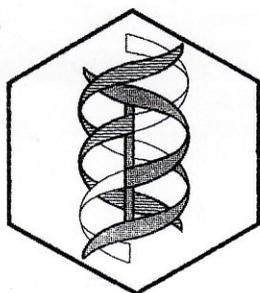


# BIER<sub>2000</sub>

BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA



Órgano de información de la  
**ASOCIACIÓN MEXICANA DE  
PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A C**

Publicación incluida por el Centro de Información  
Científica y Humanística de la Universidad Nacional  
Autónoma de México en la base de datos **PERIÓDICA**  
(Índice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias).

# COMITÉ EDITORIAL

## EDITORES FUNDADORES

### ENRIQUE PIÑA GARZA

Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México

### GUILLERMO CARVAJAL SANDOVAL

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias  
e Instituto Politécnico Nacional

### JESÚS MANUEL LEÓN CÁZARES

Facultad de Ciencias Naturales  
Universidad Autónoma de Querétaro

### SERGIO SÁNCHEZ ESQUIVEL

Instituto de Investigaciones Biomédicas  
Universidad Nacional Autónoma de México

## EDITORES

### SOCORRO CONCEPCIÓN DURÁN VARGAS

Instituto de Investigaciones Biomédicas  
Universidad Nacional Autónoma de México

### MARCO ANTONIO JUÁREZ OROPEZA

Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México

### FEDERICO MARTÍNEZ MONTES

Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México

### FERNANDO MONTIEL AGUIRRE

Facultad de Química  
Universidad Nacional Autónoma de México

### RAFAEL MORENO SÁNCHEZ

Instituto Nacional de Cardiología "Dr Ignacio Chávez"

### JORGE JOEL REYES MÉNDEZ

División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
Universidad Autónoma Metropolitana

### EMILIO ROJAS DEL CASTILLO

Instituto de Investigaciones Biomédicas  
Universidad Nacional Autónoma de México

### ALEJANDRO ZENTELLA DEHESA

Instituto de Fisiología Celular  
Universidad Nacional Autónoma de México

## EDITOR EN JEFE

### JOSÉ VÍCTOR CALDERÓN SALINAS

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados  
Instituto Politécnico Nacional

## COORDINADOR DE CORRESPONSALES

### YOLANDA SALDAÑA BALMORI

Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México

## EDITORES ASOCIADOS

### EDMUNDO CHÁVEZ COSÍO

Instituto Nacional de Cardiología "Dr Ignacio Chávez"

### MARÍA TERESA ELIZABETH FLORES RODRÍGUEZ

Facultad de Ciencias Naturales  
Universidad Autónoma de Querétaro

### MARINA GAVILANES RUIZ

Facultad de Química  
Universidad Nacional Autónoma de México

### ELIZABETH LANGLEY M<sup>c</sup>CARRON

Instituto de Investigaciones Biomédicas  
Universidad Nacional Autónoma de México

### JAIME MAS OLIVA

Instituto de Fisiología Celular  
Universidad Nacional Autónoma de México

## ASISTENTE EDITORIAL

### ELISA SALLES MORA

Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México

## CORRESPONSALES

### MARÍA DE LOS ANGELES BOFFILL CÁRDENAS

Facultad de Ciencias Médicas  
Instituto Superior de Ciencias Médicas de Villa Clara, Cuba

### ALMA LETICIA BORBOA OSUNA

Facultad de Medicina  
Universidad Autónoma de Sinaloa

### ARMANDO FRANCISCO VARGAS ALBORES

Biocnología Marina  
Centro de Investigación en Alimentos y Desarrollo de Sonora

**KARLA CARVAJAL AGUILERA**  
Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

**RAUL MIGUEL COVIAN**  
Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

**SILVIA DEVARAS RAMOS**  
Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

**JOSE EDGARDO ESCAMILLA MARVAN**  
Instituto de Fisiología Celular  
Universidad Nacional Autónoma de México

**DANIEL ALEJANDRO FERNÁNDEZ**  
Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México

**OSCAR FLORES HERRERA**  
Depto. de Bioquímica, Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México

**CECILIA GARCÍA PÉREZ**  
Depto. de Bioquímica, Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México

**CARLOS GÓMEZ LOJERO**  
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados  
Instituto Politécnico Nacional

**LUIS GONZÁLEZ DE LA VARA**  
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados  
Instituto Politécnico Nacional

**DIEGO GONZÁLEZ HALPHEN**  
Instituto de Fisiología Celular  
Universidad Nacional Autónoma de México

**RICARDO JASSO CHÁVEZ**  
Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

**ROLANDO HERNÁNDEZ MUÑOZ**  
Instituto de Fisiología Celular  
Universidad Nacional Autónoma de México

**IMELDA LÓPEZ VILLASEÑOR**  
Instituto de Investigaciones Biomédicas  
Universidad Nacional Autónoma de México

**HERMINIA LOZA TAVERA**  
Facultad de Química  
Universidad Nacional Autónoma de México

**BLAS LOTINA HENNSSEN**  
Facultad de Química  
Universidad Nacional Autónoma de México

**GUADALUPE MALDONADO MERCADO**  
Depto. de Bioquímica, Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México

**JOSE LUIS MOLINARI SORIANO**  
Instituto de Fisiología Celular  
Universidad Nacional Autónoma de México

**FERMÍN PACHECO MOISÉS**  
Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

**JUAN LUIS RENDÓN GÓMEZ**  
Depto. de Bioquímica, Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México

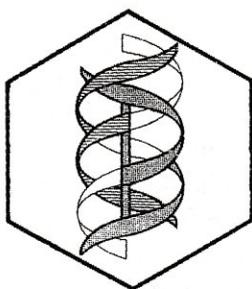
**HORACIO REYES VIVAS**  
Instituto de Fisiología Celular  
Universidad Nacional Autónoma de México

**SARA RODRÍGUEZ ENRÍQUEZ**  
Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

**LUIS HUMBERTO SILVEIRA TORRE**  
Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

**MARÍA EUGENIA TORRES MARQUEZ**  
Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México

**SALVADOR URIBE CARVAJAL**  
Instituto de Fisiología Celular  
Universidad Nacional Autónoma de México



Asociación Mexicana de  
Profesores de Bioquímica, AC

Departamento de Bioquímica,  
Facultad de Medicina,  
UNAM



Facultad de Medicina,  
UNAM

**BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA (BEB)**, publicación trimestral de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, AC. Correspondencia: Comité Editorial, Apartado Postal 70-281, Coyoacán, CP 04510 México, D F. Certificados de: Licitud de Título No 6703; Licitud de Contenido No 6989; No de expediente 1/432"92"/8443; Reserva al título en derecho de autor No 6703. Publicación incluida por el Centro de Información Científica y Humanística de la Universidad Nacional Autónoma de México en la base de datos **PERIÓDICA** (Índice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias). Impresa en los talleres Editorial Uno, SA de CV, 1er Retorno de Correggio No 12, México 03720 DF; tiraje 1,300 ejemplares. Distribuidor: Servicio Postal Mexicano, Reg No PP-DF-026 1098; UNAM-Depto de Bioquímica y Facultad de Medicina.

# EDITORIAL

## PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DE REVISIONES DEL BEB EN LA PÁGINA ELECTRÓNICA DE LA SMB: COLABORACIÓN ENTRE DOS ASOCIACIONES PREOCUPADAS POR APOYAR LA ENSEÑANZA DE LA BIOQUÍMICA

El acceso a la información a escala mundial a través de la red electrónica de "internet" ha motivado la aparición de una gran cantidad de publicaciones periódicas virtuales (boletines, periódicos y revistas), para las cuales no existen números impresos. Dentro de las áreas científicas, la importancia de este tipo de publicaciones va en aumento, lo que se refleja en un número creciente de revistas especializadas de alto impacto que, además de existir como revistas impresas, ahora también pueden ser consultadas en una versión virtual, muy frecuentemente por medio del pago de una suscripción vía "internet". El uso de esta nueva forma de publicación permite al lector el acceso a artículos y revisiones actualizadas al momento mismo de su publicación. Baste mencionar que, desde que iniciamos la publicación de trabajos publicados en el Boletín de Educación Bioquímica (BEB) dentro de la página electrónica de la Sociedad Mexicana de Bioquímica, A.C. (SMB), estos aparecen al día siguiente de salir de la imprenta. Esto por lo general sucede un mes antes de que el número se envíe por correo y, por lo tanto, casi dos meses antes de que los suscriptores lo reciban. La publicación acelerada y el enorme número de lectores potenciales a nivel mundial son sin duda dos grandes ventajas de este tipo de publicaciones. Por eso, la colaboración entre la SMB y la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica A.C. (AMPB), nos ha hecho incursionar al campo de las publicaciones virtuales.

A principios de 1999 el Dr. Ruy Pérez Montfort, a cargo del manejo y de la administración de la

página electrónica de la SMB, se comenzó a preocupar por aprovechar dicha página electrónica para comunicar información de utilidad para personas interesadas en la Bioquímica. ¿Qué tipo de información podía uno incluir dentro de una página electrónica abierta a la consulta mundial que extienda la utilidad de la hoja de "internet" y pueda hacerla más atractiva para sus usuarios? En particular el Dr. Pérez Montfort pensó en material de apoyo a la docencia en Bioquímica. Al mismo tiempo, el Dr. Alejandro Zentella Dehesa, a cargo de la difusión de las actividades de la AMPB se enfrentaba al dilema de crear una página electrónica para el BEB, sin tener cómo hacerlo, ni conocer la viabilidad de una revista virtual con artículos de revisión en bioquímica que han sido evaluados por los miembros de su comité editorial o por revisores asociados, que valoran su contenido y presentación así como su relevancia como material de apoyo a la docencia. Estas dos reflexiones, aunadas al hecho de que ambos laboramos en el Instituto de Fisiología Celular de la UNAM, y que la página electrónica de la SMB se consulta aproximadamente 3000 veces al año por usuarios interesados en obtener información acerca de esta disciplina, nos llevaron a encontrar una solución conjunta: la creación de una sección dentro de la página electrónica de la SMB, en la que aparecerían, de manera íntegra, una selección de los artículos de revisión previamente publicados en el BEB.

La selección de los trabajos quedó a cargo del Dr. Zentella y se hace tratando de que las revisiones

que aparecen en "internet" sean actualizadas, de interés general y que puedan servir como material de apoyo dentro de los programas generales de estudio de la bioquímica, la farmacología, la inmunología, la microbiología, la genética y áreas afines. El Dr. Pérez Montfort quedó a cargo de la captura de los documentos, de la creación de la sección y su organización, así como de hacer posible que cualquier usuario tuviera acceso al programa necesario para poder copiar e imprimir estas revisiones desde su terminal. Hoy en día, la sección de "Material de Apoyo a la Docencia en Bioquímica" cuenta con 35 trabajos publicados (lo que equivale a 262 páginas virtuales), esperando alcanzar una meta alrededor de los 50 trabajos. Actualmente, estos trabajos se pueden consultar por la fecha de publicación (comenzando desde 1993) o bajo los siguientes temas: estructura y plegamiento de proteínas, biología molecular, biología celular, oxidantes y antioxidantes, inmunología, transducción de señales, enzimas proteolíticas, cáncer, metabolismo y su control, y otros. Eventualmente, la lista se irá adecuando, depurando y actualizando, según las estadísticas de uso que se logren recabar.

Existen diversas páginas electrónicas de publicaciones virtuales que requieren de una suscripción pagada y otras en las que de forma gratuita se pueden consultar planes de estudio, listados de cursos semestrales y módulos de estudios de diferentes aspectos de la bioquímica. Sin embargo, el acceso gratuito a una publicación electrónica de revisiones actualizadas de diversos tópicos de la bioquímica y áreas afines en lengua española, orientados de manera específica a apoyar la enseñanza de la bioquímica es, hasta donde sabemos, inédito. Por lo tanto la colaboración entre la SMB y el BEB representa el primer experimento en el campo de las publicaciones periódicas virtuales de este tipo, cuyo impacto en la educación bioquímica dependerá en última instancia de que la consulta de este material por docentes y alumnos, tenga un efecto en las aulas donde se imparte esta disciplina.

Es importante destacar que, a diferencia del acceso a muchas otras publicaciones científicas en versiones electrónicas, nuestra publicación es

gratuita y abierta a cualquier usuario. Esto es posible gracias a que todos los que participamos en la SMB y en el BEB lo hacemos como parte de nuestras tareas de docencia y promoción de la bioquímica. Además, el BEB cuenta con el apoyo del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM y de la Dirección de la misma Facultad. Por su parte, la SMB cuenta con el "servidor" del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM que, por medio del "nodo" de la Dirección General de Cómputo de la UNAM, nos conecta con el sistema de "internet". De manera que el patrocinio de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) hace posible la existencia y el acceso a este servicio gratuito.

En el futuro, el BEB continuará siendo una revista impresa sin que se pretenda que todo el contenido de cada número aparezca en la hoja electrónica de la SMB. En última instancia, esto sería la justificación de crear una página electrónica dedicada al BEB con una liga a la página electrónica a la SMB. Por su parte, la hoja electrónica de la SMB podrá incorporar otras secciones dedicadas al apoyo de la docencia de la bioquímica que pudieran estar vinculadas al BEB o ser el resultado de otro tipo de colaboraciones.

Para consultar los trabajos que aparecen en esta publicación virtual debe entrar a la página electrónica de la Sociedad Mexicana de Bioquímica, A.C. a la dirección: <http://ifcsun1.ifisiol.unam.mx/smb/> dentro de la cual encontrará la sección: "Material de Apoyo a la Docencia en Bioquímica". Al entrar a esta sección encontrará el logotipo del BEB y el acceso a los trabajos por fecha de publicación o por tema. Para leer o imprimir el material es necesario tener instalado el programa "Acrobat Reader" de Adobe. La última versión de este programa puede adquirirse gratuitamente seleccionando el icono correspondiente a "Acrobat Reader" que aparece dentro de la misma sección.

Ruy Pérez Montfort,  
Departamento de Bioquímica  
Alejandro Zentella Dehesa,  
Departamento de Biología Celular  
Instituto de Fisiología Celular  
Universidad Nacional Autónoma de México



Mesa Directiva 1999-2001

**PRESIDENTE**

Dr. Edmundo Chávez Cossio

**VICEPRESIDENTE**

Dr. Heliodoro Cella Sandoval

**SECRETARIO-TESORERO**

Dr. Federico Martínez  
Montes

**SUBSECRETARIO-TESORERO**

Dra. Gloria Soberón Chávez

[Mesas directivas anteriores](#)

[Comisión de Admisión](#)

Bienvenidos a la página de la  
**Sociedad Mexicana de  
Bioquímica, A.C.**

FUNDADA EN 1957

[Como comunicarse con la SMB](#)  
[Requisitos para ingresar a la SMB](#)  
[Estatutos de la SMB](#)  
[Convocatorios](#)  
[Próximos eventos](#)  
[Seminarios](#)  
[Bolsa de trabajo](#)  
[Algunas direcciones de interés](#)

[Ramas de la  
SMB](#)

[XXIII Congreso  
Nacional](#)

[Material de Apoyo  
a la Docencia en  
Bioquímica](#)

Por favor ayúdenos  
mantener los [directorios  
actualizados](#).

[Directorio Socios  
Numerarios](#)

[Directorio Socios  
Estudiantes](#)

[Obituarios](#)

## MATERIAL DE APOYO A LA DOCENCIA EN BIOQUIMICA

proporcionado por el



Los artículos han sido seleccionados especialmente para que presenten material sobre temas generales o particulares, actualizado y en español. Su propósito es que puedan servir para dar o complementar clases de bioquímica a nivel de licenciatura o posgrado.

Este material se pone a disposición de cualquier usuario en forma gratuita. La publicación electrónica de estos artículos se está haciendo con la autorización del Comité Editorial del BEB.

Para leer e imprimir el material es necesario tener instalado en su computadora el programa Adobe Acrobat Reader. La última versión del programa se puede adquirir gratuitamente apretando el botón amarillo.



# Sociedad Mexicana de Bioquímica, A. C.

## ARTÍCULOS POR TEMA

### Estructura y Plegamiento de Proteínas

ANÁLISIS TERMODINÁMICO DEL EFECTO DE LAS MUTACIONES EN EL PLEGAMIENTO DE LAS PROTEÍNAS  
 EL USO DEL 1-ANILINO-8 NAFTALENOSULFONATO (ANS), PARA IDENTIFICACIÓN DE INTERMEDIARIOS EN LA RUTA DE PLEGAMIENTO DE PROTEÍNAS GLOBULARES  
 ASPECTOS MOLECULARES Y CLÍNICO-PATOLÓGICOS DE LA FUNCIÓN CHAPERONINA  
 PLEGAMIENTO DE PROTEÍNAS

### Biología Molecular

FACTORES TRANSCRIPCIONALES QUE REGULAN LA EXPRESIÓN GENÉTICA EN MÚSCULO  
 TRANSPLANTE NUCLEAR Y CLONACIÓN DE ORGANISMOS SUPERIORES  
 AP1, UN FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN CLÁSICO  
 DUALIDAD FUNCIONAL DE LAS HISTONAS: PROTEÍNAS DE EMPACAMIENTO GENÓMICO Y DE CONTROL TRANSCRIPCIONAL  
 AVANCES Y CONTRIBUCIÓN DE LA BIOLOGÍA MOLECULAR EN LA BIOSÍNTESIS DE LOS ANTIBIÓTICOS BETA-LACTÁMICOS

### Biología Celular

LAS PROTEÍNAS DE ESTRÉS EN LA BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA CÉLULA  
 APOPTOSIS Y MUERTE CELULAR PROGRAMADA  
 REGULACIÓN EN LOS MECANISMOS DE CRECIMIENTO TISULAR  
 EL CICLO CELULAR Y SU REGULACIÓN: LA INTERACCIÓN ENTRE LAS PROTEÍNAS CINASAS CDKs Y LA FAMILIA DE LAS CICLINAS  
 Oxidantes y anti-oxidantes  
 LOS CAROTENOIDES EN LA SALUD  
 EL ESTRÉS OXIDATIVO EN LA PATOGENIA DE LA ATEROSCLEROSIS  
 PAPEL FISIOLÓGICO DE LOS RADICALES LIBRES

### Inmunología

INTERACCIONES ENTRE *Entamoeba histolytica* Y EL COMPLEMENTO

### Transducción de señales

FUNCIÓN Y PROPIEDADES BIOQUÍMICAS DE LAS PROTEÍNAS G  
 LA NEUROTRANSMISIÓN GLICINÉRGICA EN LA RETINA DE LOS VERTEBRADOS  
 LOS RECEPTORES METABOTRÓPICOS DE AMINOÁCIDOS EXCITADORES:  
 CLASIFICACIÓN Y MECANISMOS DE TRANSDUCCIÓN

### Enzimas proteolíticas

CASPASAS: UNA CASCADEA DE PROTEASAS IMPLICADAS EN LA MUERTE CELULAR POR APOPTOSIS  
 PROTROMBINA: ESTRUCTURA Y ACTIVACIÓN  
 LAS PROTEINASAS DE CISTEINA DE *Entamoeba histolytica*

### Cáncer

LOS GENES *RAS*, EL CICLO CELULAR Y EL DESARROLLO DE TUMORES

### Metabolismo y su control

EL TRANSPORTE DE COLESTEROL EN LOS TEJIDOS ESTEROIDOGÉNICOS  
 INSULINA: SU GEN Y SU MECANISMO DE ACCIÓN MOLECULAR

### Otros

LA CIENCIA A LA ZAGA DE LA NATURALEZA  
 TRANSPORTADORES DE CATIONES EN MITOCONDRIAS DE MAMÍFEROS  
 MOTILIDAD, BIOGÉNESIS FLAGELAR Y QUIMIOTAXIS BACTERIANA  
 LAS BASES MOLECULARES DE LA PERCEPCIÓN DEL PICANTE O LA IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL RECEPTOR DE LA CAPSAICINA  
 METALOTIONEINAS, BIOQUÍMICA Y FUNCIONES PROPUESTAS  
 ASPECTOS ESTRUCTURALES Y FUNCIONALES DE LAS 5'-NUCLEOTIDASAS  
 FUNCIONES ALTERNATIVAS DE LAS HEMOGLOBINAS  
 BIOSÍNTESIS DE LOS ANTIBIÓTICOS BETA-LACTÁMICOS  
 D-AMINOÁCIDOS EN PÉPTIDOS DE SÍNTESIS RIBOSOMAL

## ARTÍCULOS POR FECHA DE PUBLICACIÓN

1999

LA CIENCIA A LA ZAGA DE LA NATURALEZA

TRANSPORTADORES DE CATIONES EN MITOCONDRIAS DE MAMÍFEROS  
CASPASAS: UNA CASCADE DE PROTEASAS IMPLICADAS EN LA MUERTE  
CELULAR POR APOPTOSIS

MOTILIDAD, BIOGÉNESIS FLAGELAR Y QUIMIOTAXIS BACTERIANA

LAS BASES MOLECULARES DE LA PERCEPCIÓN DEL PICANTE O LA  
IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL RECEPTOR DE LA CAPSAICINA

FACTORES TRANSCRIPCIONALES QUE REGULAN LA EXPRESIÓN GENÉTICA  
EN MÚSCULO

LAS PROTEÍNAS DE ESTRÉS EN LA BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA CÉLULA

ANÁLISIS TERMODINÁMICO DEL EFECTO DE LAS MUTACIONES EN EL  
PLEGAMIENTO DE LAS PROTEÍNAS

FUNCIÓN Y PROPIEDADES BIOQUÍMICAS DE LAS PROTEÍNAS G  
METALOTIONEINAS, BIOQUÍMICA Y FUNCIONES PROPUESTAS

TRANSPLANTE NUCLEAR Y CLONACIÓN DE ORGANISMOS SUPERIORES

1998

EL TRANSPORTE DE COLESTEROL EN LOS TEJIDOS ESTEROIDOGENICOS

AP1, UN FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN CLÁSICO

LOS CAROTENOIDES EN LA SALUD

APOPTOSIS Y MUERTE CELULAR PROGRAMADA

INSULINA: SU GEN Y SU MECANISMO DE ACCIÓN MOLECULAR

ASPECTOS ESTRUCTURALES Y FUNCIONALES DE LAS 5'-NUCLEOTIDASAS  
EL ESTRÉS OXIDATIVO EN LA PATOGENIA DE LA ATEROSCLEROSIS

EL USO DEL 1-ANILINO-8 NAFTALENOSULFONATO (ANS), PARA  
IDENTIFICACIÓN DE INTERMEDIARIOS EN LA RUTA DE PLEGAMIENTO DE  
PROTEÍNAS GLOBLARES

1997

LA NEUROTRANSMISIÓN GLICINÉRGICA EN LA RETINA DE  
LOS VERTEBRADOS

DUALIDAD FUNCIONAL DE LAS HISTONAS: PROTEÍNAS DE  
EMPACAMIENTO GENÓMICO Y DE CONTROL TRANSCRIPCIONAL

LOS RECEPTORES METABOTRÓPICOS DE AMINOÁCIDOS EXCITADORES:  
CLASIFICACIÓN Y MECANISMOS DE TRANSDUCCIÓN

LOS GENES *ras*, EL CICLO CELULAR Y EL DESARROLLO DE TUMORES

REGULACIÓN EN LOS MECANISMOS DE CRECIMIENTO TISULAR

FUNCIONES ALTERNATIVAS DE LAS HEMOGLOBINAS

AVANCES Y CONTRIBUCIÓN DE LA BIOLOGÍA MOLECULAR EN LA  
BIO SíNTESIS DE LOS ANTIBIÓTICOS BETA-LACTÁMICOS

BIO SíNTESIS DE LOS ANTIBIÓTICOS BETA-LACTÁMICOS

1996

PROTROMBINA: ESTRUCTURA Y ACTIVACIÓN

PAPEL FISIOLÓGICO DE LOS RADICALES LIBRES

D-AMINOÁCIDOS EN PÉPTIDOS DE SÍNTESIS RIBOSOMAL

ASPECTOS MOLECULARES Y CLÍNICO-PATOLÓGICOS DE LA FUNCIÓN  
CHAPERONINA

EL CICLO CELULAR Y SU REGULACIÓN: LA INTERACCIÓN ENTRE LAS  
PROTEÍNAS CINASAS CDKs Y LA FAMILIA DE LAS CICLINAS

1995

PLEGAMIENTO DE PROTEÍNAS

INTERACCIONES ENTRE *Entamoeba histolytica* Y EL COMPLEMENTO

1993

LAS PROTEINASAS DE CISTEINA DE *Entamoeba histolytica*

# LAS ASPARAGINASAS DE MICROORGANISMOS Y SU USO CLÍNICO

Leobardo Ortuño Olea y Socorro Durán Vargas. Departamento de Biotecnología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, C. P. 04510. México, D.F.

## RESUMEN

La asparaginasa es la enzima que desamida a la asparagina, un aminoácido no esencial. Aunque no tiene un papel central en el metabolismo, esta enzima ha adquirido relevancia debido al descubrimiento de su uso terapéutico en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda. Sin embargo, su administración provoca una serie de efectos tóxicos clínicamente relevantes. Para mejorar la eficiencia del tratamiento y disminuir los efectos secundarios se ha intentado emplear enzimas de diferentes fuentes biológicas. Por tanto, las asparaginastas de diferentes microorganismos se han caracterizado ampliamente a nivel bioquímico y genético poniendo al descubierto importantes aspectos de su regulación, función, estructura y mecanismo catalítico.

**PALABRAS CLAVE:** Asparaginasa, degradación de asparagina, leucemia linfoblástica aguda, enterobacterias

## ABSTRACT

Asparaginase is the enzyme which deamidates asparagine, a non-essential amino acid. Although this enzyme does not have a central role in metabolism, it has gained importance due to its therapeutic use in the treatment of acute lymphoblastic leukaemia. In addition to its high therapeutic efficacy, asparaginase has a number of clinically important toxic effects. In trying to avoid these side-effects, asparaginases from different microorganisms have become widely characterized at the biochemical and genetic levels, revealing important aspects of their regulation, function, structure and catalytic mechanism.

**KEY WORDS:** Asparaginase, asparagine degradation, acute lymphoblastic leukaemia, enterobacteria

## INTRODUCCIÓN

La enzima que hidroliza la L-asparagina hasta ácido aspártico y amonio se denomina L-asparaginasa

(E C 3.5.1.1), la cual es una enzima presente tanto en plantas como en mamíferos y ampliamente distribuida en microorganismos. En lupinos y otras leguminosas, la asparagina es el compuesto nitrogenado más abundante en la savia del floema y dado que cerca del 60 % de las proteínas de la semilla se originan del nitrógeno amido, una asparaginasa está presente durante el proceso de deposición de proteínas en las semillas. La asparaginasa de fuente animal cobró importancia cuando en 1953, Kidd encontró que el suero del cobayo podía causar la regresión de ciertos linfomas establecidos en ratón. Más tarde, Broome identificó al componente responsable de este efecto como una asparaginasa. Posteriormente, Mashburn y Wriston aislaron la asparaginasa del suero del cobayo y demostraron que tenía actividad antilinfoma. Asimismo, aislaron una asparaginasa de *Escherichia coli* y demostraron que también tenía actividad antilinfoma (1). Las asparaginastas de microorganismos han recibido mayor atención, no sólo por su facilidad de estudio sino por el interés que despertó su efecto antilinfoma. Actualmente dos asparaginastas de origen bacteriano se utilizan rutinariamente para el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda. En el presente artículo se revisan los aspectos más importantes de la regulación de las asparaginastas de microorganismos, su función, su estructura y su mecanismo catalítico.

## LA ASPARAGINASA COMO AGENTE TERAPÉUTICO

La asparaginasa es una "droga bioquímica" efectiva contra la leucemia linfoblástica aguda y contra el linfoma tipo no Hodgkin; en un gran número de casos, el tratamiento con asparaginasa permite una eliminación completa de la enfermedad (1). En general se acepta que la actividad antineoplásica de la enzima resulta del agotamiento de los niveles de la asparagina circulante en la sangre. Aunque la asparagina no es un aminoácido esencial, muchas células dependen de él para la síntesis normal de

proteínas. Durante el tratamiento con asparaginasa las células normales compensan la falta de asparagina sintetizándola a partir del ácido aspártico y del amonio. Las células linfoides malignas por alguna razón tienen niveles muy bajos de la asparagina sintetasa y dependen de la concentración intracelular de asparagina para la síntesis de proteínas. La falta de asparagina disminuye rápidamente la síntesis de proteínas, llevando a una demora en la síntesis de DNA y RNA y, por lo tanto, a un daño en la función celular, provocando la muerte de las células. También se ha propuesto que la actividad de glutaminasa que presenta la asparaginasa podría contribuir al efecto terapéutico, ya que la eliminación tanto de glutamina como de asparagina sería más ventajosa.

A pesar de la amplia distribución de las asparaginases, no todas son útiles para fines terapéuticos, pues solamente presentan actividad antilinfoma las asparaginases de enterobacterias (2). En la práctica, sólo la asparaginasa II de *E. coli* y la de *Erwinia chrysanthemi* se utilizan para el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda, como resultado de su elevada afinidad hacia la asparagina, de su estabilidad bajo condiciones fisiológicas y de su facilidad de producción a gran escala. Las preparaciones comerciales de asparaginasa más usadas son Ciderolase, Elspar, Medac, Oncaspar y Erwinase. La concentración de asparagina en el suero humano es de 40  $\mu\text{M}$  y la vida media de las asparaginases de *E. coli* y de *E. chrysanthemi* en el suero es de 1.24 y 0.65 días, respectivamente. Las enzimas de ambos microorganismos poseen diferente especificidad inmunológica y no existe reacción antigénica cruzada entre ambas, por lo cual pueden intercambiarse durante la terapia de la leucemia cuando se presentan reacciones inmunes.

La terapia con asparaginasa llega a provocar ciertas complicaciones durante el tratamiento, reportándose principalmente reacciones inmunes como resultado del origen bacteriano de la enzima, así como efectos adversos sobre varios órganos y sistemas del organismo, producto de la disminución en la disponibilidad de asparagina y la consecuente disminución en la síntesis de proteínas.

La toxicidad de la asparaginasa sobre el sistema gastrointestinal incluye pérdida de apetito, náusea,

vómito y disminución de peso. En el sistema de coagulación provoca deficiencias en la producción de antitrombina III, plasminógeno, fibrinógeno y factores IX y XI, las cuales pueden llegar a ocasionar trombosis. Sobre el sistema nervioso central el tratamiento produce efectos que se manifiestan como agitación, depresión, confusión, alucinaciones y somnolencia. También ocasiona trastornos en el metabolismo de lípidos que pueden ser hipocolesterolemia (disminuye el nivel de colesterol del suero) o hiperlipidemia (aumenta el nivel de triglicéridos). Causa una disminución en las proteínas del suero, principalmente de la albúmina. En el páncreas llega a producir pancreatitis así como hiperglicemia al disminuir la producción de insulina. En el hígado aumenta la función de la fosfatasa alcalina, la aspartato aminotransferasa y la bilirubina y puede llegar a disminuir la función de los riñones, efecto asociado a un aumento en el nivel de urea. Finalmente, la asparaginasa suprime ligeramente la función normal de la médula ósea, llevando a un incremento de las infecciones, este efecto inmunosupresivo es desde suave hasta moderado y generalmente no alcanza un significado clínico (1, 3).

A pesar de la serie de efectos secundarios causados por la terapia con asparaginasa, esta enzima continúa siendo el principal tratamiento para la leucemia linfoblástica aguda, lo que ha llevado a tratar de reducir la inmunogenicidad de la asparaginasa y a aumentar su vida media en la sangre mediante su unión covalente a derivados del polietilenglicol (PEG). La asparaginasa II de *E. coli* modificada con PEG se usa regularmente cuando se presentan reacciones de hipersensibilidad hacia la asparaginasa nativa, el conjugado presenta una vida media en el organismo de 5.73 días (3).

## MICROORGANISMOS COMO FUENTE DE ASPARAGINASAS

La L-asparaginasa se ha detectado en numerosos microorganismos, tanto en bacterias como en hongos y levaduras (2). La actividad de esta enzima se ha caracterizado ampliamente en *E. coli*, esta bacteria tiene dos isoenzimas con diferente localización celular, valor de Km y patrón de regulación. Una de ellas denominada asparaginasa I se localiza en el citoplasma y es constitutiva, tiene una Km de 3.5 mM para la asparagina y se inhibe con el

análogo de asparagina DONV (5-diazo-4-oxo-L-norvalina) (4). El peso molecular de la enzima purificada es de  $64 \pm 5$  kilodaltones (kDa) mientras que una subunidad pesa 35.4 kDa, lo que indica que la enzima nativa es un dímero. La función de esta enzima en la bacteria parece ser la de degradar a la asparagina para que pueda ser usada como fuente de nitrógeno.

La asparaginasa II de *E. coli* se localiza en la región periplásmica y tiene una alta afinidad por la asparagina, con una  $K_m$  de  $11.5 \mu\text{M}$ . Se inhibe por DONV y su síntesis aumenta más de 100 veces en condiciones anaeróbicas en un medio donde los aminoácidos son la fuente de carbono (5). Presenta un peso molecular de aproximadamente 140 kDa y de 36.85 kDa para una subunidad, por lo que la enzima es un tetrámero. Presenta cierta actividad de L-glutaminasa (3-5 %) con una  $K_m$  para la glutamina de 6.25 mM. Esta enzima está regulada positivamente por los activadores transcripcionales FNR (Fumarato-Nitrato Reducción) y CRP (proteína receptora de AMPc). En relación a la función de esta enzima, se ha propuesto que sirve para proveer fumarato como un aceptor terminal de electrones, ya que bajo condiciones de crecimiento anaeróbico sobre una fuente de carbono no fermentable (p. ej. glicerol), puede generarse energía al acoplar la oxidación del glicerol-3-fosfato y la reducción del fumarato; en apoyo a lo anterior, todas las enzimas de la ruta (asparaginasa, aspartasa, fumarato reductasa y glicerol-3-fosfato deshidrogenasa) se inducen por anaerobiosis vía la proteína FNR (6).

En *E. chrysanthemi* se ha detectado una sola asparaginasa, la cual presenta propiedades similares a la enzima inducible de *E. coli* y probablemente tenga la misma función. Es un tetrámero de subunidades idénticas de 32 kDa, es periplásmica, está sujeta a represión catabólica y tiene una alta afinidad por la asparagina, con una  $K_m$  igual a  $18 \mu\text{M}$ . También presenta actividad de glutaminasa (9 %), con una  $K_m$  para la glutamina de 1.1 mM (7).

*Salmonella enterica*, un organismo muy relacionado a *E. coli*, presenta una sola asparaginasa la cual está regulada por los niveles de glucosa en el medio vía el activador CRP, y por anaerobiosis, pero por un mecanismo independiente del activa-

dor FNR. Se ha propuesto que, al igual que la asparaginasa II de *E. coli*, la función de la asparaginasa de *S. enterica* es proveer fumarato como un aceptor terminal de electrones (8).

En *Rhizobium etli*, una bacteria gram negativa que fija nitrógeno en simbiosis con el frijol, existen dos asparaginasas. Una de ellas, denominada asparaginasa I, es constitutiva, termoestable y tiene una alta afinidad hacia la asparagina, con una  $K_m$  de  $54 \mu\text{M}$ . La asparaginasa II es termolábil, se induce por asparagina y se regula negativamente por la fuente de carbono, siendo su  $K_m$  para la asparagina de 66 mM. El papel de la asparaginasa II de *R. etli* es el de utilizar a la asparagina como fuente de carbono, mientras que la asparaginasa I podría funcionar para regular las concentraciones de asparagina y aspartato en esta bacteria (9).

En *Bacillus subtilis* la expresión de la asparaginasa está sujeta a represión catabólica por nitrógeno y la enzima tiene una baja afinidad por su sustrato, con una  $K_m$  de 55 mM. En esta bacteria, los genes de la asparaginasa y la aspartasa (degrada el aspártico a fumarato y amonio) se encuentran en un operón, el cual contiene un gen que codifica un represor que se transcribe en dirección opuesta al gen de la asparaginasa (10, 11). La organización de los genes de la asparaginasa y aspartasa en un operón probablemente permite mantener un balance entre los niveles de aspartato y de asparagina en la célula.

En *Saccharomyces cerevisiae* se han encontrado dos asparaginasas, una es constitutiva con una  $K_m$  para la asparagina de 0.25 mM, mientras que la otra es una glicoproteína secretada en la pared celular, cuya expresión está sujeta a represión catabólica por nitrógeno. Esta última puede utilizar D o L-asparagina y su  $K_m$  para la L-asparagina es de 0.35 mM (12).

## ESTRUCTURA DE LA ENZIMA Y MECANISMO CATALÍTICO

Como resultado de la actividad antineoplásica de la asparaginasa y de las reacciones secundarias que provoca la aplicación de las enzimas de *E. coli* y *E. chrysanthemi*, existe un gran interés en los microorganismos que producen asparaginasas de alta afinidad, así como el análisis detallado de sus

estructuras. Prueba de ello es que se tienen clonados y secuenciados los genes de un buen número de asparaginidas. La comparación de la secuencia de aminoácidos deducida de las asparaginidas de microorganismos muestra que existen pocos aminoácidos conservados y solamente dos regiones altamente conservadas en todas las especies de microorganismos (Fig 1), las cuales comprenden las secuencias TGGTIA y GXV(I/V) THGTD.

A nivel de la secuencia de aminoácidos, las dos asparaginidas de *E. coli* presentan sólo un 24% de identidad, lo cual indica que ambas enzimas han sufrido una gran divergencia. Con base en la identidad de la secuencia de aminoácidos (Tabla I) y a su localización celular, las asparaginidas de microorganismos se han clasificado en dos grupos. En un primer grupo se incluyen la asparaginida I de *E. coli* y la de *B. subtilis*, las cuales son enzimas

Ec-II	ITILATGGTIAGGGDSATKSN-YTVGKVGVENLVNAVPLQKDIANVKGEQVVNIGSQDMN	62
Hi	ITILATGGTIAGSGQSSVNSA-YKAGQLSIDTLIEAVPEMKNIANIKGEQIVKIGSQDMN	85
Ws	VTILATGGTIAGSGESSVKSS-YSAAGAVTVDKLLAAVPAINDLATIKGEQISSIGSQEMT	64
Ag	VVILATGGTIAGAGASSTNSATYSAAKVPVDALIKAVPQVNDLANITGIQALQVASESIT	63
Ps	VVILATGGTIAGAGASAANSATYQAAKVGVDKLIAGVPELADLANVRGEQVMQIASESIT	71
Erc	IVILATGGTIAGSAATGTOTTGYKAGALGVDTLINAVPEVKKLANVKGEQFSNMASENMT	87
Sc-II	IKILFGTGGTIASKGSTSATTAGYSVGLT-VNDLIEAVPSLAEKANLDYLQVSNVGSNSLN	93
Sc-I	IKILGTGGTIASKAIDSSQTAGYHVDLT-IQDLLEADLIPDISKVCIDIEYELCNVDISKDIN	114
Bl	VALITTCGTIASR---KTESGRLAGAGAI-SGPELAEMCSLPEDVQIDVYPAFLQPSMHIT	75
Mt	LTVITTCGTISTTAGPDGVLRPHTHCAGAT---LIAGLDMDSDIEVVDLMALDSSKLT	67
Mj	ISLISITGGTIASK--VDYKTGAVHPSFT-ADDLIRAVPELLDIANIKGRAVMNLSSENMK	132
Bs	LLMLITGGTIASVE---GENG-LAPGVK-ADELLSYVSKLNDNYTMMETQSLMNDSTNMQ	58
Ec-I	-MQRSEQGGVIFVSG-HLQRQLALMPEFH-----RPEMPDFTIHEYTPLMD--SSDMT	48
Ec-II	DNVWLT LAKKIN--TDCDKTDGFFVITHGTD TMEETAYFLDLTVKC-DKPVVMVGAMRPPST	119
Hi	DEVWLK LAKAIN--AQCKSTDGFFVITHGTD TMEETAYFLDLTVKC-EKPVVLVGAMRPPAT	142
Ws	GKVWLK LAKRVNELLAQKETEAVIITHGTD TMEETAFFLNLTVKS-QKPVVLVGAMRPPGS	123
Ag	DKELLS LARQVNDLVKKPSVNGVIVITHGTD TMEETAFFLNLVHT-DKPVVLVGSMRPPST	122
Ps	NDDLLK LKGRVAELADSNVDGIVITHGTD TMEETAYFLDLTLNT-DKPVVVGSMRPPGT	130
Erc	GDVVLK LSRVNE LLARDVDGFFVITHGTD TMEETAYFLDLTVKS-DKPVVVGAMRPPAT	146
Sc-II	YTHLIP LYGISEALASDDYAGAVIVITHGTD TMEETAFFLDLTINS-EKPVCIAGAMRPPAT	152
Sc-I	EDILYK IYKGVV--ESLQAFDGIIVITHGTD TMEETAFFLDTIESITIDAGDVHIVFVGSIMRPPST	172
Bl	FQHLLK LKQTIERVFDGGYDGAIVITHGTD TMEETAYFLDLTIED-ERPVVVTGSGRAPE	119
Mt	PADWDR IGAAVQ-EAFRGGADGFFVITHGTD TMEETALWLDLTYAG-SRPVVLTGAMLSAD	125
Mj	PEYWRK IAEEIK-KEIEEGADGIVIVITHGTD TMSYTSALSFMVKA-DVPIILVGAQRSSD	190
Bs	PEYWVE IAEAVK--ENYDAYDGIIVITHGTD TMAYTSAALSYMLQHAKKPEVITGSGQIPIT	116
Ec-I	PEDWQH IAEDIK--AHYDDYDGIIVILHGTDT TMAYTSAALSFMLENLGKPVIVTGSQIPLA	106
Ec-II	SMSADG PPNLYNAVVTAAADKASANR GVLVVMNDTVL-----DGRDVTKTNTTDVATFEK	172
Hi	EKSADG PPLNLYNAVVAADKKSSGR GVLVAMNNEVL-----GARDVTKTSTTAVQTFH	195
Ws	SMSADG PPNLYNAVNVAINKASTNK GVVIVMND EIH-----AAREATKLNNTAVNAFA	176
Ag	ALSADG PPLNLYSAVALASSNEAKNK GVMVLMND SIF-----AARDVTKGINIHTHAFV	175
Ps	AMSADG MLLNLYNAVAVASNKDSR GKGLVTMND EIQ-----SGRDVSKSINIKTEAFK	183
Erc	AISADG PPNLLEAVRVAGDKQSRGR GVMVFLNDRIG-----SARYITKTNASTLDTEK	199
Sc-II	ATSADG PPNLYQAVSIAASEKSLRG GTMITLNDRIA-----SGFWTTKMNANSLDTER	205
Sc-I	SVSADG PPNLYQAICIASNPKSRGR GVLVSLNDQIS-----SGYYITKTNANSLDSFN	225
Bl	QQGTDA YTNIRHAVYTAACSPDIK GAGTVVVFNERIF-----NARYVKKVHASNLQGED	172
Mt	APGADG PPNLRDALAVADPAARDL GVLVVSFGGRVL-----QPLGLHKVANPDLCGFA	178
Mj	RPSSDA AALNLI SAVLAAREP---IKGVYVVMHGESGDTFCYLHKGVKVRKCHSSRRDAFK	247
Bs	FQKTDA KKNITDAIRFACEG---VGGVYVVF DGRVI-----QGTRAIKLRTKSYDAFE	166
Ec-I	ELRSDG QINLLNALYVAANYP---INEVTLFFINRLY-----RGNRTTKAHADGFDATA	157
Ec-II	SMSADG PPNLYNAVVTAAADKASANR GVLVVMNDTVL-----DGRDVTKTNTTDVATFEK	172
Hi	EKSADG PPLNLYNAVVAADKKSSGR GVLVAMNNEVL-----GARDVTKTSTTAVQTFH	195
Ws	SMSADG PPNLYNAVNVAINKASTNK GVVIVMND EIH-----AAREATKLNNTAVNAFA	176
Ag	ALSADG PPLNLYSAVALASSNEAKNK GVMVLMND SIF-----AARDVTKGINIHTHAFV	175
Ps	AMSADG MLLNLYNAVAVASNKDSR GKGLVTMND EIQ-----SGRDVSKSINIKTEAFK	183
Erc	AISADG PPNLLEAVRVAGDKQSRGR GVMVFLNDRIG-----SARYITKTNASTLDTEK	199
Sc-II	ATSADG PPNLYQAVSIAASEKSLRG GTMITLNDRIA-----SGFWTTKMNANSLDTER	205
Sc-I	SVSADG PPNLYQAICIASNPKSRGR GVLVSLNDQIS-----SGYYITKTNANSLDSFN	225
Bl	QQGTDA YTNIRHAVYTAACSPDIK GAGTVVVFNERIF-----NARYVKKVHASNLQGED	172
Mt	APGADG PPNLRDALAVADPAARDL GVLVVSFGGRVL-----QPLGLHKVANPDLCGFA	178
Mj	RPSSDA AALNLI SAVLAAREP---IKGVYVVMHGESGDTFCYLHKGVKVRKCHSSRRDAFK	247
Bs	FQKTDA KKNITDAIRFACEG---VGGVYVVF DGRVI-----QGTRAIKLRTKSYDAFE	166
Ec-I	ELRSDG QINLLNALYVAANYP---INEVTLFFINRLY-----RGNRTTKAHADGFDATA	157

**Figura 1.** Comparación de la secuencia de aminoácidos deducida de las asparaginidas de microorganismos reportadas en la base de datos de secuencias GenBank. La comparación fue hecha usando el programa Multiple Sequence Alignments (Baylor College of Medicine). Los aminoácidos de la probable triada calítica se muestran en letra negrita. Ec *Escherichia coli*, Hi *Haemophilus influenzae*, Ws *Wolinella succinogenes*, Ag *Acinetobacter glutaminasificans*, Ps *Pseudomonas* sp. 7A, Erc *Erwinia chrysanthemi*, Sc *Saccharomyces cerevisiae*, Bl *Bacillus licheniformis*, Mt *Mycobacterium tuberculosis*, Mj *Methanococcus janaschii*, Bs *Bacillus subtilis*.

TABLA I

IDENTIDAD EN LA SECUENCIA DE AMINOÁCIDOS DEDUCIDA DE LAS ASPARAGINASAS DE MICROORGANISMOS EN RELACIÓN A LAS ASPARAGINASAS DE *E. COLI*.

ASPARAGINASA	IDENTIDAD (PORCENTAJE)	LONGITUD (AMINOÁCIDOS)	NÚMERO DE ACCESO EN GENBANK
<i>Escherichia coli</i> I		322	P18840
<i>Bacillus subtilis</i>	30	329	P26900
<i>Methanococcus janaschii</i> <sup>P</sup>	26	417	Q60331
<i>Bacillus licheniformis</i>	25	322	P30363
<i>Haemophilus influenzae</i> <sup>P</sup>	25	349	P43843
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> <sup>P</sup>	25	326	Q10759
<i>Escherichia coli</i> II	24	348	P00805
<i>Pseudomonas sp. 7A</i>	24	337	P10182
<i>Wolinella succinogenes</i>	23	330	P50286
<i>Acinetobacter glutaminasificans</i>	22	331	P10172
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> II	21	362	P11163
<i>Erwinia chrysanthemi</i>	20	348	P06608
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> I	18	381	P38986
<i>Escherichia coli</i> II			
<i>H. influenzae</i> <sup>P</sup>	69		
<i>W. succinogenes</i>	52		
<i>E. chrysanthemi</i>	47		
<i>Pseudomonas sp. 7A</i>	46		
<i>A. glutaminasificans</i>	42		
<i>S. cerevisiae</i> II	39		
<i>S. cerevisiae</i> I	34		
<i>B. licheniformis</i>	29		
<i>M. tuberculosis</i> <sup>P</sup>	29		
<i>M. janaschii</i> <sup>P</sup>	27		
<i>B. subtilis</i>	25		
<i>E. coli</i> I	24		

<sup>P</sup> Probable asparaginasa, identificada en la secuencia del genoma por comparación.

citósicas; probablemente éstas sean constitutivas y tengan una función similar en las bacterias mencionadas. En un segundo grupo están la asparaginasa II de *E. coli* y otras asparaginasas periplásmicas como la de *Wolinella succinogenes*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter glutaminasificans* y *E. chrysanthemi*. La mayor semejanza de estas enzimas podría estar relacionada con la similitud de propiedades, principalmente su alta afinidad hacia la asparagina y su actividad de glutaminasa. Las dos asparaginasas de *S. cerevisiae* se parecen más entre sí (45 %) que a cualquiera de las enzimas bacterianas pero podrían considerarse asparaginasas de tipo II, a pesar de que la asparaginasa I de *S. cerevisiae* es citosólica, ya que se parecen más a

la asparaginasa II de *E. coli* que a la I. Considerando la existencia de dos asparaginasas (una intracelular y la otra extracelular) tanto en *E. coli* como en *S. cerevisiae* y el hecho de que las asparaginasas de *S. cerevisiae* se parecen más entre sí que a las de procariotes, es probable que haya ocurrido una duplicación de genes en forma independiente tanto en procariotes como en eucariotes (13).

La purificación y obtención de la estructura cristalográfica de varias asparaginasas ha hecho posible conocer la estructura de la enzima y estudiar su mecanismo catalítico. La estructura cristalina de la asparaginasa II de *E. coli* ha permitido com-

probar que esta enzima es tetramérica y está formada por cuatro subunidades idénticas. Las interacciones entre las subunidades A y B son más extensas que entre C y D, formando dos pares de subunidades, por lo que el tetrámero es en realidad un dímero de dímeros. Cada subunidad está compuesta de dos dominios  $\alpha/\beta$  conectados por una secuencia de 22 residuos, el dominio amino terminal contiene 10 hojas  $\beta$  y cuatro hélices  $\alpha$ , mientras que el carboxilo terminal es más pequeño y está formado de cuatro hojas  $\beta$  y cuatro hélices  $\alpha$ . La enzima contiene cuatro sitios catalíticos idénticos, situados entre los monómeros adyacentes, pero sólo el tetrámero tiene actividad. Con base en la caracterización estructural de la asparaginasa II de *E. coli*, la cual se cristalizó con el aspartato unido, y considerando la cercanía de sus cadenas laterales, se ha señalado a los aminoácidos treonina-12, tirosina-25, serina-58 y treonina-89 como los nucleófilos potenciales. De estos residuos, la treonina-89 es el más cercano al grupo  $\beta$ -carboxilo del aspartato unido, de tal forma que si la posición y orientación del producto es la misma que la del sustrato, la treonina-89 es el candidato más probable para ser el nucleófilo. En la región del sitio activo el único residuo que puede influenciar el carácter nucleofílico de la treonina-89 es la lisina-162. Asimismo, la interacción del  $O^\delta$  del aspártico-90 puede influenciar el carácter básico de la lisina-162 y finalmente, si la treonina-89 fuera el nucleófilo, las posiciones de la treonina-12 y la tirosina-25 son tales que podrían estabilizar un intermediario tetrahédrico (14).

Una mutante de la asparaginasa II de *E. coli*, la cual tiene reemplazada valina por treonina en la posición 12, presenta menos del 0.01 % de actividad en relación a la enzima tipo silvestre. Sin embargo, tanto la estructura terciaria como la cuaternaria de la asparaginasa mutante no fueron afectadas por la mutación y el aspartato aún se encuentra unido a la enzima, por lo que el residuo treonina-12 no parece estar involucrado en la unión al sustrato pero sí parece encontrarse en el sitio catalítico (15). En la asparaginasa I de *S. cerevisiae* una mutación de la alanina por valina en la posición 176 elimina completamente la actividad, tal mutación ocurre en una región, SADGP, la cual está altamente conservada en las asparaginastas de tipo II. Esta región está localizada sobre la super-

ficie de las subunidades y a nivel de estructura cuaternaria está involucrada en las interacciones entre subunidades en todas las asparaginastas caracterizadas cristalográficamente, por lo que la mutación elimina la actividad enzimática al impedir la formación del tetrámero (13).

La estructura cristalina de las asparaginastas de *Pseudomonas*, *W. succinogenes*, *E. chrysanthemi* y *A. glutaminasificans* es muy similar a la descrita para *E. coli*. Los aminoácidos treonina-89, aspártico-90 y lisina-162 de la asparaginasa II de *E. coli* están totalmente conservados en todas las secuencias reportadas de asparaginastas y se han postulado como residuos que participan directamente en la reacción enzimática. Los tres están claramente definidos en todas las estructuras y localizados en posiciones casi idénticas. Esta conservación de la identidad y conformación sugiere un mecanismo común para la desamidación en las asparaginastas, el cual es muy similar al de las proteasas de serina (tripsina, quimiotripsina y elastasa), las cuales también hidrolizan un enlace amido. El mecanismo propuesto es un ataque nucleofílico inicial de la treonina-89 sobre el grupo amido de la asparagina para formar un intermediario similar al intermediario acil-enzima que se forma en el caso de las proteasas de serina, liberándose entonces una molécula de amonio; la subsecuente hidrólisis del intermediario produce aspártico y la enzima libre.

## CONCLUSIONES

La amplia distribución de la asparaginasa en microorganismos sugiere un papel importante de esta enzima catabólica. Aunque la asparaginasa no parece tener una función esencial, bajo condiciones desfavorables de crecimiento, la posesión de una enzima que proporciona amonio y esqueletos de carbono claramente representa una ventaja evolutiva y apunta hacia un papel importante de la asparaginasa en la sobrevivencia de microorganismos. Por otro lado, a pesar de que la asparaginasa se ha estudiado extensivamente en microorganismos, aún quedan muchas interrogantes por responder, por ejemplo ¿para qué se necesitan dos enzimas que degradan asparagina en un mismo microorganismo? ¿qué significado biológico tiene la diferente localización celular de las asparaginastas? ¿cómo se relacionan las diferentes afinidades de

estas enzimas hacia su sustrato con la localización celular y su función? Seguramente el estudio detallado a nivel bioquímico y genético de las asparaginidas nos permitirá conocer la respuesta a estas interrogantes.

En relación al mecanismo enzimático de las asparaginidas, aunque se conoce en términos generales, aún no se establecen completamente los detalles del mismo. Para poder identificar claramente a los aminoácidos involucrados en la reacción y la función que llevan a cabo se requiere contar con más estudios de mutagénesis dirigida así como el revelar la estructura de asparaginidas mutantes y de la enzima unida a inhibidores.

Finalmente, para poder reducir la inmunogenicidad de la asparaginida durante el tratamiento de la leucemia, es necesario identificar regiones inmunodominantes en la enzima mediante mutagénesis dirigida y de esta forma poder diseñar asparaginidas menos antigénicas pero catalíticamente eficientes.

## AGRADECIMIENTOS

A la Doctora Susana Brom Klanner, por la revisión detallada y crítica de la primera versión del artículo. Asimismo, agradecemos a los revisores del comité editorial del BEB sus atinadas observaciones.

## REFERENCIAS

- Gallagher M P, Marshall R D y Wilson R (1989) Asparaginase as a drug for treatment of acute lymphoblastic leukaemia. *Essays in Biochemistry* 24: 1-40.
- Imada A, Igarasi S, Nakahama K e Isono M (1973) Asparaginase and glutaminase activities of microorganisms. *J Gen Microbiol* 76: 85-99.
- Müller H J y Boos J (1998) Use of L-asparaginase in childhood ALL. *Crit Rev Oncol Hematol* 28: 97-113.
- Cedar H y Schwartz J H (1967) Localization of two L-asparaginases in anaerobically grown *Escherichia coli*. *J Biol Chem* 242: 3753-3755.
- Cedar H y Schwartz J H (1968) Production of L-asparaginase II by *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 96(6): 2043-2048.
- Jennings M P y Beacham I R (1993) Co-dependent positive regulation of the *ansB* promoter of *Escherichia coli* by CRP and the FNR protein: a molecular analysis. *Mol Microbiol* 9: 155-164.
- Callow D S, Capell B J y Evans C G (1971) Experimental continuous culture production of the enzyme L-asparaginase by *Erwinia carotovora*. *J Gen Microbiol* 65: ii.
- Jennings M P, Scott S P y Beacham I R (1993) Regulation of the *ansB* gene of *Salmonella enterica*. *Mol Microbiol* 9: 165-172.
- Huerta Zepeda A, Ortuño L, Du Pont G, Durán S, Llorett A, Merchant H y Calderón J (1997) Isolation and characterization of *Rhizobium* mutants altered in degradation of asparagine. *J Bacteriol* 179(6): 2068-2072.
- Sun D y Setlow P (1991) Cloning, nucleotide sequence and expression of the *Bacillus subtilis* *ans* operon, which codes for L-asparaginase and L-aspartase. *J Bacteriol* 173(12): 3831-3845.
- Sun D y Setlow P (1993) Cloning and nucleotide sequence of the *Bacillus subtilis* *ansR* gene, which encodes a repressor of the *ans* operon coding for L-asparaginase and L-aspartase. *J Bacteriol* 175(9): 2501-2506.
- Dunlop P C, Meyer G M y Roon R J (1980) Nitrogen catabolite repression of asparaginase II in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Bacteriol* 143(1): 422-426.
- Bonthron D T y Jaskólski M (1997) Why a "benign" mutation kills enzyme activity? Structure-based analysis of the A176V mutant of *Saccharomyces cerevisiae* L-asparaginase I. *Acta Biochim Pol* 44(3): 491-504.
- Swain A L, Jaskólski M, Housset D, Rao J K M y Wlodawer A (1993) Crystal structure of *Escherichia coli* L-asparaginase, an enzyme used in cancer therapy. *Proc Nat Acad Sci USA* 90: 1474-1478.
- Harms E, Wehner A, Aung H P y Rohm K H (1991) A catalytic role for threonine-12 of *E. coli* asparaginase II as established by site-directed mutagenesis. *FEBS Lett* 285(1): 55-58.

# ESTUDIO COMPUTARIZADO DE LA PREDICCIÓN ESTRUCTURAL COMPARADA DE LAS CARNITINA PALMITOILTRANSFERASAS

Héctor Peinado y Antonio Liras. Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa". Facultad de Biología, Universidad Autónoma de Madrid. Campus de Cantoblanco, 28049 Madrid, España. Correo electrónico: aliras@cbm.uam.es. Fax: (+3491)3978087

## RESUMEN

La disponibilidad de sistemas computarizados permite la predicción de la estructura, topología y disposición en las membranas celulares de un gran número de proteínas. Esta información posibilita el diseño racional "a priori" de determinados protocolos experimentales y, por otra parte, la aplicación en la enseñanza y aprendizaje universitario para la utilización de las secuencias proteicas, los bancos de datos y los conceptos teóricos de la Biología Molecular y Celular. En este trabajo, se aplica esta metodología para la predicción estructural computarizada de las carnitina palmitoiltransferasas I y II en humanos, de su topología y disposición en las membranas mitocondriales, así como de los efectos sobre su funcionalidad de determinadas mutaciones en los genes que las codifican.

**PALABRAS CLAVE:** Estructura de proteínas, predicción computarizada, carnitina palmitoiltransferasa

## ABSTRACT

The availability of computerized systems allows the prediction of the structure, topology and position within cell membranes of a huge number of proteins. This information allows rational "a priori" protocol designs and has an application in university teaching and learning using protein sequences, data bases and theoretical concepts in molecular and cellular biology. In this work, the above-mentioned methodology is applied for the computerized prediction of the structure of human carnitine palmitoyltransferases I and II, of their topology and position in mitochondrial membranes, as well as for the prediction of the effects of certain gene mutations on their functionality.

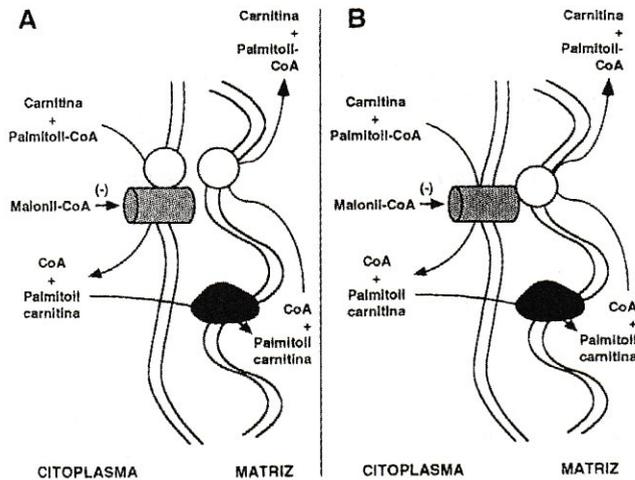
**KEY WORDS:** Protein structure, computerized prediction, carnitine palmitoyltransferase.

## INTRODUCCIÓN

Las carnitina aciltransferasas forman parte de una familia de enzimas que están implicadas en el transporte de los ácidos grasos a la mitocondria, catalizando el intercambio entre carnitina y coenzima A y los ésteres de los ácidos grasos correspondientes.

Concretamente, la carnitina palmitoiltransferasa (CPTasa) está relacionada indirectamente con la  $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos en la matriz mitocondrial, y es una enzima mitocondrial de membrana que cataliza la transformación de palmitoil-carnitina citosólica en palmitoil-CoA. Se han postulado dos hipótesis para explicar la topología de las CPTasas en la membrana mitocondrial (1) (Fig 1). La primera se basa en la existencia de dos CPTasas, una de la membrana externa mitocondrial (CPTasa I) y otra de la membrana interna (CPTasa II), ambas de idéntico peso molecular (68 kDa) y a las que se asociaría una proteína reguladora de 86 kDa que sería la responsable de la sensibilidad a malonil-CoA (2). La segunda hipótesis apoya la existencia de una sola CPTasa mitocondrial en la membrana interna asociada a la subunidad reguladora. El grupo de McGarry (3) logró clonar, de humanos, el cDNA que codifica para la CPTasa I y por su parte Finocchiaro y col. (4) clonaron el cDNA para la CPTasa II de hígado humano, lo que demostró que se trataba de dos productos distintos a partir de dos genes diferentes.

La carnitina palmitoiltransferasa II se encuentra asociada de forma extrínseca a la cara interna de la membrana interna mitocondrial y se solubiliza fá-



**Figura 1.** Topología del sistema mitocondrial de la carnitina palmitoiltransferasa. **A)** Hipótesis de la existencia de dos proteínas CPTasas (CPTasa I y II) de igual masa molecular de 68 kDa (○) y de una subunidad reguladora de 86 kDa sensible a malonil-CoA (■). **B)** Hipótesis de la existencia de una única proteína CPTasa de 68 kDa, de la membrana interna, con una subunidad reguladora también sensible a malonil-CoA. (●) Carnitina translocasa. MEM, membrana externa mitocondrial; MIM, membrana interna mitocondrial.

cilmente en su forma activa mediante el tratamiento con detergentes suaves como el Tween-20 al 1% (5). Este hecho se relacionaría con la ausencia de una secuencia aminoacídica que pudiera extenderse a través de la membrana. El centro activo se localizaría hacia la matriz ya que no es sensible a proteasas cuando la mitocondria se encuentra intacta, mientras que la fractura de la membrana interna mitocondrial provoca, en presencia de éstas, la inactivación total de la proteína (6). En el caso de la CPTasa I la situación es marcadamente diferente. Se sitúa en la membrana externa mitocondrial y la enzima no se extrae por detergentes suaves y sí por agentes más fuertes como el Tritón X-100 o el octilglucósido. En estas condiciones pierde su actividad catalítica y, posiblemente, su estructura tridimensional lo que podría indicar su carácter integral en la membrana.

### PREDICCIÓN DE LA ESTRUCTURA MEDIANTE LOS PROGRAMAS DE COMPUTACIÓN

Hoy en día la utilización de las computadoras con programas y sistemas cada vez más sofisticados nos permite predecir la estructura y la topología de una proteína a partir de la secuencia de su cDNA pre-

viamente clonado y por ende a partir de su secuencia de residuos de aminoácidos.

En este trabajo se describe la predicción comparada de la estructura y topología de las CPTasa I y II mitocondriales de humanos, mediante la utilización del servidor general de biología molecular ExPASy, a través de Internet (<http://www.expasy.ch/>), y a partir de los bancos de datos Swiss-protein, TrEMBL y Prosite, para el análisis de algunas características físico-químicas y de los perfiles de hidrofobicidad. Además, se estudian los residuos de aminoácidos que pueden determinar la función enzimática y la topología, también las características del amino extremo terminal y la secuencia del péptido señal, así como la localización del centro activo, dentro de la estructura tridimensional de la proteína. Por último, se predicen los efectos sobre la actividad catalítica y la estabilidad molecular de la proteína por la presencia de determinadas mutaciones específicas.

En la Tabla I, se muestran algunas características como las vidas medias o los índices de inestabilidad, y algunas que se relacionan con la estructura, topología y disposición de estas proteínas en las membranas, como los índices alifáticos o de hidrofobicidad, así como con el tipo de aminoácidos, hidrofóbicos e hidrofílicos, y su proporción en la proteína.

Para determinar la estructura consenso y, en general para las predicciones de la estructura de la proteína, se utilizaron varios programas: *PSORT* (*Prediction of protein sorting signals and localization sites*), *Jpred* (*Protein secondary structure prediction*), *PSIPred* (*Protein structure prediction methods* de la Universidad de Warwick) y *HMMTOP* (*Prediction of transmembrane helices and topology of proteins* de la Academia de Ciencias Húngara), cuyos resultados se correlacionaban entre sí, dentro de una ventana de casi el marco abierto de lectura completo para determinar la longitud del segmento de la proteína en que se podían generar cruces transmembranales en forma de  $\alpha$ -hélices u otras estructuras secundarias.

### Estudio del carácter hidrofóbico de las proteínas

En función de los índices alifáticos y de hidrofobicidad así como del tipo de aminoácido, se obtu-

TABLA I

ANÁLISIS "ProtParam Tool" DE LA CARNITINA PALMITOILTRANSFERASA I (SWISS-PROTEIN N° P50416)  
Y LA CARNITINA PALMITOILTRANSFERASA II (SWISS-PROTEIN N° P23786)

	<i>CPTasa I</i>	<i>CPTasa II</i>
<i>Número de aminoácidos</i>	773	658
<i>Peso molecular (kDa)</i>	88,4	73,7
<i>pI teórico</i>	8,85	8,38
<i>Número de residuos negativos (Asp + Glu)</i>	81	70
<i>Número de residuos positivos (Arg + Lys)</i>	92	74
<i>Vida media estimada (horas)</i>	30	30
<i>Índice de inestabilidad<sup>a</sup></i>	37,6	41,7
<i>Índice alifático</i>	82,12	79,33
<i>Índice de hidrofobicidad</i>	-0,27	-0,32
<i>Hélices (i → o)<sup>b</sup></i>	1	-
<i>Hélices (o → i)<sup>c</sup></i>	1	-

<sup>a</sup>Índice que mide el valor de recambio de la proteína. Si este es mayor, el nivel de degradación es mayor que el de síntesis.

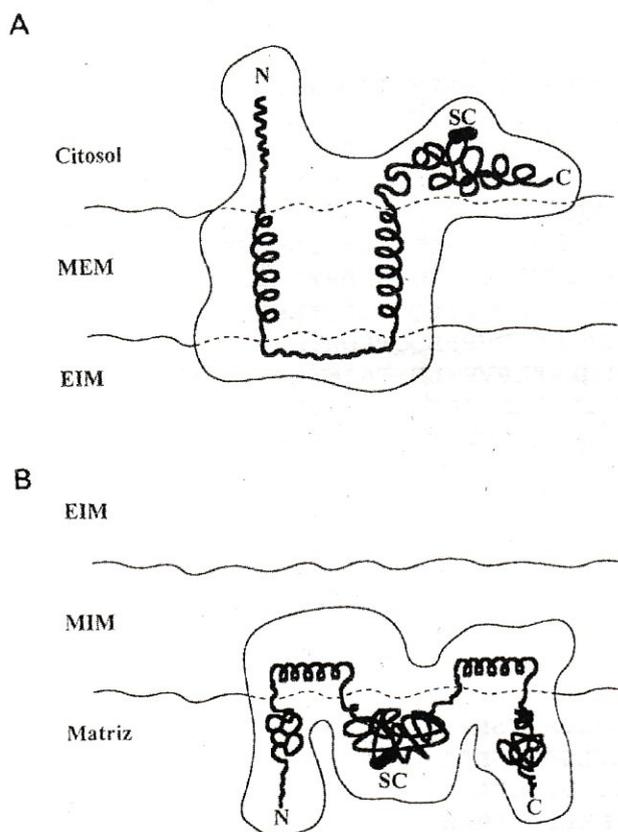
<sup>b</sup>Hélices  $\alpha$  con orientación desde el interior al exterior.

<sup>c</sup>Hélices  $\alpha$  con orientación desde el exterior al interior.

vieron los perfiles de hidrofobicidad para la CPTasa I y la CPTasa II según Kyte y Doolittle (7), de tal manera que la disminución del índice de Kyte y Doolittle, indica un mayor carácter hidrofóbico de la proteína. Así, estos resultados muestran una correlación entre una disposición intrínseca en la membrana para la CPTasa I y otra de superficie para la CPTasa II.

Para predecir la topología y la posible disposición de estas dos proteínas en las distintas membranas mitocondriales, además de conocer sus perfiles de hidrofobicidad, es necesario analizar su posible estructura secundaria. Mediante la utilización de algunos sitios Web como el "Theoretical Chemistry Protein Prediction Server" de la Universidad de Estocolmo ([www.biokemi.su.se/~server](http://www.biokemi.su.se/~server)) o el *ISR EC* ([www.isrec.isb-sib.ch/software/TMPRED\\_form.html](http://www.isrec.isb-sib.ch/software/TMPRED_form.html)), y los programas arriba señalados, se predijeron las posibles  $\alpha$ -hélices transmembranales (Tabla I), encontrándose una  $\alpha$ -hélice para la CPTasa I con una orientación desde el interior al exterior ( $i \rightarrow o$ ) y otra en el sentido inverso ( $o \rightarrow i$ ). En el caso de la CPTasa II no se encontraron segmentos  $\alpha$ -hélices transmembranales aunque sí hidrofóbicas intrínsecas.

En la Figura 2 se muestran los modelos que, de esta forma, se sugieren para explicar la topología en la membrana de estas dos proteínas. Se debe tener en cuenta que estos modelos son especulativos y deben ser utilizados con extrema precaución ya que se basan en la presunción de que se han tenido en cuenta y se han encontrado todas las posibles  $\alpha$ -hélices transmembranales. Así, para la CPTasa I se predicen dos segmentos citosólicos (Met1-Lys47) y (Arg123-Lys773), dos segmentos transmembranales (Asn48-Met73) y (Asn103-Met122) y un segmento en el espacio intermembranal (Tyr74-Lys102). El centro activo, y basados en la correlación de los datos experimentales previos descritos mediante la solubilización de las proteínas con distintos detergentes, tratamiento con proteasas y mutagénesis dirigida (6, 11, 12), se situaría alrededor de la posición 473 del lado citosólico, con el extremo amino terminal hacia el exterior. En el caso de la CPTasa II el amino extremo terminal y el centro activo, alrededor de la posición 372, se encontrarían hacia la matriz, y presentaría una presecuencia (Met1-Leu25) para el tránsito mitocondrial. Además, podría presentar dos  $\alpha$ -hélices intrínsecas de membrana (Phe194-Leu212) y (Leu461-Val483).



**Figura 2.** Modelos para explicar la topología y la disposición de la CPTasa I (A) y la CPTasa II (B) de humanos en las membranas mitocondriales. *MEM*, membrana externa mitocondrial; *MIM*, membrana interna mitocondrial; *EIM*, espacio intermembranal; *SC*, sitio catalítico de la proteína.

### Homología con aciltransferasas

El estudio comparativo entre estas dos proteínas, carnitina palmitoiltransferasa I y carnitina palmitoiltransferasa II de humanos con otras proteínas del banco de datos (Swiss-Prot), ofreció, en general, una mayor homología con las aciltransferasas.

Así, se compararon distintas aciltransferasas con la CPTasa I y la CPTasa II de humanos. El mayor grado de homología para la CPTasa I se encontró con la CPTasa I de hígado de rata, la CPTasa I de músculo de humanos y la CPTasa I de músculo de rata. Para la CPTasa II fue con la CPTasa II de ratón, la CPTasa II de rata y la CAT (carnitina acetilasa) de paloma. Además (Fig 3A), se obtuvo una alta homología en un motivo estructural, de leucina-prolina: Leu-Pro-(Arg o Lys)-Leu-Pro-(Val o Ile)-Pro-X-Leu (siendo X cualquier residuo de aminoácido). Esta secuencia se encuentra alta-

mente conservada en las aciltransferasas y no en aquellas enzimas que interactúan con acil-derivados de CoA, lo que sugiere que podría tener un papel funcional relevante en la interacción con la carnitina o la colina (8).

### Estudio de la presecuencia mitocondrial

La mayor parte de las proteínas mitocondriales se codifican por genes nucleares sintetizándose en polirribosomas citosólicos en forma de grandes precursores que contienen una secuencia líder amino-terminal capaz de separarse (9), con una longitud de entre 20 y 70 residuos de aminoácidos y ricas en residuos cargados positivamente e hidroxilados y generalmente no ácidos (10). En el caso de las CPTasas de humanos su extremo amino-terminal está precedido por 25 residuos de aminoácidos, que conforman el péptido señal, con cuatro argininas que se relacionan con la anfifilicidad que se requiere para la función de una presecuencia líder de translocación mitocondrial.

Si comparamos la presecuencia de la CPTasa II, que debe integrarse en la membrana interna mitocondrial, y su composición en argininas, con otras presecuencias correspondientes a proteínas o subunidades que se expresan en el núcleo y se translocan a la mitocondria, como es el caso de los citocromos y de la ATPsintasa, también de la membrana interna mitocondrial (Fig 3B), observamos una alta homología en las argininas presentes en esta secuencia de translocación mitocondrial.

### PREDICCIÓN DE LA COMPOSICIÓN DE RESIDUOS DE AMINOÁCIDOS DEL CENTRO CATALÍTICO

Muchas son las evidencias que involucran a los residuos de la histidina como componentes del centro activo de las carnitina palmitoiltransferasas. Así, la disminución del pH que provoca la protonación de su grupo imidazol, o bien su mutagénesis dirigida (12), se traducen en una disminución proporcional de la afinidad de la enzima por la carnitina. También, estas enzimas se inhiben por agentes modificadores de la histidina (11).

Por esta razón, se analizaron, por ExpASy, las histidinas conservadas en carnitina palmitoiltransferasas, carnitina octanoiltransferasas, carnitina acetiltransferasas y colina acetiltransferasas de es-

A

P23786.CPT2h.	PTMHYQDSLPRLP	PIPKLE	EDTIRRYLSAQKP
P18886.CPT2r.	PTMHYQDSLPRLP	PIPKLE	EDTMKRYLNAQKP
P52825.CPT2m.	PTMHYQDSLPRLP	PIPKLE	EDTMKRYLSAQKP
P13222.CHATP.		PGLPKLPVPP	LOOTLATYLR
P28329.CHATH.	TPSSEESGLPKLPVPP	LOOTLATYLQCM	
P11466.COTr.	RTFQYQDSLPP	PLPVPSLEESLKKYLESVK	
P43155.CATH.	RFKAHQDALPRLP	VPPLOOSLDHYLK	
P47934.CATr.		HQDALPRLP	VPPLOOSLDYYLKAQ
P52826.CATpgon.		LHQEALP	HLPPVPPLOOTLDRYLLAL
Q00614.CATYys.	DLFKYQSLP	KLPVPTLEETASKYLKT	
P32198.CPT1r.	MLYSFQTS	LPRLPVP	PAVKDTVSRYLESV
Q92523.CPT1h.	MLYSFQTS	LPKLPV	PRVSATIQRYLE

B

P23786.CPT2h	MVPRLLLR	AW	PRGPAVGPGA	PSRPL
P18886.CPT2m	MMPRLLFR	AW	PRCPSLVLGA	PSRPL
P52825.CPT2r	MMPRLLLR	RDW	PRCPSLVLGA	PSRPL
P13073.CytC4	MLATRVFSLV		GKRAISTSV	VRA
P10176.CytC8	MSVLTPLLLR		GLTGSARRLP	VPRAK
P10606.CytC5b	MASRLLRGAG		TLAAQALRAR	GPSGAAAMRS M
Q02221.CytC6a	MALPLRPLTR		GL	
P12074.CytC6a	VVVGVS	SVSR	LLGRSXPQLG	RPM
P14406.CytC7a	MLRNLLALRQ		IGQRTISTAS	RRH
P24311.CytC7b	MFPLVKSALN		RLQVRSIQQT	MARQ
P15954.CytC7c	MLGQSIRRF		TSVRR	
P20674.CytC5a	MLGAALRRCA		VAATTRADPR	GLLHSARTPG PAVAIQSVRC Y
P18859.ATPase $\beta$	MILQRLFRFS		SVIRSAVSVH	LRRNIGVTAV AF
P25705.ATPase $\alpha$	MLSVRVAAAV		VRALPRRAGL	VSRNALGSSF IAARNFHASN THL

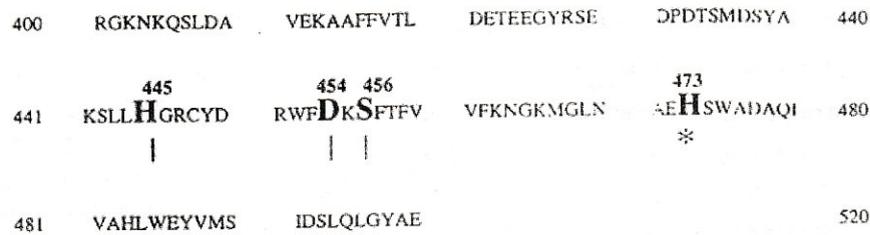
**Figura 3.** (A) Homología de las distintas aciltransferasas en el motivo altamente conservado de leucina-prolina: Leu-Pro-(Arg ó Lys)-Leu-Pro-(Val ó Ile)-Pro-X-Leu (X representa cualquier residuo de aminoácido). (*CHATP*, colina acetiltransferasa porcina; *COT*, carnitina octanoiltransferasa; *CATpgon*, carnitina acetiltransferasa de paloma; *CATYys*, carnitina acetiltransferasa de *Cándida tropicalis*; *CPT1h*, carnitina palmitoiltransferasa muscular humana). (B) Comparación de las secuencias correspondientes a la presecuencia de la CPTasa II humana (CPT2h), la CPTasa II de rata (CPT2r) y la CPTasa II de ratón (CPT2m), en su composición en argininas (R) con otras presecuencias correspondientes a subunidades de proteínas que se expresan en el núcleo y se translocan a la mitocondria (*Cyt*, citocromos; *ATPase*, ATPsintasa).

pecias ampliamente divergentes como son la humana, levaduras e insectos. De esta forma (Fig 4), se encontraron altamente conservadas, entre todas estas proteínas, la histidina 372 correspondiente a la CPTasa II y la 473 en el caso de la CPTasa I, por lo que se postula la implicación directa de estas histidinas en la reacción catalítica.

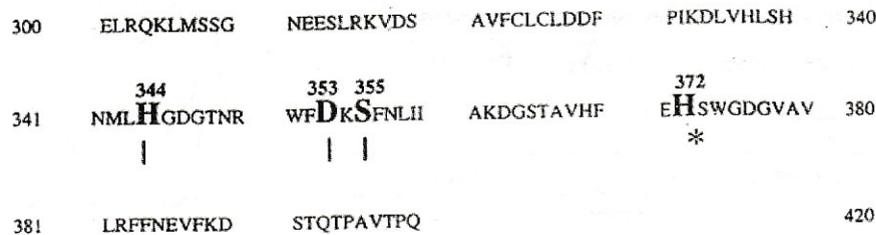
Por otra parte, y también en relación al sitio catalítico, se encontró una alta homología en la se-

cuencia His/Asp/Ser (Fig 4) que se localiza también en el centro activo de las proteasas de serina. Por esta razón, se puede postular un mecanismo catalítico semejante entre aciltransferasas y proteasas de serina. En el caso de estas últimas la histidina desprotonaría a la serina como sustrato y el aspártico actuaría como estabilizador de la carga. En aciltransferasas el grupo hidroxilo de la carnitina, en este caso el sustrato, sería el equivalente a la serina. Esta predicción estaría de acuerdo

## A



## B



**Figura 4.** Conservación de residuos de histidina y homología de la secuencia His/Asp/Ser en la CPTasa I (A) y la CPTasa II (B) de humanos con relación a proteasas de serina. (H) histidina altamente conservada y posiblemente implicada en la reacción catalítica. (H, D, S) residuos His/Asp/Ser homólogos en el centro activo de las CPTasas I y II y proteasas de serina.

con los resultados de Brown y col. (12) en que, mediante mutagénesis dirigida a nivel de la His372 o el Asp376 en la CPTasa II, observan una pérdida total de la función catalítica de esta proteína.

#### PREDICCIÓN DE LOS EFECTOS DEBIDOS A MUTACIONES EN LOS GENES

En cuanto a la predicción de los efectos desencadenados por las mutaciones que se producen en los genes que codifican para estas proteínas, ésta se puede llevar a cabo estudiando los residuos de aminoácidos modificados o mutados en la secuencia de la proteína, determinando la región en que se producen y prediciendo sus posibles consecuencias.

En un análisis en ExPASy se situaron las distintas mutaciones detectadas en la secuencia proteica y se determinó la zona en que se producían, así como su relevancia para la función de la proteína considerando si la región pertenecía al sitio catalítico o bien simplemente era una región estructu-

ral. Para la CPTasa I no se han descrito todavía mutaciones en el gen que se relacionen con una deficiencia en esta proteína, debido, posiblemente, a que el gen se clonó más recientemente que el de la CPTasa II. Por el contrario, en el caso de esta última (Fig 5) se ha detectado un gran número de mutaciones puntuales que afectan a distintas regiones de la proteína y que derivan en una patología hereditaria que cursa con su deficiencia. Así, se han detectado cambios en los residuos Val368 y Met647 (13), Ser113 y Arg631 (14) y Pro50, Glu174, Pro227, Phe383, Asp553 y Tyr628 (15). En la figura 5 se muestran estas mutaciones detectadas hasta ahora así como la predicción de sus efectos y las evidencias bioquímicas encontradas en los distintos pacientes en los que se han descrito. Algunas de ellas afectan o pueden afectar a la actividad enzimática propiamente dicha (centro activo), bien de forma directa o bien por alterar el motivo conservado Leu-Pro, característico de las enzimas aciltransferasas. Por otra parte, y de forma

1	MVPRLLLR <sup>50</sup> AW	PRGPAVGPGA	PSRPLSAGSG	PGQYLQRSIV	40
41	PTMHYQDSL <sup>P</sup>	RLPIPKLEDT	IRRYLSAQKP	LLNDGQFRKT	80
81	EQFCKSFENG	IGKELHEQLV	ALDKQNKHTS	YI <sup>113</sup> SGPWFDMY	120
121	LSARDSVVLN	FNPFMAFNPD	PKSEYNDQLT	RATNMTVSAI	160
161	RFLKTLRAGL	LEP <sup>174</sup> EVFHLNP	AKSDITTFKR	LIRFVPSLS	200
201	WYGAYLVNAY	PLDMSQYFRL	FNSTR <sup>227</sup> LPKPS	RDELFTDDKA	240
241	RHLLVLRKGN	FYIFDVLQDQ	GNIVSPSEIQ	AHLKYILSDS	280
281	SPAPEPLAY	LTSENRIWA	ELRQKLMSSG	NEESLRKVIDS	320
321	AVFCLCLDDF	PIKDLVHLSH	<u>NMLHGDGTNR</u>	<u>WEDKSENLII</u>	360
361	<u>AKDGSTA<sup>368</sup>VHF</u>	<u>EHSWGDGVAY</u>	<u>LR<sup>383</sup>FENEVEKD</u>	STQTPAVTPQ	400
401	SQPATTDSTV	TVQKLNFEIT	DALKTGITAA	KEKFDATMKT	440
441	LTIDCVQFQR	GGKEFLKKQK	LSPDAVAQLA	FQMAFLRQYG	480
481	QTVATYESCS	TAAFKHGRTE	TIRPASVYTK	RCSEAFVREP	520
521	SRHSAGELQQ	MMVECSKYHG	QLTKEAAMGQ	<sup>553</sup> GFDRHLFALR	560
561	HLAAAKGIL	PELYLDPAYG	QINHNVLSTS	TLSSPAVNLG	600
601	GFAPVVSDFG	GVGYAVHDNW	IGCNVSS <sup>628</sup> YPG	<sup>631</sup> RNAREFLQCV	640
641	EKALED <sup>647</sup> MFDA	LEGKSIKS			680

Mutación	PREDICCIÓN DEL EFECTO DE LAS MUTACIONES SEÑALADAS Región	Predicción del efecto (Disminución)	Evidencias en pacientes (Disminución)
Pro(50)His	Motivo Leu-Pro	Eficacia catalítica	Eficacia catalítica
Ser(113)Leu	Intrachaperonina	Estabilidad molecular	Nivel estacionario
Glu(174)Lys	Estructural	Estabilidad molecular	Nivel estacionario
Pro(227)Leu	Motivo Leu-Pro	Eficacia catalítica	Eficacia catalítica/ Nivel estacionario
Val(368)Ile	Intrachaperonina/ Centro activo	Eficacia catalítica/ Estabilidad molecular	Nivel estacionario
Phe(383)Tyr	Centro activo	Eficacia catalítica	Eficacia catalítica/ Nivel estacionario
Asp(553)Asn Tyr(628)Ser Arg(631)Cys Met(647)Val	Estructural	Estabilidad molecular	Nivel estacionario

**Figura 5.** Mutaciones puntuales [Pro(50)His, Ser(113)Leu, Glu(174)Lys, Pro(227)Leu, Val(368)Ile, Phe(383)Tyr, Asp(553)Asn, Tyr(628)Ser, Arg(631)Cys, Met(647)Val] detectadas en la carnitina palmitoiltransferasa II de humanos y predicción de los efectos mutacionales sobre la funcionalidad de la proteína. (Los caracteres subrayados representan el sitio catalítico)

más general, pueden afectar a la estabilidad molecular de la proteína bien por producirse la mutación en una posible zona con función intrachaperonina o bien, simplemente, por alterar una zona responsable de la sensibilidad a proteasas o en general de la estabilidad, hecho que pudiera estar de acuerdo con que una pequeña modificación puntual en la proteína en función de su mayor índice de inestabilidad (Tabla I) pudiera hacer a la

CPTasa II una proteína altamente inestable, debido a una pérdida importante de su estructura tri-dimensional.

En cualquier caso y, en general, además de una ligera disminución de la eficacia catalítica en algunos casos, la presencia de mutaciones en la CPTasa II se asocia con bajos niveles de la proteína en tejidos y con una cinética enzimática normal, lo que hace pensar en un incremento de la inestabilidad de la proteína y, por tanto, en una disminución de sus niveles funcionales estacionarios, entendiéndose por nivel estacionario la concentración de enzima que se precisa, desde un punto de vista fisiológico, como proteína funcionante y que viene dada por el valor de recambio o razón entre la proteólisis de la proteína y su síntesis en el organismo.

## CONCLUSIONES

La utilización de programas y sistemas computarizados, aunque con una certidumbre del 50%, nos permite la predicción de la estructura de un gran número de proteínas así como de su topología y disposición en las membranas celulares.

En este trabajo, mediante esta metodología, se han postulado los modelos que explican la topología en las membranas mitocondriales de los dos tipos de carnitina palmitoiltransferasas I y II de humanos a partir de sus perfiles de hidrofobicidad y de las posibles  $\alpha$ -hélices transmembranales. Así, para la CPTasa I se predice una disposición intrínseca con el centro activo alrededor de la posición 473 del lado citosólico con los extremos terminales amino y carboxilo hacia el exterior, y para la CPTasa II una disposición superficial con los extremos terminales hacia la matriz y el centro activo alrededor de la posición 372.

Ambas proteínas presentan una alta homología con diversas aciltransferasas en el motivo altamen-

te conservado de leucina-prolina y una presecuencia, rica en argininas, característica de proteínas que se expresan en núcleo y se translocan a la mitocondria.

En relación al centro activo, éste presenta histidinas directamente relacionadas con la reacción catalítica que se conservan entre diversas aciltransferasas de especies altamente divergentes. También presenta una alta homología con proteasas de serina en la secuencia His/Asp/Ser.

La predicción de los efectos de las diversas mutaciones detectadas en estas proteínas se relacionan con efectos sobre el centro activo de forma directa o sobre el motivo de leucina-prolina, o bien con la alteración de la estabilidad molecular de la proteína que se traduce en la pérdida de su funcionalidad.

Por último, este tipo de predicciones computarizadas permiten, en general, el diseño racional de experimentos en el laboratorio y, además, una aplicación en la enseñanza y aprendizaje universitario para la utilización de secuencias proteicas, bancos de datos y conceptos teóricos de Biología Molecular y Celular.

## REFERENCIAS

1. Brady PS, Ramsay RR y Brady LJ (1993) Regulation of the long-chain carnitine acyltransferases. *FASEB J* 7: 1039-1044.
2. Esser V, Britton CH, Weis BC, Foster DW y McGarry JD (1993) Cloning, sequencing, and expression of a cDNA encoding rat liver carnitine palmitoyltransferase I. *J Biol Chem* 268: 5817-5822.
3. Britton CH, Schultz RA, Zhang B, Esser V, Foster DW y McGarry JD (1995) Human liver mitochondrial carnitine palmitoyltransferase I: Characterization of its cDNA and chromosomal localization and partial analysis of the gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 1984-1988.
4. Finocchiaro G, Taroni F, Rocchi M, Liras A, Colombo I, Tarelli GT y DiDonato S (1991) cDNA cloning, sequence analysis and chromosomal localization of human carnitine palmitoyltransferase. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 661-665.
5. Woeltje KF, Kuwajima M, Foster DW y McGarry JD (1987) Characterization of the mitochondrial carnitine palmitoyltransferase enzyme system II. Use of detergents and antibodies. *J Biol Chem* 262: 9822-9827.
6. McGarry JD, Brown NF, Inthanousay PP, Park DI, Cook BA y Foster DW (1992) Insights into the topography of mitochondrial carnitine palmitoyltransferase gained from the use of proteases. En: *New developments in fatty acid oxidation*. Editores: Coates PM y Tanaka K. Wiley-Liss Inc, Nueva York, pp 47-61.
7. Kyte J y Doolittle RF (1982) A simple method for displaying the hydrophobic character of a protein. *J Mol Biol* 157: 105-132.
8. Bloisi W, Colombo I, Garavaglia B, Giardini R, Finocchiaro G y DiDonato S (1990) Purification and properties of carnitine acetyltransferase from liver. *Eur J Biochem* 189: 539-546.
9. Pfanner N y Neupert W (1990) The mitochondrial protein import apparatus. *Annu Rev Biochem* 59: 331-353.
10. Horwich AL, Kalousek F, Fenton WA, Furtak K, Pollock RA y Rosenberg LE (1987) The ornithine transcarbamylase leader peptide directs mitochondrial import through both its midportion structure and net positive charge. *J Cell Biol* 105: 669-677.
11. Nic A Bhaird N y Ramsay RR (1995) The active site histidine of carnitine acyltransferases. *Biochem Soc Trans* 23: 490.
12. Brown NF, Anderson RC, Caplan SL, Foster DW y McGarry JD (1994) Catalytically important domains of rat carnitine palmitoyltransferase II as determined by site-directed mutagenesis and chemical modification: evidence for a critical histidine residue. *J Biol Chem* 269: 19157-19162.
13. Taroni F, Verderio E, Fiorucci S, Cavadini P, Finocchiaro G, Uziel G y DiDonato S (1992) Molecular characterization of inherited carnitine palmitoyltransferase II deficiency. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 8429-8433.
14. Taroni F, Verderio E, Dworzak F, Willems PJ, Cavadini P, DiDonato S (1993) Identification of a common mutation in the carnitine palmitoyltransferase II gene in familial recurrent myoglobinuria patients. *Nature Genet* 4: 314-320.
15. Verderio E, Cavadini P, Montermini L, Wang H, Lamantea E, Finocchiaro G, DiDonato S, Gellera C y Taroni F (1995) Carnitine palmitoyltransferase II deficiency: structure of the gene and characterization of two novel disease-causing mutations. *Hum Mol Gen* 4: 19-29.

# MECANISMOS DE EXPULSIÓN DE METALES TÓXICOS EN BACTERIAS

Carlos Cervantes, Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, Universidad Michoacana; Morelia, Michoacán, Tel/fax:(43)-26-5788, Correo electrónico: cvega@zeus.ccu.umich.mx

## RESUMEN

Las bacterias han desarrollado variadas estrategias de resistencia a los metales tóxicos con los que interactúan en el ambiente. Dado que algunos de los metales tóxicos son micronutrientes esenciales (por ejemplo, cobre y zinc), las bacterias deben controlar con precisión la actividad de los sistemas de captación y de expulsión presentes en la membrana, para así mantener niveles intracelulares adecuados de estos elementos. Para los metales sin función biológica (como cadmio y plata), los sistemas de transporte están orientados hacia su expulsión. Se han analizado varios sistemas de expulsión de metales tóxicos a nivel molecular. Entre estos se encuentran los que expulsan cobre, cadmio, cobalto, zinc, níquel, plata y plomo. Destacan dos mecanismos activos: los que emplean ATPasas de tipo P y los basados en sistemas antiportadores que intercambian a los iones tóxicos por protones.

**PALABRAS CLAVE:** Metales tóxicos, expulsión membranal, ATPasas, plásmidos

## ABSTRACT

Bacteria have developed diverse strategies for resistance against toxic metals with which they interact in the environment. Since some of the toxic metals are also essential micronutrients (e.g. copper and zinc), bacteria must control the activity of uptake and efflux membrane systems in order to maintain adequate intracellular levels of these elements. For metals with no biological function (e. g. cadmium and silver), bacterial transport systems are oriented to their extrusion. Several systems related to the efflux of toxic metals have been analyzed at the molecular level. Among these are the pathways that extrude copper, cadmium, cobalt, zinc, nickel, silver, and lead. Two active mechanisms have been found: those involving the P-type ATPases, and those using antiporter systems that exchange the toxic ions for protons.

**KEY WORDS:** Toxic metals, efflux systems, ATPases, plasmids

## INTRODUCCIÓN

Para llevar a cabo sus funciones metabólicas, los microorganismos requieren de iones inorgánicos como los metales calcio, magnesio, sodio, potasio y manganeso. Algunos metales, sin embargo, son tóxicos y carecen de función biológica (como los metales pesados plomo, cadmio y plata), o bien son esenciales pero presentan toxicidad en concentraciones elevadas (como cobre y zinc). Las bacterias han desarrollado diversas estrategias para tolerar los efectos nocivos de los metales tóxicos. Los genes responsables de la resistencia a metales pueden estar codificados en el cromosoma, aunque con frecuencia se localizan en plásmidos. En los últimos años, varios sistemas de expulsión de metales se han descrito a nivel molecular, dilucidándose los mecanismos involucrados (1). No obstante, en muchos de estos casos las conclusiones se basan en el análisis de las proteínas deducidas de las secuencias nucleotídicas de los genes correspondientes, careciéndose con frecuencia de evidencias bioquímicas directas. En este trabajo se resumen algunos aspectos relacionados con los mecanismos bacterianos de expulsión de metales tóxicos.

## ATPASAS DE TIPO P

Las ATPasas de tipo P son una clase de proteínas involucradas en el transporte de iones, cuya función es el mantenimiento de las concentraciones adecuadas de éstos en el interior celular. Se conocen más de 100 ATPasas de tipo P que participan en la homeostasis de iones en organismos tan diversos como bacterias y humanos. Todas las ATPasas de tipo P funcionan como bombas de cationes, participando en su captación, expulsión o intercambio. En esta revisión sólo se tratarán las ATPasas relacionadas con sistemas de expulsión. Estas enzimas, ya sea de procariontes o de euca-

riones, muestran dominios conservados, como son los involucrados en las funciones de fosfatasa, de transducción del ion, de fosforilación, y en la unión al ATP (2).

Existen dos enfermedades hereditarias en humanos causadas por defectos en el metabolismo del cobre, el síndrome de Menkes y la enfermedad de Wilson. El gen afectado en el síndrome de Menkes codifica para una ATPasa de tipo P que transporta cobre. La deficiencia de esta enzima causa una acumulación del metal en diversos tejidos. El gen responsable de la enfermedad de Wilson también codifica para una ATPasa de tipo P cuya alteración produce una excesiva acumulación de cobre en el hígado. En su extremo amino terminal estas ATPasas contienen seis copias de una secuencia similar a las encontradas en las ATPasas bacterianas codificadas por genes que confieren resistencia a metales pesados (3).

### EXPULSIÓN DE COBRE

El cobre tiene un papel dual en los microorganismos: es esencial en bajas concentraciones pero a niveles elevados es tóxico; debido a esto, las bacterias deben poseer mecanismos que les permitan mantener el cobre intracelular en valores que no interfieran con su homeostasis pero que no produzcan daño celular. Así, las bacterias han desarrollado diversos sistemas que mantienen las concentraciones adecuadas de cobre en el citoplasma; algunos de ellos se basan en la captación y otros en la expulsión del metal (4).

#### Mecanismos de expulsión de cobre

**a) Sistema Cut de *Escherichia coli*.** Se ha identificado un sistema de transporte y utilización de cobre codificado en el cromosoma en cepas de *E. coli* resistentes al metal; este sistema fue denominado *cut* y consiste de un operón de ocho genes: *cutABCDEFRS* (5). CutA y CutB son proteínas de la membrana interna que captan cobre; CutA transporta cobre y zinc mientras que CutB sólo capta cobre. Se postula que la proteína citoplásmica CutE (de 512 aminoácidos) secuestra al cobre y lo lleva a los sitios de síntesis de las proteínas que contienen el metal. CutE contiene una región (His-Fen-Gli-Met-Ala-Arg-Met) que corresponde a un dominio para la unión del cobre por comparación con regiones similares de otras proteínas que

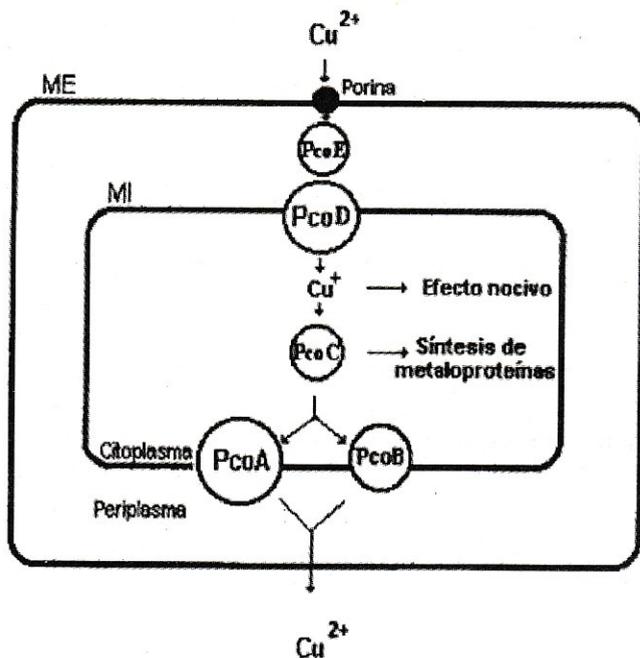
unen al metal (como la azurina y la plastocianina). Por otra parte, CutF es una proteína de la membrana externa con sitios potenciales de unión a cobre.

La proteína CutD probablemente es una ATPasa que expulsa el exceso de cobre del interior celular. CutC es una proteína soluble de 146 aminoácidos que presenta en su extremo amino terminal un dominio de unión del cobre (Met-X<sub>2</sub>-Met-X<sub>3</sub>-Met) similar al de la ATPasa CopB de *Enterococcus hirae* (ver más adelante), por lo que se cree que funciona en la unión del cobre citoplásmico. Finalmente, las proteínas CutS y CutR regulan la expresión del operón *cut* (5). CutS y CutR pertenecen a los sistemas reguladores de dos componentes comunes en diversos organismos (ver más adelante), en los cuales la proteína sensora (CutS) responde a un estímulo externo (la concentración de cobre) con la autofosforilación de un residuo específico de histidina. Una vez fosforilada, CutS probablemente transfiere el grupo fosfato a un residuo de aspartato de la proteína transductora CutR, la cual activa la transcripción del operón.

**b) Sistema Pco de *Escherichia coli*.** Se ha clonado el determinante de resistencia a cobre *pco* a partir del plásmido pRJ1004 de una cepa de *E. coli*. El sistema está formado por siete genes que constituyen el operón *pcoABCDRSE* (6). El mecanismo de resistencia codificado por el sistema Pco consiste en la unión intracelular del cobre seguida por un aumento en la velocidad de expulsión del metal (6).

La proteína PcoD tiene segmentos transmembranales y residuos conservados de metionina e histidina localizados en la cara externa de la membrana interna, por lo que se cree que participa en el transporte de cobre (Fig 1). PcoE es una proteína periplásmica con una región señal en el extremo amino terminal similar a las secuencias de octapéptidos repetidos en PcoA y PcoB (ver más adelante). PcoC es una proteína citosólica que probablemente participa en el transporte y almacenamiento intracelular del cobre.

Se ha sugerido que las proteínas de la membrana interna, PcoA y PcoB, son ATPasas involucradas en la expulsión del cobre (Fig 1). Estas proteínas tienen un octapéptido conservado (Asp-His-



**Figura 1.** Modelo del funcionamiento del sistema Pco del plásmido pRJ1004 de *Escherichia coli*. El cobre es inicialmente captado por las porinas de la membrana externa. PcoE y PcoD son proteínas del periplasma y de la membrana interna, respectivamente, que transportan el cobre al citoplasma. PcoC participa en el almacenamiento y transporte de cobre hacia los lugares de síntesis de metaloproteínas. Finalmente, PcoA y PcoB son ATPasas responsables de la expulsión del exceso del metal. ME= membrana externa; MI= membrana interna. Adaptado de la referencia 6.

X<sub>2</sub>-Met-X<sub>2</sub>-Met) postulado como un dominio que une al cobre y presente en otras proteínas que unen el metal. Finalmente, los productos de los genes *pcoS* y *pcoR* controlan la expresión del operón *pco*. Las proteínas PcoS/PcoR pertenecen a los sistemas reguladores de dos componentes, como el mencionado CutS/CutR.

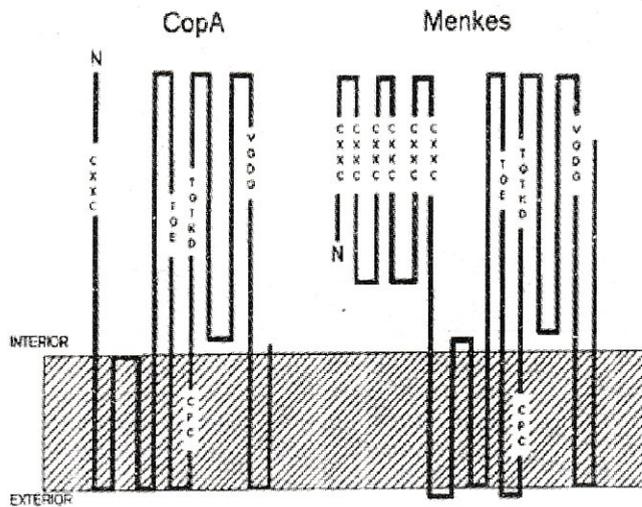
**c) Sistema Hpcop de *Helicobacter pylori*.** En el cromosoma de la bacteria Gram negativa patógena de humanos, *Helicobacter pylori*, se localizaron los marcos de lectura abiertos ORF 1 y 2 que forman parte de un operón. El ORF1 origina una ATPasa de tipo P de 611 aminoácidos denominada hpCopA, que contiene regiones conservadas típicas de las ATPasas encontradas desde bacterias hasta humanos. El ORF2 codifica para la proteína periplásmica hpCopP de 66 aminoácidos que contiene una región de unión a metales. La pareja hpCopA y hpCopB forman un sistema de expulsión de cobre en *H. pylori*.

Se han clonado determinantes *cop* de las especies *Helicobacter pylori* y *Helicobacter felis* (7). Ambos operones poseen el gen para la ATPasa CopA, que muestra similitud con las ATPasas de tipo P CadA de *Staphylococcus aureus* y CopA y CopB de *Enterococcus hirae* (ver más adelante). Todas estas ATPasas contienen una región amino terminal que une cobre. CopA tiene ocho segmentos transmembranales, además de las regiones típicas de unión del ATP y de fosforilación. Se ha concluido que la resistencia al cobre en *Helicobacter pylori* y *H. felis* ocurre por un mecanismo de expulsión dependiente de ATPasas.

**d) Sistema Cop de *Enterococcus hirae*.** Se ha descrito un mecanismo homeostático para cobre codificado en el cromosoma de la bacteria Gram positiva *Enterococcus hirae*. Este sistema depende de la actividad de dos ATPasas del tipo P, CopA y CopB, de 727 y 745 aminoácidos, respectivamente. Ambas proteínas son similares en su secuencia (35% de aminoácidos idénticos) y muestran perfiles hidropáticos muy parecidos.

La porción amino terminal de CopB contiene tres secuencias repetidas: Met-X-His-X<sub>2</sub>-Met-Ser-Gli-Met-X-His-Ser, consideradas dominios de unión del metal y presentes en otras proteínas que unen cobre. CopB contiene ocho hélices transmembranales y los extremos C y N en el citoplasma. Se ha postulado que CopA y CopB son ATPasas que llevan a cabo la captación y la expulsión del cobre, respectivamente, regulando de esta forma la concentración citoplásmica de cobre. Empleando vesículas de membrana invertidas de *Enterococcus hirae* se demostró la acumulación de cobre por CopB, confirmando que esta ATPasa funciona expulsando el metal del citoplasma (8). CopB mostró una Km aparente de 1 μM para cobre, de 10 μM para ATP y una Vmax aparente de 0.07 nmol min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> para el transporte de cobre.

CopA, a su vez, muestra similitud (43%) con la proteína humana cuya deficiencia causa el síndrome de Menkes (3) (Fig 2). CopA posee una región en el extremo amino, Gli-X-Tre-Cis-X<sub>2</sub>-Cis, que está repetida seis veces en el extremo amino de la proteína de Menkes. Esta región parece ser un sitio de unión a metales tóxicos conservado en las ATPasas de expulsión.



**Figura 2.** Comparación de las estructuras de la proteína CopA de *Enterococcus hirae* y la proteína de la enfermedad humana de Menkes. CXXC indica los sitios de unión del cobre; TGE el dominio de fosfatasa; TGTKD el dominio de aspartil cinasa; VGDG el dominio de unión del ATP, y CPC la región de transducción del ion. Adaptado de la referencia 3.

**e) Sistema Pac de *Synechococcus*.** *Synechococcus* es una cianobacteria que tiene un aparato fotosintético (tilacoide) similar al localizado en los cloroplastos. De *Synechococcus* fueron clonados dos genes que codifican para ATPasas de tipo P específicas para cobre, PacS y PacL de 747 y 926 aminoácidos, respectivamente. PacS muestra similitud con las ATPasas de procariontes, mientras que PacL es similar a las ATPasas de eucariontes. Las secuencias de aminoácidos de PacS y PacL sugieren que son proteínas integrales de la membrana, con regiones hidrofóbicas capaces de atravesarla varias veces.

PacS se encuentra localizada en la membrana tilacoidea, donde probablemente actúa como una bomba de expulsión de cobre, protegiendo al tilacoide de las concentraciones elevadas del metal (9). Este es el primer ejemplo de una ATPasa de expulsión que controla la concentración de iones en un compartimiento intracelular.

**EXPULSIÓN DE CADMIO**

El cadmio es un metal pesado usado en la industria para una gran variedad de aplicaciones. En las últimas décadas ha aumentado su uso industrial, produciéndose contaminación por este metal en el ambiente. El cadmio carece de función biológica y es altamente tóxico para bacterias y organismos su-

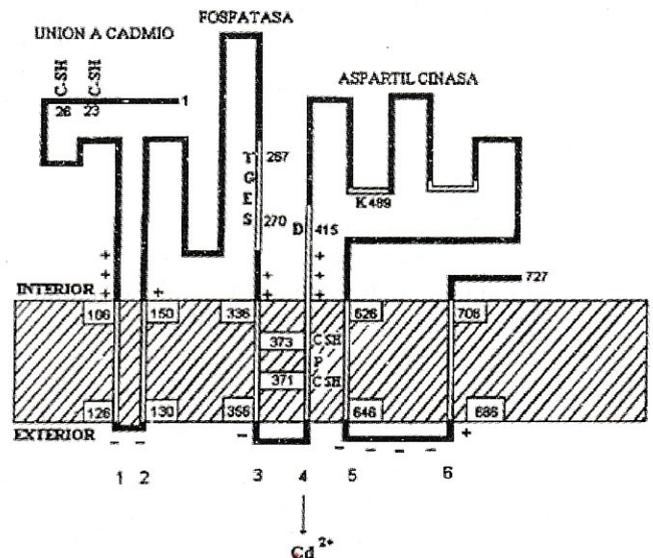
periores. El principal efecto tóxico del cadmio es la inactivación de enzimas y otras proteínas causada por su afinidad por los grupos sulfhidrilo.

**Mecanismos de expulsión de cadmio**

**a) Sistema CadA de *Staphylococcus aureus*.**

La resistencia a cadmio conferida por el plásmido pI258 de *S. aureus* se basa en la actividad de CadA, una ATPasa de 727 aminoácidos. En vesículas de membrana invertidas de *S. aureus*, CadA acumula cadmio en un proceso dependiente de ATP, lo cual es equivalente a la expulsión del catión en células intactas (10).

CadA es una ATPasa típica del tipo P; la proteína empieza con un dominio que contiene dos cisteínas (Cis-23 y Cis-26) que se postulan como sitios de unión del cadmio (Fig 3). El siguiente segmento (residuos 70-105) es muy hidrofílico y conecta el extremo amino terminal con la primera de seis regiones transmembranales que muestran similitud con ATPasas de tipo P de bacterias, animales y plantas. La siguiente región se cree que es parte de la ruta de translocación de cationes e in-



**Figura 3.** Estructura de la ATPasa CadA codificada por el plásmido pI258 de *Staphylococcus aureus*. Se muestran la región amino terminal de unión del cadmio, la cual contiene un par de cisteínas (C-SH), y las seis regiones transmembranales. En la región transmembranal 4 se encuentra el tripéptido conservado 371-Cis-Pro-Cis-373, que se cree forma parte de la ruta de translocación de cationes. También se muestran las regiones intracelulares comunes a todas las ATPasas de tipo P, incluyendo los dominios de fosfatasa y de aspartil cinasa. Adaptado de la referencia 10.

cluye el tripéptido conservado Cis-Pro-Cis. Dos regiones intracelulares, comunes a las ATPasas de tipo P, comprenden los dominios de aspartil cinasa y de fosfatasa (Fig 3). Durante el ciclo de transporte, la proteína CadA es fosforilada por ATP, probablemente en el residuo conservado Asp-415.

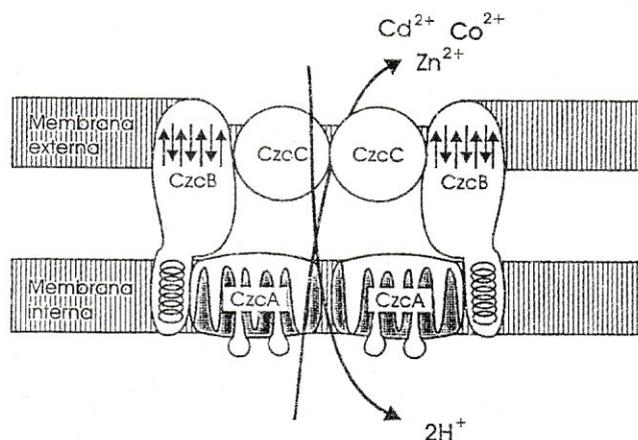
CadA tiene también similitud con la proteína de la enfermedad de Menkes (Fig 2); es interesante que esta proteína humana parece más relacionada con CadA que con ATPasas de otros organismos superiores.

**b) Sistema Czc de *Alcaligenes eutrophus*.** El operón *czc*, localizado en el plásmido pMOL30 de la bacteria Gram negativa *Alcaligenes eutrophus*, confiere resistencia a cadmio, zinc y cobalto. El operón *czc* consta de tres genes estructurales, *czcABC*, y es controlado por un sistema de dos componentes donde CzcS es la proteína sensora y CzcR es la proteína activadora del sistema (11).

Recientemente se propuso un modelo para el funcionamiento del complejo proteico CzcABC. CzcA, una proteína de 1063 aminoácidos, transporta cadmio, zinc y cobalto a través de la membrana interna como un antiportador catión-protón ( $1Me^{2+}/2H^{+}$ ). CzcB (de 520 aminoácidos) y CzcC (de 345 aminoácidos) parecen ser proteínas periplásmicas que se unen a la membrana externa y liberan los iones hacia el exterior de la célula (11) (Figura 4). Empleando vesículas de membrana invertidas se ha demostrado la expulsión de cationes por el sistema Czc, determinándose valores de Km de 225  $\mu$ M para cadmio, de 5.2 mM para cobalto, y una Vmax media para los tres cationes de 48 nmol/g de membrana por minuto. El complejo CzcABC es considerado el prototipo de una nueva familia de proteínas exportadoras quimiosmóticas de tres componentes, que incluye miembros que expulsan cationes tóxicos (como la plata, ver más adelante) o compuestos orgánicos.

## EXPULSIÓN DE PLATA

La plata es un metal muy tóxico para las bacterias, actuando principalmente como un inhibidor de la respiración. Sin embargo, poco se sabe sobre la interacción del metal con los componentes bacterianos; no se ha identificado, por ejemplo, la vía de captación celular de la plata.



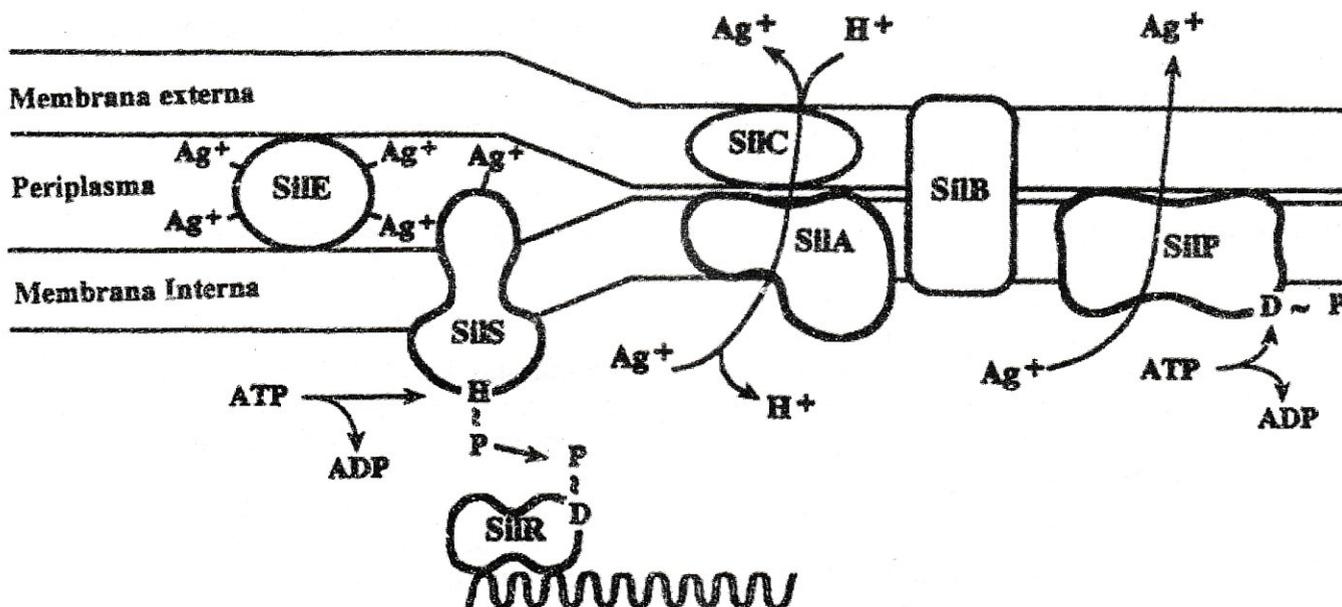
**Figura 4.** Modelo del funcionamiento del sistema Czc codificado por el plásmido pMOL30 de *Alcaligenes eutrophus*. CzcA transporta los cationes divalentes a través de la membrana interna en intercambio por protones; CzcB conduce los cationes a través del espacio periplásmico, mientras que CzcC, en la membrana externa, libera los cationes hacia el espacio extracelular. Adaptado de la referencia 11.

## Mecanismos de expulsión de plata

**a) Sistema Sil de *Salmonella*.** Recientemente se ha estudiado un determinante de resistencia a plata en el plásmido pMG101 de *Salmonella typhimurium*. De este plásmido se clonó un fragmento que posee el operón de siete genes, *silESRABCP*, involucrados en la resistencia al metal (12).

El gen *silE* codifica para una proteína periplásmica cuya función parece ser la unión de la plata (Fig 5). SilE muestra 47% de aminoácidos idénticos con la proteína PcoE del determinante de resistencia a cobre de *E. coli*. En seguida de *silE* se encuentran los genes *silS* y *silR* que codifican para un sistema regulador de dos componentes; SilS parece ser una proteína cinasa de la membrana que funciona como un sensor del metal, y SilR una proteína activadora (12) (Fig 5).

Contiguos a *silSR* se encuentran los genes que codifican para las proteínas SilA, SilB y SilC. SilA es una proteína de la membrana interna que, mediante SilB, una proteína que une a la membrana interna con la externa, se une con SilC, presente en la membrana externa (Fig 5). La función del complejo de las proteínas SilABC parece ser la de un antiportador quimiosmótico  $Ag^{+}/H^{+}$ , análogo al determinante Czc de resistencia a cadmio, zinc y cobalto de *Alcaligenes* (Fig 4).



**Figura 5.** Modelo del sistema Sil de resistencia a plata del plásmido pMG101 de *Salmonella typhimurium*. SiIE es una proteína periplásmica que une a los iones  $\text{Ag}^+$  y los presenta a SiIS, proteína cinasa encargada de transducir la señal fosforilando, a expensas del ATP, a SiIR, proteína que activa la transcripción del operón (línea ondulada). El complejo SiIABC está formado por proteínas de la membrana que actúan expulsando  $\text{Ag}^+$  por un mecanismo quimiosmótico antiportador que capta protones. Finalmente, SiIP es una ATPasa de tipo P que expulsa iones  $\text{Ag}^+$ ; se muestra el residuo de aspartato (D) que es fosforilado. Adaptado de la referencia 12.

El producto del último gen, *silP*, corresponde a una ATPasa de tipo P. SiIP probablemente actúa como una bomba de expulsión de  $\text{Ag}^+$  que coadyuva a la bomba SiIABC en la eliminación del catión del citoplasma (Fig 5).

#### b) Otros mecanismos de expulsión de plata.

En cepas de *Enterococcus hirae* resistentes a cobre se observó la expulsión simultánea de cobre y de plata mediada por la antes mencionada ATPasa tipo P, CopB. Se ha sugerido que el sustrato natural de la ATPasa es el cobre, mientras que la plata es expulsada en forma inespecífica por la bomba. Una situación similar ocurre con la ATPasa también citada, PacS, de *Synechococcus*, cuya expresión responde no sólo a cobre (tal vez el sustrato fisiológico) sino también a iones de plata.

### EXPULSIÓN DE OTROS METALES

#### Mecanismos de expulsión de cobalto, zinc y níquel.

Aunque los metales cobalto, zinc y níquel son considerados micronutrientes esenciales para todos los organismos, su toxicidad para las bacterias ha sido ampliamente reconocida cuando estos metales se encuentran en concentraciones que exceden los niveles requeridos. Así, como ocurre con el

cobre, las bacterias deben poseer sistemas de captación y de expulsión para estos cationes que les permitan evitar sus efectos nocivos sin impedir su utilización como componentes metabólicos.

Como se mencionó antes, el operón *czc* del plásmido pMOL30 de *Alcaligenes eutrophus* confiere resistencia, además de cadmio, a zinc y cobalto (Fig 4). El mecanismo de tolerancia a estos metales se basa también en su expulsión por un sistema antiportador catión/protón ( $1\text{Me}^{2+}/2\text{H}^+$ ) (11).

En el plásmido pMOL28 de *Alcaligenes eutrophus* se identificó el determinante *cnr* que codifica la resistencia a cobalto y níquel (13). El operón *cnr* muestra similitud con el sistema *czc* antes descrito. Los genes homólogos de estos operones se encuentran en el mismo orden y, de acuerdo con el análisis de las secuencias, codifican para proteínas de tamaño parecido. La proteína más grande, CnrA, muestra 46% de aminoácidos idénticos con CzcA. Las semejanzas entre ambos sistemas sugieren que Cnr funciona también expulsando cationes divalentes mediante un mecanismo antiportador que intercambia protones (13).

En una mutante de *Escherichia coli*, hipersensible a zinc y a cadmio, se caracterizó el gen *zntA* que codifica para una ATPasa de tipo P de 732 aminoácidos, que muestra 35% de residuos idénticos con la ATPasa CadA descrita antes. Las vesículas de membrana invertidas obtenidas de la mutante, acumulan zinc y cadmio utilizando ATP como fuente de energía, confirmando que *zntA* codifica para una ATPasa dependiente de zinc. El transporte del metal presentó una cinética de saturación con una Km aparente de 9µM de zinc. Se ha propuesto que la ATPasa ZntA tiene un papel dual: por una parte confiere resistencia al metal tóxico cadmio y por otra se encuentra involucrada en la homeostasis del metal esencial zinc (14).

### Mecanismo de expulsión de plomo

El plomo es un metal tóxico sin función biológica conocida que con frecuencia aparece como un contaminante ambiental. Aunque se ha informado de la resistencia bacteriana a plomo, en algunos casos asociada con la presencia de plásmidos, el mecanismo de tolerancia al metal no se conoce. Recientemente se informó que los sistemas antes descritos CadA de *S. aureus* y ZntA de *E. coli*, ambos relacionados con ATPasas de tipo P, además de generar tolerancia a cadmio y a zinc, confieren también resistencia a plomo (15). Más aún, en vesículas de membrana invertidas que contienen CadA o ZntA, el transporte de zinc es inhibido de manera competitiva por el plomo. El transporte

de zinc se inhibió por cadmio y plomo con valores de Ki similares a la Km para zinc (2-4 µM) (15). De estos resultados se ha concluido que estos sistemas son también responsables de la expulsión de plomo.

### CONSIDERACIONES FINALES

El análisis de los distintos sistemas microbianos de tolerancia a metales pesados ha mostrado la gran diversidad que presentan los microorganismos en sus respuestas de defensa ante los iones metálicos tóxicos. Así, en el caso de las bacterias, se han descrito tres mecanismos generales de resistencia a metales que involucran: i) la captación intra o extracelular de los iones por variados componentes estructurales, ii) las transformaciones redox que generan especies químicas menos tóxicas y, iii) los sistemas de expulsión de la membrana que mantienen en niveles bajos las concentraciones citoplásmicas de los iones nocivos (16). Como se muestra en este trabajo, en la última década, en gran parte por la aplicación de las herramientas de la genética molecular, se han dilucidado con detalle varios mecanismos de expulsión de metales tóxicos en diversas especies bacterianas (Tabla I). Como ocurre con otros sistemas adaptativos en las bacterias, los genes que codifican los sistemas de expulsión se localizan con frecuencia en plásmidos; sin embargo, el cromosoma bacteriano alberga también determinantes genéticos responsables de estos mecanismos de expulsión (Tabla I). La

TABLA I

#### EXPULSIÓN BACTERIANA DE METALES TÓXICOS

ESPECIE BACTERIANA	SISTEMA (LOCALIZACIÓN) <sup>a</sup>	METALES EXPULSADOS	MECANISMO DE EXPULSIÓN
<i>Escherichia coli</i>	Cut (C)	Cu	ATPasa?
<i>E. coli</i>	Pco (P)	Cu	ATPasa?
<i>Helicobacter pylori</i>	Hpcop (C)	Cu	ATPasa P
<i>Enterococcus hirae</i>	Cop (C)	Cu (Ag)	ATPasa P
<i>Synechococcus</i> sp.	Pac (C)	Cu (Ag)	ATPasa P
<i>Staphylococcus aureus</i>	CadA (P)	Cd (Pb)	ATPasa P
<i>Alcaligenes eutrophus</i>	Czc (P)	Cd, Zn, Co	Intercambiador/H <sup>+</sup>
<i>E. coli</i>	ZntA (C)	Zn, Cd (Pb)	ATPasa P
<i>A. eutrophus</i>	Cnr (P)	Co, Ni	Intercambiador/H <sup>+</sup>
<i>Salmonella typhimurium</i>	Sil (P)	Ag	Intercambiador/H <sup>+</sup> y ATPasa-P

<sup>a</sup> C, cromosómico; P, plasmídico.

reciente dilucidación de las secuencias nucleotídicas de los genomas completos de varios microorganismos ha revelado que los sistemas de expulsión de metales tóxicos se encuentran presentes en todas las especies bacterianas analizadas. Esta amplia distribución de los sistemas de expulsión confirma que éstos funcionan eficazmente como mecanismos de resistencia, los cuales probablemente se han seleccionado y conservado en respuesta a situaciones de contaminación ambiental causadas por los metales pesados (16).

### AGRADECIMIENTOS

El trabajo del autor fue apoyado por la Coordinación de la Investigación Científica, UMNSH.

### REFERENCIAS

1. Silver S y Phung LT (1996) Bacterial heavy metal resistance: new surprises. *Annu Rev Microbiol* 50:753-789.
2. Solioz MA, Odermatt A y Krapf R (1994) Copper pumping ATPases: common concepts in bacteria and man. *FEBS Lett* 346:44-47.
3. Silver S, Nucifora G y Phung LT (1993) Human Menkes X-chromosome disease and the Staphylococcal cadmium-resistance ATPase: a remarkable similarity in protein sequences. *Mol Microbiol* 10:7-12.
4. Cervantes C y Gutiérrez-Corona F (1994) Copper resistance mechanisms in bacteria and fungi. *FEMS Microbiol Rev* 14:121-138.
5. Brown NL, Lee BTO y Silver S (1994) Bacterial transport and resistance to copper. En: *Metal Ions in Biological Systems*. Editores: Sigel H y Sigel A. Marcel Dekker, Nueva York. pp 405-435.
6. Brown NL, Barret SR, Camakaris J, Lee BTO y Rouch DA (1995) Molecular genetics and transport analysis of the copper-resistance determinant (*pco*) from *Escherichia coli* plasmid pRJ1004. *Mol Microbiol* 17:1153-1166.
7. Bayle D, Wangler S, Weitzenegger T, Steinhilber W, Volz J, Przybylsk M, Schafer KP, Sachs G y Melchers K (1998) Properties of the P-type ATPases encoded by the *copAP* operons of *Helicobacter pylori* and *Helicobacter felis*. *J Bacteriol* 180:317-329.
8. Solioz M y Odermatt A (1995) Copper and silver transport by CopB-ATPase in membrane vesicles of *Enterococcus hirae*. *J Biol Chem* 270:9217-9221.
9. Kanamaru K, Kashiwagi S y Mizuno T (1994) A copper-transporting P-type ATPase found in the thylakoid membrane of the cyanobacterium *Synechococcus* species PCC7942. *Mol Microbiol* 13:369-377.
10. Nucifora G, Chu L y Silver S (1989) Cadmium resistance from *Staphylococcus aureus* plasmid p1258 *cadA* gene results from a cadmium-efflux ATPase. *Proc Natl Acad Sci USA* 86:3544-3548.
11. Nies DH (1995) The cobalt, zinc, and cadmium efflux system CzcABC from *Alcaligenes eutrophus* functions as a cation-proton antiporter in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 177:2707-2712.
12. Gupta A, Matsui K, Lo J-F y Silver S (1999) Molecular basis for resistance to silver cations in *Salmonella*. *Nature Med* 5:183-188.
13. Liesegang H, Lemke K, Siddiqui R y Schlegel HG (1993) Characterization of the inducible nickel and cobalt resistance determinant *cnr* from pMOL28 of *Alcaligenes eutrophus* CH34. *J Bacteriol* 175:767-778.
14. Rensing C, Mitra B y Rosen BP (1997) The *zntA* gene of *Escherichia coli* encodes a Zn(II)-translocating P-type ATPase. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:14326-14331.
15. Rensing C, Sun Y, Mitra B y Rosen BP (1998) Pb-translocating P-type ATPases. *J Biol Chem* 273:32614-32617.
16. Cervantes C (1999) Resistencia bacteriana a los metales pesados. En: *Contaminación Ambiental por Metales Pesados. Impacto en los Seres Vivos*. Editores: Cervantes C y Moreno-Sánchez R. AGT Editor SA. México DF. pp 41-59.

# LAS ACTINAS Y SU ESTUDIO EN PARÁSITOS

Olivia A Reynoso-Ducoing, Mayra Y Cruz-Rivera, Javier Ambrosio y Ana Flisser. Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, 04510, México D.F. Correo electrónico: oard@servidor.unam.mx

## RESUMEN

Las actinas son proteínas importantes en la estructura y función del citoesqueleto celular. Evolutivamente se han conservado, aunque presentan una ligera e importante variación en la composición de los 10 primeros aminoácidos de la región amino terminal de la proteína. Esta variabilidad permite que las actinas interactúen de forma específica con otras proteínas accesorias tales como la miosina. En este trabajo se presenta una revisión de los conocimientos sobre la actina, con énfasis en la de parásitos.

**PALABRAS CLAVE:** Actina, citoesqueleto, miosina, parásitos

## ABSTRACT

Actins are important proteins for the structure and function of the cytoskeleton. They have been conserved during evolution, although with a slight, rather important, variation in the composition of the first 10 amino acids in the amino terminal region of the protein. This variability allows the specific interaction of actins with other accessory proteins such as myosin. In this paper we review the knowledge regarding actin, emphasizing that of parasites.

**KEY WORDS:** Actin, cytoskeleton, myosin, parasites

## CITOESQUELETO

En el contexto actual de la biología se concibe al citoplasma celular como una entidad que contiene dos fases: una proteica y otra acuosa. La primera forma la estructura del citoesqueleto constituida por microtúbulos, microfilamentos de actina, filamentos intermedios y proteínas del sistema microtrabecular que recubren a los otros componentes del citoesqueleto, a los organelos y forman la corteza celular (1).

Desde 1970 se admite la existencia de un citoesqueleto dinámico, aunque en la literatura del si-

glo pasado ya se encuentra el concepto de Sustancia Fundamental Celular (SFC), no fue sino hasta que se empleó la microscopía de alto voltaje, que se tuvo la oportunidad de conocer la estructura y características de la SFC o citoesqueleto, que es una compleja red tridimensional de filamentos y de proteínas asociadas.

Una de las funciones del citoesqueleto es la de dar sostén a los polirribosomas libres en los vértices de la red, lo que permite la organización inmediata de las proteínas recién sintetizadas que forman cadenas enzimáticas como la de la glucólisis o bien la estructuración de los microtúbulos, microfilamentos y filamentos intermedios, así como la restitución y distribución propia de la red (2). El citoesqueleto mantiene la estructura y organización de la célula, le permite tener movimientos de reajuste y transporte intra y extracelular de acuerdo con el estado morfofisiológico de la misma, así como realizar los movimientos a nivel muscular por interacción de los microfilamentos de actina con miosina o bien de deslizamiento celular a través del sustrato por polimerización y depolimerización en momentos y microambientes específicos de la célula, como se observa en las imágenes en video del citoesqueleto mostradas en Internet: <http://nessie.bch.ed.ac.uk/PAUL/ACTIN/> y/o <http://borisy.bocklabs.wisc.edu/>.

Cada una de las fibras que componen este sistema son polímeros constituidos por subunidades proteicas pequeñas unidas por enlaces de tipo no covalente, un ejemplo es la actina filamentosa o polimerizada, llamada actina F cuyas unidades se llaman actina globular o actina G (1).

## EL CITOESQUELETO DE LOS PARÁSITOS

Es posible que el citoesqueleto de las células de los parásitos, así como el que forma parte directa de los mismos, esté estructurado y funcione de forma semejante al de las células de los organismos superiores, porque en algunos casos se ha demos-

trado que tienen gran parecido. El citoesqueleto le permite a los parásitos unicelulares resolver necesidades de colonización y sobrevivencia dentro de sus huéspedes. Por ejemplo, *Entamoeba histolytica* y *Acanthamoeba castellani* presentan una membrana celular muy dinámica con un continuo intercambio de sustancias y formación de pseudópodos. En otros protozoarios como *Cryptosporidium parvum*, *Plasmodium berghei* y *Toxoplasma gondii*, el citoesqueleto presenta una organización que forma un complejo apical que favorece la orientación del parásito, así como su interacción y penetración en el huésped.

De igual forma que en los protozoarios, las células de los céstodos y la constitución de los mismos, posiblemente presentan una estructura estrechamente relacionada con la adaptación y estabilidad frente al medio que el huésped les presenta, que además debe ser lo suficientemente plástica para que puedan alcanzar con éxito las diferentes etapas de desarrollo de estos organismos multicelulares. Adicionalmente, para la adaptación de los parásitos céstodos y su desarrollo, podría requerirse una determinada constitución tanto del citoesqueleto celular como la del parásito completo, para lo cual la estructuración de su musculatura debe ser muy importante. Se sabe que de seis genes para actina identificados en *Diphyllobotrium dendriticum*, tres de ellos codifican para actina muscular, otros dos genes codifican para actina citoplásmica, que interviene en procesos de división, migración y diferenciación celular y el último gen codifica para la actina del tegumento celular (3). En el caso de *Taenia solium*, el citoesqueleto y la musculatura de los cisticercos probablemente tienen una estructura diferente a la del adulto, como lo sugiere la distribución de miosina (4).

### INTERACCIÓN ACTINA-MIOSINA

De manera general, las células musculares estriadas típicas de mamíferos son cilíndricas, de 1 a 40 mm de longitud y de 10 a 50  $\mu\text{m}$  de ancho, contienen aproximadamente 100 núcleos y están constituidas por unidades de filamentos de actina F y miosina denominados sarcómeros, que se repiten a lo largo de las células (1). La contracción de células musculares y no musculares depende principalmente de la miosina, cuyas variantes se agrupan en 13 familias diferentes. De estas miosinas,

las tipo II son los motores del movimiento muscular, son diméricas de alto peso molecular (440 kDa), constituidas por dos monómeros o cadenas pesadas homólogas y de las que cada una presenta una región globular y otra filamentosa, estos monómeros tienen la capacidad de ensamblarse espontáneamente en filamentos e interactuar con la forma filamentosa de la actina, lo que favorece e incrementa la actividad enzimática de ATPasa de miosina y por lo tanto, la contracción muscular. La región globular de miosina tiene un sitio de interacción con actina F, así como un sitio catalítico de ATP. Se sabe que la miosina hidroliza una molécula de ATP en aproximadamente 30 segundos; sin embargo, su interacción con actina F favorece e incrementa sustancialmente esta actividad y cada sitio catalítico es capaz de hidrolizar de 5 a 10 moléculas de ATP por segundo (1). Las cadenas ligeras situadas en la región globular de la miosina regulan las propiedades de unión a actina así como su actividad enzimática. No obstante, también se sabe que la eficiencia de la interacción actina-miosina está dada por las características del extremo amino terminal de la actina, y es de vital importancia el grado de negatividad que este presenta, ya que entre más negativa sea esta región es más eficiente la activación de la miosina (5).

### CARACTERÍSTICAS Y CLASIFICACIÓN DE LAS ACTINAS

Las actinas son proteínas estructurales muy conservadas presentes en todos los eucariotes. Por lo general son codificadas por varios genes, lo que favorece que se produzcan diferentes formas de actina, denominadas isoformas. En la mayoría de las células, las moléculas de actina pueden ser modificadas después de su traducción, principalmente por acetilación del residuo amino terminal y/o metilación de una de sus histidinas. Todas las isoformas presentan semejanzas en sus propiedades físicas y químicas, las que se conservan a lo largo de la evolución, como el sitio de unión específico con el ATP y la conformación tridimensional que les permite interactuar con proteínas que se asocian a ellas (5, 6). La presencia de los sitios de interacción entre los monómeros de actina G favorece el ensamblaje de los monómeros para formar los filamentos de actina F. Los monómeros de actina G son de 43-45 kDa y los filamentos de actina F de 2,500 kDa de peso molecular.

Los filamentos de actina miden aproximadamente 8 nm de diámetro, son flexibles y en conjunto forman una densa red tridimensional o haces de fibras que tiene una estrecha interacción con la membrana celular. El estado monomérico es favorecido tanto *in vitro* como *in vivo* por fuerzas iónicas débiles y está constituido por una cadena polipeptídica sencilla que puede variar de 375 a 427 aminoácidos según la especie. En la primera, los aminoácidos ácidos de la porción amino terminal generan un punto isoeléctrico cercano a un pH de 5.5, mientras que en las de mayor peso molecular, la presencia de residuos básicos eleva el punto isoeléctrico a valores cercanos a 6.7 (7). Cada monómero presenta dos dominios globulares separados por una cavidad, donde se lleva a cabo la hidrólisis de ATP en presencia de calcio o magnesio. Cada monómero de actina G tiene dos sitios de unión a otros dos monómeros, los que al unirse a su vez a otros monómeros forman un filamento helicoidal o actina F que puede alcanzar varios micrometros de longitud (6).

La primera clasificación de las actinas tuvo como fundamento el tipo de tejido del cual se extrae la actina, es decir, si proviene de un tejido muscular o no muscular. La actina de músculo esquelético se caracterizó como la forma más ácida de estas proteínas y se le denominó  $\alpha$ -actina. La actina no muscular, presente en el citoplasma celular de los demás tipos celulares, es más básica y se le denominó actina  $\beta$  y/o  $\gamma$ . En la actualidad, esta clasificación ya no tiene vigencia porque se ha encontrado que algunas actinas purificadas de tejidos musculares o no musculares no corresponden a las características indicadas para dicho tejido, pero a pesar de esto la mayoría de los protocolos de purificación aún siguen esta clasificación (8).

A pesar de la semejanza molecular entre estas proteínas, existe variabilidad entre ellas por lo que se han clasificado recientemente por su secuencia primaria de aminoácidos y específicamente por los diez primeros aminoácidos de la porción amino terminal. Esta clasificación es la vigente. Como se mencionó, las actinas interaccionan de forma específica con otras proteínas, como la miosina. Probablemente, por cada variante de actina hay un tipo específico de miosina que permite que su actividad sea más eficiente y determina diferentes fun-

ciones. De esta manera se ha propuesto que el potencial de contracción muscular está asociado a la  $\alpha$ -actina, y que en el desplazamiento celular de un sitio a otro participa la  $\beta$ -actina, mientras que el reacomodo del citoesqueleto para mantenimiento de la forma de la célula depende de la  $\gamma$ -actina (7).

### ACTINA DE TÉNIDOS

En *Diphyllobotrium dendriticum* los resultados de identificación, secuenciación e hibridización *in situ* muestran que en este parásito céstodo existen 6 genes diferentes, coexpresados al mismo tiempo en células de diferentes regiones del parásito, los cuales podrían ser necesarios en diferentes etapas del ciclo de vida o en los procesos de división, diferenciación y migración celular. Algunos de estos genes tienen secuencias de bases altamente homólogas a la actina de mamíferos (3). En *T. solium* únicamente se han identificado, aislado y secuenciado dos genes que codifican para actina y se denominaron PAT 5 y PAT 6 (9). El análisis comparativo de las bases de estos genes muestra alta homología con algunos de los reportados para *D. dendriticum*, por lo que podrían tener funciones similares.

### PERSPECTIVAS

Aunque las actinas son proteínas ampliamente estudiadas en múltiples organismos, y en general, tienen gran semejanza entre sí, es necesario caracterizarlas en aquellos en los que no han sido descritas. Esto se debe a que, por un lado, mediante tecnologías modernas, como la microscopía de fluorescencia confocal, es posible determinar con mayor precisión su distribución en el citoesqueleto. Por otro lado, en el caso de parásitos, los estudios relacionados con actina son escasos y su importancia reside en que el conocimiento de la morfofisiología de ésta, y de otras proteínas del citoesqueleto, permitirá seguramente obtener información sobre la relación huésped-parásito.

### REFERENCIAS

1. Darnell J, Lodish H, Baltimore D, Berk A, Matsudaira P y Zipursky L (1996) En: Molecular Cell Biology. Scientific American Books, New York, NY, USA, pp 991-1050.
2. Porter K R y Tucker J B (1981) The ground substance of the living cell. *Sci Amer* 244: 56-67.

3. Wahlberg M H (1997) Three main patterns in the expression of six actin genes in the plerocercoid and adult *Diphyllobothrium dendriticum* tapeworm (Cestoda). *Mol Biochem Parasitol* 86: 199-209.
4. Ambrosio J, Cruz-Rivera M Y, Allan J, Morán E, Ersfeld K y Flisser A (1997) Identification and partial characterization of a myosin-like protein from cysticerci and adults of *Taenia solium* using a monoclonal antibody. *Parasitology* 114: 545-553.
5. Bray D (1992) Cell movements. Garland Publishing, New York and London, p 406.
6. Scheterline P y Sparrow J C (1994) En: Protein profile actin. Academic Press Limited, Great Britain, pp 1- 5.
7. Herman I M (1993) Actin isoforms. *Curr Opin Cell Biol* 5: 48-55.
8. Uyemura D G y Spudich J A (1980) Biochemistry and regulation of nonmuscle actins. En: Biological regulation and development. Editor: Goldberger R F. Plenum Publishing Corporation, pp 317- 338.
9. Campos A, Bernard P, Fauconnier A, Landa A, Gómez E, Hernández R, Willms K y Laclette J P (1990) Cloning and sequencing of two genes from *Taenia solium* (Cestoda). *Mol Biochem Parasitol* 40: 87-94.

# QUÍMICA ORGÁNICA: UN ENFOQUE BIOMÉDICO

Tomás Alberto Díez-González. Departamento de Bioquímica y Nutrición, Universidad de Panamá; Facultad de Ciencias Médicas y de la Salud, Universidad Latina, Apartado Postal 87-2881, Panamá.

## RESUMEN

Se discute el contenido general del curso de química orgánica biológica ofrecido para estudiantes de Medicina de la Facultad de Ciencias Médicas y de la Salud de la Universidad Latina de Panamá. Los aspectos más relevantes del curso, a saber, clases de reacciones biológicas, conceptos teóricos, intermediarios de reacciones y algunos tópicos especiales, se analizan y se relacionan con procesos normales y patológicos de nuestro organismo. Mediante esta estrategia de correlación se pretende aumentar el grado de motivación en el estudiante, mejorar el rendimiento académico y, a la vez, discutir tópicos que sean de utilidad para los cursos pre-clínicos y clínicos de la carrera de medicina y otras ciencias biomédicas.

**PALABRAS CLAVE:** Química orgánica, ciencias biomédicas, reacciones biológicas, intermediarios de reacción, mecanismos de reacciones

## ABSTRACT

The general content of the Biological Organic Chemistry course offered at the Facultad de Ciencias Médicas y de la Salud, Universidad Latina de Panamá, for medical students is discussed. The most relevant issues of the course such as biological reaction types, theoretical concepts, reaction intermediates, and some special topics are analyzed and, at the same time, related to normal and pathological processes of the body. Through this strategy of correlation, several goals are intended: to enhance the student's motivation, to improve the academic performance, and to discuss useful organic chemical topics for pre-clinical and clinical courses.

**KEY WORDS:** Organic chemistry, biomedical sciences, biological reactions, reaction intermediates, reaction mechanisms

## INTRODUCCIÓN

Es completamente innegable el papel central que juega la química orgánica en la enseñanza de la

bioquímica. Sin embargo, el reino de la química orgánica es tan vasto que cualquier especialista podría perderse en áreas que, si bien son importantes en esta disciplina, probablemente no tengan mayor aplicación para otra en particular que utiliza sus principios. Esta situación es comprensible, incluyendo las demás ciencias, puesto que cada cual es especialista en su propio campo. Sin embargo, también considero que, con un poco de dedicación y voluntad académica, cualquier especialista de cualquier área puede llegar a desarrollar un curso que mantenga al estudiante motivado, mediante la utilización de ejemplos apropiados. Creo que todo docente conoce, ya sea por percepción propia o por formación pedagógica, que el éxito de un curso se debe en gran medida al grado de motivación que podamos mantener durante el desarrollo del mismo.

La enseñanza de la química orgánica en una facultad de medicina es un ejemplo típico que se enmarca dentro de las consideraciones antes expuestas. Es realmente difícil, y a veces frustrante, convencer a un estudiante de medicina de la importancia que tiene esta materia en su carrera. Las ideas que a continuación someto a la crítica de aquellos docentes involucrados en esta noble labor, son el resultado de experiencias ganadas como profesor de química orgánica en la facultad de ciencias médicas y de la salud de la Universidad Latina, en Panamá.

## CONSIDERACIONES GENERALES SOBRE EL CONTENIDO DEL CURSO OBJETIVOS GENERALES

El curso de química orgánica biológica consta de 5 sesiones teóricas de 45 minutos y una sesión experimental de 2 horas y 15 minutos a la semana, durante 16 semanas. La estrategia del curso es la de utilizar ejemplos biológicos que motiven al estudiante hacia el estudio de procesos químicos naturales. Es decir, enseñar una química orgánica de tal manera que cada reacción química tenga una "historia biológica". Al inicio del curso se condi-

ciona al estudiante para que correlacione el conocimiento adquirido con un sistema biológico (célula, por ejemplo) y no con un balón de reacción o un tubo de ensayo. Así, este curso tiene los siguientes objetivos generales:

1. Familiarizar al estudiante con la estructura de los principales grupos funcionales encontrados en compuestos orgánicos naturales.
2. Relacionar algunas constantes físicas con el comportamiento físico de moléculas biológicas.
3. Analizar las reacciones más importantes que ocurren entre los diversos grupos funcionales.
4. Familiarizar al estudiante con la estructura de algunas especies químicas propuestas como intermediarios de reacciones.
5. Analizar algunos mecanismos de reacciones importantes en sistemas biológicos.
6. Relacionar algunos conceptos de química orgánica con procesos que ocurren en sistemas biológicos.

Estos objetivos generales tienen el propósito de que el estudiante se forme una idea del alcance de este curso y, por supuesto, lo que se espera de ellos a largo plazo.

El contenido del curso está basado en las siguientes áreas fundamentales de la química, cuyo estudio es absolutamente esencial para estudiantes que han de llevar un curso de bioquímica: catalizadores orgánicos y biológicos y cofactores, reacciones biológicas, conceptos teóricos e intermediarios de reacciones. Como complemento, se discuten algunos tópicos especiales que tienen el objetivo de familiarizar al estudiante con procesos biológicos.

### **CATALIZADORES ORGÁNICOS Y BIOLÓGICOS Y COFACTORES (4,5)**

Este curso se inicia con la discusión de las ventajas que presentan los catalizadores biológicos sobre los orgánicos, tales como la especificidad y la ausencia de productos secundarios, entre otros. Sin embargo, los catalizadores inorgánicos son utilizados durante la discusión de los diferentes mecanismos de reacciones. Se discute también la necesidad que presentan la mayoría de los

catalizadores biológicos de la participación de ciertas moléculas accesorias, como por ejemplo los cofactores de oxidación-reducción en reacciones en las cuales hay transferencia de equivalentes reductores. Para efectos de estequiometría, se emplea el símbolo CoEox para el cofactor oxidado y CoEH o CoEH<sub>2</sub> para el cofactor reducido, según sea el caso, en reacciones de transferencia de 2 electrones.

### **REACCIONES BIOLÓGICAS (1,3-5)**

La mayoría de las transformaciones que se llevan a cabo sobre biomoléculas pueden ser clasificadas en unas cuantas clases de reacciones. Esto es particularmente favorable para los estudiantes ya que el análisis de la reactividad de los diferentes grupos funcionales se ve reducido a unos cuantos mecanismos de reacciones.

Las reacciones que se discuten o analizan son de origen biológico. No es mi intención en este artículo presentar cada reacción bioorgánica discutida en clases. Sólo he seleccionado algunos ejemplos representativos de cada grupo funcional para destacar su importancia biológica. Sin embargo, algunas veces utilizo reacciones modelos no pertenecientes a sistemas biológicos, pero que son más adecuados para ilustrar determinado mecanismo de reacción.

Las reacciones se han clasificado en 6 grupos que corresponden a las 6 clases de reacciones que son catalizadas por los agentes biológicos y se presentan en la Tabla I. El conocimiento y la comprensión de los mecanismos generales de reacciones nos permite analizar las funciones de estos catalizadores en organismos vivos.

Es importante aclarar que estas reacciones son discutidas a medida que se estudian los diferentes grupos funcionales.

Cada reacción tiene una correlación bioquímica. Por ejemplo, la descarboxilación no oxidativa discutida como una reacción de eliminación y de generación de alcanos se correlaciona con la descarboxilación espontánea del acetoacetato a acetona en individuos diabéticos no compensados (Tabla IV). Cuando hablamos de alcanos nos referimos a una región molecular hidrocarbonada presente en



cualquier biomolécula; esto es, un grupo alquilo o cicloalquilo. Obviamente, esta región hidrocarbonada va a sufrir las mismas reacciones que se llevan a cabo en alcanos como tales. Hacemos este comentario porque, a no ser por algunos xenobióticos que ingresan a nuestro organismo, los alcanos no son metabolitos celulares comunes.

### CONCEPTOS (1-5)

Tal como se observa en la Tabla II, los conceptos y el análisis de ciertas constantes y propiedades físicas necesarias para comprender el comportamiento físico y químico de biomoléculas se han relacionado con ciertas moléculas o reacciones modelos. La tercera columna de la misma tabla ilustra, además, la correlación conceptual bioquímica. Nuevamente, la idea es utilizar al máximo moléculas de interés biológico en las discusiones, de tal manera que el estudiante no se enfrente a la dificultad de extrapolar estos conceptos cuando se utilizan

otros modelos de química orgánica pura. Se puede argumentar que los conceptos son los mismos; ciertamente lo son, pero mientras más biológico sea el ejemplo, mejor serán las condiciones de enseñanza-aprendizaje.

Tomemos como ejemplo la molécula de trifosfato de adenosina, ATP (una verdadera "molécula escuela"). Esta molécula tiene varias características electrónicas que aprovechamos para analizar los conceptos de basicidad, ataque nucleofílico, centro electrofílico, densidad de carga, activación biológica, grupo saliente y tautomerismo. Un estudiante de ciencias biomédicas no tendrá ninguna dificultad en cursos superiores para entender el papel del ATP en los sistemas biológicos, por lo que no existe la necesidad de explicar nuevamente las propiedades de esta molécula en un curso de Bioquímica. Sencillamente, el camino ya ha sido allanado en un curso de química orgánica biológica.

TABLA II

CONCEPTOS Y PROPIEDADES FÍSICAS RELACIONADAS CON LA ESTRUCTURA Y REACTIVIDAD DE BIOMOLÉCULAS

CONCEPTO O CONSTANTE FÍSICA	MOLÉCULA O REACCIÓN MODELO	CORRELACIÓN BIOQUÍMICA
Solubilidad	Todos los grupos funcionales	Hidrofilia e hidrofobia
Punto de ebullición	Todos los grupos funcionales	Interacciones intermoleculares
Conformación, tensión torsional, repulsión estérica	Etano, butano, ciclohexano	Conformación proteica
Configuración, centro quiral	Gliceraldehído	Especificidad enzimática
isomería óptica		
Energía de activación, complejo de transición	Halogenación de alcanos	Catálisis enzimática
Transposición de grupo	Deshidratación de alcoholes	Biosíntesis de colesterol
Resonancia	Radical o catión alílico	Estabilidad de intermediarios de reacciones
Isomería geométrica	Alquenos	Fluidez de membranas
Tautomerismo	Hidratación de alquinos	Comportamiento del ácido úrico
Aromaticidad	Benceno	Aromaticidad de compuestos no bencenoides
Nucleófilo, electrófilo, ataque nucleofílico	ATP	Activación y reactividad
Molécula anfipática	Fosfolípidos	Emulsificación, membranas biológicas
Basicidad, grupo saliente	Alcoholes, bicarbonato, ácidos carboxílicos	Activación y potencial de reactividad
Tensión angular	Epóxidos	Detoxificación vs. Cáncer
Acidez, pKa	Acidos carboxílicos	Acidosis metabólica
Trampa de electrones	Sal de base de Schiff	Estabilización de carbanión

**INTERMEDIARIOS DE REACCIONES (2,3,5)**

Toda reacción química involucra la ruptura y formación de un enlace químico. La ruptura de un enlace químico genera especies intermediarias, dependiendo de la forma en que este enlace es escindido. La Tabla III ilustra algunos intermediarios de reacciones cuya naturaleza química es fundamental para la comprensión de los procesos biológicos naturales y artificiales.

TABLA III

INTERMEDIARIOS DE LAS REACCIONES  
MÁS COMUNES

INTERMEDIARIO ESTUDIADO	REACCIÓN MODELO
Radical libre	Halogenación de alcanos Adición de radicales libres a dienos aislados Oxidación-reducción de hidroquinona-quinona
Carbocatión	Deshidratación de alcoholes Hidratación de alcoholes Substitución electrofílica aromática
Carbanión	Eliminación unimolecular Condensación aldólica Condensación de Claisen Rompimiento aldólico
Otros	Substitución nucleofílica bimolecular Eliminación bimolecular Activación por fosforilación

La naturaleza electrónica y la geometría de estos intermediarios son usualmente aprovechados en el diseño de medicamentos. Esto significa que para entender el mecanismo de acción de estos medicamentos es preciso tener, al menos, nociones de mecanismos de reacciones.

El estudio de especies intermediarias y de mecanismos de reacciones comunes también facilita el análisis y la comprensión de la catálisis enzimática. Por otro lado, la generación de especies intermediarias de reacciones puede desencadenar procesos patológicos. Tomemos como ejemplo la generación de radicales libres en reacciones enzimáticas y espontáneas. ¿Cómo podría un estudiante entender la siguiente afirmación?: “el oxígeno es una sustancia potencialmente tóxica”. Probable-

mente, la primera reacción de un estudiante sería de escepticismo debido a la conocida e importante función de esta molécula en los organismos vivos. Para comprender esta dualidad del oxígeno, tenemos que comenzar por la propia estructura electrónica del mismo. Al ser un birradical en su estado de más baja energía y de acuerdo con el principio de exclusión de Pauli, el oxígeno sólo puede aceptar electrones de manera univalente; es decir, los electrones deben ser transferidos de uno en uno. Al ocurrir la transferencia del primer electrón, se genera una especie altamente reactiva que se denomina ion superóxido. Este ion-radical, entre otras especies reactivas de oxígeno, puede iniciar reacciones en cadena (por radicales libres) que pueden provocar daños irreversibles a componentes celulares muy importantes como por ejemplo, ADN, proteínas y lípidos de membranas. Para llegar a comprender lo antes expuesto, el estudiante debe haber analizado, en términos generales, el mecanismo de generación de radicales libres y la naturaleza reactiva de estas especies.

**TÓPICOS ESPECIALES (2,3,5)**

Además de la discusión de las propiedades físicas y químicas de los diferentes grupos funcionales en términos biológicos, el estudiante es motivado a apreciar el papel que juega la química orgánica en su formación profesional mediante la discusión de temas selectos. Esto permite, aun más, la integración de los aspectos teóricos discutidos con diversos procesos biológicos. En la Tabla IV se presentan los temas que han sido seleccionados por grupo funcional.

La mayoría de los temas seleccionados tienen el objetivo de reforzar el concepto de estructura-función. Por ejemplo, la vitamina B<sub>6</sub> es una molécula que ha sido seleccionada biológicamente para estabilizar carbaniones. Su estructura posee un sistema de electrones  $\pi$  que se conjuga hasta un átomo de N cargado positivamente y que actúa como aceptor de un par de electrones. A este sistema se le conoce como “trampa de electrones”.

**CONCLUSIÓN**

Los principios de la reactividad de moléculas orgánicas se aplican a todos los sistemas. Sin embargo, esta reactividad puede ser modulada para ajustarse a las necesidades y condiciones de estos

TABLA IV

## TÓPICOS ESPECIALES DE CORRELACIÓN BIOLÓGICA

GRUPO FUNCIONAL	TEMA SELECCIONADO
Alcanos	Hidroxilación como mecanismo de detoxificación Daño a membranas biológicas por radicales libres Descarboxilación de acetoacetato en el diabético
Alquenos	Especies biológicamente activas del isopreno
Dienos	$\beta$ -Caroteno como antioxidante
Compuestos Aromáticos	Hidroxilación y síntesis de catecolaminas
Alcoholes	Moléculas anfipáticas y formación de micelas Eliminación de malos grupos salientes por fosforilación
Epóxidos	Detoxificación versus cáncer
Compuestos Carbonílicos	Vitamina B <sub>6</sub> como trampa de electrones
Ácidos Carboxílicos	El intermediario carboxifosfato Cuerpos cetónicos y acidosis Estado iónico de ácidos grasos en plasma
Derivados de ácidos carboxílicos	Tautomerismo lactama-lactima en ácido úrico
Aminas	Agentes aminantes biológicos
Fenoles	Inactivación de catecolaminas Coenzima Q

sistemas. Uno de tales sistemas es el ser humano. El proceso de combustión de hidrocarburos en un motor genera los mismos productos que la combustión de glucosa (por ejemplo) a nivel celular:

bióxido de carbono, agua y energía. A pesar de esta similitud, los mecanismos de liberación y utilización de energía son distintos. Este ejemplo es sólo una muestra de que la enseñanza de la química orgánica puede tomar diferentes rumbos dependiendo de los objetivos que se persiguen. En la medida en que los diferentes aspectos de química orgánica sean correlacionados con los sistemas de cada disciplina, el estudiante estará más motivado y, por lo tanto, mejorará su rendimiento académico. Esto se puede lograr con un poco de esfuerzo y una buena revisión bibliográfica. Sólo espero que este artículo sirva de estímulo a otros docentes y que contribuya al mejoramiento de la enseñanza de química orgánica en las carreras de las ciencias de la salud.

## REFERENCIAS

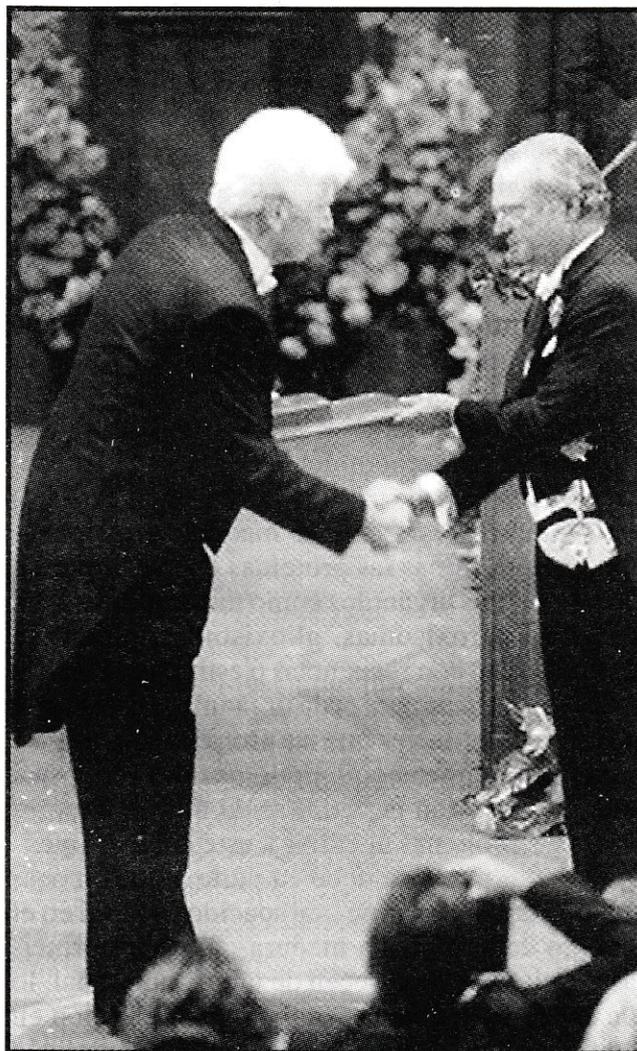
1. Metzler D E (1981) Bioquímica. Ediciones Omega, S.A., Barcelona, p. 369-435.
2. Morrison R T, Boyd R N (1976) Química Orgánica. Fondo Educativo Interamericano, S.A., USA, p. 76-119, 147-230, 255-383, 466-838.
3. Murray N, Mayes P, Granner D y Rodwell V. (1997) Bioquímica de Harper. Editorial El Manual Moderno, S.A., México, p. 42, 141, 146, 171-173, 179-180, 261, 267, 310-312, 350-352, 373-374, 433-435, 636-639, 704, 707-709.
4. Voet D, Voet J (1990) Biochemistry. John Wiley & Sons, USA, p. 355-365, 397-403.
5. Walsh C (1979) Enzymatic Reaction Mechanisms. W.H. Freeman and Company, New York, p. 9-22, 24-48, 50-51, 143-146.

## GÜNTER BLOBLE, PREMIO NOBEL 2000: LOS CÓDIGOS POSTALES DE LA CÉLULA Y EL MECANISMO MOLECULAR QUE DETERMINA EL DESTINO SUBCELULAR DE CADA PROTEÍNA

Este año se le otorgó el premio Nobel al Dr. Günter Bloble, jefe del Laboratorio de Biología Celular de la Universidad Rockefeller en Nueva York, por haber propuesto y contribuido significativamente a demostrar la existencia de un mecanismo molecular que determina el destino de las miles de proteínas diferentes que sintetiza una célula.

El material genético de una célula humana codifica para más de  $10^6$  diferentes tipos de proteínas de las cuales una célula sólo expresa menos de  $10^4$  en cualquier momento dado de su vida. La cantidad de cada una de estas proteínas puede variar desde unos cuantos cientos de copias, como en el caso de algunos factores que controlan la expresión génica, hasta millones de copias como es el caso de proteínas estructurales como la tubulina o proteínas que son secretadas como la albúmina. Además, cada una de estas proteínas, dependiendo de su vida media debe ser reemplazada a mayor o menor velocidad. Finalmente, cada una de estas proteínas debe llegar a su destino subcelular en el momento y en la cantidad adecuados. Es claro que uno de los problemas que enfrenta la célula radica en definir el destino subcelular de cada una de estas millones de proteínas individuales de manera eficiente.

Bloble visualizó las dificultades del tráfico de proteínas como un problema análogo al que enfrenta el sistema postal al repartir millones de piezas de correspondencia (postales, cartas, paquetes grandes y pequeños, correos certificados, etc.), en donde el problema se simplifica por medio del uso de códigos postales. En la década de 1970, Bloble propuso que cada proteína posee una señal molecular, análoga a un código postal, que es reconocida por una maquinaria de selección, simplificando la tarea de determinar su destino subcelular. Una de las principales objeciones a su modelo fue el hecho de que implicaba que todas las proteínas cuyo destino final fuera la membrana célula, por ejemplo, deberían tener un marcador molecular, una secuencia similar en algún lugar de estructura



El Dr. Günter Bloble recibiendo el premio Nobel de mano del Rey de Suecia, Carl Gustaf XVI; durante la ceremonia de entrega, el viernes 10 de diciembre de 1999, en Estocolmo. (Fotografía propiedad de la Sociedad Nobel, tomada por Hans Mehlin.)

primaria, o que alguna parte de su estructura secundaria o terciaria común tendría que estar presente en todas las proteínas que llegaran a una fracción subcelular definida. Por otro lado, no había ninguna evidencia de la existencia de los mecanismos moleculares que pudiera interaccionar con

estas señales hipotéticas que participara en determinar el destino subcelular de las proteínas. Y por supuesto, quedaban muchos detalles por resolver, como la secreción constitutiva de albúmina por los hepatocitos o la secreción regulada de insulina por las células beta del páncreas, o la localización subcelular de las proteínas de bacteriófagos y de virus.

El modelo propuesto por Bloble abrió un campo de estudio con un gran número de ramificaciones que han servido para un mejor entendimiento de: i) la codificación de las proteínas y su evolución, ii) la organización celular y de diferentes patologías, y iii) las aplicaciones biotecnológicas que permiten controlar con gran detalle la expresión de proteínas recombinantes.

**Los péptidos señal: códigos postales para orgánulos, membranas y secreción.** Un hallazgo inesperado fue el encontrar que todas las proteínas que son importadas al retículo endoplásmico, por ejemplo, presentan una secuencia de aminoácidos (denominada péptido líder o péptido señal) que es removida durante su maduración. De manera análoga, todas las proteínas que se importan a los diferentes orgánulos como mitocondrias, cloroplastos, peroxisomas, glioxisomas, presentan péptidos señal con secuencias o estructuras secundarias específicas para cada orgánulo, mismas que son removidas un vez que las proteínas son importadas. Curiosamente, las proteínas nucleares que también presentan péptidos señal no son removidas de las proteínas al entrar a este compartimento, esta excepción se debe en parte a que en ocasiones esta secuencia de aminoácidos no está en el extremo de la proteína madura. Todas las proteínas del citoplasma carecen de un péptido señal, lo que en sí, determina la señal para su retención en el citoplasma. Las proteínas que entran al retículo endoplásmico se pueden convertir en proteínas de membrana, si presentan secuencias hidrofóbicas que las mantengan ancladas, o bien si carecen de esta señal de retención en membrana son proteínas que pueden ser secretadas al medio externo.

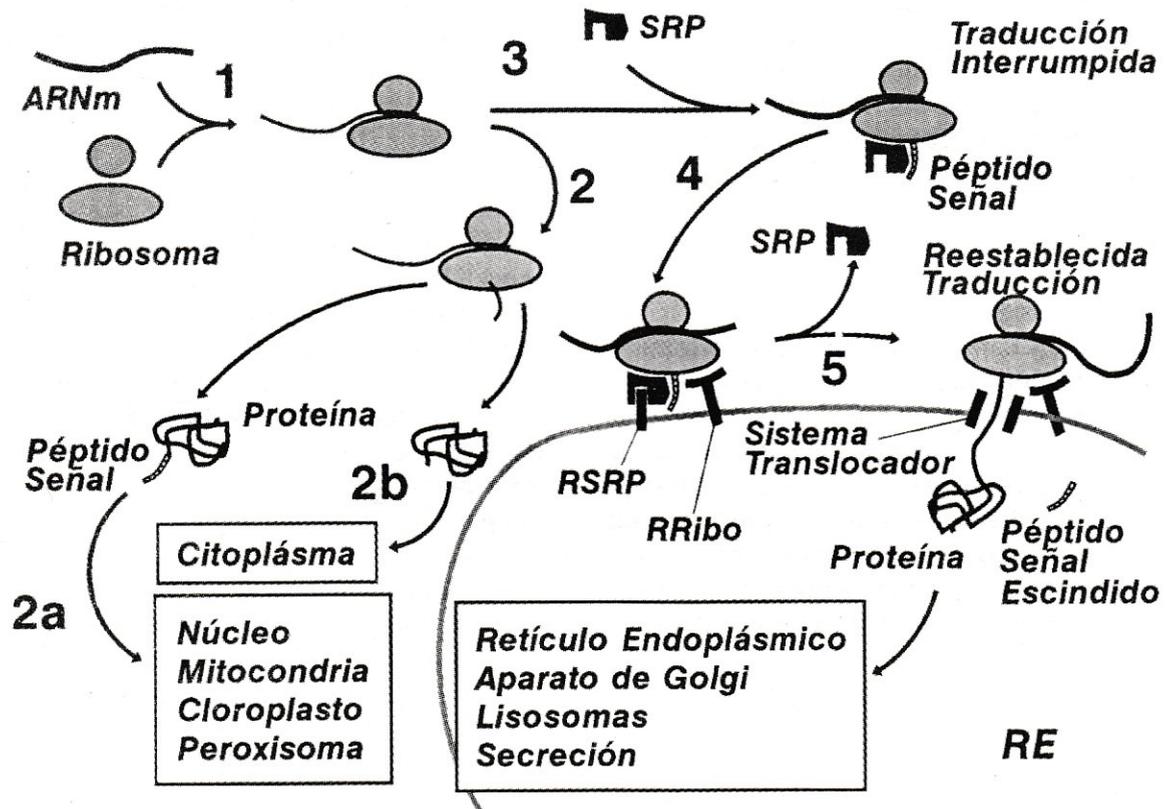
Además del conocimiento sobre el control del tráfico de proteínas dentro de la célula, el descubrimiento de los péptidos señal específicos para cada orgánulo y del sistema de corte proteolítico reveló un nivel adicional de modificaciones post-transcripcionales en la maduración de las proteí-

nas y mostró que la secuencia de una proteína madura no necesariamente refleja la totalidad de la secuencia de nucleótidos que la codifican. También ha llevado a especulaciones sobre las características de los eucariotes primitivos. Parecería que una de las ventajas de estos protoeucariotes fue la de poseer una maquinaria celular que a través de un sistema basado en péptidos señal era capaz de determinar cuales proteínas deberían llegar al núcleo o, a través del retículo endoplásmico y del Aparato de Golgi, a su membrana celular. Por exclusión, las proteínas que carecen de estas señales se quedaban en el citoplasma. Algunas patologías se explican por la presencia de mutaciones que afectan la función de los péptidos señal. Los efectos de este tipo de mutaciones son tan graves como una mutación que altera el marco de lectura o que afecta el sitio activo de una enzima, ya que si la proteína no llega a su destino, el efecto de la mutación puede manifestarse como una pérdida de función. Este conocimiento también ha tenido consecuencias biotecnológicas importantes. Por ejemplo, ha permitido controlar la expresión de hormonas recombinantes como la insulina y la hormona de crecimiento, dirigiéndolas a una vía secretora en células productoras de leche en el ganado caprino, ovino y bovino. De manera análoga, en levaduras, es posible cosechar proteínas recombinantes siguiendo procesos de fermentación muy similares a la producción de cerveza, al dirigir a las proteínas recombinantes hacia la vía secretora. Por otra parte, el desarrollo de la terapia génica no es concebible sin pensar que el destino subcelular o tisular de la proteína transgénica que substituye a la proteína endógena carente de función sea predeterminado con toda certeza.

**La partícula de reconocimiento de señales (SRP) y su receptor en el retículo endoplásmico: un mecanismo molecular de reconocimiento de los péptidos señal.** El modelo propuesto por Bloble requería de que la señal presente en cada proteína fuera reconocida por una maquinaria molecular que además representaría el sistema de transporte hacia su destino subcelular. El estudio del mecanismo por el cual los ribosomas que se asocian con mensajeros que codifican para proteínas que deben ser procesadas en el retículo endoplásmico se anclan en la membrana de este compartimento, reveló que la fijación requiere de que

el péptido señal haya sido traducido y de que éste interactúe con una ribonucleoproteína denominada SRP. La unión de la SRP con el ribosoma y el péptido señal interrumpe la traducción y permite que el complejo [ribosoma-ARN mensajero-péptido señal] sea reconocido por receptores específicos

para la SRP y el ribosoma presentes en la membrana del retículo endoplásmico. A este complejo se agregan proteínas que conforman un poro translocador del péptido nascente, a través del cual la proteína pasa al lumen del retículo endoplásmico una vez que se remueve a la partícula SRP (Fig 1).



Destino	Ejemplos de péptidos señal
Importar al RE	+H <sub>3</sub> N-Met-Met-Ser-Phe-Val-Ser-Leu-Leu-Leu Val-Gly-Ile-Leu- Phe-Trp-Ala-Thr-Glu-Ala-Glu-Gin-Leu Thr-Lys-Cys-Glu-Val-Phe-Gin
Retener en el RE	-Lys-Asp-Glu-Leu-COO-
Núcleo	Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val
Mitochondria	+HeN-Met-Leu-Ser-Leu-Arg-Gin-Ser-Ile-Arg Phe-Phe-Lys-Pro-Ala-Thr-Arg-Thr-Arg-Thr-Leu-Cys-Ser Ser-Arg-Tyr-Leu -Leu
Peroxisoma	-Ser-Lys-Leu-

**Figura 1.** Sistema de selección del destino subcelular de las proteínas. En el citoplasma, los ribosomas libres se asocian con ARN mensajeros (ARNm) iniciando inmediatamente la traducción (1). Las proteínas cuyo destino final es el citoplasma, o algún orgánulo como: núcleo, mitochondria, cloroplasto o peroxisoma, se sintetizan en ribosomas libres (2), liberando la proteína al citoplasma. Si la proteína presenta un péptido señal, ésta será transportada e importada al orgánulo que se asocia con la secuencia del péptido señal (2a). Si por el contrario, la proteína carece de un péptido señal permanece en el citoplasma (2b). Alternativamente, las proteínas que deben pasar por el retículo endoplásmico (RE) presentan un péptido señal en su extremo amino que se asocia con una partícula ribonucleoprotéica (SRP), interrumpiendo la traducción de la proteína (3). El complejo [ribosoma-ARNm-péptido señal-SRP] se une a la membrana del retículo endoplásmico por medio de un receptor del SRP (RSRP) y de un receptor del ribosoma (RRibo). Así, se forma el retículo endoplásmico rugoso (4). La partícula SRP se elimina y se ensambla un sistema de translocación de proteínas (5). Las proteínas resultantes dependiendo de otras señales serán proteínas libres dentro del retículo endoplásmico o de membranas.

Este proceso parece ser dependiente de ciclos de unión e hidrólisis de GTP ya que tanto la SRP como su receptor presentan proteínas G. Este modelo ha permitido estudiar sistemas análogos para la importación de las proteínas a las mitocondrias, los cloroplastos y los peroxisomas, en los que la importación ocurre una vez que la proteína ha sido sintetizada y liberada al citoplasma.

La identificación de esta maquinaria de importación ha permitido comenzar a estudiar los mecanismos moleculares que determinan la manera en que muchas proteínas de membrana adquieren su conformación madura y por qué unas proteínas presentan su extremo amino hacia el interior y otras hacia el exterior de la membrana en la que están insertadas. La determinación de esta topología es determinante para la función de las proteínas de membrana como los receptores de adrenalina que presentan múltiples dominios transmembranales, los canales que permiten el paso de potasio, o las proteínas de las cadenas transportadoras de electrones en las mitocondrias y los cloroplastos. En el caso de los tripanosomas, que presentan un orgánulo particular dentro del cual se lleva a cabo la glicólisis (el glicosoma), el conocimiento sobre la especificidad de los mecanismos moleculares de importación a orgánulos se ha empleado para tratar de interferir con el mecanismo que les permite

importar las enzimas glicolíticas y así interferir con la enfermedad causada por estos protozoarios.

Una de las contribuciones más significativas del Dr. Günter Blobel fue la demostración de que las proteínas destinadas al retículo endoplásmico suspenden su traducción debido a la unión entre el péptido señal y la partícula SRP y que este complejo se asocia al retículo endoplásmico por medio de receptores específicos. También demostró que la traducción y la traslocación de las proteínas que entran al retículo endoplásmico se llevan a cabo de manera simultánea. Por supuesto que el grupo del Dr. Blobel no realizó todos los experimentos relevantes en la demostración de este modelo. Este premio Nobel, al igual que la mayoría de ellos se otorga no sólo por la proposición de un modelo revolucionario y por haber contribuido a su demostración sino también porque en el proceso de su demostración se revela la existencia de procesos y fenómenos previamente desconocidos, que en el caso del Dr. Blobel van más allá de resolver un problema de entrega de proteínas por el servicio postal celular.

Alejandro Zentella Dehesa  
Departamento de Biología Celular  
Instituto de Fisiología Celular  
Universidad Nacional Autónoma de México

## INFORME DEL XXIV TALLER DE ACTUALIZACIÓN BIOQUÍMICA

En esta ocasión, fue la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México la que apoyó al XXVI Taller de Actualización Bioquímica, el cual se realizó del 9 al 13 de agosto del presente año. El Comité Organizador estuvo integrado por los doctores Sara Morales López, Marco Antonio Juárez Oropeza, Juan Pablo Pardo Vázquez y Federico Martínez Montes, miembros del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina (UNAM).

Para este Taller, se inició la difusión con 6 meses de anticipación (por correspondencia personal e institucional) a través de la publicación de esta información en el Boletín de Educación Bioquímica. Se invitó a profesores de todas las Universidades del País relacionados con la asignatura de Bioquímica y materias afines. Se inscribieron un total de 54 personas y de ellas, 31 contestaron la encuesta acostumbrada al finalizar el evento.

El número de asistentes de las Universidades de la República fue el siguiente:

Distrito Federal	18	Puebla	9
Estado de México	5	Sonora	2
Guanajuato	2	Nuevo León	1
Yucatán	1	Jalisco	4
Tamaulipas	1	Sinaloa	3
Durango	1	Michoacán	7

Como en ocasiones anteriores, el Taller tuvo dos partes, una matutina, dedicada a los temas bioquímicos de actualización, en donde participaron varios investigadores de diferentes instituciones, y otra vespertina, en la cual se abordó el tema del RasMol como una herramienta para la enseñanza de la bioquímica de las proteínas y otras moléculas.

Los temas trataron sobre el efecto de las hormonas esteroides, el SIDA, la cadena respiratoria de varias fuentes, del cáncer, moléculas de adhesión, receptores y aspectos farmacológicos relacionados con el metabolismo y su cinética de com-

partamentalización. La secuencia de exposiciones fue la siguiente:

–La Dra. Gabriela Morali, del Centro Médico Nacional del IMSS, Siglo XXI, disertó sobre *los ciclos hormonales y la conducta sexual*.

–El Dr. Enrique Soto, del Instituto Nacional de Nutrición “Salvador Zubirán”, explicó *el síndrome de inmunodeficiencia adquirida*.

–El Dr. Juan Pablo Pardo Vázquez, del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM, presentó *los complejos de la cadena respiratoria y la ATPsintasa*.

–El Dr. Edgardo Escamilla, del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM, expuso el tema de *los sistemas respiratorios bacterianos*.

–El Dr. David Romero Camarena, del Instituto de Fijación del Nitrógeno de la UNAM, platicó de *los genes bacterianos involucrados en el establecimiento de simbiosis fijadoras de nitrógeno*.

–El Alejandro García Carrancá, del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM, disertó sobre *las alteraciones genéticas en el desarrollo del cáncer*.

–El Dr. Felipe Vadillo, de la Universidad Iberoamericana, trató el tema de *adhesión celular*.

–El Dr. Rafael Villalobos Molina, del Departamento de Farmacología del CINVESTAV, desarrolló el tema de *los receptores adrenérgicos vasculares en la hipertensión*.

–El Dr. Héctor Riveros Rosas, del departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM, expuso sobre *la cinética de compartimentos: teoría y ficción*.

–El Dr. Francisco Javier Flores Murrieta, del Departamento de Farmacología y Toxicología del

CINVESTAV, abordó *la importancia del metabolismo de fármacos en la terapéutica.*

—Finalmente, el Dr. Zurisadai Hernández Gallejos, del Departamento de Farmacología y Toxicología del CINVESTAV, presentó *en busca de fármacos nuevos.*

Los ponentes tocaron durante su exposición, los aspectos más relevantes de sus áreas de investigación y dieron una visión general e integral de cada tema, lo cual permitió que, al final de cada participación, se aclararan las dudas de los asistentes, lo que hizo posible una mayor y mejor relación entre los investigadores y los profesores.

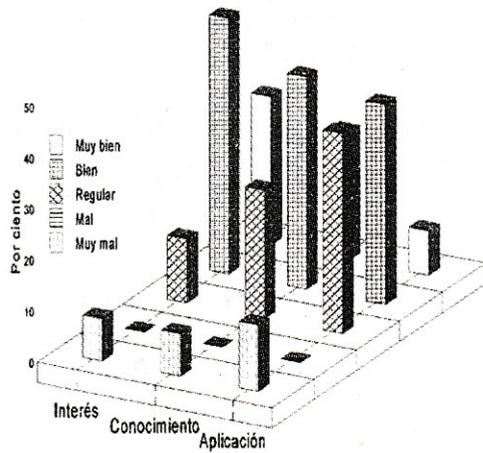
En las sesiones vespertinas se trabajó con el Taller de Ras-Mol y modelaje de moléculas por

computadora, conducido por los doctores Juan Pablo Pardo Vázquez, Federico Martínez y Marco Antonio Juárez Oropeza, miembros del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM, quienes mantuvieron un contacto estrecho con los asistentes, permitiéndoles el desarrollo de trabajo en grupos con la aplicación de esta técnica de la enseñanza.

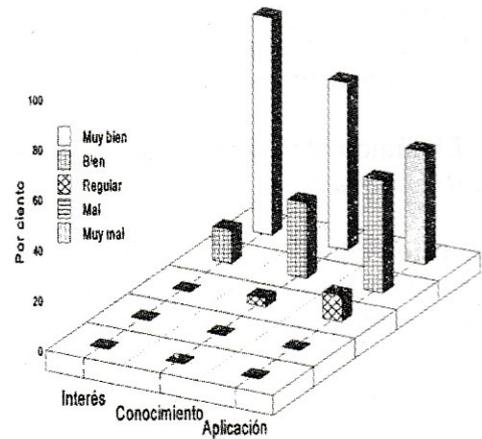
Las ponencias se editaron en el volumen XXIII del Mensaje Bioquímico, el cual se distribuyó en el momento del registro de los profesores al Taller.

Al finalizar el Taller se realizó una encuesta para evaluar varios aspectos, como son los relacionados con el contenido y aplicación de los temas, obteniendo los siguientes resultados:

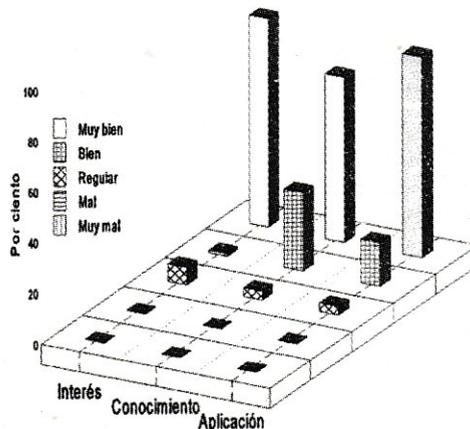
**Ciclos Hormonales**



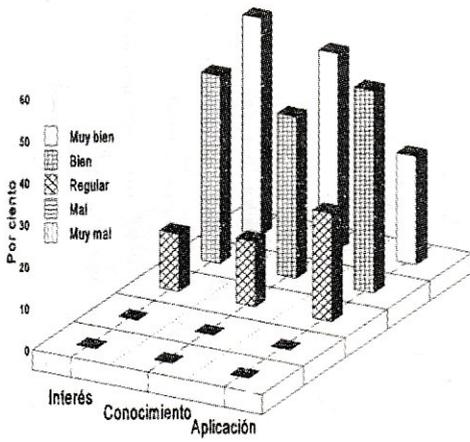
**SIDA**



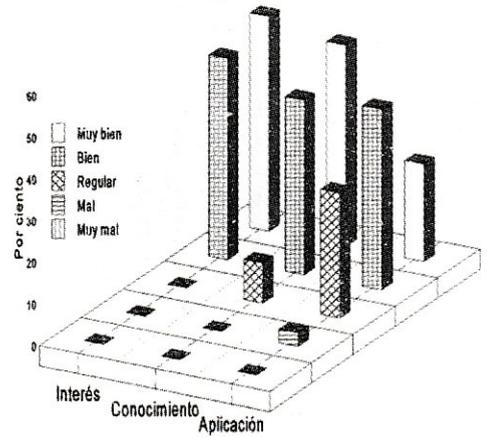
**Complejos de la Cadena**



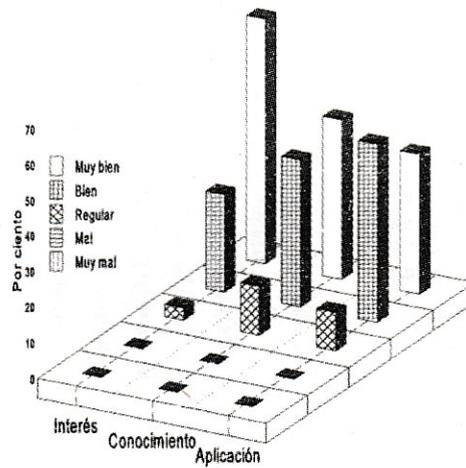
### Sis. Respiratorios Bacterianos



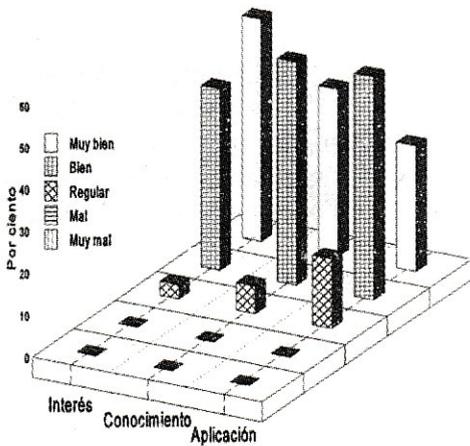
### Genes Bacterianos



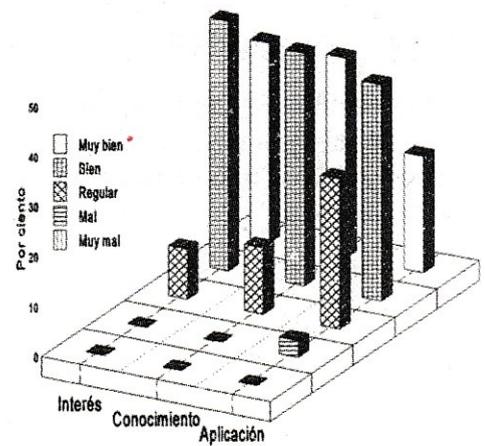
### Alteraciones Genéticas



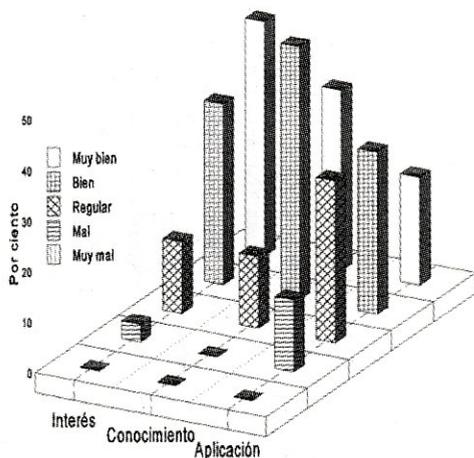
### Adhesión Celular



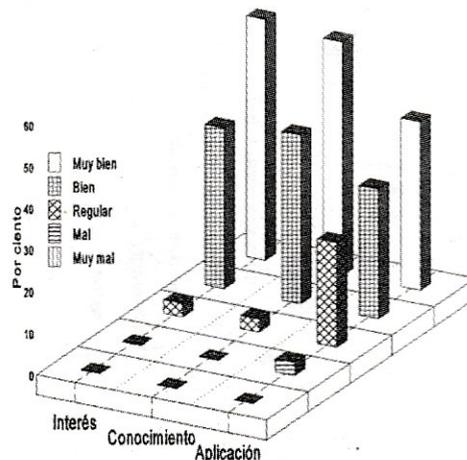
### Receptores Adrenérgicos



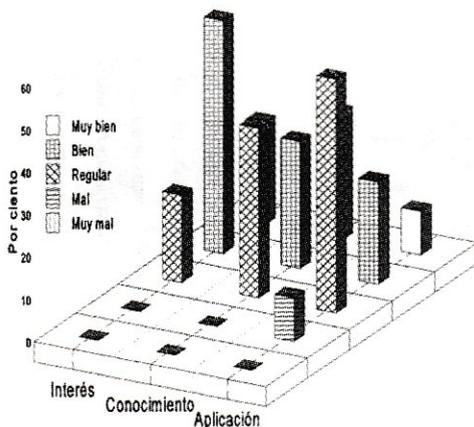
### Cinética de Compartimentos



### Metabolismo de Fármacos



### En Busca de Fármacos



También estuvo presente la Asociación de Profesores de Bioquímica, quienes durante una sesión abordaron temas sobre docencia y enseñanza.

El Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM, en su carácter de organizador, administró las cuotas de inscripción y cubrió todos los gastos realizados durante el Taller.

Finalmente, esperamos contar con su valiosa participación el año entrante.

El Comité Organizador  
 Sara Morales López  
 Marco Antonio Juárez Oropeza  
 Juan Pablo Pardo Vázquez  
 Federico Martínez Montes

## COMENTARIOS SOBRE LIBROS DE RECIENTE PUBLICACIÓN

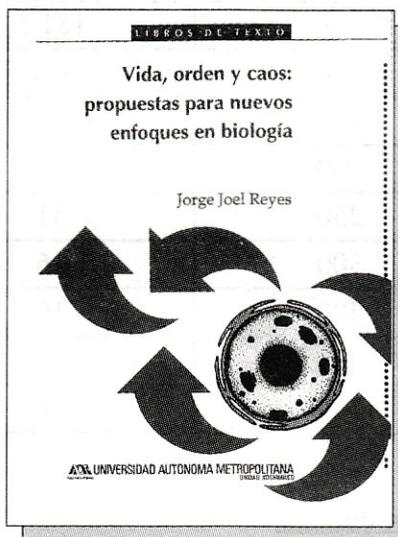
### Vida, orden y caos: propuestas para nuevos enfoques en biología

Autor: Jorge Joel Reyes  
Editado por la UAM-X

En este libro, el autor trata de enfocar la biología con la ayuda de una teoría que incorpora orden en el sistema y el apoyo de la tecnología de la computación, a través de teorizar sobre la ciencia. Incluye a la vez diversas propuestas de investigación que integran la física y la química en el estudio de los fenómenos de la vida, no mediante un reduccionismo de la biología sino agregando el caos como una propuesta de solución a los paradigmas actuales planteados por la biología. Nos ilustra de cómo la ciencia se ha adaptado a las circunstancias y concluye que ésta debe reportar beneficios al hombre para que sea aceptada. En caso contrario, el hombre cambia la ciencia y no descansa hasta encontrarla nuevamente operante. Nos enseña cómo la definición de un fenómeno siempre es relativa al nivel de organización biológica en que tratemos de definirla. La reducción de diversos fenómenos a sus niveles más elementales de la física y la química no ha logrado explicarlos en su totalidad.

Aborda también diversos conceptos, tales como la catástrofe inmunológica al apuntar sobre fenómenos que ponen en entredicho ciertos dogmas de esta disciplina. También destaca la importancia que tienen para el hombre los oligoelementos o nutrientes traza en particular asociados a los ritmos biológicos de larga o corta duración a los que estamos sujetos. Trata el tema del cáncer como un enemigo al que se puede vencer, aunque no necesariamente con las terapias dolorosas acostumbradas. En medicina, explora la posibilidad de un regreso de la homeopatía, con el ejemplo del vanadio al mimetizar a la insulina.

Al introducir al estudio del desorden, revisa temas de frontera en este nuevo campo de estudio y establece que el caos determinista ni es tan caótico ni el azar es tan azaroso como se creía. La introducción del caos al estudio de la fisiología de los seres vivos, ha abierto un nuevo panorama para el estudio del origen de la vida, la organización celular, la diferenciación, la proliferación y la explicación de los innumerables patrones geométricos que se hallan en la naturaleza, desde los sistemas microbianos hasta los animales y las plantas superiores.



Sergio Sánchez Esquivel  
Departamento de Biotecnología  
Instituto de Investigaciones Biomédicas  
Universidad Nacional Autónoma de México

## PROBLEMA BIOQUÍMICO

### TEMA: Cinética enzimática

Se determinó la actividad del complejo *bc* de las mitocondrias del protista *Euglena gracilis* titulando con antimicina, inhibidor de tipo no competitivo fuertemente unido. La actividad de esta enzima, que

forma parte de la cadena respiratoria, se determinó midiendo espectrofotométricamente la reducción de 30  $\mu\text{M}$  de citocromo *c* de caballo añadido en presencia de 50  $\mu\text{M}$  de decilbenzoquinol. A continuación se presentan las velocidades iniciales en presencia de las distintas concentraciones del inhibidor.

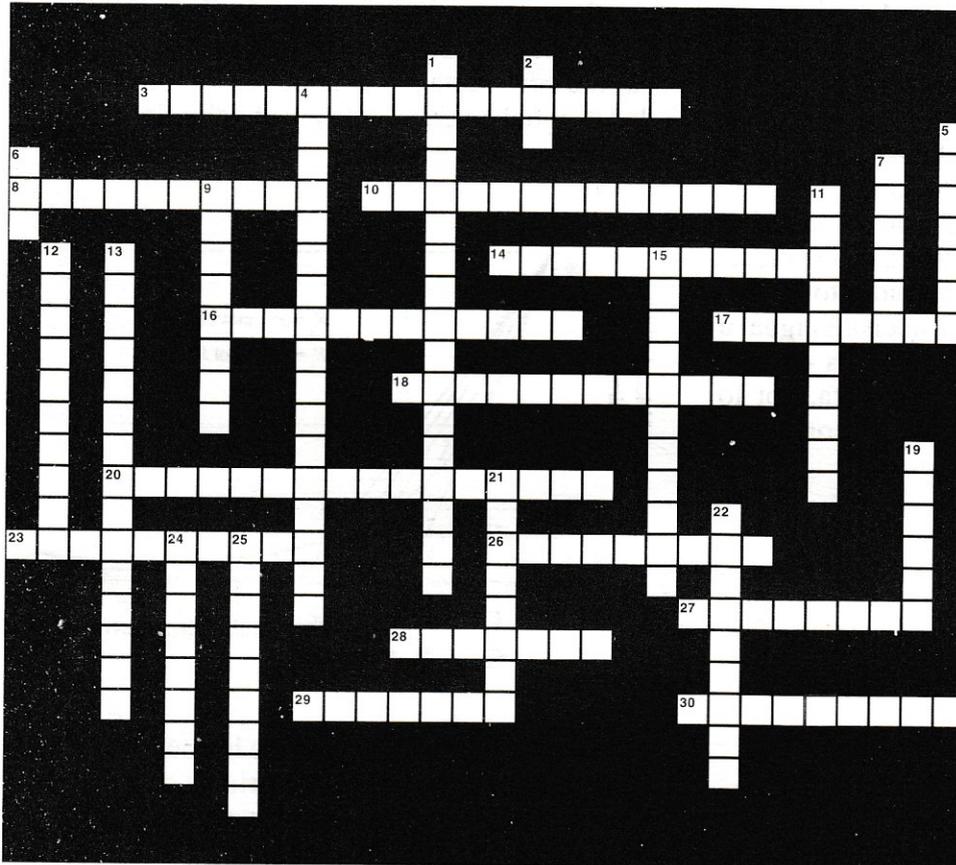
Antimicina (pmol/mg)	Velocidad inicial (nmol/min/mg)
0	210.6
10	189
20	193.5
50	181.5
100	111
150	91
200	48
250	31
300	16
400	16
500	10.6
1000	12

Determinar la  $K_i$  y la concentración de enzima.

# CRUCIBIOQ

Yolanda Saldaña Balmori

## ENZIMAS



### HORIZONTALES

3. Inhibición de la actividad enzimática por la acción de un producto final.
8. Tipo de energía que abaten las enzimas.
10. Participan con un aminoácido y un cetoácido intercambiando los grupos amino y ceto.
14. Tipo de inhibición que se puede revertir por aumento en la concentración de sustrato.
16. Función de las proteínas con actividad enzimática.
17. Ocupa al sitio activo de la enzima y se transforma en producto.
18. Enzima que actúa sobre un ácido nucleico.
20. Catalizan la adición o sustracción de hidrógeno u oxígeno.
23. Catalizan a una misma reacción pero tienen características físicas e inmunológicas diferentes.
26. A este tipo de enzimas pertenecen las mutasas, epimerasas y racemasas.
27. Participa en la reacción enzimática, es de naturaleza no proteica y deriva de vitaminas.
28. Digiere proteínas en el estómago a un pH óptimo de 2.
29. Catalizan reacciones generalmente endergónicas las cuales se acoplan al rompimiento de moléculas energéticas.
30. Trazo que se obtiene al graficar la actividad enzimática contra la concentración de sustrato.

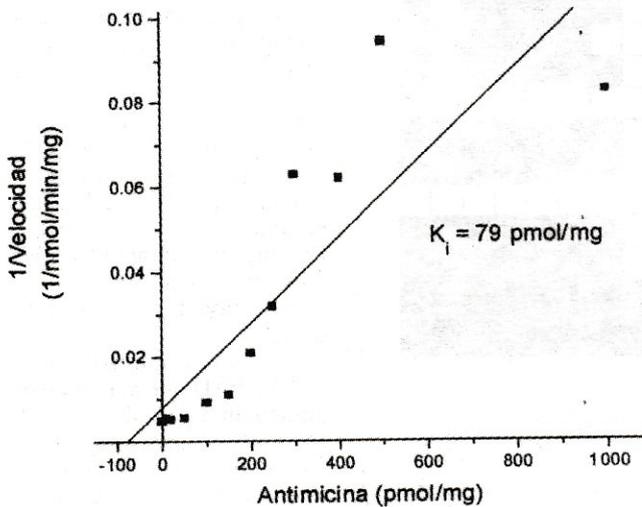
### VERTICALES

1. Proceso que se realiza entre otros factores por cambio de pH de temperatura.
2. En su forma reducida, puede participar en la síntesis del ácido láctico.
4. Enzimas que se utilizan en el diagnóstico clínico de hepatitis viral e infarto al miocardio.
5. Es un inhibidor no competitivo de la citocromo oxidasa.
6. Coenzima que participa en la succinato deshidrogenasa.
7. Velocidad que se alcanza a una concentración de sustrato y no se afecta por el aumento de éste.
9. Forma con la parte proteica el complejo llamado holoenzima.
11. De naturaleza no proteica, participa en el sistema enzimático uniéndose a la apoenzima.
12. Enzimas que al actuar sobre un sustrato lo rompen por incorporación de una molécula de agua.
13. Tienen como coenzimas al NAD o FAD que al reducirse alimentan a la cadena respiratoria.
15. Factor que cuando hay fiebre o hipotermia induce a que algunas enzimas se puedan dañar.
19. Por su acción hidrolítica fundamentalmente libera monoacilglicéridos.
21. Enzimas que hidrolizan a los almidones.
22. Ácido que es cofactor en la hidroxilación de la colágena, su deficiencia provoca escorbuto.
24. Forma en la que se sintetizan las enzimas digestivas que hidrolizan proteínas.
25. Constante que indica la concentración de sustrato a la cual la mitad de los centros activos de la enzima están ocupados.

# PROBLEMA BIOQUÍMICO

## RESPUESTA:

Los inhibidores fuertemente unidos son aquellos que se unen a la enzima con una afinidad muy grande; el valor de la constante de disociación del complejo enzima-inhibidor es cercano a la concentración de enzima (pM ó nM). Esto resulta en que una fracción considerable del total del inhibidor esté unida a la enzima y no en forma libre. Por estas razones, no es posible utilizar los métodos gráficos usuales para determinar la  $K_i$ , como el gráfico de Dixon para un inhibidor no competitivo simple, en el que se grafica el inverso de la velocidad contra la concentración de inhibidor total añadido para obtener una recta cuya abscisa es igual a  $-K_i$ . Los datos del problema graficados de esta manera clásica no se ajustan a una recta, por lo que la  $K_i$  calculada de este modo no es confiable, como se muestra a continuación:



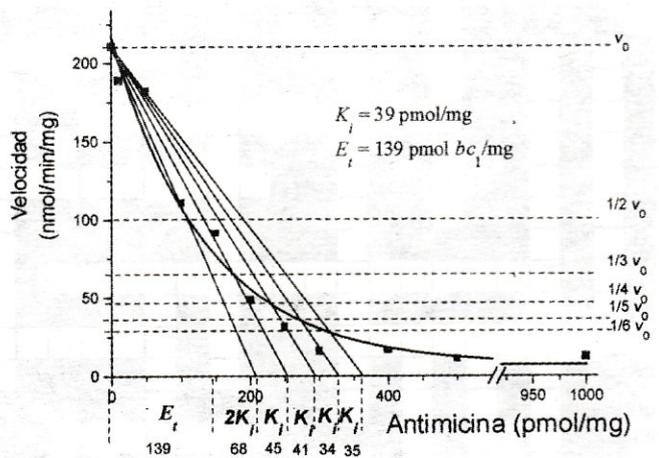
El propio Dixon ideó un método gráfico sencillo para determinar la  $K_i$  de inhibidores fuertemente unidos, el cual también permite calcular la concentración total de enzima. Para los inhibidores no competitivos fuertemente unidos, la ecuación que sirve de base para este método es la siguiente:

$$[I]_n = nK_i + [E]_t$$

en donde  $[I]_n$  representa la concentración de inhibidor que corresponde a una fracción de la velocidad sin inhibidor ( $v_0/n$ ), siendo  $n$  siempre un

número entero positivo;  $[E]_t$  es la concentración de enzima.

Para calcular  $K_i$  y  $[E]_t$ , sobre la gráfica de inhibidor total añadido (expresado en moles por cantidad de enzima ó mg de proteína) contra velocidad, se trazan líneas rectas desde la velocidad sin inhibidor hasta el eje de las abscisas, haciendo pasar a cada recta por el punto de donde la velocidad es igual a  $v_0/n$ , dando a  $n$  el valor de 2, 3, 4, 5, etc., como se muestra:



La función matemática que une los puntos es la de decaimiento exponencial de primer orden (suponiendo una estequiometría de una molécula de inhibidor por molécula de enzima). Cada intercepto en el eje X corresponde al valor  $n$  de I; por ejemplo, el primer intercepto que corresponde a  $1/2$  de  $v_0$ , es igual a  $I_2 = 2K_i + [E]_t$ . El intervalo entre el cruce de cada una de las rectas con el eje de las abscisas es igual a la  $K_i$ ; entonces se promedian los valores de cada uno de estos intervalos para obtener un valor único de la  $K_i$ , que en este caso resultó ser de 39 pmol/mg. Retrocediendo sobre el eje X el equivalente a  $2K_i$  (68 pmol/mg), se obtiene el valor de  $[E]_t$ , que resultó ser de 139 pmol de complejo  $bc_1/\text{mg}$  de proteína mitocondrial.

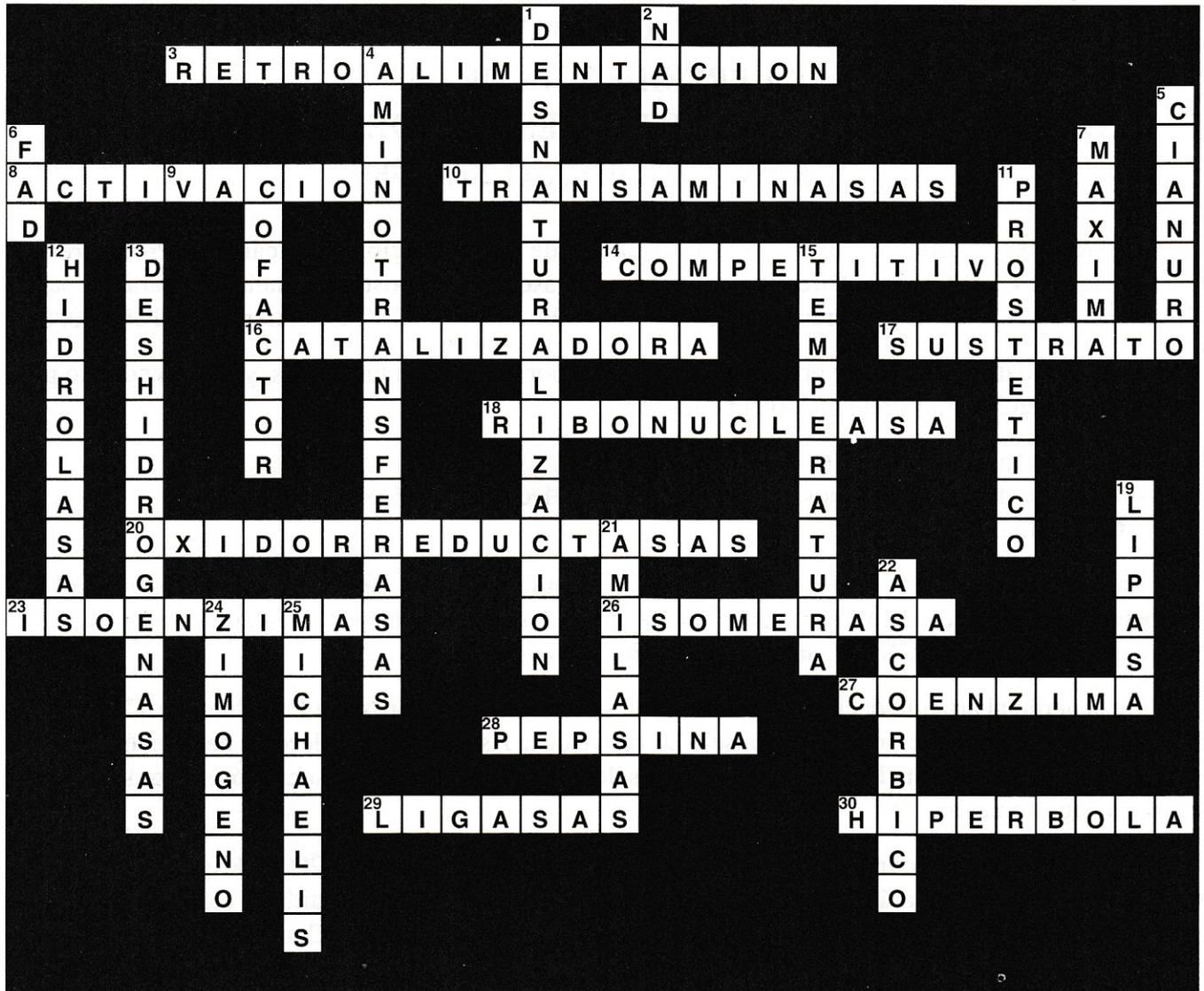
## Bibliografía

Segel IH (1975). Enzyme Kinetics. John Wiley and Sons, New York. Cap. 3E, pp.150-159.

Raúl Covián y Rafael Moreno Sánchez

SOLUCIÓN:

# CRUCIBIOQ



# CONVOCATORIA

## REGISTRO DE PRECANDIDATOS PARA OCUPAR LA PRESIDENCIA DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, AC DURANTE EL BIENIO 2000-2001

De acuerdo al artículo noveno de los estatutos de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A C, el Consejo Directivo convoca a sus asociados a postular candidatos para ocupar la Presidencia de la Asociación durante el bienio 2000-2001, a partir del 1º de septiembre del año 2000.

Los candidatos deberán ser propuestos por escrito por asociados numerarios, y cada candidato postulado deberá entregar la siguiente documentación:

- Consentimiento por escrito para ser postulado.
- Proyecto de trabajo por dos años en caso de ser electo.
- Curriculum vitae.

Para que cada candidato quede propiamente registrado, las cartas de postulación de los asociados y la documentación de cada candidato deberán ser entregadas al Dr Alejandro Zentella en el Instituto de Fisiología Celular, de la UNAM, antes del 15 de julio del año 2000.

De acuerdo al artículo décimo segundo de nuestros estatutos, el próximo Presidente será elegido de la lista de candidatos generada por el Consejo Directivo de la Asociación. La elección del nuevo Presidente se llevará a cabo durante la reunión de negocios del VIII Congreso de la Asociación, programada para el mes de agosto del año 2000.

Ningún candidato podrá ser registrado después del 15 de julio del año 2000, después de lo cual el Consejo Directivo analizará todas las propuestas para generar la lista de candidatos elegibles durante la sesión regular de negocios de la Asociación que se realizará durante el VIII Congreso.

### Entrega de documentos:

Sra Elisa Salles Mora  
Cubículo 3,  
Departamento de Bioquímica,  
Facultad de Medicina, UNAM  
Ciudad Universitaria,  
04510, México, DF. 04510  
Tel: 56-23-21-70, Fax: 56-16-24-19  
[beb@laguna.fmeic.unam.mx](mailto:beb@laguna.fmeic.unam.mx)

Dr Alejandro Zentella Dehesa  
Laboratorio 204-Edificio Sur,  
Departamento de Biología Celular,  
Instituto de Fisiología Celular, UNAM  
Ciudad Universitaria,  
04510, México, DF  
Tel: 56-22-56-09, Fax: 56-22-56-11  
[azentell@ifcsun1.ifisiol.unam.mx](mailto:azentell@ifcsun1.ifisiol.unam.mx)

Precandidatos postulados:

Dr Marco Antonio Juárez Oropeza  
Departamento de Bioquímica  
Facultad de Medicina, UNAM  
Postulado en enero de 2000

## CUOTAS PARA LA ACTUALIZACIÓN DE MEMBRESÍA Y ASISTENCIA AL VIII CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A C

Durante la sesión regular de negocios de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, AC (AMPB), realizada el 13 de agosto de 1999 en el Palacio de Medicina de la UNAM; el pleno fijó las siguientes cuotas para el año 2000:

### MONTO DE LA CUOTA ANUAL

<b>Asociados numerarios .....</b>	<b>\$300.00 (M.N.)</b>
<b>Asociados estudiantes .....</b>	<b>\$150.00 (M.N.)</b>

Esta cuota permitirá recibir el BEB, asistir al VIII Congreso de la AMPB sin ningún pago adicional y participar en las sesiones de negocios, recibiendo una constancia de asistencia y/o de membresía. Durante la misma sesión se acordó que los asistentes al congreso que quieran estar inscritos formalmente, deberán pagar una inscripción de \$400.00 que les dará derecho a recibir una constancia de asistencia y/o participación durante el VIII Congreso de la AMPB.

**FORMA DE PAGO:** Deposite su pago a la cuenta Bancomer No. 1153813-9 llenando la ficha de depósito a nombre de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A C. Escriba su nombre completo en la parte superior de la ficha de depósito anotando el concepto por el cual deposita (membresía 2000) y envíe por fax una copia de la ficha, junto con su forma de actualización (ver forma anexa). Si radica fuera de México comunicarse con el Dr Zentella para especificar la forma de pago. Durante el VIII Congreso podrá canjear la ficha de depósito por un recibo oficial de la Asociación, por el pago de su cuota anual.

**Enviar copia de ficha de depósito y forma de actualización vía fax a:**

Sra Elisa Salles, al (5) 616-24-19, o al Dr Alejandro Zentella, al (5) 622-56-11.

## FORMA DE ACTUALIZACIÓN DE MEMBRESÍA A LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A C

Nombre completo: \_\_\_\_\_

Asociado:                      NUMERARIO                                       ESTUDIANTE

Cuota cubierta:                      \$300 pesos                                       \$150 pesos

Nombramiento: \_\_\_\_\_

Profesor de Bioquímica:                      SI                                       NO

Otra materia: \_\_\_\_\_

Carrera en la que imparte clase: \_\_\_\_\_

### ADSCRIPCIÓN

Departamento: \_\_\_\_\_

Facultad o escuela: \_\_\_\_\_

Universidad: \_\_\_\_\_

### DIRECCIÓN DE LA INSTITUCIÓN

Calle y número: \_\_\_\_\_

Colonia: \_\_\_\_\_

Ciudad o estado: \_\_\_\_\_

Código postal: \_\_\_\_\_ Apartado postal: \_\_\_\_\_

Teléfono: (    ) \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_ , Fax: (    ) \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_

Correo electrónico: \_\_\_\_\_

### DOMICILIO PARTICULAR

Calle y número: \_\_\_\_\_

Colonia: \_\_\_\_\_

Ciudad y estado: \_\_\_\_\_

Código postal: \_\_\_\_\_

Teléfono: (    ) \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_

**PRIMER ANUNCIO DE LA  
SEMANA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 2000**

Realización del

**XXVII TALLER DE ACTUALIZACIÓN BIOQUÍMICA**

y del

**VIII CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA  
DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, AC**

Durante el mes de agosto de 2000.

Sede propuesta

Palacio de la Escuela de Medicina

Facultad de Medicina de la UNAM

esquina de Venezuela y Brasil, Plaza de Santo Domingo

Centro Histórico de la Ciudad de México, D.F.

Departamento de Bioquímica  
de la Facultad de Medicina  
de la UNAM

Asociación Mexicana de  
Profesores de Bioquímica,  
AC

# XXVII TALLER DE ACTUALIZACIÓN BIOQUÍMICA

## Semana del 14 al 17 de agosto de 2000

HORA	LUNES 14	MARTES 15	MIÉRCOLES 16	JUEVES 17	VIERNES 18
8:00	Inscripción				
9:00 a 9:15	Inauguración	Nutrición. Emma Gloria Ramos CINVESTAV	Oxido nítrico. Diether Masher Fac. Medicina, UNAM	Toxicología molecular. Emilio Rojas IIB, UNAM	Presencia de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica (AMPB).
9:15 a 10:30	Cáncer. Saul Villa Treviño CINVESTAV				
RECESO					
10:45 a 12:15		Enzimas de alimentos. Isabel Guerrero Legarreta UAM-I	Citosinas en la fertilización. Guadalupe Maldonado Fac. de Medicina, UNAM	Drogadicción. Silvia Cruz CINVESTAV	Congreso de la AMPB.
RECESO					
12:30 a 14:00	Genética. Alicia González IFC, UNAM	Anemias y vitaminas. Homero Hernández CMN Siglo XXI	Citosequeleto. Mireya de la Garza CINVESTAV	Toxicología ambiental. Leticia Bucio UAM-I	Congreso de la AMPB
RECESO					
16:00 a 19:00	Taller organizado por el CINVESTAV.				

# CONVOCATORIA AL VIII CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, AC

**Viernes 18 de agosto de 2000**

Palacio de Medicina  
Facultad de Medicina de la UNAM  
Esquina de Venezuela y Brasil, Plaza de Santo Domingo  
Centro Histórico de la Ciudad de México, D.F.

**OBJETIVO:** El Congreso de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, AC tiene como principal objetivo que los profesores de bioquímica y áreas afines de las diferentes licenciaturas y posgrados del país, tengan un foro donde puedan compartir y discutir sus experiencias docentes en un ambiente crítico y académico. Nuestro propósito es favorecer la interacción entre los diferentes profesionales que participan en la enseñanza de la bioquímica y áreas afines.

**PARTICIPANTES:** A este foro están invitados: profesores instructores de laboratorio de bioquímica y áreas afines, de cualquier licenciatura o posgrado del país, así como investigadores interesados en la enseñanza.

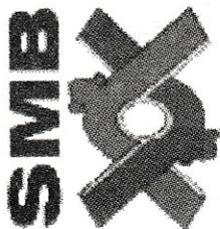
**INSCRIPCIÓN DE TRABAJOS:** Se aceptará un máximo de dos trabajos por ponente. Los trabajos podrán ser incluidos en las siguientes categorías:

- Análisis sobre la efectividad y/o aplicación de planes de estudio ya en marcha.
- Aplicación de sistemas de enseñanza mediada por computadora.
- Efectividad de diferentes sistemas de evaluación.
- Estudios poblacionales sobre índices de aprobación y/o deserción.
- Desarrollo de modelos bioquímicos y/o fisiológicos para la docencia.
- Aplicación y/o innovación de prácticas de laboratorio.
- Otros: experiencias docentes, técnicas motivacionales y/o desarrollo de material didáctico.

Los resúmenes de los trabajos propuestos no deberán exceder una hoja carta con 2.5 cm de margen y un tipo de letra arial de 12 puntos. Se deberá especificar el título, los autores y su adscripción. Deberá incluir una introducción, objetivo, métodos y/o técnicas empleadas, resultados y las conclusiones más relevantes.

Entregar el resumen con Elisa Salles Mora en el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM. Apartado Postal: 70-281, México D.F. 04510. Tel: 56-23-21-70, Fax 56-16-24-19, correo electrónico: beb@laguna.fmedic.unam.mx

**FECHA LÍMITE**  
**para entregar resúmenes**  
**Viernes 14 de julio de 2000.**



# XXIII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Bioquímica, A.C.

## Acapulco, Gro.

DEL 19 AL 24 DE NOVIEMBRE DEL 2000

### PROGRAMA PRELIMINAR DEL CONGRESO

DOMINGO 19	HORARIO	LUNES 20	MARTES 21	MIÉRCOLES 22	JUEVES 23	VIERNES 24
	8:15-9:15 Conferencias Magistrales	Dra. Rocío Sierra, Yale Univ. USA	Dr. Armando Aranda, UAEM	Dr. Mauricio Montal, Univ. California, USA	Dr. Joaquín V. Arribas López Hosp. Gral. Vall d' Hebron, Barcelona	Dr. Enrique Soto, INN "SZ"
	9:15-9:30	RECESO				
I N S C R I P C I O N E S	9:30-11:00 Simposia Plenarios	Plantas Alfredo Herrera Estrella	Genoma Julio Collado	Bioenergética Marietta Tuena	Biol. Mol. y Cel. de Hongos Jesús Aguirre	Inmunología Sergio Estrada Parra
	11:00-11:30	CAFÉ				
	11:30-13:00 Simposia Plenarios	Procariontes Fernando Bastarrachea	Financiamiento para Invest Gladys Faba	Neuroquímica Ricardo Tapia investigación Sergio Estrada- Orihuela	Relación industria-	Toxicología Guillermo Elizondo
	13:00-16:00	COMIDA				
	16:00-18:00  Simposia  Simultáneos	Genética I Carmen Gómez  Est. Fun. Membra. I Isabel Baeza  Est. Fun. Macro I Arturo Rojo  Metabolismo I Victoria Chagoya	Bioq. Fisiol. Micro. I Juan. P. Laclette  Des. Dif. Cel. I Alfonso Cárabez  Inmunología I Iris Estrada  Trans. Sin. Neuro. I Sergio Sánchez	<i>Tarde libre</i>	Genética II Miguel Gómez  Est. Fun. Membra. II Luis González  Est. Fun. Macro II - Juan Luis Rendón  Metabolismo II Marco A. Juárez	Bioq. Fisiol. Micro. II Mireya de la Garza  Des. Dif. Cel. II Dr. Luis Miguel Salgado  Inmunología II Rubén López  Trans. Sin. Neuro. II Mauricio Díaz Muñoz
Inauguración	18:00-18:30	CAFÉ				
Conferencia Inaugural Dr. Armando Gómez Puyou  17:00-18:00  Recepción de 18:15-19:00	18:30-23:00	Carteles NONES	Carteles NONES  Sesión de Negocios 20:00 a 21:00		Carteles PARES	Carteles PARES
						Cena-clausura 22:00

---

## PRESENTACIÓN

---

Estimados socios y colegas,

La Sociedad Mexicana de Bioquímica es una de las sociedades científicas más sólidas de México, la cual se mantiene con base en la calidad académica y científica de sus integrantes, por su profesionalismo y entusiasta participación en la divulgación de la ciencia tanto en sus instituciones como en los Congresos y actividades que organiza nuestra Sociedad.

En esta ocasión, el XXIII Congreso Nacional de Bioquímica se realizará en el puerto de Acapulco, Gro. Para este evento tan importante, en donde nuevamente los socios y estudiantes de diferentes estados de la República se vuelven a reunir para compartir e intercambiar ideas, se han hecho algunos cambios al programa de actividades por el Comité Organizador. En primer lugar, el Congreso durará seis días, iniciando el domingo 19 de noviembre del año 2000, con la Conferencia Inaugural a cargo del Dr. Armando Gómez Puyou, y concluyendo la noche del día viernes 24 de noviembre con una ceria-clausura. En segundo lugar, se han incluido los simposia La Relación Industria-Investigación y Financiamiento Para La Investigación, los cuales consideramos importantes dadas las condiciones actuales de la investigación científica en nuestro país. También habrá una tarde libre con el objeto de que los congresistas disfruten la bahía y a la vez se favorezca su convivencia.

Se realizarán durante las actividades vespertinas cuatro simposia simultáneos con una duración de dos horas, en los cuales se podrán discutir con amplitud aquellos trabajos que han sido elegidos por los Comités de Evaluación para tal efecto. También se ha modificado la duración y tiempo para visitar y discutir los carteles de los congresistas, los cuales estarán en exposición dos días en un horario sugerido de 18:00 a 23:00. Finalmente, para fomentar y estimular la participación de los estudiantes de doctorado, se han implementado los Premios "Socios Fundadores de la Sociedad Mexicana de Bioquímica": Con estos premios, se pretende también fortalecer la calidad de nuestra Sociedad. En este folleto se pueden ver las bases para participar en estos Premios.

El Comité Organizador tomó la decisión de elegir al puerto de Acapulco por varias razones. La primera es la belleza natural que encontramos en esta bahía mundialmente conocida. En segundo lugar, los servicios de transportación aérea y terrestre al Puerto Acapulqueño son excelentes y con horarios diversos y frecuentes. Las carreteras que conducen a Acapulco se han construido pensando en la comodidad y seguridad de los usuarios, y en particular, el traslado desde la Ciudad de México se hace en un tiempo relativamente corto.

Por otro lado, este puerto cuenta con una infraestructura hotelera y de servicios muy importante, de excelente calidad para atender como se merece a nuestros congresistas, razón por la cual se eligió el Hotel Hyatt, que ofrece una atención esmerada y personalizada a cada uno de sus huéspedes. Además, la localización del hotel les permitirá disfrutar de esta hermosa bahía y hará placentera su estancia en Acapulco. Para que nuestro Congreso tenga el éxito que todos deseamos, es necesaria su participación. Esperamos saludarlos personalmente en Acapulco.

---

## INSTRUCCIONES PARA LOS RESÚMENES

---

El resumen deberá estar encuadrado en un marco de 11.8 por 17 cm, en una hoja blanca con letra ARIAL, tamaño 12. No debe escribir texto fuera de esos márgenes. Tampoco dibuje el marco sobre el resumen, ni lo rebase.

El resumen debe iniciar con el título en MAYÚSCULAS y enseguida escriba el nombre de los autores, empezando con los apellidos y luego las iniciales de los nombres (ver ejemplo). Si hay un miembro numerario de la SMB dentro de los autores, subráyelo. Si hay dos o más, sólo subraye al responsable directo del proyecto. A continuación escriba la dependencia en donde se realizó el trabajo, incluyendo su dirección postal completa, teléfono y Fax. De ser posible, también indique su dirección electrónica. Deje un espacio para iniciar la descripción de su trabajo. Se sugiere seguir el formato de introducción, objetivos, resultados y conclusiones. Si es posible, incluya una o dos citas bibliográficas.

Ejemplo:

PURIFICACION DE LA CITOCROMO C OXIDASA DE *Polytomella spp.* Pérez Martínez, X.\*, Vázquez Acevedo, M.\*, Antaramián, A.\*\* y González Halphen, D.\*\* Departamento de Genética Molecular\* y Biología Celular\*\*. Instituto de Fisiología Celular, UNAM. Apdo. postal 70-600, 04510 México, D.F. Tel. 5622-56-20, Fax 5622-56-11. dhalphen@ifisiol.unam.mx

Se purificó la citocromo c oxidasa del alga unicelular incolora *Polytomella spp.* que es un pariente muy cercano del alga verde *Chlamydomonas reinhardtii*. Se obtuvo una...



En caso de haber tablas o figuras, éstas deberán quedar dentro del marco del texto, en un recuadro no mayor de 5.5 por 6 cm. No incluya fotografías o dibujos a color. Sólo se aceptarán resúmenes impresos en máquina láser o de inyección de tinta.

Se sugiere que los resúmenes de un mismo grupo de trabajo, se entreguen en bloque, con el nombre del socio

numerario. También deberá indicar en qué área del conocimiento será incluido su trabajo (ver listado).

Deberá entregar un original con una fotocopia y una reducción de 65% de excelente calidad, ya que será utilizada en la impresión de las memorias. Presente la copia de su inscripción al momento de entregar su resumen.

Para recibir la respuesta de la evaluación de su resumen por correo, será necesario que junto con éste, entregue un sobre con timbres con su nombre y dirección completa. Si deja su correo electrónico, éste puede ser el vehículo de comunicación.

Al recibir su resumen en las oficinas de la SMB, ubicadas en el Instituto de Fisiología Celular, UNAM, se le asignará un número, el cual deberá usar para cualquier aclaración.

### ÁREAS DE INVESTIGACIÓN PARA LOS RESÚMENES DEL XXIII CONGRESO NACIONAL DE BIOQUÍMICA

#### 1. Genética

- Regulación de la Expresión Genética
- Biología Molecular de Plantas
- Biología Molecular de la Interacción Planta Microorganismo
- Bioquímica y Biología Molecular de Parásitos
- Biología Molecular de virus
- Biología molecular de mamíferos
- Bases moleculares de alteraciones genéticas

#### 2. Estructura y Función de Macromoléculas (Est. Fun. Macro.)

- Péptidos y neuropéptidos
- Fisicoquímica de Macromoléculas
- Purificación de proteínas
- Estructura de proteínas

#### 3. Estructura y Función de Biomembranas (Est. Fun. Membr.)

- Bioenergética
- Transporte a través de membranas
- Fisicoquímica de membranas
- Transducción de señales

#### 4. Bioquímica y Fisiología de Microorganismos (Bioq. Fisiol. Micro.)

- Virus
- Bacterias
- Hongos
- Parásitos

#### 5. Desarrollo y Diferenciación Celular (Des. Dif. Cel.)

- Citoesqueleto
- Interacciones de la matriz celular
- Cáncer
- Control de la muerte celular (apoptosis)

#### 6. Inmunología

- Hipersensibilidad y alergia
- Citocinas
- Vacunas
- SIDA e infecciones virales
- Enfermedades autoinmunes

#### 7. Metabolismo y bases moleculares de la función celular

- Del Carbono y del Nitrógeno
- De nutrientes y vitaminas
- Metabolismo secundario en plantas
- Radicales libres, antioxidantes e isquemia
- En enfermedades

#### 8. Transmisión Sináptica y Neurobiología (Trans. Sin. Neuro.)

\*\*\* Se les informa a los congresistas que **NO HABRÁ CONSTANCIAS DE ASISTENCIA.**

---

**FECHA LÍMITE PARA ENTREGAR LOS RESÚMENES:  
25 DE AGOSTO DEL AÑO 2000**

---

Puede ser sometido cualquier trabajo científico inédito. Sólo se incorporarán al programa aquellos trabajos recibidos hasta el 25 de agosto del 2000, que estén acompañados por la forma de registro, el pago correspondiente de inscripción, que cubran las especificaciones solicitadas y hayan sido aceptados por el Comité Evaluador.

Los asistentes al Congreso, sean autores o co-autores, requieren pagar su inscripción. Los co-autores que no asistan quedan exentos de tal responsabilidad. Sólo los asistentes se harán acreedores a las memorias del Congreso. Presentar el comprobante de depósito al momento de entregar el resumen o anexar copia fotostática de éste si es enviado por correo. El pago deberá hacerse mediante depósito bancario (ver adelante).

#### LOS TRABAJOS E INSCRIPCIONES DEBERÁN SER ENVIADOS A LA OFICINA DE LA SOCIEDAD MEXICANA DE BIOQUÍMICA

Edificio del Instituto de Fisiología Celular, UNAM  
Apdo. Postal 70-600  
04510, México, D.F.  
Tel.: 5622-5603, 5622-5604 / Fax: 5616-2282

---

#### PREMIOS "SOCIOS FUNDADORES DE LA SOCIEDAD MEXICANA DE BIOQUÍMICA"

---

Una tarea fundamental de la Sociedad Mexicana de Bioquímica es fortalecer la academia de nuestra Sociedad, lo cual sólo puede lograrse con la participación profesional y responsable de sus integrantes. En este sentido, nuestra Sociedad, que congrega a un gran número de científicos del país, es la promotora que contribuye a la difusión del conocimiento a través de las diversas actividades que organiza, y al mismo tiempo, dar a conocer a aquellos nuevos científicos que surgen del posgrado o que están en vías de formación como investigadores independientes. Por estas razones, el Comité Organizador decidió implementar los Premios "Socios Fundadores de la Sociedad Mexicana de Bioquímica" para reconocer a los estudiantes que están desarrollando un trabajo relevante dentro de su área de conocimiento. Las bases para participar son las siguientes:

- Estar inscritos oficialmente en un posgrado.
- Presentar un trabajo en extenso, inédito, antes del 28 de julio del año 2000.

3. No se aceptarán trabajos en prensa ni aceptados en cualquier tipo de revista científica.
4. El autor y asesor deberán firmar una carta compromiso que avale al punto anterior.
5. Habrá ocho premios, uno por cada Área de Investigación propuesto en este Congreso.
6. El trabajo será evaluado por un Comité electo por El Comité organizador.
7. La decisión del Comité de Evaluación será inapelable.
8. Los Premios se podrán declarar desiertos.
9. Los alumnos galardonados serán presentados en la Inauguración del Congreso.
10. El premio consistirá en un Diploma y un premio en efectivo.

Todos los trabajos deberán enviarse a las oficinas de la Sociedad Mexicana de Bioquímica a más tardar el día martes 28 de julio del año 2000.

**CUOTAS DE INSCRIPCIÓN AL CONGRESO**

Categoría	Antes del 25 de agosto, 2000	Después:
Socios Numerarios	\$600.00	\$ 700.00
No socios (Congresistas)	\$800.00	\$1,000.00
Socios Estudiantes	\$300.00	\$ 400.00
Estudiantes*	\$500.00	\$ 700.00

\*Previa comprobación

**Sin excepción todo congresista deberá cubrir su cuota de inscripción.** Favor de pagar su cuota depositando a la Cuenta Maestra de Bancomer 0913098-2, Suc. Plaza Laurel No. 06, en Cuernavaca, Mor., o directamente en las oficinas de la Sociedad Mexicana de Bioquímica.

**BECAS**

El Comité Organizador otorgará un número limitado de medias becas para estudiantes que no sean apoyados por su institución, para lo cual, deberán enviar una solicitud solicitando la beca avalada por su asesor y un representante oficial en el que se declare la falta de recursos de la institución para apoyar la asistencia del estudiante al congreso.

**SEDE DEL CONGRESO**

La Sede del Congreso es el Hotel Hyatt en Acapulco, Gro.

**RESERVACIÓN DEL HOTEL**

Hemos preparado un "Paquete Congreso" del domingo 19 al sábado 25 de noviembre del 2000 en las siguientes categorías:

Precio por persona en:	Categoría Montaña	Categoría Standard	Categoría de Lujo
Habitación triple	\$4,200.00	\$4,500.00	\$4,700.00
Habitación doble	\$4,500.00	\$4,800.00	\$5,200.00
Habitación sencilla	\$6,200.00	\$6,900.00	\$7,600.00

El Paquete Congreso incluye:  
 6 noches de alojamiento  
 6 desayunos buffet  
 6 comidas o cenas buffet  
 Impuestos y propinas

Para asegurar su reservación, se les solicita un depósito de \$1000.00 por persona o el pago total de la estancia, no después del 25 de agosto del año 2000, a la Cuenta Maestra de Bancomer 0913098-2, Suc. Plaza Laurel No. 06, en Cuernavaca, Mor. Este depósito le será abonado a su cuenta del paquete y las facturas serán expedidas por el hotel al registrar su salida. Toda reservación solicitada después de esta fecha, estará sujeta a disponibilidad de espacio debido al número limitado de habitaciones contratadas.

Las personas que deseen reservar noches extras previas al Congreso, o posteriores a éste, el Hotel garantiza mantener los precios del evento y quedan sujetas a disponibilidad. Favor de comunicarlo al Comité Organizador.

**PAGO DEL HOTEL**

En caso de compartir en una habitación doble, por favor indique el nombre del Congresista con quien desea compartir, o de lo contrario, le será asignada una persona, para lo cual es necesario que nos indique su sexo. En caso de no encontrar un acompañante, nos reservamos el derecho de asignarle una habitación sencilla y cobrarle el suplemento correspondiente. Para habitaciones doble y triples, el Paquete Congreso sólo aplica a personas que estén durante todo el Congreso, esto es, si el acompañante asignado cancela en un corto tiempo antes del Congreso o no se presenta, la persona o personas que quedan en la habitación cubrirán la diferencia del cuarto. Ejemplo: habitación doble, categoría Montaña, cada persona paga \$4,500.00; uno cancela y no asiste, entonces la persona que queda tendrá que pagar \$6,200.00.

Para asistir al Congreso de Bioquímica, usted podrá hacer pagos mensuales hasta cubrir el monto total del paquete antes del 25 de agosto.

El Hotel Hyatt hará un esfuerzo por entregar a los congresistas las habitaciones del Paquete Congreso entre las 11:00 y 14:00 del domingo 19 de noviembre, considerando que Ud. llegará a comer, o si lo prefiere, a cenar. Estos alimentos están incluidos en el Paquete, al igual que el desayuno del sábado 25 de noviembre.

**CANCELACIONES**

Cada cancelación está sujeta a cargos por concepto de comunicación, comisiones bancarias y hoteleras y aplicarán las siguientes políticas:

Antes del 8 de septiembre del 2000, se reembolsará el 90% de los servicios solicitados.  
 Del 9 al 30 de septiembre del 2000 se reembolsará el 50% de los servicios solicitados.  
 A partir del 1 de octubre del 2000 no habrá reembolso alguno.  
 Todas las cancelaciones deberán recibirse por escrito.  
 Todo reembolso se hará después del Congreso.

---

**INFORMACIÓN IMPORTANTE**


---

Si va a viajar al Puerto de Acapulco por carretera, los precios actuales de las casetas son los siguientes:

Tlalpan	\$ 68.20
Alpuyeca	\$ 50.60
Paso Morelos	\$139.70
Palo Blanco	\$ 82.50
La Venta	\$ 77.00
Metlapil	\$ 44.00
Túnel	\$ 49.50
<b>Total de ida</b>	<b>\$ 511.50</b>
<b>Total viaje redondo</b>	<b>\$1,023.00</b>

---

**AUTOBUSES QUE LLEGAN A ACAPULCO**


---

<b>Estrella Blanca</b> (Central del Norte; Tel., 5729 0707)	
<b>Ejecutivo</b>	\$304.00
24 asientos, aire acondicionado y descansapiernas.	
<b>Primera Clase</b>	\$215.00
<b>Estrella Blanca</b> (Central del Sur; Tel.: 5628 5739)	
<b>Ejecutivo</b>	\$304.00
<b>Primera Clase</b>	\$215.00
<b>Estrella de Oro</b> (Central del Sur, Tel.: 5549 8520 y 5549 6980)	
<b>Primera Clase</b>	\$195.00
Aire acondicionado y sanitario.	
<b>Plus</b>	\$205.00
Refrescos y monitores.	
<b>Crucero</b>	\$210.00
Dos pisos.	
<b>Diamante</b>	\$305.00
22 pasajeros y asientos reposet.	

**Nota:** a cada una de las categorías se le añaden los servicios de la anterior.

La Agencia de Viajes Tiffany propone transportación Ciudad de México-Acapulco-Ciudad de México, en camiones de 40 pasajeros, con baño y televisión, con un costo de \$535.00 por persona. El camión saldría el domingo 19 de noviembre del sitio que elijan los pasajeros, y los regresa al mismo sitio el sábado 25 a la hora que proponga el grupo. Para mantener este precio, es necesario que el camión se alquile completo (40 pasajeros). Mayores informes con la Sra. Guadalupe Ramírez.

Las líneas aéreas que vuelan a Acapulco son:

Taesa  
Aeroméxico  
Mexicana

Para contratar los servicios de estas líneas, se puede comunicar con el Lic. Pelayo Maza Varea, de la agencia de viajes Tiffany, Tel.: 5580 2002  
correo electrónico: vtiffany@df1.telmex.net.mx.

### Atentamente

**EL COMITÉ ORGANIZADOR DEL  
XXIII CONGRESO NACIONAL DE BIOQUÍMICA**

**MESA DIRECTIVA 1999-2001**

**Dr. Edmundo Chávez Cossío,**  
Tel.: 5573-29-11; Fax: 5573-09-26;  
echavez@cenids.ssa.gob.mx

**Dr. Federico Martínez Montes,**  
Tel.: 5623-21-68, Fax: 5616-24-19,  
fedem@servidor.unam.mx, o  
fedem@laguna.fmedic.unam.mx

**Dr. Heliodoro Celis Sandoval,**  
Tel.: 5622-5667, Fax: 5622-5611,  
hcelis@ifisiol.unam.mx

**Dra. Gloria Soberón Chávez**  
Tel. (5) 6227629/ 6227634, Fax: (73) 172388  
correo electrónico: gloria@ibt.unam.mx

---

**DUDAS O COMENTARIOS**


---

En caso de tener alguna duda o comentario, por favor comuníquese con la **Sra. Guadalupe Ramírez**, a los teléfonos (5) 622-5603 y (5) 622-5604, Fax: 616-22-82, o al correo electrónico [secdir@ifisiol.unam.mx](mailto:secdir@ifisiol.unam.mx)

Para información, visite la página en Internet de la Sociedad Mexicana de Bioquímica en la siguiente dirección:

<http://ifcsun1.ifisiol.unam.mx/smb/>

## CONGRESOS NACIONALES E INTERNACIONALES

### KEY STONE SYMPOSIA (realizados en los Estados Unidos de América)

- Experimental and clinical regulation of angiogenesis  
Salt Lake City, UT.  
Del 2 al 7 marzo de 2000.
- Assembly of signaling networks  
Taos, NM.  
Del 6 al 12 de marzo de 2000.
- Potassium channels: structure, function and therapeutic utilities  
Tahoe City, CA.  
Del 11 al 16 de marzo de 2000.
- Genetic basis of brain development and disfunction  
Taos, NM.  
Del 18 al 23 de marzo de 2000.
- Advances in human breast and prostate cancer  
Incline Village, NV.  
Del 19 al 24 de marzo de 2000.
- Joint regulation of signaling pathways by integrins and growth factors  
Breckenridge, CO.  
Del 25 al 31 de marzo de 2000.
- Nuclear receptors  
Steamboat Springs, CO.  
Del 25 al 31 de marzo de 2000.
- Keystone millennium  
Keystone, CO.  
Del 31 de marzo al 4 de abril de 2000.
- Mechanisms of immunological tolerance and its breakdown  
Steamboat Springs, CO.  
Del 31 de marzo al 6 de abril de 2000.

- Novel biological approaches to HIV-1 infection based on new insights into HIV-biology  
Keystone, CO.  
Del 4 al 10 de abril

- Cytokines and disease  
Snowbird, UT.  
Del 8 al 14 de abril

Información para cualquiera de las conferencias:

Tel: (970) 262-12-30

Fax: (970) 262-15-25

Correo electrónico:

[keystone@symposia.com](mailto:keystone@symposia.com)

<http://www.symposia.com>

### 4<sup>TH</sup> INTERNATIONAL WORKSHOP ON CALRETICULIN

Del 2 al 5 de abril de 2000,

Mansfield College,

Universidad de Oxford

Información completa en:

<http://www.uwcm.ac.uk/uwcm/mb/crt2000.html>

Paul Eggleton

MRC Immunochemistry,

Department of Biochemistry

University of Oxford

South Park Rd.

Oxford OX1 3QU

England UK

e-mail: [eggleton@bioch.ox.ac.uk](mailto:eggleton@bioch.ox.ac.uk)

### CURSO FILOSOFÍA DE LA CIENCIA, IMPARTIDO POR EL DR. MARIO BUNGE

Del 24 al 28 de abril de 2000,  
en la ciudad de Oaxaca,  
Oaxaca, México.

Información completa en:  
La Unidad de Bioquímica e  
Inmunología del Instituto  
Tecnológico de Oaxaca  
Tel: (01-951) 5 04 52,  
(01-951) 6 17 22 ext.180,  
Fax: (01-951) 5 25 63  
o al Colegio de Oaxaca  
Tel/Fax: (01-951) 5 25 63  
Correo electrónico:

[laborato@antequera.antequera.com](mailto:laborato@antequera.antequera.com)

[cordova@oax1.telmex.net.mx](mailto:cordova@oax1.telmex.net.mx)

[cmayoral@antequera.com](mailto:cmayoral@antequera.com)

### 18<sup>TH</sup> INTERNATIONAL CONGRESS IUBMB/FEBS 2000

Del 16 al 20 de julio de 2000,

en Birmingham, Inglaterra

Información completa en:

<http://www.iubmb2000.org/programme/programme.cfm?meetno=iubmb2000>

Keith Gull o Adam Marshall

59, Portland place

London, W1N 3AJ

England, UK

e-mail: [info@iubmb2000.org](mailto:info@iubmb2000.org)

e-mail:

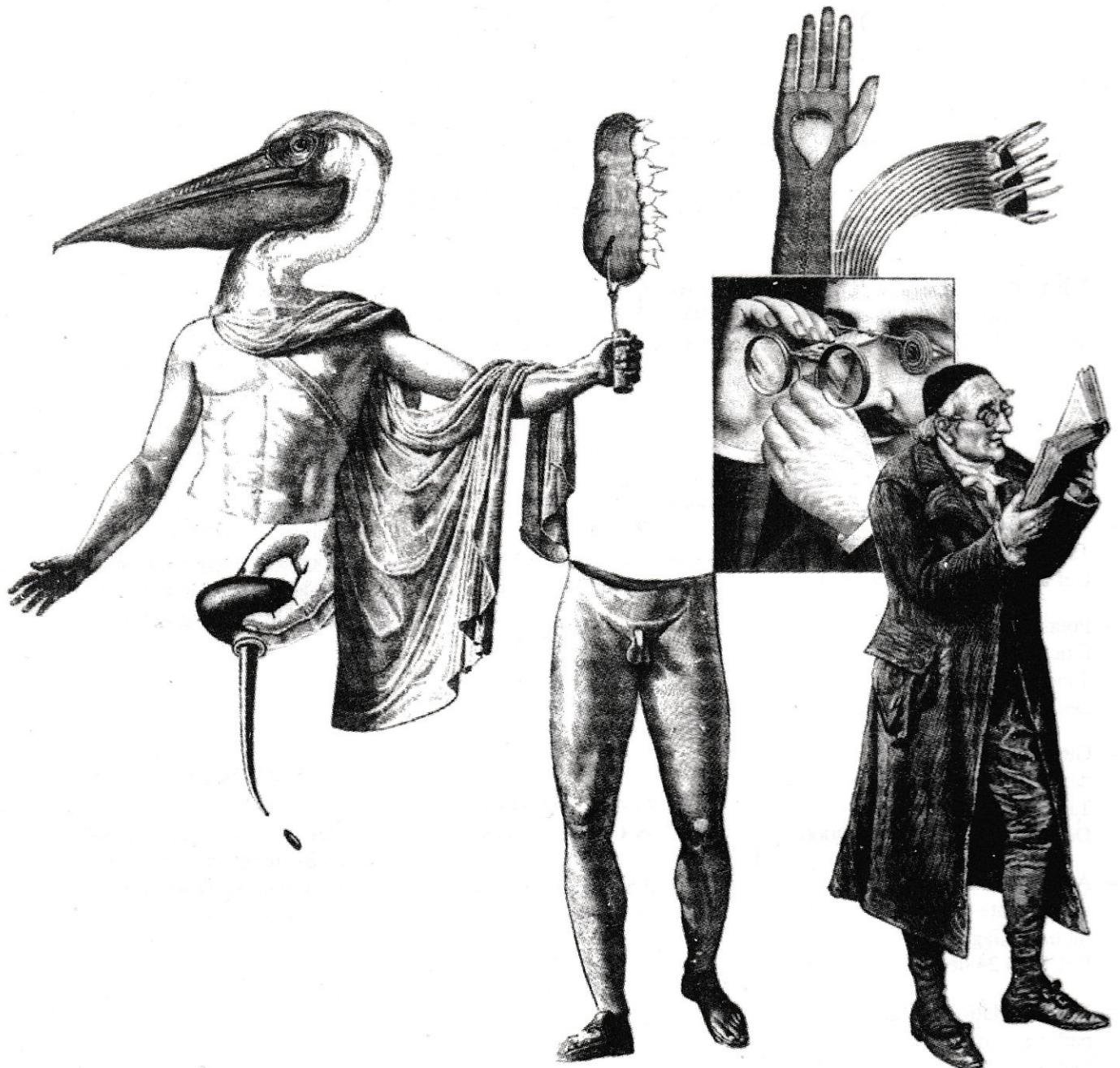
[adam.marshall@portlandpress.com](mailto:adam.marshall@portlandpress.com)

### XX CONGRESO LATINOAMERICANO DE FISIOLÓGIA

Del 3 al 7 de septiembre de 2000,  
en la ciudad de Cancún,  
Yucatán, México.

Información completa en:

<http://www.servimed.com.mx>



ya dentro de la ciencia? Colegio de Oaxaca

# Filosofía

DE LA

# CIENCIA

Curso Internacional por el Profesor

## Mario Bunge

FAC. DE MEDICINA UNAM • EL COLEGIO DE OAXACA  
• INSTITUTO TECNOLÓGICO DE OAXACA • LABORATORIO DE PATOLOGÍA CLÍNICA "DR. PÉREZ ORTEGA"  
• SISTEMA DE INVESTIGACIÓN "BENITO JUÁREZ" (SIBEJ)  
INFORMES: EL COLEGIO DE OAXACA, ALAMOS 228, COL. REFORMA. TELÉFONOS: (951) 52563, 61140, 57595  
• [cmayoral@antequera.com](mailto:cmayoral@antequera.com)  
[laborato@antequera.antequera.com](mailto:laborato@antequera.antequera.com)  
[CORALVA@oax1.telmex.net.mx](mailto:CORALVA@oax1.telmex.net.mx)

ABRIL 24 AL 28 - AÑO 2000 - OAXACA, MÉXICO

## INTERESADOS EN PERTENECER A LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A C

Para quienes deseen formar parte de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica A C (AMPB), les recordamos que de acuerdo al artículo 36° de los estatutos que rigen a la Asociación, los candidatos deberán ser profesionales que ejerzan la docencia de bioquímica en cualquier centro de educación a partir del nivel medio superior.

Los interesados en ser miembros numerarios de nuestra Asociación deberán enviar una carta solicitando su ingreso a la Asociación junto con su curriculum vitae. Esta solicitud deberá ir acompañada por dos cartas de apoyo de dos miembros numerarios. Cada solicitud será evaluada por la Comisión de Admisión que se reúne una vez al año y emite su dictamen que será hecho público durante la sesión regular de negocios que se realiza durante el Congreso de la AMPB. Antes de ser aceptado no es necesario hacer pago alguno en referencia a la membresía.

Si no conoce a ningún miembro que pueda apoyar su solicitud háganoslo saber y envíe su solicitud al:

Dr Alejandro Zentella  
Apartado Postal 70-243  
México DF 04510 México  
Fax: (5) 622-56-11  
Correo electrónico: azentell@ifcsun1.ifisiol.unam.mx

### A LOS LECTORES DEL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

#### DONATIVO ANUAL 2000

El BEB inicia su décimo noveno año de publicación y debido a las condiciones económicas imperantes en México, nos permitimos solicitarles de la manera más atenta, el envío de un donativo extracuotas de \$ 200.00 (docientos pesos) o bien \$20.00 US dólares, que hará posible continuar con la elaboración y distribución del volumen 19 de nuestro Boletín.

El donativo puede hacerse mediante un depósito bancario a la cuenta número **1153813-9 de Bancomer**, o de un giro bancario a nombre de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A C.

En espera de su comprensión y colaboración aprovechamos para enviarles un cordial saludo.

Atentamente  
El Comité Editorial

### ¿TE INTERESARÍA SER CORRESPONSAL DEL BEB EN TU LOCALIDAD?

Si eres miembro de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica A C o suscriptor del BEB y radicas fuera de la Ciudad de México o de su zona conurbada, TÚ PODRÍAS SER UN CORRESPONSAL DEL BEB. Nos gustaría contar con uno o varios corresponsales adscritos a las instituciones de Educación Superior de cada estado de la República Mexicana que nos permitan saber quiénes conforman la comunidad académica de la región y conocer las noticias y las actividades más relevantes que ocurran o vayan a ocurrir en su localidad o región (congresos, cursos, seminarios, necesidades de recursos humanos y materiales y otras noticias o acontecimientos de tipo académico). Queremos hacer extensiva esta invitación a nuestros colegas de Centro y Sudamérica, así como de otros países de habla hispana.

¿Te ha interesado esta invitación? Entonces envíanos tu propuesta directamente al Coordinador de Corresponsales, Comité Editorial del BEB, Apartado Postal 70-281, México 04510, D F, MÉXICO. O bien al Fax (525) 616 2419.

Atentamente  
Yolanda Saldaña Balmori, Coord. de Corresponsales  
del Comité Editorial del BEB

## INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DEL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

**El BEB es una revista dedicada a la divulgación de temas interesantes y relevantes en el campo de la Bioquímica y de áreas afines. Está dirigido a profesores y estudiantes, por lo que se sugiere que la presentación de los trabajos se ajuste a sus lectores y sea clara y explícita. Serán bienvenidas las contribuciones en forma de artículos de revisión y otras comunicaciones. Se solicita a los autores que se ajusten a los siguientes lineamientos para facilitar la labor editorial:**

### I. ARTÍCULOS DE REVISIÓN

- 1) El artículo deberá enviarse en un disco para computadora, escrito en los procesadores de textos "Winword" o "Word-perfect", con una extensión máxima de 15 cuartillas a doble espacio (27 renglones por cuartilla y 70 caracteres por renglón). Éste deberá ir acompañado de tres impresiones del artículo y de la solicitud para su publicación, firmada por cada uno de los autores.
- 2) El trabajo debe iniciarse con el título del artículo, nombre de los autores, iniciando por nombre propio completo y marcado como pie de nota, la afiliación del o los autores (por ejemplo: departamento e institución), domicilio, código postal, ciudad, estado, país, teléfono, fax y correo electrónico en caso de tenerlos. Si el título del trabajo es largo, debe incluirse cuatro renglones más abajo, un título breve con un máximo de 60 caracteres, incluyendo los espacios, para insertarlo como cabeza de página.
- 3) Se deberá incluir un resumen en idioma español y uno en inglés, de más o menos diez renglones, que irán seguidos por conjuntos de tres a seis palabras clave.
- 4) Se sugiere un máximo de quince referencias, tanto específicas como de lecturas recomendadas, numeradas entre paréntesis en el texto de forma progresiva conforme vayan apareciendo. Cada una debe contener: nombres de los autores, año de publicación entre paréntesis, título del artículo, nombre oficial de la revista abreviado como aparece en el Current Contents, número del volumen en cursivas y antecedido por dos puntos el número de la primera y últimas páginas, de acuerdo con lo que se muestra en el siguiente ejemplo:

Fraga C G y Oteiza P I (1995) Vitaminas antioxidantes: Bioquímica, Nutrición y participación en la prevención de ciertas patologías. *Bol Educ Bioq* 14:12-17.

Weindruch R (1996) Caloric restriction and aging. *Sci Amer* 274:32-38.

Los artículos en libros deberán citarse de la siguiente forma:

Wood K J (1992) Tolerance to alloantigens. En: *The molecular biology of immunosuppression*. Editor: Thomson A W. John Willey and Sons Ltd, pp 81-104.

Los libros se citarán de acuerdo con este ejemplo y podrán incluir las páginas totales o las consultadas:

Lehninger A L, Nelson D L y Cox M M (1993) *Principles of Biochemistry*. Worth Publishers, New York, NY, USA, p 1013.

- 5) Se aceptarán como máximo seis ilustraciones, figuras más tablas, las cuales deberán estar dibujadas sobre papel albanene con tinta china o bien impresiones láser o presentarse como fotografías en blanco y negro sobre papel brillante, cuya localización deberá estar señalada en el texto. La limitación en el número de figuras, de tablas y de referencias, obliga a los autores a que se seleccionen aquellas que sean realmente importantes e informativas. Las figuras se deberán numerar con arábigos y las tablas con romanos. Las leyendas y los pies de figuras se deberán adicionar en una hoja aparte. Se deberá considerar que las figuras y las tablas se reducirán de tamaño, aproximadamente a la mitad o a un cuarto de las dimensiones de una hoja carta; las letras y números más pequeños no deben ser menores a los dos milímetros. Las tablas se deberán presentar conforme alguna de las publicadas en los números de 1999.
- 6) Se deberá evitar hasta donde sea posible los pies de páginas. Las abreviaturas poco comunes que se utilicen en el texto deberán enlistarse en la primera página.
- 7) Se recomienda revisar los números recientes para familiarizarse con el estilo de la revista.

### II. OTRAS COMUNICACIONES

- 1) El tema de las otras comunicaciones puede ser muy variado; desde resúmenes de artículos interesantes, relevantes o significativos, información de tipo general, avisos de reuniones académicas y cursos, bolsa de trabajo, etcétera.
- 2) El contenido deberá ser desarrollado en forma resumida y de una manera explícita.
- 3) El trabajo deberá enviarse igual que como se especifica en el inciso I-1.
- 4) Se aceptará un máximo de dos referencias incluidas entre paréntesis en el texto según el inciso I-4. En caso de que se juzgue necesario se podrá incluir una figura o una tabla, de acuerdo con las características que se indican en el inciso I-5.

**Los manuscritos serán leídos por tres revisores. Las correcciones y sugerencias, así como las pruebas de página se enviarán al primer autor. En caso necesario se recurrirá a revisores externos al Comité Editorial.**

**El disco y las tres copias de los manuscritos se deberán enviar al Boletín de Educación Bioquímica, Apartado Postal 70-281, México 04510, DF o bien por intermedio del corresponsal del BEB en su localidad.**

**CONTENIDO**

**EDITORIAL**

PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DE REVISIONES DEL BEB EN LA PÁGINA ELECTRÓNICA DE LA SMB: COLABORACIÓN ENTRE DOS ASOCIACIONES PREOCUPADAS POR APOYAR LA ENSEÑANZA DE LA BIOQUÍMICA  
Ruy Pérez Montfort  
y Alejandro Zentella Dehesa ..... 4

**ARTÍCULOS**

LAS ASPARAGINASAS DE MICROORGANISMOS Y SU USO CLÍNICO  
Leobardo Ortuño Olea  
y Socorro Durán Vargas ..... 9

ESTUDIO COMPUTARIZADO DE LA PREDICCIÓN ESTRUCTURAL COMPARADA DE LAS CARNITINA PALMITOILTRANSFERASAS  
Héctor Peinado y Antonio Liras ..... 16

MECANISMOS DE EXPULSIÓN DE METALES TÓXICOS EN BACTERIAS  
Carlos Cervantes ..... 24

LAS ACTINAS Y SU ESTUDIO EN PARÁSITOS  
Olivia A Reynoso-Dugoing, Mayra Y Cruz-Rivera, Javier Ambrosio y Ana Flisser ..... 32

QUÍMICA ORGÁNICA: UN ENFOQUE BIOMÉDICO  
Tomás Alberto Díez-González ..... 36

**OTRAS COMUNICACIONES**

GÜNTER BLOBLE, PREMIO NOBEL 2000: LOS CÓDIGOS POSTALES DE LA CÉLULA Y EL MECANISMO MOLECULAR QUE DETERMINA EL DESTINO SUBCELULAR DE CADA PROTEÍNA ..... 43

INFORME DEL XXIV TALLER DE ACTUALIZACIÓN BIOQUÍMICA  
El Comité Organizador ..... 47

COMENTARIOS SOBRE LIBROS DE RECIENTE PUBLICACIÓN  
Sergio Sánchez Esquivel ..... 51

PROBLEMA BIOQUÍMICO  
Raúl Covián y Rafael Sánchez Moreno ..... 52

CRUCIBIOQ  
Yolanda Saldaña Balmori ..... 53

RESPUESTA AL PROBLEMA BIOQUÍMICO  
Raúl Covián y Rafael Sánchez Moreno ..... 54

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ  
Yolanda Saldaña Balmori ..... 55

**CONVOCATORIAS**

REGISTRO DE PRECANDIDATOS PARA OCUPAR LA PRESIDENCIA DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A C, DURANTE EL BIENIO 2000-2001 ..... 56

CUOTAS PARA LA ACTUALIZACIÓN DE MEMBRESÍA Y ASISTENCIA AL VIII CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A C ..... 57

SEMANA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 2000  
Primer anuncio ..... 59

VIII CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, AC  
Primera convocatoria ..... 61

XXIII CONGRESO NACIONAL DE LA SOCIEDAD MEXICANA DE BIOQUÍMICA, A C ..... 62

CONGRESOS NACIONALES E INTERNACIONALES ..... 67

INTERESADOS EN PERTENECER A LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A C ..... 69

A LOS LECTORES DEL BEB  
Donativo Anual 2000 ..... 69

¿TE INTERESARÍA SER CORRESPONSAL DEL BEB EN TU LOCALIDAD? ..... 69

INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DEL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA ..... 70