

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

SEMANA ACADÉMICA 2021

Ponentes

Dr. Mario Soberón Chávez
Dr. Carlos Federico Arias Ortiz
Dra. Patricia Leon Mejía
Dra. Alejandra Alicia Covarrubias Robles
Dr. Edmundo Calva Mercado
Dr. Jean-Louis Joseph Marie Charli Casalonga
Dr. Luis Fernando Covarrubias Robles
Dr. Mario Enrique Zurita Ortega
Dr. Baltazar Becerril Lujan
Dr. Joseph Dubrovsky Jankovsky
Dr. Alberto Darszon Israel
Dr. Enrique Galindo Fentanes
Dra. Hilda Maria Lomeli Buyoli
Dr. Enrique Merino Perez
Dr. Takuya Nishigaki Shimizu
Dr. Martin Gustavo Pedraza Alva
Dr. Lourival Domingos Possani Postay
Dr. Octavio Tonatiuh Ramirez Reivich
Dr. Enrique Rudiño Piñera
Dra. Gladys Iliana Cassab
Dr. Lorenzo Patrick Segovia Forcella
Dr. Francisco Xavier Soberon Mainero
Dra. Concepción Company Company

Lunes 13 de Diciembre

9:30 - 9:35 Inauguración

9:35 -10:10

Dr. Mario Soberón Chávez

Sinergismo entre endotoxinas con actividad insecticida

Bacillus thuringiensis (Bt) produce diferentes endotoxinas que muestran toxicidad selectiva contra diferentes ordenes de insectos o nematodos. Entre las más usadas en el control de plagas y de vectores de enfermedades se encuentran las toxinas Cry, Cyt y Vip. *Lysinibacillus sphaericus* (Ls) es otra bacteria Gram positiva que produce endotoxinas insecticidas conocidas como Bin, ya que se contienen dos componentes (BinA y BinB), activas contra ciertas especies de mosquitos. La mayoría de las cepas de Bt producen múltiples toxinas Cry o Cyt, lo que le permite a la bacteria tener un espectro de acción más amplio o aumentar su toxicidad hacia ciertos insectos blanco. Por otra parte, se ha observado que algunas endotoxinas producida por Bt muestran una actividad sinérgica, es decir, la toxicidad de las mezclas de estas toxinas es mucho mayor que la toxicidad aditiva de estos pares de toxinas. El ejemplo mejor caracterizado con respecto al sinergismo entre toxinas es el observado en la cepa *Bt* subs *israelensis* donde se ha mostrado que la toxina Cyt1Aa sinergiza la actividad de las toxinas Cry11Aa y Cry4Ba contra mosquitos. En este caso, además de aumentar la toxicidad de las toxinas Cry, la toxina Cyt1Aa recupera la sensibilidad de poblaciones resistentes a las toxinas Cry11Aa y Cry4Ba. En nuestro laboratorio describimos que el mecanismo de sinergismo entre Cyt1Aa y Cry11Aa depende de su interacción física donde Cyt1Aa funciona como un receptor funcional de la toxina Cry11Aa facilitando su oligomerización e inserción a la membrana. Se ha reportado en la literatura que Cyt1Aa también puede sinergizar la toxicidad de la toxina Bin de Ls y también abate la resistencia a Bin de poblaciones resistentes a esta toxina. Por otra parte, nuestro grupo describió recientemente que la toxina Vip3Aa es capaz de sinergizar la actividad de la toxina Cry9Aa contra diferentes especies de insectos Lepidópteros. En esta presentación vamos a presentar un análisis comparativo los diferentes mecanismos de sinergismo de toxinas insecticidas, iniciando con el sinergismo entre Cyt1Aa con Cry11Aa hacia mosquitos, para seguir con el sinergismo de Cyt1Aa con Bin hacia mosquitos y finalmente el de Vip3Aa con Cry9Aa hacia Lepidópteros. Estos trabajos involucraron la colaboración con el grupo de la Dra. María Helena Neves Lobo Silva-Filha del centro Fiocruz en Brasil y con el grupo de Dr. Jie Zhang del Institute of Plant Protection en China.

10:10 – 10:45

Dr. Carlos Federico Arias Ortiz
Consortio de Virología

Evolución de SARS-CoV-2 en México: ¿Qué esperar para el futuro?

En esta plática describiré de manera breve las actividades del consorcio relacionadas con la emergencia sanitaria que vivimos, y en particular el trabajo que hemos estado haciendo para identificar los linajes de SARS-CoV-2 que circulan y han circulado en el país durante los casi dos años que han transcurrido desde el inicio de la pandemia de COVID-19 para entender la evolución nacional del virus. Lo anterior, dentro del contexto del Consorcio Mexicano de Vigilancia Genómica. También ofreceré, con base en lo que se conoce sobre la plasticidad genómica de los coronavirus y la situación epidemiológica actual, una visión de lo que podemos esperar para el desarrollo de la pandemia y la enfermedad en el futuro.

11:00 – 11:35

Dra. Patricia Leon Mejía

Regulación del factor transcripcional ABI4 y su impacto en las respuestas a azúcares y ABA en plantas

En nuestro grupo abordamos diversos aspectos de la regulación de las plantas y su impacto en el desarrollo y producción de metabolitos de interés. Los plastidos desempeñan un papel central como sensores a cambios nutricionales y medioambientales, evocando respuestas de desarrollo y metabólicas a través de la regulación de la expresión nuclear. Parte de nuestro trabajo se enfoca en el estudio de las señales que emanan de los plastidos y cómo éstas modulan el correcto desarrollo y respuestas medioambientales de las plantas. También estamos interesados en entender la regulación de la vía de síntesis de isoprenoides plastídicos, de interés biológico y biotecnológico y su manipulación para la mejora alimenticia.

Finalmente, los cloroplastos generan esqueletos de carbono en forma de azúcares, producto de la fotosíntesis de las que depende el desarrollo de las plantas. Los azúcares, además de ser moléculas estructurales y energéticas, son señales que modulan el desarrollo y crecimiento, incluyendo el desarrollo de los plástidos. La percepción de azúcares en plantas está mediada por diversas vías de señalización, donde participan diferentes receptores, cinasa y factores transcripcionales, en una red compleja de regulación que permite a estos organismos responder de manera rápida y coordinada a las condiciones nutricionales y modular su desarrollo y respuestas a condiciones medio ambientales. Uno de los factores transcripcionales con una función importante en la percepción de los niveles de azúcares

identificados por nuestro grupo, es el factor ABI4. ABI4, también participa en diversos procesos en plantas, funcionando como un nodo regulatorio de integración para diferentes respuestas de plantas. La expresión ABI4 se encuentra finamente regulada, tanto a nivel de su transcripción como de su proteína. Trabajo reciente de nuestro grupo ha puesto de manifiesto una regulación central para la expresión de *ABI4* a nivel transcripcional. Nuestros datos han demostrado que durante la embriogénesis, la expresión de *ABI4* depende de la activación mediada por dos de los reguladores maestros de la semilla, conocidos como LAFLs, quienes actúan sobre dos secuencias en la región promotora de este gen. De manera interesante estas secuencia no sólo son el sitio de activación de *ABI4*, sino también demostramos que participan en su represión, durante el desarrollo vegetativo. Hemos encontrado que dos represores transcripcionales conocidos como HSI o VALs, reconocen exactamente la misma secuencia que los ALFs promoviendo un juego entre la activación y represión de ABI4 en diferentes momentos del desarrollo. Mientras LEC2 induce la expresión de *ABI4* durante la embriogénesis y la germinación, los HSI/VAL la reprimen justo cuando la plántula cambia hacia la fase autotrófica, pocos días después de la germinación. También corroboramos que la regulación de estos factores transcripcionales se da de manera directa y depende de modificaciones epigenéticas condicionadas por LEC2, ya que se mantienen aún en su ausencia después de la germinación. Finalmente, de forma semejante a la mutante *abi4*, las mutantes de los factores *lec2* y *abi3* provocan insensibilidad a Glc y a ABA, mientras que, los de *hsi/val* son hipersensibles a estas respuestas. Por lo tanto, este trabajo ha permitido establecer una regulación esencial para la expresión de ABI4 que permite ligar el desarrollo heterotrófica con el cambio a fase autotrófica que es una de las transiciones esenciales para las plantas.

11:35 – 12:10

Dra. Alejandra Alicia Covarrubias Robles

Descifrando el papel de la flexibilidad estructural en la respuesta de las plantas al déficit hídrico.

Mi grupo, parte del consorcio Covarrubias - Reyes, ha estado interesado por varios años en entender algunos aspectos de las respuestas de las plantas a la deficiencia de agua. En estos dos años hemos avanzado en los siguientes proyectos; (i) El efecto regulatorio de la metilación de DNA dirigida por RNA (RdDM) sobre la germinación de semillas bajo condiciones de salinidad; (ii) Los mecanismos moleculares que subyacen en la resistencia a sequía terminal en frijol; (iii) El impacto de la distribución de los estomas sobre la resistencia a sequía y/o calor en leguminosas; (iv) Las propiedades de las proteínas LEA, como proteínas intrínsecamente desordenadas (IDPs) o flexibles, y su relación con su función bajo condiciones de baja disponibilidad de agua; y (v) El papel del desorden estructural en proteínas involucradas en la señalización ante condiciones de estrés.

Este año presentaré los avances que hemos alcanzado durante el análisis de la estructura función y localización de algunas proteínas LEA.

Utilizando las proteínas LEA de los grupos 4 y 6, hemos demostrado que las plantas de *Arabidopsis* necesitan las proteínas LEA4 y LEA6 para un ajuste óptimo al déficit hídrico, durante la germinación y el crecimiento post-germinativo y, en el caso de LEA4, también durante la etapa reproductiva, mientras que las proteínas LEA6 contrarrestan el deterioro de las semillas. A pesar de que las proteínas LEA de estos grupos presentan altos niveles de desorden en soluciones acuosas, adoptan cierta helicidad bajo alto amontonamiento macromolecular y/o baja disponibilidad de agua, lo que denota su flexibilidad estructural y su capacidad de respuesta al ambiente. En lo que respecta a las proteínas LEA4, la región amino con propiedades que le permiten la adquisición de hélices alfa es la que tiene competencia protectora bajo la deshidratación parcial *in vitro*. Un mutante de la proteína LEA4, incapaz de adquirir la conformación de hélice alfa bajo amontonamiento macromolecular y/o escasez de agua, muestra una menor actividad protectora sobre las enzimas expuestas a deshidratación parcial o a ciclos de congelamiento-descongelamiento, en comparación con la proteína silvestre. Esto indica que la capacidad de plegarse en condiciones particulares es necesaria para su actividad de chaperona. Además, los datos obtenidos apuntan a que proteínas LEA4 y LEA6 pueden formar oligómeros; en ambos casos los dímeros se detectan *in vivo* por BiFC. Los datos obtenidos nos llevan a proponer que las IDPs tipo LEA poseen una dinámica estructural que les permite adoptar diferentes conformaciones, y que el ambiente celular determina su orden y disposición estructural, modulando así su función. También se integrarán datos relacionados con la localización tisular y subcelular de la proteína AtLEA4-5.

Martes 14 de diciembre

9:00-9:35

Dr. Edmundo Calva Mercado

La Ciencia y Los Valores Humanos

Jacob Bronowski (1908-1974) fue un matemático y humanista (divulgador de la ciencia), autor del libro *La Ciencia y Los Valores Humanos*, de donde hemos tomado el título para nuestro curso dentro del Posgrado en Ciencias Bioquímicas. Basados en esta obra y en varios otros filósofos modernos de la ciencia, realizamos dentro del curso un recorrido por todas las formas de la cultura, en especial de la filosofía, las artes y la ciencia, para reflexionar sobre las bases del quehacer diario de la investigación y docencia en las ciencias. Esto es, el curso no es simplemente un ejercicio de *deleite* académico. De manera interesante, los elementos filosóficos encontrados en los autores modernos no sólo aplican a la ciencia sino a todas las formas de la cultura; esto es, no hay una filosofía de la ciencia,

sino filosofía para comprender mejor a la ciencia. Más aún, es impactante atestiguar como el quehacer diario dentro y fuera de la ciencia puede ser comprendido mejor gracias al trabajo filosófico de muchas generaciones.

Entre los valores humanos que revisamos está la *Búsqueda de la Belleza* como fuerza motriz en la ciencia básica y en el desarrollo tecnológico, y como motor evolutivo en la especie humana. También está el manejo de *Los Contrastes* y *Las Sutilezas*, además de *La Creatividad* como elementos esenciales e idénticos en todas las formas de la cultura. Hacemos referencia al *Pensamiento Colectivo* que provoca *La Armonía de las Ilusiones* en todos los aspectos de la vida humana, y que nos lleva a quedar inmersos dentro de una forma de pensamiento, con la posibilidad en la ciencia de cambiar de paradigmas a través de la ciencia revolucionaria. Ahondamos sobre la búsqueda de áreas de oportunidad en el caos, y sobre la *Consiliencia* como una visión interdisciplinaria dentro de un enfoque holístico o reduccionista; además de fomentar la evaluación del avance de la ciencia con base en la evolución de las preguntas que se plantean.

Nuestro trabajo de investigación ha resultado en varias publicaciones, de las cuales haremos referencia a dos de ellas, en donde se aprecian particularmente los contrastes y las sutilezas y se rompe con la armonía de las ilusiones. Encontramos que el gen *leuO* de *Salmonella Typhi*, el cual codifica para el regulador transcripcional LeuO y que se expresa a niveles muy bajos en condiciones estándar de laboratorio, contiene múltiples promotores en el sentido del gen y un par en el sentido inverso (Fernández-Mora, 2021). Dichos promotores se desreprimen en un fondo *hns lrp*. Esto abre muchas preguntas como: ¿Hay un activador que antagoniza a las proteínas nucleoides H-NS y Lrp? ¿Hay un efecto cooperativo entre los promotores? ¿Cuántos reguladores transcripcionales participan en la expresión de *leuO*? ¿Cómo se constituye la cromatina bacteriana?

En el otro trabajo, reportamos que el sistema *crispr-cas* en *S. Typhi* regula la expresión de las porinas mayoritarias OmpC y OmpF, así como a la porina quiescente OmpS2, a través de la regulación de OmpR, un regulador maestro de las porinas (Medina-Aparicio, 2021). Más aún, hay un fenotipo claro en cuanto a la sensibilidad a sales biliares y síntesis de biopelícula en las cepas *crispr cas*, incluso en medio rico en donde la transcripción de *crispr-cas* es muy baja (quiescencia). Por tanto, entre las muchas preguntas que surgen están: ¿Cómo regula el sistema *crispr-cas* la expresión genética? ¿Su capacidad reguladora tiene que ver con su función de inmunidad a material genético externo? ¿Cómo es que genes quiescentes determinan fenotipos?

Y pensando en estos dos trabajos, ¿hay mecanismos epigenéticos cromosomales en bacterias?

9:35 – 10:10

Dr. Jean-Louis Joseph Marie Charli Casalonga

Circuitos hipotalámicos de control de la ingesta de alimentos. ¿Donde se insertan las neuronas TRHergicas?

En los mamíferos múltiples mecanismos de control del balance de energía mantienen el peso corporal a largo plazo, pero si son alterados por un desbalance entre ingesta y gasto de energía estos mismos mecanismos pueden funcionar en contra de las intervenciones terapéuticas. Esto explica en parte porque existen pocas opciones terapéuticas seguras y eficaces a largo plazo para la obesidad.

La ingesta de alimentos se establece a través de la interacción de sistemas periféricos y centrales. A nivel central, células y circuitos del “cerebro metabólico” censan entre otras señales información acerca de los niveles de nutrientes y las reservas energéticas, la integran con información proveniente del “cerebro cognitivo y emocional”, y controlan la ingesta.

Algunas de los circuitos que integran información nutricional y metabólica se encuentran en una región cerebral llamada hipotálamo. En el núcleo arqueado del hipotálamo (ARC) neuronas de primer orden censan información nutricional y sobre el balance de energía; las neuronas del ARC de tipo AgRP promueven la búsqueda de alimento. Estas y otras neuronas del ARC transmiten la información metabólica a neuronas del hipotálamo lateral (HL) que promueven el consumo de alimento. Finalmente, neuronas CGRP del núcleo parabrachial proveen una señal de saciedad cuando son activadas. Estos circuitos básicos son complementados por la actividad de una multitud de otros circuitos que procesan información sensorial o central, circuitos todavía bajo investigación, y cuya caracterización pudiera generar nuevos blancos para el tratamiento farmacológico de la obesidad o la anorexia.

La hormona liberadora de tirotropina (TRH) ejerce un potente efecto anoréxico (suprime la ingesta de alimentos) in vivo. La región blanco de este efecto incluye el hipotálamo, pero se desconocen los circuitos involucrados. Basado en la información existente, las neuronas TRHergicas que sustentan el efecto anoréxico pudieran corresponder a neuronas del núcleo paraventricular del hipotálamo, o bien a neuronas del hipotálamo lateral. Sin embargo, no hay evidencia funcional concluyente y hay otros núcleos hipotalámicos que contienen una población importante de neuronas TRHergicas, que son también candidatos para mediar el efecto anoréxico de la TRH. El núcleo dorsomedial del hipotálamo (DMN) es un núcleo río abajo del ARC que no había recibido tanta atención en relación con la ingesta, pero recientemente se identificaron varios tipos de neuronas que son importantes para el control de la ingesta. Actualmente, intentamos determinar si las neuronas TRHergicas del DMH, que son sensibles al balance de energía, transmiten una señal anoréxica durante la ingesta de alimentos. Intentamos además determinar si las células blanco de estas neuronas están localizadas en el DMH o el LH, y cuál es su fenotipo. Esta información debería permitir identificar el circuito en el cual están insertadas las neuronas TRHergicas anoréxicas.

10:10-10:45

Dr. Luis Fernando Covarrubias Robles

Encuentro de dos mundos: del estrés oxidativo a la renovación de los tejidos

La homeostasis de un organismo contempla el mantenimiento molecular y el mantenimiento celular como dos niveles de control necesarios para asegurar el buen funcionamiento de los órganos y, por tanto, una larga vida saludable. Naturalmente el funcionamiento celular depende de reacciones bioquímicas que inherentemente causan daño molecular, frecuentemente debido a la acción de especies reactivas de oxígeno. Así entonces, la capacidad de reparación o de renovación de las moléculas dentro de una célula es importante para mantener a la célula sana y funcional. Tanto la actividad celular específica de un tejido como el recambio molecular dependen de que fuentes energéticas estén disponibles cuando se requiere, pero su acumulación es causa de patologías que afectan a todo el organismo en su conjunto. Desde otro punto de vista, muchos tejidos producen células constantemente como parte de su actividad en el organismo (e.g., el sistema hematopoyético), mientras que otros lo realizan como un medio para recambiar las células 'desgastadas' (e.g., la piel, el intestino); estas células generalmente son las células que llevan a cabo la actividad propia del tejido y que son incapaces de renovarse por sí mismas. En general, la renovación de los tejidos parte de células troncales que se mantienen en un nicho particular dentro del tejido, desde donde se controla la producción de células terminalmente diferenciadas. La regeneración de un tejido ante un daño es dependiente de las células proliferantes cuyos límites de expansión puede representar un mecanismo que protege contra el desarrollo del cáncer. Hemos encontrado que la falta de la enzima antioxidante catalasa, cuya expectativa original era un incremento en el daño molecular y celular, produce cambios metabólicos que repercuten en una disminución en las reservas energéticas y una disminución en la capacidad para renovar, por lo menos, el tejido intestinal. Este mecanismo de control parece estar mediado por alteraciones epigenéticas y estar evolutivamente conservado.

11:00 – 11:35

Dr. Mario Enrique Zurita Ortega

Manipulando promotores y enhancers.

En mi grupo estamos interesados en entender cómo se regula la expresión de los genes durante el desarrollo en animales, que relación tiene con la estabilidad del genoma y la estructura de los cromosomas. Los principales modelos son *Drosophila* y células cancerosas humanas. Una de las líneas de investigación esta enfocada a entender el papel de los factores XNP (ATRX) y dADD1 en el mantenimiento de la heterocromatina y la estructura 3D

de los cromosomas en la mosca (V. Valadez). Otra línea, es sobre las funciones que tiene el gen *Trithorax*, *tonalli* en la regulación de los genes homeóticos, en la vía de Ecdisona y el papel que juega en la regulación de *wingless* dentro de la vía de Notch (M. Vázquez).

Nuestro trabajo inicial con células cancerosas humanas y la transcripción nos llevo a describir por primera vez un tipo de respuesta a estrés cuando se afecta la síntesis de RNA por la RNA polimerasa II (RNPII). A partir de esto estamos trabajando con elementos regulatorios que parecen responder a este tipo de estrés y en el papel de algunas proteínas que se sobre-expresan en respuesta al estrés transcripcional. Recientemente hemos iniciado una colaboración con las Dra. Diana Reséndez de la UANL para entender cómo el gen *HOX Antp* regula la expresión Genética en *Drosophila*.

Finalmente, estamos usando al sistema CRISPRa para analizar cómo es que la activación de la transcripción por la RNPII se puede dar en cualquier tipo de cromatina y de esto tratará la platica de este año.

Este proyecto inició con unas preguntas muy simples que son: ¿que pasa cuando enviamos a un activador transcripcional sintético a cualquier tipo de heterocromatina? ¿La heterocromatina se transcribirá?, y si se transcribe ¿entonces cambia la conformación de la cromatina en ese lugar?. Cuando nos planeamos estas preguntas, aún estaba muy acalorado el debate entre que es lo que va primero para que se active un gen, si es la estructura de la cromatina lo que modula la transcripción o son los activadores transcripcionales los que modulan la estructura de la cromatina. En los últimos 3 años, parece ser claro que esto depende de que en el inicio sean factores activadores de la transcripción los que dan el primer paso.

En base a lo anterior, nuestros resultados en *Drosophila* muestran que un activador transcripcional sintético es capaz de activar la transcripción tanto en zonas de hetrocromatina constitutiva cómo facultativa. Usando cómo reporteros los genes homeóticos *Scr* y *Ubx* hemos encontrado que la activación de la transcripción de estos genes es diferente si enviamos al activador transcripcional sintético a los promotores o a los enhancers del mismo gene, es decir se generan diferentes tipos de transformaciones homeóticas. Estos resultados tienen implicaciones directas sobre el entendimiento de la función de los enhancers y los promotores y cómo se pueden utilizar para manipular circuitos de regulación de genes de manera sintética en metazoarios.

11:35- 12:10

Dr. Baltazar Becerril Lujan

Generación de un antiveneno recombinante contra la picadura de alacranes ponzoñosos de México como alternativa al uso de caballos

El objetivo central de nuestra línea de investigación es generar un antiveneno recombinante contra la picadura de alacranes ponzoñosos de México como alternativa al producido en

caballos. Una ventaja importante de la producción de este antiveneno en bacterias, sería la eliminación del uso de animales (caballos, alacranes y ratones). El antiveneno estaría conformado por 4-5 fragmentos de anticuerpo en formato de cadena sencilla (scFv). Este formato se refiere a una sola proteína constituida por los dominios variables de las inmunoglobulinas unidos por un péptido conector. Para el desarrollo de este proyecto se trabaja en dos aspectos fundamentales que son la identificación de los componentes tóxicos de los venenos y de la generación de scFvs que los neutralicen. La fuente de estos scFvs es un conjunto de repertorios de los mismos tanto de origen humano como murino, los cuales son desplegados en la superficie de bacteriofagos de tipo filamentoso (despliegue en fagos). Los mejores scFvs son identificados a partir de diferentes rondas de tamizado contra varias toxinas y en diversas condiciones de selección. Estos scFvs son madurados *in vitro* por medio de varios ciclos de evolución hasta lograr que sean neutralizantes. Los avances de esta etapa (2020-2021), se resumen a continuación.

En colaboración con el grupo del Dr. Lourival Possani, se han caracterizado varios venenos, entre ellos el del alacrán *Centruroides baergi* el cual contiene 3 toxinas de importancia médica (Cb1, Cb2 y Cb3). Una de ellas (Cb1), es neutralizada por el scFv 10FG2, el cual tiene la capacidad de neutralizar un estimado de 13 toxinas diferentes y es candidato a formar parte del antiveneno. La patente MX/a/2015/011378 que ampara los derechos de propiedad intelectual sobre este scFv, fue concedida el 10 de noviembre del 2020. Se están optimizando scFvs que permitan neutralizar a las toxinas Cb2 y Cb3. Por otro lado, se terminó de evaluar la estabilidad termodinámica en ambas orientaciones de los dominios variables (VL-VH y VH-VL) de los dos mejores scFvs (LR y 10FG2), candidatos a formar parte del antiveneno. Los resultados indican que la orientación no afecta la estabilidad ni la capacidad neutralizante pero si el rendimiento a nivel de la proteína expresada en *Escherichia coli*. Adicionalmente, se logró neutralizar el veneno de *Centruroides limpidus* con una mezcla del scFv 10FG2 y un scFv (11F) derivado de un anticuerpo monoclonal (Mab B7), obtenido por inmunización de ratones con la toxina Cl13 y su posterior maduración *in vitro* por evolución dirigida. También se efectuó la evaluación de la neutralización de otros venenos como el de *C. sculpturatus*, en donde se demostró que una mezcla de los scFvs LR y 10FG2 logró neutralizar eficientemente 3DL50 de este veneno en experimentos de tipo rescate. Se avanzó en la generación de variantes de scFvs que sean capaces, junto con el scFv 10FG2, de neutralizar el veneno de *C. huichol* el cual contiene 4 toxinas médicamente importantes. Se cuenta con una variante del scFv 10FG2 (HV), que es capaz de neutralizar este veneno en combinación con el scFv 10FG2. Finalmente, los esfuerzos encaminados a la ampliación de la reactividad cruzada de variantes del scFv 3F contra las toxinas Cell9 y Ct1a (Ce=*C. elegans* y Ct=*C. tecomanus*), han logrado avances importantes. Se continuarán caracterizando venenos aun no estudiados y se evaluará la capacidad de los scFvs generados hasta el momento para neutralizarlos.

Miércoles 15 de Diciembre

9:00 – 9:35

Dr. Joseph Dubrovsky Jankovsky

20 años del Laboratorio de Biología del Desarrollo de la Raíz: logros y desafíos

¡Este año nuestro laboratorio cumplió 20 años! Estudiamos las bases celulares y moleculares del mantenimiento del meristemo apical de la raíz (MAR) en plantas, y la pérdida de este en algunas especies, así como el control de la iniciación y la morfogénesis de la raíz lateral (RL). Estos procesos son fundamentales y de gran importancia para el desarrollo del sistema radical en plantas y estudiarlos nos permite entender cómo cumple con sus funciones. Estamos desarrollando la investigación en tres principales direcciones: 1. Análisis de vías regulatorias del mantenimiento del MAR en plantas en general; 2. Análisis de los mecanismos celulares y moleculares de la iniciación y el desarrollo de la RL en planta modelo, *Arabidopsis thaliana*; 3. Análisis de los mecanismos celulares y moleculares de pérdida del MAR en cactáceas, lo cual ocurre de manera natural. En esta charla describiré y revisaré los logros principales de nuestro trabajo en estas tres direcciones. También compartiré el estado actual de nuestros estudios, y subrayaré los desafíos y preguntas fundamentales que queremos responder. Recientemente en el laboratorio abrimos nuevas dimensiones de estudio a partir de información contenida en bases de datos transcriptómicos y genómicos, lo cual nos permite una integración bioinformática sobre las vías de regulación del mantenimiento del MAR en plantas a nivel evolutivo. En este sentido hemos explorado particularmente a los factores de transcripción PLETHORA y cómo estos regulan a sus genes blanco en la raíz. El análisis de transcriptoma, microtranscriptoma, y degradoma de una cactácea icónica de México, el cardón (*Pachycereus pringlei*), nos permitió inferir una red de regulación transcripcional del MAR de las cactáceas, y la participación de los microRNAs en este proceso. Además, con el análisis transcriptómico de una mutante de *A. thaliana* estudiada en el grupo descubrimos nuevos genes involucrados en el desarrollo de las RLs. La implementación de técnicas de microscopía Laser Confocal de Barrido y, particularmente, de experimentos de tipo “time-lapse” de larga duración, así como el desarrollo de nuevos métodos de análisis de datos masivos en 4D (desarrollados en una colaboración con el Grupo del Dr. Corkidi) nos permitieron identificar un nuevo fenómeno, el reclutamiento de células fundadoras de la RL, así como un entendimiento más profundo de los procesos morfogénéticos y su control. También presentaré algunas hipótesis de los posibles mecanismos de vías regulatorias nuevas del mantenimiento del MAR identificadas en nuestro grupo.

9:35 – 10:10

Dr. Alberto Darszon Israel

Regulación de los canales CatSper y Hv en el espermatozoide

La fina orquestación de los transportadores iónicos membranales del espermatozoide es esencial para regular su movilidad, maduración e inducción de un proceso exocitótico que prepara al espermatozoide para fusionarse con el óvulo llamado la reacción acrosomal (RA).

En mamíferos, la fecundación del óvulo requiere que el espermatozoide madure en el tracto genital femenino. Este proceso de maduración llamado capacitación requiere de: aumento

en las concentraciones intracelulares de Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_i$), de pH (pHi), elevación del pH dentro del acrosoma (pHa), y cambios en el estado de fosforilación de varias proteínas a través de procesos dependientes de PKA y de AMPc. Estos cambios resultan en alteraciones en la forma del batido flagelar y en el nado del espermatozoide. La capacitación es además esencial para que el espermatozoide de mamífero lleve a cabo la RA que expone y modifica a la membrana plasmática volviéndola fusogénica.

Usando microscopía de fluorescencia y citometría con imágenes (AMNIS) terminamos nuestro estudio para demostrar que el acrosoma del espermatozoide humano se alcaliniza durante la capacitación, al igual que en el ratón. Utilizando un modelo de redes neuronales con los elementos involucrados en la RA encontramos que el papel del pH acrosomal (pHa) es importante para que ocurra la RA (Aldana et al., 2021).

Durante este periodo en colaboración con grupos de otros países estudiamos dos canales importantes en la fisiología del espermatozoide CatSper y Hv. CatSper es un canal de Ca^{2+} exclusivo del espermatozoide esencial para que este pueda hiperactivar su batido flagelar y fecundar. Hv es un canal de H^+ clave en el espermatozoide de humano para alcalinizar su pHi, proceso esencial para su capacitación.

El Hv de humano (hHv1) permite el eflujo de H^+ en las células para compensar cambios osmóticos debidos al metabolismo, manteniendo la homeostasis del pHi y la función proteica. Descubrimos que la albumina (Alb) activa directamente a hHv1 tanto en espermatozoides de humano como en neutrófilos. El aumento en la concentración de Alb en el tracto reproductor femenino es esencial para activar hHv1 y que ocurra la capacitación. Una molécula de Alb se une al sensor de voltaje de hHv1 aumentando su probabilidad de apertura al desplazar su voltaje dependencia hacia valores más negativos, lo que permite la salida de H^+ (Ruiming et al., 2021).

Establecimos que CatSper se regula en el ratón por Cdc42 y C2CD6. Cdc42 es una proteína de la familia de las GTPasas pequeñas, como Rac y Rho, que están presentes en el espermatozoide. Su eliminación es letal desde el embrión, por lo que no se conocía bien su función en esta célula. Encontramos que Cdc42 se distribuye en los cuatro rieles a lo largo de la pieza principal del flagelo definidos por CatSper y su inhibición reduce la actividad de

este canal y el potencial para fecundar del espermatozoide. La evidencia indica que Cdc42 influye en la cascada de cAMP/PKA, que habíamos descrito modula a CatSper (Luque et al., 2021).

Por otra parte, C2CD6 es una nueva subunidad de CatSper que tiene un dominio calcio dependiente C2 de interacción membranal. La falta de C2CD6 disminuye los nanodominios de CatSper en el flagelo, la hiperactivación y los espermatozoides son básicamente infértiles. Aún cuando en espermatozoides del ratón nulo de C2CD6 se encuentran corrientes de CatSper estas están significativamente disminuidas. Es notable que si se someten a ayuno los espermatozoides del ratón nulo de C2CD6 recuperan su capacidad para fecundar. Se propone que C2CD6 facilita la incorporación de los complejos de CatSper a la membrana plasmática del flagelo y que funciona como un detector de Ca^{2+} (Yang et al., en prensa).

10:10 – 10:45

Dr. Enrique Galindo Fentanes

Ingeniería de Biopolímeros Microbianos

Desde hace varios años, nuestro grupo de investigación se ha interesado en la comprensión de los factores de cultivo que afectan la biosíntesis del alginato (biopolímero extracelular, con propiedades viscosificantes y gelificantes) sintetizado por *Azotobacter vinelandii*. Lo anterior con la finalidad de entender qué variables de proceso determinan la cantidad y la calidad del alginato producido por esta bacteria, con el propósito de mejorar el proceso biotecnológico y eventualmente hacerlo competitivo industrialmente. Durante los últimos dos años se realizaron estudios de la producción y composición del alginato, usando diferentes cepas mutantes sobre-productoras del polímero. De las diferentes cepas que se han evaluado hasta el momento, la cepa AT9, derivada de la cepa ATCC9046, que tiene inactivado el gen *mucG*, que codifica para un regulador negativo en la polimerización de alginato es la que exhibe un mayor potencial para la síntesis de alginato. Su cultivo en condiciones de limitación de oxígeno permite obtener una concentración superior a la que se logra con la cepa parental. Asimismo, el alginato que se obtiene es de muy alto peso molecular (3112 ± 150 kDa) y alta capacidad viscosificante (1.75), 40 y 50 % mayor respectivamente a los que se alcanzan con el producto generado por la cepa parental. Asimismo, hemos encontrado que el cultivo de la cepa AT9 en biorreactores de 3.0 L, en condiciones de alta transferencia de oxígeno permiten obtener un polímero con un peso molecular, de 3 961 kDa y una capacidad viscosificante de 2.04. Adicionalmente, nos hemos interesado en la producción por fermentación de los polihidroxicanoatos (PHAs), los cuales son poliésteres intracelulares que pueden ser sintetizados por un amplio grupo de bacterias, entre las que se encuentra *A. vinelandii*. Estos biopolímeros se caracterizan por ser termoplásticos biocompatibles y biodegradables, los cuales pueden ser procesados para producir una amplia variedad de productos, incluyendo plásticos, películas y fibras. En los últimos dos años hemos avanzando

en el uso de cepas modificadas de *A. vinelandii*, como la cepa OPNA, para la producción de copolímeros de PHA en cultivos lote. En cultivos en bioreactor de 3 L de la cepa OPNA, se evidenció la capacidad de la cepa de producir un copolímero de cadenas cortas (P(3HB)-co-HV), a partir de la adición de ácido valérico como precursor. Este copolímero presenta una composición con una fracción de P(3HB) de $61 \pm 3\%$ y una fracción de HV de $39 \pm 3\%$ a las 48 horas de cultivo en matraces agitados y biorreactores a una alta velocidad de transferencia de oxígeno. Además, se construyeron andamios de P(3HB) por impresión 3D y moldeado en placa para evaluar su biocompatibilidad con células epidérmicas HaCaT, como modelo potencial en ingeniería tisular. Se ha logrado avanzar en la caracterización de los andamios en ensayos de biocompatibilidad con las células epidérmicas HaCaT, teniendo resultados positivos en dicho ensayo, ya que las células crecieron con un patrón uniforme en la superficie del andamio del bioplástico. Recientemente hemos iniciado estudios sobre la producción del ácido γ -poliglutámico (γ -PGA) por *Bacillus velezensis* 83. El γ -PGA es un homopolímero constituido por ácido glutámico, biodegradable, comestible, hidrosoluble, espesante y no tóxico para el humano y el medio ambiente, por lo que presenta importantes aplicaciones de diversos sectores industriales. Hemos estudiado cómo la velocidad de transferencia de oxígeno (VTO) impacta la biosíntesis del polímero, su peso molecular (PM) y la distribución de la fuente de carbono en el metabolismo celular.

11:00 – 11:35

Dra. Hilda Maria Lomeli Buyoli

La función de ZMIZ1 en la eritropoyesis, la autofagia y el sistema inmune.

Nuestro grupo se dedica al estudio de genética del desarrollo embrionario utilizando como modelo al pez cebra. En los últimos años hemos estudiado la función de dos proteínas homólogas que actúan como coreguladores de la transcripción. Una de ellas, llamada ZMIZ1 en humanos, interacciona con vías de transducción como la del receptor de andrógeno, la de TGF α /SMAD, la de p53 y la de NOTCH, aumentando su actividad en todos los casos. En el pez encontramos que el 70% de las mutantes homocigotas de su homólogo, *zmiz1a*, mueren entre los días 15 y 20 del desarrollo larvario. En mi anterior presentación describí que un fenotipo que se observa en las larvas mutantes *zmiz1a*^{-/-} consiste en defectos en la eritropoyesis que producen una condición anémica. En esta ocasión contaré la continuación de esta historia en la que demostramos que las deficiencias observadas en la eritropoyesis se deben a que la autofagia no ocurre de manera normal en las mutantes; debido a eso, durante la eritropoyesis, no se logran eliminar las mitocondrias. Independientemente de la eritropoyesis, observamos que la autofagia es defectuosa en otras etapas del desarrollo lo que probablemente afecta procesos inflamatorios. En ese contexto, también demostramos que la pérdida de Zmiz1a conduce a una disminución importante a la respuesta a vitamina D, lo que revela una conexión entre la función de ZMIZ1 y la autoinmunidad.

Por otra parte, presentaré el uso del modelo de pez cebra para evaluar la función de antibióticos eficaces para tratar infecciones por *Mycobacterium tuberculosis*.

11:35 – 12:10

Dr. Enrique Merino Pérez

Hfq, esencialidad y desorden

Hfq es una chaperona del RNA de organismos bacterianos involucrada principalmente en mediar la interacción de los small-RNAs con sus genes blanco. Dicha interacción modula la expresión genética a nivel del inicio de la traducción o de la estabilidad del mRNA. La inactivación del gen *hfq* origina diferentes efectos pleiotrópicos que incluyen una tasa de crecimiento reducida, una mayor sensibilidad al estrés, elongación celular y una motilidad alterada. Con el propósito de identificar análogos funcionales de Hfq en ensayos de complementación, en nuestro laboratorio identificamos dos diferentes condiciones de crecimiento en donde Hfq es una proteína esencial.

La primera condición en la que Hfq es requerida para el crecimiento celular fue la que se produce al inducir un estrés osmótico en cultivos a los que no se les adiciona ningún tipo de sal. La segunda condición de esencialidad condicional de Hfq corresponde al estrés por baja concentración de hierro en medios de cultivo a los que se les agregó el quelante 2`2 dipyridyl.

Considerando la hipótesis que hace varios años comentamos la Dra. Covarrubias y yo sobre que algunas proteínas LEA, en particular la PvLEA6 de *Phaseolus vulgaris*, pudieran actuar como chaperonas de RNA debido a que poseen regiones intrínsecamente desordenadas (IDRs):

1) Realizamos un análisis bioinformático para seleccionar proteínas con dominios intrínsecamente desordenados. Se escogieron un total de 11 proteínas con orígenes filogenéticos y actividades bioquímicas diversas y que incluyeran a funciones distintas al de ser chaperonas de RNAs regulatorios.

2) Sintetizamos sus correspondientes genes considerando el uso preferencial de codones de *E. coli*.

3) Realizamos la integración cromosomal de cada uno de los genes seleccionados, de tal forma que la integración de los genes heterólogos reemplazara al gen nativo de *hfq*. Con lo que se garantizó que los genes heterólogos estuvieran sujetos a los mismos elementos de regulación que los que regulan al gen *hfq* silvestre.

4) Realizamos los experimentos de complementación en las cepas bacterianas con reemplazo de Hfq crecidas en condiciones de letalidad condicional de estrés osmótico y estrés por bajas concentraciones de hierro.

Sorprendentemente, encontramos que cada una de las proteínas seleccionadas con dominios intrínsecamente desestructurados, rescatan el crecimiento de la cepa mutante de Hfq a pesar de que sus funciones conocidas no necesariamente estuvieran relacionadas con la de ser chaperonas de small-RNAs. La proteína P53 de humano es el caso más significativo del conjunto de proteínas de nuestro estudio debido a su relevancia como gen supresor de tumores y su participación como regulador maestro de la apoptosis y control del ciclo celular. Nuestros

resultados de complementación de Hfq en condiciones de letalidad condicional soportan la idea de que es a través de IDRs que las diferentes proteínas analizadas realizan el reconocimiento de moléculas de RNA.

Proteínas consideradas en nuestro estudio

1) Sm E1 *Saccharomyces cerevisiae*

2) Lsm *Vulcanisaeta thermophila*

En organismos eucariontes se asocian con el small nuclear RNA para formar parte de las ribonucleoproteínas nucleares pequeñas, necesarias para procesos tan diversos como el pre-mRNA splicing, la degradación del mRNA y la formación de telómeros.

3) P53 *Homo sapiens*

Es un supresor tumoral que desempeña un papel importante en apoptosis y control del ciclo celular

4) PvLEA6 *Phaseolus vulgaris*

5) Lea RMA *Halorubrum lacusprofundi* ATCC 49239

6) Lea RMB *Pseudoxanthomonas suwonensis* 11-1

Late Embryogenesis Abundant proteins. Desempeñan un papel crucial en la tolerancia a la deshidratación celular.

7) Nucleoplasmin *Xenopus leavis*

Chaperona nuclear relevante en el ensamblaje y desensamblaje de la cromatina.

8) SOS complex subunit B1 *Mastomys coucha*

Tiene un papel fundamental para la tolerancia al estrés salino de las plantas participando en la regulación del transporte de iones.

9) Phosphatase subunit 1A *Oryctolagus cuniculus*

Inhibidor de la proteína-fosfatasa 1 y es importante en el control hormonal del metabolismo del glucógeno

10) Major protein Prion *Mesocricetus auratus*

Desempeña un papel en el desarrollo neuronal y la plasticidad sináptica participando en el mantenimiento de la vaina de mielina neuronal.

11) Zinc finger protein 593. *Homo sapiens*

Es un modulador negativo del factor de transcripción Oct-2

Como puede observarse en dichas proteínas tienen orígenes filogenéticos y funciones bioquímicas muy diversos que no siempre incluyen el de ser chaperonas de RNAs regulatorios.

Jueves 16 de diciembre

9:00 – 9:35

Dr. Takuya Nishigaki Shimizu

El intercambiador Na⁺/H⁺ específico del espermatozoide y Biosensores Fluorescentes

El intercambiador Na⁺/H⁺ específico del espermatozoide (sNHE) se ha descrito como una proteína esencial en ratón y humano ya que una mutación de sNHE causa infertilidad masculina debido a un defecto en la motilidad del flagelo del espermatozoide (Wand *et al.*, 2003 y Cavarocchi *et al.*, 2021). A diferencia de otros NHEs expresados en células somáticas, sNHE tiene dos dominios regulatorios particulares: 1) Un dominio sensor de voltaje (VSD) que normalmente se encuentra en los canales dependientes de voltaje y 2) un dominio de unión a nucleótidos cíclicos (CNBD) que está presente en cinasas y canales iónicos. A pesar de la importancia de sNHE, el conocer su fisiología ha sido un largo camino debido a la dificultad de expresar funcionalmente este transportador en sistemas heterólogos. Para entender la función de sNHE de mamíferos, utilizamos 4 estrategias distintas: 1) Determinación del pH intracelular del espermatozoide de ratón (wt y sNHE^{-/-}) y de humano usando un indicador fluorescente (SNARF-5F), 2) Estudio electrofisiológico del VSD, 3) Estudio bioquímico del CNBD y 4) Genética comparativa en el VSD y el CNBD de distintos mamíferos. En la presentación, platicaré nuestro avance, particularmente de las estrategias 1 y 2.

Hemos desarrollado un ensayo de unión basado en FRET entre un CNBD marcado con una proteína fluorescente y un análogo fluorescente de AMP cíclico. La producción en bacterias de una proteína recombinante marcada con una proteína fluorescente tiene varias ventajas experimentales, las cuales nos motivaron a desarrollar un biosensor fluorescente para disruptores endócrinos. Para ello, colaborando con el grupo de Gloria Saab, preparamos una construcción del dominio de unión de ligando (LBD) del receptor de estrógeno alfa de humano (hER α) unido a una proteína fluorescente, mTurquoise2 (LBD-hER α -mTq2). Después de probar varias condiciones de expresión, logramos expresar y purificar la proteína funcional. Usando coumestrol como un ligando fluorescente para hER α , logramos observar un alto nivel de FRET entre el coumestrol y LBD-hER α -mTq2, lo cual indica que nuestro prototipo funcionará como un biosensor fluorescente para disruptores endócrinos.

Empezamos a trabajar con Nano anticuerpos (Nb) como herramientas para la construcción de biosensores. Los Nbs son fragmentos pequeños (13-15 kDa, 1/10 de los IgG) que se obtienen de camélidos o tiburones. Ya que los camélidos generan este tipo de anticuerpos solamente con la cadena pesada, los Nbs son polipéptidos muy estables, lo que facilita su producción eficiente en *E. coli*. En nuestro grupo, fusionamos algunos Nbs a una proteína fluorescente. Presentaré algunos ejemplos durante la charla.

9:35 – 10:10

Dr. Martin Gustavo Pedraza Alva

De inflamación y enfermedad

En el consorcio de neuroinmunobiología estudiamos los mecanismos moleculares que regulan positiva y negativamente la inflamación y cómo está promoviendo el desarrollo de distintas patologías, incluyendo enfermedades infecciosas como la tuberculosis, neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer; el desarrollo de obesidad y sus comorbilidades como la diabetes tipo 2 y el cáncer. Recientemente, nos hemos interesado en entender cómo la huella de un proceso inflamatorio crónico o agudo se transmite a la siguiente generación y moldea la homeostasis de la descendencia.

También estudiamos cómo la estimulación del sistema nervioso central fortalece los mecanismos homeostáticos del organismo, haciéndolos más resistentes a perturbaciones infringidas por el medio ambiente. Con especial énfasis en el papel que juega la comunicación neuroinmune en distintos órganos.

Dados los efectos negativos de la pandemia sobre el desarrollo de nuestras actividades, en esta ocasión, revisaré de manera general los avances y perspectivas de los diferentes proyectos que desarrollamos en nuestro grupo de investigación.

10:10 – 10:45

Dr. Lourival Domingos Possani Postay

Estructura y función de componentes del veneno de alacranes: proteínas, genes y otros

Las proteínas de varias especies de alacranes fueron estudiadas, especialmente de péptidos que tienen función de moduladores o bloqueadores de canales iónicos de sodio y potasio. Entre estas se destacan las toxinas del *Centruroides (C.) ornatus* de Michoacán, *C. hisutipalpus* y *C. tecomanus* de Colima, *C. baergi* de Oaxaca, *C. limpidus* y *Mesomexovis variegatus* de Morelos, *C. nigrescens* de Guerrero, *C. margaritatus* de Colombia, *Rhopalurus junceus* de Cuba, *Scorpio maurus palmatus* de Egipto y *Urodacus yaschenkoi* de Australia. Los genes de los alacranes del grupo de la familia Hadruridae fueron analizados desde el punto de vista evolutivo y una revisión extensa de estudios proteómicos del veneno de alacranes se publicó en la revista Expert Review Proteomics. Varios trabajos se publicaron en colaboración con los colegas del Consorcio Alagón-Becerril-Corzo-Possani y con colegas de otras instituciones de México (Colima, Baja California, Puebla) y países (Brasil, Colombia, Cuba, Australia, Japón, Egipto). En total, contamos con 20 publicaciones en revistas internacionales indizadas, que se enlistan abajo.

En relación con otros componentes no proteicos, en este periodo se escribieron y sometieron 5 patentes de los nuevos antibióticos heterocíclicos (benzoquinonas) encontrados como precursores en el veneno del alacrán *Diplocentrus melici*. Estas fueron presentadas en los USA,

Comunidad Europea, México, Sudáfrica y China. La patente mexicana fue distinguida con el segundo lugar en el contexto de PROFOPi de la Coordinación de Vinculación y Transferencia de Tecnología de la UNAM. Se presentaron dos informes orales a los ejecutivos del CONACyT en relación al proyecto que nuestro consorcio recibió. “Venenos y antivenenos”, que es el único recurso fuera de la UNAM que mi grupo ha recibido. Los informes fueron aprobados y ya empezamos la segunda etapa del proyecto número 303045.

Cuatro estudiantes terminaron y presentaron sus tesis: dos de doctorado, una de maestría y uno de licenciatura. He participado en los comités tutorales de ambos programas de posgrados de nuestro Instituto. Fungí como revisor externo de artículos de revistas científicas (miembro del comité editorial de Toxicon, Toxicon-X y Toxins). También desempeñé funciones de revisor de proyectos de DGAPA-UNAM y presenté conferencias en varios lugares (UAEM, Universidad de Colombia y Universidad de Chihuahua).

11:00 – 11:35

Dr. Octavio Tonatiuh Ramirez Reivich

Encauzando nuestro grupo de investigación para coadyuvar en la lucha contra la COVID-19.

En respuesta a la contingencia sanitaria, a principios de 2020 redirigimos una parte importante de nuestro grupo de investigación para coadyuvar en los esfuerzos nacionales en la lucha contra la pandemia de COVID-19. Los esfuerzos los dirigimos en 3 grandes líneas estratégicas que consideramos fundamentales para enfrentar la COVID-19 y así estar mejor posicionados para contender con emergencias sanitarias futuras:

1. Producción de insumos claves. Específicamente, integración de bioprocesos para producir el dominio de unión al receptor ACE-2 o proteína RBD del SARS-CoV-2 en cantidades suficientes y de calidad adecuada, para abastecer tanto nuestras necesidades como la de otros grupos interesados, en la academia, industria y gobierno. En particular, la RBD generada se empleó para el desarrollo, validación y transferencia de un ensayo serológico, el abasto a dos empresas para su uso como inmunógeno en la producción de faboterápicos y como opción a candidatos vacunales.

2. La creación de infraestructura habilitante clave. Específicamente, el diseño y el inicio de la construcción de un laboratorio analítico y una planta piloto que ofrezcan servicios a nivel nacional e internacional para caracterizar y producir bajo un entorno de buenas prácticas de fabricación, o GMP's, material suficiente de vacunas y medicamentos biotecnológicos para uso en evaluaciones clínicas.

3. Establecimiento de actividades habilitantes claves a nivel nacional. Específicamente, la integración de un consorcio dentro de la red internacional CEPI (Coalición de Innovación para la Preparación ante Epidemias) para ofrecer servicios analíticos, homologados

internacionalmente, para caracterizar la respuesta inmune inducida por candidatos vacunales contra la COVID-19.

En la charla, detallaré las 3 líneas anteriores y los resultados más relevantes obtenidos.

Adicionalmente, y en la medida que la contingencia lo permitió, los alumnos de posgrado de mi grupo avanzaron en el tema central del grupo consistente en la integración de bioprocesos para la producir biomedicamentos y bionanomateriales en los siguientes proyectos:

- D. Bulté: Sobreexpresión del transportador mitocondrial de piruvato en células CHO-S: efecto sobre el metabolismo, producción y calidad de glicoproteínas recombinantes.
- B. Sandoval: Estudio de la temperatura intracelular en líneas celulares de ovario de hámster chino.
- C. Coria: La metilación como posible factor epigenético importante en la heterogeneidad de sub clonas de células CHO recombinantes productoras de un anticuerpo monoclonal.
- J. Campano: Caracterización de la toxicidad del dióxido de carbono en células de ovario de hámster chino (CHO).
- A. Martínez: Estrategias para estabilizar y optimizar la encapsidación de moléculas de interés farmacéutico en partículas pseudovirales del CCMV.
- M. Lara: Establecimiento de un cultivo en perfusión de células CHO como opción para intensificar y facilitar el escalamiento de la producción de un anticuerpo monoclonal.

11:35 – 12:10

Dr. Enrique Rudiño Piñera

Grupo de Bioquímica Estructural

Cristalografía de rayos X y daños por radiación, las implicaciones en regulación y resistencia de proteínas.

El área de especialidad, y donde se ha enfocado el desarrollo académico de nuestro Grupo de Investigación en sus 12 años de existencia es la Biología Estructural, con énfasis en la Bioquímica Estructural. En este sentido, hemos abordado como temas centrales la descripción y comprensión del funcionamiento a nivel atómico, tanto catalítico como en su caso alostérico, de distintas proteínas, utilizando para esto un acercamiento multidisciplinario, en el cual el conocimiento de la estructura 3D es importante pero no suficiente. Desde los años 80 del siglo pasado surgió la idea de que la descripción 3D de una proteína era fundamental para comprender el mecanismo catalítico y sus implicaciones en sistemas enzimáticos. Si bien, se presentaron varios casos con resultados funcionales, existen multitud de ejemplos en que la mera descripción 3D fue insuficiente para describir cabalmente el proceso enzimático, y más aún cuando esta descripción 3D se basó solamente en datos de difracción de rayos X de cristales, es decir, la razón principal de estos

fracasos se debe al uso de una sola técnica durante el proceso descriptivo. Por esta razón, en el Grupo de Bioquímica Estructural del IBt, utilizamos un enfoque integrativo de diversas técnicas con el fin de conjuntar información sobre el comportamiento enzimático y de otras proteínas a distintos niveles, incluso a nivel subatómico. El uso de técnicas de Biología Molecular, Microbiología, Purificación y Química de Proteínas, Cristalografía, Difracción de Rayos X, RMN, microPIXE, EPR, DLS, Calorimetría, Fluorescencia, RMN, Microscopía Electrónica, Espectroscopia UV-Visible, RAMAN, CD, SAXS, entre otros, es común dentro del grupo, generando resultados detallados en diversos sistemas proteicos, sobre todo en aquellos donde la presencia de centros metálicos es una característica funcional o estructural. En una primera etapa en el desarrollo del quehacer del grupo, este tipo de aproximación se utilizó en enzimas con Fe y/o Cu (lacasas y peroxidasas), sin embargo, este enfoque se ha y seguirá siendo ampliado en concordancia con el desarrollo de los proyectos del grupo, tanto en metaloenzimas como en otro tipo de enzimas. El desarrollo del grupo ha dado lugar a una expansión de las líneas de investigación y como resultado de esto actualmente se estudia la función y características de inhibidores de proteasas; las relaciones estructurales entre venenos y anticuerpos; las características estructurales que confieren resistencia a altas dosis de radiación ionizante a ciertos microorganismos; las características estructurales de enzimas que confieren resistencia frente a antibióticos a microorganismos resistentes; las características que prolongan la vida útil de cristales proteicos con el fin de disminuir los daños intrínsecos de la exposición a rayos X; los determinantes estructurales que confieren la característica de biofluorescencia a varias proteínas similares a la proteína verde fluorescente; los mecanismos de transporte de metales en microorganismos y el estudio estructural de las proteínas que les permiten a varias especies el sobrevivir en hábitats altamente contaminados o extremos. Todos estos enfoques tienen un eje en común, el estudio y consolidación de la Bioquímica Estructural como un área directriz de aproximaciones modernas para resolver problemas desde básicos hasta aplicados en ciencias bioquímicas. El desarrollo de esta área de Bioquímica Estructural nos ha permitido alcanzar un reconocimiento local e internacional, con un amplio número de estudiantes de posgrado y siendo a la fecha el grupo latinoamericano con las estructuras cristalográficas determinadas y depositadas en el PDB (142 hasta diciembre de 2021).

Viernes 17 de diciembre

9:00 – 9:35

Dra. Gladys Iliana Cassab

Enfoques ómicos en el estudio de la evasión a la sequía y al calor en maíz

Resumen

En nuestro grupo estudiamos la diversidad del maíz en términos de las variaciones genéticas asociadas a dos tipos de procesos fisiológicos: el hidrotropismo de la raíz primaria y la elongación del mesocotilo en condiciones de baja humedad relativa. El hidrotropismo, que es el crecimiento diferencial y dirigido de las raíces en presencia de un gradiente de humedad, participa activamente en la evasión a la sequía (1-3). Tanto la respuesta hidrotrópica robusta, como la mayor elongación del mesocotilo, están relacionados con el vigor temprano de la plántula, los cuales son de suma importancia para la emergencia de la parte aérea de la planta y el establecimiento del sistema radicular en el suelo (4). Además, el vigor temprano influye notablemente en la producción de grano en condiciones de sequía. De ahí que los estudios genómicos (Estudios de Asociación de Genoma Completo, GWAS por sus siglas en inglés) que nos permitan identificar las variaciones genéticas asociadas a la variación en la respuesta hidrotrópica, así como a la variación en el crecimiento del mesocotilo en condiciones de baja humedad relativa, conllevarán a la comprensión de las bases genéticas de rasgos fenotípicos que influyen en la adaptación de las plantas a la sequía y al calor. Además, hemos realizado análisis comparados entre los transcriptomas y proteomas (en particular, del desordenoma) de raíces primarias que manifiestan una respuesta hidrotrópica robusta con las que responden débilmente. Algunas actividades diferencialmente encontradas han sido estudiadas en cortes anatómicos e histológicos de la raíz y del mesocotilo. Conjuntamente, nuestros estudios han revelado genes candidatos, transcritos y proteínas que controlan a los caracteres de estudio. En esta presentación se discutirá cómo la interacción de estos genes, transcritos y proteínas repercuten en la intensidad de la respuesta hidrotrópica de la raíz primaria y en el crecimiento del mesocotilo en condiciones de baja humedad relativa.

Referencias:

- (1) Eapen, D., Martínez-Guadarrama, J., Hernández-Bruno, O., *et al.* (2017). Synergy between root hydrotropic response and root biomass enhances drought avoidance in maize (*Zea mays* L.). *Plant Science*, 265, 87–99. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.09.016>.
- (2) Martínez-Guadarrama, J. (2018). *Identificación de genes relacionados a la respuesta hidrotrópica en maíz mediante estudios de asociación genómica (GWAS)*. Tesis de Maestría,

Posgrado en Ciencias, Instituto de Investigación en Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

(3) Cassab, G. I., Eapen D., y Campos, M. E. (2013), Root hydrotropism: an update. *American Journal of Botany* 100 (1), 14-24. doi: <https://doi.org/10.3732/ajb.1200306>.

(4) Saenz-Rodriguez, M. N., Cassab, G. I. (2021). Primary root and mesocotyl elongation in maize seedlings: Two organs with antagonistic growth below the soil surface. *Plants* (Basel), 10 (7).

9:35 – 10:10

Dr. Lorenzo Patrick Segovia Forcella

Implicaciones del carbono sobre de la presencia y distribución de genes y especies.

Los avances tecnológicos en secuenciación masiva han generado una gigantesca cantidad de información genética que permite análisis comparativos de la presencia y distribución de genes, especies y metabolismos particulares en distintos hábitats. Las herramientas bioinformáticas modernas permiten entender porqué y cómo se encuentran especies particulares en un nicho y cuál es su papel. Presentamos dos análisis particulares, uno enfocado a entender el papel que juegan ciertas bacterias en el ciclo biogeoquímico del carbono en los sedimentos marinos y un segundo buscando entender la evolución del genoma de bacterias cuya función ecológica ha sido enmarcada en la utilización y distribución del carbono.

Los sedimentos marinos representan el mayor almacén de carbono del mundo a largo plazo. Los microorganismos del sedimento marino transforman el carbono fijado en el océano, sin embargo, no se comprende totalmente su participación en el ciclo del carbono. Con la ayuda de estudios metagenómicos del sedimento, se ha resaltado la importancia de los carbohidratos en el ciclo del carbono. Hemos analizado la distribución y abundancia de enzimas activas sobre carbohidratos (CAZymes) en treinta y siete sedimentos marinos con diferentes disponibilidades de oxígeno y profundidades en la columna de agua en diferentes partes del mundo. Los módulos dirigidos a los detritos de plantas y algas y la necromasa fueron los más abundantes en todos nuestros metagenomas, mientras que las bacterias del filo *Proteobacteria*, *Firmicutes* y *Bacteroidetes* tienen un papel importante en la transformación de carbohidratos en los primeros metros de sedimento. Los resultados muestran que las condiciones óxicas / anóxicas no solo dan forma a la comunidad taxonómica, sino que también tienen efecto sobre la distribución particular de los módulos CAZyme que se utilizan para transformar esta necromasa y los detritos de algas y plantas. Las bacterias ácido-lácticas (LAB) son componentes fundamentales de la microbiota de humanos, vertebrados e insectos, y han sido involucrados con la producción de alimentos fermentados desde hace alrededor de 10000 años. Las LAB forman un grupo heterogéneo tanto en capacidades metabólicas como estructura y composición genómica. La variedad de

ambientes en los que se encuentran se refleja en su diversidad genómica, explicada principalmente en un sentido ecológico más que evolutivo. Históricamente, ha habido mucha confusión sobre las características genómicas de las bacterias del ácido láctico, la mayoría asumidas como beneficiosas para la salud. Del mismo modo, existe una generalización de que casi todos los alimentos fermentados están relacionados con un potencial probiótico. Analizamos la historia ecológica de estas bacterias, centrándonos en el género *Lactobacillus*. Proponemos una separación del hábitat de la especie *Lactobacillus delbrueckii* con el resto del género mediante análisis filogenético y genómica comparativa. Al contrario de lo que se pensaba, pudimos identificar que *L. delbrueckii* no puede adherirse al tracto gastrointestinal. Además, por sus características genómicas, puede relacionarse con un hábitat de vida libre. Asimismo, identificamos algunas características genómicas asociadas a la adaptación del género *Lactobacillus* a hábitats artificiales. Nuestros resultados muestran el efecto sobre la composición genómica como respuesta a fuerzas evolutivas a largo plazo vs adaptaciones en respuesta a presiones ecológicas.

10:10 – 10:45

Dr. Francisco Xavier Soberon Mainero

Genómica y Salud Humana (con COVID)

Durante los últimos años en el grupo se ha estado dando una transición y adaptación como consecuencia de la conclusión del encargo como Director General del INMEGEN. Los principales ajustes consisten en un redimensionamiento de los proyectos en razón a la suspensión del financiamiento como investigador en el INMEGEN (del cual dependían mayormente las líneas de investigación e, íntegramente, el proyecto de uno de los estudiantes de doctorado. Solo en el último mes (Nov. 2021) se consiguió un nuevo donativo (PAPIIT) para continuar el financiamiento externo de los proyectos.

Las líneas de investigación que se cultivaron en este período incluyen:

Microbioma infeccioso. Uno de los proyectos consiste en la implementación de un prototipo para la identificación molecular, mediante secuenciación masivamente paralela (o NGS), de la resistencia a antibióticos en enfermos de tuberculosis. El proyecto avanzó al punto de publicarse los métodos bioinformáticos del análisis y de enviar el manuscrito con los métodos de laboratorio. El proyecto estuvo a cargo de un estudiante de doctorado (Martín Barbosa), que deberá graduarse en un futuro cercano. El otro proyecto se enfoca en la microbiota del tracto respiratorio en enfermos de COVID-19. El marco de referencia es la caracterización del metagenoma en enfermedades del tracto respiratorio bajo, pero la incidencia de la pandemia hacen recomendable (y, de alguna manera, ineludible) el trabajar con enfermos COVID-19. Hay avances de este proyecto, a cargo de otro estudiante de doctorado (David Galeana) con las primeras muestras secuenciadas, y la implementación de ajustes en los protocolos para obtener suficiente información a partir de datos abundantes y complejos.

Farmacogenómica. En esta línea de investigación se tuvieron avances, principalmente, en proyectos de colaboración iniciados en años anteriores. Algunas de las publicaciones recientes se derivan de estas colaboraciones.

Caracterización de una enzima de relevancia clínica. A cargo de una estudiante de doctorado (Brenda Uribe), este proyecto se enfoca en las propiedades cinéticas y estructurales de mutantes de la catalasaperoxidasa de *Mycobacterium tuberculosis*, codificada por katG.

Mutaciones que mapean en el este gen son responsables de la aparición de resistencia a un antibiótico de primera línea (isoniazida) utilizado en el tratamiento de la tuberculosis. El mecanismo por el cual las mutaciones catalogadas resultan en la aparición de resistencia no está bien dilucidado. En nuestro proyecto se construyeron los genes y se purificaron las proteínas para una decena de diferentes mutantes presentes en aislados clínicos. Una importante conclusión de nuestros estudios es que los mecanismos de resistencia son más complejos de lo que hasta ahora se ha descrito, involucrando probablemente sitios de unión productivos para los sustratos isoniacida y NAD⁺.

11:00 – 12:00

Dra. Concepción Company Company

12:00 – 12:30

Clausura

Dra. Laura Alicia Palomares Aguilera