es una E3 ubiquitin ligasa y degrada p53 vía el proteosoma en condiciones celulares normales, mientras que MDMX inhibe la actividad transcripcional de p53 uniéndose a ella. Se ha observado que bajo condiciones de estrés genotóxico, MDM2 y MDMX promueven la síntesis de p53. En estas condiciones la kinasa ATM fosforila a ambas proteínas en los residuos MDM2 (S395) y MDMX (S403). Dicha fosforilación estimula la interacción entre las proteínas y el *mRNAp53* dando como resultado el incremento en los niveles de p53. En el presente trabajo se estudian las interacciones proteína-*mRNAp53* mediante ensayos de FRET (Fluorescence resonance energy transfer) y FRET de molécula única, utilizando proteínas recombinantes nativas y mutantes que mimetizan su estado fosforilado, además se pretende comprobar si ambas proteínas son capaces de unirse al *mRNAp53* al mismo tiempo.

CONACyT CB-166233

PROMEP/103.5/12/3953

Fondo de Apoyo a la Investigación (C13-FAI-03-57.57)



Efecto antineoplásico y coadyuvante de compuestos de coordinación de cobre con los fármacos de elección para el tratamiento del rhabdomioma *in vitro*

Dulce Dinora Uribe Rosales¹, María Dolores Jiménez Farfán¹, Claudio Amador Viveros¹, Juan Carlos Hernández Guerrero¹, María Cristina Trejo Solís².

¹Laboratorio de inmunología. DEPeI UNAM.

²Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía INNN.

Dirección: Circuito institutos S/N. División de Estudios de Posgrado e Investigación. 2º piso. Laboratorio de Inmunología. Correo electrónico: dd_uriberos@hotmail.com

Introducción: El rhabdomioma es una neoplasia altamente progresiva y metastásica. Es el sarcoma más común en niños y adolescentes cuyo tratamiento de elección [Vincristina-ActinomicinaD y Ciclofosfamida (VAC)] es sumamente tóxico. Esto ha impulsado a buscar nuevos antineoplásicos que representen un menor índice de toxicidad y una menor inversión económica para el paciente. Las Casiopeinas® son compuestos antineoplásicos sintetizados en México, que han mostrado actividad pro-apoptótica en diferentes líneas celulares tumorales de ovario, cérvix, colon y cavidad oral, lo que podría representar una alternativa viable y accesible en el tratamiento de esta neoplasia. **Objetivo.** Determinar el efecto antineoplásico de las Casiopeínas III La y III Ea, y su efecto coadyuvante con Vincristina y Actinomicina D para el tratamiento del rhabdomioma en un modelo *in vitro*. **Método.** Cultivos de RD (rhabdomioma embrionario), RH30 (rhabdomioma alveolar), C2C12 (mioblastos) fueron tratados con Casiopeínas III La (0.5 µg/ml), III Ea [RD (1.5 µg/ml), RH30 y C2C12 (0.5 µg/ml)] con y sin VA [Vincristina (250nM) y Actinomicina (4nM)] e incubados por 24 h, posteriormente, se determinó la viabilidad celular (MTT), inducción de apoptosis por TÚNEL, determinación de PCNA, Bax y Caspasa 3 por W. blot. **Resultados.** Cas III La y Cas III Ea inhibieron significativamente la proliferación celular en ambas líneas (RD y RH30), mostrando un mejor efecto la combinación de ambos fármacos en la línea celular RD y en los tratamientos de cada fármaco con VA, sin mostrar un efecto significativo en la línea C2C12. Ambas Casiopeínas inducen una disminución de PCNA, TUNEL positivo y activación de caspasa 3. **Conclusiones.** Ambas Casiopeínas inducen un efecto anti-proliferativo y pro-apoptótico en las líneas celulares de rhabdomioma, mostrando un mejor efecto la combinación de ambos fármacos comparado con el tratamiento de elección para el rhabdomioma de tipo embrionario.

Este estudio es apoyado por los proyectos DGAPA-PAPIIT IN-217912-3 y SEP-CONACyT 167464.

Palabras clave: Casiopeinas, Rhabdomioma, Antineoplásico



Papel de la progesterona en la expresión del factor de bloqueo inducido por progesterona (PIBF) y en la regulación del factor transcripcional STAT6 en células derivadas de astrocitomas humanos

Paulina Valadez-Cosmes, Carolina Jiménez-Arellano, Aliasha González-Arenas, Ignacio Camacho-Arroyo

Facultad de Química, Departamento de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad 3000, Ciudad Universitaria, Coyoacán 04510, México, D.F.
México, camachorroyo@gmail.com. Teléfono: 56223732

RESUMEN

La progesterona (P_4) es una hormona esteroide sintetizada y secretada principalmente por los ovarios y que tiene efectos en todos los tejidos. Aunque la P_4 realiza sus efectos a través de diversos mecanismos, la mayoría son mediados a través de la unión con su receptor intracelular (RP).

Se sabe que esta hormona participa en la regulación de procesos patológicos como el cáncer y se ha propuesto que puede aumentar el crecimiento de los astrocitomas, que son los tumores cerebrales más frecuentes y agresivos en el ser humano. Evidencia experimental reciente sugiere que la P_4 induce el desarrollo de distintos tipos de tumores a través de la sobre-expresión del Factor de Bloqueo Inducido por Progesterona (PIBF) y se sabe que en linfomas humanos la P_4 regula a la alta la expresión de este gen mediante su interacción con el RP. Asimismo, se ha sugerido que el PIBF podría ejercer sus efectos a través de la vía de señalización del factor de transcripción STAT6 puesto que el PIBF induce la fosforilación de esta proteína. Sin embargo, se desconoce el papel de la P_4 en la expresión del PIBF, así como la participación de este factor y de la P_4 en la fosforilación de STAT6 en astrocitomas humanos, por lo que en el presente trabajo se determinaron dichos efectos mediante las técnicas de RT-PCR y Western blot en la línea celular U373 derivada de astrocitomas humanos grado III.

Los resultados muestran que la P_4 (10 nM y 100 nM) aumenta significativamente la expresión del mRNA del PIBF a 1 y 3 horas, respectivamente, y en ambos casos el efecto dura hasta las 24 horas. Se encontró que el RU486 (10 μ M), antagonista de la P_4 que se une al RP, bloquea los efectos de la hormona sobre la expresión del mRNA del PIBF a las 24 horas. En cuanto a la expresión a nivel de la proteína, se encontró que la P_4 (10 nM) incrementa el contenido de las isoformas del PIBF (57 y 90 kDa) a las 12 horas en el medio extracelular. Además, el tratamiento con P_4 disminuye el contenido intracelular de la isoforma de 57 kDa a las 6 horas. El contenido de la isoforma de 90 kDa es más abundante en el medio intracelular, mientras que la isoforma de 57 kDa predomina en el medio extracelular. Finalmente, los estudios de fosforilación de STAT6 revelaron que el PIBF (200 ng/mL) incrementa la fosforilación en el residuo Tyr641 a los 20 minutos de tratamiento. La P_4 (10 nM) incrementa también la fosforilación de STAT6 sin modificar el contenido total de esta proteína a las 24 horas. Estos datos sugieren que en astrocitomas humanos, la P_4 induce la expresión del PIBF a través de su interacción con el RP y que a su vez el PIBF es capaz de inducir la fosforilación de la proteína STAT6. Existe además un patrón y una regulación diferencial en el contenido de las isoformas del PIBF en los medios intra y extracelular.



DETECCIÓN DE MUTACIONES EN EL EGFR, EN EXONES 19 Y 21 EN LINEAS CELULARES DE CARCINOMA DE CÉRVIX CALO E INBL

Arturo Valle Mendiola, Evelin Damian, Isabel Soto Cruz

Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Unidad de Investigación en Diferenciación Celular y Cáncer, Laboratorio de Oncología molecular (L9-PB) UMIEZ. Batalla de 5 de mayo, esq. Fuerte de Loreto s/n Col Ejercito de Oriente, CP 09210. issocruz@yahoo.com; arturo.valle@unam.mx

El crecimiento normal de las células es regulado a través de la activación de vías de transducción de señales. El Receptor de Factor de Crecimiento Epidérmico (EGFR) es miembro de la familia ErbB de receptores de tirosina cinasa (RTKs). La unión a ligando induce tanto homodimerización como heterodimerización entre EGFR y otros miembros de la familia ErbB, es claro que las funciones y actividad están reguladas estrictamente por estas interacciones. El dominio intracelular de los receptores ErbB consiste en un dominio altamente conservado con actividad tirosina cinasa. Bajo condiciones fisiológicas el ligando se une a su receptor, lo que induce la formación de homodímeros o heterodímeros, que a su vez permiten la activación del dominio citoplasmático y su correspondiente subregión con actividad tirosina cinasa, La dimerización resulta en autofosforilación.

Las anormalidades en las funciones de EGFR están asociadas con todas las características clave del desarrollo y crecimiento del cáncer incluyendo la proliferación celular autónoma, la invasión, la angiogénesis y el potencial metastásico. Aberraciones en la señalización de EGFR pueden iniciarse por varios eventos como una producción alterada de ligandos, mutaciones y deleciones en los receptores, o por activación persistente.

Nuestro grupo de trabajo ha demostrado anteriormente que el EGFR presente en las líneas celulares CALO e INBL no se fosforila en respuesta a EGF, debido a esto decidimos buscar mutaciones en los exones 19 y 21, encontrando 4 posibles mutaciones dentro de estas regiones, es probable que estos cambios tengan efecto directo sobre la fosforilación de EGFR, aunque es necesario realizar algunos estudios complementarios para comprobar que estos cambios afectan la actividad de cinasa de este receptor



Regulación de los niveles de la proteína Ski en los hepatocitos durante el proceso de regeneración hepática.

¹Genaro Vázquez Victorio, ¹Cassandre Caligaris, ¹Marcela Sosa Garrocho, ¹Eugenio Del Valle Espinosa, ¹Nelly R. González Arenas, ²Guadalupe Reyes Cruz y ¹Marina Macías Silva. ¹Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México. ²Cinvestav-IPN. México, D.F. 04510. México. gvazquez@email.ifc.unam.mx

La proteína Ski tiene un papel muy importante en el desarrollo embrionario temprano, en procesos como el correcto desarrollo del sistema nervioso central y la formación del músculo esquelético. La proteína Ski pertenece a la familia de oncoproteínas Ski, donde la proteína SnoN (Skil) es otro miembro destacado de esta familia. Las proteínas Ski y SnoN regulan de manera negativa la vía de señalización del TGF-beta, principalmente, a través de la represión transcripcional de múltiples genes blanco para el TGF-beta. Sin embargo, la señal del TGF-beta también controla la estabilidad de las proteínas Ski y SnoN; esta regulación depende del proceso de ubiquitinación y la posterior degradación vía proteasoma. Se han descrito hasta el momento algunas ligasa E3 de ubiquitina involucradas en la degradación de Ski y SnoN donde la ligasa Arkadia tiene un papel preponderante en este mecanismo. No obstante, la activación de las proteínas Smad es necesaria para el proceso de degradación de las proteínas Ski y SnoN por cualquiera de las ligasas. Interesantemente, durante la regeneración hepática los niveles de las proteínas Ski y SnoN son incrementadas aún cuando la señal del TGF-beta está presente durante todo el proceso, aquí, probablemente otras señales controlan la estabilidad de las proteínas Ski y SnoN, además de la vía del TGF-beta. Desafortunadamente, no han sido descritas otras señales que pudieran regular los niveles de la proteínas Ski y SnoN en procesos normales como patológicos. En este trabajo, nos enfocamos, en particular, en encontrar nuevas señales que regulen los niveles de la proteína Ski en los hepatocitos normales de rata y, en particular, en los hepatocitos durante el proceso de regeneración hepática..

Este trabajo esta apoyado por donativos de CONACyT y PAPIIT/DGAPA/UNAM.



***Mycobacterium bovis* BCG altera el patrón de proteínas fosforiladas por PKC durante la invasión del macrófago.**

Tomás Villaseñor-Toledo, Álvaro Torres Huerta, Yvonne Rosenstein, Leonor Pérez Martínez y Gustavo Pedraza Alva. Departamento de Medicina Molecular y Bioprocesos. Instituto de Biotecnología, UNAM. Av. Universidad 2001, Col. Chamilpa, C. P. 62210, Cuernavaca, Morelos. Méx. Tel: (777) 329 0869. e-mail: tomas@ibt.unam.mx

La tuberculosis (TB) es una enfermedad de las vías respiratorias causada por *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), una bacteria aeróbica Gram positiva capaz de sobrevivir intracelularmente en macrófagos. Los receptores de superficie del macrófago alertan de la presencia de la micobacteria a través de distintas vías de señalización que activan los mecanismos de defensa que normalmente controlan la infección; fagocitosis, producción de citocinas pro-inflamatorias y quimiocinas, entre otros. Sin embargo, las micobacterias han desarrollado distintas estrategias para evitar su destrucción, sobrevivir, modular la respuesta inmune y generar una infección exitosa que permita su diseminación. Aunque CD43 es uno de los receptores que utiliza las micobacterias para la invasión del macrófago, la interacción de Mtb con CD43 induce la producción de TNF α , lo que restringe el crecimiento intracelular de la bacteria y la infección. Datos previos de nuestro laboratorio indican que la activación de la vía de PKC juega un papel importante en la producción de TNF α inducida por la interacción de la *M. bovis* con CD43. Dado que la vía de PKC también participa en el proceso de fagocitosis, que las micobacterias inhiben la maduración del fagosoma para sobrevivir y que los macrófagos carentes de CD43 presentan deficiencias en el proceso de destrucción de la micobacteria, proponemos que la activación de PKC por *M. bovis* durante la invasión del macrófago juega un papel importante en la sobrevivencia de la micobacteria. Como primera aproximación, evaluamos el patrón de proteínas fosforiladas por PKC en extractos proteicos totales de macrófagos derivados de médula ósea de ratones C57 silvestres (CD43^{+/+}) y KO (CD43^{-/-}) infectados con *M. bovis* BCG, mediante ensayos de inmunoblot utilizando un anticuerpo que reconoce proteínas fosforiladas por PKC. Los macrófagos CD43^{+/+} presentaron niveles basales de fosforilación de diversas proteínas, algunas de las cuales incrementaron su nivel de fosforilación en respuesta a *M. bovis* y al tratamiento con TPA. De manera interesante, el inhibidor de PKC Gö6983 previno la fosforilación de proteínas con un peso molecular aproximado de 27, 44-48, 55, 60 y 70 KDa. Esto confirma que *M. bovis* induce la fosforilación de sustratos específicos de PKC durante la infección del macrófago. Aunque en los macrófagos CD43^{-/-} estas proteínas presentaron niveles basales de fosforilación similares a los niveles de fosforilación basal observados en los macrófagos CD43^{+/+}, sus niveles de fosforilación no solo no incrementaron en presencia de *M. bovis* sino que disminuyeron por debajo de los niveles basales. Estos resultados indican que *M. bovis* a través de PKC induce la fosforilación de proteínas específicas durante el proceso de infección del macrófago y que esto depende de su interacción con CD43. Queda por identificar las proteínas fosforiladas en respuesta a *M. bovis* y determinar si están involucradas en la supervivencia de la micobacteria en los macrófagos. Este trabajo fue financiado por la DGAPA/UNAM (IN227510, ININ209212) y el CONACYT (155290 y 154542)



La leptina promueve la expresión de marcadores de la transición epitelio-mesénquima en las células de epitelio de mama no tumoral MCF10A

José Alfredo Villanueva-Duque¹, Eduardo Castañeda-Saucedo^{1a}, Napoleón Navarro-Tito^{1b}

¹Laboratorio de Biología Celular del Cáncer, Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas
Universidad Autónoma de Guerrero, Av. Lázaro Cárdenas S/N C.P. 39037, Ciudad Universitaria,
Chilpancingo Gro. ^aecastaneda.saucedo@yahoo.com.mx, ^bnavatito@hotmail.com tel., 747 1444837

En la actualidad, el cáncer de mama es considerado un problema de salud pública en México. Diversos estudios epidemiológicos han asociado a la obesidad como un factor de riesgo muy importante con el inicio y progresión del cáncer de mama debido, en gran medida, al incremento en la producción de proteínas que promueven un incremento en la migración e invasión de células cancerosas. Un evento crucial en la metástasis es la transición epitelio-mesénquima (TEM), el cual es un proceso de transdiferenciación de células epiteliales a un fenotipo mesenquimal, la TEM está implicada en la progresión tumoral hacia un fenotipo maligno de las neoplasias; este proceso incluye la pérdida de uniones célula-célula, pérdida de la polaridad ápico-basal y un aumento en las capacidades migratorias e invasivas de las células. A nivel molecular existen marcadores de la TEM tales como: disminución de la proteína E-cadherina y el incremento de vimentina. La leptina es una hormona secretada primordialmente por los adipocitos y regula procesos celulares como la proliferación, migración e invasión en diversos tipos celulares, su acción es mediada por la unión al receptor Ob-Rb, y esta interacción activa vías de señalización como las de JAK/STAT3, MAPK y PI3K contribuyendo a un aumento en la proliferación y migración celular. Sin embargo, actualmente no hay reportes del papel de la leptina como inductora de la TEM en células de epitelio de mama MCF10A.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el papel de la leptina en la TEM en las células MCF10A. Este estudio muestra que la leptina induce cambios morfológicos en estas células cambiando de un fenotipo epitelial a uno mesenquimal, así como un incremento en la migración celular. Mediante Western blot, se analizaron los niveles proteicos de E-cadherina y vimentina observando la disminución de los niveles de E-cadherina siendo inversamente proporcionales al aumento en la dosis de leptina, en contraste, se observa un incremento en los niveles de vimentina de manera proporcional al aumento en las dosis de leptina. En conclusión, nuestros resultados muestran que leptina induce un proceso de transición epitelio-mesénquima en células de epitelio de mama no tumoral MCF10A.



Análisis Cuantitativo y Funcional de Células T reguladoras CD69+ NKG2D+ T en individuos sanos

Vitales-Noyola M, Álvarez-Quiroga C, Monsiváis-Urenda A, Layseca-Espinosa E, González-Amaro R.

Departamento de Inmunología, Facultad de Medicina, UASLP, San Luis Potosí, S.L.P., México.

Las células T reguladoras presentan un papel clave en la homeostasis inmune y en la patogénesis de enfermedades autoinmunes e inflamatorias crónicas. Diversas moléculas tienen un papel importante en la función y diferenciación de las células T reguladoras, incluyendo TGF- β , IL-10 y Foxp3. CD69 es una molécula de activación leucocitaria temprana que bajo condiciones basales es detectada en una pequeña proporción de linfocitos en sangre periférica y tejidos linfoides. Un subtipo de células T reguladoras CD69+ ejercen un importante efecto inmunoregulador. Sin embargo, la posible relación entre las células T reguladoras CD69+ y los linfocitos T CD4+NKG2D+, los cuales ejercen una actividad inmunosupresora, no ha sido explorada. En este estudio, analizamos la expresión de CD69 y NKG2D de los linfocitos T de sangre periférica de 25 individuos sanos por análisis de citometría de flujo multiparamétrica y su actividad supresora por un ensayo de inhibición de activación linfocitaria (expresión de CD40L) y de proliferación (ensayo de carboxifluoresceína). Encontramos un pequeño porcentaje de las células T CD4+NKG2D+ (mediana 0.002%, Q1-Q3, 0.001-0.004%) los cuales expresan TGF- β (Péptido de asociación de latencia o LAP) e IL-10, en todas las muestras analizadas. Estas células ejercen un importante efecto supresor in vitro en la activación y proliferación de las células T efectoras. Nuestros datos sugieren que un número muy pequeño de linfocitos T CD4+CD69+NKG2D+ ejercen un papel relevante en la inmuno-regulación en individuos sanos.



Efecto de la inhibición de MUC1 y c-Met en la actividad proliferativa e invasiva del carcinoma oral de células escamosas *in vitro*

¹Claudio Viveros Amador, ¹María Dolores Jiménez Farfán, ¹Juan Carlos Hernández Guerrero,

²Cristina Trejo Solís

¹Laboratorio de inmunología. DEPEL UNAM.

²Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía INNN.

Dirección: Circuito institutos S/N. División de Estudios de Posgrado e Investigación. 2º piso. Laboratorio de Inmunología. Correo electrónico: cviveros@comunidad.unam.mx

RESUMEN. El crecimiento normal de los tejidos es mantenido por el balance entre proliferación y apoptosis. La transformación hacia un fenotipo celular neoplásico implica la alteración de moléculas de proliferación, diferenciación, muerte celular, adhesión e invasión. Se ha identificado que los receptores TRK junto con las mucinas, pueden regular algunos de estos mecanismos, favoreciendo el proceso de oncogénesis. **Objetivo.** Determinar el efecto de la inhibición farmacológica de MUC1 y c-Met sobre proliferación e invasión en el Carcinoma de Células Escamosas Oral (COCE) *in vitro*. **Metodología.** Se realizaron ensayos de MTT por triplicado en las líneas celulares Cal-27, A253 (carcinomas de lengua y glándula salival, respectivamente) y MCF-7 (control positivo de MUC1 y c-Met). Se emplearon los inhibidores SU11274 (inhibidor de c-Met) y GO-201 (inhibidor de MUC1). Se realizaron cinéticas a 6,12,24,48 y 72 horas con las concentraciones de 3, 5, 10, 50 y 100µM. Se sembraron 2×10^3 células en cámaras de 8 pozos, utilizando la dosis de 10 µM de cada uno de los inhibidores y se determinó mediante inmunocitoquímica la expresión de MUC1, c-Met, Ki67 y MMP9. **Resultados.** Se determinó el efecto en la viabilidad celular con los inhibidores SU11274 y GO-201 observando que a la dosis de 10µM se encuentra el mayor efecto inhibitorio a las 24hr. La expresión de MUC1 fue marcadamente reducida después del tratamiento. Sin embargo, c-Met no mostró diferencias significativas. El marcador de proliferación Ki67 no mostró variaciones entre los grupos experimentales y controles. Con el marcador de invasión MMP9, se observó una disminución en la expresión en las líneas tumorales tratadas con los inhibidores. **Conclusiones.** Hasta el momento no existen reportes previos que aclaren los mecanismos moleculares relacionados con MUC1 y c-Met en el proceso oncogénico de los carcinomas orales. Los resultados mostraron un efecto inhibitorio a través de GO-201 (inhibidor de MUC1). En el caso de SU1274 (inhibidor de c-Met), aunque no se observaron diferencias significativas, queda por corroborar el estado de fosforilación de c-Met a través de la evaluación de sus tirosinas Y1234, Y1356 y la Ser983. De acuerdo a los resultados obtenidos, el efecto inhibitorio no parece estar relacionado con proliferación celular, pero sí con la disminución en la expresión de moléculas como las MMPs. La sobreexpresión de MMPs se ha relacionado con el comportamiento invasivo en las neoplasias, lo cual sugiere que las moléculas objeto de nuestro estudio podrían participar en la regulación de vías de señalización asociadas a la expresión de moléculas como las MMPs.



Activación de PI3K: Elemento clave como blanco terapéutico para la diabetes mellitus tipo 2

Rocio Zapata-Bustos, Ángel Josabad Alonso-Castro, Luis A. Salazar-Olivo

Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica. Camino a la Presa San José 2055. Col. Lomas 4 sección CP. 78216. San Luis Potosí, S.L.P., México.
Tel:(444) 834 20 00 Ext 2052 olivo@ipicyt.edu.mx

La diabetes mellitus tipo 2 (DM-2) y la obesidad son las afecciones metabólicas de mayor prevalencia en el mundo y en México. Los hipoglucemiantes orales son el tratamiento más común para la DM-2, pero éstos no restauran de manera efectiva los niveles de normoglucemia y presentan efectos colaterales. Por ello es altamente deseable desarrollar agentes antidiabéticos que estimulen la captación de glucosa sin inducir efectos no deseados en el organismo. Estudios realizados en nuestro laboratorio muestran que extractos de plantas tradicionalmente utilizadas como antidiabéticas y compuestos presentes en ellas estimularon la incorporación de 2-NBDglucosa en adipocitos murinos y humanos, sensibles y resistentes a insulina. Experimentos realizados en estas células en presencia de inhibidores para el receptor de insulina (RI), la fosfatidil inositol 3 cinasa (PI3K), la proteína cinasa B (AKT) y el transportador de glucosa 4 (GLUT4) mostraron que los extractos y compuestos activos analizados actúan parcial o totalmente a través de la vía de señalización de la insulina. Ensayos de ELISA mostraron un aumento en la fosforilación de los elementos esta vía, particularmente de PI3K, en respuesta a los extractos y compuestos. Nosotros hipotetizamos que la activación directa de PI3K revierte el estado de resistencia a la insulina y permite la utilización de glucosa por estas células, lo que hace de esta molécula un blanco terapéutico atractivo para el diseño de nuevos agentes antidiabéticos. En experimentos futuros analizaremos el mecanismo por el cual plantas como *Magnolia dealbata*, *Ibervillea sonorae*, *Parkinsonia aculeata* y sus compuestos activos, honokiol, magnolol, vitexina e isoorientina, inducen la activación de esta molécula.



Papel de las especies reactivas del oxígeno en la activación de la vía de las MAPK involucrada en la muerte neuronal apoptótica

Marco Antonio Zaragoza Campillo y Julio Morán Andrade

Instituto de Fisiología Celular, División de Neurociencias, Departamento de Neurodesarrollo y Fisiología, Universidad Nacional Autónoma de México, CP 04510, México D.F. correo: jmoran@ifc.unam.mx

Las especies reactivas del oxígeno (ERO) modulan la apoptosis de las células granulares de cerebelo (CGC), pero aún no están claros los mecanismos implicados. De acuerdo con estudios previos, las proteínas cinasas activadas por mitógeno (MAPK) JNK y p38 se activan por estrés oxidativo en CGC y promueven apoptosis. Tanto JNK como p38 participan en la muerte apoptótica de CGC, sin embargo, aún se desconoce el mecanismo por el cual estas MAPK se activan por ERO en CGC. En células no neuronales, se ha sugerido que las MAPK podrían ser activadas por la interacción de las ERO con ASK1, la cual se encuentra río arriba de JNK y p38. Se ha demostrado que la forma reducida de la tioredoxina (Trx1) se une a ASK1 en condiciones basales manteniendo a ASK1 en su estado inactivo. Bajo condiciones oxidantes, Trx1 se disocia de ASK1 permitiendo la activación de ASK1 y, por tanto, la activación de JNK y p38, lo cual puede conducir a la muerte celular programada. Basados en estos estudios, un posible escenario en las CGC es que las ERO generadas de manera temprana por condiciones apoptóticas inducen la disociación de Trx1 de ASK1, lo cual podría llevar tanto a la activación de JNK y p38 como a la muerte apoptótica. En este estudio, evaluamos esta posibilidad al utilizar un modelo de muerte apoptótica de CGC en cultivo inducida por privación de alto potasio (K5) y estaurosporina (Sts). Bajo estas condiciones encontramos un incremento temprano en la generación de ERO inducida por los tratamientos con K5 y Sts. Además, se encontró que la muerte de las CGC estimulada por K5 y Sts fue dependiente del tiempo, siendo más lenta en las CGC tratadas con Sts. Por otra parte, utilizando ensayos tipo Western Blot encontramos que bajo condiciones basales las CGC expresan tanto Trx1 como ASK1. En base a experimentos de co-inmunoprecipitación, encontramos que K5 y Sts significativamente reducen la interacción entre Trx1 y ASK1 después de 30 minutos de tratamiento, sugiriendo que las ERO generadas por estas dos condiciones podrían estar modulando, al menos en parte, el complejo Trx1-ASK1. La unión de Trx1 con ASK1 disminuyó después de 30 minutos de tratamiento con K5, un tiempo en el cual, de acuerdo a estudios previos, se detectó un pico de ERO generado por K5. En el caso de Sts, la interacción Trx1-ASK1 también disminuyó después de 30 minutos, pero ésta no cambió con el tiempo. Finalmente, evaluamos el efecto de un antioxidante para corroborar que las ERO generadas por K5 y Sts son responsables de modular la unión entre Trx1 y ASK1. Bajo estas condiciones, encontramos que el antioxidante indujo una reversión parcial en el efecto de K5 y Sts sobre la interacción Trx1-ASK1. Estos datos sugieren que las ERO generadas por K5 y Sts podrían regular la interacción entre ASK1 y Trx1, y por tanto, activar las vías de señalización JNK/p38 involucradas en la activación de la maquinaria apoptótica de CGC.

Este trabajo fue parcialmente financiado por CONACYT (179234) y PAPIIT (IN218310).