



Instituto de Biotecnología  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**Resúmenes**

# **Simposio de otoño**

**21 al 23 de septiembre de 2021**

**Instituto de Biotecnología**

**UNAM**



# EL VENENO DE LA SERPIENTE DE CORAL MEXICANA *Micrurus diastema*: NEUROTOXICIDAD, COMPOSICIÓN Y NEUTRALIZACIÓN CON ANTIVENENO

Melisa Bénard-Valle<sup>1</sup>, Manuel F. Yañez-Mendoza<sup>1</sup>, Bruno Lomonte<sup>2</sup>, Edgar Neri-Castro<sup>1</sup>, Julián Fernández<sup>2</sup>, Marco Ruiz-Campos<sup>2</sup> y Alejandro Alagón<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México; <sup>2</sup>Instituto Clodomiro Picado. Universidad de Costa Rica

\*Autor para correspondencia: alagon@ibt.unam.mx.

*Palabras clave:* *Micrurus diastema*, proteoma, neurotoxicidad.

En el presente estudio, se realizó una caracterización proteómica y funcional del veneno de la serpiente de coral mexicana *Micrurus diastema*, proveniente del centro de Veracruz. Ésta fue llevada a cabo mediante análisis de cromatografía de fase reversa (RP-HPLC), electroforesis (SDS-PAGE) y espectrometría de masas en tándem (MALDI-TOF-TOF). Se identificaron 38 componentes pertenecientes a 15 familias proteicas, dos de las cuales conforman el 85% del veneno completo: las fosfolipasas A<sub>2</sub> (59.2%), seguidas de la familia de las toxinas de 3 dedos (26.4%). El 14.4% restante está representado por metaloproteinasas, L-amino oxidasas, serinoproteinasas, fosfodiesterasas, lectinas tipo C, inhibidores de proteasa tipo kunitz, entre otras.

El veneno de *Micrurus diastema* posee alta potencia letal (DL<sub>50</sub>: 6.5 µg/ratón) como ya se ha reportado en otras especies de elápidos americanos. La actividad neurotóxica tanto del veneno completo como de fracciones aisladas se caracterizó en experimentos de unión neuromuscular utilizando preparaciones de diafragma y nervio frénico de ratón. En éstos se determinó que la letalidad se origina por actividad neurotóxica sobre la placa neuromuscular del músculo esquelético, a nivel presináptico ( $\beta$ -neurotoxicidad) y, en menor medida, postsináptico ( $\alpha$ -neurotoxicidad). Estas actividades están asociadas a integrantes de las dos familias proteicas más abundantes: fosfolipasas A<sub>2</sub> y toxinas de tres dedos respectivamente. Como se observó por primera vez en el veneno del coralillo mexicano *M. browni*, existe evidencia de asociaciones y/o sinergias entre los componentes de este veneno, las cuales podrían potenciar la letalidad de los componentes individuales.

El antiveneno probado (Coralmyn<sup>®</sup>) no es capaz de neutralizar la actividad bloqueadora de la unión neuromuscular en ensayos de preincubación sobre esta misma preparación, aunque retrasa significativamente la T<sub>90</sub> (tiempo que tarda en disminuir en 90% la fuerza de contracción muscular). Esto es posiblemente debido al pobre reconocimiento por componentes de tipo  $\alpha$ -neurotóxico en el antiveneno probado.

**Agradecimiento.** CONACyT-FORDECyT 303045 “Venenos y antivenenos”.

# LA LOCALIZACIÓN DIFERENCIADA DE DOS TRANSPORTADORES DE COBRE DE LA FAMILIA COPT EN *Physcomitrium patens* CONTRIBUYEN A LA HOMEOSTASIS DEL COBRE

**Karla Zechinelli Pérez<sup>1</sup>, María Fernanda Gómez Méndez<sup>1</sup>, Francisco Vera López Portillo<sup>1</sup>, Jorge Luis Ruiz Salas<sup>1</sup>, Elizabeth Cordoba Martínez<sup>1</sup>, Alexis Acosta Maspon<sup>1</sup>, Omar Pantoja<sup>1</sup> y Paul Rosas Santiago<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad 2001, Cuernavaca, Morelos, 62210, México

\*Autor para correspondencia, paul.rosas@ibt.unam.mx

*Palabras clave: transporte de cobre, COPT, Physcomitrella patens*

El musgo *Physcomitrium (Physcomitrella) patens* es una briofita que contribuye al entendimiento de la adaptación de la vida sobre la tierra de las embriofitas tempranas. En este sentido el cobre es un micronutriente esencial para la vida de los organismos y su transporte a través de la membrana plasmática se logra a través de una familia de transportadores de cobre denominada COPT/CTR. Dos genes relacionados a esta familia fueron identificados en el musgo *PpaCOPT1* y *PpaCOPT2*. El modelado de ambas proteínas por homología muestra que poseen tres dominios transmembranales y un motivo de metioninas que se postula como un potencial filtro de selectividad para el cobre. A través de una mutante de levaduras en los transportadores CTR1 y CTR3 deficiente en su crecimiento en medios con fuentes de carbono no fermentables se logró restaurar el crecimiento de estas levaduras por la complementación de la captura de alta afinidad a cobre por la presencia tanto de *PpaCOPT1* y *PpaCOPT2*, mostrando que ambas proteínas son transportadores de cobre. La localización de *PpaCOPT1* y *PpaCOPT2* en levaduras se observó en el tonoplasto y en la membrana plasmática, respectivamente. En células de la epidermis de la planta de tabaco se logró corroborar que la localización de *PpaCOPT2* es en la membrana plasmática. Por último los análisis de la expresión génica revelaron que el protonema del musgo de siete días de edad expresa a *PpaCOPT1* y que su expresión es influenciada por los niveles de cobre extracelular. Estas evidencias nos permiten sugerir que *PpaCOPT1* y *PpaCOPT2* tienen un papel diferente en la homeostasis del cobre del musgo *Physcomitrella patens*.

**Agradecimiento.** Este trabajo se realizó gracias al donativo otorgado por UNAM-PAIIT IA200619 y por el donativo de CONACyT A1-S-8007.

# ESTRATEGIAS PARA MEJORAR LA PRODUCCIÓN DE ALQUIL GLUCÓSIDOS CON ALFA-AMILASAS

Wendy Xolalpa-Villanueva<sup>1</sup>, Fidel Oswaldo Ramírez-Amador<sup>1</sup>, Roxana Abigail Flores-Romero<sup>1</sup>, Alfonso Miranda-Molina<sup>1</sup>, Leticia Olvera-Rodríguez, Gloria Saab-Rincón<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Instituto de Biotecnología UNAM.

\*Autor para correspondencia: gloria.saab@ibt.unam.mx.

*Palabras clave: Amilasa, alquil glucósido, alcoholólisis*

Los alquil glucósidos (AGs) son surfactantes no iónicos ampliamente utilizados en la industria farmacéutica y cosmética. Son productos biodegradables que pueden ser sintetizados por métodos químicos o enzimáticos siendo éste último una alternativa más amigable con el medio ambiente. En nuestro grupo se ha utilizado a la  $\alpha$ -amilasa (AmyA) de *Thermotoga maritima* para sintetizar metil y butil glucósidos a partir de almidón mediante reacciones de alcoholólisis usando metanol o butanol como moléculas aceptoras. Sin embargo, un inconveniente que se tiene al pretender usar alcoholes de cadena más larga, es la pobre solubilidad de éstos en las reacciones enzimáticas, lo que provoca se formen dos fases, acuosa y orgánica, limitando el rendimiento de los AGs producidos. En este trabajo hemos empleado dos estrategias para favorecer la síntesis de AGs, por un lado la estrategia de inmovilización de la amilasa para favorecer el rendimiento global de AGs por unidad de enzima, y por el otro lado, hemos construido una quimera de la enzima generando una fusión que favorezca que la proteína se localice preferentemente en la fase orgánica en lugar de la fase acuosa como naturalmente ocurre. Los productos de hidrólisis y alcoholólisis se evaluaron mediante el método clásico para la determinación de azúcares reductores (DNS) y por cromatografía en capa fina. Nuestros resultados muestran que la inmovilización no afecta la capacidad de la enzima para llevar a cabo la reacción de alcoholólisis sintetizando butil glucósido; lo mismo se observó con una variante de la enzima H222Q que ya había sido mejorada previamente mediante mutagénesis sitio dirigida y que es más alcoholítica, ambas enzimas pudieron ser reutilizadas hasta por 9 ciclos.

**Agradecimiento.** A la DGAPA-UNAM por el apoyo y recursos otorgados a través del proyecto PAPIIT IA202619.

## **Bibliografía.**

Damian-Almazo J.Y., Moreno A., Lopez-Munguia A., Soberon X., Gonzalez-Munoz F., Saab-Rincon G. (2008) Enhancement of the alcohololytic activity of  $\alpha$ -amylase Amy A from *Thermotoga maritima* MSB8 (DSM 3109) by site directed mutagenesis. *Appl. Environ. Microbiol.* 74:5168–5177. doi: 10.1128/AEM.00121-08.

Miranda-Molina A, Xolalpa W, Strompen S, Arreola-Barroso R, Olvera L, López-Munguía A, Castillo E, Saab-Rincon G. (2019) Deep Eutectic Solvents as New Reaction Media to Produce Alkyl-Glycosides Using Alpha-Amylase from *Thermotoga maritima*. *Int J Mol Sci.* 20(21):5439. doi: 10.3390/ijms20215439.

# **ALTA PRESENCIA DE OTROS VIRUS, IDENTIFICADOS POR METAGENOMICA, EN MUESTRAS DE PACIENTES INFECTADOS CON SARS-COV-2: PUEDEN JUGAR UN PAPEL EN LA GRAVEDAD DE LA INFECCIÓN?**

**Pavel Iša<sup>1</sup>, Blanca Taboada<sup>1</sup>, Rodrigo García-López<sup>1</sup>, Celia Boukadida<sup>3</sup>, Joel Armando Vazquez-Perez<sup>4</sup>, José Esteban Muñoz-Medina<sup>5</sup>, José Ernesto Ramírez-González<sup>2</sup>, Concepción Grajales-Muñiz<sup>5</sup>, Carolina González-Torres<sup>5</sup>, Francisco Javier Gaytán-Cervantes<sup>5</sup>, Alma Rincón-Rubio<sup>3</sup>, Margarita Matías-Florentino<sup>3</sup>, Héctor Esteban Paz-Juárez<sup>3</sup>, Alejandro Sanchez-Flores<sup>7</sup>, Edgar Mendieta-Condado<sup>2</sup>, Jerome Jean Verleyen<sup>7</sup>, Gisela Barrera-Badillo<sup>2</sup>, Lucía Hernández-Rivas<sup>2</sup>, Susana López<sup>1</sup>, Irma López-Martínez<sup>2</sup>, Santiago Ávila-Ríos<sup>3</sup>, Carlos F. Arias<sup>\*1</sup>.**

<sup>1</sup>Departamento de Genética del Desarrollo y Fisiología Molecular, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, Morelos, Mexico.

<sup>2</sup>Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, Dirección General de Epidemiología, Mexico City, Mexico.

<sup>3</sup>Centro de Investigación en Enfermedades Infecciosas, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas, Mexico City, Mexico.

<sup>4</sup>Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas, Mexico City, Mexico.

<sup>5</sup>Instituto Mexicano del Seguro Social, Mexico City, Mexico.

<sup>6</sup>División de Desarrollo de la Investigación, Instituto Mexicano del Seguro Social, Mexico City, Mexico.

<sup>7</sup>Unidad Universitaria de Secuenciación Masiva y Bioinformática, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, Morelos, Mexico.

\* Address correspondence to Carlos F. Arias, [carlos.arias@ibt.unam.mx](mailto:carlos.arias@ibt.unam.mx)

*Palabras clave: SARS-COV-2, metagenomica, severidad de infeccion*

En diciembre de 2019 apareció un nuevo coronavirus (SARS-CoV-2) en la ciudad de Wuhan (China), el cual se ha esparcido en siguientes meses por todo el mundo, y ha causado la pandemia más grande desde la de virus de influenza 1918. Hasta la fecha, el virus SARS-CoV-2 ha infectado a más de 217 millones personas en el mundo, y más de 4.5 millón de ellas han muerto a causa de la infección. A nivel nacional, hasta finales de agosto, el virus SARS-CoV-2 fue identificado en 3.340 millones de personas, y ha causado cerca de 260 mil muertes.

La infección con el SARS-CoV-2 puede causar diferente sintomatología en las personas. La mayoría de los casos (aproximadamente 80%) cursan infección asintomática o muy leve, otros 15% de infectados presentan sintomatología “clásica” de una enfermedad respiratoria, y solo 5% cursan una infección severa, necesitando hospitalización y/o cuidados intensivos con administración de oxígeno. A pesar del interés en esclarecer posibles causas, no es claro que define la sintomatología o gravedad de la infección. Los factores que se han reportado que afectan la sintomatología son la edad, la presencia de comorbilidades tales como

obesidad, diabetes, hipertensión, factores genéticos de personas infectadas, mutaciones de alta virulencia en genoma de virus o coinfecciones con otros virus patogénicos.

Al inicio del 2020, diversos investigadores de varias instituciones, entre ellas INER, InDRE, IMSS, INCMN e IBT, UNAM se reunieron para preparar estrategias de acción contra el virus. Entre los puntos de interés fue el conocer como las coinfecciones de SARS-CoV-2 con otros virus, tanto respiratorios como de otro tipo, podría afectar la gravedad de la enfermedad, debido a que se desconocía por completo esta posible asociación, en pacientes con diferente sintomatología, mediante secuenciación masiva. Para esto, se decidió seleccionar muestras de personas positivas para el virus SARS-CoV-2 sin comorbilidades y menores de 60 años de edad con tres diferentes sintomatologías o estado de gravedad: leve - ambulatorios, grave - hospitalizado, y defunciones - de personas fallecidas.

En total se usaron 120 muestras en el análisis, 57 de personas fallecidas, 26 de personas hospitalizadas y 37 de pacientes con sintomatología leve. Los resultados mostraron que el 25% de las muestras contenían al menos un virus respiratorio como Mastadenovirus C, no-SARS-CoV-2 coronavirus NL63 y HKU1, rinovirus A, B y C, y virus influenza A y B, entre otros. Asimismo, 80% de muestras contienen algún otro tipo de virus humano, siendo lo más comunes miembros de la familia Anelloviridae, Herpesviridae y Papilomaviridae. Comparando los tres diferentes grupos, observamos que las muestras de pacientes fallecidos contenían de manera más frecuente 8 especies de virus cuando se compararon con pacientes ambulatorios, mientras que los pacientes hospitalizados presentaron 5 especies virales de manera más frecuente que las muestras ambulatorias. A pesar de que el objetivo del proyecto era quitar el vías de personas con comorbilidades, asociadas a la gravedad de la enfermedad, al final se identificó que el 42% de muestras provenían de personas con diferente tipo de comorbilidades. Esto afectó la posibilidad de poder hacer conclusiones más concluyentes. Sin embargo, nuestros resultados abren la posibilidad, hasta la fecha no reportada, que la severidad de la enfermedad puede ser influenciada por la presencia de otros virus.

**Agradecimiento.** Este trabajo tuvo apoyo de donativo ‘Epidemiología Genómica de los Virus SARS-CoV-2 Circulantes en México’ de CONACyT, y donativo 057 de Secretaria de educación, Ciencia, Tecnología e Innovación (SECTEI) of Mexico City’ (to CFA). Agradecemos Juan Manuel Hurtado por su apoyo de sistema de computo. También agradecemos la Dirección General de cómputo y de Tecnologías de la Información (DGTIC-UNAM) para proporcionar uso de Supercomputadora MIZTLI a través de proyecto LANCAD-UNAM-DGTIC-350 y LANCAD-UNAM-DGTIC-396.

# DECONVOLUCIÓN DE METAGENOMAS EN LA CUENCA DEL APATLACO. NUEVOS PAISAJES TAXOGENÓMICOS Y PREDICCIÓN DE FENOTIPOS

Wendy Méndez Ortega<sup>1</sup>, Luz Bretón-Deval<sup>2</sup>, Erick Alejandro Sánchez Salazar<sup>3</sup>, Hayley Mangelson<sup>4</sup>, Ilse Salinas-Peralta<sup>5</sup>, Alejandro Sanchez-Flores<sup>6</sup>, Ayixon Sánchez Reyes<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>CIDC-UAEM; <sup>2</sup>Cátedras Conacyt-IBT-UNAM; <sup>3</sup>UAM-Iztapalapa; <sup>4</sup>Phase Genomics Inc; <sup>5</sup>UPEMOR; <sup>6</sup>UUSMB-IBT-UNAM

\*Autor para correspondencia: [ayixon.sanchez@ibt.unam.mx](mailto:ayixon.sanchez@ibt.unam.mx)

*Palabras clave: Microbioma ambiental, Taxonomía microbiana, Contaminación textil.*

La diversidad microbiana está representada por una variedad de paisajes genómicos adaptados a diferentes ambientes y condiciones. Estos paisajes genómicos contienen firmas funcionales relacionadas con fenotipos a nivel de comunidad y con contextos taxó-específicos. En este trabajo exploramos el paisaje de biodiversidad en los sedimentos del río Apatlaco, *-una microcuenca altamente impactado por la actividad antropogénica en el estado de Morelos-* bajo selección nutricional con un colorante textil antraquinónico. A través del análisis de microbiomas, inferimos vínculos entre funciones biodegradativas predichas y el potencial genómico-metabólico; utilizando información resultante de la reconstrucción de genomas individuales que cohabitan en los sedimentos.

Empleando la deconvolución por ligadura de proximidad (*Hi-C metagenomic deconvolution*), así como modelos para perfilado taxonómico, anotación funcional y análisis de asociación de genoma completo, reconstruimos 97 compósitos genómicos en la muestra. El 80% de estos, representan genomas potencialmente nuevos. El taxón “*Candidatus Afipia apatlaquensis*” se propone como una nueva especie para el género *Afipia* (Sánchez-Reyes, et al. 2020. Draft genome sequence of “*Candidatus Afipia apatlaquensis*” sp. nov., IBT-C3, a potential strain for decolorization of textile dyes. BMC Res Notes 13, 265). Los principales determinantes taxonómicos en los sedimentos de Apatlaco pertenecen a los géneros *Methanobacterium*, *Clostridium* y *Cupriavidus*, que representan el 50, 22 y 11% del perfil total de la comunidad respectivamente. El efecto de la comunidad microbiana sobre la carga orgánica total se evaluó determinando la demanda química de oxígeno (DQO) después de 30 días de cultivo. Observamos la disminución del 50% de la DQO y una decoloración del 23% después de 30 días de enriquecimiento.

Bajo la hipótesis de que es posible conectar compósitos genómicos individuales con funciones específicas dentro de una comunidad microbiana bajo selección nutricional, ejecutamos un análisis de asociación entre elementos de secuencia y fenotipos binarios inferidos para cada genoma deconvolucionado en el estudio. Cada genoma fue hipotéticamente clasificado como: *degradador de colorantes textiles*, o *no degradador*. Esta clasificación se basó en la presencia de marcadores conocidos de biodegradación. Se predijo que los genes que codifican enzimas tipo catalasa-peroxidasa, polifenol oxidasa y lacasa, se asocian significativamente con el fenotipo de biodegradación de colorantes, destacando el potencial de los estudios de asociación de genoma completo para predecir determinantes biodegradativos.

En conclusión, este estudio explora la composición microbiana de sedimentos del río Apatlaco, y propone escrutinios genómicos rápidos para predecir fenotipos dentro de comunidades complejas bajo diferentes presiones ambientales. Nuestros resultados podrían ayudar a comprender cómo la selección nutricional modula los paisajes microbianos en cuerpos de agua locales, y si esta promueve cambios adaptativos a nivel de comunidad. Parte de este trabajo puede consultarse en: Sánchez-Reyes, et al. 2021. *Hi-C deconvolution of a textile dye-related microbiome reveals novel taxonomic landscapes and links phenotypic potential to individual genomes*. Int Microbiol. <https://doi.org/10.1007/s10123-021-00189-7>.

Este trabajo ha contado con el apoyo del programa CIENCIA DE FRONTERA FORDECYT-PRONACES, a través del proyecto 265222/2020 CONACyT- México; así como del Proyecto 2030 P-10065, UNAM-IBT.

# **El espermatozoide a nanoescala: estudios sobre la distribución del receptor de speract por microscopía de súper-resolución**

**Angélica Beltrán Rodríguez<sup>1</sup>, David Torres Hernández<sup>1</sup>; Carmen Beltrán<sup>2</sup>, Alberto Darszon<sup>2</sup>, Adán Guerrero<sup>1</sup> y Christopher Wood<sup>\*1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorio Nacional de Microscopía Avanzada <sup>2</sup>Consortio Fisiología del Espermatozoide y la Fecundación  
Instituto de Biotecnología-UNAM

\*Autor para correspondencia [christopher.wood@ibt.unam.mx](mailto:christopher.wood@ibt.unam.mx)

*Palabras clave: nanoscopia óptica, estadística espacial, espermatozoide.*

## **Resumen**

La microscopía de súper-resolución está transformando nuestro conocimiento de la organización, distribución y interacción de los componentes celulares y la biología celular. Existen una multitud de métodos ópticos y de procesamiento de datos que permiten determinar la posición de las moléculas marcadas con resolución espacial hasta dos órdenes de magnitud mayor que el límite determinado por difracción. Una de las técnicas más implementadas es la microscopía por localización de molécula única (SMLM por sus siglas en inglés), y en la presentación, se informará sobre la aplicación de la SMLM para estudiar la distribución de speract, un quimioatrayente liberado por los óvulos, que une su receptor en el flagelo del espermatozoide de erizo de mar para regular una serie de alteraciones en parámetros intracelulares y segundos mensajeros que terminan en estimular al espermatozoide a redirigir su trayectoria hacia el óvulo. Utilizando la SMLM, observamos la distribución de speract unido al flagelo para determinar si existe compartimentalización de su receptor en nanodominios que pudiera estar involucrado en la codificación de información espacial sobre la posición de óvulo en un gradiente de quimioatrayente. Se presentarán a los avances técnicos y científicos alcanzados por la primera autora en su proyecto de maestría.

**Agradecimiento.** Los autores agradecen a Raúl Pinto Cámara, Claudia Martínez Anaya, José Luis de la Vega Beltrán, Timoteo Olamendi y Haydée Hernández Olinca por su apoyo en la realización de los proyectos, que fueron financiados por el Programa de apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la UNAM #IN211216

# Perfil de anticuerpos neutralizantes contra SARS-CoV-2 en sueros de adultos convalecientes de COVID-19

Erika Garay<sup>1</sup>, Jey Hernández<sup>1</sup>, Esteban Muñoz<sup>2</sup>, Sean Whelan<sup>3</sup>, Carlos Arias<sup>1</sup>, Susana López<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biotecnología, UNAM; <sup>2</sup>División de Laboratorios de Vigilancia e Investigación Epidemiológica, IMSS, 07760 Ciudad de México; <sup>3</sup>Department of Molecular Microbiology Washington University School of Medicine, St. Louis, MO, USA.

\*e-mail: susana@ibt.unam.mx

*Anticuerpos neutralizantes, Virus quiméricos, SARS CoV2*

Un reto crítico actual es identificar los correlatos de protección contra la infección y la enfermedad causada por el virus SARS-CoV-2. La cantidad de anticuerpos neutralizantes (AbN) ofrece una buena aproximación al correlato de protección contra la COVID-19 sintomática, aunque la inmunidad innata y la celular también contribuyen a la protección. Se ha observado que existe una relación importante entre el título neutralizante de un suero y la protección reportada para las distintas vacunas. Los ensayos para determinar el título de neutralización de AbN requieren del uso de partículas infecciosas de SARS-CoV-2 en cultivos *in vitro* de células permisivas, que sólo se pueden realizar en facilidades BSL3. Una alternativa a estos ensayos en laboratorios BSL2, es el uso de virus quiméricos que expresan en su superficie la proteína S del SARS-CoV-2 (que es el principal inmunógeno de este virus) y que emplean la misma ruta de entrada del SARS-CoV-2. La neutralización de estos virus quiméricos correlaciona bien con la que se observa con el virus SARS-CoV-2 (1). En este trabajo optimizamos un ensayo de este tipo para determinar de manera cualitativa y semicuantitativa la cantidad de anticuerpos neutralizantes en sueros de pacientes convalecientes de COVID-19. Además caracterizamos la reactividad de 103 sueros seropositivos, colectados a inicios de este año en el IMSS, mediante ensayos de ELISA y a través de establecer los títulos de neutralización en ensayos de infección con el virus quimérico en células MA104. Encontramos que el 72% de los sueros convalecientes inhibieron el 80% de la infección del virus quimérico, respectivamente. No hubo diferencias significativas en la cantidad de AbN entre hombres y mujeres, mientras que los sueros de adultos de mediana y avanzada edad presentaron una mayor cantidad de AbN que los adultos jóvenes. De manera similar a lo reportado, encontramos que los niveles de anticuerpos contra la proteína S (dominio RBD) detectados mediante un ELISA, correlacionan fuertemente con el título de neutralización de los mismos sueros. Conocer el perfil de AbN en ensayos estandarizados ayudará a entender mejor la magnitud de anticuerpos neutralizantes inducidos por las vacunas actualmente utilizadas y su durabilidad, y facilitará las actividades en una sociedad post-vacunada.

**Agradecimiento.** Beca posdoctoral CONACyT (177649). PAPIIT IV200420 y SECTEI/057/2020

## **Bibliografía.**

Case JB, Rothlauf PW, Chen RE, Liu Z, Zhao H, Kim AS, Bloyet LM, Zeng Q, Tahan S, Droit L, Ilagan MXG, Tartell MA, Amarasinghe G, Henderson JP, Miersch S, Ustav M, Sidhu S, Virgin HW, Wang D, Ding S, Corti D, Theel ES, Fremont DH, Diamond MS, Whelan SPJ. Neutralizing Antibody and Soluble ACE2 Inhibition of a Replication-Competent VSV-SARS-CoV-2 and a Clinical Isolate of SARS-CoV-2. *Cell Host Microbe*. 2020 Sep 9;28(3):475-485.e5. doi: 10.1016/j.chom.2020.06.021.

# LA ACTIVACIÓN DE LOS RECEPTORES P2X INDUCE UN ESTADIO TEMPRANO DE LA REACCIÓN ACROSOMAL VIA LA CINASA ROCK1 Y UN INCREMENTO DE $\text{Ca}^{2+}$ INTRACELULAR

**Ignacio López-González<sup>1\*</sup>, Escobedo-Estrada, V.<sup>1</sup>, Sánchez-Cárdenas, C.<sup>1</sup>, De la Vega-Beltrán, J.L.<sup>1</sup>, Alvarado-Quevedo, B.<sup>1</sup>, González-Cota, A.L., Orta, G.<sup>1</sup> and Darszon, A.<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Genética del Desarrollo y Fisiología Molecular, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca Morelos 62210, México.

\*Autor para correspondencia, ignacio.lopez@ibt.unam.mx, darszon@ibt.unam.mx

*Palabras clave: Espermatozoide Humano, Reacción Acrosomal, Receptores Purinérgicos P2X, Cinasa ROCK1, Microscopia de Conductancia Iónica Exploratoria.*

El uso de la microscopia de conductancia iónica exploratoria nos permitió documentar el incremento de volumen, dependiente de  $\text{Ca}^{2+}$  externo, inducido por ATP (ATPVI) en la cabeza de los espermatozoides humanos capacitados. Para explorar la posible participación de los receptores purinérgicos (PRs) P2X2R y/o P2X4R en el ATPVI utilizamos co-agonistas específicos para cada receptor como son la progesterona (P4, 1  $\mu\text{M}$ ; para P2X2R) o la Ivermectina (Iver, 3  $\mu\text{M}$ ; para P2X4R), y  $\text{Cu}^{2+}$  (100  $\mu\text{M}$ ), metal que co-activa a los P2X2Rs pero inhibe a los P2X4Rs. La Iver potenció al ATPVI mientras que  $\text{Cu}^{2+}$  lo inhibió, indicando que los P2X4Rs participan en este proceso. De manera consistente, el  $\text{Cu}^{2+}$  inhibió al aumento de la reacción acrosomal (RA) inducido por ATP externo, la cual se potencia por Iver. En otros tipos celulares, la cinasa ROCK1 participa en el cambio del volumen celular inducido por la activación de diferentes PRs. En el presente trabajo, demostramos la participación de la cinasa ROCK1 en el ATPVI al utilizar tres inhibidores de esta cinasa: Y-27632, RKI-1447 y GSK269962A; los cuales bloquearon el ATPVI y a la RA asociada a este proceso. La adición de ATP externo produjo un aumento en las corrientes iónicas totales registradas electrofisiológicamente en espermatozoides capacitados, un incremento de  $\text{Na}^+$  intracelular y una depolarización del potencial de membrana ( $E_m$ ) sensible a  $\text{Cu}^{2+}$ . Además, el ATP incrementó la  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  en el 45% de los espermatozoides registrados como célula única, la mayoría de los cuales reaccionaron acrosomalmente al ser monitoreados con FM4-64. Nuestros resultados indican que la activación de, al menos, el P2X4R del espermatozoide humano por ATP permite una entrada de  $\text{Na}^+$ , la cual depolariza el  $E_m$  e incrementa la  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  debido principalmente al influjo de  $\text{Ca}^{2+}$ . Este influjo de  $\text{Ca}^{2+}$  junto a la activación de la cinasa ROCK1 causa el aumento del volumen de la cabeza del espermatozoide, probablemente como consecuencia del hinchamiento del acrosoma, favoreciendo la RA.

**Agradecimiento.** Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT-Mexico). Número de donativo: 71 de AD; a la Dirección General de Asuntos del Personal Académico/ Universidad Nacional Autónoma de México (DGAPA/ UNAM). Número de donativos: IN200919 para AD; IN205518 e IN208321 para ILG.

## ESTUDIOS RECIENTES DE VENENOS DE SERPIENTES MEXICANAS Y SUS IMPLICACIONES EN EL MEJORAMIENTO DE ANTIVENENOS

**<sup>1</sup>Neri-Castro Edgar\*;** **<sup>1</sup>Colis-Torres Andrea;** **<sup>1</sup>Alid Guadarrama;** **<sup>2</sup>Borja Miguel;** **<sup>3</sup>Strickland Jason;** **<sup>1</sup>Melisa Bénard-Valle y <sup>1</sup>Alejandro Alagón \***

<sup>1</sup>Departamento de Medicina Molecular y Bioprocesos, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, Morelos, México; <sup>2</sup>Facultad Ciencias Biológicas, Universidad Juárez del Estado de Durango, Av. Universidad s/n. Fracc. Filadelfia, C.P. 35010 Gómez Palacio, Dgo., México; <sup>3</sup>Department of Biological Sciences and Department of Forestry, and Environmental Conservation, Clemson University, 190 Collings St. Clemson, SC, 29631, USA

\*Neri-Castro Edgar: edgar.neri@ibt.unam.mx

*Palabras clave: Venenos de víboras; antivenenos; Neurotoxinas; Crotamina*

El envenenamiento por mordedura de serpiente es un problema de salud a nivel mundial. Actualmente, la Organización Mundial de la Salud (OMS) lo clasifica como parte de las Enfermedades Tropicales Desatendidas, lo que muestra la poca atención que ha recibido en todo el mundo. En México, se reportan en promedio 3,893 envenenados por serpiente de los cuales un promedio de 34 terminan en muerte y se desconoce el porcentaje de personas con secuelas. El 98% de los casos son ocasionados por serpientes de la familia Viperidae, conocidas como víboras, mientras que el 2% por serpientes de la familia Elapidae, conocidas como serpientes de coral. El tratamiento actual es el uso de antivenenos, en México se cuentan con dos, Antivipmyn<sup>®</sup> fabricado por la empresa Silanes y Faboterápico Polivalente Antiviperino de la empresa Birmex<sup>®</sup>. Ambos antivenenos son usados para tratar pacientes mordidos por víboras y tienen un reto importante en términos de neutralización ya que existen 74 especies de víboras mexicanas para las cuales debe ser eficaz. Por otro lado, para las mordeduras de corales se usa Coralmy<sup>®</sup>, antiveneno usado para la mordedura de cualquiera de las 16 especies de coralillos. En nuestro grupo se han realizado estudios que demuestran que los dos antivenenos antivíboras son eficaces para neutralizar las especies que ocasionan el mayor número de envenenamientos (*C. simus* y *B. asper*), sin embargo, para otros géneros de serpientes son poco eficaces (*Mixcoatlus*, *Cerrophidium*, entre otros), mientras que para el resto de las especies se desconoce la eficacia de los antivenenos. Para el antiveneno Coralmy no hay estudios que demuestren la eficacia hacia las especies mexicanas. A pesar de que México ha sido líder mundial en la producción de antivenenos, poco se sabe sobre la composición de los venenos de las serpientes que ahí se distribuyen. Se estima que el veneno de solo el 30% de las especies en México han sido caracterizado parcialmente, lo que complica la predicción de los cuadro clínicos e impide que se realicen estudios con los antivenenos, puesto que la interpretación de los resultados de neutralización debe ser correlacionada con estudios de composición de los venenos.

El objetivo principal de nuestros estudios ha sido conocer la composición proteica de los venenos de víboras, así como caracterizar las actividades bioquímicas y biológicas del mayor número de especies de víboras. Adicionalmente, en algunos de los casos hemos complementado los estudios con transcriptomas de la glándula de veneno que ayudan a entender las diferencias intraespecíficas en la expresión de los transcriptos de las toxinas que se han descrito en varias especies de cascabel. Por otra parte, estamos trabajando en la evaluación de la neutralización de Coralmy<sup>®</sup> hacia especies mexicanas. Para ejemplificar el enfoque de nuestros estudios mostraremos la caracterización del veneno de una especie de cascabel, así como la neutralización de Antivipmyn<sup>®</sup>, Birmex<sup>®</sup> y Coralmy<sup>®</sup> hacia distintas especies de serpientes.

*Crotalus basiliscus*, es la especie de víbora más grande de México (LTmax: 204.5 cm), ésta ocasiona un número importante de mordeduras que en su mayoría son complicadas de atender debido a la gran cantidad de veneno que pueden inocular. Por otro lado, su veneno es uno de los dos venenos utilizados como inmunógeno en la producción del antiveneno de Birmex<sup>®</sup>, a pesar de esto su veneno no había sido caracterizado previamente. Se analizaron 27 venenos de ejemplares juveniles y adultos a lo largo de toda su distribución. Los resultados mostraron diferencias importantes en la composición de una toxina llamada crotamina, esta toxina está presente en porcentajes altos en individuos juveniles (5.8%-34%), mientras que en los adultos fueron bajos (0.8%-15.8). También se observaron diferencias importantes en la letalidad, los venenos de juveniles presentaron dosis letales medias (DL<sub>50</sub>) que van de 0.14 a 1 µg/g, mientras que los adultos 1 a 15.5 µg/g, estas diferencias correlacionan con la presencia y ausencia de crotoxina, una neurotoxina presente en algunas especies de víboras. Interesantemente, se encontró polimorfismo en el proteoma para la crotoxina. Los resultados presentados aquí son de gran relevancia para homogenizar las mezclas inmunogénicas usadas en la producción del antiveneno, así como la evaluación de su neutralización antes de salir al mercado, lo anterior ayudará a que los lotes del antiveneno sean homogéneos, dando mejores resultados en la clínica.

Los estudios con los antivenenos se han basado en evaluar la neutralización de la letalidad, así como analizar aquellos venenos o componentes que son mal neutralizados. Para el caso de los antivenenos de víboras se encontró que los venenos neurotóxicos, los cuales son relativamente raros en las víboras, son bien neutralizados. Por otro lado, se observó que para especies de los géneros *Mixcoatlus*, *Cerrophidium*, *Metlapilcoatlus* y *Ophryacus* se requieren mayores cantidades de antiveneno para obtener la neutralización. Además, se observó que la miotoxina llamada crotamina es una toxina que no es neutralizada por los antivenenos. Por lo anterior, estamos trabajando en proponer mezclas inmunogénicas que ayuden a extender la neutralización de dichas especies. En el caso de Coralmyn<sup>®</sup>, hemos evaluado la neutralización hacia el veneno de seis especies de coral que poseen composiciones de veneno distintas. Los resultados muestran que existen variaciones importantes de lote a lote. Por ejemplo, de cinco lotes evaluados, solo tres fueron capaces de neutralizar la actividad letal de seis venenos analizados, mientras que dos solo neutralizaron aquellos venenos cuya actividad letal estuvo mediada por fosfolipasas neurotóxicas, mientras que aquellos venenos que adicionalmente poseen  $\alpha$  neurotoxinas no son neutralizados. Adicionalmente, demostramos que éstos antivenenos no son capaces de reconocer a las  $\alpha$  neurotoxinas por medio de ELISA, lo que indica que el antiveneno no contiene anticuerpos contra éstas.

**Agradecimientos:** Los proyectos fueron financiados DGAPA-PAPIIT (proyecto # IN211621), CONACYT (proyecto # 264255); FORDECYT PRONACE (proyecto # 1715618/2020), FORDECYT (proyecto # 303045)

## Resumen simposio de otoño 2021

### EL METABOLISMO DE *Saccharomyces cerevisiae* EN IMÁGENES

**Prisciluis Caheri Salas Navarrete<sup>2</sup>, Alfredo Martínez<sup>1</sup> y Luis Caspeta<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. Av. Universidad 2001, Col. Chamilpa C.P. 62210, Cuernavaca, Morelos, México. <sup>2</sup>Centro de Investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa C.P. 62209, Cuernavaca, Morelos, México.

\*Autor para correspondencia: Luis Caspeta, luis.caspeta@ibt.unam.mx.

*Palabras clave: Biología de Sistemas, Saccharomyces cerevisiae, Modelo Metabólico a Escala Genómica.*

La levadura *Saccharomyces cerevisiae* se utiliza ampliamente como fábrica celular y como organismo modelo en ingeniería metabólica y biología de sistemas, así como en biología sintética (1). Mientras que los avances en herramientas para la detección y cuantificación de moléculas biológicas aumentan rápidamente nuestra capacidad para generar información, la contextualización de ésta es un desafío. Esto a menudo representa un cuello de botella en proyectos de investigación y desarrollo en ingeniería metabólica, investigación traslacional y estudios multi-ómicos y/o multi-específicos.

La visualización es un aspecto clave en la contextualización de la información. Aunque existen herramientas para generar mapas parciales del metabolismo, estas fallan en la reconstrucción de diagramas metabólicos a escala genómica del metabolismo compartimentalizado. Por lo tanto, la secuencia lógica y las relaciones jerárquicas entre todos los componentes metabólicos (metabolitos, reacciones, vías y compartimentos), es limitada debido a la cobertura restringida.

En esta participación informaremos sobre el yeastGemMap, un diagrama de proceso del metabolismo completo de la levadura, creado para ayudar al análisis de datos en estudios metabólicos a escala genómica. El mapa se reconstruyó manualmente con reacciones del modelo metabólico a escala genómica más actualizado, basado en diagramas de proceso bioquímicos que se encuentran típicamente en la literatura educativa y especializada. El yeastGemMap consta de 3815 reacciones que representan 1150 genes, 2742 metabolitos y 14 compartimentos. También se describirán las funciones computacionales generadas para adaptar la representación gráfica del mapa. Estas funciones modifican la representación visual del mapa para ayudar en tres tareas metabólicas fundamentales: i) ilustrar las redes metabólicas; ii) interpretar los flujos metabólicos; y 3) contextualizar visualmente la información metabólica de los transcriptomas. La versatilidad del yeastGemMap y los algoritmos para ayudar a la visualización de datos metabólicos se demostrará en varias tareas, como: 1) la evaluación de mutaciones letales; 2) el análisis de flujos metabólicos; y 3) el análisis de datos transcriptómicos. Por ejemplo, la interpretación visual de los transcriptomas metabólicos de cepas de levadura parentales y evolucionadas térmicamente permitió demostrar que las cepas evolucionadas activan una respuesta metabólica de readaptación a 30 °C, lo que permitió su termo tolerancia.

**Agradecimiento.** Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT, UNAM, proyecto No TA200119).

#### **Bibliografía.**

1. Caspeta, L., & Navarrete, P. C. S. (2020). Reduction of the *Saccharomyces cerevisiae* genome: challenges and perspectives. In: Gossett, G., & Lara, A.R. (Eds.), *Minimal Cells Design Construction and Biotechnological Applications*. Springer International Publishing, 117–139. doi: 10.1007/978-3-030-31897-0\_5.

# ESTUDIOS SOBRE LA DIVERSIDAD MICROBIANA Y METABÓLICA DURANTE LA FERMENTACIÓN DEL PULQUE

Adelfo Escalante<sup>1\*</sup>; Julián Torres<sup>1</sup>; Katherine Chacón-Vargas<sup>2</sup>; John G. Gibbons<sup>2</sup>; Martha Giles-Gómez<sup>3</sup>; Francisco Bolívar<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ingeniería Celular y Biotecnología, Instituto de Biotecnología, UNAM; <sup>2</sup>Department of Food Science, University of Massachusetts, Amherst, MA, USA; <sup>3</sup>Departamento de Biología, Facultad de Química, UNAM.

\*adelfo.escalante@ibt.unam.mx

*Palabras clave: pulque, diversidad microbiana, inferencia funcional.*

El pulque es una bebida fermentada tradicional alcohólica, no destilada producida a partir de la fermentación de la savia o aguamiel de diversas especies de maguey (*Agave*) cultivados para la producción de pulque (maguey pulquero). Esta bebida ha sido producida y consumida desde tiempos prehispánicos por diferentes culturas Mesoamericanas, hasta nuestros días, principalmente en los estados del Altiplano Central mexicano. En este trabajo se reporta el análisis de la diversidad microbiana y su inferencia funcional por secuenciación del metagenoma de cinco etapas de la producción de pulque de la localidad de Huitzilac, Morelos (aguamiel, una fermentación de 6 horas: To, T3, T6, y una muestra de pulque fermentado). La diversidad microbiana identificada esta conformada por seis géneros principales: *Acinetobacter*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Saccharomyces* y *Zymomonas*; y 10 especies *Acinetobacter boissieri*, *Acinetobacter nectaris*, *Lactobacillus sanfranciscensis*, *Lactococcus lactis*, *Lactococcus piscium*, *Lactococcus plantarum*, *Leuconostoc citreum*, *Leuconostoc gelidum*, *Zymomonas mobilis* y *Saccharomyces cerevisiae*, presentes en una proporción  $\geq 1\%$  durante la última etapa de la fermentación. Los cambios detectados en la abundancia de los géneros y especies identificadas durante la fermentación fueron asociados con una disminución en la concentración de sacarosa (principal azúcar presente en el aguamiel empleado como sustrato para la fermentación), y un incremento en la concentración de etanol y ácido láctico (principales productos de la fermentación), sugiriendo que la competencia por los recursos disponibles define la diversidad microbiana durante la fermentación. Se realizó también una predicción funcional, basada en el contenido genético de cada microorganismo, para cada etapa de la fermentación identificándose una abundancia de genes asociados a la biosíntesis de folato. Finalmente se determinó la igual forma se determinó la relación evolutiva de *S. cerevisiae* y *Z. mobilis*, dos de los microorganismos más abundantes en el pulque. Para *S. cerevisiae*, se utilizó una aproximación de ensamble metagenómico para identificar los *scaffolds* presentes en la muestra de pulque y por medio de un análisis filogenético de estas secuencias con una colección de 158 cepas de *S. cerevisiae*. Este análisis sugiere que las cepas de *S. cerevisiae* del pulque están reaccionadas cercanamente a aislados asiáticos de sake y bioetanol. Finalmente se aislaron, purificaron y se secuenció el genoma de tres cepas de *Z. mobilis* del pulque y se comparó la relación con siete aislados previamente secuenciados de diferente origen. Nuestros resultados sugieren que las cepas de *Z. mobilis* del pulque pueden representar un linaje distinto de esta bacteria.

**Agradecimiento.** Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT), UNAM projects IN207914 and IN207917.

## **Bibliografía.**

Chacón-Vargas et al. (2020). Genomic profiling of bacterial and fungal communities and their predictive functionality during pulque fermentation by whole-genome shotgun sequencing. *Scientific Reports*. 10, 15115. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71864-4>

Valdivieso Solís et al. (2021). Sustainable production of pulque and maguey in Mexico: Current situation and perspectives. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5. DOI: 10.3389/fsufs.2021.678168Si

# ESTUDIO DE LA MIGRACIÓN DE LOS ESPERMATOZOIDES NULOS DE SLO3 EN EL TRACTO REPRODUCTOR FEMENINO DE RATÓN

**Julissa Solís-Salgado<sup>1</sup>, Yoloxóchitl Sánchez-Guevara<sup>2</sup>, Claudia L. Treviño Santa Cruz<sup>2</sup>, Julio C. Chávez<sup>2\*</sup>**

<sup>1</sup> Ingeniería en Biotecnología, Universidad Politécnica del Estado de Morelos, México; <sup>2</sup> Departamento de Genética del Desarrollo y Fisiología Molecular, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, México.

\*julio.chavez@ibt.unam.mx

*Palabras clave: Espermatozoide, SLO3, Aclarado de tejidos*

La fertilización es un proceso biológico fundamental que produce un individuo nuevo y único, permitiendo la preservación de las especies mediante la reproducción sexual. Los espermatozoides recién eyaculados son incapaces de fecundar al óvulo, y adquieren esa capacidad después de residir en el tracto reproductor femenino por un determinado lapso, denominado capacitación. Durante el tiempo de residencia en el tracto femenino, los espermatozoides permanecen adheridos a las células epiteliales ubicadas en las invaginaciones internas del tracto femenino, por lo que una vez transcurrido el tiempo de capacitación (varía de especie a especie, en ratones es de 60-90 minutos, y en humano requiere al menos 6 horas), los espermatozoides se despegan y continúan su trayecto por el tracto femenino en búsqueda del óvulo.

El tracto reproductor femenino posee un ambiente complicado para el espermatozoide, ya que en términos de pH hay un aumento gradual (pH vagina: ~5.5; pH útero: ~7.0) del mismo que alcanza su máximo en la zona del ámpula (~8.0), que es el sitio donde ocurre la fecundación. Adicionalmente, la concentración de algunas hormonas como progesterona y prostraglandinas así como  $\text{HCO}_3^-$  y la albúmina, se incrementa a medida que el espermatozoide se acerca a la zona del ámpula.

Por su parte, el espermatozoide cuenta con un mecanismo de comunicación efectivo que monitorea los cambios que experimenta durante su trayecto en el tracto reproductor femenino, que son los canales iónicos. El espermatozoide posee algunos canales exclusivos, es decir que no se expresan en ninguna otra célula del organismo, y cuya ausencia causa infertilidad masculina. Entre ellos destacan un canal de  $\text{Ca}^{2+}$  (CatSper), un canal de  $\text{K}^+$  (de la familia SLO), y un intercambiador  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  (en ratón, llamado sNHE). Estos canales o transportadores son dependientes de pH y se regulan ligeramente por voltaje. Los cambios que experimenta el espermatozoide durante su tránsito en el tracto reproductor femenino se reflejan en adaptaciones del espermatozoide, ya que se han descrito cambios en el pH intracelular, en el patrón de nado (hiperactivación), aumento del  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular y una hiperpolarización de la membrana plasmática, entre otros. Finalmente, una vez que llega al ámpula el espermatozoide experimenta la RA, que consiste en la liberación de las enzimas líticas contenidas en el acrosoma.

Los espermatozoides nulos de Catsper no experimentan la hiperactivación de la movilidad, y se ha observado que dicha movilidad es necesaria para que el espermatozoide logre despegarse del tracto femenino, y para una correcta migración de los espermatozoides hasta el ámpula. Por otro lado, los espermatozoides del ratón nulo de SLO3 también presentan problemas de movilidad y de regulación del potencial de membrana. Sin embargo, hasta la fecha nadie ha determinado las causas de la infertilidad de estos ratones nulos, por lo que nos hemos propuesto determinar si SLO3 se requiere para la migración de los espermatozoides en el tracto femenino, empleando técnicas de reciente desarrollo como el aclarado óptico de tejidos, lo que nos permitirá observar oviductos completos sin la necesidad de realizar cortes, además de que es compatible con métodos de tinción que nos facilitará identificar a los espermatozoides dentro del oviducto, realizando tinciones de acrosoma, núcleo y el flagelo de los espermatozoides.

Empleando la técnica *Clarity*, hemos estandarizado las condiciones ideales para observar los espermatozoides dentro de las diferentes regiones del tracto reproductor femenino (útero, unión utero-tubal, túbulos oviductuales y ámpula). Las visualizaciones las hemos realizado por microscopía de dos fotones.

**Agradecimiento.** Este proyecto fue financiado por DGAPA PAPIIT IA200419. Agradecemos las facilidades otorgadas por el Laboratorio Nacional de Microscopía Avanzada para la realización de este proyecto.

# ESPECIES DE OXÍGENO REACTIVAS Y SFKs EN EL CONTROL DE LA MOTILIDAD CELULAR EN EL DESARROLLO EMBRIONARIO TEMPRANO EN PEZ CEBRA.

**Francisco Javier Mendez Cruz<sup>1</sup>, Arlen Ramirez Corona<sup>1</sup>, Denhi Schnabel Peraza<sup>1</sup>, Mario Adán Mendieta Serrano<sup>2</sup>, Hilda María Lomelí Buyoli<sup>1</sup> y Enrique Salas Vidal<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Genética del Desarrollo y Fisiología Molecular, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Avenida Universidad #2001, Colonia Chamilpa, Cuernavaca, Morelos C.P. 62210, México.

<sup>2</sup>Mechanobiology Institute, National University of Singapore, Singapore 117411, Singapore.

\*Autor para correspondencia, enrique.salas@ibt.unam.mx.

*Palabras clave: Epibolia-Gastrulación, E-cadherina, endocitosis.*

Las especies de oxígeno reactivas (EOR) actúan como segundos mensajeros en el control de procesos celulares como la proliferación, la muerte, la migración y la diferenciación celular; que son fundamentales en el desarrollo embrionario en animales. En el grupo usamos embriones de pez cebra como modelo para caracterizar los procesos del desarrollo temprano regulados por EOR. En particular nos hemos enfocado en estudiar la epibolia que es el primer movimiento de la gastrulación, que es el proceso morfogénico mediante el cual se forman las capas germinales (ectodermo, mesodermo y endodermo) y se definen morfológicamente los ejes corporales (antero-posterior, dorso-ventral, izquierda-derecha).

Recientemente reportamos que la inhibición general de las NADPH oxidasas (Nox) con el fármaco VAS2870, disminuye la formación de especies de oxígeno reactivas (EOR), afecta la epibolia, la distribución de la E-cadherina, del citoesqueleto (actina y tubulina), la motilidad celular y la supervivencia de los embriones, efectos que son rescatados por el tratamiento con peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Incluso observamos que la epibolia termina anticipadamente en embriones tratados con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, lo cual sugiere fuertemente que ésta es la EOR relevante en la gastrulación en el pez cebra (Mendieta-Serrano et al., 2019).

Actualmente estamos enfocados en estudiar las redes de regulación molecular en las que participan las EOR para el control de la motilidad celular durante la epibolia. En particular nos han interesado analizar a dos posibles blancos de la acción de EOR en la regulación de la epibolia, a la E-cadherina y las cinasas de la familia Src (SFKs).

La E-cadherina es una proteína de adhesión celular necesaria durante la epibolia y gastrulación en el desarrollo embrionario del pez cebra (Babb and Marrs, 2004; Kane et al., 2005). Esta proteína posee una región extracelular involucrada en la interacción homotípica entre caderinas presentes en células vecinas, adicionalmente tiene una región transmembranal y una región citoplásmica. La proteína se expresa de forma ubicua primero en su forma inmadura de 140 kDa, la cual es procesada para dar lugar a la proteína madura de 120 kDa que se trasloca a la membrana celular en donde participa en la adhesión celular. Una vez en la membrana celular la E-cadherina puede internalizarse por medio de endocitosis dependiente de clatrina y de dinamina para posteriormente ser reciclada a la membrana celular o bien puede llevarse a alguna de las dos vías principales de degradación de proteínas, por vía del lisosoma o por la vía de degradación por el proteosoma (Sempou et al., 2016). El control de la dinámica de localización de la E-cadherina en la membrana-vesículas juega un papel fundamental en el control de la cohesividad de los tejidos y en la coordinación de los movimientos celulares durante la epibolia y la gastrulación (Babb and Marrs, 2004). El estudiante de doctorado Javier Mendez Cruz ha verificado experimentalmente que al inhibir la formación de EOR por el tratamiento con VAS2870, los defectos en la epibolia pueden rescatarse por medio del tratamiento con Dynasore, el cual es un inhibidor de la dinamina 2 y por lo tanto de la endocitosis. Alternativamente al inyectar a embriones de peces cebra con una forma dominante negativa de la dinamina 2 encontró que los efectos en el desarrollo y en particular en la epibolia son compensados por el tratamiento con VAS2870. Por otro lado la estudiante de maestría Arlen Ramírez Corona verificó que los efectos del VAS2870 en la localización de la E-cadherina y del citoesqueleto

de actina así como la sobrevivencia de los embriones, pueden ser rescatados con el tratamiento de estos embriones con Dynasore. Adicionalmente Javier observó recientemente que los efectos provocados por el VAS2870 en el desarrollo se pueden rescatar parcialmente por el tratamiento con el inhibidor de la vía de degradación del proteosoma el MG132, pero no por el tratamiento con cloroquina que actúa como inhibidor de la vía del lisosoma. Estos resultados indican que la disminución en la biosíntesis de EOR incrementa la endocitosis de la E-caderina y su degradación por la vía del proteosoma lo cual afecta a la epibolia.

Resultados preliminares obtenidos por Javier Méndez Cruz indican que la vía regulada por las cinasas de la familia SRC (SFK's) interactúan con la vía regulada por las EOR en el control de la motilidad de la epibolia, lo cual es muy interesante debido a que se ha reportado previamente que las SFK's, en particular Fyn y Yes, participan en regular la dinámica membrana-vesículas y de degradación de la E-caderina durante la epibolia en el pez cebra (Sempou et al., 2016).

Estos resultados en conjunto sugieren que las vías de señalización reguladas por las EOR y por las SFK's de alguna manera se integran para regular la endocitosis que se requiere para que se lleve a cabo la epibolia y la gastrulación. Queda por caracterizar molecularmente la manera en que estas vías están interactuando entre ellas y con los demás elementos de las redes de regulación molecular que son afectadas por EOR importantes en el control de la motilidad celular durante la gastrulación del pez cebra.

**Agradecimiento.** Financiado por PAPIIT/UNAM IN210316 e IN212820.

### **Bibliografía.**

Babb, S.G., Marrs, J.A., 2004. E-cadherin regulates cell movements and tissue formation in early zebrafish embryos. *Dev Dyn* 230, 263-277.

Kane, D.A., McFarland, K.N., Warga, R.M., 2005. Mutations in half baked/E-cadherin block cell behaviors that are necessary for teleost epiboly. *Development* 132, 1105-1116.

Mendieta-Serrano, M.A., Mendez-Cruz, F.J., Antunez-Mojica, M., Schnabel, D., Alvarez, L., Cardenas, L., Lomeli, H., Ruiz-Santiesteban, J.A., Salas-Vidal, E., 2019. NADPH-Oxidase-derived reactive oxygen species are required for cytoskeletal organization, proper localization of E-cadherin and cell motility during zebrafish epiboly. *Free Radic Biol Med* 130, 82-98.

Sempou, E., Biasini, E., Pinzon-Olejua, A., Harris, D.A., Malaga-Trillo, E., 2016. Activation of zebrafish Src family kinases by the prion protein is an amyloid-beta-sensitive signal that prevents the endocytosis and degradation of E-cadherin/beta-catenin complexes in vivo. *Molecular neurodegeneration* 11, 18.

## UNA MIRADA REPENTINA AL MUNDO NANOSCÓPICO

**Esley Torres García<sup>1,2</sup>, Raúl Pinto Cámara<sup>1,2</sup>, Alejandro Linares<sup>2</sup>, Damián Martínez<sup>2</sup>, Víctor Abonza<sup>2</sup>, Eduardo Brito-Alarcón<sup>2</sup>, Carlos Calcines-Cruz<sup>3</sup>, Gustavo Valdés Galindo<sup>4</sup>, David Torres<sup>2</sup>, Martina Jabłoński<sup>5</sup>, Héctor H. Torres-Martínez<sup>6</sup>, José Luis Martínez<sup>7</sup>, Haydee Hernández<sup>2</sup>, Joseph Ocelotl<sup>2</sup>, Yasel Garcés<sup>2,7</sup>, Joseph G. Dubrovsky<sup>6</sup>, Alberto Darszon<sup>7</sup>, Mariano G. Buffone<sup>5</sup>, Roberto Rodríguez Morales<sup>8</sup>, Juan Manuel Rendon-Mancha<sup>1</sup> Christopher D. Wood<sup>2</sup>, Armando Hernández García<sup>4</sup>, Diego Krapf<sup>9</sup>, Álvaro H. Crevenna<sup>10</sup>, and Adán Guerrero<sup>2,\*</sup>.**

<sup>1</sup> Centro de Investigación en Ciencias, Instituto de Investigación en Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Morelos, México; <sup>2</sup> Laboratorio Nacional de Microscopía Avanzada, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, Morelos, México; <sup>3</sup> Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México, México; <sup>4</sup> Departamento de Química de Biomacromoléculas, Instituto de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México, México; <sup>5</sup> Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET), Buenos Aires, Argentina; <sup>6</sup> Departamento de Biología Molecular de Plantas, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, México; <sup>7</sup> Departamento de Genética del Desarrollo y Fisiología Molecular, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. Cuernavaca, Morelos, México; <sup>8</sup> Instituto de Cibernética, Matemática y Física, Ciudad de la Habana, Cuba; <sup>9</sup> Electrical and Computer Engineering and School of Biomedical Engineering, Colorado State University; <sup>10</sup> European Molecular Biology Laboratory, Neurobiology and Epigenetics Unit, Monterotondo, Italy.

*Palabras clave: microscopía, súper-resolución, fluorescencia.*

Presentaremos un nuevo principio de nanoscopía óptica cuya implementación algorítmica permite superar el límite de difracción de la microscopía óptica mediante el análisis de una sola imagen. Mostraremos evidencia de la existencia de un límite de resolución óptica nunca descrito, alternativo al límite de Abbe, cuya información subyace en el espacio de la segunda derivada del campo de la fluorescencia. Desarrollamos una implementación generalizada que permite develar características nanoscópicas ocultas en imágenes colectadas con cualquier tipo de microscopía basada en el principio de la fluorescencia. Presentaremos aplicaciones de nanoscopía óptica en tiempo real, de reflexión interna total, de confocal y de iluminación plana selectiva. Finalmente, mostraremos la compatibilidad de nuestro método con otras técnicas de microscopía de súper-resolución, algorítmicas e instrumentales, extendiendo sus capacidades a regímenes de resolución inalcanzables por las mismas.

**Agradecimiento.** PAPIIT No. IN211821.

## CARACTERIZACION DE Slp, UNA NUEVA TOXINA DEL SISTEMA DE SECRECION TIPO VI DE *Serratia marcescens* Db10

Ramses Gallegos Monterrosa<sup>1\*</sup>, Sarah J. Coulthurst<sup>1</sup>

<sup>1</sup> School of Life Sciences, University of Dundee, Dundee, UK

\*Autor para correspondencia: ramses.gallegos@outlook.com

*SST6, Competencia interbacteriana, Biopelículas.*

El sistema de secreción tipo VI (SST6) es un mecanismo versátil de traslocación de proteínas que es usado por bacterias Gram-negativas como un arma molecular durante competencias intermicrobianas y en interacciones hospedero-microbio. *Serratia marcescens* es un patógeno oportunista Gram-negativo que puede ser encontrado en diversos nichos ecológicos y posee un SST6 funcional. Esta bacteria produce múltiples proteínas efectoras tóxicas que son secretadas a través de su SST6, así como los factores de inmunidad correspondientes que la protegen de autointoxicación. Slp (secreted lipase-like protein) fue recientemente reportada como un efector del SST6 en *S. marcescens*, junto con sus dos factores de inmunidad putativos.

Durante este proyecto usamos diversas técnicas de biología molecular y microbiológicas para estudiar el papel biológico de Slp, su mecanismo de acción y el método de autoprotección usado por *S. marcescens*. Nuestra caracterización de Slp contra diversas especies y cepas bacterianas mostró diversos niveles de eficiencia antimicrobiana de este efector contra Gammaproteobacterias. Demostramos también que solo uno de los factores de inmunidad putativos originalmente reportados es capaz de prevenir la actividad de Slp, lo cual ocurre mediante una interacción directa entre estas proteínas que bloquea la acción de Slp. Estudiamos también la estructura de Slp, mostramos que este efector tiene una estructura central típica de hidrolasas e identificamos su sitio catalítico. Finalmente, usando citometría de flujo demostramos que Slp ejerce su efecto tóxico al causar una permeabilización de membranas en las células afectadas. El análisis de lípidos totales obtenidos de las células afectadas sugiere que este efecto de Slp se debe a una actividad de fosfolipasa, probablemente dedicada al degradamiento enzimático de cardiolipinas. En concordancia con esto, un análisis bioinformático de esta toxina sugiere que pertenece a la familia Tle2 de efectores con actividad de lipasa del SST6.

**Agradecimientos.** Agradecemos a todos los colaboradores que ayudaron durante la realización de este proyecto, así como al Wellcome Trust por su soporte financiero.