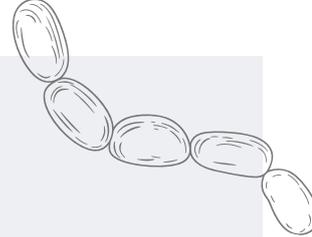




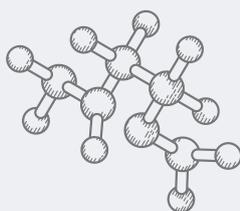
Instituto de
Biotecnología



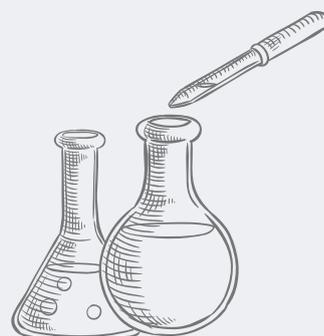
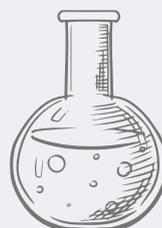
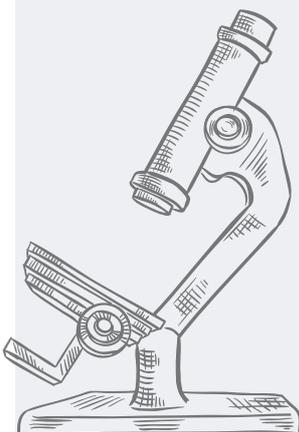
SIMPOSIO DE

VERANO

— N —
5 al 8 de agosto 2024



Resúmenes



SIMPOSIO DE

VERANO

Lunes 5 de agosto | 17:10h



Estructura de proteínas con Inteligencia artificial

Dr. Alejandro Garcarrubio Granados

Grupo del Dr. Lorenzo Segovia

Depto de Ingeniería Celular y Biocatálisis

¡La nueva inteligencia artificial ha cambiado las reglas del juego! El trabajo con estructuras de proteínas ha experimentado un avance cuántico, comenzando con AlphaFold2 y continuando con los cientos de programas que ha inspirado. Este año se lanzó AlphaFold3, que puede predecir la estructura tridimensional de proteínas en unión con otras proteínas, ácidos nucleicos, metales, ligandos pequeños, y también predice modificaciones post-traduccionales.

Destaca su capacidad para predecir la interfaz entre un anticuerpo y su blanco, lo que tiene enormes repercusiones médicas. En mi charla, combinaré mi propia investigación con el estado del arte. Discutiré por qué la inteligencia artificial es tan poderosa, cuál es su "magia", cuáles son los nuevos modelos y qué podemos esperar en el futuro.

Explicaré cómo las redes neuronales nos pueden revelar información donde antes no la veíamos, basándome en un proyecto propio. Mencionaré las principales herramientas para trabajar con estructuras de proteínas, lo que pueden hacer y lo que aún necesitamos mejorar.

Finalmente, mostraré cómo nuestro grupo está utilizando estas herramientas, presentando cinco proyectos en los que he participado como responsable o colaborador. Hablaré sobre la clasificación de beta-lactamasas utilizando modelos de lenguaje de proteínas (PLMs); el análisis de proteínas intrínsecamente desordenadas (IDPs) entre las hidrófilinas de plantas; la predicción de la tendencia a tener más actividad de hidrolasa o transferasa en las amilasas; la predicción de mutaciones en el dominio de unión al receptor (RBD) del virus SARS-CoV-2 que podrían favorecer la aparición de variantes exitosas; y la permutación y estabilización de un modelo de barril TIM. Para concluir, explicaré cómo intentamos diseñar un barril TIM que pueda unir fitato; un primer paso para convertirlo en una fitasa.

¡Agradezco a ChatGPT-4o su apoyo y aporte de ideas a este escrito!

SIMPOSIO DE

VERANO

Lunes 5 de agosto | 17:40h



Producción y diseño de bioplásticos para ser usados como soportes en ingeniería de tejidos

Dr. Carlos F. Peña Malacara

Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis

Los polihidroxicanoatos (PHAs) son termoplásticos biodegradables y biocompatibles que presentan propiedades similares a la de algunos plásticos petroquímicos, por lo que se ha propuesto como sustituto de estos polímeros. Entre los PHAs, el poli-3-hidroxi-butarato (P3HB) es el más conocido y es sintetizado por cepas de *Azotobacter vinelandii*, una bacteria que es capaz de acumular hasta el 90 % de P3HB con base en su peso seco. Las propiedades termomecánicas y la biodegradabilidad de los PHAs dependen de su composición monomérica y peso molecular (PM).

En nuestro grupo de investigación nos hemos enfocado en entender cómo las condiciones de cultivo afectan el metabolismo microbiano de diferentes cepas de *Azotobacter* para diseñar estrategias de producción de biopolímeros con composiciones monoméricas y pesos moleculares específicos, con potencial para la ingeniería de tejidos. Por ejemplo, mediante el uso de una cepa, con una doble mutación en los sistemas de regulación negativa (OPNA), hemos logrado alcanzar concentraciones mayores a 30 g/L en cultivos lote alimentados. Por otro lado, mediante el cultivo de una cepa mutante con una depolimerasa inactivada (PHBZ1), en condiciones de baja velocidad de transferencia de oxígeno (VTO), es posible obtener P3HB de ultra-alto peso molecular, 8000-10000 kDa.

Además, hemos encontrado que, un incremento de la VTO en combinación con un aumento en la concentración de ácido valérico, permite incrementar la fracción molar de 3HV en el copolímero de PHBV. Finalmente, hemos realizado pruebas con andamios diseñados por impresión 3D, para el cultivo de queratinocitos. Los resultados revelan que los andamios no son citotóxicos, y permiten una alta proliferación celular homogénea de células HaCaT.

En resumen, es posible concluir que la manipulación de VTO es una estrategia factible para producir PHAs con diferentes composiciones monoméricas y pesos moleculares y que los andamios de P3HB obtenidos mediante impresión 3D son adecuados para su uso en el campo de la ingeniería de tejidos y la medicina regenerativa.

Agradecimientos. Proyecto DGAPA-UNAM (IG 2002019, IG200222).

SIMPOSIO DE

VERANO

Lunes 5 de agosto | 17:40h



Producción y diseño de bioplásticos para ser usados como soportes en ingeniería de tejidos

Dr. Carlos F. Peña Malacara

Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis

Publicaciones relacionadas

1. Peña, C*. Castillo, T., García, A., Segura, D., (2014) Biotechnological strategies to improve production of microbial polyhydroxybutyrate [P(3HB)]: a review of recent research work. *Microbial Biotechnology*, 7, 278-293.
2. Gómez, E., Salgado H., Segura, D., García, A., Díaz-Barrera, A., Peña, C* (2021). Production of poly-3-hydroxybutyrate (P3HB) with ultra-high molecular weight (UHMW) by mutant strains of *Azotobacter vinelandii* under microaerophilic conditions. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 193 (1), 79-95.
3. García S., Sánchez-Pacheco, A. Meneses-Acosta, A., Rojas J., Campillo, B., Segura, D., & Peña C. (2022). Evaluation of Poly-3-hydroxybutyrate (P3HB) scaffolds obtained from different extraction methods for epidermal cell growth. *Polymers*, 14 (19), 4021.
4. Torres, J., Salgado, H., Segura, D., Peña, C*. (2021). Composition control of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) copolymerization by oxygen transfer rate (OTR) in *Azotobacter vinelandii* OPNA. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 96 (10), 2782-2791.

SIMPOSIO DE

VERANO

Lunes 5 de agosto | 18:10h



La dinámica del retrómero en el tráfico vesicular

Dr. Paul Rosas Santiago

Los endosomas muestran una amplia red de conexión con otros organelos subcelulares, como la red Trans-Golgi (TGN), la vacuola o la membrana plasmática. Esto permite a un gran número de proteínas transitar por estos distintos organelos subcelulares logrando así por ejemplo un recambio de algunas proteínas desde la membrana plasmática al TNG o la degradación de ciertas proteínas en la vacuola. Uno de los operadores a nivel molecular de este tránsito se denomina retrómero. Este complejo multiproteico está conformado por Vps35, Vps26 y Vps29 y está presente en células eucariotas.

A través del uso de dos organismos modelo, *Saccharomyces cerevisiae* y de *Arabidopsis thaliana*, hemos investigado la importancia del gen VPS29. Nuestros resultados mostraron que en ambos organismos la mutación de VPS29 genera una sensibilidad a altas concentraciones de Na^+ , provocando una disminución en la supervivencia de las células de levaduras en medios con altas concentraciones de Na^+ y en la planta de *Arabidopsis* se observó una disminución tanto en el crecimiento de la raíz como en la germinación.

Este fenotipo nos llevó a identificar a través de un ensayo de interacción proteína-proteína que los antiportadores Na^+/H^+ Nhx5 y Nhx6 interactúan con Vps29, permitiendo junto observaciones de la localización de estas proteínas y modelos generados *in silico* establecer un mecanismo molecular de la función de estos antiportadores en el endosoma y su regulación a través del retrómero.

Agradecimiento. Este trabajo se realizó gracias a los donativos otorgados por UNAM-PAPIIT IA205822 y por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) A1-S-8007.

SIMPOSIO DE

VERANO

Martes 6 de agosto | 16:00h



La dimensión fractal como característica de la forma del flagelo y tipo de nado del espermatozoide humano

Dr. Dan Sidney Díaz Guerrero

El tipo de nado del espermatozoide humano influye en su capacidad para fecundar al óvulo femenino, permitiendo así la fertilización. Se han descrito dos tipos principales de nado del espermatozoide: progresivo hacia adelante e hiperactivado. Estos tipos de nado se describieron con base en la trayectoria bidimensional (2D) de la cabeza del espermatozoide.

A finales del siglo XX se propuso una expresión que permite calcular la dimensión fractal de la trayectoria de la cabeza de los espermatozoides humanos en 2D. Usando los valores obtenidos de la dimensión fractal se propuso una clasificación del tipo de nado de cada espermatozoide registrado. Esto permitió definir un valor mínimo de dimensión fractal que los espermatozoides hiperactivados deberían tener.

Originalmente la dimensión fractal fue propuesta para caracterizar la irregularidad de objetos geométricos, los cuales se creía estarían asociados a las formas de la naturaleza como las nubes, el brócoli romanesco o los helechos. La definición de dimensión fractal se fue modificando para adaptarla a la meta de modelar mejor los objetos naturales.

En esta plática se presentará una generalización de la dimensión fractal 2D a 3D y su aplicación a las curvas flagelares obtenidas a partir de espermatozoides humanos. Con base en la distribución de las dimensiones fractales flagelares obtenidas para cada espermatozoide, se propone una clasificación del tipo de nado correspondiente a cada célula. Idealmente, esta clasificación permitirá distinguir a los espermatozoides candidatos a ser hiperactivados. Una vez identificadas las células postuladas a ser hiperactivadas, se describirá la interpretación de su dimensión fractal en términos de la forma promedio del flagelo.

Se discutirá brevemente la relación entre los espermatozoides postulados a ser hiperactivados por su dimensión fractal flagelar en 3D y por otros métodos establecidos en la literatura. Finalmente, se describirán las limitaciones del método propuesto y las siguientes estrategias de análisis de las curvas flagelares.

SIMPOSIO DE

VERANO

Martes 6 de agosto | 16:30h



Catálisis enzimática en disolventes eutécticos profundos: Rompiendo los límites naturales de las enzimas

Dr. Edmundo Castillo Rosales

Los disolventes juegan un papel central en la biocatálisis, definen la funcionalidad de las enzimas, su estructura y actividad catalítica. El agua es considerado el disolvente "natural" de las enzimas, sin embargo, se sabe que muchos biocatalizadores operan de manera eficiente en medios no acuosos, modulando su cinética, su selectividad, su estabilidad y el tipo de reacción que catalizan. Los disolventes orgánicos fueron los primeros sistemas no acuosos para la biocatálisis, sin embargo, presentan inconvenientes en su síntesis, eliminación y compatibilidad ambiental.

Recientemente, los disolventes neotéricos, tales como los fluidos supercríticos, disolventes fluorados, las glymas o los líquidos iónicos surgen como alternativas de menor riesgo y amigables con el medio ambiente. A pesar de sus ventajas, estos disolventes alternativos no han satisfecho del todo las necesidades reales de la biocatálisis industrial. Los disolventes "ideales" en biocatálisis deben permitir una alta solubilidad del sustrato, una alta actividad y estabilidad enzimática, efectos positivos sobre el equilibrio de la reacción, versatilidad estructural y funcional y ser de bajo impacto ambiental. Recientemente, surge una opción que promete cumplir con las necesidades de la biocatálisis moderna: los Disolventes Eutécticos Profundos Naturales (NaDES). Los NaDES son, estrictamente, disolventes no acuosos de bajo impacto ambiental que, bajo diseño, pueden modular su naturaleza hidrofóbica e hidrofílica, tienen una alta capacidad de solubilización y se obtienen de manera simple y económica a partir de materias primas renovables.

En esta presentación abordaremos el comportamiento de los biocatalizadores en sistemas NaDES, desde la parte más básica de su diseño y preparación hasta su caracterización funcional. Hablaremos de su alta capacidad para solubilizar sustratos y productos, considerando moléculas desde las más hidrofóbicas hasta las más polares y hablaremos del comportamiento y compatibilidad de los NaDES con diversos sistemas celulares, proteínas y biocatalizadores. En este último aspecto mencionaremos que bajo un diseño dirigido y racional, los NaDES permiten a las enzimas operar en concentraciones de sustratos >3 M, en condiciones prácticamente anhidras.

Adicionalmente, y probablemente entre los resultados más relevantes, mencionaremos que al comparar con los sistemas acuosos, las enzimas en NaDES mejoran entre 3-10 veces su actividad catalítica, permiten operar reacciones enzimáticas a temperaturas por arriba de los 100 °C, aumentan en más de 1000 veces su $T_{1/2}$ y revierten el desplegamiento de las proteínas. Estudios de DSC y CD explican las relaciones de estructura-función entre NaDES y proteínas, incluyendo modelos de proteínas no catalíticas con resultados similares y consistentes.

SIMPOSIO DE

VERANO

Martes 6 de agosto | 17:10h



Especies reactivas de oxígeno en el desarrollo embrionario temprano del pez cebra

Dr. Enrique Salas Vidal

La gastrulación es un proceso fundamental en el desarrollo embrionario en animales, en el que todas las células del embrión cambian de posición por medio de diferentes tipos de migración celular (epibolia, ingresión, convergencia y extensión) que coordinan la formación de las capas germinales (ectodermo, mesodermo y endodermo) e inician la determinación de los ejes corporales (anteroposterior, dorsoventral).

La epibolia es el primer tipo de migración de la gastrulación en el pez cebra, proceso en el que las células del embrión cubren a la célula gigante del vitelo. Previamente reportamos que las especies reactivas de oxígeno (ERO) generadas por la actividad de las NADPH oxidasas (Nox), se requieren para la progresión de la epibolia, ya que la inhibición de las enzimas Nox y por lo tanto de la formación de ERO, afecta la dinámica del citoesqueleto de actina y de tubulina, además de que afecta la abundancia de la proteína de adhesión celular la E-cadherina.

Estos cambios afectan a la motilidad celular y a la progresión por la epibolia. Encontramos que todos estos efectos son rescatados por el tratamiento con peróxido de hidrógeno (H₂O₂), lo cual sugiere fuertemente que ésta es la ERO relevante en la gastrulación en el pez cebra.

Actualmente estamos caracterizando las redes de regulación que son blanco de la acción de las ERO que participan en la regulación de la motilidad celular en la epibolia. Adicionalmente estamos analizando las posibles vías que son importantes para regular la actividad de las enzimas Nox y por lo tanto para la formación de las ERO.

Estos estudios nos permitirán entender a mayor profundidad el papel que juegan las ERO derivadas de la actividad de las enzimas Nox en el desarrollo embrionario temprano.

Agradecimiento. Financiado por PAPIIT/UNAM IN212820 e IN227223.

SIMPOSIO DE

VERANO

Martes 6 de agosto | 17:40h



La relevancia del flujo de cloro en la fisiología del espermatozoide

Dr. Gerardo José Orta Salazar

Departamento de Genética del Desarrollo y Fisiología Molecular

Para adquirir la capacidad de fecundar el espermatozoide de mamífero debe llevar a cabo un proceso de maduración dentro del tracto genital femenino que se conoce como capacitación. Este proceso se puede mimetizar in vitro en un medio que contenga Na^+ , Ca^{2+} , HCO_3^- , Cl^- y un aceptor de colesterol.

La capacitación involucra un cambio funcional en el espermatozoide que incluye modificaciones moleculares, bioquímicas y fisiológicas como: la remoción de colesterol de la membrana celular, la hiperactivación de la motilidad, el incremento del flujo de iones como el Ca^{2+} , HCO_3^- hacia el interior de la célula, el incremento en la fosforilación en tirosina de proteínas, la hiperpolarización del potencial de membrana celular (E_m), y la exocitosis del contenido acrosomal (reacción acrosomal, RA) entre otros. El ion Cl^- es el anión más abundante en la fisiología celular y su ausencia no compromete la viabilidad del espermatozoide. Sin embargo, los cambios asociados a la capacitación se alteran drásticamente y la capacidad de fecundación se reduce significativamente o incluso se puede perder.

Para investigar los flujos de Cl^- en el espermatozoide implementamos el registro electrofisiológico de las corrientes iónicas acarreadas por el movimiento de este ion a través de la membrana celular. Nuestro trabajo se centra en dilucidar y caracterizar la entidad molecular, canal iónico, que permite el flujo del ion Cl^- y su relevancia funcional en la fisiología del espermatozoide.

Los resultados electrofisiológicos, farmacológicos y bioquímicos muestran que el espermatozoide de ratón posee un canal de Cl^- activado por Ca^{2+} intracelular perteneciente a la familia de proteínas TMEM16. Este canal tiene un papel relevante en la hiperpolarización del E_m y la RA asociados a la capacitación.

Agradecimientos y Donativos: Agradecemos a Yoloxochitl Sánchez Guevara por su apoyo técnico, al Consorcio de Fisiología del Espermatozoide del Instituto de Biotecnología-UNAM, al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT), a la Universidad de Massachusetts Amherst, MA, USA. Donativos: CONAHCyT (CF-2023-I-291), DGAPA-PAPIIT (IN204922) a AD, DGAPA-PAPIIT (IN209922) a CB y NIH (ROI HD038082-17A1) a PV y AD.

SIMPOSIO DE

VERANO

Martes 6 de agosto | 18:10h



Identificación de compuestos con actividad antimicrobiana a partir de bacterias simbiotas de insectos

Dr. Víctor Manuel Chávez Jacobo

La resistencia a los antibióticos representa una grave amenaza de salud a nivel mundial. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha elaborado un plan mundial de acción para el control de esta problemática, uno de los objetivos de este plan es el desarrollo de nuevos antibióticos. La OMS elaboró también una lista de bacterias denominadas patógenos prioritarios, contra las cuales es urgente el desarrollo de nuevos antibióticos dado su alto nivel de resistencia a los antibióticos actualmente disponibles.

La gran mayoría de los antibióticos se han identificado a partir de microorganismos del suelo; sin embargo, en los últimos años ya no se ha logrado identificar nuevos antibióticos a partir de esta fuente. Las bacterias simbiotas de insectos han mostrado ser una fuente con potencial para la identificación de nuevas moléculas bioactivas.

En nuestro proyecto hemos aislado una colección considerable de bacterias a partir de la microbiota de diferentes insectos. Varias de estas bacterias tienen actividad antibacteriana contra patógenos prioritarios, como *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae*, incluyendo cepas de referencia y aislados resistentes a antibióticos. Como ejemplo, extractos obtenidos del sobrenadante de cultivo de la cepa VC-5 tuvieron actividad bactericida contra patógenos prioritarios y no mostraron toxicidad en los ensayos realizados.

Interesantemente, estos extractos fueron capaces de curar la infección de *A. baumannii* a larvas de *Galleria mellonella*, mostrando la capacidad terapéutica de los compuestos presentes en los extractos.

Nuestros resultados indican que las bacterias presentes en insectos de nuestro país representan una fuente basta para la búsqueda de nuevos antibióticos.

SIMPOSIO DE

VERANO

Miércoles 7 de agosto | 16:00h



Caracterización electroquímica de *Geobacter sulfurreducens* en sistemas bioelectroquímicos y sus posibles aplicaciones

Dr. Guillermo A. Huerta Miranda

Departamento de Genética del Desarrollo y Fisiología Molecular

Geobacter sulfurreducens es una bacteria reductora de óxidos metálicos que se utiliza frecuentemente en biotecnología para producir electricidad en sistemas bioelectroquímicos (BES) y biorremediación. La formación de una biopelícula electroactiva sobre los electrodos es un factor crítico para lograr una transferencia eficiente de electrones a aceptores extracelulares no solubles, como óxidos metálicos y diversos materiales de electrodos. De esta manera, se puede aprovechar la versatilidad de *G. sulfurreducens* para crecer en diferentes superficies para diseñar y sintetizar nuevos electrodos que puedan ampliar y mejorar las aplicaciones tecnológicas de estas bacterias.

En el grupo de trabajo hemos realizado diversos estudios de investigación multidisciplinarios para estudiar los mecanismos de transferencia extracelular de electrones, la formación de biopelículas conductoras para poder aplicar este conocido sistema microbiano en sistemas bioelectroquímicos. Algunas de las aplicaciones que hemos encontrado es modificando químicamente la superficie de los electrodos con materiales más afines a *G. sulfurreducens*, como películas de Fe₂O₃ (hematita) con el cuál pudimos desarrollar un biosensor robusto basado en voltamperometría de onda cuadrada que pudo medir acetato de sodio en altas concentraciones con un intervalo lineal aceptable, de 10 a 110 mM.

Adicionalmente, se han realizado estudios en otros materiales de electrodo como grafito y acero inoxidable, encontrándose diferencias entre la interacción del microorganismo y los electrodos durante el proceso de transferencia de electrones. En esos estudios, se analizó la biopelícula formada por *G. sulfurreducens* DL1 (WT) y la cepa mutante Δ gsu1771. GSU1771 es un regulador transcripcional que controla la expresión de varios genes implicados en la transferencia de electrones. Se llevaron a cabo diferentes enfoques y pruebas experimentales con las biopelículas cultivadas en los diferentes materiales, incluido el análisis de la estructura de la biopelícula mediante microscopía confocal (CLSM), la caracterización de la actividad electroquímica y la cuantificación de la expresión relativa mediante RT-qPCR.

Agradecimientos: Este trabajo fue apoyado por PAPIIT-UNAM (No. IN212022, IN104621). G. A. Huerta-Miranda recibió una beca postdoctoral del CONAHCYT (CONAHCYT-2322131).

SIMPOSIO DE

VERANO

Miércoles 7 de agosto | 16:30h



La alcalinización del pH acrosomal en el espermatozoide humano como nodo funcional para la fecundación

Dr. Ignacio López González

Departamento de Genética del Desarrollo y Fisiología Molecular

Nuestros resultados previos demostraron que el ATP induce el aumento del volumen de la cabeza del espermatozoide capacitado, como consecuencia del hinchamiento del acrosoma en respuesta a la activación de, al menos, el receptor purinérgico P2X4 (P2X4R). Por antecedentes sabemos que, en otros tipos celulares, la alcalinización de las pozas ácidas de Ca^{2+} induce su liberación de estos almacenes intracelulares. Por lo cual, en este trabajo exploramos si el ATP externo era capaz de alcalinizar al pH acrosomal (pH_{acro}) y liberar al Ca^{2+} contenido en este organelo y causar la reacción acrosomal (RA).

Efectivamente, la adición de ATP alcalinizó al pH_{acro} . La cinética de la alcalinización del pH_{acro} inducida por ATP fue más lenta en presencia de Cu^{2+} , un inhibidor de los P2X4Rs, lo cual sugiere su participación en este proceso. La adición de ATP produjo un aumento en el Na^{+} intracelular resistente a HC, un inhibidor específico del canal CatSper, descartando la participación de CatSper en este proceso. De manera consistente, la entrada de Na^{+} a través de los P2X4Rs indujo una depolarización del potencial de membrana del espermatozoide, la cual también fue parcialmente sensible a Cu^{2+} externo. Con la finalidad de evaluar el efecto del ATP en el pH citoplasmático (pH_{cit}), cargamos a los espermatozoides capacitados con BCECF-AM.

Nuestros resultados indican que la adición de ATP también alcaliniza el pH_{cit} en una subpoblación de espermatozoides, lo cual sugiere que en respuesta al ATP también se participa el canal de protones HVI, el cual contiene con la liberación de protones del acrosoma y/o contribuye a la liberación de estos del acrosoma. Con la finalidad de evaluar la posible participación del canal HVI en la alcalinización del pH_{acro} en respuesta al ATP, registramos el cambio del pH_{acro} en presencia de Zn^{2+} , un inhibidor inespecífico del canal HVI. La coadición de ATP y Zn^{2+} inhibió parcialmente y enlenteció la cinética de la alcalinización del pH_{acro} , sugiriendo la participación indirecta de este canal en este proceso. La adición de Cl-GBI, un inhibidor específico para el canal HVI, también redujo parcialmente la alcalinización del pH_{acro} , confirmando su participación en el cambio del pH_{acro} inducido por ATP.

SIMPOSIO DE

VERANO

Miércoles 7 de agosto | 16:30h



La alcalinización del pH acrosomal en el espermatozoide humano como nodo funcional para la fecundación

Dr. Ignacio López González

Departamento de Genética del Desarrollo y Fisiología Molecular

Por último, con la finalidad de evaluar si la adición de ATP podía inducir la liberación de Ca^{2+} y Zn^{2+} almacenados en el acrosoma cargamos a los espermatozoides con Fluo-5N, un fluoróforo de baja afinidad para Ca^{2+} , y con Spirozin, un fluoróforo de Zn^{2+} que se acumula en vesículas ácidas como el acrosoma. La adición de ATP externo ocasionó que tanto el Ca^{2+} como el Zn^{2+} almacenado en el acrosoma disminuyeran, debido a la liberación de ambos iones del acrosoma.

Considerando los resultados descritos previamente, proponemos que la adición de ATP activa a los P2X4Rs, aumentando la concentración de Na^{+} intracelular, favoreciendo la fuga de protones a través de los intercambiadores $\text{Na}^{+}/\text{H}^{+}$ del acrosoma contribuyendo a su alcalinización. De manera paralela, la depolarización del potencial de membrana inducida por el ATP regularía a una fracción de los canales HVI presentes en el espermatozoide y favorecería la salida de H^{+} del citoplasma, potenciando la alcalinización del pHacro, el aumento del volumen del acrosoma, la liberación del Ca^{2+} y del Zn^{2+} acrosomales, y, finalmente la RA.

Agradecimientos: Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCyT). Número de donativos: 71 para AD; 319694 para ILG. 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.

SIMPOSIO DE

VERANO

Miércoles 7 de agosto | 17:10h



Impacto y control de *Meloidogyne enterolobii* en cultivos de jitomate en México

Dra. Irán Tapia Vázquez

Introducción

Los nematodos agalladores del género *Meloidogyne* son endoparásitos sedentarios que afectan a más de 3,000 especies de plantas. *Meloidogyne enterolobii* es una amenaza significativa en México debido a su rápida distribución y capacidad para infectar cultivos esenciales como el jitomate [1]. Las agallas provocadas por el nemátodo en las raíces dificultan la absorción de agua y nutrientes, reduciendo la producción agrícola y favoreciendo infecciones secundarias [2]. Para mitigar el impacto de *M. enterolobii*, se han explorado estrategias de control biológico basadas en sus enemigos naturales como bacterias y hongos antagonistas. *Bacillus velezensis*, agente activo del producto comercial Fungifree®, ha demostrado actividad nematocida y promoción del crecimiento vegetal [3, 4]. Asimismo, diferentes cepas del hongo *Purpureocillium lilacinum* han mostrado capacidad nematófaga.

Resultados

Se evaluó la combinación de *B. velezensis* 83 y *P. lilacinum* MTL01, una cepa aislada y caracterizada por nosotros, demostrando su efectividad en reducir agallas a bajos niveles de infestación de *M. enterolobii* y en mejorar la floración en condiciones de invernadero. Aplicados independientemente, los efectos en las plantas tratadas y de control fueron similares. Interesantemente, el tratamiento previo a la siembra de las semillas con MTL01 favoreció el crecimiento de las plantas a bajas temperaturas, probablemente debido al establecimiento del hongo como endófito, en una asociación mutualista previamente reportada para esta especie pero que no siempre ocurre.

La fisiología de *P. lilacinum* y su interacción con diferentes hospederos es poco conocida, posiblemente debido a la resistencia a diferentes antifúngicos que impiden su transformación con plásmidos. Hemos confirmado que MTL01 es sensible a sulfonilurea (chlorimuron ethyl), lo que abre la posibilidad para utilizar plásmidos con el gen de resistencia ILV2 (acetolactato sintetasa) para la manipulación genética de esta cepa.

SIMPOSIO DE

VERANO

Miércoles 7 de agosto | 17:10h



Impacto y control de *Meloidogyne enterolobii* en cultivos de jitomate en México

Dra. Irán Tapia Vázquez

Referencias

1. Martínez-Gallardo, J., Díaz-Valdés, T., Allende-Molar, R., Retes-Manjarrez, J., & Carrillo-Fasio, J. (2019). Identificación y distribución de *Meloidogyne spp.* en tomate. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(2), 453-459.
2. Philbrick, A., Adhikari, T., Louws, F., & Gorny, A. (2020). *Meloidogyne enterolobii*, a Major Threat to Tomato Production: Current Status and Future Prospects for Its Management. *Frontiers*. doi:doi.org/10.3389/fpls.2020.606395.
3. Tian, X., Zhao, X., Zhao, S., Zhao, J., & Mao, Z. (2022). The Biocontrol Functions of *Bacillus velezensis* Strain Bv-25 Against *Meloidogyne incognita*. *Front Microbiol*, 13. doi:10.3389/fmicb.2022.843041.
4. Balderas-Ruíz, K., Gómez-Guerrero, C., Trujillo-Roldán, M., Valdez-Cruz, N., Aranda-Ocampo, S., M. Juárez, A. Serrano-Carreón, L. (2021). *Bacillus velezensis* 83 increases productivity and quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.): Pre and postharvest assessment. *Current Research in Microbial Sciences*, 2. doi:doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100076.

Agradecimientos

Estancias Posdoctorales por México, CONAHCYT 2021-2023; DGAPA, Estancias Posdoctorales, UNAM 2023-2024.

SIMPOSIO DE

VERANO

Miércoles 7 de agosto | 17:40h



Explorando las etapas del ciclo celular al inicio de la infección con *Rhizobia* en raíces de *Phaseolus vulgaris*

Dr. José Erick Cruz Valderrama

La relación simbiótica que se establece entre plantas leguminosas y bacterias del suelo, conocidas como rhizobia, se caracteriza por la formación de novo de un órgano en la raíz, llamado nódulo fijador de nitrógeno. Hoy sabemos que la formación del nódulo requiere de un diálogo químico inicial, mediado por moléculas señal secretadas por la raíz y la rhizobia, respectivamente, lo que conduce a eventos de infección y organogénesis. Estos procesos han sido estudiados y se sabe que son finamente coordinados y regulados, sin embargo, la comprensión de cómo ocurren todavía tiene varias interrogantes.

La infección inicia cuando, al percibir las moléculas señal rhizobiales (factores Nod) el pelo radical forma una curvatura apical, en cuyo pliegue quedan atrapadas las rhizobia. En este sitio, se induce la formación de un hilo de infección (HI), transcelular y apoplástico que porta las bacterias y se extiende hacia la base del pelo radical, lo que enmarca la infección epidermal. Concomitantemente, las células corticales en el sitio de infección, reactivan su ciclo celular, promoviéndose así, la división celular de la que derivará el primordio del nódulo. Nuestro grupo de investigación evidenció que la salida de HI del pelo radical e invasión de la célula cortical subepidermal (SE) en división coincide con la etapa final de la citocinesis de esta célula, de donde surge el interés por visualizar donde inicia la división en este punto de la infección.

El uso de marcadores específicos del citoesqueleto fusionados a proteínas fluorescentes, nos ha permitido distinguir los re-arreglos de los microtúbulos en las distintas fases del ciclo celular en el ápice de la raíz. Para visualizar las etapas del ciclo celular, contamos con marcadores de las fases del ciclo celular. En este trabajo se presentarán imágenes de microscopía confocal ilustrativas de células en división en el ápice de la raíz de *Phaseolus vulgaris*. Este aprendizaje nos permitirá analizar la dinámica del ciclo celular al inicio de la infección con rhizobia.

SIMPOSIO DE

VERANO

Miércoles 7 de agosto | 18:10h



Interacción con vesículas extracelulares aumenta tropismo celular de virus gastrointestinales

Dr. Pavel Isa

Los rotavirus y astrovirus están dentro de las causas más importantes de gastroenteritis viral en niños menores de 5 años. Ambos virus infectan enterocitos del intestino delgado, causando diarrea acuosa. A pesar de ser virus intestinales, también se han asociado con enfermedades no gastrointestinales. Particularmente la infección por rotavirus se ha vinculado con hepatitis, neumonía, diabetes o complicaciones neurológicas; mientras que los astrovirus se han encontrado en el sistema nervioso central, de manera específica, en cerebro, causando encefalitis viral. Una posible explicación de la diseminación fuera del intestino podría ser la asociación de estos virus con vesículas extracelulares.

Las vesículas extracelulares son secretadas por mayoría de las células. Anteriormente hemos encontrado tanto rotavirus como astrovirus asociados a microvesículas. Las vesículas extracelulares pueden fusionarse con otras células en una manera independiente de receptores, promoviendo infección. Para determinar si las vesículas extracelulares pueden promover infección de células de otros órganos, probamos líneas celulares de diversos orígenes (riñón, ovario, páncreas, sistema nervioso) para identificar células poco o no susceptibles (no se infectan bien con virus libre) a la infección con virus, pero permisivas (capaces de replicar el virus una vez dentro de célula). Identificamos varias líneas celulares permisivas, pero poco susceptibles, entre ellas células de neuroblastoma humano (SK-N-SH) y murino (F11), riñón de hámster (BHK) y ovario de hámster (CHO).

Las vesículas extracelulares purificadas de células infectadas promovieron la infección en células poco susceptibles. Una parte de virus asociados a vesículas extracelulares fue protegida de la acción de anticuerpos neutralizantes, sugiriendo que los virus no son accesibles a los anticuerpos, posiblemente están dentro de las vesículas. La solubilización de membranas vesiculares previa a adición de complejo vesículas-virus a células disminuye infectividad, lo que sugiere un papel crucial de las membranas durante el proceso de entrada. Nuestros datos muestran evidencia de una vía alternativa de como los rotavirus y astrovirus pueden entrar a la células de una manera independiente de receptores.

El presente trabajo es apoyado por donativo IN213722 de DGAPA-PAPIIT UNAM.

SIMPOSIO DE

VERANO

Jueves 8 de agosto | 16:00h



Activación del canal de Ca^{2+} CatSper en diferentes especies de mamíferos

Dr. Julio César Chávez Zamora
Consortio de Fisiología del Espermatozoide

La reproducción sexual involucra la fusión del gameto masculino el espermatozoide, con el gameto femenino, el óvulo. En mamíferos, los espermatozoides deben migrar a lo largo del sistema uterotubal femenino, hasta alcanzar el sitio de fecundación y en donde aguardan los óvulos, el ámpula.

Para llevar a cabo una fecundación exitosa, los espermatozoides deben residir adheridos al epitelio del istmo durante un tiempo determinado, durante el cual experimentan un proceso denominado capacitación. Durante la capacitación, ocurren cambios como un incremento del pH intracelular, una hiperpolarización de la membrana plasmática, incremento del AMPc y un cambio en el batido flagelar denominado hiperactivación.

Durante estos eventos de la capacitación, los canales iónicos son fundamentales. Se ha descrito un canal de Ca^{2+} llamado CatSper exclusivo del espermatozoide, cuya ausencia causa infertilidad masculina. CatSper se activa por alcalinización y voltaje, y es responsable de la hiperactivación de la movilidad.

En primates y quirópteros, la progesterona es un activador de CatSper. Sin embargo, en roedores y artiodáctilos la progesterona no parece modular la actividad de este canal de Ca^{2+} . Por lo tanto, surge la pregunta ¿Cuál o cuáles son los activadores del canal CatSper en estos grupos de mamíferos?

SIMPOSIO DE

VERANO

Jueves 8 de agosto | 16:30h



Bacterias aisladas de una roca de asfalto del Golfo de México son capaces de degradar petróleo a bajas temperaturas

Dra. Libertad Alejandra Adaya García
Departamento de Microbiología Molecular

El Golfo de México es una cuenca que se caracteriza por tener emanaciones naturales de hidrocarburos (HC) lo que lo convierte en un ecosistema cuya diversidad bacteriana está en constante exposición a los HCl. Con el objetivo de aislar bacterias capaces de degradar hidrocarburos en condiciones extremófilas se utilizó una roca de asfalto denominada A43, recolectada a una profundidad de 850 metros durante la campaña COBERPES 09 realizada en el año 2017.

Se enriqueció la población bacteriana almacenando la muestra a 4°C en agua de mar durante 4 meses y posteriormente por secuenciación del ADN utilizando la plataforma de Illumina, se analizó la diversidad bacteriana capaz de crecer en la superficie de la roca de asfalto y el agua circundante. Se identificó una disminución de la diversidad bacteriana después del enriquecimiento, también se observó un aumento en los géneros bacterianos reportados como degradadores de hidrocarburos lo que permitió el aislamiento de cuatro cepas bacterianas: *Idiomarina loihiensis* GOM17, *Pseudomonas xanthomarina* GOM18, *Rhodococcus jialingiae* GOM19 y *Rhodococcus jialingiae* GOM20. Se analizó la capacidad de degradación de las cepas tomando en cuenta el origen y el tratamiento de la muestra, mediante cinéticas de crecimiento con petróleo ligero y mediano como única fuente de carbono, las cepas se incubaron a 4 °C durante 3 meses.

Los resultados obtenidos mediante GC-MS mostraron que ambas cepas del género *Rhodococcus* pueden degradar HC desde C12 hasta C40, mientras que la cepa de *Idiomarina loihiensis* GOM17 tiene la capacidad de consumir HC aromáticos. *Pseudomonas xanthomarina* GOM18 no presentó degradación significativa. Estas cepas fueron secuenciadas y sus genomas fueron analizados mediante la base de datos HADEG2, lo que permitió identificar enzimas relacionadas con la degradación de HC alifáticos y aromáticos que se correlacionan con los resultados de consumo de HC. Adicionalmente se analizó el rango de temperatura de crecimiento de las cepas y se determinó que tienen la capacidad de crecer en un rango de 4 °C a 42 °C lo que sugiere su potencial metabólico para la degradación de HC en distintas condiciones, lo cual es una ventaja importante para futuras aplicaciones biotecnológicas.

Referencias

1. Godoy-Lozano, E. E., Escobar-Zepeda, A., Raggi, L., Merino, E., Gutierrez-Rios, R. M., Juárez, K., ... & Pardo-Lopez, L. (2018). Bacterial diversity and the geochemical landscape in the southwestern Gulf of Mexico. *Frontiers in microbiology*, 9, 2528.
2. Rojas-Vargas, J., Castelán-Sánchez, H.G., Pardo-López, L. (2023) HADEG: A curated hydrocarbon aerobic degradation enzymes and genes database. *Computational Biology and Chemistry*, 107, 107966.

Agradecimientos: DGAPA-PAPIIT (AG-200223). Estancias Posdoctorales por México Convocatoria 2023(1)

SIMPOSIO DE

VERANO

Jueves 8 de agosto | 17:10h



TOR factor esencial para el desarrollo de la simbiosis

Dr. Miguel Lara Flores

La proteína TOR (Target Of Rapamycina) es un regulador maestro del metabolismo, el crecimiento y el ciclo celular en levaduras, animales y plantas. Su actividad depende de las condiciones nutricionales del organismo y esto la hace un posible regulador de las asociaciones simbióticas implicadas en la adquisición de nutrientes.

En este trabajo, estudiamos el papel de esta proteína en el desarrollo de la simbiosis fijadora de nitrógeno entre frijol y Rhizobium. Nuestros resultados muestran que TOR se expresa en todos los tejidos de frijol analizados y que su mayor expresión se encuentra en los meristemas de la raíz y el nódulo.

Durante el desarrollo del nódulo, TOR se expresa a lo largo del hilo de infección y en las células infectadas del nódulo. El silenciamiento génico postranscripcional de TOR mediante ARN de interferencia (ARNi) altera la morfología de los pelos radiculares, el desarrollo del hilo de infección y la división celular del meristemo nodular, lo que resultó en una reducción drástica del número de nódulos. Estos datos sugieren que TOR juega un papel vital en el establecimiento de la simbiosis de los nódulos radiculares en el frijol común.

SIMPOSIO DE

VERANO

Jueves 8 de agosto | 17:40h



Identificación de reguladores globales de la familia LysR en *Salmonella Typhi*

Dr. Víctor Manuel Hernández López

Salmonella enterica serovar Typhi es el agente causal de la fiebre tifoidea, un patógeno exclusivo de humanos. Durante su ciclo de infección *S. Typhi* se adapta a distintas condiciones de estrés, donde los factores transcripcionales (FT) juegan un papel fundamental. Los FT de la familia LysR están ampliamente distribuidos en la naturaleza e involucrados en distintos procesos biológicos. En el genoma de *S. Typhi* se encuentran anotados 44, de los cuales 18 poseen una función asignada y los restantes son proteínas hipotéticas.

Con base en lo anterior, el objetivo del trabajo es identificar la función biológica de estos reguladores, para lo cual se realizaron fusiones transcripcionales determinando que 21 de estos elementos génicos se expresaban en medio mínimo N.

Posteriormente, se crearon 19 mutantes sencillas, las cuales fueron evaluadas en distintas condiciones, demostrado que los genes *sty157*, *sty341*, *sty3158* y *sty0036*, participan en la motilidad, resistencia a la bilis, formación de biofilm y síntesis de porinas. Actualmente, se están evaluando otras condiciones, con la finalidad de discernir en que otros procesos biológicos podrían estar participando.