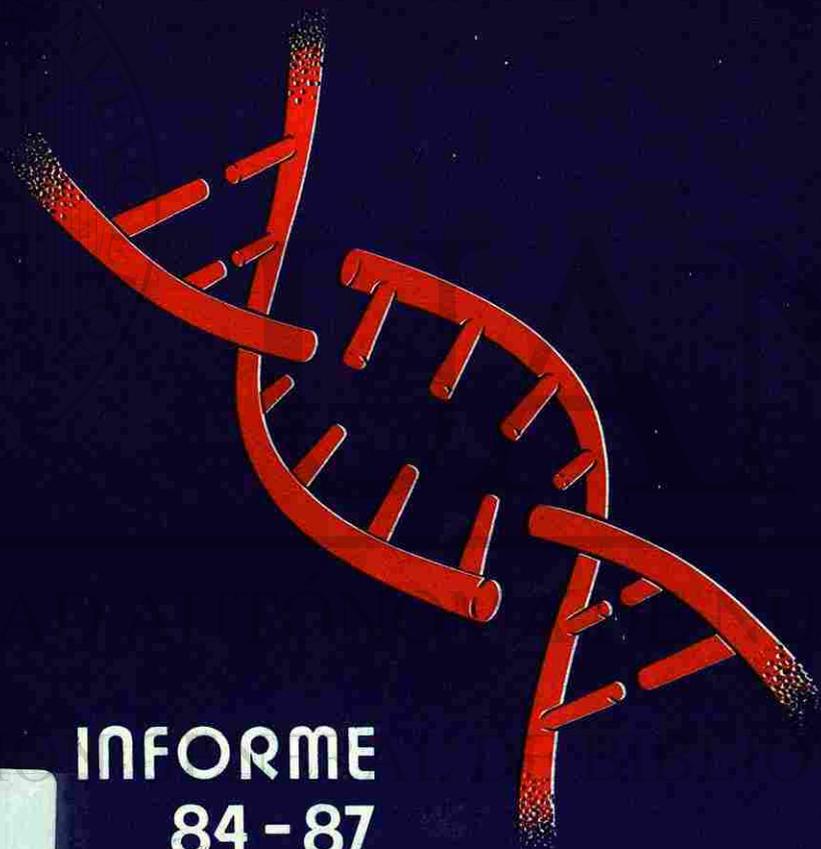


# ULIEG

UNIDAD DE LABORATORIOS DE  
INGENIERIA Y EXPRESION GENETICAS

DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA



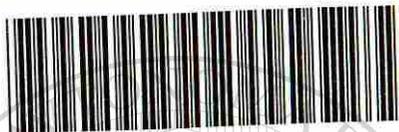
INFORME  
84 - 87

7  
24  
794  
57  
87

FACULTAD DE MEDICINA U.A.N.L.  
1987



7  
24  
794  
57  
87



1020123807



UNIDAD DE LABORATORIOS DE  
INGENIERÍA Y EXPERIMENTACIONES

DEPARTAMENTO DE FÍSICA

U A N L

INFORME  
84-87

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

*Diseño y Fotografías:*

Depto. de Fotografía de la Facultad  
de Medicina de la U.A.N.L.

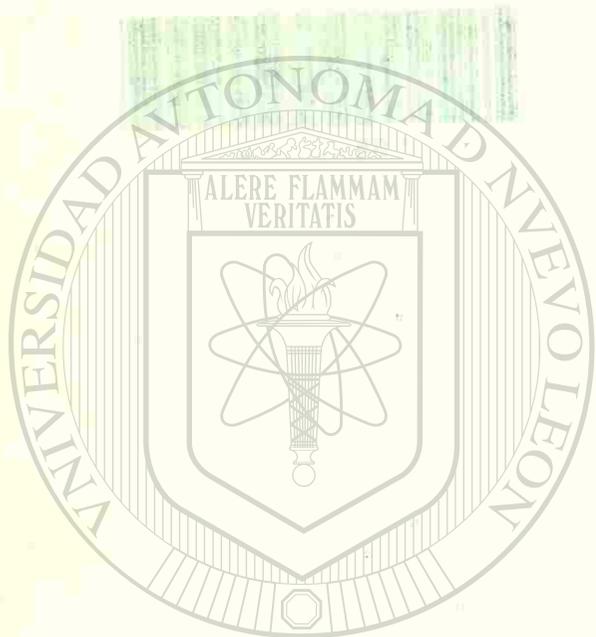


FACULTAD DE MEDICINA U.A.N.L.

m

UNIDAD DE LABORATORIOS DE  
INGENIERIA Y EXPRESION GENETICAS

DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA



**U A N L** **INFORME**  
**84 - 87**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



FACULTAD DE MEDICINA U.A.N.L.

Dirección de Bibliotecas

Depto. de Bibliotecas de la Facultad  
de Medicina de la U.A.N.L.

980834

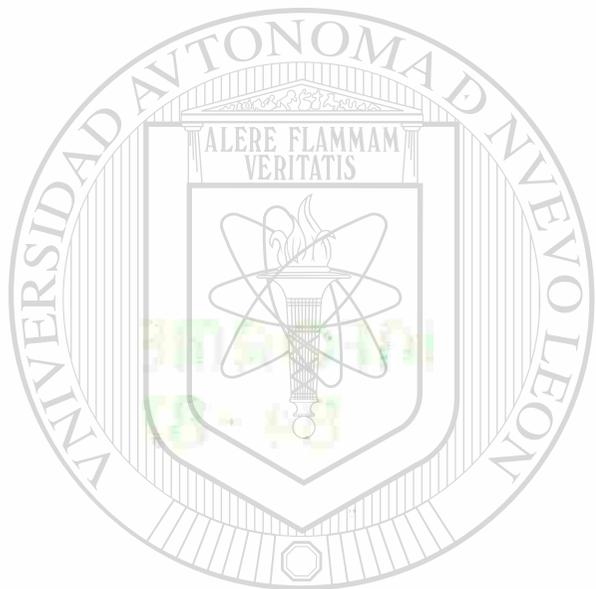
LE7

• L24

• A794

U557

L987



*“No hay dificultad que resista a los embates de una voluntad firme y un trabajo continuo”.*

Dr. José Eleuterio González  
(Gonzalitos)

# UANL



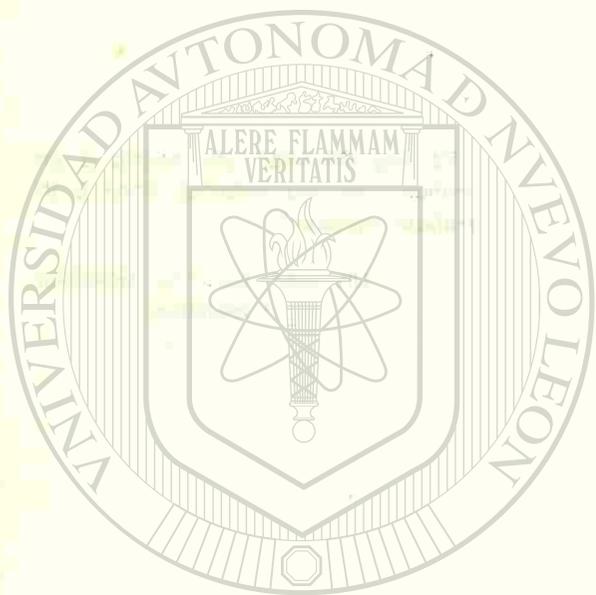
FONDO  
UNIVERSITARIO

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



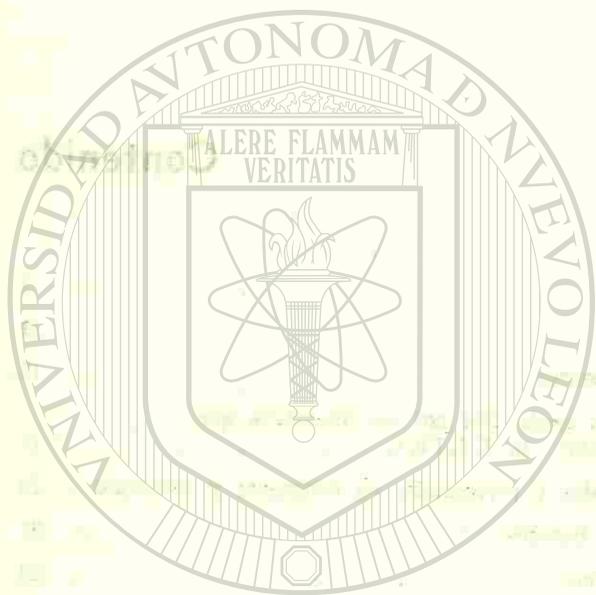
12-I-04 J.N.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## Contenido

Presentación.....	7
Objetivos.....	13
Equipo de colaboradores.....	15
Trabajos publicados desde 1984 por los Miembros que actualmente integramos la U.L.I.E.G.....	17
Resúmenes publicados y presentados en congresos y reuniones..	19
Reconocimientos y honores.....	21
Donativos y convenios.....	23
Líneas de investigación en desarrollo y sus proyectos.....	25
Avances y resultados obtenidos en los proyectos.....	27
Línea 1: Producción de proteínas de importancia Biomédica por Ingeniería Genética.....	27
Línea 2: Diagnóstico molecular de enfermedades.....	30
Línea 3: Genes fósiles.....	32
Línea 4: Ingeniería de Genes y Proteínas.....	36
Formación de recursos humanos.....	43
Docencia.....	51
Colaboraciones e implementación de metodologías.....	55
Profesores y conferencistas invitados.....	63



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA

DIRECCIÓN GENERAL

## PRESENTACION

El impacto que en la ciencia básica ha causado la Ingeniería Genética ha sido dramático. Actualmente se conoce con gran lujo de detalle la estructura molecular de genes de organismos superiores y se ha conseguido un sorprendente avance en el entendimiento de los mecanismos que regulan su expresión. Grandes enigmas de la Biología Molecular, tales como las bases moleculares de la diversidad de anticuerpos y del cáncer, han sido o están siendo elegantemente resueltos. En la industria, el impacto ha sido igualmente dramático, como lo atestigua el surgimiento de cientos de compañías privadas dedicadas a la explotación de esta nueva tecnología para la producción bacteriana de proteínas de importancia biomédica. Recientemente, se han dado ya los primeros pasos hacia la utilización de esta poderosa tecnología para lograr un mejoramiento genético sin precedentes, de especies animales y vegetales, mediante la introducción de genes en células germinales o totipotenciales.

En nuestro país, existimos muy pocos especialistas preparados en el área de ingeniería genética. Científicos y autoridades de mucha visión han iniciado ya un gran esfuerzo para implementar y desarrollar la ingeniería genética en nuestro país. Este importante esfuerzo se ha limitado, en gran parte por la falta de especialistas

en otros campos, al área de los vegetales (Centro de Investigación sobre Fijación de Nitrógeno, U.N.A.M., en Cuernavaca, Morelos, y la Unidad Irapuato del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del I.P.N., en Irapuato, Guanajuato) y al área de producción bacteriana de proteínas de importancia biomédica (Centro de Investigación sobre Ingeniería Genética y Biotecnología de la U.N.A.M., en Cuernavaca, Morelos).

Actualmente se está tratando de conjugar esfuerzos para integrar grupos de especialistas que se dedican a la ingeniería genética de organismos superiores y del humano.

La ingeniería genética se puede aplicar ya en beneficio de la salud de nuestra sociedad. Esto se consigue a través de estudios de detección de genes "enfermos" y su eventual erradicación de nuestra sociedad, del diagnóstico prenatal de padecimientos genéticos e inclusive, la detección oportuna de los diferentes cánceres. Así mismo, no está muy lejos la posibilidad de llevar a cabo terapia genética.

Por todo lo anterior, consideramos en 1984 que era una necesidad de máxima prioridad para nuestro país desarrollar laboratorios de ingeniería genética en todas sus especialidades y, en particular, en las áreas que no se habían implementado en nuestro medio como era el caso de nuestra Unidad de Laboratorios.

Por otro lado, habiéndose concebido la creación de la U.L.I.E.G. (Unidad de Laboratorios de Ingeniería y Expresión Genéticas) en una Facultad de Medicina como la nuestra, con reconocido prestigio académico nacional e internacional, consideramos que era nuestra obligación realizar el esfuerzo pionero de impulsar el desarrollo en nuestra región de las áreas de más dramáticos cambios y avances científicos de los años recientes: La Biología Molecular e Ingeniería Genética de organismos superiores.

Han transcurrido ya casi tres años desde que se inició la implementación de la U.L.I.E.G. En este tiempo, he tenido la fortuna de poder aglutinar a mi alrededor un equipo de colaboradores, lo cual considero el logro más importante que he conseguido. Ha sido gracias a ellos que hemos podido no solo iniciar, sino también avanzar en nuestros ambiciosos planes académicos y de investigación pioneros en su naturaleza en el norte del país.

Los modestos logros que hemos alcanzado hubieran sido imposibles sin el valioso, decidido y entusiasta apoyo de las siguientes personas:

Dr. Alfredo Delgado Arredondo, ex-jefe de nuestro Departamento de Bioquímica.

Dra. Graciela López de Garza, subdirectora de pregrado de nuestra Facultad.

Dr. Oliverio Welsh Lozano, ex-subdirector de Investigación y Estudios de Postgrado de esta Facultad.

De gran valor fueron los apoyos y confianza depositados en nuestro grupo por las siguientes instituciones y autoridades:

Dr. Ariel Valladares y su equipo de colaboradores de la Dirección General de Investigación Científica y Superación Académica de la S.E.P.

Dr. Manuel Ortega O., Subsecretario de Educación e Investigación Tecnológica de la S.E.P.

Fondo de Estudios e Investigaciones Ricardo J. Zevada.

Una lista grande de investigadores de diferentes universidades nacionales y extranjeras nos han brindado en repetidas ocasiones su ayuda, estamos muy agradecidos con ellos, especialmente de aquellos con los que mantenemos excelentes relaciones:

Dr. Grady F. Saunders                      Hospital M.D. Anderson,  
Houston, Texas

Dr. Tien Kuo

Dra. Isaura Meza                              Centro de Investigación y  
Estudios Avanzados del I.P.N.

Dr. Patricio Gariglio

Dr. Federico Sánchez A.                      Centro de Investigación sobre  
Fijación de Nitrógeno de la  
U.N.A.M.

Dr. Francisco Bolívar Z. Centro de Investigación sobre  
Ingeniería Genética y Biotecnología

Dr. Xavier Soberón ”

Dr. Antonio Velázquez Instituto de Investigaciones  
Biomédicas de la U.N.A.M.

Dr. Francisco J. Sánchez A. Laboratorios Clínicos de Puebla

Dr. Alejandro Ruiz ”

Dr. Pierre Chambon CNRS, Estrasburgo, Francia

Dr. Hans Matthes ”

Queremos también agradecer a todos aquellos departamentos de esta Facultad de Medicina por la ayuda que en múltiples ocasiones nos han brindado. En particular a los Departamentos de Microbiología, Química Analítica, Inmunología, Encuadernación, Biblioteca y al Departamento de Farmacología y Toxicología. La desinteresada ayuda que hemos recibido especialmente de estos últimos dos departamentos, ha incluido valiosos donativos de reactivos, materiales y equipos. De la misma manera expresamos nuestra gratitud al Departamento de Investigaciones y Proyectos de la Rectoría de la U.A.N.L. por su valiosa colaboración en la adquisición e importación de materiales y equipos de laboratorio, y a los Departamentos de Mantenimiento de nuestra Facultad y Hospital Universitario por sus múltiples apoyos.

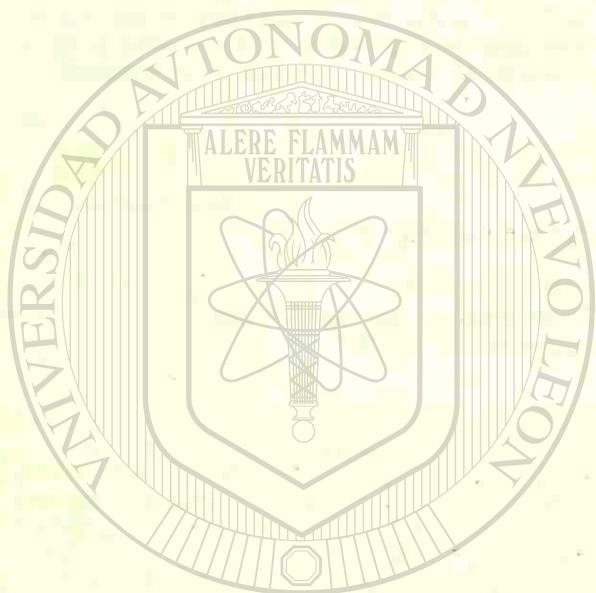
Aún no ha concluido la implementación de la U.L.I.E.G. Los modestos logros que hemos alcanzado hasta ahora se deben no solo al gran empeño que le hemos dedicado, sino también a la ayuda que nos han brindado todos los sistemas de apoyo en los que está inmersa la U.L.I.E.G. Sin embargo, para alcanzar las metas que nos hemos fijado, se requerirá todavía de un gran esfuerzo nuestro, que deberá estar aunado a propósitos de mejorar sustancialmente la imagen de la docencia en postgrado en ciencias básicas y la investigación científica de nuestra institución.

El presente informe pretende darle una identidad a nuestro esfuerzo, agradecer a las personas e instituciones que nos han apoyado y brindado su confianza y responde a la ausencia del foro adecuado para este propósito en la organización de nuestra institución.

A continuación informo sobre las actividades desempeñadas hasta el presente por el equipo de investigadores que integramos la U.L.I.E.G., quienes reiteramos a nuestros colegas nuestros mejores deseos de colaborar y contribuir para impulsar el academismo y la excelencia en la investigación de nuestra Facultad y Universidad.

A t e n t a m e n t e ,

Biól. y Ph. D. Hugo A. Barrera Saldaña,  
Investigador Nacional.

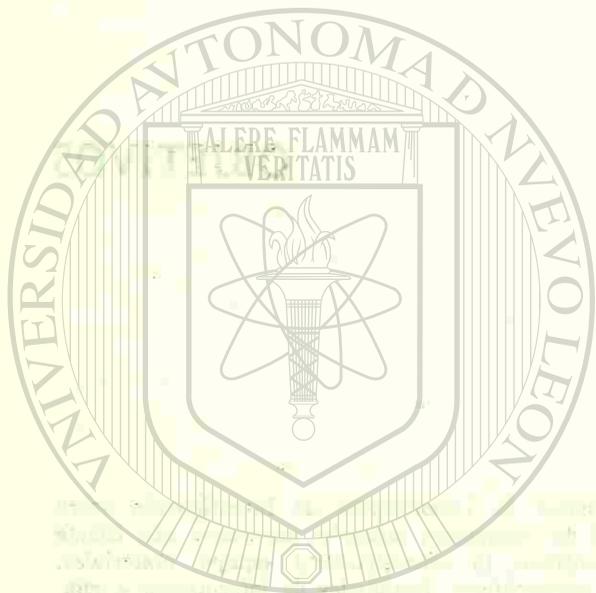


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## OBJETIVOS

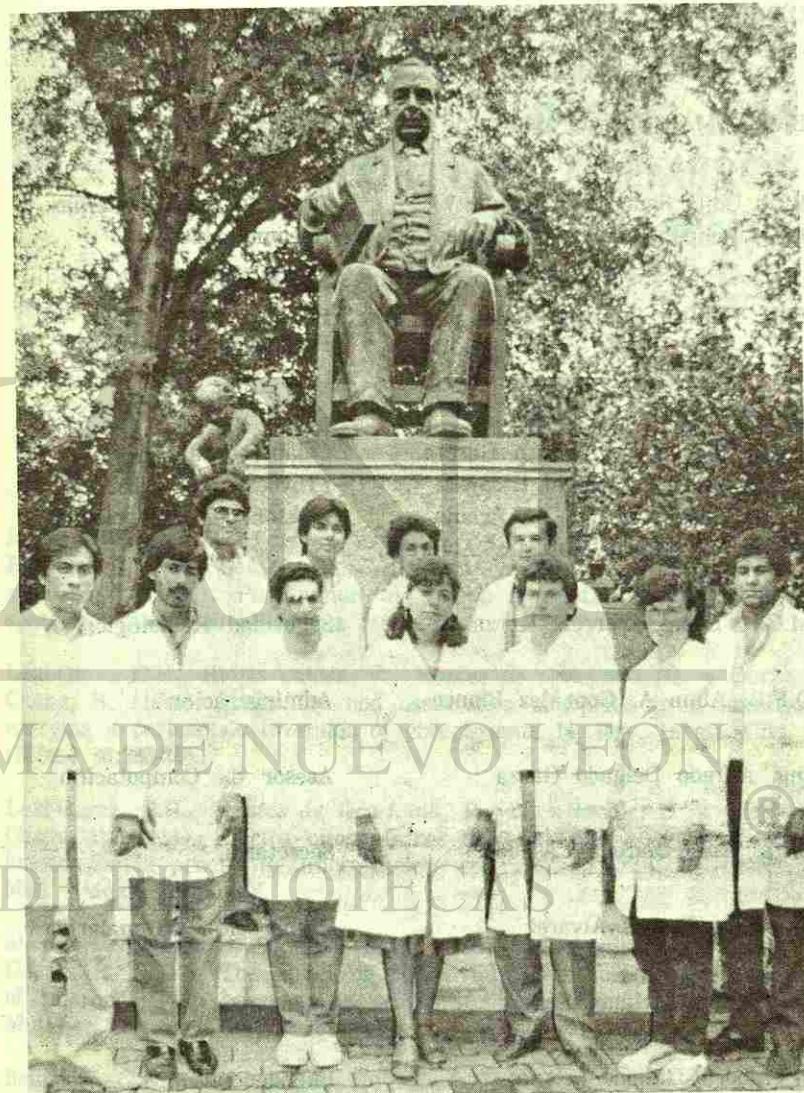
- 1.—Desarrollar una Unidad de Laboratorios de Investigación sobre Ingeniería Genética de organismos animales superiores que cuente con el personal científico, la infraestructura, equipo, materiales, reactivos, acervos bibliográficos, facilidades de informática y computación, que nos permita llevar a cabo investigación de excelencia en este campo.
- 2.—Formar especialistas a nivel de postgrado altamente capacitados en el dominio y utilización de las técnicas de Ingeniería Genética.
- 3.—Difundir e impulsar el uso de estas metodologías en nuestro medio para la solución de problemas de salud y nutrición.
- 4.—Contribuir al conocimiento de la Biología Molecular del genoma humano.
- 5.—Hacer partícipes a nuestros egresados de pre y postgrado de los enormes potenciales que ofrecerán en un futuro muy cercano los conocimientos y técnicas de la Ingeniería Genética en el campo de la salud humana.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## EQUIPO DE COLABORADORES



PERSONAL

RESPONSABILIDAD

Q.B.P. y D.C. Herminia Martínez R. Postgrado y Cultivo Celular

Q.B.P. y M.C. Diana Reséndez P. Proyecto sobre regiones funcionales de hGH

Biól. y M.C. Roberto Montes de Oca L. Proyecto sobre Genes Fósiles

Biól. Odila Saucedo Cárdenas y Biól. Felipe Amaya Manzanares Proyecto sobre Proteínas Recombinantes

Biól. Ramiro Ramírez Solís Proyecto sobre el Pseudogen hPL-1

Q.B.P. Julie B. Silva Cudish  
L.C.B. Blanca E. Alemán García  
L.C.B. Ma. del Refugio Hinojosa G.  
Q.F.B. Rosa Ramírez de Araujo  
Q.F.B. Ma. Adela Martínez Alvarez  
Colaboradoras en el Proyecto sobre Errores Innatos del Metabolismo

M.C.P. Irma Villarreal Garza Seguridad Radiológica

Q.F.B. Alma A. González Blanco Administración

Ing. Alfredo Delgado Garza Asesor de Computación

Srita. Irma Quiroga Casados Secretaria

Sr. Raúl Ramos Alvarez Preparación de materiales

Sr. Jesús Rodríguez Santos Intendencia

Sr. Alberto Galindo Lerma Intendencia

TRABAJOS PUBLICADOS  
DESDE 1984  
POR LOS MIEMBROS  
QUE ACTUALMENTE  
INTEGRAMOS LA U.L.I.E.G.

*Reséndez-Pérez, D., Barrera-Saldaña, H.A., Morales-Vallarta, M.R., Ramírez Bon, E., Leal-Garza, C.H., Feria-Velasco, A. y Sánchez-Anzaldo, F.J. (1984). Purification of human placental nuclei by low speed centrifugation. Placenta 5:523-532.*

*Leal-Garza C.H., Riojas-Valdez, V., Montes de Oca-Luna, R. y Garza Chapa, R. (1984). Frequency and association of NOR's in a family carrying a pericentric inversion of chromosome 14. Rev. Invest. Clin. (Méx.) 36:283-286.*

*Leal-Garza, C.H., Montes de Oca-Luna, R., Baca-Sevilla, S. y Garza-Chapa, R. (1984). Efectos citogenéticos del timidazol y emetina evaluados por la prueba de micronúcleos en ratones. Arch. de Invest. Med. (Méx.) 15:311-316.*

*Montes de Oca-Luna, R., Leal-Garza, C.H., Baca-Sevilla, S. y Garza-Chapa, R. (1984). The effect of diphenylhydantoin on the frequency of micronuclei in bone-marrow polychromatic erythrocytes of mice. Mutation Research 141:183-187.*

*Saunders, G.F., Calabretta, B., Robberson, D.L., Barrera-Saldaña, H.A.*

and Lambrou, T.P. (1984). DNA restriction fragment length polymorphisms in human leukemic leukocytes. En "Research Perspectives in Cytogenetics". University Press. Baltimore, M.D. Pág. 1-16.

Baty, D., Barrera-Saldaña, H.A., Everett, R.D., Vigneron, M. y Chambon, P. (1984). Mutational dissection of the 21bp repeat region of the SV40 early promoter reveals that it contains overlapping elements of the early-early and late-early promoters. *Nucleic Acid Res.* 12:915-932.

Vigneron, M., Barrera-Saldaña, H.A., Baty, D., Everett, R.D. y Chambon, P. (1984). Effect of the 21bp repeat upstream element on *in vitro* transcription from the early and late SV40 promoters. *EMBO J.* 3:2372-2382.

Wildeman, A., Zenke, M., Schatz, C., Takahashi, K., Barrera Saldaña, H.A., Gunstrom, T., Wintzerith, M., Vigneron, M. y Chambon, P. (1985). SV40 promoter. En "Eucaryotic Transcription: The role of cis and trans acting elements in initiation". Editado por Yakov Gluzman. Cold Spring Harbor, Pág. 19-26.

Gidoni, D., Kadonaga, T., Barrera-Saldaña, H.A., Takahashi, K., Chambon, P. y Tjian, R. (1985). Bidirectional SV40 transcription mediated by tandem Sp1 binding interactions. *Science* 230:511-517.

Barrera-Saldaña, H.A., Takahashi, K., Vigneron, M., Wildeman, A., Davidson, I y Chambon, P. (1985). All six GC-motifs of the SV40 early upstream element contribute to promoter activity *in vivo* and *in vitro*. *EMBO J.* 4:3839-3849.

## RESUMENES PUBLICADOS Y PRESENTADOS EN CONGRESOS Y REUNIONES

Diana Reséndez Pérez, Salvador Said Fernández y Fco. Javier Sánchez Anzaldo. Inhibición por plomo de la síntesis de RNA en núcleos de placenta humana. VIII Congreso Nacional de Farmacología. Monterrey, N. L., México, Marzo de 1984.

Barrera-Saldaña, H.A., Takahashi, K. y Chambon, P. El papel de la región del 21 pares de bases en la expresión de los genes tempranos de SV40. XV Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Bioquímica. Morelia, Mich., México, Noviembre de 1984.

Diana Reséndez Pérez, Salvador Said Fernández y Fco. Javier Sánchez Anzaldo. Inhibición por plomo de la síntesis *in vitro* de RNA de núcleos de placenta humana. Desarrollo de un modelo experimental. IV Encuentro Regional de Investigación Biomédica. Monterrey, N. L., México, Octubre de 1985.

R. Montes de Oca Luna, G. Martínez Tovar, F. Amaya Manzanares, M.C. Salinas Carmona, M.A. Garza Elizondo, A. Delgado Arredondo y H.A. Barrera Saldaña. Genes para uricasa en humanos: Preparación de rastreadores moleculares. IV Encuentro Regional de Investigación Biomédica. Monterrey, N. L. Octubre de 1985.

J. Carlos Garza, J. A. Heredia, R. Mercado y R. Montes de Oca. Sensibilidad celular de médula ósea de ratón (*Mus musculus* línea CDI) a dosis bajas de radiaciones gamma ( $^{60}\text{Co}$ ) detectada mediante la prueba de micronúcleos. IV Encuentro Regional de Investigación Biomédica. Monterrey, N. L., México. Octubre de 1985.

E.L. Cab Barrera y H.A. Barrera Saldaña. Construcción de un nuevo vehículo para clonación y análisis de la expresión de genes eucarióticos. XVI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Bioquímica. Jalapa, Ver., México. Noviembre de 1986.

R. Ramírez Solís y H.A. Barrera Saldaña. ¿Es el gen humano hPL-1 un pseudogen? XVI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Bioquímica. Jalapa, Ver., México. Noviembre de 1986.

D. Reséndez Pérez, S. Said Fernández, F.J. Sánchez Anzaldo y H.A. Barrera Saldaña. Inhibición por plomo de la síntesis *in vitro* de RNA de núcleos aislados de placenta humana. XVI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Bioquímica. Jalapa, Ver., México. Noviembre de 1986.

J.B. Silva Cudish B.E. Alemán García, R. Ramírez Hernández, M.R. Hinojosa Garza, M.A. Martínez Hernández, J.D. Gutiérrez Gómez y H.A. Barrera Saldaña. Establecimiento de un sistema de diagnóstico de errores innatos del metabolismo en recién nacidos del Hospital Universitario "Dr. José E. González" en Monterrey, N. L. XI Congreso Nacional de Genética Humana. Puebla, Pue., México. Noviembre de 1986.

R. Ramírez Solís y H.A. Barrera Saldaña. Genética en reversa en el complejo genético de hGH y hPL. XI Congreso Nacional de Genética Humana. Puebla, Pue., México. Noviembre de 1986.

D. Reséndez Pérez, S. Said Fernández, F.J. Sánchez Anzaldo y H.A. Barrera Saldaña. Inhibición total por efecto del plomo de la transcripción *in vitro* de RNA en núcleos aislados de placenta humana. XI Congreso Nacional de Genética Humana. Puebla, Pue., México. Noviembre de 1986.

E.L. Cab Barrera y H.A. Barrera Saldaña. pUANL: un nuevo vector para la clonación y el análisis de expresión de genes eucarióticos. XI Congreso Nacional de Genética Humana. Puebla, Pue., México. Noviembre de 1986.

## RECONOCIMIENTOS Y HONORES

Nuestra máxima satisfacción consiste en haber recibido en 1984 y 1985 los premios a los mejores trabajos de investigación en las áreas de la Ciencias de la Salud (1984) y Naturales (1985), otorgados por el H. Consejo Universitario de la U.A.N.L.

Especialmente honroso y satisfactorio ha sido el reconocimiento nacional que se nos ha concedido al considerar a tres de nosotros dignos de pertenecer al Sistema Nacional de Investigadores. En 1984 un servidor recibió el reconocimiento como Investigador Nacional; en 1985 el Biól. y M.C. Roberto Montes de Oca L. pasó a ser candidato a Investigador Nacional y, en 1986, fue aceptada la Q.B.P. y M.C. Diana Reséndez P., también como candidato a Investigador Nacional.

Ha sido también muy halagador el recibir invitaciones por parte del CINVESTAV, IPN, así como de la UNAM, del Instituto Tecnológico de Ciudad Victoria, Tamaulipas y de la Universidad de Texas en Houston para impartir cursos y conferencias en sus dependencias.



Consideramos también un reconocimiento que nos honra el hecho de que tanto la S.E.P., la Fundación Ricardo J. Zevada y, recientemente, el CONACYT, hayan aprobado y apoyado económicamente nuestros proyectos de investigación. Así mismo nos enorgullece que nuestra Universidad haya reconocido oficialmente y otorgado la legalidad correspondiente a nuestros programas de postgrado.

## DONATIVOS Y CONVENIOS

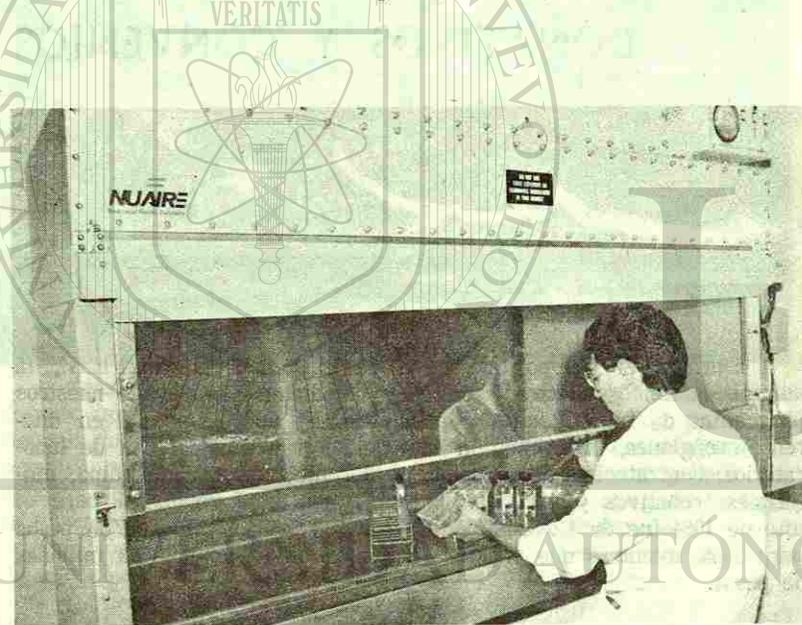
Durante el tiempo que lleva de existencia la U.L.I.E.G., la administración de nuestra Facultad de Medicina ha apoyado nuestros programas de investigación y postgrado. El apoyo ha sido en diferentes renglones, incluyendo la remodelación y construcción de laboratorios, contratación de personal no docente; apoyo con equipo, materiales, reactivos y viáticos. El apoyo en estos renglones para el año de 1984 fue de 1.0 millones de pesos y de 1.9 millones de pesos para 1985, mientras que en 1986 recibimos un apoyo por 1.8 millones de pesos.

En 1984, como respuesta al Programa Nacional de Educación Superior (PRONAES) formulado por la Subsecretaría de Educación Superior e Investigación Científica de la SEP, se logró obtener un apoyo económico por la cantidad de 8.8 millones de pesos para el desarrollo de nuestro proyecto sobre genes fósiles.

En 1985 y bajo el mismo programa PRONAES se consiguieron apoyos por 10.5 millones de pesos para la continuación del proyecto sobre genes fósiles y para el establecimiento de un laboratorio de cultivo celular y de embriones. El mismo programa en 1986 nos apoyó con 1.09 millones de pesos.

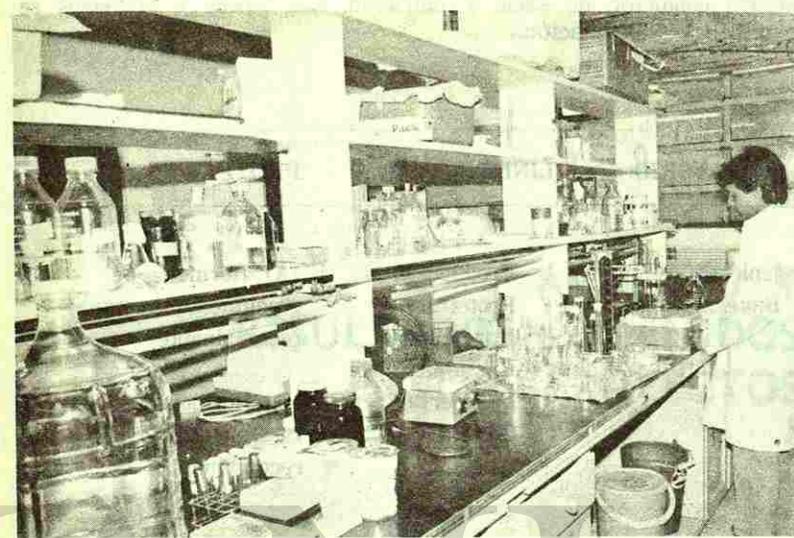
También en 1985, nuestro proyecto sobre el desarrollo de la Unidad de Laboratorios de Investigación sobre Ingeniería y Expresión Genéticas en humanos fue merecedor de un donativo de 4.5 millones de pesos por parte del Fondo de Estudios e Investigaciones Ricardo J. Zevada.

Junto con los Dres. Meza y Gariglio se escribió el proyecto colaborativo de investigación titulado: "Desarrollo, Implementación e Intercambio de Técnicas de Ingeniería Genética". Nuestros laboratorios recibieron la cantidad de 1.7 millones de pesos por concepto del apoyo otorgado a este proyecto por parte del Consejo del Sistema Nacional de Educación Tecnológica (COSNET) de la SEP.



Finalmente, y como una contraparte de los premios de investigación otorgados a mi persona en 1984 y 1985 por parte del Consejo Universitario de la UANL, nuestro Departamento recibió 3 millones de pesos en 1984 y 4 millones de pesos en 1985 para apoyar nuestros programas de investigación.

En resumen, el apoyo económico para infraestructura experimental que nos otorgó la Facultad de Medicina en estos dos años y medio consistió en 4.7 millones de pesos, mientras que el apoyo externo ascendió a la cantidad de 33.6 millones de pesos.



## LÍNEAS DE INVESTIGACION EN DESARROLLO Y SUS PROYECTOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
DE BIBLIOTECAS

Dados los objetivos que nos planteamos, hemos enfocado nuestro esfuerzo a aplicar *técnicas bioquímicas*, de *cultivo celular* y de *ingeniería genética* a cuatro líneas principales de investigación. Los proyectos de investigación específicos dentro de estas cuatro líneas están encaminados a producir resultados susceptibles de ser aplicados a corto, mediano y largo plazo, para el mejoramiento de

nuestra condición de salud y nutrición. Las líneas y proyectos se describen a continuación.

LABORATORIO	LÍNEA	PROYECTO
Ingeniería Genética y Biotecnología	1.—Producción de Proteínas de Importancia Biomédica por Ingeniería Genética	1A) Hormona de crecimiento humana recombinante 1B) Hormona de crecimiento bovina recombinante
Medicina Molecular	2.—Diagnóstico molecular de enfermedades	2) Errores Innatos del Metabolismo
Manipulación y Expresión de Genes	3.—Genes Fósiles	3) Investigación de la presencia de genes "fósiles" en el genoma humano
	4.—Ingeniería de Genes y Proteínas	4A) Localización de regiones funcionales en la hormona de crecimiento humana 4B) ¿Es el gen humano hPL-1 un pseudogen?

## AVANCES Y RESULTADOS OBTENIDOS EN LOS PROYECTOS

### Línea 1: PRODUCCION DE PROTEINAS DE IMPORTANCIA BIOMEDICA POR INGENIERIA GENETICA

Proyectos: 1A) Producción de hormona de crecimiento humana (hGH) recombinante

1B) Producción de hormona de crecimiento bovina (bGH) recombinante

Resumen: Las hormonas de crecimiento de mamíferos son proteínas de alrededor de 191 aminoácidos responsables de su crecimiento corporal. Son sintetizados en el lóbulo anterior de la hipófisis y están involucradas en la regulación de diversos procesos metabólicos que incluyen el metabolismo del nitrógeno, lípidos, minerales y carbohidratos.

El uso de las técnicas de la Ingeniería Genética ha permitido la clonación y expresión de diversos genes eucarióticos en bacterias y con ello se ha logrado la producción, por fermentación bacteriana, de proteínas de interés para la medicina y la agroindustria a menor costo y en abundancia.

nuestra condición de salud y nutrición. Las líneas y proyectos se describen a continuación.

LABORATORIO	LÍNEA	PROYECTO
Ingeniería Genética y Biotecnología	1.—Producción de Proteínas de Importancia Biomédica por Ingeniería Genética	1A) Hormona de crecimiento humana recombinante 1B) Hormona de crecimiento bovina recombinante
Medicina Molecular	2.—Diagnóstico molecular de enfermedades	2) Errores Innatos del Metabolismo
Manipulación y Expresión de Genes	3.—Genes Fósiles	3) Investigación de la presencia de genes "fósiles" en el genoma humano
	4.—Ingeniería de Genes y Proteínas	4A) Localización de regiones funcionales en la hormona de crecimiento humana 4B) ¿Es el gen humano hPL-1 un pseudogen?

## AVANCES Y RESULTADOS OBTENIDOS EN LOS PROYECTOS

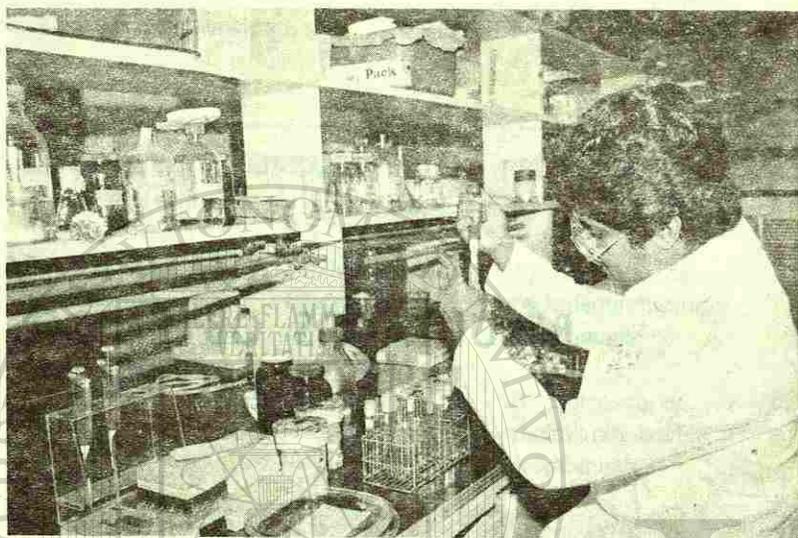
### Línea 1: PRODUCCION DE PROTEINAS DE IMPORTANCIA BIOMEDICA POR INGENIERIA GENETICA

Proyectos: 1A) Producción de hormona de crecimiento humana (hGH) recombinante

1B) Producción de hormona de crecimiento bovina (bGH) recombinante

Resumen: Las hormonas de crecimiento de mamíferos son proteínas de alrededor de 191 aminoácidos responsables de su crecimiento corporal. Son sintetizados en el lóbulo anterior de la hipófisis y están involucradas en la regulación de diversos procesos metabólicos que incluyen el metabolismo del nitrógeno, lípidos, minerales y carbohidratos.

El uso de las técnicas de la Ingeniería Genética ha permitido la clonación y expresión de diversos genes eucarióticos en bacterias y con ello se ha logrado la producción, por fermentación bacteriana, de proteínas de interés para la medicina y la agroindustria a menor costo y en abundancia.



Así, se ha logrado la producción por fermentación bacteriana de hormona de crecimiento humana (hGH) y hormona de crecimiento bovina (bGH). A pesar de que las hormonas recombinantes poseen un residuo de metionina extra en su extremo N-terminal, generado por el proceso de ingeniería y clonación, sus actividades biológicas se mantienen normales.

Dada la enorme utilidad e importancia que representan bGH y hGH, los presentes proyectos tienen como metas sintetizar enzimáticamente (con la ayuda de transcriptasa inversa) el DNA complementario (DNAc) al RNA mensajero (RNAm) para cada una de estas hormonas y clonarlos en vectores de expresión bacterianos.

Esta información genética se usará para programar bacterias (*E. coli*) para que, por fermentación, produzcan cantidades abundantes de hGH y bGH recombinantes.

**Avances:** Hemos estado colectando hipófisis humanas extremando precauciones con el fin de obtener el tejido en el mejor estado posible. Para evitar la degradación de los ácidos ribonucleicos, las hipófisis son recuperadas en el mejor estado posible y se mantienen almacenadas en nitrógeno líquido. Mientras tanto, usando tejido de placenta humana como

modelo, hemos estandarizado los procedimientos para la extracción de RNA total y para la obtención de los RNAs mensajeros, con resultados satisfactorios. Así mismo, con la colaboración del Dr. Hans Matthes, del laboratorio del Profesor Pierre Chambon en Estrasburgo, Francia, se ha sintetizado químicamente un oligonucleótido complementario al extremo 3' del RNAm para hGH. Este oligonucleótido nos servirá de iniciador en la síntesis enzimática específica del DNA complementario al RNAm para hGH, paso crítico previo a la clonación molecular de esta información genética.

Por lo que respecta al proyecto sobre bGH y dada la mayor accesibilidad del tejido hipofisiario bovino, hemos alcanzado las siguientes metas: 1) Se colectaron aproximadamente 40 g de tejido, 2) una vez estandarizadas las técnicas para la purificación de RNA totales, se procesaron aproximadamente 30 g de tejido obteniéndose alrededor de 28 mg de RNA totales, 3) se caracterizó este RNA tanto por técnicas espectrofotométricas de luz ultravioleta como por electroforesis en gel, apreciándose en los resultados el buen estado del mismo, 4) se ha estandarizado la técnica de cromatografía de afinidad para la purificación de los RNA mensajeros, y 5) se han realizado ensayos preliminares de la síntesis enzimática de DNA complementario con buenos resultados, atestiguados tanto por una buena producción ( $\sim 30\%$ ) como por la longitud (1,500 nucleótidos en promedio) del DNAc sintetizado *in vitro*.

Por otra parte, recientemente estuvimos en el Centro de Investigación sobre Ingeniería Genética y Biotecnología de la U.N.A.M. en la ciudad de Cuernavaca, Morelos para realizar la síntesis química y la purificación de cuatro oligonucleótidos que nos servirán de adaptadores en la clonación molecular del DNAc de bGH.

Finalmente, se está trabajando en la construcción de derivados tanto del plásmido pBR322 como pUC18, con el propósito de generar los vehículos de clonación requeridos para realizar las manipulaciones de ingeniería genética involucradas en la estrategia que hemos diseñado para la clonación molecular y la expresión del DNAc de la bGH madura.



## Línea 2: DIAGNOSTICO MOLECULAR DE ENFERMEDADES

### Proyecto 2: Errores Innatos del Metabolismo.

**Resumen:** Los errores innatos del metabolismo, que incluyen a las aminoacidopatías, son enfermedades cuyas características clínicas y bioquímicas se atribuyen a mutaciones genéticas. Estas conducen ya sea a una alteración en la función catalizadora de una enzima específica de la vía metabólica de algún aminoácido, o a cambios en la función de proteínas no enzimáticas. Este tipo de padecimientos a pesar de ser de origen genético y generalmente causantes de retraso mental, se pueden controlar mediante una dieta adecuada. Por ello es importante diagnosticarlas tempranamente para prevenir la aparición de daños irreversibles. Debido a esto y a que se desconoce la incidencia de diversas aminoacidopatías (como son: fenilcetonuria, enfermedad de orina de jarabe de arce, homocistinuria y tirosinemia) en la ciudad de Monterrey, hemos decidido realizar un estudio que abarcará dos

etapas. La primera consistiría en detectar algunas aminoacidopatías en niños hipotróficos. Con los datos que se obtengan de esta primera etapa, se podrá fundamentar y llevar a cabo la segunda etapa que consistirá en realizar un tamizaje de diversas aminoacidopatías en la población general de recién nacidos en el Hospital Universitario "Dr. José E. González". Este estudio nos permitirá consolidar el establecimiento de un centro de referencia para el diagnóstico oportuno de errores innatos del metabolismo en la región noreste de nuestro país. Hemos iniciado la primera etapa de este trabajo tomando muestras de sangre de niños hipotróficos a la semana de nacidos, las cuales analizamos por cromatografía unidimensional. En caso necesario, se ampliarán estos estudios empleando tanto cromatografía uni y bidimensional como pruebas químicas cualitativas con muestras de orina.



**Avances:** Los resultados obtenidos desde Septiembre 8 de 1986 hasta la fecha son los siguientes:

Se han analizado 137 niños hipotróficos que incluyen tanto de 6 a 8 días de nacidos como de mayor edad (hasta 3 meses).

Del total de niños estudiados, 101 fueron detectados normales a través de la cromatografía unidimensional de sus muestras de sangre. A 18 niños se les tuvo que ampliar su estudio con una muestra de orina la cual se analizó mediante pruebas bioquímicas y cromatografía en capa fina bidimensional. Los resultados de éstos fueron normales.

Nos quedan por confirmar los estudios a 5 niños, ya que al realizar la cromatografía unidimensional de sangre se detectó un aminoácido elevado en ambos casos. Por ello, en estos momentos estamos en proceso de localizarlos en sus domicilios para coleccionar una muestra de orina y poder ampliar su estudio mediante las pruebas bioquímicas empleadas para la detección de algunas aminoacidopatías y la cromatografía en capa fina bidimensional.

Paralelamente a los estudios realizados en niños hipotróficos, se han estado llevando a cabo estudios en niños considerados de alto riesgo, cuyas muestras nos llegan al laboratorio procedentes de Urgencias Pediátricas del Hospital Universitario, así como de otras instituciones (DIF, ISSSTE, consultorios particulares, etc.).

Los resultados obtenidos de estos estudios son los siguientes:

El total de niños de alto riesgo que ha sido sujeto al tamiz metabólico es de 92, de los cuales 88 resultaron normales, uno con resultados sospechosos (al cual se le está localizando para realizarle estudios confirmativos) y tres resultaron estar afectados. De estos últimos tres, uno resultó con prolinemia y los dos restantes con la enfermedad de orina de jarabe de arce.

### Línea 3: GENES FOSILES

Proyecto 3: Investigación de la presencia de Genes "Fósiles" en el genoma humano.

Resumen: *Planteamiento del problema.*—En la mayoría de los mamíferos, el producto final de la degradación de las purinas es la alantoína, la cual resulta de la acción de la uricasa

sobre el ácido úrico. Sin embargo, en el humano, debido a la ausencia de actividad de uricasa, el ácido úrico se acumula pudiendo ocasionar padecimientos como la gota.

El propósito de esta investigación es el de establecer las bases moleculares que expliquen la desaparición de la actividad de uricasa en la especie humana (o en el transcurso de la evolución del humano). Para cumplir con este propósito son dos los objetivos experimentales más inmediatos: 1) determinar si en el hígado humano se sintetiza la enzima uricasa en forma inactiva, y 2) determinar si en el genoma humano se conservó una secuencia génica que codifique para uricasa.

Avances: *Objetivo experimental No. 1.*—La estrategia para cumplir con este objetivo es producir antisuero contra dos uricasas de mamíferos (rata y cerdo) y usarlos como rastreadores para determinar si en el hígado humano se produce una proteína homóloga a ellos.



Se ha logrado producir antisuero monoespecífico contra la uricasa de cerdo (de la empresa Sigma Chemical Co.) y contra uricasa de rata. Esta última se purificó de acuerdo al procedimiento descrito por Watanabe y Suga en 1977; la proteína obtenida con este procedimiento se sometió a un gel de poliacrilamida-SDS del cual se electroeluyó la banda correspondiente a uricasa. Con ambas uricasas se inmunizaron conejos, determinándoseles la producción de anticuerpos mediante un Ouchterlony. Utilizando el procedimiento del "Western blotting", a los antisueros se les determinó su especificidad haciéndolos reaccionar contra extractos de hígado de rata y cerdo, según correspondiera. Finalmente, con el mismo procedimiento de Western blotting, estos antisueros se reaccionaron contra extractos de hígado humano, rata y cerdo. Los resultados preliminares indican que en el hígado humano se encuentra presente una proteína que pueda ser reconocida por nuestros anticuerpos contra uricasa de cerdo y rata.



*Objetivo experimental No. 2.*—La estrategia para cumplir con este objetivo es obtener el DNA complementario (DNAc) al RNA mensajero (RNAm) de uricasa de rata, y con este DNAc determinar por hibridización de ácidos nucleicos si se encuentra en el genoma humano un gen homólogo al gen de la uricasa murina.



El DNAc se obtendrá a partir de un banco de expresión conteniendo los DNAs complementarios a los RNAs mensajeros de hígado de rata, clonados en vectores fágicos.

Con la finalidad de aislar del banco el DNAc para uricasa murina usando una sonda radiactiva, se probó si el gen de la uricasa de soya (única especie de donde hasta ahora se ha podido aislar el gen de la uricasa) podría hibridizar con el RNAm de uricasa de rata. Para esto se realizó lo siguiente:

Se purificaron RNAs mensajeros de hígado de rata y cerdo y mediante el procedimiento de Northern se inmovilizaron en papel filtro de nitrocelulosa; posteriormente se hibridizaron con el gen de uricasa de soya marcado radiactivamente. Los resultados iniciales indican ausencia de hibridización. Por consiguiente, para el aislamiento del DNAc a partir del banco de expresión, recurriremos al tamizaje inmunológico utilizando el antisuero contra uricasa de rata. Un primer requisito para esto fue el demostrar que con nuestro antisuero se pudo detectar hasta 1 ng de antígeno, usando proteína A marcada con  $^{125}\text{I}$  como sistema de detección. El siguiente experimento a realizar consistirá en tamizar el banco de expresión para la identificación y el aislamiento del DNAc de uricasa murina. La obtención del mismo nos

permitirá iniciar los estudios a nivel molecular sobre la presencia o ausencia de secuencias génicas para uricasa en humanos.

#### Línea 4: INGENIERÍA DE GENES Y PROTEINAS

Proyecto 4A: Localización de regiones funcionales en la hormona de crecimiento humana.

Resumen: La hormona del crecimiento humana (hGH) pertenece a una familia de hormonas proteicas entre las que se encuentran la prolactina (hPRL) y el lactógeno placentario humano (hPL). Estas proteínas son globulinas con un peso molecular de  $\sim 22,000$  daltons que presentan un alto grado de homología en su secuencia de aminoácidos (85% entre hGH y hPL y 35% entre hGH y hPRL). Los genes para estas hormonas se originaron a partir de duplicaciones de un gen ancestral común. Como producto de estas duplicaciones, los genes hGH y hPL presentan un alto grado de homología en la secuencia de nucleótidos de sus RNA mensajeros ( $\sim 95\%$ ), tienen la misma localización cromosomal en la región q 22-24 del cromosoma 17 y presentan una organización similar en sus genes, con cinco exones y cuatro intrones en la misma posición. A pesar de estas similitudes, los genes que codifican para estas hormonas son expresados en diferentes tejidos bajo diferentes mecanismos de control.



hGH y hPL comparten algunas funciones ya que ambas son potentes lactógenos pero difieren principalmente en su capacidad para promover el crecimiento. Hasta la fecha, los estudios de las relaciones estructura-actividad de hGH se han realizado mediante rompimientos proteolíticos de hGH y análisis funcional de los fragmentos generados. También se han construido recombinantes entre fragmentos proteolíticos de hGH y hPL. Sin embargo, con estas técnicas no ha sido posible establecer relaciones finas en la estructura y función de esta hormona.

Nosotros estamos utilizando las poderosas herramientas de la ingeniería genética para localizar en un sistema de cultivo celular las regiones funcionales específicas de hGH mediante recombinación en el tubo de ensayo entre porciones de los genes para esta hormona y aquellas del gen para hPL.

Puesto que las principales regiones divergentes entre los genes para estas dos hormonas se encuentran en los residuos aminoácidos correspondientes al IV exón, intercambiaremos esta porción génica para intentar identificar si en ella reside una función que es específica de hGH: su capacidad de inducir la diferenciación de fibroblastos a adipocitos.

Para cumplir con nuestros objetivos diseñamos la siguiente estrategia: 1) Estableceremos las condiciones para la inducción de la diferenciación de fibroblastos a adipocitos en células transfectadas con el DNA de los plásmidos recombinantes portadores de los genes hGH y hPL, 2) Construiremos, mediante técnicas de ingeniería genética, genes recombinantes híbridos entre hGH y hPL con el cuarto exón de ambos genes intercambiado entre sí, y 3) Analizaremos estos plásmidos recombinantes en el modelo de diferenciación de fibroblastos a adipocitos.

Los conocimientos que se deriven de los estudios propuestos en este proyecto nos ayudarán a conocer mejor la biología y evolución moleculares de este importante complejo génico codificante para hGH y hPL, y a elucidar las bases moleculares del proceso de diferenciación de fibroblastos a adipocitos en respuesta a hGH.

Avances: Hasta la fecha caracterizamos y obtuvimos mediante técnicas de ingeniería genética los DNAs de los plásmidos recombinantes que contienen tanto el gen hGH como el hPL. Aunque este sistema génico o vector (pSVgpt) posee regiones



de control de la transcripción derivados de SV40, los genes hGH y hPL introducidos poseen sus promotores naturales. Introdujimos el DNA de estos plásmidos recombinantes en células HeLa y fibroblastos 3T3, a las 48 h después de la transfección obtuvimos los RNAs totales los separamos en geles de formaldehido-formamida, los transferimos a papel "zetaprobe", los hibridizamos con una sonda radiactiva (DNAc-hPL) y los dejamos exponer en una película de rayos X (autorradiografía). En paralelo, adicionamos los sobrenadantes y extractos de células 3T3 transfectadas con estos plásmidos a cultivos nuevos de fibroblastos 3T3 para intentar así inducir la diferenciación a adipocitos. Los resultados indican que establecimos las condiciones para la detección de RNAs específicos y que falta estandarizar la expresión de los genes transfectados en células eucarióticas, ya que detectamos una banda única solamente en el carril que contenía RNAs aislados de placenta humana (testigo positivo), indicándonos esto que la expresión de los plásmidos recombinantes que contienen los genes hGH y hPL en las células fue muy baja o nula con el sistema utilizado. Por consiguiente, tampoco observamos diferenciación al agregar los sobrenadantes. Debido a lo anterior, estamos iniciando una nueva serie de estudios como los arriba descritos, solo que

en esta ocasión utilizaremos un sistema genético diferente donde la expresión de los genes estará bajo el control del promotor del gen de la mitaloteoneína. De no funcionar este segundo sistema, pensamos recurrir al promotor y secuencias potenciadoras de la transcripción ("enhancer's") del citomegalovirus, recientemente descrito como 10 veces más potente que el sistema basado en vectores derivados del virus oncogénico SV40.

Proyecto 4B: ¿Es el gen hPL-1 un pseudogen?

Resumen: Técnicas de Ingeniería Genética nos han permitido analizar a nivel molecular la estructura, expresión y evolución del complejo génico codificante para las hormonas lactogénica placentaria (hPL) y de crecimiento humanas (hGH). Este complejo comprende aproximadamente 50,000 bases en la región q22-24 del cromosoma 17 y consiste de una familia de genes constituidos por cinco genes arreglados en el siguiente orden:

5'-hGH<sub>N</sub> \* hPL<sub>1</sub> \* hPL<sub>2</sub> \*hGH<sub>V</sub> \* hPL<sub>3</sub> -3'

El gen hGH-N codifica para la hormona de crecimiento circulante en sangre (forma de 22 kilodaltones) y su variante de 20 kilodaltones (generada esta última por un mecanismo de procesamiento diferencial del precursor del RNA mensajero, de tal manera que se elimina una porción interna de la región codificante). La función del gen hGH-V en el organismo es un enigma. Sin embargo, se han realizado estudios introduciendo este gen mediante vectores de expresión basados en el virus 40 de simio (SV40), a células en cultivo y se encontró que el gen es activo y funcional siendo responsable de la síntesis de una proteína que difiere en 13 posiciones aminoacídicas respecto a hGH 22 kd. Recientemente, inclusive, se logró detectar la expresión de este gen hGH-V en placenta aunque en niveles muy bajos (en el orden de 10<sup>-4</sup> respecto a los niveles de expresión de los genes para hPL).

Los genes hPL-2 y hPL-3 son los responsables de la síntesis de hPL, hormona que llega a producirse en placenta a término hasta en un gramo por día. Sin embargo, deleciones genéticas que eliminan simultáneamente los genes hPL-2 y hPL-3, así como al gen hGH-V, sugieren que hPL no es una hormona necesaria para el embarazo y crecimiento fetal,

ya que tanto el embarazo como el producto fueron normales en estos pacientes. hPL-1 fue el único gen tipo hPL que no se perdió con la deleción de estos pacientes. Sin embargo, datos preliminares sobre la estructura y evidencias indirectas sobre la expresión de este gen indican que posiblemente no se exprese en placenta a término. Con el propósito de determinar la naturaleza del gen hPL-1 para replantear la importancia de hPL en el embarazo y crecimiento fetal, este proyecto tiene como objetivo construir plásmidos recombinantes con los genes hPL-1 y hPL-3 para ser introducidos a células en cultivo y analizar la expresión de estos genes. Con estos estudios pretendemos analizar las propiedades y características del gen hPL-1 y la naturaleza de sus posibles productos génicos.



La estrategia general que diseñamos para obtener información acerca del papel que juega la mutación presente en el sitio donador del procesamiento del intrón II del gen hPL-1 en su expresión, es la siguiente: Primero tener los genes hPL-1 (problema) y hPL-3 (testigo positivo insertos en vectores plasmídicos de expresión en eucariotes, luego intercambiar entre ellos los fragmentos Pvu II-Sac 1 (~115 pb)

dentro de los cuales se localiza la mutación, posteriormente transfectar estos genes tanto originales como recombinantes en un sistema de células en cultivo y analizar por último su expresión a nivel de RNA por medio de la técnica llamada "Northern".

Avances: Hasta el momento hemos progresado en nuestra estrategia, realizando lo siguiente:

I.—Se obtuvieron los plásmidos pSV2gpt con los genes hPL-1 y hPL-3 insertos en su sitio Eco RI.

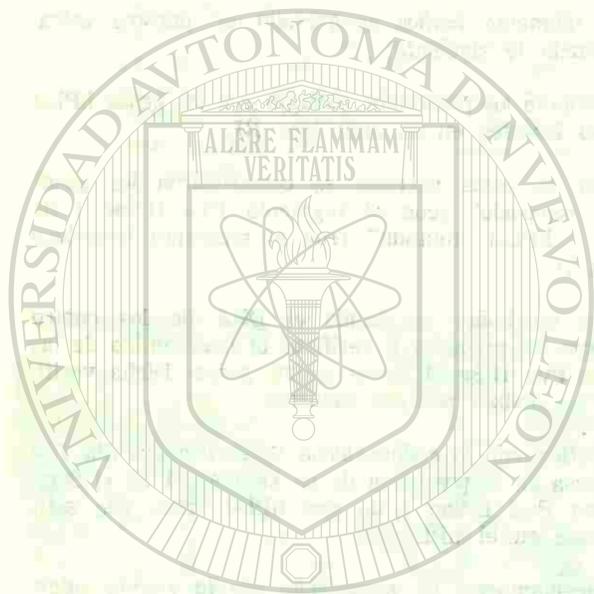
II.—A partir de estos vectores se construyeron los genes hPL-1 "reparado" (con el segmento Pvu II-Sac I de hPL-3) y hPL-3 "mutado" (con el segmento homólogo de hPL-1).

III.—Después de haber purificado el DNA de los cuatro plásmidos, se procedió a verificar el intercambio de las regiones Pvu II-Sac 1 entre ambos genes. Dicha verificación se realizó por dos maneras:

a) *Digestión con la endonucleasa de restricción Alu 1.*— Se basa en la presencia de un sitio Alu 1 en el fragmento Pvu II-Sac 1 de gen hPL-1, pero que está ausente en el hPL-3.

b) *Secuenciamiento de nucleótidos de la región intercambiada.*— Realizado por el método de Sanger, usando inhibidores de la síntesis de DNA.

IV.—Se han iniciado las primeras transfecciones (16 transfecciones), sin embargo, no ha sido posible detectar ninguna señal. Pensamos que esto se debe a la baja sensibilidad de nuestro sistema por lo que hemos decidido cambiar el tipo de células. Hemos estado usando células HeLa, y creemos conveniente cambiar a células COS, en las cuales se ha demostrado que ocurre duplicación de plásmidos que como los nuestros contienen el origen de replicación de SV40. Esperamos con esto aumentar la cantidad de templado para la transcripción y, por ende, aumentar también la señal proveniente de los transcritos.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

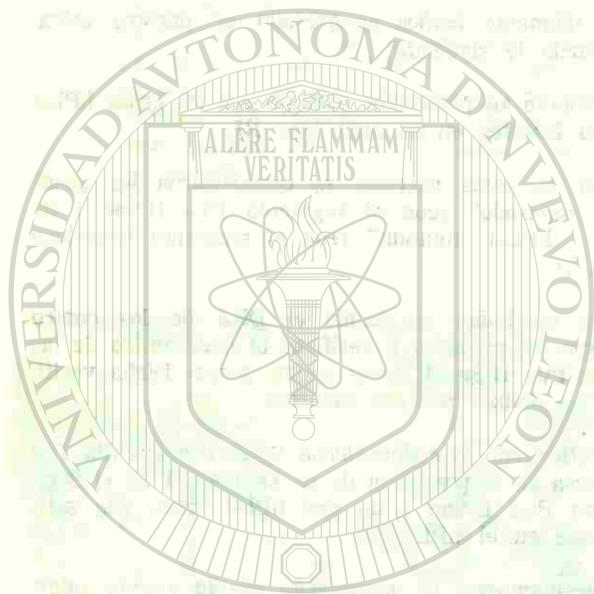
## FORMACION DE RECURSOS HUMANOS

Paralelamente al desarrollo de nuestros programas de investigación hemos perseguido formar especialistas en los diferentes niveles académicos dándoles una preparación sobre los conocimientos básicos y las fronteras en los estudios de Biología Molecular del genoma eucariote. Así mismo, esta formación teórica ha sido complementada con una instrucción sobre las técnicas básicas de Ingeniería Genética convertidas ya en herramientas muy poderosas para el estudio de la célula.

A.—Cursos de apoyo a otras instituciones. ®

Los siguientes cursos teórico-prácticos han sido impartidos:

- 1.—Curso de Bioquímica a los estudiantes de la Carrera de Biólogo del Insituto Tecnológico de Cd. Victoria, Tamaulipas.
- 2.—Curso sobre Técnicas de Ingeniería Genética a los estudiantes de la maestría en Biología Celular del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN, en México, D. F.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## FORMACION DE RECURSOS HUMANOS

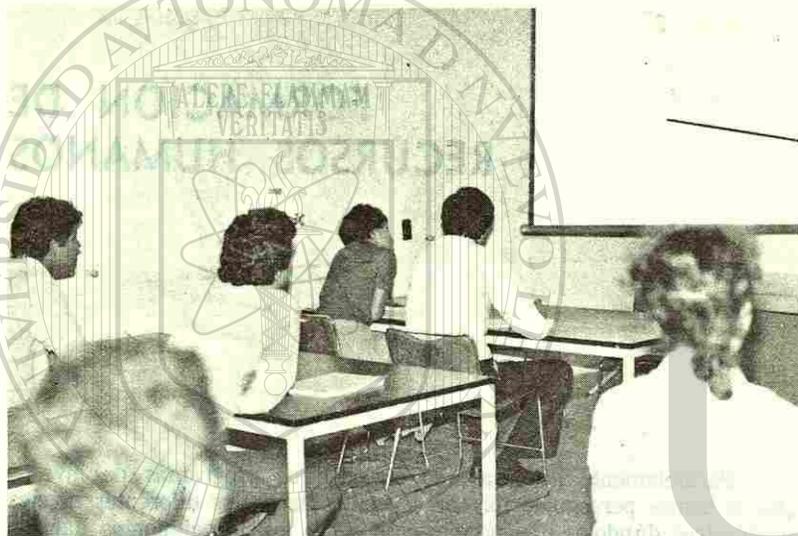
Paralelamente al desarrollo de nuestros programas de investigación hemos perseguido formar especialistas en los diferentes niveles académicos dándoles una preparación sobre los conocimientos básicos y las fronteras en los estudios de Biología Molecular del genoma eucariote. Así mismo, esta formación teórica ha sido complementada con una instrucción sobre las técnicas básicas de Ingeniería Genética convertidas ya en herramientas muy poderosas para el estudio de la célula.

A.—Cursos de apoyo a otras instituciones. ®

Los siguientes cursos teórico-prácticos han sido impartidos:

- 1.—Curso de Bioquímica a los estudiantes de la Carrera de Biólogo del Insituto Tecnológico de Cd. Victoria, Tamaulipas.
- 2.—Curso sobre Técnicas de Ingeniería Genética a los estudiantes de la maestría en Biología Celular del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN, en México, D. F.

- 3.—Curso de Biología Molecular de Eucariotes, impartido a estudiantes de postgrado de la Facultad de Ciencias Biológicas de la U.A.N.L.
- 4.—Curso sobre Mutagénesis Dirigida, impartido en el Centro de Investigación sobre Ingeniería Genética y Biotecnología de la U.N.A.M., en Cuernavaca, Morelos.



B.—Conferencias impartidas.

- 1.—GENES: Regulación de su expresión. Impartida cada semestre a los alumnos de nuestros cursos de Bioquímica.
- 2.—Genes, Ingeniería Genética y Biotecnología. Presentada en el 32o. Aniversario de la Facultad de Ciencias Biológicas, Septiembre 19 de 1984, Monterrey, N. L.
- 3.—Aplicación de la Mutagénesis Dirigida de los Estudios de Expresión Genética, presentada en la Unidad de Investigación Biomédica del Noreste del I.M.S.S., Octubre de 1984, Monterrey, N. L.
- 4.—Estudios de Transcripción de los Genes Tempranos de SV40 usando Mutagénesis Dirigida en la Región Promotora, presentada en el Seminario de Investigación en el Departamento de Genética y Biología Molecular, del CINVESTAV, 9 de Noviembre de 1984.

- 5.—Estudios de Expresión Genética en Humanos por Ingeniería Genética. Aplicaciones y Potenciales. Presentada en la 1a. Reunión Anual de Investigadores apoyados por el Consejo Nacional del Sistema Tecnológico (CoSNET). Morelia, Michoacán, Noviembre 29 de 1984.
- 6.—Panorama de la Genética Moderna. Presentada en el Primer Simposium Cultural de la Asociación Nacional de Biólogos, A. C., Noviembre 30 de 1984.
- 7.—El Papel de la Región del 21 pb en la Expresión de los Genes Tempranos de SV40. Instituto de Investigaciones Biomédicas de la U.N.A.M., Diciembre 11 de 1984.
- 8.—Vector de Clonación para Estudiar la Expresión de Oncogenes Humanos. Segundo Taller de Discusión sobre Avances, Limitaciones y Estrategias de programas de Investigación en Biología Molecular, auspiciado por CONACYT, Tepoztlán, Morelos, 1984.
- 9.—Role of the 21 bp Repeat on Expression of the SV40 Genome. Impartida en el Hospital e Instituto del Tumor "M. D. Anderson", de la Universidad de Texas en Houston, Texas, Enero 21 de 1985.
- 10.—Mutagénesis Dirigida en la Región del 21 pares de bases de SV40. Dirigida a los investigadores y alumnos del Centro de Investigaciones sobre Ingeniería Genética y Biotecnología de la U.N.A.M., en Cuernavaca, Morelos, Marzo 25 de 1985.
- 11.—Había una vez un Gene... Presentada ante los miembros de los Laboratorios Clínicos de Puebla, en Puebla, Puebla, Agosto 22 de 1985.
- 12.—Biología Molecular de la Hormona Lactogénica Placentaria Humana. Presentada en el Ciclo de Conferencias Mensuales del Hospital Metropolitano "Dr. Bernardo Sepúlveda", en Monterrey, Nuevo León, Enero de 1986.
- 13.—Un Nuevo Vector para Clonar y Expresar Genes Eucarióticos y
- 14.—Genes Fósiles.

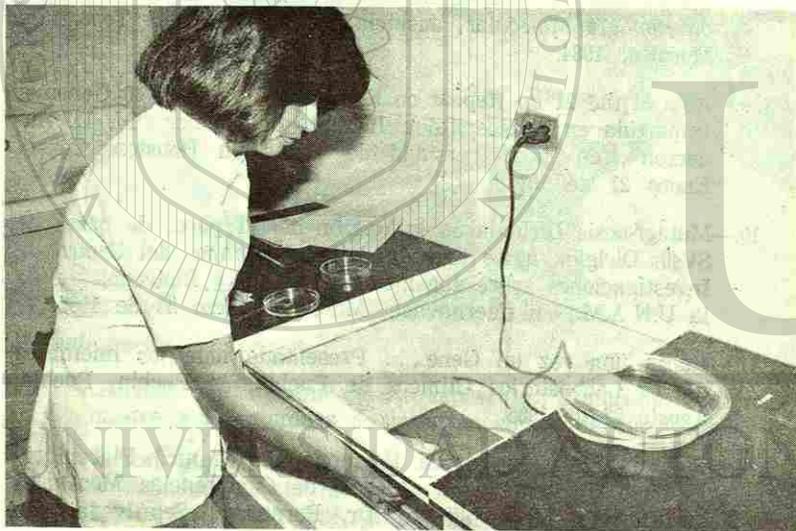
Estas dos últimas presentadas en el Tercer Taller de Discusión sobre Avances, Limitaciones y Estrategias de Programas de Investigación en Biología Molecular, en Tepoztlán, Morelos, del 27 de Febrero al 1o. de Marzo de 1986.

15.—Ingeniería Genética y Sociedad. Presentada en el Ciclo de Conferencias en la Semana de Biología, en Ciudad Victoria, Tamaulipas, del 21 al 25 de Abril de 1986.

16.—Efecto del plomo en la Transcripción Génica en Placenta Humana. Reunión Mensual de la Asociación Mexicana de Genética Humana, U.N.A.M., México, D. F., Julio de 1986.

17.—Había una vez un gen... Reunión mensual de la Asociación Mexicana de Genética Humana. Instituto de Investigaciones Antropológicas de la U.N.A.M., México, D. F. Octubre de 1986.

18.—Biología Molecular del Genoma Humano. Presentada en el curso precongreso sobre Tópicos Selectos en Biología Molecular. XI Congreso Nacional de Genética Humana. Puebla, Pue., Noviembre de 1986.



C.—Tesis de Investigación.

Los diferentes investigadores que integramos la U.L.I.E.G. hemos participado a través de asesorías, consejos, instrucciones técnicas, etc. en los trabajos de tesis de licenciatura y postgrado de estudiantes de las diferentes facultades del área biomédica de nuestra Universidad, así como de la Unidad de Investigaciones Biomédicas del Noreste del I.M.S.S. De igual manera, actualmente se realizan en la U.L.I.E.G. los siguientes trabajos de tesis de investigación:

NIVEL LICENCIATURA:

1.—pUANL: Un nuevo vehículo molecular para la clonación y expresión de genes eucarióticos.

Tesista: Pasante de Q.B.P. Eddy Luz Cab Barrera

2.—Patrón de plásmidos de cepas GM de *Bacillus thuringiensis* y la determinación del plásmido que codifica para la delta-endotoxina.

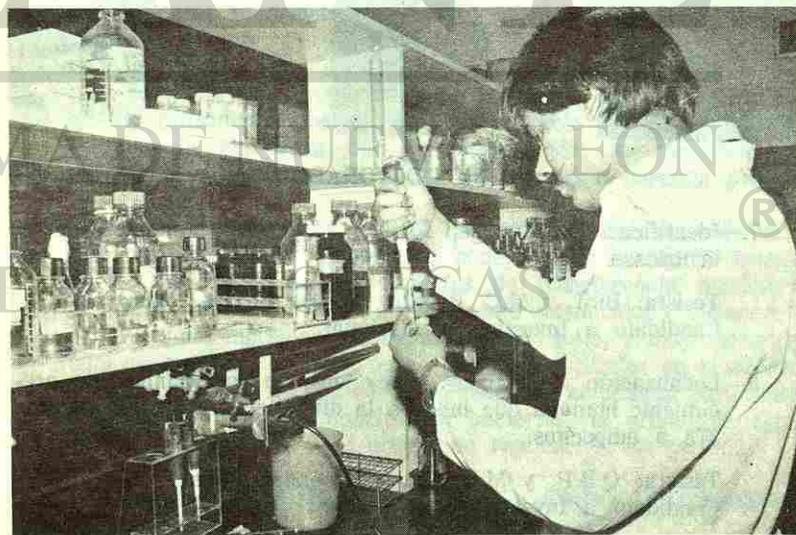
Tesista: Pasante de Q.B.P. Laura Nelly Arzaga Tamez

3.—Similitud química entre las uricasas de algunas especies de las clases del Subphylum Vertebrata.

Tesista: Pasante de Biólogo Alfredo Varela Echavarría

4.—Detección de secuencias de papilomavirus tipo 16 en carcinoma cervicouterino.

Tesista: Pasante de Biólogo Manuel L. González Garay



NIVEL MAESTRIA:

5.—¿Es el gen humano hPL-1 un pseudogen?

Tesista: Biól. Ramiro Ramírez Solís

6.—Producción de la hormona de crecimiento bovina por Ingeniería Genética.

Tesistas: Biól. Odila Saucedo Cárdenas y  
Biól. Felipe Amaya Manzanares



NIVEL DOCTORADO

7.—Identificación de un gen fósil en el genoma humano: Gen de la uricasa.

Tesista: Biól. y M.C. Roberto Montes de Oca Luna,  
Candidato a Investigador Nacional

8.—Localización de regiones funcionales en la hormona de crecimiento humana que inducen la diferenciación de fibroblastos 3T3 a adipocitos.

Tesista: Q.B.P. y M.C. Diana Reséndez Pérez,  
Candidato a Investigador Nacional

D.—Tesis concluida

TITULO:

pUANL: Un nuevo vehículo molecular para la clonación y expresión de genes eucarióticos.

RESUMEN:

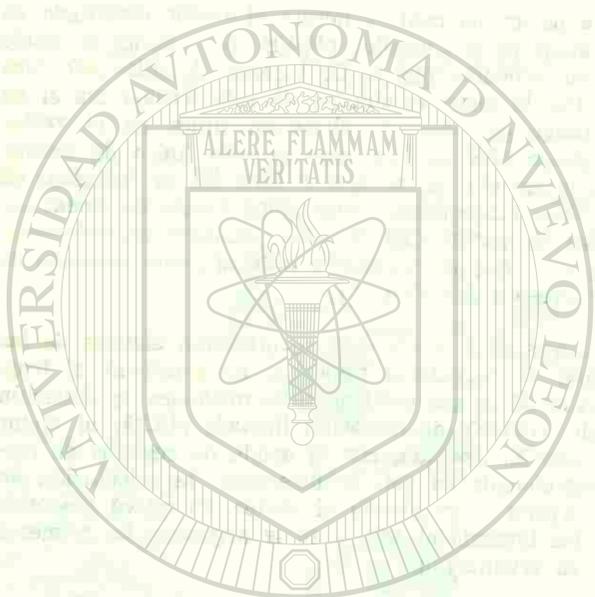
El plásmido a partir del cual se derivó el vector construido en el presente trabajo es el llamado: pBSVE. Este es un plásmido que dentro de su secuencia total de DNA carece de sitios múltiples de clonación. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo era el de expandir el rango de sitios de clonación útiles en el vector de expresión como pBSVE. Utilizando el sitio único de reconocimiento para la enzima de restricción Bam HI, se introdujo un fragmento de DNA conteniendo varios sitios únicos de clonación, aumentando así la versatilidad de este plásmido recombinante, el cual se ha visto que es de mucha utilidad como vehículo de clonación y expresión genética (1).

Para la realización de este proyecto se utilizaron algunas de las técnicas básicas de Ingeniería Genética. Se transfirió el fragmento de DNA de 55 pb que contiene sitios múltiples de clonación (proveniente del vehículo de clonación llamado pUC18) al vector de expresión pBSVE. Además, con la ayuda de enzimas de restricción y electroforesis en gel, se determinó la orientación en la cual se incorporó el fragmento al vector. El nuevo plásmido recombinante fue llamado pUANL y se le asignaron los números 1 y 2 según su orientación.

Con la construcción de este nuevo plásmido recombinante será más fácil introducir algún gen eucariótico apoyándose para ello en los múltiples sitios de clonación únicos del vector, y así estudiar la expresión del gen introducido, aprovechando las características propias del vector de expresión parental pBSVE.

El vector de expresión pUANL presenta un gen de referencia (gen completo de la  $\beta$ -globina de conejo) para la estandarización de los resultados de experimentos de transferencia transitoria de genes a células en cultivo, el elemento potenciador ("enhancer") de SV40 para incrementar la transcripción total, y muy cerca del cual se incorporó la secuencia con sitios múltiples de clonación. Además, presenta el gen de la resistencia a ampicilina para selección durante la amplificación en bacterias, el origen de replicación en bacterias y el origen de replicación de pBR322.

1.—Barrera-Saldaña, H.A., et al. (1985). EMBO J. 4:3839-3849.



## DOCENCIA

Elaboramos los documentos para los proyectos de Maestría y Doctorado en Ciencias con Especialidad en Biología Molecular e Ingeniería Genética. Ambos documentos fueron aprobados por la Dirección General de Estudios de Postgrado de la U.A.N.L. y turnados para su aprobación correspondiente por el H. Consejo Universitario en las siguientes fechas:

Maestría: 19 de Marzo de 1986

Doctorado: 19 de Septiembre de 1986.

El programa de Maestría requiere que el candidato apruebe el examen de admisión en las materias de bioquímica, fisicoquímica, química orgánica y matemáticas o que curse los prerrequisitos necesarios y obtenga una calificación mínima de 80. El candidato deberá dedicar tiempo completo al programa y simultáneamente desarrollará su trabajo de laboratorio y los cursos, que serán los siguientes:

Principios y Metodología de la Investigación Científica

1020123807

Didáctica de la Enseñanza Superior  
 Biología Molecular de la Célula  
 Métodos Físicoquímicos de Investigación Biomédica  
 Estructura y Expresión Genéticas  
 Técnicas de Ingeniería Genética  
 Microcomputadoras en Ingeniería Genética  
 Cultivo Celular  
 Práctica Docente  
 Seminarios Bibliográficos  
 Tópicos Selectos en Ingeniería Genética I  
 Tópicos Selectos en Ingeniería Genética II  
 Trabajo de Investigación (Tesis)

La duración de la maestría será de un mínimo de 2 años a un máximo de cuatro.

A la fecha, tenemos dos estudiantes en la Maestría: El Biól. Ramiro Ramírez S. y el Biól. Felipe Amaya Manzanares; un estudiante de la Maestría en Microbiología se encuentra realizando su tesis en la U.L.I.E.G.; la Biól. Odila Saucedo C.

El programa de Doctorado está planeado para formar recursos humanos de alto nivel académico, capaces de diseñar, organizar y realizar investigación de excelencia aplicando sus conocimientos teóricos y experimentales en Biología Molecular e Ingeniería Genética.

Para ingresar al Doctorado, el aspirante deberá demostrar conocimientos en matemáticas, fisicoquímica, química orgánica, bioquímica, inglés y principios y metodología de la investigación científica.

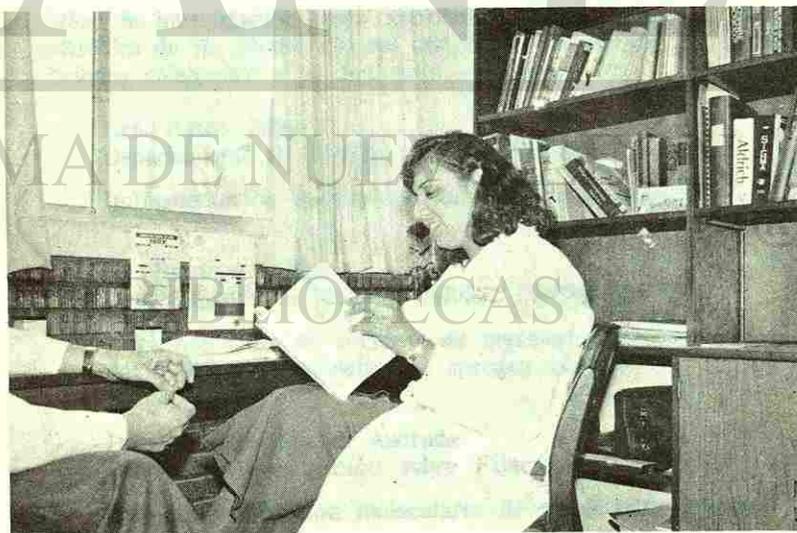
Deberá tener la Maestría en Ciencias con especialidad en Biología Molecular e Ingeniería Genética o adquirir los conocimientos equivalentes y demostrarlos ante el Comité de Doctorado.

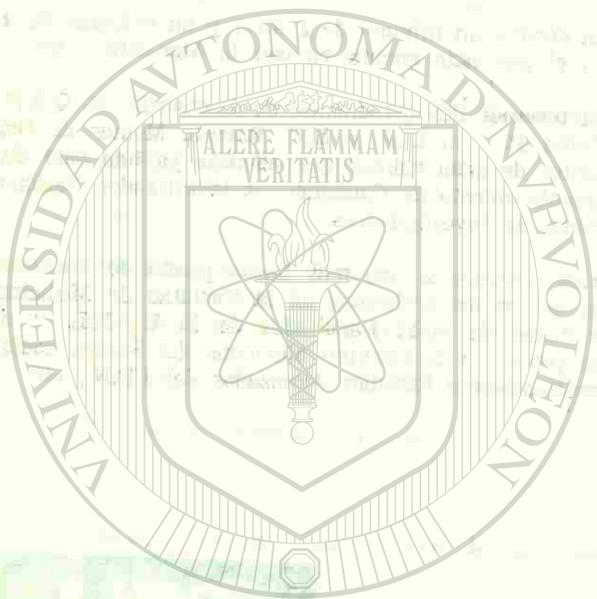
Además, deberá desarrollar un trabajo de investigación original y de calidad para publicación.

El programa durará un mínimo de 2 años y un máximo de 4, dependiendo de si el aspirante cuenta ya con la Maestría o no.

Hasta ahora tenemos dos estudiantes de Doctorado, la Q.B.P., M.C. Diana Reséndez P. y el Biól. y M.C. Roberto Montes de Oca L., ambos estudiantes de gran calidad que además ya han sido distinguidos con el nombramiento de Candidatos a Investigador Nacional del Sistema Nacional de Investigadores.

Hemos logrado estructurar una muy buena planta de maestros, al contar además de con los profesores de la Facultad de Medicina, con maestros invitados de otras Facultades de la U.A.N.L. y de otras instituciones como son el Instituto Mexicano del Seguro Social, el Centro de Investigación y Estudios Avanzados del I.P.N., etc.





## COLABORACIONES E IMPLEMENTACION DE METODOLOGIAS

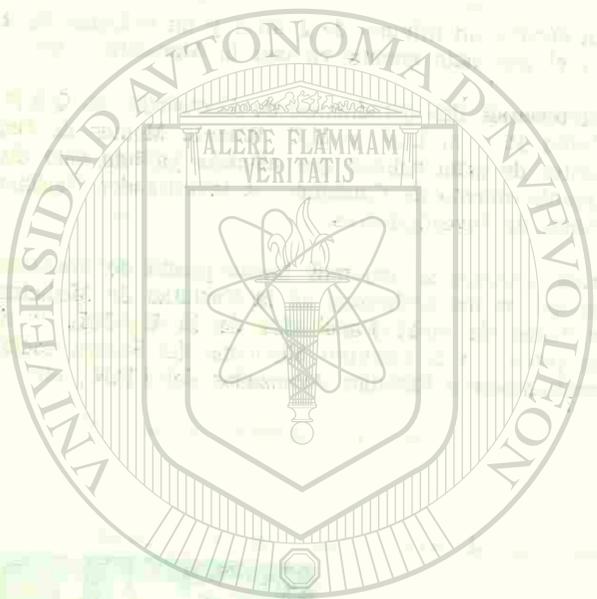
En el tiempo transcurrido desde la creación de la U.L.I.E.G. al presente, hemos mantenido colaboraciones con diferentes laboratorios de investigación tanto nacionales como extranjeros. Los responsables de los grupos con los que hemos colaborado, así como las acciones colaborativas se describen a continuación:

**Dra. Isaura Meza**  
Departamento de Biología Celular, CINVESTAV-IPN  
Implementación de técnicas de ingeniería genética

**Dr. Patricio Gariglio**  
Departamento de Biología Celular, CINVESTAV-IPN

Implementación de técnicas de ingeniería genética y Estudios de la biología molecular del oncogen c-myc

**Dr. Federico Sánchez Andrade**  
Centro de Investigación sobre Fijación de Nitrógeno, UNAM  
Biología y evolución moleculares de genes para uricasa



## COLABORACIONES E IMPLEMENTACION DE METODOLOGIAS

En el tiempo transcurrido desde la creación de la U.L.I.E.G. al presente, hemos mantenido colaboraciones con diferentes laboratorios de investigación tanto nacionales como extranjeros. Los responsables de los grupos con los que hemos colaborado, así como las acciones colaborativas se describen a continuación:

**Dra. Isaura Meza**  
Departamento de Biología Celular, CINVESTAV-IPN  
Implementación de técnicas de ingeniería genética

**Dr. Patricio Gariglio**  
Departamento de Biología Celular, CINVESTAV-IPN

Implementación de técnicas de ingeniería genética y Estudios de la biología molecular del oncogen c-myc

**Dr. Federico Sánchez Andrade**  
Centro de Investigación sobre Fijación de Nitrógeno, UNAM  
Biología y evolución moleculares de genes para uricasa

Dr. Scott A. Wattkins  
Departamento de Biología, Universidad de Indiana  
Estudios sobre la transcripción *in vitro* de los genes hPL

Drs. Francisco Bolívar Zapata y Xavier Soberón  
Centro de Investigación sobre Ingeniería Genética y  
Biotecnología

Síntesis de oligonucleótidos y adaptadores necesarios en el  
proyecto sobre la producción de la hormona de crecimiento  
bovina recombinante

Dr. Antonio Velázquez A.  
Instituto de Investigaciones Biomédicas, U.N.A.M.  
Asesorías y entrenamiento para el programa Errores Innatos  
del Metabolismo

Dr. Alejandro Ruiz L. y Dr. Francisco J. Sánchez A.  
Laboratorios Clínicos de Puebla

Visitas y conferencias a nuestros estudiantes como parte de  
asesorías y entrenamiento en el programa Errores Innatos  
del Metabolismo

Dr. Tien Kuo  
Laboratorio de Patología Molecular, Hospital M.D. Anderson,  
Houston, Texas

Experimentos de transfecciones en células COS para el  
desarrollo del proyecto ¿Es el gen humano hPL-1  
un pseudogen?

Dr. Pierre Chambon y Dr. Hans Matthes  
Laboratorio de Genética Molecular de Eucariotes, Centro  
Nacional de la Investigación Científica (CNRS),  
Estrasburgo, Francia

Síntesis de oligonucleótidos necesarios en el proyecto  
Hormona de crecimiento bovina recombinante

Dra. Marsha Frazier  
Departamento de Oncología Gastrointestinal, Hospital M.D.  
Anderson, Houston, Texas

Elaboración de bancos DNA complementario (DNAc)  
y estandarización de la metodología para la síntesis de DNAc.

Dr. Walid Kuri Harcuch  
Departamento de Biología Celular, CINVESTAV-IPN

Asesoría y apoyo experimental en el manejo del sistema de  
diferenciación celular de fibroblastos 3T3 a adipocitos  
que formará parte de la estrategia experimental  
del proyecto Localización de las regiones funcionales  
en la hormona de crecimiento humana.



Para apoyar dichas colaboraciones, ejecutar las estrategias  
experimentales de nuestros proyectos de investigación y como res-  
ponsabilidad de nuestra colaboración con los grupos arriba mencio-  
nados, una buena parte de nuestro esfuerzo en los últimos años se  
ha concentrado en la implementación, desarrollo y transferencia de

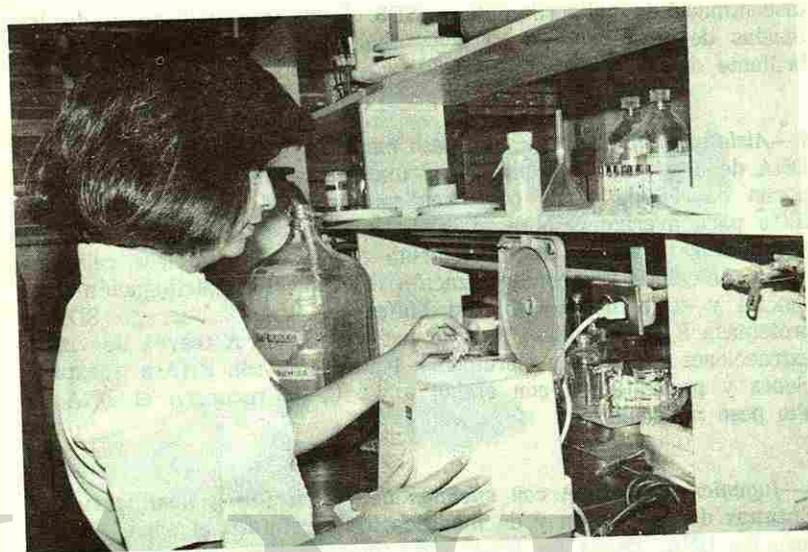
técnicas de ingeniería genética. La siguiente es una lista y breve descripción de las metodologías implementadas.

1.—*Aislamiento de RNAs mensajeros de tejidos.*—Solo una fracción del genoma se expresa en cada tejido o tipo celular. La población de RNA mensajeros (RNAm) de una célula representa esa fracción del genoma siendo transcrita activamente en la célula o tejido en estudio. Para aislar los RNAm se procedió de la siguiente manera: Los ácidos nucleicos totales se obtuvieron homogenizando el tejido en presencia de fenol y sarcosil, digiriendo con proteinasa K, extrayendo con fenol y cloroformo y finalmente precipitando con etanol a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Los RNAs de alto peso molecular se precipitaron selectivamente con acetato de sodio 3M. Los RNA mensajeros (poli A<sup>+</sup>) se seleccionaron por cromatografía de afinidad en oligo-(dT)-celulosa.

2.—*Producción de anticuerpos.*—Los anticuerpos, a manera de rastreadores o detectores de moléculas específicas, son herramientas de enorme valor en el estudio de la célula. Para obtenerlos, el antígeno en cuestión fue emulsificado con adyuvante completo o incompleto de Freund. Se inmunizaron los conejos siguiendo un esquema de inyecciones intradérmicas, subcutáneas e intraperitoneales. La producción de anticuerpos se demostró mediante la técnica de difusión en agar de Ouchterlony.

3.—*Minipreparación rápida de plásmidos.*—Con el propósito de analizar o confirmar las características de los plásmidos manejados o contruidos por primera vez en el laboratorio utilizamos una técnica rápida y reproducible que consiste en lo siguiente: A partir de 4 ml de cultivo fresco crecido a  $37^{\circ}\text{C}$  por 18 horas y con agitación vigorosa, se obtuvieron paquetes celulares bacterianos que fueron sujetos a congelación y descongelación. Se siguieron tratamientos con lisozima, dodecil sulfato de sodio (SDS) y álcali. El DNA bacteriano desnaturalizado por álcali fue precipitado y el DNA del plásmido recuperado del sobrenadante. Después de limpiarlo por extracciones con fenol-cloroformo, fue reconcentrado por precipitación con etanol. El RNA fue eliminado por digestión con RNasa A.

4.—*Preparación a gran escala de DNA de plásmidos.*—Una vez confirmada la identidad de los plásmidos, se procedió a prepararlos en gran escala y con mayor pureza. Los paquetes celulares obtenidos a partir de un litro de cultivo fueron sujetos a congelación y des-



congelación y tratados con lisozima y una solución de tritón X-100. A partir del lisado se recuperó por centrifugación el DNA del plásmido en el sobrenadante. Para limpiarlo se corrió un gradiente de densidad en cloruro de cesio y en presencia de bromuro de etidio. Después de extraer con alcohol isoamílico y dializar, se trató con RNasa A y proteinasa K, reconcentrando el DNA por precipitación con etanol.

5.—*Electroforesis de ácidos nucleicos en gel de agarosa o poliacrilamida.*—Las muestras de RNA fueron analizadas por electroforesis en gel de agarosa-urea-ácido cítrico. Las muestras de DNA de alto peso molecular ( $> 1000$  pares de bases) se analizaron en geles de agarosa, mientras que las de bajo peso molecular ( $< 1000$  pares de bases) en geles de poliacrilamida. La visualización de ácidos nucleicos se logró mediante la tinción del gel con bromuro de etidio, seguido por irradiación con luz ultravioleta. El bromuro de etidio se intercala entre las bases nitrogenadas y fluoresce en respuesta a la excitación por la luz ultravioleta.

6.—*Electroforesis de proteínas en geles de poliacrilamida-SDS.*—Proteínas fueron desnaturalizadas en presencia de mercaptoetanol y dodecil sulfato de sodio (SDS) y analizadas por electroforesis en geles

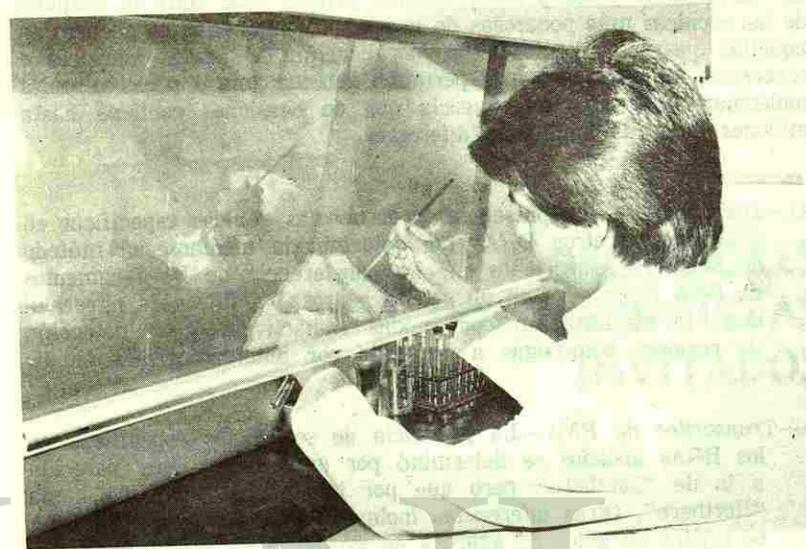
discontinuos de poliacrilamida y SDS. Para la visualización de las bandas de las diferentes especies moleculares se coloreó con azul brillante de coomasie.

7.—*Aislamiento de DNA de alto peso molecular de linfocitos y tejidos.*—DNA de alto peso molecular es el material a partir del cual se preparan bancos de genes o se realizan estudios de hibridación en filtro para averiguar sobre la estructura de los genes. Para su preparación se procedió de la siguiente manera: los núcleos celulares fueron obtenidos por homogenización del tejido y centrifugación diferencial y se resuspendieron en buffer de lisis. Se agregó SDS y proteinasa K, incubándose toda la noche a 37°C. A través de varias extracciones con fenol y cloroformo, tratamiento con RNasa, reextracciones y precipitación con etanol a -20°C, se recuperó el DNA de alto peso molecular.

8.—*Ingeniería del DNA con enzimas de restricción y modificación.*—Enzimas de restricción y de modificación (fosfatasa alcalina, polimerasa de DNA, ligasa de DNA, etc.) fueron utilizadas bajo las condiciones de reacción sugerida por la casa comercial proveedora de las mismas. Con la ayuda de ellas se realizaron todas aquellas manipulaciones a nivel molecular de los ácidos nucleicos utilizados en nuestros estudios.

9.—*Recuperación de fragmentos de DNA a partir de geles preparativos.*—Aquellos fragmentos de DNA que fueron necesarios aislar en forma pura para su utilización en subsecuentes experimentos, fueron preparados a partir de geles preparativos de agarosa de bajo punto de fusión o de geles preparativos de poliacrilamida. De los de agarosa se extrajo el DNA al fundir el trozo de agarosa conteniendo la banda del fragmento deseado y recuperando el DNA por extracciones con solventes orgánicos y precipitación con etanol. De los de poliacrilamida se recuperó el DNA por electroelución seguida también de extracciones y precipitación.

10.—*Subclonación de los fragmentos de DNA en plásmidos y otros vehículos moleculares.*—Fragmentos de DNA obtenidos en forma pura fueron ligados con el DNA de vectores utilizando reacciones de 10 a 20 microlitros conteniendo las condiciones de reacción para ligasa, el DNA del vector ( $\approx$  200 ng) y la cantidad del fragmento para guardar una relación molar de éste con el vector de 2 a 10 veces en exceso. La reacción se incubó a 14°C toda la noche, verificando el éxito de la misma mediante el análisis por electroforesis en gel.



11.—*Transformación de bacterias E. coli Ca<sup>++</sup> competentes.*—Para la preparación de las moléculas recombinantes, se introducen éstas a bacterias por la técnica de transformación, misma que se describe a continuación. La cepa C600 o HB101 fue hecha competente para la captación de DNA foráneo mediante el tratamiento a 4°C con una solución hipotónica de cloruro de calcio. Las bacterias así tratadas fueron expuestas al producto de la reacción de ligasa del vector más el fragmento que se deseaba subclonar. Aquellas bacterias que captaron el plásmido recombinante fueron seleccionadas en cajas de Petri conteniendo el antibiótico para cuya resistencia el vector portaba un gen.

12.—*Traducción in vitro de RNAs mensajeros.*—Una de las pruebas de la integridad de los RNA mensajeros que purificamos consistió en evaluar su capacidad de síntesis de proteínas. Estos estudios además arrojan información sobre la naturaleza de las proteínas codificadas en estos RNA mensajeros. Esta capacidad de síntesis de proteínas de los RNAs totales y poli A<sup>+</sup> (mensajeros) fue analizada mediante la incubación de estos en un extracto libre de células obtenido a partir de reticulocitos de conejo y en presencia de metionina marcada radioactivamente con azufre 35. Las proteínas sintetizadas fueron separadas por electroforesis en gel de poliacrilamida y SDS. Los geles fueron tratados y secados para sujetarlos a autorradiografía y así poder visualizar las proteínas sintetizadas *in vitro*.

13.—*Análisis de genes y sus productos génicos.*—De entre el conjunto de las técnicas más poderosas de la ingeniería genética se encuentran aquellas que por reacciones de hibridación de ácidos nucleicos o reacciones inmunológicas nos permiten detectar una o pocas especies moleculares de entre una mezcla que en ocasiones contiene hasta millones de otras moléculas diferentes.

a).—*DNA del gen.*—La presencia de secuencias génicas específicas en plásmidos u otros DNAs fue determinada mediante el método de Southern, consistente en: la transferencia de los fragmentos de DNA (separados en un gel de agarosa) a filtros de nitrocelulosa; la hibridación con sondas radiactivas; y la detección de regiones homólogas a la sonda por autorradiografía.

b).—*Transcritos de RNA.*—La presencia de secuencias específicas en los RNAs aislados se determinó por una técnica muy parecida a la de "Southern" pero que por tratarse de RNA se llama "Northern". Otras diferencias incluyen el hecho de que el RNA se separa en geles de agarosa en presencia de agentes desnaturizantes, y la transferencia se hace inmediatamente después de corrido el gel, omitiéndose los pasos del ácido, álcali y neutralización.

c).—*Análisis de proteínas.*—La presencia de ciertas especies polipeptídicas en mezclas de proteínas específicas se determinó por las técnicas de inmunotransferencia o "Western blotting". Aquí las proteínas separadas en el gel de poliacrilamida y SDS fueron transferidas por corriente eléctrica y una vez presentes en la superficie del papel de nitrocelulosa, fueron detectadas por reacciones del tipo antígeno-anticuerpo con acoplamiento a reacciones enzimáticas o a radiactividad.

## PROFESORES Y CONFERENCISTAS INVITADOS

Dr. Antonio Velázquez

Director del Programa  
Universitario de Investigación  
Clínica de la UNAM

Dr. Francisco J. Sánchez Anzaldo Investigador de los Laboratorios  
Clínicos de Puebla

Ing. Rosana Sánchez

CNRS-LGME, Facultad de  
Medicina, Estrasburgo, Francia

Dr. Francisco Bolívar Zapata

Director del Centro de  
Investigación sobre Ingeniería  
Genética y Biotecnología

Dr. Patricio Gariglio

Centro de Investigación y Estudios  
Avanzados del IPN

Dra. Isaura Meza

Centro de Investigación y Estudios  
Avanzados del IPN

- Dr. Fernando Díaz B. Facultad de Medicina, UASLP
- Dr. Jesús M. Rodríguez Medina Facultad de Medicina, UASLP
- Dr. Luis Cañedo Director del Hospital Metropolitano  
"Dr. Bernardo Sepúlveda"
- Dr. Salvador Said Fernández Unidad de Investigaciones  
Biomédicas del Noreste del IMSS
- Dr. José Galindo Unidad de Investigaciones  
Biomédicas del Noreste del IMSS
- Dr. Raúl Garza Chapa Unidad de Investigaciones  
Biomédicas del Noreste del IMSS
- Dr. Ramiro González Facultad de Ciencias  
Biológicas, UANL
- Biól. Mario Morales V. Facultad de Ciencias  
Biológicas, UANL

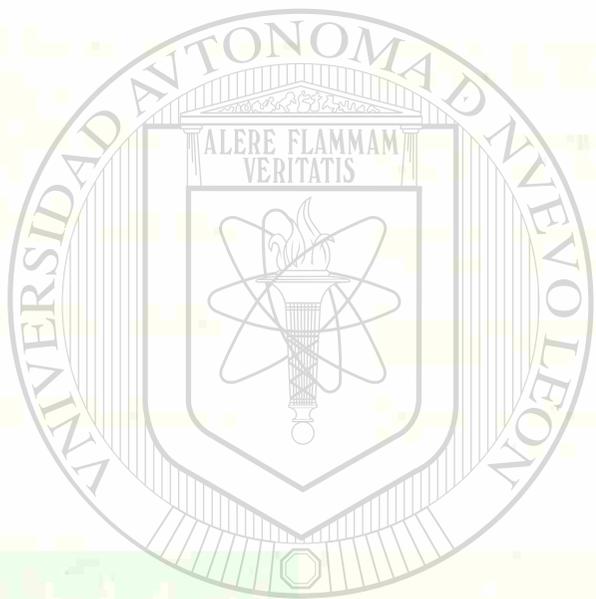


UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

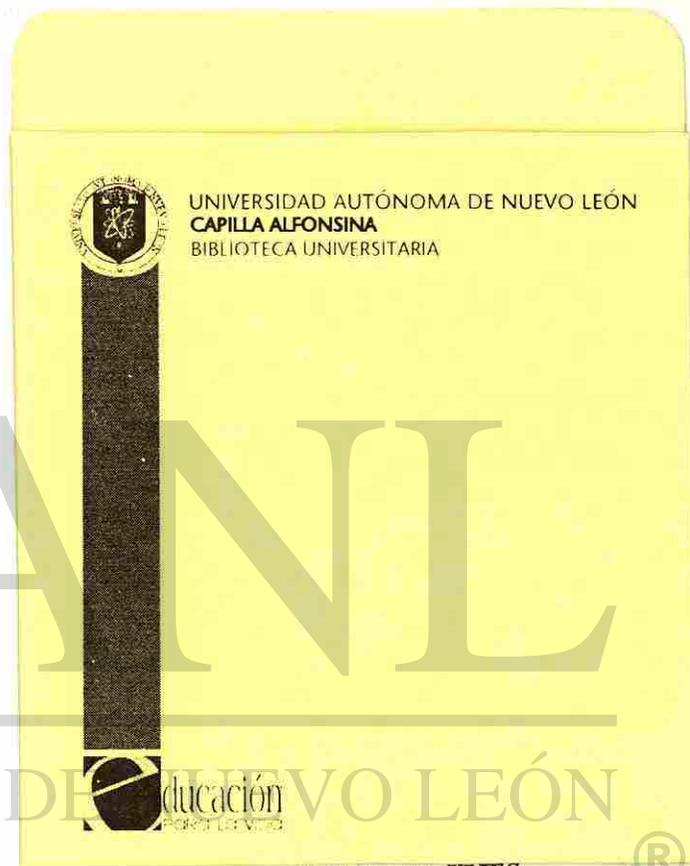


SISTEMA CENTRAL DE BIBLIOTECAS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

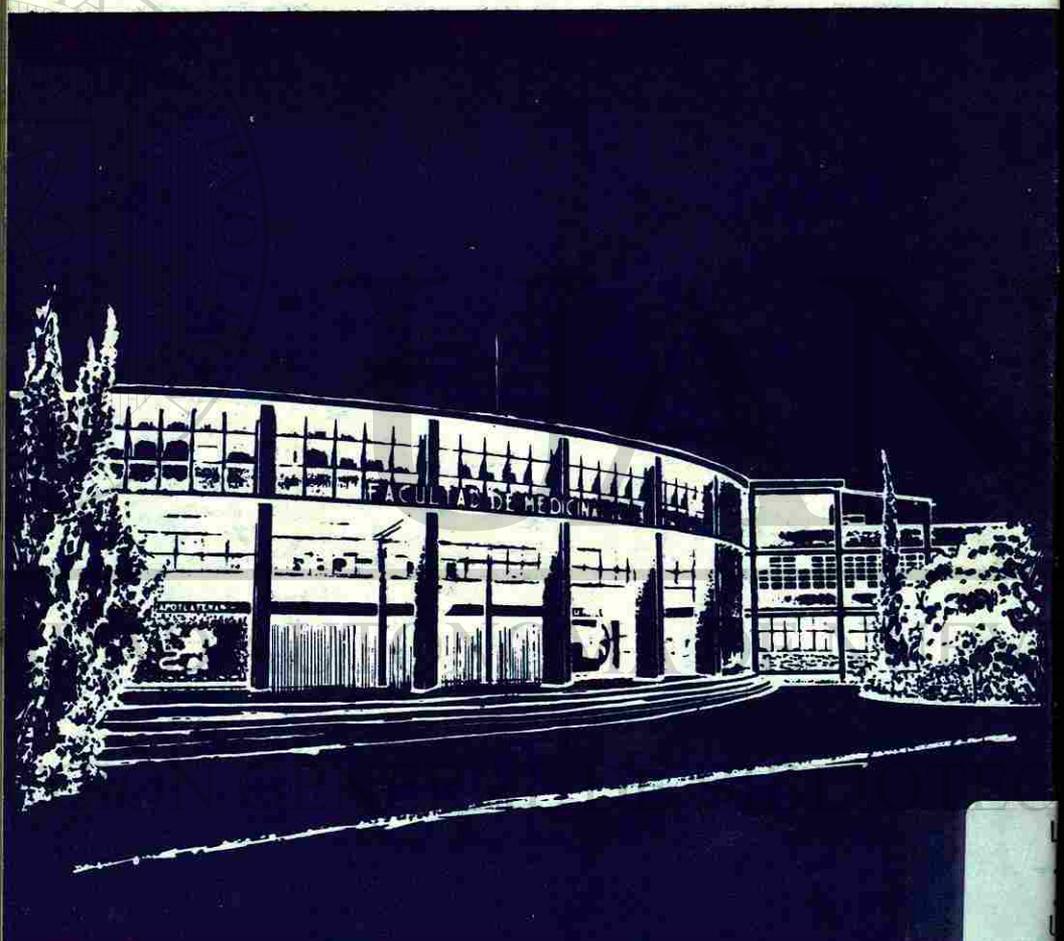
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



**INFORME 84-87 DE LA ULIEG,**  
se terminó de imprimir el 14 de octubre de 1987,  
en la Imprenta de la Facultad de  
Ciencias de la Comunicación de la U.A.N.L.

Tiraje 500 ejemplares.

UMA



FACULTAD DE MEDICINA U.A.N.L.