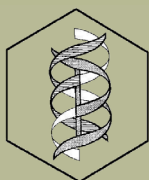


Revista de Educación Bioquímica

REB 2016



Órgano de información de la
Asociación Mexicana de
Profesores de Bioquímica, A.C.



Asociación Mexicana de
Bioquímica, A.C.

Departamento de Bioquímica
Facultad de Medicina
UNAM

Facultad de Medicina



EDITADO DESDE 1982 COMO BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

COMITÉ EDITORIAL

EDITOR EN JEFE

JOSÉ VÍCTOR CALDERÓN SALINAS

Departamento de Bioquímica
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

EDITORES

RAFAEL CAMACHO CARRANZA

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Departamento de Medicina, Genómica y Toxicología Ambiental
Universidad Nacional Autónoma de México

ALICIA GAMBOA DE BUEN

Instituto de Ecología
Universidad Nacional Autónoma de México

MARCO ANTONIO JUÁREZ OROPEZA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

MARÍA ESTHER REVUELTA MIRANDA

Sección Bioquímica y Farmacología Humana
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

ROCÍO SALCEDA SACANELLES

Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

YOLANDA SALDAÑA BALMORI

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

KARLA GUADALUPE CARVAJAL AGUILERA

Instituto Nacional de Pediatría

VÍCTOR M. VALDES LÓPEZ

Facultad de Ciencias
Universidad Nacional Autónoma de México

ÁNGEL ZARAIN HERZBERG

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

EDITORES FUNDADORES

GUILLERMO CARVAJAL SANDOVAL

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias
e Instituto Politécnico Nacional

JESÚS MANUEL LEÓN CÁZARES

Facultad de Ciencias Naturales
Universidad Autónoma de Querétaro

ENRIQUE PIÑA GARZA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

YOLANDA SALDAÑA BALMORI

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

SERGIO SÁNCHEZ ESQUIVEL

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

CORRESPONSALES

ROCÍO SALCEDA SACANELLES

Coordinadora
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

ALEJANDRO MARTÍNEZ MARTÍNEZ

Instituto de Ciencias Biomédicas
Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Chihuahua

SERGIO SÁNCHEZ-ARMÁSS ACUÑA

Departamento de Fisiología y Farmacología
Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí

MARTHA ANGÉLICA QUINTANAR ESCORZA

Departamento de Bioquímica
Facultad de Medicina Humana, Universidad Juárez del Estado de Durango

MARÍA MALDONADO VEGA

Departamento de Investigación. Centro de Innovación Aplicada en
Tecnologías Competitivas, AC. León, Gto., Mexico

Publicación incluida por el Centro de Información Científica y Humanística de la Universidad Nacional Autónoma de México en la base de datos Periódica, Iresie, Redalyc, Latindex y Scielo.

REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA (REB), Volumen 35, Número 1, marzo de 2016, publicación trimestral, editada por Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C., Avenida Universidad No. 3000, Colonia Universidad Nacional Autónoma de México, Delegación Coyoacán, C.P. 04510. Ciudad de México, México. Correspondencia: Apartado Postal 70-281, Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México, México. Correo E: reb@bq.unam.mx
<http://bq.unam.mx/wikidep/pmwiki.php/Reb/HomePage>
http://www.facmed.unam.mx/marco/index.php?dir_ver=101
Editor responsable Dr. José Víctor Calderón Salinas. ISSN: 1870-3690. Reserva de derechos al Uso Exclusivo No. 04-2015-113014523300-203, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Diseño: Celia Virginia Sánchez Meza, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM. Disponible en marzo del 2016.
El contenido de los artículos y las opiniones expresadas en ellos son responsabilidad de los autores y no reflejan necesariamente las del Comité Editorial. Se autoriza la reproducción parcial o total de los textos aquí publicados siempre y cuando se cite la fuente completa y la dirección electrónica de la publicación.

CONTENIDO

COMITÉ EDITORIAL

EDITORIAL

- CAZA RECOMPENSAS ¿VIGILANTES DE LA
ÉTICA CIENTÍFICA?
Rafael Camacho Carranza y
José Victor Calderón Salinas.....27

ARTÍCULOS

- EL PAPEL DEL ANTÍGENO THOMSEN-
FRIEDENREICH EN EL DESARROLLO DEL
CÁNCER DE MAMA
Belem Gallegos, Carlos Osalde,
Socorro Pina, Carlos Solorzano,
Yobana Perez y Pedro Hernández Cruz.....28
- DE LAS TRINCHERAS DEFENSIVAS
BACTERIANAS A LA EDICIÓN EFICIENTE
DE GENOMAS
Juan Rafael Riesgo Escovar.....38

OTRAS COMUNICACIONES

- CRUCIBIOQ
ESTRUCTURA Y FUNCIÓN HORMONAL
Yolanda Saldaña Balmori.....43
- LAS CÉLULAS TRONCALES
PLURIPOTENTES INDUCIDAS COMO
MODELO DE ESTUDIO Y POSIBLE TERAPIA
CELULAR DE LA FIBROSIS QUIÍSTICA
Julia Carrasco-Zanini.....46
- XXXI CONGRESO NACIONAL
DE LA SOCIEDAD MEXICANA DE
BIOQUÍMICA, A. C.48
- SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ
ESTRUCTURA Y FUNCIÓN HORMONAL
Yolanda Saldaña Balmori.....49
- INSTRUCCIONES PARA LOS
COLABORADORES DE LA REVISTA DE
EDUCACIÓN BIOQUÍMICA.....50

EDITORIAL

CAZA RECOMPENSAS ¿VIGILANTES DE LA ÉTICA CIENTÍFICA?

Durante la Guerra Civil en los EEUU (1861-1865), algunos proveedores vendieron fraudulentamente mulas, caballos, municiones, rifles y raciones alimentarias en malas condiciones al ejército de la Unión; por lo que en 1863 se instauró la ley llamada ley federal de recursos falsos ("False Claims Act" o FCA por sus siglas), también conocida como "Ley Lincoln", en la cual el denunciante de un acto de fraude al gobierno puede adquirir en recompensa entre 15 al 30% del dinero recuperado. Hoy día la denuncia de fraudes ha permitido recuperar 3,500 millones de dólares anuales al gobierno americano, tan solo en 2013 se presentaron 754 casos de FCA.

Esta ley también atañe a las universidades, las cuales, son receptoras de cuantiosos fondos federales. Un caso recientemente comentado en los medios es el de la Universidad de Duke, en North Carolina, en la cual se acusa a la Dra Erin Potts-Kant de mal manejo por 25,000 dólares para investigación que utilizó en gastos personales, a esto se le une el resultado de una investigación interna en la que se detectó que 15 de sus artículos, en el campo de la biología pulmonar, han sido retractados. En total hay 60 donativos involucrados por la cantidad de 200 millones de dólares, que en caso de demostrarse fraude científico, la Universidad tendría que regresar hasta tres veces el monto defraudado al gobierno.

Esta, como otras similares, es una historia que entristece a la comunidad académica, la cual basa en gran medida sus avances en la confianza de la ética de los colegas. Algunas acusaciones de fraude en Universidades públicas se han caído bajo el argumento de que la FCA atañe a particulares

que reciben dinero del gobierno y no a entidades gubernamentales defraudando al propio gobierno, lo cual es una salida falsa que de igual manera lesiona la credibilidad.

Estos acontecimientos más que meramente anecdóticos, deben llamar nuestra atención sobre cómo en nuestros propios centros de trabajo se detectan y procesan estas conductas, promoviendo las conductas éticas en una actividad, la científica, que se basa, más que otras actividades profesionales, en la confianza y la ética de los investigadores, más que privilegiar la vigilancia y denuncia de pares, porque en todo caso, ¿el modelo de caza recompensas no es atacar el mal con otro mal?

Para más información en el tema leer: Alison McCook, Whistleblower sues Duke, claims doctored data helped win \$200 million in grants, Retraction Watch, septiembre 1, (2016) Science. DOI: 10.1126/science.aah7250.

Y también revisar: Editorial, ¿Competencia o deslealtad?, REB 34(3):65, 2015

Rafael Camacho Carranza
Departamento de Medicina Genómica y
Toxicología Ambiental.
Instituto de Investigaciones Biomédicas. UNAM
rcamacho@biomedicas.unam.mx

José Víctor Calderón Salinas
Departamento de Bioquímica.
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados.
Editor en Jefe
jcalder@cinvestav.mx

EL PAPEL DEL ANTÍGENO THOMSEN-FRIEDENREICH EN EL DESARROLLO DEL CÁNCER DE MAMA*

Belem Gallegos¹, Carlos Osalde¹, Socorro Pina¹, Carlos Solorzano², Yobana Pérez² y Pedro Hernández Cruz^{*1}

¹Laboratorio de Glicobiología del Cáncer. Centro de Investigación Facultad de Medicina UNAM-UABJO. Facultad de Medicina, Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca (UABJO) Oaxaca México. C.P 68020 Correo fuegoblanco136@yahoo.com.mx

²Laboratorio de bioquímica de proteínas y glicopatologías, asociado a la Facultad de Odontología UABJO y al Centro de Investigación Facultad de Medicina UNAM-UABJO. Oaxaca México

RESUMEN

El cáncer de mama es la segunda causa de muerte de mujeres en el mundo, sin embargo si es diagnosticado oportunamente puede ser curado. Recientemente se ha observado que cambios en la estructura de los oligosacáridos de membrana, se relacionan con los procesos de transformación y proliferación celular, los cuales pueden originar el cáncer de mama. La glicosilación incompleta de glicoproteínas, expone nuevos antígenos, particularmente el antígeno Thomsen-Friedenreich (TF), en esta revisión nos enfocaremos en el papel del antígeno TF, en el desarrollo del cáncer de mama.

ABSTRACT

Breast cancer is the second cause of death for women in the world, however, when it is diagnosed opportunitally can be cured. Recently it has been observed that changes in the structure of the oligosaccharides of membrane glycoproteins are related to the cellular transformation processes and cell proliferation, which can cause breast cancer. Incomplete protein glycosylation, expose new antigens, particularly the Thomsen - Friedenreich (TF) antigen, in this review we will focus on the role of TF antigen in the development of breast cancer.

PALABRAS

CLAVE:

Glicosilación, antígeno TF, cáncer de mama.

KEY WORDS:

Glycosylation, TF antigen, breast cancer.

INTRODUCCIÓN

Las neoplasias son crecimientos descontrolados de células en cualquier tipo de tejido. En la actualidad el cáncer de mama es la segunda causa de muerte en mujeres a nivel mundial. Las glándulas mamarias se localizan en el tejido subcutáneo, están constituidas de tejido parenquimatoso que se divide en un número de 15 a 20 lóbulos. Cada lóbulo está formado por una serie de conductos intralobulillares que desembocan en los conductos galactóforos que se vierten a nivel del pezón. Los conductos galactóforos tienen un epitelio cilíndrico o cúbico con células que tienen un núcleo redondeado y en el citoplasma contienen pocas mitocondrias y escaso retículo endoplásmico rugoso, sin embargo el retículo endoplasmático rugoso presente, posee la capacidad de sintetizar estruc-

turas oligosacáridas. El cáncer ductal infiltrante, que estadísticamente es el que más muertes causa, se inicia en el sistema de pequeños conductos que llevan la leche de los lóbulos al pezón. Cuando las células epiteliales anormales que recubren los ductos, se dividen, se multiplican y posteriormente, estas células invaden el ducto y en su fase más dañina, llegan a invadir el estroma que rodea a los ductos (Fig. 1).

GLICOSILACIÓN

La glicosilación de proteínas, es un evento co-traducciona l que se presenta en el retículo endoplásmico, y también un evento post-traducciona l que modifica los residuos de azúcar unidos a las proteínas en diferentes niveles del aparato de Golgi (Fig. 2). La glicosilación juega un papel importante

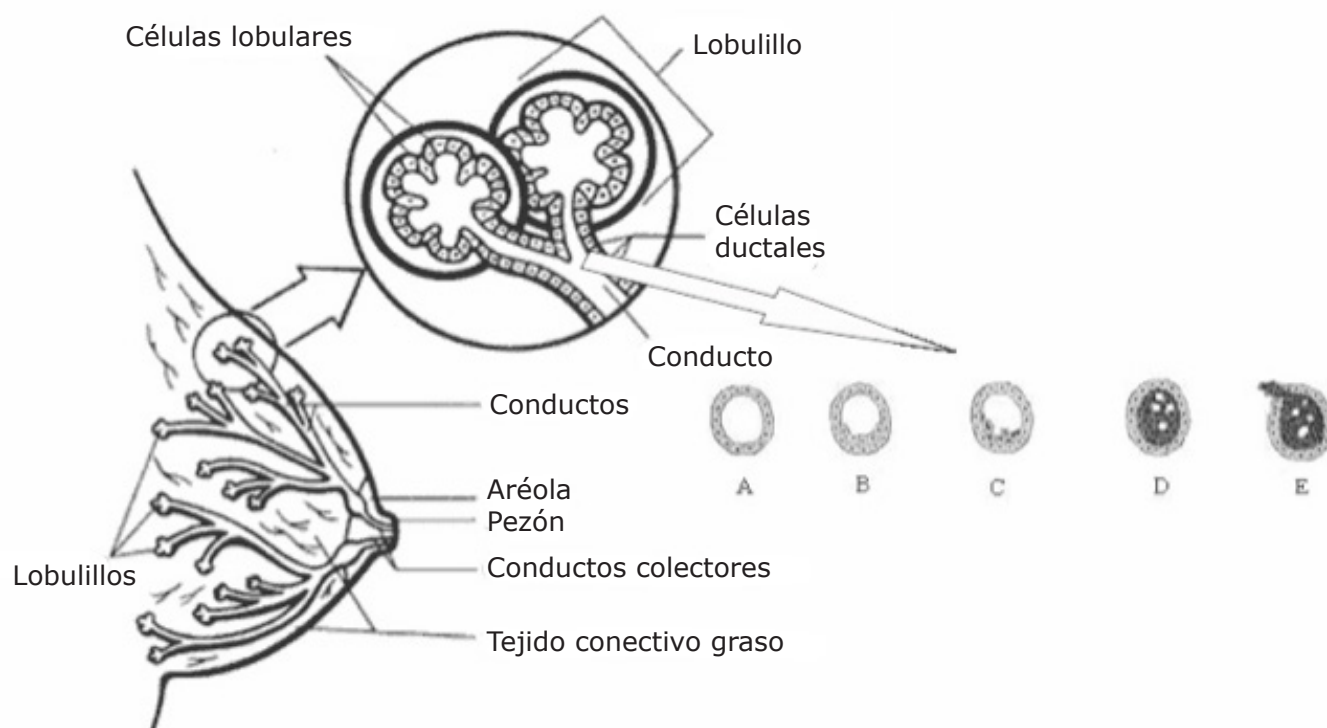


Figura 1. Esquema que representa la anatomía de la glándula mamaria y la evolución del carcinoma in situ a infiltrante. A) se observa el ducto normal, el cual está constituido por tres partes principales: membrana basal del conducto, epitelio ductal y la capa superficial constituida por las células ductales. B) Crecimiento de las células epiteliales intraductales. C) Cambio en la morfología de las células epiteliales. D) Invasión de la luz del ducto. E) Invasión del estroma (Modificado de la referencia 34).

en el transporte y destino de las proteínas a las que se les añaden residuos sacarídicos, pero también se ha observado que tiene importancia por los oligosacáridos que finalmente quedan expresados en la superficie celular (1).

Las glicoproteínas son biopolímeros que pueden contener una o más cadenas de carbohidratos unidas al polipéptido. Las cadenas de carbohidratos se clasifican, de acuerdo a la unión entre el azúcar y el aminoácido, en N- y O-glicanos (Fig. 3). Los N-glicanos, generalmente presentan una N-acetil-D-glucosamina (GlcNAc) unida a asparagina (Asp) y los N-glicanos presentes en las glicoproteínas se clasifican en tres grandes grupos: Los N-glicanos con alto contenido de manosa, los cuales son muy comunes en proteínas con diversos orígenes y funciones, y son intermediarios para otro tipo de estructuras N-glicosiladas más complejas, las estructuras del tipo lactosamínico, las cuales tienen principalmente Gal β 1-4GlcNAc en cantidad variable y actúan como señales de reconocimiento celular, ya que las glicoproteínas que presentan este tipo de estructuras normalmente se encuentran en la superficie celular, y el tercer tipo de estructura N-glicánica se conoce como híbrida y las glicoproteínas poseen una mezcla de las estructuras lactosamíni-

cas y de alto contenido de manosas. Los N-glicanos también pueden proteger a las glicoproteínas que los portan de la acción de proteasas. Los O-glicanos poseen una N-acetil-D-galactosamina (GalNAc) unida a una serina o una treonina (Ser/Thr) de la cadena polipeptídica, a diferencia de los N-glicanos, los O-glicanos presentan una mayor variedad de estructuras, habiéndose identificado ocho secuencias consenso de las cuales se derivan el resto de estructuras. Por su gran complejidad y diversidad los O-glicanos se encuentran participando en diversas funciones como por ejemplo: En la conformación de la estructura secundaria y terciaria e inclusive de la cuaternaria de algunas proteínas como en el caso de las mucinas (2), y evitando la agregación de las proteínas (3). Muchos de los O-glicanos presentes en las glicoproteínas participan activamente en el reconocimiento celular actuando como ligando (4-6), así en la fertilización, es necesario la adhesión del espermatozoide a la zona pelúcida, esta unión es mediada por la galactosil transferasa I (GalT-I) y la glicoproteína de la zona pelúcida tres (ZP3) (7), además de estar presentes en diversas moléculas que juegan un papel relevante en la regulación de la respuesta inmunológica (8) en la transducción de señales (9). La presencia de estructuras O-glicosí-

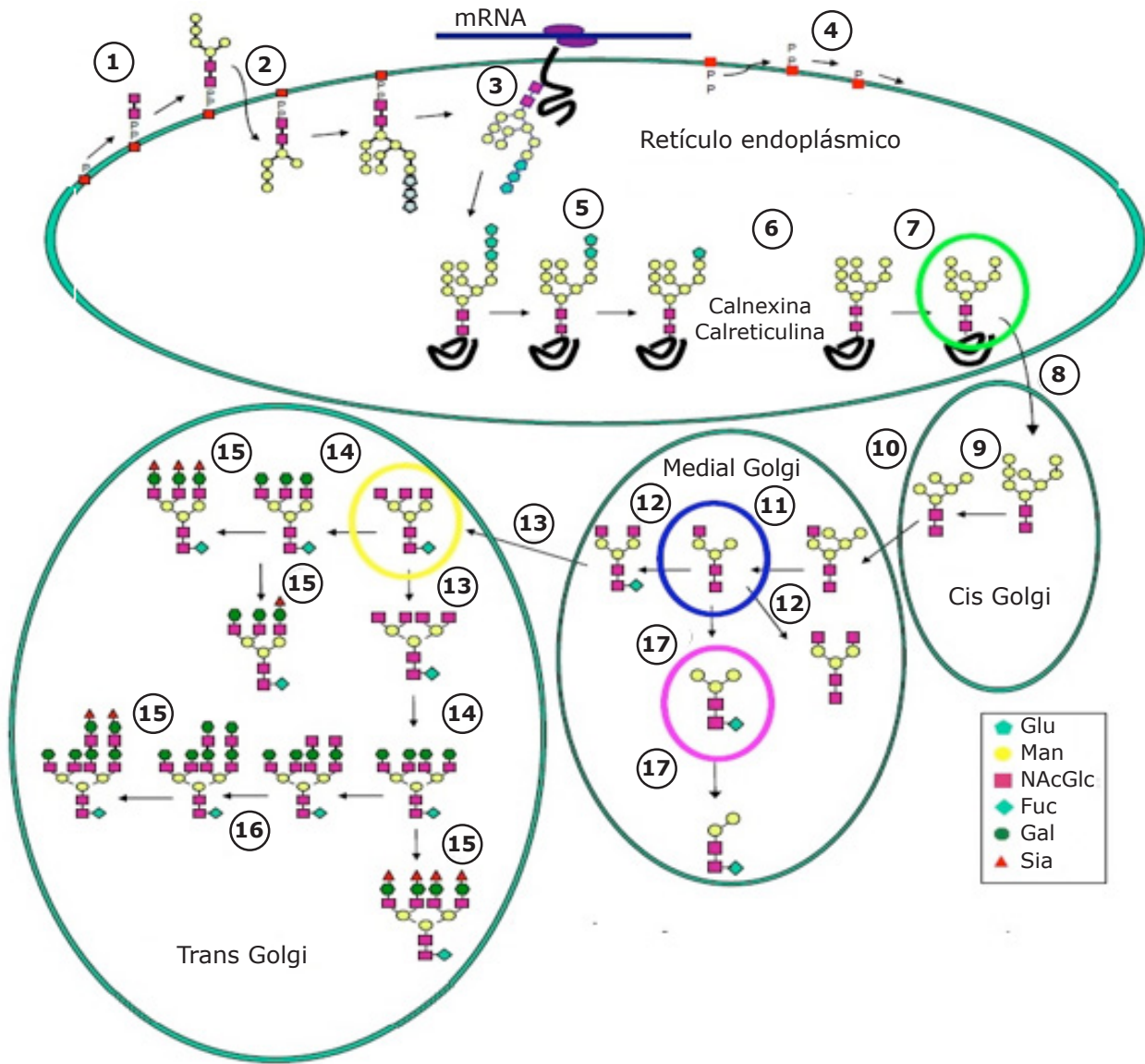


Figura 2. Esquema que representa la síntesis y unión de un N-glicano a una proteína en el retículo endoplasmático (RE) y aparato de Golgi: 1. Síntesis del oligosacárido-dolicol- fosfato (lado externo de RE). 2. Translocación del precursor a lumen RE. 3. Transferencia de oligosacárido a Asn-X-Ser/Thr. 4. Dolicol-fosfato de nuevo translocado al exterior de RE. 5. Glucosidasas I elimina Glc terminales. 6. Tercera Glc eliminada por glucosidasa II. Control de plegamiento por calnexina y calreticulina. 7. α -manosidasa. 8. Proteína transportada en vesículas al cis-Golgi. La proteína se omite a continuación. 9. α -manosidasa I. 10. NAcGlc Transferasa I. 11. α -manosidasa II. 12. Fucosil Transferasa y NAcGlc Transferasa II. 13. NAcGlc Transferasa IV o V agregan NAcGlc para glicanos tri- o tetra-antenarios. 14. β 1-4 gal Transferasa. 15. Sialil Transferasa. 16. NAcGlc Transferasa y gal Transferasa producen lactosaminas. 17. Exoglicosidasas (hexosaminidasas y manosidasas) Glu: Glucosa, Man: Mamosa, NAcGlc: N-Acetil-glucosamina, Fuc: Fucosa, Gal: Galactosa y Sia: Acido siálico.

dicas incompletas en las proteínas ha sido asociado con el desarrollo de tumores (10), generando los antígenos asociados a tumor.

EL ANTÍGENO THOMSEN-FRIEDENREICH (TF)

En 1925 Hubener y Thomsen 1927 describieron por primera vez que eritrocitos viejos, podían ser aglu-

tinados por sueros provenientes de todos los tipos sanguíneos, en 1930 Friedenreich, demostró que este fenómeno se debía a la acción de una enzima que era producida por bacterias que contaminaban los eritrocitos, exponiendo el nuevo antígeno "T" y que era reconocido por la aglutina "T", presente en el suero de los adultos y eventualmente ausente en los recién nacidos; se denominó fenómeno de

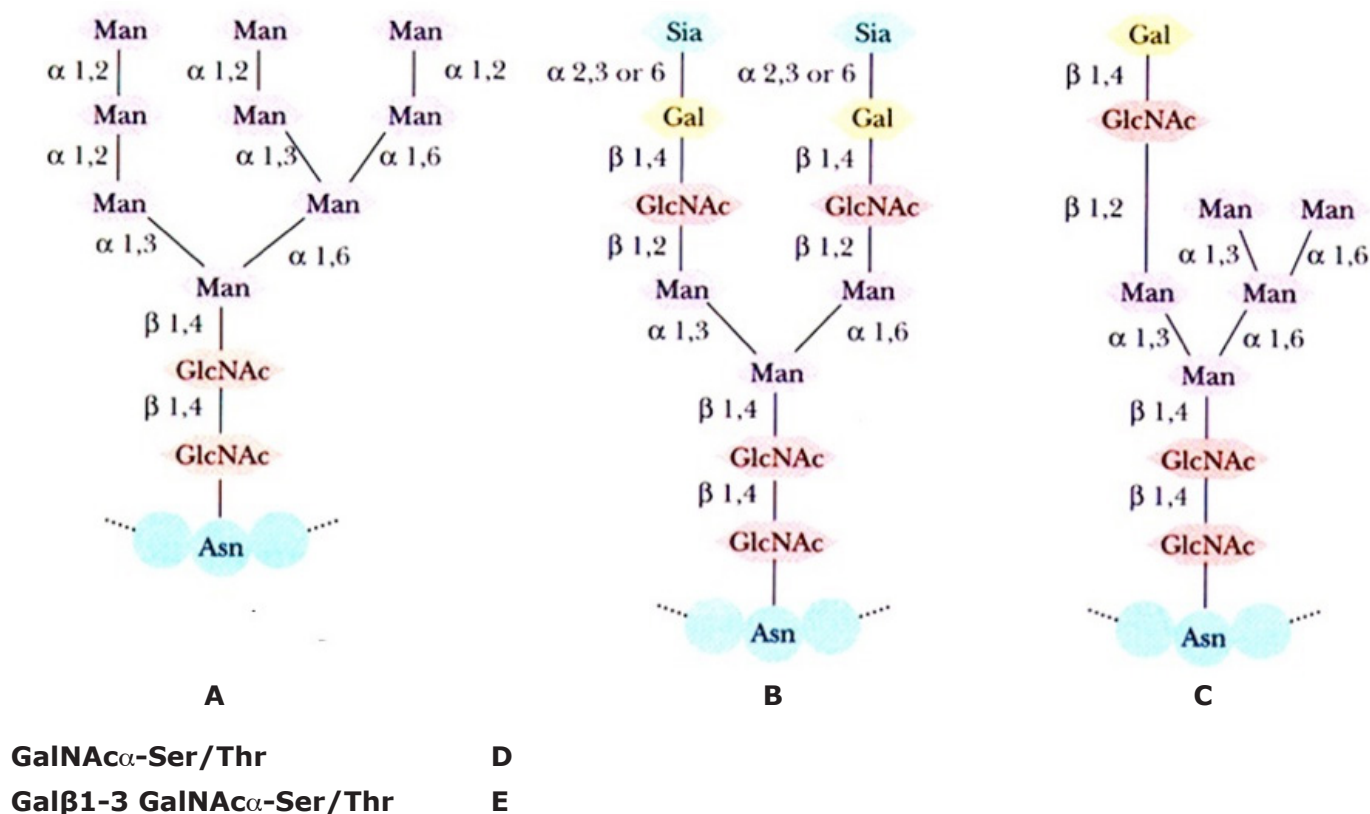


Figura 3. Núcleos sacarídicos internos más comunes identificados en glicoproteínas. A, B y C corresponden a N-glicanos. A) N-glicanos ricos en manosa, B) N-glicanos complejos y C) N-glicanos híbridos. D y E corresponden a núcleos de iniciación de O-glicanos. D) corresponde al antígeno Tn y E) corresponde al antígeno TF. Sia= Ácido siálico, Gal= Galactosa, GalNAc=N-acetilgalactosamina, GlcNAc=N-acetil-glucosamina, Man=Manosa Ser= Serina. Thr=Treonina. Asn= Asparagina (Modificado de la referencia 2).

Hubener-Thomsen-Friedenreich. La naturaleza química del antígeno TF, fue descrita en 1966 por Gerhard Uhlenbruck y en 1975 Springer describe al antígeno TF, como un antígeno asociado a tumor o más bien como un antígeno oncofetal.

El antígeno TF está conformado por el disacárido Gal β 1,3GalNAc. Éste es un disacárido precursor de una variedad de estructuras oligosacarídicas en las glicoproteínas de las células. El antígeno TF, se encuentra presente en los grupos sanguíneos M y N. En el epitelio normal, la estructura Gal β 1-3GalNAc α 1-Ser/Thr se encuentra oculta por el ácido siálico (Sia), sulfatos o por adición de otras cadenas de azúcar para formar O-glicanos ramificados y complejos (Fig. 4). En condiciones cancerosas y precancerosas tales como colitis ulcerosa, se produce el antígeno TF, sin que se le adicionen más carbohidratos (11); en aproximadamente el 90% de todos los cánceres humanos incluyendo el de colon, mama, vejiga, próstata, hígado, ovario y estómago se ha reportado la expresión del antígeno TF. En muchos de estos casos, el aumento de la expresión del antígeno TF se correlaciona con la progresión y

metástasis del cáncer, por ejemplo la expresión del antígeno TF en el cáncer de vejiga es seis veces mayor en los que son invasivos de aquellos que no lo son (11).

EL ANTÍGENO TF EN EL CÁNCER

El mecanismo de aumento de la expresión del antígeno TF en el cáncer aún no está totalmente descifrado. En O-glicanos unidos a mucina, el antígeno Tn (GalNAc α -Ser/Thr también conocido como núcleo 1 o de iniciación), es el precursor para la estructura ramificada del núcleo de iniciación 2 que se sintetiza mediante la adición de galactosa (Gal) al antígeno Tn, reacción catalizada por la enzima β 1,3 Gal-transferasa. Al núcleo 1 y 2 se les agrega más carbohidratos en los epitelios normales. Ahora se sabe que un solo gen-núcleo 1 β 1, 3 Gal-transferasa (también conocido como T-sintasa, B3GALT) es responsable de la transferencia de Gal a partir de UDP-Gal a GalNAc α 1-Ser/Thr (11). Este gen, parece muy diferente al de las familias multi-génicas de las glicosiltransferasas que por lo general

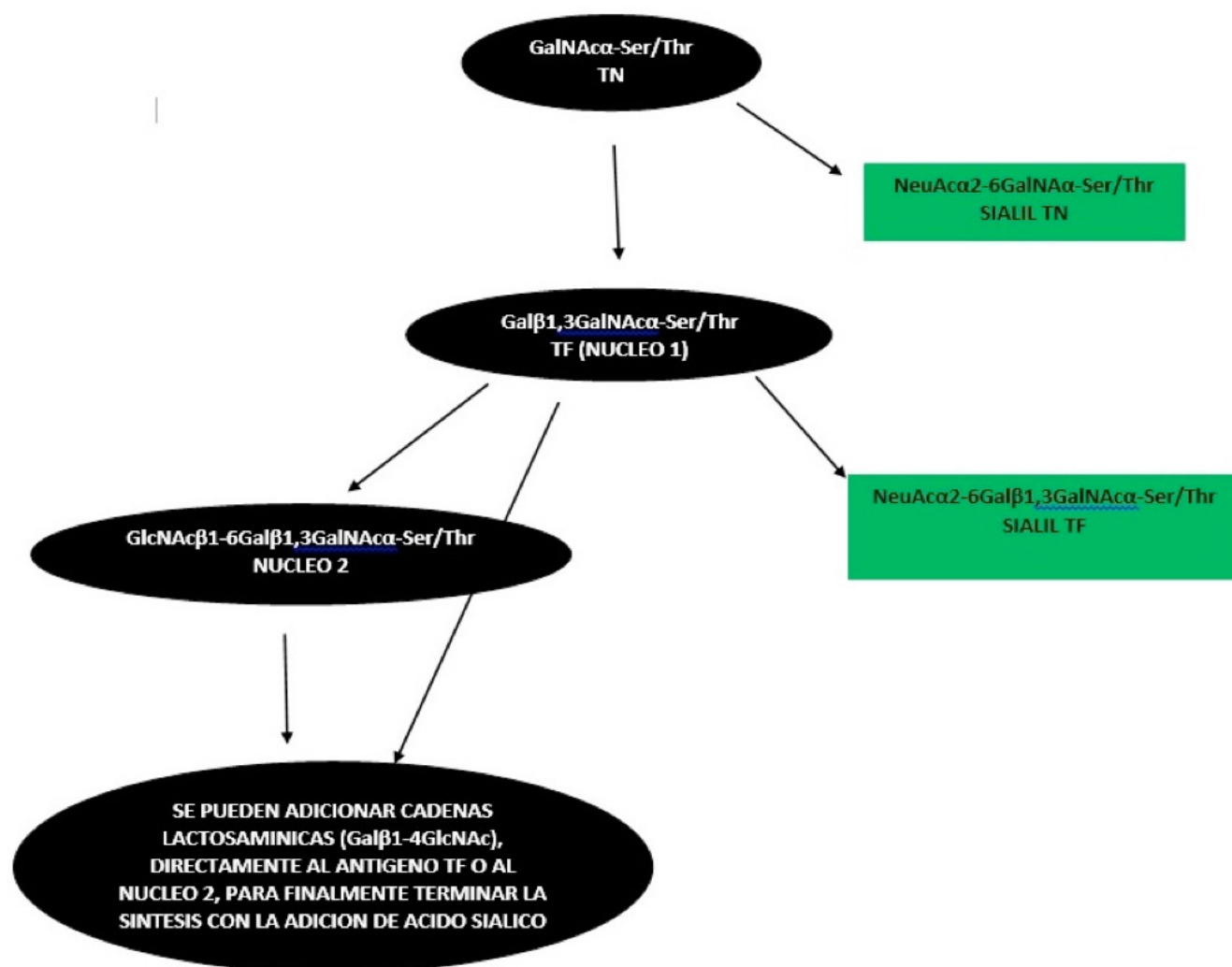


Figura 4. Biosíntesis del antígeno TF. El proceso inicia con la de adición de un residuo de GalNAc, a aminoácidos Ser o Thr, generando el antígeno Tn, por acción de la enzima galactosa $\beta 3$ GalNAc transferasa, se adiciona un residuo de galactosa a la GalNAc, generando el antígeno TF, al antígeno TF, se le adiciona un residuo de GlcNAc, para generar el núcleo dos, al cual se le agregan estructuras lactosaminicas, de acuerdo a las necesidades de la célula o tejido para finalmente ser terminado con ácido sialico. En células transformadas se ha observado que este proceso no se termina, generando estructuras oligosacáridicas inconclusa, en los cuadros verdes, se muestra la sialilación temprana de los antígeno Tn y TF, relacionados a procesos de proliferación y metástasis en el cáncer.

codifican varias enzimas con estructuras y funciones relacionadas (11). Aunque este gen, pudiera ser el responsable del aumento en la expresión del antígeno TF, existen referencias sobre las actividades de glicosiltransferasas similares para la biosíntesis de los antígenos Tn, Tn y sialil-TF (11), por lo que no se puede concluir que la sola actividad de este gen sea la responsable del aumento en la expresión del antígeno TF.

Los azúcares se añaden individualmente y secuencialmente en el aparato de Golgi, la alteración de las actividades relativas de las glicosiltransferasas responsables de la biosíntesis de O-glicanos complejos, afectan las estructuras oligosacáridicas

expresadas en la superficie celular. En condiciones normales en las células epiteliales, la formación de núcleo 1 o antígeno TF, se genera por la adición de Gal a la GalNAc inicial, por la enzima GALNT3 para convertirse rápidamente en el núcleo 2, mediante la adición de N acetil glucosamina al residuo GalNAc catalizada por la enzima $\beta 1, 6$ -GlcNAc-transferasa.

En los tejidos de cáncer de mama, la expresión de esta enzima se encuentra significativamente reducida (11) y esta expresión reducida de $\beta 1, 6$ -GlcNAc-transferasa afecta la conversión del núcleo de 1 a 2 aumentando la aparición del antígeno TF. Además, en algunas ocasiones el antígeno TF se oculta por ésteres de O-sulfato, como se observa

en el epitelio del colon normal, así el aumento del antígeno TF, observado en el cáncer de colon, se pudo deber a la reducción de la actividad de las sulfotransferasas.

La disponibilidad del nucleótido UDP-galactosa para la enzima GALNT3 podría también contribuir a un aumento de la biosíntesis y la expresión del antígeno TF. La UDP-galactosa se sintetiza y se encuentra normalmente en el citosol y se transporta hacia el interior del aparato de Golgi para la biosíntesis de carbohidratos, por acción del transportador de UDP-Gal, que está ubicado en la membrana del Golgi. En los tejidos de cáncer de colon humanos la expresión del transportador de UDP - Gal es en promedio de 3-6 veces mayor que la de mucosa no maligna (11). Esta mayor disponibilidad de sustrato UDP-Gal para la GALNT3 en el cáncer favorecería una mayor biosíntesis del antígeno TF.

Otro factor que puede ser responsable de la mayor expresión del antígeno TF en el cáncer es el estado de la acidificación del aparato de Golgi, recientemente se reveló que los medios de comunicación/trans-Golgi pH ($\text{pH} \geq 6.75$), en células de cáncer de mama (MCF-7) y de colon (HT29 y SW48) es más ácido ($\text{pH} 5.9$ a 6.5) (12) que el de las células controles no cancerosas.

La actividad de la enzima $\beta 1, 3$ -Gal-transferasa es controlada también por una chaperona molecular específica para $\beta 1, 3$ -Gal-transferasa (COSMC, por sus siglas en inglés) localizada en el retículo endoplasmático; que promueve específicamente el plegado/estabilidad la enzima $\beta 1, 3$ -Gal-transferasa (13). En ausencia de COSMC, la enzima GALNT3 es enviada al proteosoma para su degradación. Esto implica que cualquier cambio de expresión de COSMC a nivel celular afectará la actividad de la enzima $\beta 1, 3$ Gal transferasa y por lo tanto, la expresión del antígeno TF. Las mutaciones en COSMC han demostrado estar relacionadas con el aumento de la expresión del antígeno Tn (14). Todavía no se sabe si la expresión COSMC está alterada en las células cancerosas.

Así, los mecanismos moleculares que conducen a una mayor expresión del antígeno TF en el cáncer son complejos y posiblemente representan una combinación de alteraciones en varios pasos de la maquinaria de la biosíntesis de O-glicanos.

EL PAPEL POTENCIAL DE ANTÍGENO TF EN LA PROLIFERACIÓN

El crecimiento celular descontrolado es una característica clave en el desarrollo del tumor. La aparición del antígeno TF en la superficie puede jugar un papel activo en el crecimiento de las cé-

lulas tumorales, al permitir una mayor interacción de las células con lectinas endógenas (proteínas que reconocen carbohidratos de manera específica e irreversible), como por ejemplo las galectinas.

La estimulación de la proliferación de células cancerosas de colon humano se ha demostrado con lectinas que reconocen al antígeno TF como la lectina de cacahuete (*Arachis hypogaea*) (15) y la lectina de amaranto (*Amaranthus caudatus*) (16), así como con anticuerpos monoclonales anti-TF (17) en condiciones *in vitro*. En contraste, la lectina del hongo comestible *Agaricus bisporus* (17) y la del fruto de *Artocarpus integrifolia* (16), inhiben la proliferación de células cancerosas epiteliales de manera reversible y no citotóxica.

El antígeno TF es un ligando potencial para las galectinas endógenas. Las galectinas son una familia de 15 proteínas de mamíferos que reconocen galactósido y que se expresan intracelularmente y extracelularmente en muchos tipos de células incluyendo las células epiteliales y en macrófagos, monocitos, células dendríticas, mastocitos, eosinófilos y linfocitos T, células del sistema inmunológico (18). La interacción entre el antígeno TF y galectinas, pueden afectar el crecimiento de las células tumorales. Se han observado cambios en la expresión de galectinas en diversos tipos de tumores incluyendo colon, mama, pulmón, páncreas, cabeza y cuello y de cuello uterino en comparación con sus homólogos normales (18). Las galectinas asociadas a cáncer son importantes por ser reguladores de la proliferación de células cancerosas, señalización, adhesión, invasión y metástasis (18). La expresión y la función de las galectinas circulantes es menos conocida en el cáncer, solamente se ha investigado a la galectina-3, que muestra hasta cinco veces mayor expresión en los sueros de pacientes con cáncer de mama, gastrointestinal y pulmonar (19) que en las personas sanas. Este aumento de la concentración galectina-3 circulante, se asocia con aumento en el riesgo de metástasis (19).

La metástasis un proceso de múltiples etapas que implica varias interacciones célula-célula y célula matriz extracelular, lo que lleva a las células transformadas del sitio primario al sitio secundario del tumor. Entre los principales eventos en la metástasis podemos incluir: la angiogénesis, el desprendimiento de las células cancerosas desde el sitio del tumor primario y atravesar la matriz extracelular para llegar a circulación, la adhesión de las células cancerosas que circulan de la sangre a los endotelios y la extravasación de las células cancerosas en los sitios de tumor secundario. Esta cascada metastásica se deriva de la desregulación de las interacciones célula-célula y célula-matriz. El aumento en la expresión del antígeno TF en la

superficie de las células cancerosas puede estar involucrado en la promoción de interacciones célula-célula clave en la metástasis al permitir aumento de la interacción de las células que expresan antígeno TF con células que expresan galectinas.

EL PAPEL POTENCIAL DEL ANTÍGENO TF EN LA ADHESIÓN DE CÉLULAS METASTÁSICAS DEL CÁNCER DE MAMA A LOS ENDOTELIOS

La adhesión de las células cancerosas circulantes al endotelio de un órgano diana, es un paso limitante en la metástasis del cáncer. El conocimiento actual del mecanismo molecular de la adhesión de células tumorales al endotelio, se deriva en gran medida de la adhesión de leucocitos. El reclutamiento de leucocitos en el sitio de la inflamación, implica eventos secuenciales de rodamiento, adherencia y trans migración a través de la pared vascular. El rodamiento de los leucocitos está mediada por estructuras glicosídicas relacionadas con el antígeno Lewis, tales como, sialil-Lewis^a (Neu5Ac2-3Galβ1-4[Fucα1-4]GlcNAc) y sialil-Lewis^x (Neu5Ac2-3Galβ1-4[Fucα1-3]GlcNAc), con las selectinas P y E, expresadas, tanto en los endotelios como en los leucocitos (20). A pesar de existir interacciones similares en los procesos de adhesión de las células tumorales circulantes a los endotelios, existe evidencia que este mecanismo no siempre es el empleado, así por ejemplo, se ha observado, que el empleo de anticuerpos anti-selectinas no evita la adhesión de células de melanoma A375M (21), ni de las células de carcinoma mamario MDA-MB-435 (22). Varias líneas celulares de cáncer humano, como las de colon (DLD-1, HT29 y HCT8), mama (MCF-7) y células de la vejiga (TT24), expresan estructuras oligosacarídicas del tipo sialil-Lewis^{a/x}, no presentan rodamiento a adhesión a los endotelios, en experimentos realizados en conejos y ratas (23), lo que puede implicar que las interacciones selectinas-sialil Lewis, son solo uno de los mecanismos empleados por la célula tumoral en la adhesión a los endotelios.

La galectina-3 es una lectina que se puede expresar en los endotelios, así como, en las células tumorales y ha demostrado jugar un papel importante en la adhesión de líneas tumorales del cáncer de mama, a los endotelios, por ejemplo, células metastásicas de carcinoma mamario MDA-MB-435, expresan altos niveles de antígeno TF y galectina-3, lo cual aumenta su potencial de adhesión a monocapas de endotelios, cuando se comparan con células sin potencial metastásico, en estudios realizados *in vivo* (24).

Aunque el incremento en la expresión del antígeno TF, se ha asociado al desarrollo del carcinoma mamario, poco se conoce acerca de las proteínas de membrana que lo expresan, entre ellas CD44v6 y la mucina 1 (MUC 1). CD44v6 es una variante del gen de CD44, se encuentra altamente expresado en células epiteliales escamosas de carcinomas y adenocarcinomas de diferentes orígenes y se ha asociado a la invasión y metástasis (25).

La Mucina 1 es una glicoproteína transmembranal, localizada en las células epiteliales humanas, su expresión se incrementa hasta 10 veces en células transformadas de origen epitelial, su expresión se asocia a un alto potencial metastásico (26). La mucina 1 en células transformadas presenta una reducción en la expresión de estructuras O-glicánicas complejas, encontrándose presente estructuras oligosacarídicas cortas como el antígeno Tn (GalNAcα1-Ser/Thr), sialil Tn y el antígeno TF, por otra parte se ha demostrado que la galectina-3 puede ser el receptor para el antígeno TF, expresado en las células cancerosas (27), también se ha reportado que el empleo de galectina-3 recombinante favorece la adhesión de células de cáncer de mama (ZR-75-1) y de colon (HT29-5F7) a monocapas de células endoteliales obtenidas de cordón umbilical humano (HUVEC) (27).

La adhesión mediada por galectina-3 de las células HCA1.7 + a las células HUVEC se reduce por el tratamiento con Endo-N-acetilgalactosaminidasa (O-gliconasa), que es específico para TF que no presenta ácido siálico (28). Células (+ MDE9.2), que han sido transfectadas con MUC1, que expresan antígeno TF sialilado, solo demuestran una capacidad adhesiva, después de la remoción del ácido siálico (27), lo que sugiere que la interacción entre MUC1 con el antígeno TF, sin ácido siálico y galectina-3 puede representar un paso crítico en la adhesión de la célula tumoral al endotelio. La unión de galectina-3 circulante y células tumorales que expresan MUC1 vía antígeno TF, puede favorecer la adhesión de células a los endotelios y su extravasación a los sitios secundarios del tumor (Fig. 5) (29).

EL ANTÍGENO TF EN EL CÁNCER DE MAMA

La glicosilación incompleta de glicoproteínas juega un papel importante en la proliferación y metástasis en el cáncer de mama, los primeros estudios donde se relaciona la presencia de estructuras oligosacarídicas incompletas fue el empleo de lectina de *Helix pomatia* y su relación con la migración de células metastásicas a ganglios, provenientes de glándulas mamarias con cáncer, en muestras

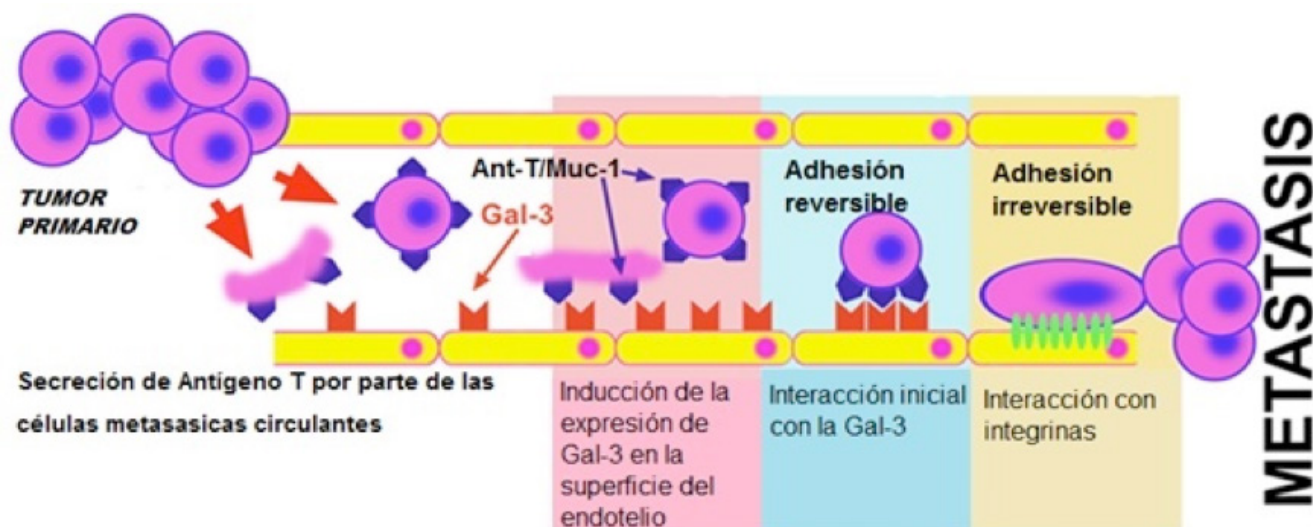


Figura 5. Modelo de posible participación del antígeno TF, en el desarrollo del cáncer de mama. La expresión del antígeno TF, con galectina-3, expresadas en los endotelios o en circulación favorece la adhesión de la célula tumoral a los sitios cercanos de invasión del tumor, esta adhesión favorece una interacción más fuerte a través de moléculas de adhesión como las integrinas, que favorecen la extravasación de la célula tumoral. (Modificado de la referencia 29).

de tejidos incluídas en parafinas, así mismo no se encontró relación con el tamaño del tumor, grado histológico y edad de la paciente (30). En el año 2000, se propone que la glicoproteína CA15-3 que se encuentra en las células epiteliales y que forma parte de una glicoproteína más grande que se llama MUC 1, puede participar en la metástasis de células tumorales provenientes de la glándula mamaria (30). La glicoproteína CA 15-3 se puede encontrar en el suero, con valores de 7,5 - 53 U/ml, mientras que valores mayores a los normales, se han encontrado en pacientes con cáncer de mama. La medición de CA 15-3 en la sangre puede ser útil para determinar si el tratamiento es eficaz o si el cáncer volvió, sin embargo no se considera un marcador predictivo de cáncer de mama, debido a que en estadios iniciales de éste, sus valores son semejantes a los normales.

Recientemente se han empleado lectinas de *Arachis hypogea*, *Artocarpus integrifolia* y *Amaranthus leucocarpus*, todas con especificidad para el antígeno TF, encontrándose diferencias en los perfiles de reconocimiento de las lectinas en muestras de fibroadenoma (tumor benigno) y muestras de cáncer ductal infiltrante, así como una estrecha relación con la expresión de galectina-3 (31-33).

CONCLUSIONES

A pesar de que los cambios en la glicosilación, han sido reconocidos durante mucho tiempo como una de las condiciones en células pre-cancerosas y células transformadas, su contribución a la progresión del cáncer se ha estudiado hasta hace poco. El aumento de la aparición del antígeno TF en el cáncer, se debe probablemente a la consecuencia de alteraciones en varios pasos en la biosíntesis de O-glicanos, que promueve la progresión y metástasis de células transformadas. El antígeno TF, expresado en células transformadas y en los endotelios, favorece la interacción celular, con miembros de galectinas endógenas, particularmente la galectina-3. Se requiere de investigación adicional sobre los mecanismos moleculares de la participación del antígeno TF en la progresión del cáncer, lo que aumentará nuestra comprensión del desarrollo del cáncer de mama y podría ayudar en la identificación de nuevas dianas terapéuticas para el tratamiento del cáncer. La importancia funcional de la glicosilación celular en la complejidad de los eventos que regulan las interacciones célula-célula y proteína-proteína, en condiciones de enfermedad es probable que sea una de las áreas de investigación muy prometedoras de la ciencia biomédica en la era post-genómica.



REFERENCIAS

1. Van den Steen P, Rudd MP, Dwek AR, Opdenaker G (1998) Concepts and Principles of O-glycosylation. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol* 33: 151-208.
2. Carraway KL, Hull SR (1991) Cell surface mucin-type glycoprotein and mucin like domains. *Glycobiology* 1: 131-138.
3. Rose MC, Voter WA, Sage H, Brown CF, Kaufman B (1984) Effects of deglycosylation on the architecture of ovine submaxillary glycoprotein *J Biol Chem* 259:3167-3172.
4. Chapman BS, Eckart MR, Kaufman SE, Lapointe GR (1996) O-linked oligosaccharide on the 75 kDa neurotrophin receptor *J Neurochem* 66: 1707-1716.
5. Lai R, Visser L, Poppema S (1991) Tissue distribution of restricted leucocyte common antigen. A comprehensive study with proteins and carbohydrate-specific CD45R antibodies. *Lab Invest* 64: 844-854.
6. Powell LD, Varki A (1994) The oligosaccharide binding specificities of CD22 beta, a sialic acid-specific lectin of B cells. *J Biol Chem* 269: 10628-10636.
7. Gong X, Dubois DH, Miller DJ and Shur BD (1995) Activation of a G protein complex by aggregation of beta 1-4galactosyltransferase on the surface of sperm. *Science* 269: 1718-1721.
8. Nguyen Q V, Knapp W, Humpreys RE (1993) Characterization of the invariant chain C-terminus (Glu183-Glu193) epitope which is sylation site at Thr 104 results in generation of a soluble human transferring receptor. *Blood* 83: 580-586.
9. Willougby RE (1993) Retroviruses preferentially bind O-linked sialylglycoconjugates and sialomucin. *Glycobiology* 3: 437-445.
10. Yamashita Y, Chunng YS, Horie R, Kanagi R, Sowa M (1995) Alterations in gastric mucin with malignant transformation novel pathway for mucin synthesis. *J Natl Cancer Inst* 87: 441-446.
11. Ju T, Brewer K, D'Souza A, Cummings RD, Canfield WM (2002) Cloning and expression of human core 1 beta1,3-galactosyltransferase. *J Biol Chem* 277: 178-186.
12. Rivinoja A, Kokkonen N, Kellokumpu I, Kellokumpu S (2006) Elevated Golgi pH in breast and colorectal cancer cells correlate with the expression of oncofetal carbohydrate T-antigen. *J Cell Physiol* 208: 167-74.
13. Ju T, Cummings RD (2002) A unique molecular chaperone Cosmc required for activity of the mammalian core 1 beta 3-galactosyltransferase. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 16613-16618.
14. Schietinger A, Philip M, Yoshida BA, Azadi P, Liu H, Meredith SC, Schreiber H (2006) A mutant chaperone converts a wild-type protein into a tumor-specific antigen. *Science* 314: 304-308.
15. Ryder SD, Smith JA, Rhodes JM (1992) Peanut lectin is a mitogen for normal human colonic epithelium and HT29 colorectal cancer cells. *J Natl Cancer Inst* 84: 1410-1416.
16. Yu LG, Milton JD, Fernig DG, Rhodes JM (2001) Opposite effects on human colon cancer cell proliferation of two dietary Thomsen-Friedenreich antigen-binding lectins. *J Cell Physiol* 186: 282-287.
17. Yu L, Fernig DG, Smith JA, Milton JD, Rhodes JM (1993) Reversible inhibition of proliferation of epithelial cell lines by *Agaricus bisporus* (edible mushroom) lectin. *Cancer Res* 53: 4627-4632.
18. Liu FT, Rabinovich GA (2005) Galectins as modulators of tumour progression. *Nat Rev Cancer* 5: 29-41.
19. Takenaka Y, Fukumori, T, Raz A (2004) Galectin-3 and metastasis. *Glycoconj J* 19: 543-549.
20. Kannagi R. (2002) Regulatory roles of carbohydrate ligands for selectins in the homing of lymphocytes. *Curr Opin Struck Biol.* 12: 599-608.
21. Giavazzi R, Foppolo M, Dossi R, Remuzzi A (1993) Rolling and adhesion of human tumor cells on vascular endothelium under physiological flow conditions. *J Clin Invest* 92: 3038-3044.
22. Khaldoyanidi SK, Glinsky VV, Sikora L, Glinskii AB, Mossine VV, Quinn TP, Glinsky GV, Sriramarao P (2003) MDAMB-435 human breast carcinoma cell homo- and heterotypic adhesion under flow conditions is mediated in part by Thomsen-Friedenreich antigen-galectin-3 interactions. *J Biol Chem* 278: 4127-4134.
23. Thorlacius H, Prieto J, Raud J, Gautam N, Patarroyo M, Hedqvist P, Lindbom L (1997) Tumor cell arrest in the microcirculation: lack of evidence for a leukocyte-like rolling adhesive interaction with vascular endothelium in vivo. *Clin Immunol Immunopathol* 83: 68-76.

24. Khaldoyanidi SK, Glinsky VV, Sikora L, Glinskii AB, Mossine VV, Quinn TP, Glinsky GV, Sriramaraio P (2003) MDAMB-435 human breast carcinoma cell homo- and heterotypic adhesion under flow conditions is mediated in part by Thomsen-Friedenreich antigen-galectin-3 interactions. *J Biol Chem* 278: 4127-4134.
25. Zöller M (1995) CD44 physiological expression of distinct isoforms as evidence for organ-specific metastasis formation. *J Mol Med* 73: 425.
26. Nakamori S, Ota DM, Cleary KR, Shirotani K, Irimura T (1994) MUC1 mucin expression as a marker of progression and metastasis of human colorectal carcinoma. *Gastroenterology* 106: 353-361.
27. Yu LG, Andrews N, Zhao Q, McKean D, Williams JF, Connor LJ, Gerosimenko OV, Hilkens J, Hirabayashi J, Kasai K, Rhodes JM (2007) Galectin-3 interaction with Thomsen-Friedenreich oligosaccharide on cancer-associated MUC1 causes increased cancer cell-endothelial adhesion. *J Biol Chem* 282: 773-781.
28. Bhavanandan VP, Umemoto J, Davidson EA (1976) Characterization of an endo-alpha-N-acetyl galactosaminidase from *Diplococcus pneumoniae*. *Biochem Biophys Res Commun* 70: 738-745.
29. Baldus SE, Wienand JR, Werner JP, Landsberg S, Drebber U, Hanisch FG, Dienes HP (2005) Expression of MUC1, MUC2 and oligosaccharide epitopes in breast cancer: prognostic significance of a sialylated MUC1 epitope. *Int J Oncol* 27: 1289-1297.
30. Alexandra C. Kölbl, Ulrich Andergassen and Udo Jeschke (2015) The role of glycosylation in breast cancer metastasis and cancer control. *Frontiers in oncology* 5: 1-5.
31. Gallegos B, Pérez-Campos E, Martínez R, Leyva P, Martínez M, Hernández R, Pina S, Hernández C, Zenteno E, Hernández P (2010) O-glycosylation expression in fibroadenoma. *Prep Biochem Biotechnol* 40: 1-12.
32. Gallegos IB, Pérez-Campos E, Martínez M, Mayoral MÁ, Pérez L, Aguilar S, Zenteno E, Pina M del S, Hernández P (2012) Expression of antigen tf and galectin-3 in fibroadenoma. *BMC Res Notes* 24; 5: 694. doi: 10.1186/1756-0500-5-694. ISSN: 1756-0500
33. Gallegos-Velasco B, Pérez-Campos E, Aguilar-Ruiz S, Pérez-Campos L, Solórzano-Mata C, Pérez-Cervera Y, Zenteno E, Hernández-Cruz P (2015) Antigen TF and Galectin-3 expression in breast carcinoma. *Journal of Biology and Nature* 2: 37-49.
34. Gallegos B, Cuevas B, Pérez Campos E, Coutiño R, Pérez Campos L, Hernández Cruz P (2013) El papel de la galectina tres en el desarrollo del cáncer de mama. *Revista de Educación Bioquímica* 32(1): 3-12.

DE LAS TRINCHERAS DEFENSIVAS BACTERIANAS A LA EDICIÓN EFICIENTE DE GENOMAS*

Juan Rafael Riesgo Escovar

Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México,
correo E: riesgo@unam.mx

Desde hace muchos años, la posibilidad de editar genomas a voluntad ha sido uno de los objetivos más acariciados por los investigadores en biología y medicina, particularmente en sistemas en donde la generación y caracterización de mutantes es difícil, o casi imposible. Aún en los sistemas en donde típicamente se generan mutaciones en cantidades suficientes en un tiempo corto, éstas generalmente se inducen de manera aleatoria, por lo que después de generar las cepas o líneas, queda el trabajo de reconocer, aislar y caracterizar a la mutante o mutantes de interés, de manera que aún en estos sistemas genéticos la operación es tardada, y normalmente requiere de mucho esfuerzo, especialmente en sistemas pluricelulares. Por otra parte, las mutaciones no se editan sino que se inducen de manera razonablemente aleatoria, y queda después el trabajo de establecer su naturaleza, y sus efectos. Durante mucho tiempo este fue el único modo de forzar cambios genéticos, y es usado también para, sin prejuicio, generar mutaciones en todos los genes susceptibles de mutar a un mismo fenotipo, o, dicho en otras palabras, aislar a la mayoría de los genes que intervienen en el mismo proceso de interés.

Se han ideado varios sistemas para generar cambios en los genomas que se basan en cortes de doble cadena de DNA en la secuencia diana, con la posterior inducción de la recombinación homóloga o de otros mecanismos de reparación de daño al DNA en la región del corte, para poder editar el genoma celular. Se sabe que generar cortes de doble cadena en la región que se quiere editar, proveyendo al mismo tiempo de una abundancia de copias con una secuencia editada, que sirve de templado durante la reparación del corte del DNA, funciona como método general de edición, siempre y cuando se pueda después identificar y aislar a las células con el cambio deseado.

En el sistema clásico de "knock-out" en ratones, las células troncales que albergan el cambio

deseado se incorporan a embriones tempranos, con la esperanza de que estas células modificadas formen parte de la masa interna (o el embrión propiamente dicho), y sean precursoras de las células germinales, para que las modificaciones se hereden a la descendencia. Sin embargo, y a pesar de sus incuestionables méritos, este proceso es complicado, tardado y caro, por lo que sus aplicaciones han sido exitosas en casos en donde de antemano se desea estudiar cambios particulares en gen o genes donde se tienen ya datos o se tienen evidencias que apuntan hacia la función o funciones que el gen desempeña. No se puede aplicar para estudiar y cuantificar el número de genes que se requieren para un proceso, por ejemplo, algo que si se puede cuando se generan mutaciones al azar y se aíslan cepas o líneas con fenotipos mutantes comunes.

Generar cortes de doble cadena secuencia-específicos en el DNA genómico es el paso crítico, pero es a la vez algo bastante difícil de lograr. Recientemente, se han ideado varios sistemas para poder generar esto: por ejemplo utilizar la especificidad de los dominios de dedos de zinc (que reconocen secuencias específicas en el DNA) acopladas a nucleasas inespecíficas, pero en todos los casos, los procedimientos son complicados, requieren de un esfuerzo considerable, despliegue técnico alto y tardan bastante tiempo.

Es en este escenario que se inserta el reciente (1) método de edición genómica conocido como CRISPR/Cas9. Es el más sencillo, barato y flexible de todos los métodos hasta hoy disponibles (2, 3). Muy recientemente se ha ampliado este método para poder generar cortes en moléculas de RNA, con lo que, teóricamente, se podrían generar individuos en donde el DNA está intacto, pero se perturba la expresión de uno o varios RNAs derivados del locus (4). Es decir, los métodos de CRISPR-Cas pueden servir para editar no sólo el DNA, sino también moléculas de RNA, en una suerte de equivalente

del método de RNAi. Falta aún saber cuál es la eficiencia del método aplicado al RNA, y que tan general es su aplicación, porque implica expresar una proteína, la C2C2, que tiene actividad de RNA-sa, junto con un RNA de tamaño pequeño que sirve de guía. Aún así, las posibilidades son muchas.

Sin embargo, ¿de dónde vienen estos sistemas de modificación de DNA (y RNA)? ¿Cuál es la función que normalmente llevan a cabo en los organismos? Las bacterias y otros microorganismos se han adaptado para contender con la invasión frecuente de ácidos nucleicos foráneos, y ataques a la integridad de su genoma. Para ello disponen de un arsenal de mecanismos de defensa, entre los cuales se cuentan las estrategias de enzimas de restricción y metilasas y los sistemas de inmunidad CRISPR/Cas.

Una de las estrategias mejor descritas es la que se basa en las enzimas de restricción, que son endonucleasas secuencia-específicas que cortan el DNA foráneo (el DNA propio que contiene la misma secuencia está protegido por metilación). De ahí el nombre de endonucleasas de restricción, porque restringen la invasión de DNA foráneo, que en muchos casos es debido a la incorporación del material genético de bacteriófagos, DNA invasor normalmente suficientemente largo como para que existan sitios de restricción en el mismo.

Además de esta estrategia, también tienen un sistema inmune, que los protege de reiteradas invasiones de las mismas secuencias de ácidos nucleicos. Estos sistemas constituyen sistemas de defensa inmune, pues guardan memoria de anteriores invasiones de ácido nucleico foráneo, y son capaces de montar una respuesta a estos retos.

Desde hace bastante tiempo se han descrito *loci* constituidos por repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas, o CRISPR, por su acrónimo en inglés, en los genomas de muchas bacterias. Son *loci* transcritos del genoma. En ellos las secuencias cortas o espaciadores son pequeñas secuencias insertadas entre las secuencias palindrómicas, y están formados a partir de fragmentos de los ácidos nucleicos invasores de eventos previos. Se piensa que las enzimas Cas1 y Cas2, presentes en todos estos sistemas, son las encargadas de procesar esos fragmentos de los ácidos nucleicos invasores, duplicar la secuencia palindrómica, e insertar la secuencia procesada del ácido nucleico foráneo en el *locus* CRISPR de la bacteria. En un estudio sobre estos sistemas, se examinaron 703 genomas de Archaea y Eubacterias, y de ellos el 44% tiene sistemas CRISPR/Cas reconocibles (5). En otras palabras, es un sistema muy frecuente y ampliamente difundido en genomas procarióticos.

La manera en que se lleva a cabo la defensa consta de tres pasos: en el primero, conocido como la adaptación, se procesa uno (o en algunos casos, más de uno), de los fragmentos del ácido nucleico invasor, y se inserta en un *locus* CRISPR. En el segundo paso, conocido como expresión, se transcribe un RNA largo de todo el *locus* CRISPR, y se procesa para generar fragmentos de RNA correspondientes a los distintos espaciadores (los espaciadores son secuencias derivadas de ácido nucleico invasor) y secuencia palindrómica. Finalmente, en el tercer paso, conocido como interferencia, se usa ese RNA procesado como guía para reconocer por complementariedad al ácido nucleico invasor, y por medio de la acción de una o varias nucleasas, cortarlo. De esa manera se neutraliza la invasión. Este sistema parece haber evolucionado mucho, ya que actualmente se acepta que dentro de este sistema general hay tres variantes básicas, y dentro de estas, varias subclases. Todas, sin embargo, tienen un *locus* CRISPR y genes Cas, como los genes Cas1 y Cas2.

El método básico de edición genómica CRISPR/Cas9 se basa en la adaptación del sistema homónimo de defensa o inmunidad bacteriano, ideado por las Dras. Doudna y Charpentier. La parte medular del sistemas CRISPR/Cas de edición, parte, como está dicho arriba, en la propiedad de utilizar fragmentos cortos del DNA diana, de manera que estas secuencias cortas sirvan de guía para posicionar nucleasas (Cas9) en secuencias del DNA diana complementarias a estos RNA guía, para generar cortes de doble cadena en el DNA diana.

En los sistemas bacterianos hay varios mecanismos CRISPR/Cas, pero el II es el más sencillo y es el que se ha adaptado a la edición de genomas. Originalmente constaba de tres moléculas: la nucleasa Cas9, que se posicionaba en secuencias específicas del DNA por medio del RNA adaptador, y el tracrRNA, un RNA corto parcialmente complementario a la parte palindrómica del crRNA (RNA guía). Este tracrRNA se encuentra codificado vecino a los genes Cas en otro *locus*.

Los crRNA son los que en el método reconocen por complementariedad al DNA diana. Seguido de la secuencia de reconocimiento entre el crRNA y el DNA debe de existir una secuencia en el DNA diana, denominada PAM (por motivo adyacente protoespaciador, por sus siglas en inglés), que para el caso de Cas9 tiene la secuencia NGG, donde N es cualquier nucleótido, seguido de un par de guaninas. Esta secuencia es crítica para que Cas9 pueda cortar el DNA, de modo que lo que se necesita para dirigir el corte de doble cadena a alguna región del genoma es una secuencia de 22 nucleótidos, con un nucleótido entre la secuencia de reconocimiento

y la PAM. Esto se traduce a una combinación que surgiría de manera aleatoria aproximadamente una vez cada 230,000 combinaciones. Dado que en la secuencia de reconocimiento se permiten algunos errores ("mismatches", en inglés; hasta cinco), esto da como resultado que en el método pueda haber "off-targets" (secuencias que son parcialmente complementarias y que pueden sufrir cortes también); en otras palabras otras dianas que pueden ser cortadas también por Cas9 además de la secuencia diana original. De todas maneras, el método es generalmente muy específico, y si se eligen con cuidado la secuencia o secuencias para Cas9, la edición puede ser muy eficiente. La Dra. Doudna recientemente ha mostrado que parte de esto se debe a que la proteína Cas9 recorre de manera muy eficiente los cromosomas del núcleo de células buscando el ancla del tracrRNA, por medio de microscopía de fluorescencia con Cas9 acoplado a un fluoróforo.

Una de las mejoras introducidas en el sistema fue fusionar el crRNA (o RNA guía) con el tracrRNA, de manera que una sola molécula de RNA sirve de anclaje para Cas9 y de sitio de reconocimiento para el DNA diana. Se ha demostrado que este RNA mixto es tan eficiente como las dos especies de RNA originales, y se le denomina también RNA guía. Si además se construye un vector que contenga la parte del RNAguía codificando para el tracrRNA junto con un sitio para clonar crRNA, se obtiene un sistema muy flexible y sencillo de usar. Sólo se necesita sintetizar el crDNA para el gen diana (generalmente se sintetizan éstos como "primers" o cebadores con sitios de clonaje a los extremos), éstos se clonan en el vector, y se usa este vector para transformar las células o el organismo en donde se quiere editar el genoma, junto con una fuente de Cas9, en la edición de genomas (Fig. 1).

El sistema original utiliza un solo RNA guía para dirigir a Cas9 al sitio diana y generar ahí cortes de doble cadena que serán reparados por los sistemas de reparación de las células, introduciendo mutaciones en la secuencia en un alto porcentaje de las veces (se ha reportado hasta 70% de eficiencia). Sin embargo, más recientemente se han introducido variantes que hacen al sistema más flexible y dirigido: si se elaboran dos RNA guía en el mismo gen diana, se pueden generar deleciones, y si se provee también de un templado en abundancia (que puede ser otro plásmido) con las mutaciones deseadas, se pueden generar reparaciones de la deleción usando como molde al DNA complementario con los cambios deseados. Esta estrategia es bastante eficiente, y se han reportado altas eficiencias de CRISP/Cas9.

Es un sistema universal, ya que se ha utilizado con éxito en muy variados sistemas: células

eucariontes en cultivo, levaduras, y animales modelo como *Danio rerio*, el pez cebra, plantas, el nematodo *Caenorhabditis elegans* y la mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*, entre otros (6, 7). También se ha modificado a Cas9 para que realice cortes solamente en una cadena del DNA. Con dos RNA guías se puede generar un corte en cada cadena de la doble hélice, pero cada corte a una cierta distancia del otro, no en el mismo par de bases del DNA y favorecer así la recombinación homóloga, o bien, usar una Cas9 modificada sin actividad de nucleasa, pero fusionada a GFP (GFP son las siglas en inglés de la proteína verde fluorescente), por ejemplo, para marcar sitios en el DNA genómico, de manera similar a como se hace con FISH (FISH son las siglas de hibridación *in situ* con marcadores fluorescentes en inglés), pero realizado de manera más sencilla.

Recientemente, la Dra. Doudna, entre otros científicos, ha llamado a una moratoria en la aplicación de este método en humanos, propiciado esto último, sin duda alguna, por el reporte de un grupo chino que publicó los primeros resultados de edición génica en embriones humanos triploides, no viables (8). Si bien es cierto que el método ha sido aplicado exitosamente ya en una gran variedad de organismos, y que, en principio, parece ser de aplicación universal, existen todavía problemas como los "off-targets", inherentes a todos los métodos de edición génica descritos hasta hoy. Estos "off-targets" pueden generar cambios en otras regiones del genoma (un solo corte de doble cadena es suficiente), y complicar la interpretación de los resultados. En el caso de embriones humanos, esto puede conllevar a efectos indeseados (algo así como daño colateral), y mientras no se tenga una manera eficiente y clara de separar estos efectos de los deseados, se debe de ejercer cuidado al aplicar estas tecnologías, además de otras consideraciones éticas.

Sin embargo, la aplicación de esta tecnología permite no sólo generar cambios dirigidos en prácticamente cualquier sistema vivo (básicamente en cualquier organismo susceptible de ser transformado), sino además, dada la sencillez y facilidad del método, de generar mutagénesis con muchos RNA guía, yendo más allá del estudio de un gen a la vez (9). En el caso de la mosca de la fruta, se tienen ya descritas varias cepas que expresan Cas9 en las células germinales y que, aunado a la transformación con un RNA guía dirigido a las mismas células germinales, permite generar con relativa facilidad los cambios deseados en el DNA genómico de las células germinales. Los cambios se pueden caracterizar fácilmente amplificando por PCR (reacción en cadena de polimerasa, por sus

CRISPR/Cas9 endógeno

CRISPR/Cas9 para edición genómica

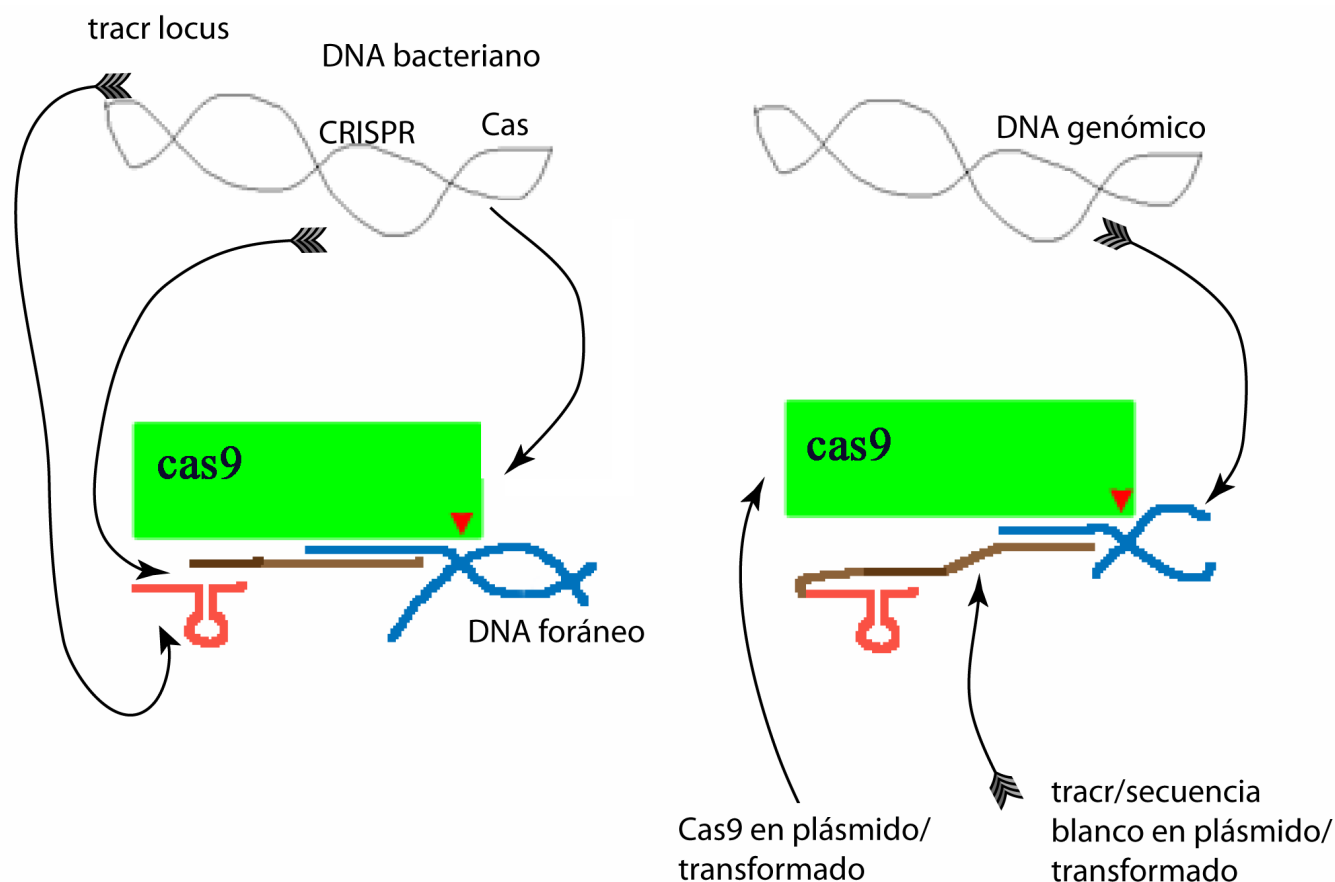


Figura 1. Comparación entre el sistema CRISPR/Cas9 de bacterias, y su adaptación para la edición de genomas. En la ilustración de la izquierda se muestran esquemáticamente los componentes del sistema tipo II de CRISPR/Cas (el sistema CRISPR/Cas9). Consta de tres loci presentes en el genoma bacteriano: el locus CRISPR, que contiene las secuencias palindrómicas y las secuencias espaciadoras derivadas de DNA foráneo; al lado las secuencias de los genes Cas (en este caso Cas1, Cas2 –no mostrados– y Cas9), y el locus tracr, que codifica para un RNA pequeño parcialmente complementario con los fragmentos procesados del locus CRISPR. El DNA foráneo es identificado por complementariedad y cortado en la secuencia PAM al lado de la secuencia CRISPR por Cas9 (triángulo rojo). En la ilustración de la derecha se muestra el sistema tipo para la edición de genomas: Cas9 y un gen quimérico compuesto del locus tracr y la secuencia complementaria a la secuencia genómica a editar son proveídos por transgénesis o por transformación a las células o tejidos blanco. El RNA quimérico tracr/secuencia blanco reconoce por complementariedad a la diana en el DNA genómico, y guía a Cas9 para realizar el corte de doble cadena en la secuencia PAM (triángulo rojo).

siglas en inglés) la región diana, y secuenciando los amplicones obtenidos.

En conclusión, y a pesar de algunos problemas con la especificidad –inherentes a todo método de edición genómica conocido– el sistema CRISPR/Cas9 representa la mejor opción, y en muchos casos, la única opción viable para generar edición

genómica. En consecuencia, la aplicación de este método está abriendo una nueva era en la investigación genética. Han pasado escasos cuatro años desde que se describió el método originalmente, y ya hay una gran cantidad de reportes utilizando esta tecnología. 

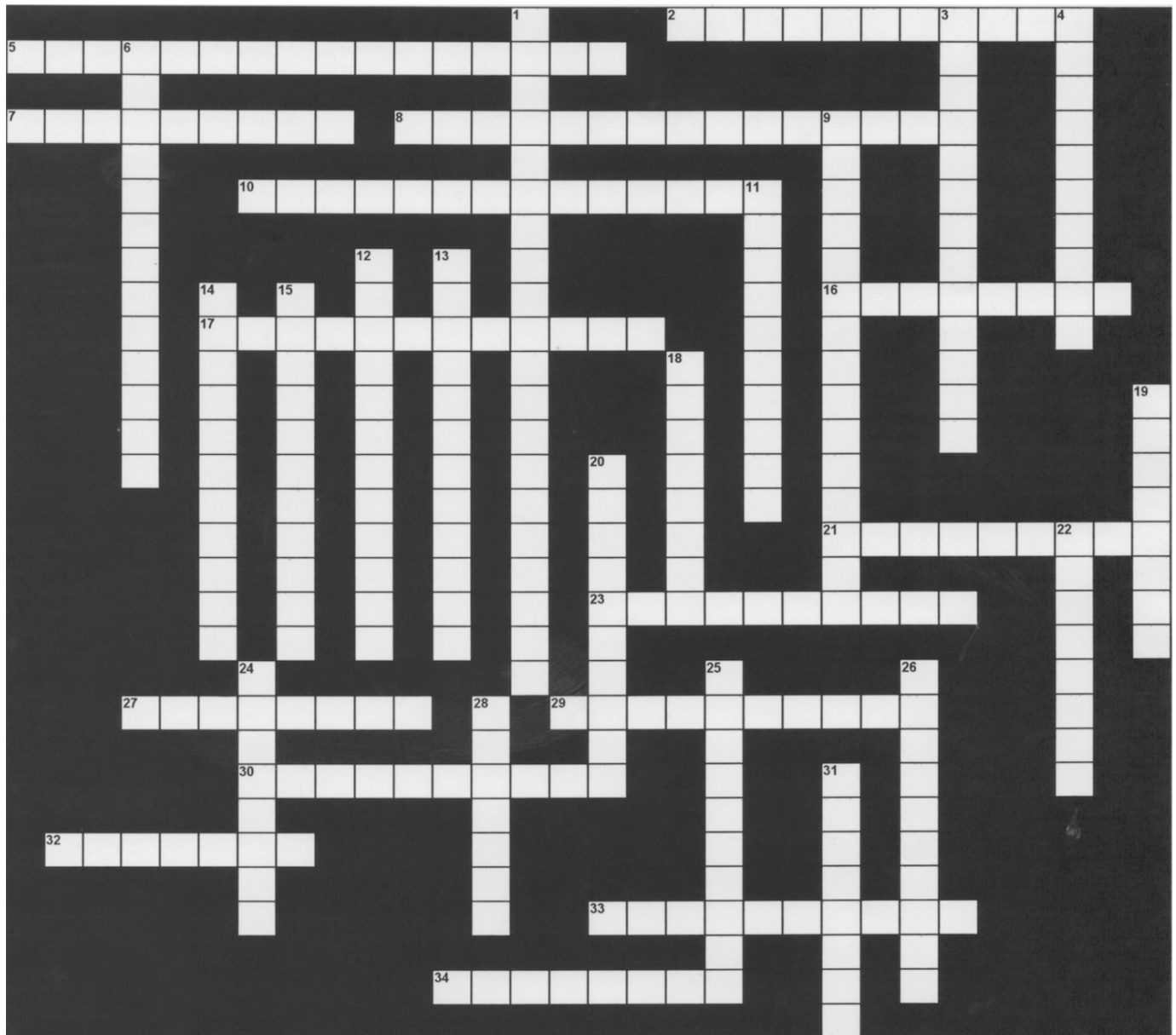
REFERENCIAS

1. Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, Hauer M, Doudna JA, and Charpentier E (2012) A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science* 337: 816-821.
2. Charpentier E, and Doudna JA (2013) Biotechnology: Rewriting a genome. *Nature* 495: 50-51.
3. Doudna JA, and Charpentier E (2014) Genome editing. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science* 346: 1258096.
4. Abudayyeh OO, Gootenberg JS, Konermann S, Joung J, Slaymaker IM, Cox DB, Shmakov S, Makarova KS, Semenova E, Minakhin L, Severinov K, Regev A, Lander ES, Koonin EV, Zhang F (2016) C2c2 is a single-component programmable RNA-guided RNA-targeting CRISPR effector. *Science* doi: 10.1126/science.aaf5573.
5. Makarova KS, Haft DH, Barrangou R, Brouns SJ, Charpentier E, Horvath P, Moineau S, Mojica FJ, Wolf YI, Yakunin AF, van der Oost J, Koonin EV (2011) Evolution and classification of the CRISPR-Cas systems. *Nat Rev Microbiol* 9: 467-477.
6. Horii T, Hatada I (2016) Production of genome-edited pluripotent stem cells and mice by CRISPR/Cas [Review]. *Endocr J* 63: 213-219.
7. Kondo S, Ueda R (2013) Highly improved gene targeting by germline-specific Cas9 expression in *Drosophila*. *Genetics* 195: 715-721.
8. Liang P, Xu Y, Zhang X, Ding C, Huang R, Zhang Z, Lv J, Xie X, Chen Y, Li Y, Sun Y, Bai Y, Songyang Z, Ma W, Zhou C, Huang J (2015) CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human triploid zygotes. *Protein Cell* 6: 363-372.
9. Wade M (2015) High-Throughput Silencing Using the CRISPR-Cas9 System: A Review of the Benefits and Challenges. *J Biomol Screen* 20: 1027-1039.

CRUCIBIOQ®

ESTRUCTURA Y FUNCIÓN HORMONAL

Yolanda Saldaña Balmori
Correo E: balmori@laguna.fmedic.unam.mx



HORIZONTALES

2 Su función principal es la de evitar la diuresis, actúa en los túbulos contorneados distales del riñón induciendo la reabsorción del agua.

5 Hormonas esteroides derivadas del colesterol, se producen en la glándula suprarrenal y ayudan a regular la gluconeogénesis, además de reducir la respuesta inflamatoria.

7 Hormona que en el útero tiene la función de estimular la contracción del músculo uterino durante el parto y la de estimular la producción láctea durante el amamantamiento.

- 8** Hormona intestinal que estimula la secreción de los zimógenos de las enzimas pancreáticas, tripsinógeno y quimotripsinógeno cuando las proteínas han sido parcialmente digeridas y penetran en el duodeno.
- 10** Hormona polipeptídica que se produce principalmente en el riñón, junto con otros factores controla la diferenciación de las células de la médula ósea; cuando hay hipoxia se estimula su excreción, induce la producción de eritrocitos.
- 16** Aminoácido que es el precursor de las catecolaminas (norepinefrina y epinefrina) y de las hormonas tiroideas (tetrayodotironina y triyodotironina).
- 17** Hormona peptídica sintetizada por el adipocito que estimula la secreción de insulina inducida por la glucosa en el páncreas y la entrada de glucosa en los tejidos sensibles a la insulina.
- 21** El vaciamiento del estómago hacia el intestino delgado lleva ácido clorhídrico, el ambiente ácido del intestino hace que se libere esta hormona que estimula al páncreas para la secreción de bicarbonato para neutralizarle.
- 23** Nombre común del 1,25-dihidroxicolecalciferol, es una hormona que se obtiene a partir de la vitamina D, actúa junto con la hormona paratiroidea regulando la homeostasis del Ca^{++} en la sangre y su movilización en el hueso.
- 27** Posee cuatro átomos de yodo, regula el metabolismo celular, la disminución en su secreción ocasiona baja del metabolismo lo que puede ocasionar aumento de peso y sensibilidad al frío, disminución del ritmo cardíaco entre otros, mientras que un aumento en su producción induce irritabilidad, hiperactividad, taquicardia y disminución de peso. En sangre se le encuentra unida a una proteína transportadora por lo que en un reporte de datos clínicos, se indican los valores de la hormona libre.
- 29** Son péptidos de 15 aminoácidos producidos por la glándula pituitaria, tienen una actividad similar a la morfina o a los opiáceos ya que aumentan la tolerancia al dolor durante un proceso de estrés.
- 30** Son moléculas que intervienen en la acción de algunas hormonas, a veces en primer término y en otras, en segundo.
- 32** Dentro del grupo de las adipocinas se encuentra esta hormona que es secretada por el tejido adiposo, tiene la función de inducir la saciedad al reducir el apetito.
- 33** Regula la lipólisis, una primera acción es la de bloquear a las lipasas que hidrolizan a los triacilglicéridos, pero cuando por el estímulo de los receptores β -adrenérgicos, es fosforilada, cambia su conformación y exhibe a los tri-

cilglicéridos del adipocito para la participación de la lipasa sensible a hormonas.

- 34** Las proteínas de la dieta estimulan su producción en el estómago, esta hormona propicia la secreción de ácido clorhídrico que permite que los enlaces peptídicos internos de las proteínas sean más accesibles para su hidrólisis.

VERTICALES

- 1** Esta hormona de naturaleza polipeptídica se une a un receptor específico y estimula la producción de AMPc lo que conduce al crecimiento de la corteza de las glándulas suprarrenales e incrementa la velocidad de síntesis y secreción del cortisol.
- 3** Es la llamada hormona del crecimiento, su acción primara es la de incrementar la síntesis de proteínas; se produce en las células acidófilas de la pituitaria anterior, su concentración plasmática es menor a 2 ng/ml durante el día y los niveles máximos se alcanzan durante el sueño profundo.
- 4** Es la hormona principal de la médula suprarrenal e importante neurotransmisor del sistema nervioso, interviene en la respuesta a situaciones de emergencia; regula la presión arterial, el metabolismo energético y el gasto cardíaco entre otras funciones.
- 6** Familia de hormonas derivadas de la tirosina, tienen la función de ser neurotransmisores, un representante importante de este grupo es la epinefrina.
- 9** Molécula que se libera de una terminal nerviosa y a partir de su unión a otras células nerviosas o musculares afectan su función.
- 11** Se sintetizan junto con los glucocorticoides y mineralocorticoides, éste es un grupo de hormonas con actividad anabólica; los principales representantes de este grupo son, en la mujer la dehidroepiandrosterona y en el hombre la testosterona.
- 12** Derivada del colesterol, es la hormona encargada de regular el ciclo reproductor femenino.
- 13** Esta molécula de 21 átomos de carbono que se forma a partir del colesterol, es la precursora de todas las hormonas esteroideas en los mamíferos.
- 14** Polipéptido formado por 32 aminoácidos, su principal acción es la de aumentar los niveles de calcio en hueso y disminuirlos en sangre, regula el nivel de este ion y otros minerales en el riñón; ayuda a que no se eleve su nivel en sangre después de la ingesta alimenticia;

tiene un efecto antagónico a la hormona paratiroidea ya que ésta tiende a aumentar los niveles de calcio en sangre.

- 15** Llamada hormona estimuladora del tiroides (TSH), es la encargada de regular la función tiroidea, cuando el nivel de hormonas tiroideas está por debajo de lo normal, la hipófisis lo detecta y se estimula su producción, por el contrario cuando el nivel de esas hormonas es elevado la hipófisis frena su síntesis.
- 18** Pertenece al grupo de los glucocorticoides (11-oxiesteroide), es secretado por la corteza suprarrenal; estimula la gluconeogénesis como respuesta al catabolismo de los aminoácidos en el hígado, además es una hormona facilitadora de la lipólisis.
- 19** Hormona peptídica de las células α del páncreas que aumenta la glucemia, es un antagonista de la insulina; se libera cuando la glucemia es baja, su función es la de activar la degradación del glucógeno e inhibir su síntesis.
- 20** Las glándulas _____ están constituidas por células especializadas en la síntesis de hormonas que al ser secretadas a la sangre regulan a diferentes tipos de células.
- 22** Proteína que se libera del páncreas como respuesta a un aumento en la concentración de glucosa en sangre y se une a un receptor presente en la superficie de la célula blanco, permitiendo que esta célula capte a la glucosa y aumente tanto la lipogénesis como la gluco-génesis.
- 24** Estas moléculas son sintetizadas por un tejido endocrino y actúan como mensajeros regulando su función en otro tejido después de haber sido transportadas en la sangre.
- 25** Es secretada por las células lactotróficas de la adenohipófisis, su producción se inicia durante los dos últimos meses del embarazo mediante un estímulo de estrógenos sobre las glándulas mamarias, lo que conduce a un incremento en la síntesis de proteínas y lípidos lácteos.
- 26** Hormonas sexuales que regulan el ciclo reproductor, se forman en el ovario por la formación de un anillo aromático de los andrógenos; la testosterona produce estradiol presente en la mujer durante todos sus años de fertilidad, asimismo, entre otras funciones, regulan el metabolismo del calcio y de la colágena.
- 28** Proteína que estimula el apetito, se produce en células del estómago y del intestino delgado.
- 31** La interacción entre una hormona y esta estructura, conduce a la generación de una señal intracelular que puede regular la actividad genética y con ello alterar la síntesis de proteínas específicas.

LAS CÉLULAS TRONCALES PLURIPOTENTES INDUCIDAS COMO MODELO DE ESTUDIO Y POSIBLE TERAPIA CELULAR DE LA FIBROSIS QUÍSTICA

Julia Carrasco-Zanini

Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México,
Ciudad Universitaria, 04510, México D.F. Correo E: julia.czs1512@gmail.com

Las células troncales son células no especializadas, capaces de proliferar y que pueden diferenciarse en células especializadas. Las células troncales embrionarias (ESCs por sus siglas en inglés) y las células troncales pluripotentes inducidas (iPSC por sus siglas en inglés) tienen la capacidad de diferenciarse hacia cualquier tejido procedente del embrión. Sin embargo, como lo indica su nombre las ESCs se obtienen de embriones, mientras que las iPSCs son obtenidas mediante la reprogramación genética de células especializadas adultas. Por esta razón, las iPSCs no conllevan las implicaciones éticas asociadas al intervenir con el potencial que tiene un embrión de convertirse en un ser humano. En 2007, el grupo de Yamanaka (1) comprobó que se requiere la inducción de Oct4, Sox2, Klf4 y c-Myc, proteínas que prenden o apagan genes (conocidos como factores de transcripción), para lograr la reprogramación de células especializadas adultas humanas a iPSCs. Dichos factores de transcripción pueden ser inducidos mediante vectores que se integran al genoma de la célula huésped (retrovirus y lentivirus), o mediante métodos en los cuales no hay dicha integración (transposones, adenovirus y nucleofección de plásmidos). Hoy en día incluso existen métodos de inducción no basados en DNA, como el virus Sendai (un virus de RNA), la expresión de microRNAs o RNAs mensajeros.

Las iPSCs suelen asociarse con su posible uso para el desarrollo de tratamientos de medicina regenerativa y también han proporcionado excelentes modelos *in vitro* de enfermedades cuyo estudio ha sido dificultado por la inaccesibilidad a cultivos primarios de pacientes. Este es el caso de la fibrosis quística, enfermedad en la cual el gen de la proteína que normalmente transporta activamente iones de cloruro al exterior de la célula, llamada regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR), tiene una mutación ($\Delta F508$) que evita su expresión o función. Esto causa la acumulación de moco espeso el cual facilita la colonización por

patógenos, lo que termina ocasionando una falla respiratoria. Según la Organización Mundial de la Salud, la incidencia de esta enfermedad en América del Norte es de 1 en cada 3500 neonatos, mientras que en México es de 1 en cada 8500 y la supervivencia promedio es de 17.5 años de edad.

En 2014, el grupo dirigido por Inder M. Verma reportó un protocolo para la diferenciación por pasos de iPSCs a un epitelio respiratorio funcional, con el objetivo de conocer mejor los mecanismos de dicho proceso y proveer un modelo para el estudio de varias enfermedades del tracto respiratorio (2). Este proceso de diferenciación se logra mediante la expresión controlada de genes específicos asociados a distintos estadios de diferenciación, siguiendo los estadios que se dan durante el desarrollo embrionario del epitelio respiratorio en condiciones normales. La diferenciación exitosa a células pulmonares maduras se pudo comprobar por la presencia de genes específicos como MUC5A/C, MUC1, CFTR y cEBP α , aparte de genes característicos de estadios de diferenciación previos como FOXA2 y GATA6 los cuales son expresados en células del endodermo definitivo. Adicionalmente, se identificaron factores importantes que favorecen este proceso como son el mantener las células en una interfaz aire-líquido lo cual promueve la maduración de las células epiteliales respiratorias progenitoras.

Posteriormente, el mismo grupo desarrolló un método para corregir la mutación del gen CFTR en iPSCs derivadas de fibroblastos (un tipo de célula especializada del tejido conectivo) de pacientes con fibrosis quística. La corrección de la mutación en las iPSCs se hizo con un sistema de edición genética conocido como CRISPR/Cas9 (Caja 1), para después ser diferenciadas en células epiteliales respiratorias a través del mecanismo elucidado en su trabajo previo (2).

En dicho modelo, se demostró que la corrección de la mutación $\Delta F508$ del gen CFTR había sido realizada con éxito al observar un incremento en las

corrientes de cloruro comparadas con las corrientes de las células en las cuales no se hizo la corrección (3). Adicionalmente, se comprobó que en las células corregidas, la proteína tenía una modificación post-traducciona, que no ocurre cuando el gen se encuentra mutado. Dicha modificación es esencial para que CFTR se pueda expresar en la membrana plasmática, ya que en su ausencia, en vez de que la proteína sea llevada a la membrana, se queda en el citoplasma donde es degradada.

El trabajo hecho por el grupo de Inder M. Verma proporciona un modelo para la corrección de mutaciones en iPSCs y la diferenciación de éstas a un epitelio respiratorio maduro, el cual resuelve limitaciones previas que impedían el estudio a profundidad de la patofisiología de la fibrosis quística. Este modelo llevará a un mejor entendimiento de la enfermedad e incluso al desarrollo de medicamentos efectivos. Adicionalmente, este trabajo podría abrir la posibilidad de explorar este enfoque como una terapia celular en el futuro, ya que las células del epitelio respiratorio generadas por este método podrían ser implantadas en pacientes con fibrosis quística. Sin embargo, esta posibilidad es aún lejana dado que quedan muchas cuestiones por resolver antes de utilizar este tipo de terapias en la clínica. Más allá de un tratamiento para la fibrosis quística, este trabajo da una visión innovadora sobre las iPSCs, que adicionalmente, no tiene las implicaciones éticas de la ESCs.

Referencias

1. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K and Yamanaka S (2007). Induction of pluripotent stem cells from adult

Caja 1. CRISPR/Cas9

El sistema CRISPR/Cas9 está compuesto por Cas9, una enzima nucleasa que corta la doble cadena de DNA y un RNA guía (gRNA) de 20 nucleótidos, el cual le indica a Cas9 en qué parte del genoma hacer el corte. Para la edición genética, aparte de los dos elementos ya mencionados, se introduce a la célula un fragmento de DNA molde que contiene la secuencia que se quiere integrar al genoma. Cas9 forma un complejo con el gRNA, el cual se une a la parte del genoma que contenga la secuencia blanco y corta las dos cadenas del DNA. En el sitio del corte, se puede unir el fragmento del DNA molde para que al reparar el corte se introduzca la edición deseada.

human fibroblasts by defined factors. Cell 131, 861-872.

2. Firth AL, Dargitz CT, Qualls SJ, Menon T, Wright R, Singer O, Gage FH, Khanna A, Verma IM. (2014) Generation of multiciliated cells in functional airway epithelia from human induced pluripotent stem cells. Natl Acad Sci USA 111(17): E1723-30.
3. Firth AL, Menon T, Parker GS, Qualls SJ, Lewis BM, Ke E, Dargitz CT, Wright R, Khanna A, Gage FH, Verma IM. (2015) Functional Gene Correction for Cystic Fibrosis in Lung Epithelial Cells Generated from Patient iPSCs. Cell reports 12(9): 1385-90.

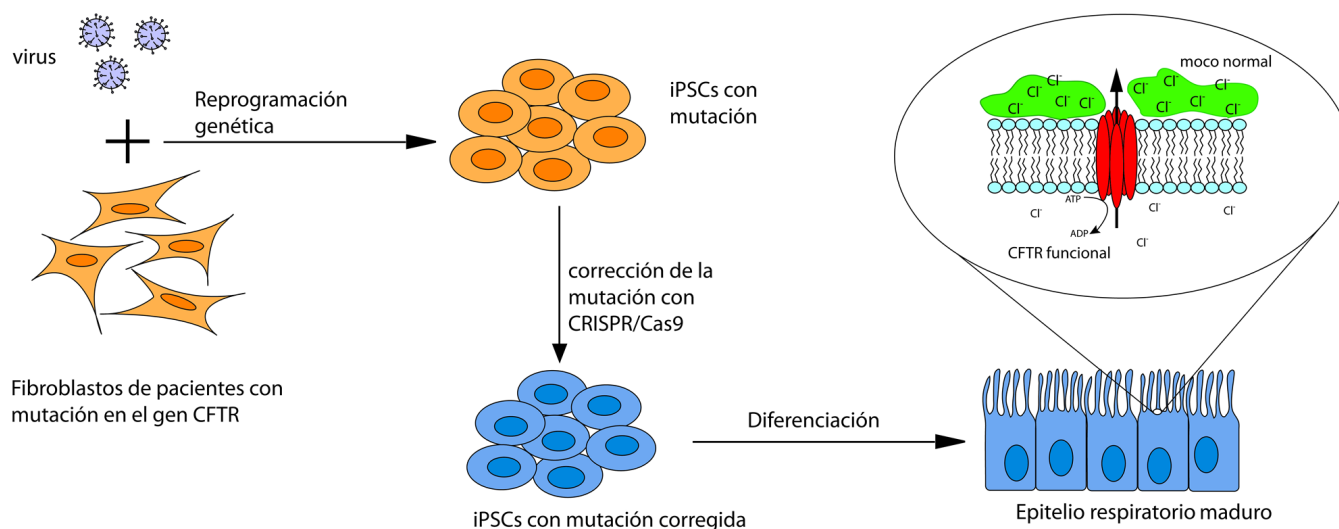


Figura 1. Modelo de la corrección de la mutación en el gen CFTR en iPSCs obtenidas por reprogramación de fibroblastos de pacientes con fibrosis quística y subsecuente diferenciación a un epitelio respiratorio maduro.



CONGRESO NACIONAL DE BIOQUÍMICA

06 - 11 de Noviembre 2016
Aguascalientes

Fecha límite de
inscripciones y envío
de resúmenes:

30 de junio



Comité Organizador
Miguel Lara Flores
Irene Castaño Navarro
Guadalupe Espín
Jorge Luis Folch

Sede: Hotel Marriot



Correo:
nacional@smb.org.mx



www.smb.org.mx



Instituto de Biotecnología
CONSEJO NACIONAL DE AGROPECUARIOS MEXICANOS

Facultad de Química
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



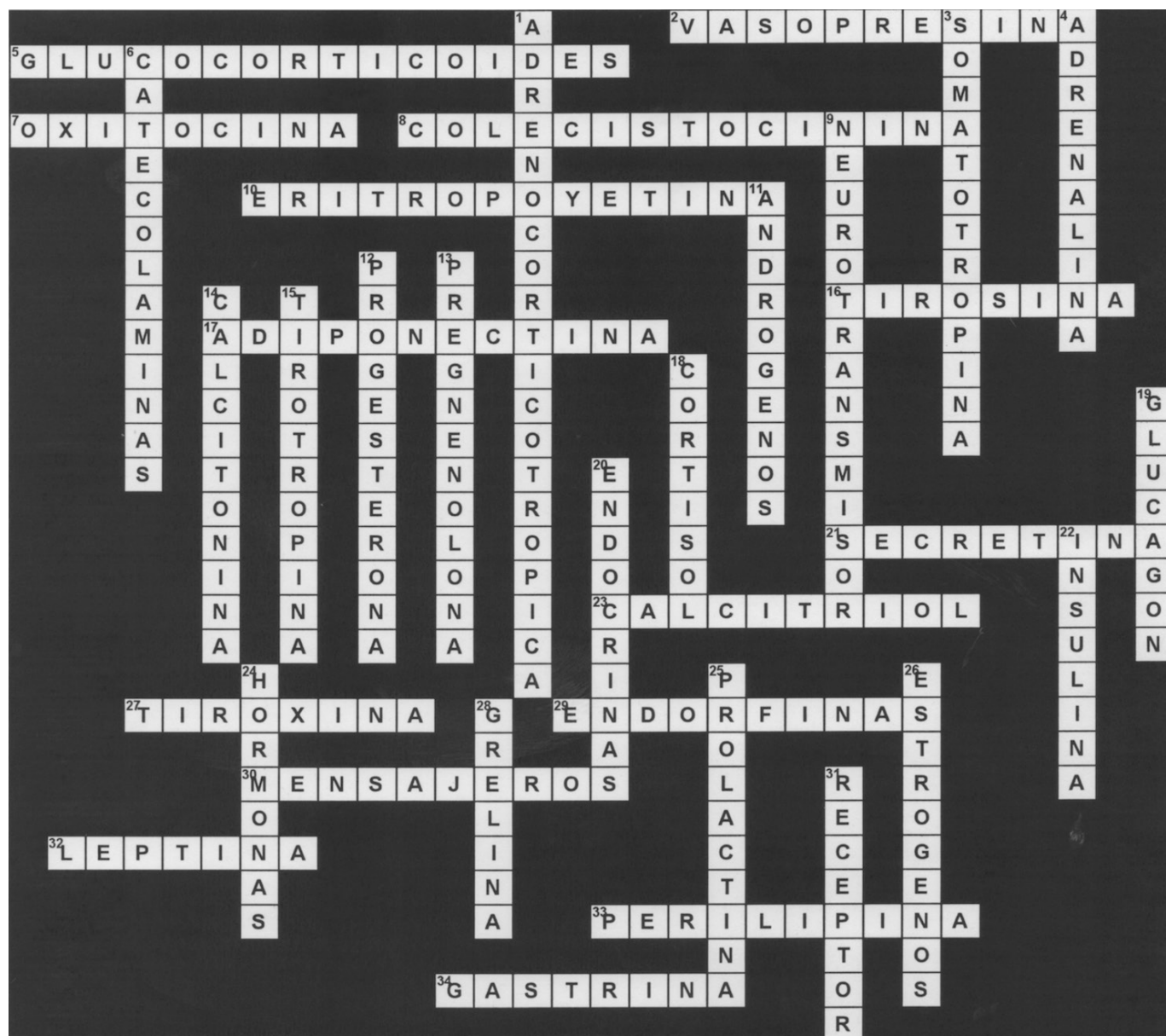
Secretaría de
TURISMO



SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ®

ESTRUCTURA Y FUNCIÓN HORMONAL

Yolanda Saldaña Balmori
Correo E: balmori@laguna.fmedic.unam.mx



INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DE LA REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA (REB)

La REB es una revista dedicada a la divulgación, difusión, discusión, análisis y presentación de resultados derivados de investigaciones originales en temas relevantes en el campo de la bioquímica y áreas afines. La Revista está dirigida a investigadores, profesores y estudiantes de posgrado, licenciatura y educación media superior. Los trabajos que se someten a evaluación para su posible publicación no deben de haberse presentado total o parcialmente en otras publicaciones.

Se aceptan únicamente contribuciones originales con estricto contenido científico en forma de artículos de investigación, de revisión, de crítica, de análisis y otras comunicaciones que tengan que ver con diversas formas de estimular el aprendizaje de la bioquímica y sirvan de apoyo a investigadores, profesores y alumnos, tanto en aspectos de investigación, académicos y de actualización.

I. Los artículos se deben ajustar a los siguientes lineamientos editoriales:

- 1) Portada. En el primer párrafo incluir el título, el cual debe de ser claro, simple, atractivo y evitar las abreviaturas o en su caso, definir las al inicio del texto. En el siguiente párrafo se anotarán los nombres completos de los autores, iniciando por el nombre propio completo. La afiliación de los autores se escribirá en el siguiente párrafo, indicando departamento, institución, ciudad, estado y país y la dirección de correo electrónico del autor responsable. La afiliación de los autores se indicará con números entre paréntesis. Se proporcionará un título breve con un máximo de 60 caracteres.
- 2) Resumen. Se deberán incluir dos resúmenes, uno en idioma español y uno en inglés (Abstract) de no más de 350 caracteres.
- 3) Palabras clave. Se deberá proporcionar de tres a seis palabras clave en idioma español y en inglés.
- 4) Texto. El artículo deberá ser escrito en el procesador de textos "Word", con una extensión máxima recomendada de 15 cuartillas a doble espacio, en "Times New Roman 12" como fuente de la letra, sin formato de texto, tabuladores o pies de página. Las figuras y tablas se presentarán separadas del texto.
- 5) Referencias. Se indicarán en el texto con números entre paréntesis de acuerdo a su orden de aparición. Las referencias se enlistarán al final del trabajo y deben contener para los artículos: apellidos e iniciales de todos los autores, año

de publicación entre paréntesis, título completo del artículo y después de un punto, el nombre oficial de la revista abreviado como aparece en el Current Contents, número del volumen y antecedido por dos puntos, el número de la primera y última páginas, de acuerdo con el siguiente ejemplo: Martin GM, Austad SN, Johnson TE (1996) Generic analysis of ageing: role of oxidative damage and environmental stresses. *Nature Gen* 113:25-34. Los artículos en libros deberán citarse de la siguiente forma: Wood KJ (1992) Tolerance to alloantigens. En: *The Molecular Biology of Immunosuppression*. Editor: Thomson A W. John Wiley and Sons Ltd, Ann Arbor, Michigan, USA, pp 81-104. Los libros podrán incluir las páginas totales o las consultadas y se citarán de acuerdo con este ejemplo: Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM (1993) *Principles of Biochemistry*. Worth Publishers, New York, NY, USA, p 1013.

- 6) Figuras y Tablas. Las figuras se pueden presentar en formato "jpg" o integradas en un archivo de "Power Point" o del mismo "Word" separadas del texto del artículo. Las figuras pueden presentarse en colores, con fondo y sombreado. Las tablas deben de estar en "Word" sin formatos especiales y separadas del texto del artículo. Las figuras y las tablas se deberán numerar con arábigos. Las leyendas y los pies de figuras se deberán presentar en una hoja aparte. Se deberá considerar que las figuras y las tablas se reducirán a la mitad o a un cuarto de las dimensiones de una hoja tamaño carta; las letras y números más pequeños no deben ser menores de dos milímetros después de la reducción. En caso de emplear figuras previamente publicadas, deberá darse el crédito correspondiente y en su caso

obtener el permiso para su publicación. Las figuras dentro del texto deberán mencionarse con minúsculas, la palabra entera y sin paréntesis; cuando se haga referencia a ellas deberá citarse con la abreviatura, la primera letra mayúscula y entre paréntesis (Fig. 2). Las tablas siempre llevarán la primera letra a mayúscula y entre paréntesis (Tabla 2).

- 7) Abreviaturas. Las abreviaturas seguirán las normas de la IUPAC, aquellas específicas o poco comunes deberán definirse entre paréntesis, la primera vez que se utilicen.

II. Otras comunicaciones incluyen: resúmenes de artículos científicos interesantes, relevantes o significativos, información científica o académica de interés general, avisos de reuniones académicas y cursos, problemas teóricos, ejercicios prácticos, juegos didácticos con orientación educativa, bolsa de trabajo o comentarios de artículos publicados previamente en la REB, cartas al editor, entre otras. Éstas deberán seguir los siguientes lineamientos:

- 1) El contenido deberá ser desarrollado en forma resumida y de una manera explícita.
- 2) Se aceptará un máximo de 10 referencias que se citarán entre paréntesis en el texto, como se indica en el inciso I-5. Se podrán incluir figuras o tablas, con las características que se indican en el inciso I-6.

Los manuscritos que no cumplan con las especificaciones de la Revista no serán aceptados de primera instancia para su revisión.

Los manuscritos serán evaluados por lo menos por tres revisores seleccionados por el Comité Editorial a quienes se les enviará el trabajo con los autores en anónimo y quienes en todo momento permanecerán anónimos para los autores y entre

ellos; los revisores opinarán sobre la relevancia del trabajo en un lapso no mayor a un mes. Las correcciones y sugerencias de los revisores serán enviadas con anonimato entre ellos al Editor en Jefe. El resultado de la evaluación puede ser: rechazado, enviado para correcciones o aceptado. Una vez obtenida una evaluación global, el Editor en Jefe enviará las evaluaciones al autor responsable para que corrija e incorpore en el manuscrito las diferentes observaciones o en su caso, indique su opinión a observaciones que considere discutibles en los dictámenes de los revisores. El manuscrito corregido por los autores deberá ser devuelto a la Revista, en un lapso no mayor a 30 días naturales; de otra forma se considerará como un manuscrito enviado por primera vez. De ser necesario el Comité Editorial podrá enviar nuevamente el manuscrito corregido a los revisores para tener una nueva ronda de revisión, todo ello continuando con el anonimato. Una vez aceptado el trabajo, las pruebas de galera, se enviarán al autor responsable.

Los archivos electrónicos se deberán enviar a la Revista de Educación Bioquímica como archivos adjuntos (reb@bq.unam.mx), con atención al Editor en Jefe y a partir de una dirección de correo electrónico que será considerada como la dirección oficial para la comunicación con los autores. El autor responsable deberá indicar plenamente su adscripción con teléfono, dirección electrónica y postal para comunicaciones posteriores. En el texto del mensaje enviado se deberá expresar la solicitud para considerar la posible publicación del artículo, el título del mismo, los nombres completos de los autores y su adscripción institucional, así como el número, tipo y nombre de los archivos electrónicos enviados. En el mismo texto se debe de aclarar que el trabajo no ha sido enviado a otra revista en su forma total o parcial, para su evaluación o que el mismo está en proceso de publicación en otra revista o en otro tipo de publicación. De igual manera se debe de aclarar que no existe conflicto de intereses entre los autores que envían el trabajo.