



a. Región 3'UTR de VEGFD de ratón.

Secuencia completa:

```

CAACTTCCTTTCAAGTCCCCCATCTCTGTCATTTTAAACAGCTCACTGCTTTGTCAAGTTGCTGTCACTG
TTGCCACTACCCCTGCCCGCCTCCAGGTGTTAGAAAAGTTGATTTGACCTAGTGTATGGTAAAGCC
ACATTTCCATGAAATGGCGGCTAGGTGATTCCCCAGTTCACTGACAAATGACTTGTAGCTTCAGATGTCTT
TGCGCCATCAGCACTCAGAAAGGAAGGGGCTCTGAGGAGCCCCCTTGTTTTGATGAATAAGAAAAGGTTGCC
GAAACAGAGTAGTAGGTGCCACTCGATTGGTTCCCTCGGGCTGGCAAAGTCCAAGGGCAATGCTCATGAGTT
ATTGTGCTTCTTTCTTATGCGGAATTTCAATTTGTATGATCAGCACTGATCAATTCCCATTCCACTTGTACT
TTTTAGTTTACTGAAGCACTGCCTGATGTTTTATATGTAAATGTATTTAAAGGAATAAACACTGTTATG
CAGCCCAC

```

Figura 32. Secuencia completa de la región 3'UTR de VEGF-D de ratón obtenida a partir de DNAP de la clona comercial NM_010216. En la figura se muestra una secuencia de 505 pb correspondiente a la secuencia completa de la región 3'UTR de VEGF-D de ratón, obtenida a partir de la clona comercial NM_010216. Con fondo gris se muestra la secuencia de los oligonucleotidos empleados para su secuenciación y en color rosa la señal de poliadenilación.

Resultado del alineamiento:

CLUSTAL W (1.82) multiple sequence alignment.

SeqA	Name	Len(nt)	SeqB	Name	Len(nt)	Score
1	NM_010216clona DNACRaton	519	2	3UTRVEGFDm obtenida	505	99
NM_010216clonaDNACRaton 3UTRVEGFDmobtenida	TGATTCAACTTCCTTTCAAGTCCCCCATCTCTGTCATTTTAAACAGCTC	50	-----CAACTTCCTTTCAAGTCCCCCATCTCTGTCATTTTAAACAGCTC	45	*****	
NM_010216clonaDNACRaton 3UTRVEGFDmobtenida	ACTGCTTTGTCAAGTTGCTGTCACTGTTGCCACTACCCCTGCCCGCCC	100	ACTGCTTTGTCAAGTTGCTGTCACTGTTGCCACTACCCCTGCCCGCCC--	93	*****	
NM_010216clonaDNACRaton 3UTRVEGFDmobtenida	CCTCCCCGCTCCAGGTGTTAGAAAAGTTGATTTGACCTAGTGTATGGT	150	-----GCCTCCAGGTGTTAGAAAAGTTGATTTGACCTAGTGTATGGT	136	*****	
NM_010216clonaDNACRaton 3UTRVEGFDmobtenida	AAAGCCACATTTCCATGCAATGGCGGCTAGGTGATTCCCCAGTTCACTGA	200	AAAGCCACATTTCCATGAAATGGCGGCTAGGTGATTCCCCAGTTCACTGA	186	*****	
NM_010216clonaDNACRaton 3UTRVEGFDmobtenida	CAAATGACTTGTAGCTTCAGATGTCTTTGCGCCATCAGCACTCAGAAAGG	250	CAAATGACTTGTAGCTTCAGATGTCTTTGCGCCATCAGCACTCAGAAAGG	236	*****	
NM_010216clonaDNACRaton 3UTRVEGFDmobtenida	AAGGGGTCTGAGGAGCCCCCTTGTTTTGATGAATAAGAAAAGGTTGCC	300	AAGGGGTCTGAGGAGCCCCCTTGTTTTGATGAATAAGAAAAGGTTGCC	286	*****	



NM_010216clonaDNACRaton	AACAGAGTAGTAGGTGCCACTCGATTGGTTCCTCGGGCTGGCAAAGTCCA	350
3UTRVEGFDmobtenida	AACAGAGTAGTAGGTGCCACTCGATTGGTTCCTCGGGCTGGCAAAGTCCA	336

NM_010216clonaDNACRaton	AGGGCAATGCTCATGAGTTATTGTGCTTCTTTCTTATGCGGAATTCATT	400
3UTRVEGFDmobtenida	AGGGCAATGCTCATGAGTTATTGTGCTTCTTTCTTATGCGGAATTCATT	386

NM_010216clonaDNACRaton	TGTATGATCAGCACTGATCAATTCCCATTCCACTTGTACTTTTAGGTTT	450
3UTRVEGFDmobtenida	TGTATGATCAGCACTGATCAATTCCCATTCCACTTGTACTTTTAGGTTT	436

NM_010216clonaDNACRaton	ACTGAAGCACTGCCTGATGTTTTATATGTAAATGTATTTAAAGGAAATAA	500
3UTRVEGFDmobtenida	ACTGAAGCACTGCCTGATGTTTTATATGTAAATGTATTTAAAGGAAATAA	486

NM_010216clonaDNACRaton	ACACTGTTATGCAGCCAC	519
3UTRVEGFDmobtenida	ACACTGTTATGCAGCCAC	505

Figura 33. Alineamiento 3'UTR de VEGF-D de ratón y la región 3'UTR de VEGF-D de la clona NM_010216. En la figura se muestra un alineamiento de la secuencia obtenida para la región 3'UTR de VEGF-D de ratón con la secuencia 3'UTR de VEGF-D de la clona NM_010216. Se encontró un cambio nucleotídico (A/C) en la posición 168 después del codón de terminación de la traducción y una delección de 9 nucleótidos en la posición 98.

b. Región 3'UTR VEGFD de humano.

Secuencia completa:

```

GTTCCAAGTTC CCCATCCCTGTCATTTTTAAACAGCATGCTGCTTTGCCAAGTTGCTGTCACTGTTTTTTTC
CCAGGTGTTAAAAAATCCATTTTACACAGCACCACAGTGAATCCAGACCAACCTTCCATTCACACC
AGCTAAGGAGTCCCTGGTTCATTGATGGATGTCTTCTAGCTGCAGATGCCTCTGCGCACCAAGGAATGGAG
AGGAGGGGACCCATGTAATCCTTTTGTGTTAGTTTTGTTTTGTTTTTGGTGAATGAGAAAGGTGTGCTGG
TCATGGAATGGCAGGTGTCATATGACTGATTACTCAGAGCAGATGAGGAAAAGTGTAGTCTCTGAGTCCTT
TGCTAATCGCAACTCTTGTAATTATTCTGATTCTTTTTTATGCAGAAATTTGATTCGTATGATCAGTACTG
ACTTCTGATTACTGTCCAGCTTATAGTCTTCCAGTTTAAATGAACTACCATCTGATGTTTCATATTTAAGT
GTATTTAAAGAAATAAACACCATTATTCAAGCC

```

Figura 34. Secuencia completa de la región 3UTR de VEGF-D de humano obtenida a partir de DNA de la clona comercial BC027948. En la figura se muestra una secuencia de 531 pb correspondiente a la secuencia completa de la región 3'UTR de VEGF-D de humano, obtenida a partir de la clona comercial BC027948. Con fondo gris se muestra la secuencia de los oligonucleotidos empleados para su secuenciación y en color rosa la señal de poliadenilación.



Resultado del Alineamiento:

CLUSTAL W (1.82) multiple sequence alignment.

SeqA	Name	Len(nt)	SeqB	Name	Len(nt)	Score
1	BC027948 3UTRVEGFDh	540	2	3UTRVEGFD humano obtenida	531	100
BC0279483UTRVEGFDh			TGATTCAGCGTTCCAAGTTC			50
3UTRVEGFDhumanoobtenida			-----GTTCCAAGTTC			41

BC0279483UTRVEGFDh			CTTTGCCAAGTTGCTGTC			100
3UTRVEGFDhumanoobtenida			CTTTGCCAAGTTGCTGTC			91

BC0279483UTRVEGFDh			TCCATTTTACACAGCACC			150
3UTRVEGFDhumanoobtenida			TCCATTTTACACAGCACC			141

BC0279483UTRVEGFDh			CAGCTAAGGAGTCCCTG			200
3UTRVEGFDhumanoobtenida			CAGCTAAGGAGTCCCTG			191

BC0279483UTRVEGFDh			CTCTGCGACCAAGGAAT			250
3UTRVEGFDhumanoobtenida			CTCTGCGACCAAGGAAT			241

BC0279483UTRVEGFDh			TAGTTTTGTTTTTGT			300
3UTRVEGFDhumanoobtenida			TAGTTTTGTTTTTGT			291

BC0279483UTRVEGFDh			ATGGCAGGTGTCATATG			350
3UTRVEGFDhumanoobtenida			ATGGCAGGTGTCATATG			341

BC0279483UTRVEGFDh			GTCTCTGAGTCCTTTG			400
3UTRVEGFDhumanoobtenida			GTCTCTGAGTCCTTTG			391

BC0279483UTRVEGFDh			TTTTATGCAGAATTTG			450
3UTRVEGFDhumanoobtenida			TTTTATGCAGAATTTG			441

BC0279483UTRVEGFDh			TCCAGCTTATAGTCTT			500
3UTRVEGFDhumanoobtenida			TCCAGCTTATAGTCTT			491

BC0279483UTRVEGFDh			TTAAGTGTATTTAAAG			540
3UTRVEGFDhumanoobtenida			TTAAGTGTATTTAAAG			531

Figura 35. Alineamiento 3'UTR de VEGF-D de humano y la región 3'UTR de VEGF-D de la clona BC027948. En la figura se muestra un alineamiento de la secuencia obtenida para la región 3'UTR de VEGF-D de humano con la secuencia 3'UTR de VEGF-D de la clona BC027948. No se encontraron diferencias en la comparación de ambas secuencias.



c. Región 3'UTR de c-myc de rata

Secuencia completa:

ACTGACCGGAAGTGAGGAGGAGCTGGAATCTCGAGTGTAAGGAGAACGGTTCCTTCTGACAGAACTTGGAC
 TTCAAAAAATGCATGCTCAAAGCCTAACCTCACAACCTTGGCTGGGGCTTTGGGACTTCAGCCATAATGTT
 AACTGCCTCAAAGTTAAGGCATAAAAGAACTTTTTTTTATGCTTCCCATCTTCTTTCTTTTTTCTTTAACA
 GGTTTGTATTTAATTGTTTTTTTTAAAAAATCTTCCGGTGACATAGGGCCTTAAATGTAAATAACTTT
 AATAAACGTTTATAACAGTTATAACAAGATTTAAGACATGTATGATAAACCATAAATTTTTTTATTTAAAG
 ACCTTTTCATTTTTAAAGTTGATTTTTTTCTATTGTTTTTAGAAAAATAAAATAATTGGAAAAATATAA
 TTGAGCCAACTCTT

Figura 36. Secuencia completa de la región 3'UTR de c-myc de rata. En la figura se muestra una secuencia de 440 pb correspondiente a la secuencia completa de la región 3'UTR de c-myc de rata obtenida a partir de la DNAC de la línea celular PC12HB+. Con fondo gris se muestra la secuencia de los oligonucleótidos empleados para su secuenciación y en color rosa la señal de poliadenilación.

Resultado del alineamiento.

CLUSTAL W (1.82) multiple sequence alignment.

SeqA	Name	Len(nt)	SeqB	Name	Len(nt)	Score
1	NM_012603 myc	444	2	Cmyc obtenida	440	99
NM_012603myc	TAAACTGACCGGAAGTGAGGAGGAGCTGGAATCTCGAGTGTAAGGAGAACGGTTCCTTCT	60	cmycobtenida	---ACTGACCGGAAGTGAGGAGGAGCTGGAATCTCGAGTGTAAGGAGAACGGTTCCTTCT	57	
NM_012603myc	GACAGAACTTGGACTTCAAAAAATGCATGCTCAAAGCCTAACCTCACAACCTTGGCTGGG	120	cmycobtenida	GACAGAACTTGGACTTCAAAAAATGCATGCTCAAAGCCTAACCTCACAACCTTGGCTGGG	117	
NM_012603myc	GCTTTGGGACTTCAGCCATAATGTTAACTGCCTCAAAGTTAAGGCATAAAAGAACTTTTT	180	cmycobtenida	GCTTTGGGACTTCAGCCATAATGTTAACTGCCTCAAAGTTAAGGCATAAAAGAACTTTTT	177	
NM_012603myc	TTTATGCTTCCCATCTTCTTTCTTTTCTTTTAAACAGATTTGTATTTAATGTTTTTTTT	240	cmycobtenida	TTTATGCTTCCCATCTTCTTTCTTTTCTTTTAAACAGGTTTGTATTTAATGTTTTTTTT	237	
NM_012603myc	AAAAAATCTTCCGGTGACATAGGGCCTTTAAATGTAAATAACTTTAATAAACGTTTA	300	cmycobtenida	AAAAAATCTTCCGGTGACATAGGGCCTTTAAATGTAAATAACTTTAATAAACGTTTA	297	
NM_012603myc	TAACAGTTATACAAGATTTAAGACATGTATGATAAACCATAAATTTTTTTTATTAAAGA	360	cmycobtenida	TAACAGTTATACAAGATTTAAGACATGTATGATAAACCATAAATTTTTTTT-ATTTAAAGA	356	
NM_012603myc	CCTTTTCATTTTTAAAGTTGATTTTTTCTATTGTTTTTAGAAAAATAAAATAATTGGA	420	cmycobtenida	CCTTTTCATTTTTAAAGTTGATTTTTTCTATTGTTTTTAGAAAAATAAAATAATTGGA	416	



```

NM_012603myc      AAAAAATATAATTGAGCCAACCTCTT 444
cmycobtenida     AAAAAATATAATTGAGCCAACCTCTT 440
*****~

```

Figura 37. Alineamiento de la región 3'UTR de *c-myc* de rata obtenida y la región 3'UTR de *c-myc* con número de acceso NM_012603. En la figura se muestra un alineamiento de la secuencia obtenida para la región 3'UTR de *c-myc* de rata con la secuencia reportada en el banco de genes con número de acceso NM_012603. En color rojo se resaltan las diferencias encontradas durante el alineamiento. Pueden observarse un cambio nucleotídico (G/A) en la posición 214 respecto al codón de término de la traducción y una delección de 1 nucleótido (T) en la posición 345.

d. Región 3'UTR de β -actina de rata.

Secuencia completa:

```

GCGGACTGTTACTGAGCTGCGTTTTACACCCTTTCTTTGACAAAACCTAACTTGCAGCAAAAAAAAAATGA
GACATTTGGCATGGCTTTATGTTTTTTTGTTTTTTGTTTTTTAAATTTTTTTTTTAAAAAGGT
TTTTTTTTTGTGTTTGTGTTTGGCGCCTTTGACTCAGGATTTAAAACTGGAACGGTGAAGGCGACCGCAGTT
GGTTGGAGCAAACATCCCCCAAAGTTCTACAATGTGGCTGAGGACTTTGATTGTACATTGTTTTTGTGTTT
TGGTTTTTTTAAATAGTCACTCCAAGTATCCACGGCATAGATGGTTACAGGAAGTCCCTCACCTCCCAAAA
GCCACCCCAACTCCTAAGGGGAGGATGGCTGCATCCATGCCCTGAGTCCACACCGGGGAAGGTGACAGCA
TTGCTTCTGTGTAATTATGTACTGCAAACATTTTTTTAAATCTTCGCCTTAATACTTCATTTTTGTTTT
TAATTTCTGAATGGTCAGCCATTGTGGCCTGCCCTTTTTTTGTCCCCCAACTTGATGTATGAAGGCTTT
GGTCTCCCTGGGAGTGGTTTGGAGTGTGAGGCAGCCAGGGCTGGCCTGTAAGTACGTTGAGACCGTTTTA
ATAAAAGTGCACACCTTA

```

Figura 38. Secuencia completa de la región 3'UTR β actina de rata. En la figura se muestra una secuencia de 657 pb correspondiente a la secuencia de la región 3'UTR de β -actina de rata, obtenida a partir de la DNAc de la línea celular PC12HB+. Con fondo gris se muestra la secuencia de los oligonucleótidos empleados para su secuenciación, en color rojo las diferencias nucleotídicas encontradas en el alineamiento con la secuencia V01217 reportada en el banco de genes; y en color rosa la señal de poliadenilación.

Resultado del alineamiento:

CLUSTAL W (1.82) multiple sequence alignment.

SeqA	Name	Len(nt)	SeqB	Name	Len(nt)	Score
1	V01217secrep	778	2	b-act obtenida	657	99
V01217secrep	GCAAATGCTTCTAGGCGGACTGTTACTGAGCTGCGTTTTACACCCTTTCTTTGACAAAAC	60	b-actobtenida	-----GCGGACTGTTACTGAGCTGCGTTTTACACCCTTTCTTTGACAAAAC	46	
V01217secrep	CTAACTTGCAGAAAAAAAAAAATGAGACATTTGGCATGGCTTTATGTTTTTTGTTTT	120	b-actobtenida	CTAACTTGCAGAAAAAAAAA-TGAGACATTTGGCATGGCTTTATGTTTTTTGTTTT	105	



```

V01217secrep      TTGTTTTGTTTTTTTTAAATTTTTTTTTTAAAAAGGTTTTTTTTTTTGTGTTTTG 180
b-actobtenida    TTGTTTTGTTTTTT-AAATTTTTTTTTTAAAAAGGTTTTTTTTTTT--GTTTTGTTTTG 162
*****

V01217secrep      GCGCTTTTGACTCAAGGATTTAAAACTGGAACGGTGAAGGCGACCGCAGTTGGTTGGAG 240
b-actobtenida    GCGCCTTTGACTCA-GGATTTAAAACTGGAACGGTGAAGGCGACCGCAGTTGGTTGGAG 221
****

V01217secrep      CAAACATCCCCCAAAGTCTACAATGTGGCTGAGGACTTTGATTGTACATTGTTTTTTGT 300
b-actobtenida    CAAACATCCCCCAAAGTCTACAATGTGGCTGAGGACTTTGATTGTACATTGTTTTTTGT 281
*****

V01217secrep      TTTTGGTTTTTTTAAATAGTCACTCCAAGTATCCACGGCATAGATGGTTACAGGAAGTCCC 360
b-actobtenida    TTTTGGTTTTTTTAAATAGTCACTCCAAGTATCCACGGCATAGATGGTTACAGGAAGTCCC 341
*****

V01217secrep      TCACCCTCCCAAAGCCACCCCAACTCCTAAGGGGAGGATGGCTGCATCCATGCCCTGA 420
b-actobtenida    TCACCCTCCCAAAGCCACCCCAACTCCTAAGGGGAGGATGGCTGCATCCATGCCCTGA 401
*****

V01217secrep      GTCCACACGGG-AAGGTGACAGCATTGCTTCTGTGTAAATTATGACTTGCAAACATTT 479
b-actobtenida    GTCCACACGGGGAAGGTGACAGCATTGCTTCTGTGTAAATTATGACT-GCAAACATTT 460
*****

V01217secrep      TTTTAAATCTTCCGCCTTAATACTTCATTTTTGTTTTTAAATTTCTGAATGGTCAGCCATT 539
b-actobtenida    TTTTAAATCTTCCGCCTTAATACTTCATTTTTGTTTTTAAATTTCTGAATGGTCAGCCATT 520
*****

V01217secrep      CGTGGCCTGCCCTTTTTTTGTCCCCCAACTTGATGTATGAAGGCTTTGGTCTCCCTG 599
b-actobtenida    -GTGGCCTGCCCTTTTTTT-GTCCCCCAACTTGATGTATGAAGGCTTTGGTCTCCCTG 578
*****

V01217secrep      GGAGTGGTTTGAGGTGTTGAGGC-GCCAGGGCTGGCTGTACTGACGTGAGACCGTTT 658
b-actobtenida    GGAGTGGTTTGAGGTGTTGAGGCAGCCAGGGCTGGCTGTACTGACGTGAGACCGTTT 637
*****

V01217secrep      TAATAAAAGTGCACACCTTACAAACAAGTTTGTGGCTCTGTGGCTTCTACTGGGTGTGGG 718
b-actobtenida    TAATAAAAGTGCACACCTTA----- 657
*****

V01217secrep      GAGCAGGCTGGGTGGGTGTGNAACTCCACGTGGGGGAGGGGCAATTTAGGTGGGCTGGC 778
b-actobtenida    -----

```

Figura 39. Alineamiento de las regiones 3'UTR β -actina de rata (obtenida y reportada). Alineamiento de la secuencia obtenida para la región 3'UTR de β -actina de rata con la secuencia reportada en el banco de genes con número de acceso V01217. En color rojo se resaltan las diferencias encontradas durante el alineamiento. Pueden observarse 7 deleciones de un nucleótido cada una, la inserción de una A en la posición 599 y un cambio nucleotídico (T/C) en la posición 164.

Una vez confirmadas las secuencias de los vectores, se realizaron medianas escalas para la obtención de cantidades suficientes de cada vector con fines de transfección. EL DNAp obtenido de esta manera fue cuantificado por espectrofotometría de absorción ultravioleta-visible, estableciendo como criterio de pureza una relación $260/280 \geq 1.8$.



✓ Determinación del efecto de la región 3'UTR de VEGF-D sobre la expresión de luciferasa en las líneas celulares PC12-wnt1, PC12-HB⁺ y PC12 HB⁻.

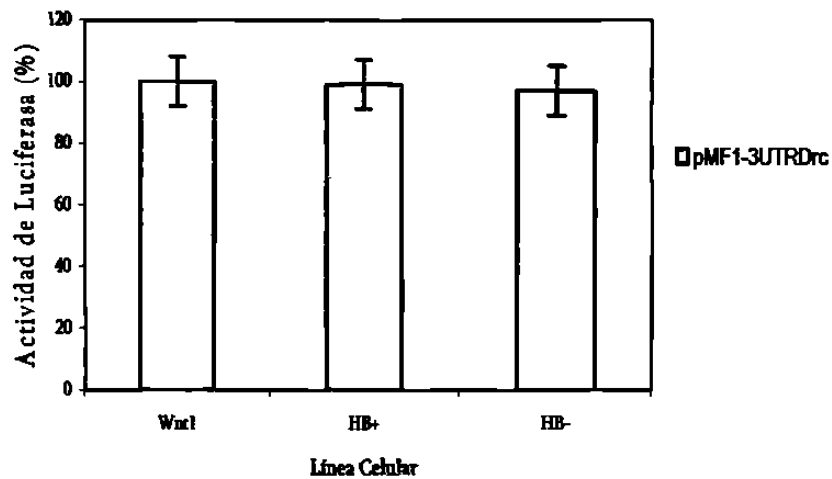
1. Ensayos de Transfección.

Los plásmidos que se incluyeron en los ensayos de transfección son los plásmidos pMF2-3UTRDm, pMF3-3UTRDh pMF6-3UTRDrl, debido a que con dichos plásmidos, puede establecerse el efecto de wnt1 sobre la actividad del reportero y por lo tanto sobre la región 3'UTR contenida en cada uno de ellos.

Con la finalidad de observar el comportamiento de la región 3'UTR de VEGF-D corta en las 3 líneas celulares se incluyó el plásmido pMF1-3UTRDrc dentro del análisis.

a). pMF1-3UTRDrc (Región 3'UTR corta de VEGF-D de rata).

En los ensayos de co-transfección de las líneas celulares PC12 wnt1, PC12HB⁺ y PC12HB⁻ con los vectores pMF1-3UTRDrc/pRL-CMV se encontró que los niveles de actividad de *Luciferasa* (normalizados con los niveles de actividad del reportero *Renilla*), en la línea celular PC12HB⁻, fueron ligeramente menores que en las líneas celulares que expresan constitutivamente el oncogen *wnt1*; sin embargo debido a que los valores de la *t* calculada son menores que los valores de la *t* tabulada para ambos casos, esta diferencia no es estadísticamente significativa (figura 40).

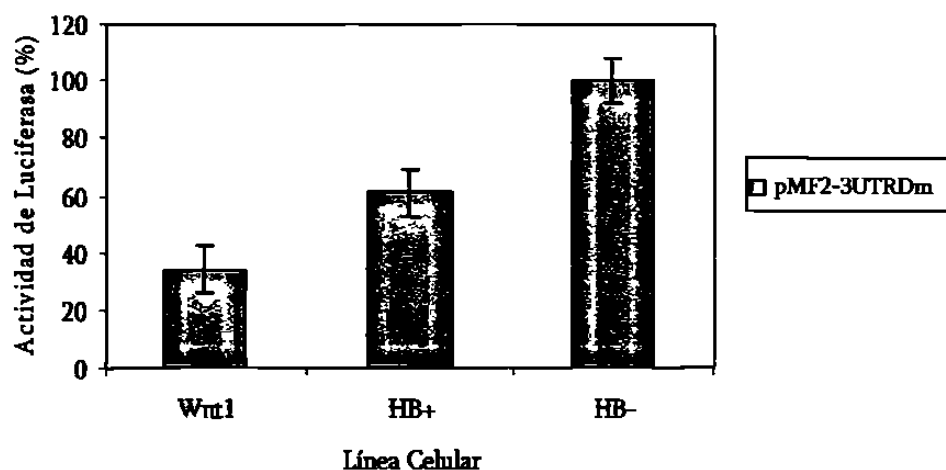


Vector	Línea Celular	t calculada	t tabulada	Significancia
pMF1-3UTRDrc (3'UTR VEGFD rata, región corta)	PC12Wnt1 vs PC12HB-	0.331	2.13	NO
	PC12HB+ vs PC12HB-	0.12		NO

Figura 40. Efecto de la región 3'UTR corta de VEGF-D de rata sobre la expresión de Luciferasa. En la gráfica se muestran los niveles de actividad de luciferasa obtenidos en los ensayos de co-transfección con los plásmidos pMF1-3UTRDrc/pCMV/renilla (región 3'UTR corta de VEGF-D de rata) en cada una de las líneas celulares. En la tabla se muestran los valores de t calculados para cada uno de los experimentos. Las variaciones en la actividad del reportero obtenidas en las diferentes líneas celulares para este vector no fueron significantes.

b). pMF2-3UTRDm (Región 3'UTR de VEGF-D de ratón).

Para el caso de los ensayos de co-transfección con los vectores pMF2-3UTRDm/pRL-CMV, se encontró que los niveles de actividad de *Luciferasa*, en la línea celular PC12HB-, fueron considerablemente mayores, que en las líneas celulares que expresan constitutivamente el oncogen *wnt1*; esta diferencia es estadísticamente significativa, con valores de t calculados para ambos casos, superiores a los valores de t tabulados (figura 41).

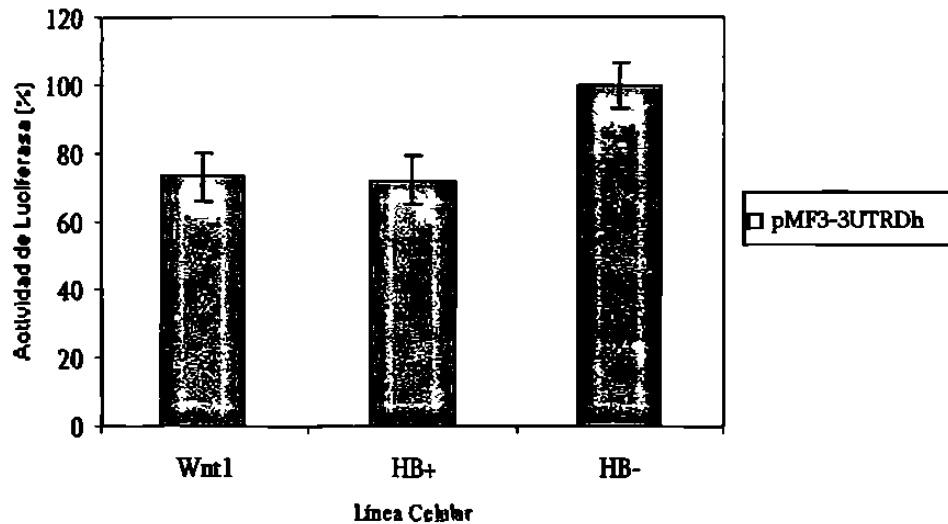


Vector	Línea Celular	t calculada	t tabulada	Significancia
pMF2-3UTRDm (3'UTR VEGFD ratón)	PC12Wnt1 vs PC12HB-	9.37	2.13	SI
	PC12HB+ vs PC12HB-	2.75		SI

Figura 41. Efecto de de la región 3'UTR de VEGF-D de ratón sobre la expresión de Luciferasa. En la gráfica se muestran los niveles de actividad de luciferasa obtenidos en los ensayos de co-transfección con los plásmidos pMF2-3UTRDm/pCMVRenilla (región 3'UTR de VEGF-D de ratón) en cada una de las líneas celulares. En la tabla se muestran los valores de t calculados para cada uno de los experimentos. Las variaciones en la actividad del reportero obtenidas en las diferentes líneas celulares para este vector fueron estadísticamente significativas.

c). pMF3-3UTRDh (Región 3'UTR de VEGF-D de humano).

De la misma manera que para pMF2-3UTRDm, en los ensayos de co-transfección con pMF3-3UTRDh/pRL-CMV, se encontró que los niveles de actividad de *Luciferasa* en la línea celular PC12HB- fueron considerablemente mayores que en las líneas celulares que expresan constitutivamente el oncogen *wnt1*: esta diferencia es estadísticamente significativa, con valores de t calculados para ambos casos, superiores a los valores de t tabulados (figura 42).

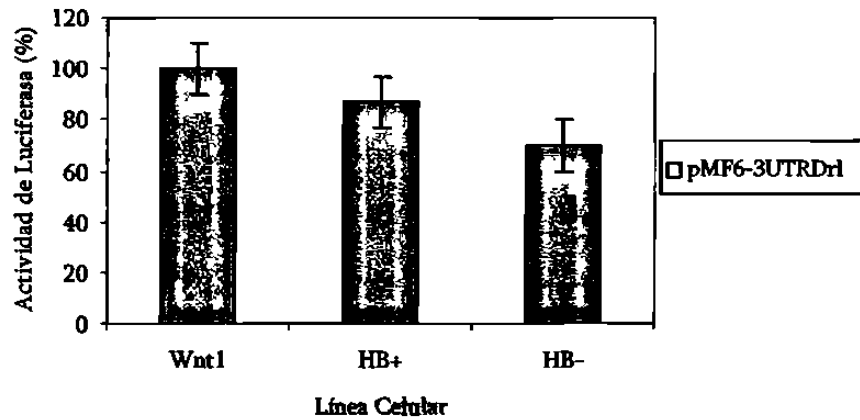


Vector	Línea Celular	t calculada	t tabulada	Significancia
pMF3-3UTRDh (3'UTR VEGFD de humano)	PC12Wnt1 vs PC12HB-	5.52	2.13	SI
	PC12HB+ vs PC12HB-	5.54		SI

Figura 42. Efecto de de la región 3'UTR de VEGF-D de humano sobre la expresión de Luciferasa. En la gráfica se muestran los niveles de actividad de luciferasa obtenidos en los ensayos de co-transfección con los plásmidos pMF3-3UTRDh/pCMVRenilla (región 3'UTR de VEGF-D de humano) en cada una de las líneas celulares. En la tabla se muestran los valores de t calculados para cada uno de los experimentos. Las variaciones en la actividad del reportero obtenidas en las diferentes líneas celulares para este vector fueron estadísticamente significativas.

d). pMF6-3UTRDrl (Región 3'UTR larga de VEGF-D de rata, obtenida a partir de DNAc de células PC12wnt1).

Para el caso de pMF6 se encontró que los niveles de actividad de *Luciferasa* en las líneas celulares que expresan constitutivamente el oncogen *wnt1*, son mayores que en la línea celular PC12HB; esta diferencia es estadísticamente significativa, con valores de t calculados, superiores a los valores de t tabulados (figura 43).



Vector	Línea Celular	t calculada	t tabulada	Significancia
pMF6-3UTRDr1 (3'UTR larga de VEGFD de humano, obtenida a partir de DNAc de PC12wnt1)	PC12Wnt1 vs PC12HB-	6.5	2.13	SI
	PC12HB+ vs PC12HB-	9.7		SI

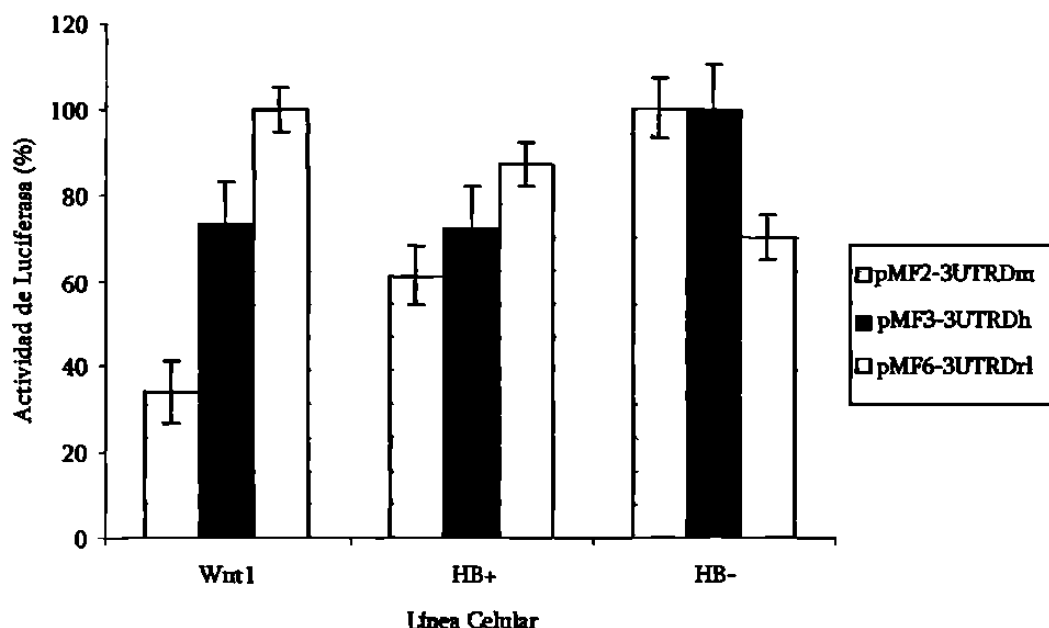
Figura 43. Efecto de la región 3'UTR larga de VEGF-D de rata sobre la expresión de Luciferasa. En la gráfica se muestran los niveles de actividad de luciferasa obtenidos en los ensayos de co-transfección con los plásmidos pMF6-3UTRDr1/pCMVRenilla (región 3'UTR larga de VEGF-D de rata) en cada una de las líneas celulares. En la tabla se muestran los valores de t calculados para cada uno de los experimentos. Las variaciones en la actividad del reportero obtenidas en las diferentes líneas celulares para este vector fueron estadísticamente significativas.

e). Comparación de los niveles de actividad de *Luciferasa* de las regiones 3'UTR de VEGF-D de rata (región larga), ratón y humano.

Se encontró que los niveles de actividad de *Luciferasa* de vectores de expresión que contienen las regiones 3'UTR de VEGF-D de rata en las líneas celulares que expresan constitutivamente el oncogen *wnt1*, son mayores que los encontrados para las regiones 3'UTR de VEGF-D de ratón y de humano; por otro lado la actividad del reportero de dichos vectores en la línea celular HB- (ausencia de expresión de *wnt1*), son menores que los encontrados para las regiones 3'UTR de VEGF-D de ratón y de humano. En ambos casos esta



diferencia es estadísticamente significativa con valores de *t* calculados superiores a los valores de *t* tabulados (figura 44).



Línea Celular	Vectores comparados	<i>t</i> calculada	<i>t</i> tabulada	Significancia
PC12Wnt1	pMF6-3UTRDrl y pMF2-3UTRDm	29.37	2.13	SI
	pMF6-3UTRDrl y pMF3-3UTRDh	6.18		SI
PC12HB+	pMF6-3UTRDrl y pMF2-3UTRDm	3.81		SI
	pMF6-3UTRDrl y pMF3-3UTRDh	5.82		SI
PC12HB-	pMF6-3UTRDrl y pMF2-3UTRDm	4.56		SI
	pMF6-3UTRDrl y pMF3-3UTRDh	19.3		SI

Figura 44. Comparación de los niveles de actividad de *Luciferasa* de las regiones 3'UTR de VEGF-D de rata (región larga), ratón y humano en el sistema celular PC12. En la gráfica se muestran los niveles de actividad de luciferasa obtenidos en los ensayos de transfección para los plásmidos pMF2-3UTRDm (3'UTR VEGF-D de ratón), pMF3-3UTRDh (3'UTR VEGF-D de humano) y pMF6-3UTRDrl (3'UTR larga de VEGF-D de de rata) en cada línea celular. Los niveles de actividad del reportero para el caso de la región 3UTR de VEGF-D de ratón y de humano en las líneas celulares PC12HB+ y PC12 HB- fueron significativos en comparación con los niveles de actividad del reportero ligado a la región 3'UTR larga de VEGF-D de rata.



CAPÍTULO V.

DISCUSIÓN

En este estudio se pudo corroborar que en células PC12 que expresan constitutivamente el oncogen *wnt1*, los niveles de expresión del gen *RET* son mayores que en ausencia de señalización por *wnt1* en que los niveles de expresión permanecen bajos. Este dato concuerda con lo reportado para *RET* por Zeng y cols (1996); por lo tanto se confirma, que la inducción de *RET* depende de la expresión continua de *wnt1* en este sistema celular. Por otro lado la expresión de *wnt1* incrementa los niveles de expresión de *NEU* y dichos niveles permanecen sin cambio una vez que *wnt1* deja de ser expresado (PC12HB-). Al igual que para *RET*, estos resultados coinciden con los datos reportados en la literatura⁶⁵.

Está bien establecido que *c-myc* es un blanco transcripcional de la vía *wnt*²¹, por lo tanto los altos niveles de expresión encontrados en presencia de señalización por *wnt1* para este gen concuerdan con ese hallazgo. Alternativamente se observó que los niveles de expresión de *c-myc*, disminuyen en un 30% una vez que *wnt1* ya no es expresado (línea celular PC12HB-).

En el sistema PC12, la expresión incrementada de *VEGF-D* de aproximadamente 3 veces en la línea celular que expresa constitutivamente *wnt1*, concuerda con los resultados de laboratorio encontrados por el Dr. Francisco Velázquez (datos no publicados) y contrastan con los datos reportados por Orlandini y cols (2003), donde observan que la β -catenina contribuye a la degradación del mensajero de *VEGF-D* en células tipo 3T3 de fibroblastos de ratón. Esta controversia en los resultados puede ser explicada por la presencia de una región rica en citosinas y timinas (17 repetidos CT's) y al menos 4 elementos (CCTCC) de acción en *cis* típicos de las regiones ricas en citosinas presentes en la región 3'UTR del RNAm de *VEGF-D* de rata, pero ausentes en la región 3'UTR de *VEGF-D* de humano y de ratón. Estas regiones ricas en citosinas han sido descritas como elementos estabilizadores en la región 3'UTR de la α 2-globina humana⁵⁸, donde mediante un análisis mutacional, Wang y cols



(1995) identifican tres regiones ricas en citosinas que son requeridas para la longevidad del RNAm de la $\alpha 2$ - globina humana, todas ellas localizadas en su región 3'UTR⁵⁸. Existen proteínas tales como las PCBP's que se unen a regiones poli (C) y que ejercen un efecto estabilizador sobre los mensajeros blanco⁵⁵.

La región 3'UTR de VEGF-D de rata, además de ser rica en CU's posee 6 elementos ARE tipo I contrastando con un solo ARE reportado para el caso de la región 3'UTR de VEGF-D de ratón y 2 en la de humano, respectivamente⁴². A pesar que los elementos ricos en adeninas y uracilos (ARE) inicialmente fueron descritos como elementos desestabilizadores del RNAm, existen proteínas como algunos miembros de la familia Hu (homólogas a la proteína ELAV en *Drosophila*), que estabilizan los RNAs mensajeros que contienen AREs después de su desadenilación. Es bien sabido que la sobreexpresión de HuR ocasiona la acumulación de los RNAs mensajeros blanco⁶⁶; por ejemplo en el caso del RNAm de VEGF-A, HuR es capaz de unirse a un elemento ARE tipo III encontrado en su región 3'UTR, favoreciendo con esto su estabilización en condiciones de hipoxia⁶⁷. Con base en esta observación, es importante determinar la función de los elementos ARE tipo I encontrados en la región 3'UTR de VEGF-D de rata y que están ausentes en la región 3'UTR de VEGF-D de humano y de ratón, ya que esto proveería información importante acerca de los mecanismos involucrados en el recambio del RNAm de VEGF-D, en el sistema celular PC12.

La hipótesis de la contribución de las repeticiones CT's en la acumulación del mensajero de VEGF-D de rata; también es apoyada por los resultados obtenidos mediante ensayos de actividad de luciferasa, en los cuales se encontraron niveles altos en la actividad del reportero ligado a la región 3'UTR de VEGF-D de rata en las líneas celulares que expresan continuamente wnt1. Estos niveles elevados obtenidos para la región 3'UTR de VEGF-D de rata contrastan con los niveles de actividad bajos obtenidos para las regiones 3'UTR de VEGF-D de ratón y humano, respectivamente, en las mismas líneas celulares. Sin embargo en la línea celular PC12HB⁻ se observó un efecto inverso, en que los niveles de actividad del reportero, ligado a las regiones 3'UTR de VEGF-D de ratón y humano fueron altos, mientras



que los obtenidos para la región 3'UTR de VEGF-D de rata fueron bajos. Para ambas comparaciones se encontró diferencia estadísticamente significativa. Interesantemente este resultado sugiere la relación funcional de wnt1 con la región 3'UTR de VEGF-D de rata, sin embargo se requieren estudios adicionales para establecer con certeza dicha relación.



CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

Los resultados de esta tesis sugieren:

1. Que en células PC12 la vía canónica wnt regula positivamente la actividad de la región 3’UTR de VEGF-D de rata, y negativamente la actividad de la región 3’UTR de VEGF-D de ratón y humano.
2. De igual manera, sugieren una relación funcional entre la región 3’UTR de VEGF-D de rata y la vía canónica wnt tal como fue planteado en la hipótesis al inicio de este trabajo.



CAPÍTULO VIII.

PERSPECTIVAS

Con los resultados obtenidos en este trabajo de tesis se pueden plantear los siguientes estudios para continuar esta línea de investigación.

1. Ensayos de actividad con los vectores que poseen la delección de las repeticiones de CT's para indagar acerca de su función; así como medir la actividad de luciferasa de aquellos que poseen las regiones 3'UTR de c-myc y β -actina (construidos durante este trabajo de tesis).
2. Ensayos de estabilidad del RNAm para determinar si la relación funcional de la región 3'UTR de VEGF-D de rata se da a este nivel.
3. Análisis in vitro de la estructura del RNA de la región 3'UTR de VEGF-D.
4. Análisis in vitro de la relación funcional entre proteínas que se unen a RNA pertenecientes a distintas familias.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ Ilyas M. Wnt signalling and the mechanistic basis of tumour development. *J Pathol.* 2005 Jan;205(2):130-44.
- ² Nelson WJ, Nusse R. Convergence of Wnt, beta-catenin, and cadherin pathways. *Science.* 2004 Mar 5;303(5663):1483-7.
- ³ Nusse R. Wnts and Hedgehogs: lipid-modified proteins and similarities in signaling mechanisms at the cell surface. *Development.* 2003 Nov;130(22):5297-305.
- ⁴ Logan CY, Nusse R. The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2004;20:781-810.
- ⁵ Johnson ML, Harnish K, Nusse R, Van Hul W. LRP5 and Wnt signaling: a union made for bone. *J Bone Miner Res.* 2004 Nov;19(11):1749-57.
- ⁶ Willert K, Brown JD, Danenberg E, Duncan AW, Weissman IL, Reya T, Yates JR 3rd, Nusse R. Wnt proteins are lipid-modified and can act as stem cell growth factors. *Nature.* 2003 May 22;423(6938):448-52.
- ⁷ Smolich BD, McMahon JA, McMahon AP, Papkoff J. Wnt family proteins are secreted and associated with the cell surface. *Mol Biol Cell.* 1993 Dec;4(12):1267-75.
- ⁸ Lustig B, Behrens J. The Wnt signaling pathway and its role in tumor development. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2003 Apr;129(4):199-221.
- ⁹ Waterman ML. Lymphoid enhancer factor/T cell factor expression in colorectal cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2004 Jan-Jun;23(1-2):41-52.



-
- ¹⁰ Atcha FA, Munguia JE, Li TW, Hovanes K, Waterman ML. A new beta-catenin-dependent activation domain in T cell factor. *J Biol Chem.* 2003 May 2;278(18):16169-75.
- ¹¹ Van de Wetering M, Cavallo R, Dooijes D, van Beest M, van Es J, Loureiro J, Ypma A, Hursh D, Jones T, Bejsovec A, Peifer M, Mortin M, Clevers H. Armadillo coactivates transcription driven by the product of the *Drosophila* segment polarity gene dTCF. *Cell.* 1997 Mar 21;88(6):789-99.
- ¹² Omer CA, Miller PJ, Diehl RE, Kral AM. Identification of Tcf4 residues involved in high-affinity beta-catenin binding. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999 Mar 24;256(3):584-90.
- ¹³ Brantjes H, Barker N, van Es J, Clevers H. TCF: Lady Justice casting the final verdict on the outcome of Wnt signalling. *Biol Chem.* 2002 Feb;383(2):255-61.
- ¹⁴ Papkoff J, Rubinfeld B, Schryver B, Polakis P. Wnt-1 regulates free pools of catenins and stabilizes APC-catenin complexes. *Mol Cell Biol.* 1996 May;16(5):2128-34.
- ¹⁵ Orford K, Crockett C, Jensen JP, Weissman AM, Byers SW. Serine phosphorylation-regulated ubiquitination and degradation of beta-catenin. *J Biol Chem.* 1997 Oct 3;272(40):24735-8.
- ¹⁶ Aberle H, Bauer A, Stappert J, Kispert A, Kemler R. beta-catenin is a target for the ubiquitin-proteasome pathway. *EMBO J.* 1997 Jul 1;16(13):3797-804.
- ¹⁷ Roose J, Clevers H. TCF transcription factors: molecular switches in carcinogenesis. *Biochim Biophys Acta.* 1999 Oct 29;1424(2-3):M23-37.



- ¹⁸ Nusse R. The Wnt Homepage. [En Línea].
Disponible (<http://www.stanford.edu/~rnusse/pathways/targets.html>) 12 de Enero de 2005.
- ¹⁹ Waltzer L, Bienz M. The control of beta-catenin and TCF during embryonic development and cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 1999;18(2):231-46.
- ²⁰ Brantjes H, Barker N, van Es J, Clevers H. TCF: Lady Justice casting the final verdict on the outcome of Wnt signalling. *Biol Chem.* 2002 Feb;383(2):255-61.
- ²¹ He TC, Sparks AB, Rago C, Hermeking H, Zawel L, da Costa LT, Morin PJ, Vogelstein B, Kinzler KW. Identification of c-MYC as a target of the APC pathway. *Science.* 1998 Sep 4;281(5382):1509-12.
- ²² Tetsu O, McCormick F. Beta-catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells. *Nature.* 1999 Apr 1;398(6726):422-6.
- ²³ Mann B, Gelos M, Siedow A, Hanski ML, Gratchev A, Ilyas M, Bodmer WF, Moyer MP, Riecken EO, Buhr HJ, Hanski C. Target genes of beta-catenin-T cell-factor/lymphoid-enhancer-factor signaling in human colorectal carcinomas. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999 Feb 16;96(4):1603-8.
- ²⁴ Nelson RW, Gumbiner BM. Beta-catenin directly induces expression of the *Siamois* gene, and can initiate signaling indirectly via a membrane-tethered form. *Ann N Y Acad Sci.* 1998 Oct 23;857:86-98.
- ²⁵ McGrew LL, Takemaru K, Bates R, Moon RT. Direct regulation of the *Xenopus engrailed-2* promoter by the Wnt signaling pathway, and a molecular screen for Wnt-responsive



- genes, confirm a role for Wnt signaling during neural patterning in *Xenopus*. *Mech Dev.* 1999 Sep;87(1-2):21-32.
- ²⁶ Laurent MN, Blitz IL, Hashimoto C, Rothbacher U, Cho KW. The *Xenopus* homeobox gene *twin* mediates Wnt induction of gooseoid in establishment of Spemann's organizer. *Development.* 1997 Dec;124(23):4905-16.
- ²⁷ Dorsky RI, Raible DW, Moon RT. Direct regulation of *nacre*, a zebrafish MITF homolog required for pigment cell formation, by the Wnt pathway. *Genes Dev.* 2000 Jan 15;14(2):158-62.
- ²⁸ Yamaguchi TP, Takada S, Yoshikawa Y, Wu N, McMahon AP. *T* (Brachyury) is a direct target of *Wnt3a* during paraxial mesoderm specification. *Genes Dev.* 1999 Dec 15;13(24):3185-90.
- ²⁹ Takahashi M, Tsunoda T, Seiki M, Nakamura Y, Furukawa Y. Identification of membrane-type matrix metalloproteinase-1 as a target of the beta-catenin/Tcf4 complex in human colorectal cancers. *Oncogene.* 2002 Aug 29;21(38):5861-7.
- ³⁰ Crawford HC, Fingleton BM, Rudolph-Owen LA, Goss KJ, Rubinfeld B, Polakis P, Matrisian LM. The metalloproteinase *matrilysin* is a target of beta-catenin transactivation in intestinal tumors. *Oncogene.* 1999 May 6;18(18):2883-91.
- ³¹ Marchenko GN, Marchenko ND, Leng J, Strongin AY. Promoter characterization of the novel human matrix metalloproteinase-26 gene: regulation by the T-cell factor-4 implies specific expression of the gene in cancer cells of epithelial origin. *Biochem J.* 2002 Apr 15;363(Pt 2):253-62.



- ³² Kolligs FT, Nieman MT, Winer I, Hu G, Van Mater D, Feng Y, Smith IM, Wu R, Zhai Y, Cho KR, Fearon ER. ITF-2, a downstream target of the Wnt/TCF pathway, is activated in human cancers with beta-catenin defects and promotes neoplastic transformation. *Cancer Cell*. 2002 Mar;1(2):145-55
- ³³ Levy L, Neuveut C, Renard CA, Charneau P, Branchereau S, Gauthier F, Van Nhieu JT, Cherqui D, Petit-Bertron AF, Mathieu D, Buendia MA. Transcriptional activation of interleukin-8 by beta-catenin-Tcf4. *J Biol Chem*. 2002 Nov 1;277(44):42386-93.
- ³⁴ Conacci-Sorrell ME, Ben-Yedidia T, Shtutman M, Feinstein E, Einat P, Ben-Ze'ev A. Nr-CAM is a target gene of the beta-catenin/LEF-1 pathway in melanoma and colon cancer and its expression enhances motility and confers tumorigenesis. *Genes Dev*. 2002 Aug 15;16(16):2058-72.
- ³⁵ Janavel G, Del Valle H, Lascano E*, Negroni J, Linares J, Crottogini A. Angiogénesis terapéutica en la cardiopatía isquémica. *Rev Fed Arg. Cardiol* 2001; 30: 245-261
- ³⁶ Bergers G, Benjamin LE. Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nat Rev Cancer*. 2003 Jun;3(6):401-10.
- ³⁷ Benjamin LE, Golijanin D, Itin A, Pode D, Keshet E. Selective ablation of immature blood vessels in established human tumors follows vascular endothelial growth factor withdrawal. *J Clin Invest*. 1999 Jan;103(2):159-65.
- ³⁸ Dvorak HF. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *N Engl J Med*. 1986 Dec 25;315(26):1650-9.



- ³⁹ Nyberg P, Xie L, Kalluri R. Endogenous inhibitors of angiogenesis. *Cancer Res.* 2005 May 15;65(10):3967-79.
- ⁴⁰ Folkman J. Endogenous angiogenesis inhibitors. *APMIS.* 2004 Jul-Aug;112(7-8):496-507.
- ⁴¹ Mazitschek R, Giannis A. Inhibitors of angiogenesis and cancer-related receptor tyrosine kinases. *Curr Opin Chem Biol.* 2004 Aug;8(4):432-41.
- ⁴² Orlandini M, Semboloni S, Oliviero S. Beta-catenin inversely regulates vascular endothelial growth factor-D mRNA stability. *J Biol Chem.* 2003 Nov 7;278(45):44650-6.
- ⁴³ Bergers G, Benjamin LE. Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nat Rev Cancer.* 2003 Jun;3(6):401-10
- ⁴⁴ Tokunaga Y, Yamazaki Y, Morita T. Specific distribution of VEGF-F in Viperinae snake venoms: isolation and characterization of a VGEF-F from the venom of *Daboia russelli siamensis*. *Arch Biochem Biophys.* 2005 Jul 15;439(2):241-7.
- ⁴⁵ Baldwin ME, Stacker SA, Achen MG. Molecular control of lymphangiogenesis. *Bioessays.* 2002 Nov;24(11):1030-40.
- ⁴⁶ Farnebo F, Piehl F, Lagercrantz J. Restricted expression pattern of vegf-d in the adult and fetal mouse: high expression in the embryonic lung. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999 Apr 21;257(3):891-4.
- ⁴⁷ Veikkola T, Jussila L, Makinen T, Karpanen T, Jeltsch M, Petrova TV, Kubo H, Thurston G, McDonald DM, Achen MG, Stacker SA, Alitalo K. Signalling via vascular



- endothelial growth factor receptor-3 is sufficient for lymphangiogenesis in transgenic mice. *EMBO J.* 2001 Mar 15;20(6):1223-31
- ⁴⁸ Marconcini L, Marchio S, Morbidelli L, Cartocci E, Albini A, Ziche M, Bussolino F, Oliviero S. c-fos-induced growth factor/vascular endothelial growth factor D induces angiogenesis in vivo and in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999 Aug 17;96(17):9671-6.
- ⁴⁹ Byzova TV, Goldman CK, Jankau J, Chen J, Cabrera G, Achen MG, Stacker SA, Carnevale KA, Siemionow M, Deitcher SR, DiCorleto PE. Adenovirus encoding vascular endothelial growth factor-D induces tissue-specific vascular patterns in vivo. *Blood.* 2002 Jun 15;99(12):4434-42.
- ⁵⁰ Stacker SA, Caesar C, Baldwin ME, Thornton GE, Williams RA, Prevo R, Jackson DG, Nishikawa S, Kubo H, Achen MG. VEGF-D promotes the metastatic spread of tumor cells via the lymphatics. *Nat Med.* 2001 Feb;7(2):186-91.
- ⁵¹ Kurebayashi J, Otsuki T, Kunisue H, Mikami Y, Tanaka K, Yamamoto S, Sonoo H. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) family members in breast cancer. *Jpn J Cancer Res.* 1999 Sep;90(9):977-81.
- ⁵² Achen MG, Williams RA, Minekus MP, Thornton GE, Stenvers K, Rogers PA, Lederman F, Roufail S, Stacker SA. Localization of vascular endothelial growth factor-D in malignant melanoma suggests a role in tumour angiogenesis. *J Pathol.* 2001 Feb;193(2):147-54.
- ⁵³ Achen MG, Williams RA, Baldwin ME, Lai P, Roufail S, Alitalo K, Stacker SA. The angiogenic and lymphangiogenic factor vascular endothelial growth factor-D



- exhibits a paracrine mode of action in cancer. *Growth Factors*. 2002 Jun;20(2):99-107.
- ⁵⁴ He Y, Kozaki K, Karpanen T, Koshikawa K, Yla-Herttuala S, Takahashi T, Alitalo K. Suppression of tumor lymphangiogenesis and lymph node metastasis by blocking vascular endothelial growth factor receptor 3 signaling. *J Natl Cancer Inst*. 2002 Jun 5;94(11):819-25.
- ⁵⁵ Hollams EM, Giles KM, Thomson AM, Leedman PJ. mRNA stability and the control of gene expression: implications for human disease. *Neurochem Res*. 2002 Oct;27(10):957-80.
- ⁵⁶ Bevilacqua A, Ceriani MC, Capaccioli S, Nicolini A. Post-transcriptional regulation of gene expression by degradation of messenger RNAs. *J Cell Physiol*. 2003 Jun;195(3):356-72.
- ⁵⁷ Megerditch Kiledjian, Nancy Day and Panayiota Trifillis. Purification and RNA Binding Properties of the Polycytidylate-Binding Proteins α CP1 and α CP2. *Methods*, Volume 17, Issue 1, January 1999, Pages 84-91
- ⁵⁸ Wang X, Kiledjian M, Weiss IM, Liebhaber SA. Detection and characterization of a 3' untranslated region ribonucleoprotein complex associated with human alpha-globin mRNA stability. *Mol Cell Biol*. 1995 Mar;15(3):1769-77. Erratum in: *Mol Cell Biol* 1995 Apr;15(4):2331.
- ⁵⁹ Wang X, Kiledjian M, Weiss IM, Liebhaber SA. Detection and characterization of a 3' untranslated region ribonucleoprotein complex associated with human alpha-



-
- globin mRNA stability. *Mol Cell Biol.* 1995 Mar;15(3):1769-77. Erratum in: *Mol Cell Biol* 1995 Apr;15(4):2331.
- ⁶⁰ Weiss IM, Liebhaber SA. Erythroid cell-specific mRNA stability elements in the alpha 2-globin 3' nontranslated region. *Mol Cell Biol.* 1995 May;15(5):2457-65.
- ⁶¹ Weiss IM, Liebhaber SA. Erythroid cell-specific determinants of alpha-globin mRNA stability. *Mol Cell Biol.* 1994 Dec;14(12):8123-32.
- ⁶² Bradley RS, Cowin P, Brown AM. Expression of Wnt-1 in PC12 cells results in modulation of plakoglobin and E-cadherin and increased cellular adhesion. *J Cell Biol.* 1993 Dec;123(6 Pt 2):1857-65.
- ⁶³ Ramachandran B, Houben K, Rozenberg YY, Haigh JR, Varpetian A, Howard BD. Differential expression of transporters for norepinephrine and glutamate in wild type, variant, and WNT1-expressing PC12 cells. *J Biol Chem.* 1993 Nov 15;268(32):23891-7.
- ⁶⁴ Blaxall BC, Pende A, Wu SC, Port JD. Correlation between intrinsic mRNA stability and the affinity of AUF1 (hnRNP D) and HuR for A+U-rich mRNAs. *Mol Cell Biochem.* 2002 Mar;232(1-2):1-11.
- ⁶⁵ Zheng S, Ramachandran B, Haigh JR, Palos TP, Steger K, Howard BD. The induction of ret by Wnt-1 in PC12 cells is atypically dependent on continual Wnt-1 expression. *Oncogene.* 1996 Feb 1;12(3):555-62.
- ⁶⁶ Shim J, Karin M. The control of mRNA stability in response to extracellular stimuli. *Mol Cells.* 2002 Dec 31;14(3):323-31.



- ⁶⁷ Levy AP. Hypoxic regulation of VEGF mRNA stability by RNA-binding proteins. Trends Cardiovasc Med. 1998 Aug;8(6):246-50.



RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

MARGARITA DE LA LUZ MARTÍNEZ FIERRO.

Candidato para el Grado de

Maestro en Ciencias con Especialidad en Biología Molecular e Ingeniería Genética

Tesis

"Papel de la región 3'UTR en la acumulación del RNA mensajero de VEGF-D en células PC12 que expresan constitutivamente el oncogen wnt-1"

Campo de estudio: Biología Molecular.

Biografía.

Lugar de Nacimiento: Rodeo, Durango, México.

Fecha: 13 de mayo de 1978.

Padres: Ma. de la Luz Fierro Ramos y Jesús Martínez Valdéz.

Educación.

Licenciatura: Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Zacatecas.

Grado obtenido: Químico Farmacéutico Biólogo en 2002.



