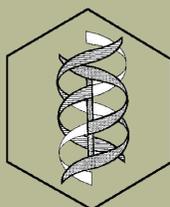


Revista de Educación Bioquímica

REB 2021



Órgano de información de la
Asociación Mexicana de
Profesores de Bioquímica, A.C.



Sociedad Mexicana de
Bioquímica, A.C.

Departamento de Bioquímica
Facultad de Medicina
UNAM

Facultad de Medicina



EDITADO DESDE 1982 COMO BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

COMITÉ EDITORIAL

EDITOR EN JEFE

JOSÉ VÍCTOR CALDERÓN SALINAS

Departamento de Bioquímica
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

EDITORES

ARTURO BECERRA BRACHO

Facultad de Ciencias
Universidad Nacional Autónoma de México

RAFAEL CAMACHO CARRANZA

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Departamento de Medicina, Genómica y Toxicología Ambiental
Universidad Nacional Autónoma de México

KARLA GUADALUPE CARVAJAL AGUILERA

Instituto Nacional de Pediatría

ALICIA GAMBOA DE BUEN

Instituto de Ecología
Universidad Nacional Autónoma de México

MARCO ANTONIO JUÁREZ OROPEZA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

MARÍA ESTHER REVUELTA MIRANDA

Sección Bioquímica y Farmacología Humana
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

ROCÍO SALCEDA SACANELLES

Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

YOLANDA SALDAÑA BALMORI

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

VÍCTOR M. VALDES LÓPEZ

Facultad de Ciencias
Universidad Nacional Autónoma de México

ÁNGEL ZARAIN HERZBERG

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

EDITORES FUNDADORES

GUILLERMO CARVAJAL SANDOVAL

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias
e Instituto Politécnico Nacional

JESÚS MANUEL LEÓN CÁZARES

Facultad de Ciencias Naturales
Universidad Autónoma de Querétaro

ENRIQUE PIÑA GARZA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

YOLANDA SALDAÑA BALMORI

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

SERGIO SÁNCHEZ ESQUIVEL

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

CORRESPONSALES

ROCÍO SALCEDA SACANELLES

Coordinadora
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

MARISELA AGUIRRE RAMÍREZ

Instituto de Ciencias Biomédicas
Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Chihuahua

MARÍA MALDONADO VEGA

Dirección de Planeación, Enseñanza e Investigación
Hospital Regional de Alta Especialidad del Bajío

JUAN RAFAEL RIESGO ESCOBAR

Instituto de Neurobiología, UNAM
Campus Juriquilla, UNAM

ERIKA TORRES OCHOA

Departamento Académico de Ingeniería en Pesquerías
Universidad Autónoma de Baja California Sur

Publicación incluida por el Centro de Información Científica y Humanística de la Universidad Nacional Autónoma de México en la base de datos Periódica, Iresie, Redalyc, Latindex y Scielo.

REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA (REB), Volumen 40, Número 1, marzo de 2021, publicación trimestral, editada por Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C., Avenida Universidad No. 3000, Colonia Universidad Nacional Autónoma de México, Delegación Coyoacán, C.P. 04510. Ciudad de México, México. Correspondencia: Apartado Postal 70-281, Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México, México. Correo E: reb@bq.unam.mx, jcalder@cinvestav.mx

<http://www.facmed.unam.mx/publicaciones/ampb/index.html>
<https://rebeducation.wordpress.com/>

Editor responsable Dr. José Víctor Calderón Salinas. ISSN: 1870-3690. Reserva de derechos al Uso Exclusivo No. 04-2015-113014523300-203, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Diseño: Celia Virginia Sánchez Meza, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM. Disponible en marzo del 2021. El contenido de los artículos y las opiniones expresadas en ellos son responsabilidad de los autores y no reflejan necesariamente las del Comité Editorial. Se autoriza la reproducción parcial o total de los textos aquí publicados siempre y cuando se cite la fuente completa y la dirección electrónica de la publicación.

CONTENIDO

COMITÉ EDITORIAL

EDITORIAL

LA EDUCACIÓN EN LA PANDEMIA José Víctor Calderón Salinas Carlos Hernández Luna.....	3
---	---

ARTÍCULOS

CLASE INVERSA Y APRENDIZAJE ACTIVO PARA INCENTIVAR LA PARTICIPACIÓN Y LA MOTIVACIÓN DE LOS ALUMNOS EN PRÁCTICAS DE LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Andrés González y María F. Fillat.....	4
¿CÓMO IDENTIFICO MICRORNAS EN MI PLANTA? Mayra Liliana López-Valle y Svetlana Shishkova.....	13

OTRAS COMUNICACIONES

CRUCIBIOQ SÍNDROME METABÓLICO Yolanda Saldaña Balmori Patricia V Torres Durán y Marco Antonio Juárez Oropeza.....	27
DECONSTRUCCIÓN DE LA CLASE INVERSA Rafael Camacho-Carranza y María De la Luz Camacho-D'Amico.....	31
SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ SÍNDROME METABÓLICO Yolanda Saldaña Balmori Patricia V Torres Durán y Marco Antonio Juárez Oropeza.....	34
INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DE LA REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA.....	35

EDITORIAL

LA EDUCACIÓN EN LA PANDEMIA

La pandemia de COVID19 nos ha impuesto un orden diferente con respecto a los sistemas clásicos de educación en muy diversos sentidos, el proceso de adaptación ha sido lento, no pocas veces muy complicado y casi nunca completo. El problema nos tomó por sorpresa obligándonos a migrar rápidamente a un sistema de educación a distancia; aun cuando desde hace tiempo debimos de haber incursionado y profundizado en diferentes formas del uso y apropiación de plataformas digitales, de las tecnologías de comunicación individual y grupal avanzada, de los canales y formas de comunicación y de la preparación generalizada de tecnologías para sus aplicaciones en la educación a distancia, todo ello por lo menos de forma mixta o semi-presencial, pero se trató por mucho tiempo, solo de una buena intención antes de la pandemia.

Los problemas que enfrentamos ahora son múltiples y de muy diferentes tipos, lo cual ha hecho más complicado el trabajo académico-científico y las aproximaciones de resolución necesitan ser cada vez más creativas para poder solventar los diferentes puntos de complicación instrumental, logística, estratégica y conceptual.

Los equipos de cómputo y los programas necesarios para la aplicación óptima de las tecnologías de la información para hacer frente a la educación a distancia con los elementos y procesos de avanzada adecuada, tienen un acceso limitado por razones económicas para profesores y aún más para los alumnos. La idea de requerir solamente de un dispositivo con internet y dos o tres plataformas para la comunicación grupal de uso gratuito, implica una simplificación inaceptable. Se requieren equipos con la suficiente potencia de cómputo, memorias RAM con capacidad para correr programas que permitan la utilización de pizarrones electrónicos, aditamentos para la presentación y manejo electrónico de esquemas digitales, sistemas que soporten salones virtuales con di-

ferentes aplicaciones de archivos compartidos e interactivos, generación de exámenes en línea y calificaciones automáticas, encuestas anónimas. Son esenciales los sistemas de video, sonido, cámaras y micrófonos con alta definición. Varios equipos que permitan la comunicación bidireccional, la revisión de textos y elementos de revisión y corrección. Claro que parecerá excesivo, pero lo pensamos así, porque no estamos inmersos en esta necesidad tecnológica y en su optimización. Y estas exigencias que difícilmente pueden ser cubiertas por los profesores, por supuesto no tienen un eco en los sistemas educativos públicos o privados, que no preveían un proceso que demandara tales recursos y menos aún para ser llevados a casa de profesores o alumnos y los pocos, aunque con notables esfuerzos para obtener el acceso a equipo, particularmente por alumnos en mayor vulnerabilidad; adicional a que las guías para utilizar las plataformas de comunicación, han sido insuficientes.

Las plataformas de comunicación virtual con licencias libres se emplean desde hace muchos años, los accesos gratuitos se han utilizado por profesores y alumnos discretamente y todos los hemos usado frecuentemente más con fines de comunicación personal que con intenciones académicas. Tales plataformas detectaron muy tempranamente en esta época de pandemia, que iban a tener un papel predominante en los procesos de educación a distancia, las plataformas abrieron más y mejores aplicaciones y migraron muchos de sus servicios al formato de uso libre, incrementaron sus funciones, los tiempos de acceso y las posibilidades de colaboración y compatibilidad entre sistemas, programas y plataformas. Muchas instituciones públicas y privadas adquirieron, reactivaron o ampliaron membresías para facilitar el acceso y el trabajo de profesores y alumnos en las plataformas, sin embargo, esto no fue necesariamente generalizado y sin los equipos y la red con el ancho de banda adecuado, también

fue insuficiente. Al mismo tiempo, también es limitante el uso de los servidores y las nubes comerciales, que complementan y a veces sustituyen a las institucionales. Así mismo, varias universidades públicas y privadas establecieron cursos, tutoriales y seminarios para la capacitación en el uso de las plataformas, lo que, si bien permitió sortear algunas dificultades, no fue suficiente para subsanar la parte de "hardware" y las líneas de internet que parece ser la principal limitante en el uso de estas capacidades tecnológicas.

Otro problema es la migración de los contenidos, información, pizarras electrónicas y materiales didácticos del salón presencial a las modalidades no presenciales; reajustes, reducción, expansión y nuevos contenidos, reacomodo de horarios con mayor o menor disponibilidad, con mayor o menor aplicación de tiempos y extensión o profundidad de contenidos. Todo ello con notables implicaciones sobre el profesor y los alumnos, provocando, frecuentemente, tener pocos límites en la intensidad, profundidad y duración en la práctica académica, haciéndola más superficial y a veces asfixiantemente intensa; generando frecuentes recalendarizaciones con tiempos que invaden las actividades personales y evidentemente extraacadémicas de profesores y alumnos, que no eran habitualmente invadidas cuando se tenía una definición espacio-temporal en la educación presencial, donde el sitio de clases, el transporte, los desplazamientos entre las aulas, los lugares de comida, las bibliotecas y los sitios de convivencia estaban claramente enmarcados. Las reuniones y visitas en los cubículos, donde incluso se tenía la posibilidad de cerrar la puerta; en cambio ahora no se tienen límites y se tiene la sensación de invasión en los espacios de la casa, a veces de forma casi imperceptiblemente, pero que al final todo lo anterior genera incertidumbre, angustia y estrés tanto en los estudiantes, como en los docentes.

Los reajustes en la dinámica global y particular de las clases en la modalidad no presencial, también tiene serios problemas en la asistencia, permanencia, concentración, participación y retroalimentación académica de los alumnos, la incapacidad de poder explicar con lenguaje corporal y de interpretar la respuesta de los alumnos a través de la posibilidad que a su vez

ofrece el lenguaje corporal de los alumnos, dificulta de forma importante el sistema esencial de comunicación bidireccional, lo que no permite establecer las diferentes estrategias para explicar, extender o profundizar conceptos, sin poder entender si los alumnos tienen atención y si están alineados con las explicaciones y argumentaciones correspondientes.

Ni qué decir del tejido social y el trabajo en equipo, dificultado por la falta de convivencia y aislamiento, propio de actividades individualizadas, generando jornadas de trabajo individuales, con mayor carga, más agotador, estresante y angustiante, que se suman a mayor cantidad de horas aplicadas a los dispositivos, con la fatiga muscular, física y visual que culmina con la búsqueda de distractores reales (comida, relación familiar, esparcimiento) e inventados (limpieza, reparación, mantenimiento) para tratar de disipar el estrés y que termina afectando el desarrollo y rendimiento, con círculos viciosos extremos.

A lo anterior se suman los problemas de las evaluaciones, la entrega de calificaciones y los trámites oficiales a distancia y con elementos no presenciales. Los exámenes en línea constituyen un problema de tiempos y problemas para su formulación, formación, validación, aplicación y calificación; el tipo de examen en el que se presenta la pregunta y solo se avanza con la respuesta, constituye un reto al alumno acostumbrado a repasar, revisar y reacomodar las respuestas de acuerdo al avance y análisis global del examen. Los exámenes con posibilidades de regresar o avanzar a las preguntas sin necesidad de consignar la respuesta, tienen en riesgo de que el alumno pueda consultar las respuestas en el propio dispositivo de trabajo, un dispositivo alternativo o apuntes físicos a su lado, las cámaras y micrófonos abiertos solo ofrecen una alternativa cuando son pocos alumnos y aun así se compite con la habilidad de alguien que puede evadir esos sistemas de vigilancia, para lo cual, actualmente, hay muchos recursos. Pero ante todo los exámenes en línea de cualquier manera implican un mayor estrés y dificultad para su resolución.

Los seminarios de avance y los exámenes profesionales ofrecen menos problemas en la consecución y evaluación a distancia y de manera

virtual, considerando los elementos ya mencionados para dar clase, que ahora estarán del lado del alumno. Sin embargo, el problema ahora está en la formalización de un evento legal de efecto sobre terceros, algunas instituciones utilizan firmas digitales, pero la gran mayoría no ha evolucionado hacia ese formato, aun así las instituciones del país continúan con formatos físicos para otorgar certificados, títulos y cédulas, lo que obliga a los profesores y estudiantes a recolectar las firmas físicas después de los eventos virtuales, con los riesgos de inhabilitación parcial o permanente de alguno de los miembros del jurado, lo que implica grandes problemas legales, para los cuales no se tenían antecedentes en las instituciones y por ende un camino de resolución factible.

Los talleres, los simuladores y el trabajo de campo y de laboratorio académicos y de investigación, no pueden ser sustituidos y serán, un punto de deficiencias insalvables en la pandemia y no se ve una posibilidad plausible excepto la acción presencial, con los cuidados higiénicos y las reglas de seguridad indispensables; el desarrollo de simuladores de laboratorio es apenas incipiente por decir lo más y los programas de simulación de datos para análisis de información, si bien con mayor avance, aun son insuficientes para poder sustituir los laboratorios y los talleres académicos y qué decir de los trabajos de investigación en tesis de licenciatura y de posgrados experimentales.

Con lo antes expresado ¿Qué tan factible será mantener o incrementar la calidad de los programas en la modalidad no presencial? Tenemos que decir por principio que lograrlo re-

querirá grandes esfuerzos y un trabajo intenso de inmersión y dedicación tanto de alumnos, profesores y autoridades académicas. Los tiempos de titulación, las becas y el programa completo de créditos y trabajos para lograr una titulación con la calidad previa a la contingencia, se ha visto seriamente comprometida y sin una real posibilidad de alcanzarla en las condiciones actuales, lo que hace que aún cuando se pueda avanzar en los tiempos, créditos y planes de estudio, la parte conceptual y de conocimientos han sido afectados algunos más y otros de manera irremediable, lo cual difícilmente podrá ser subsanado por ellos mismos, causando deficiencias en cadena en la formación de los alumnos, sobre todo si ellas y ellos no entienden los nuevos tiempos, que implican una vocación autodidacta y un mayor empeño y dedicación. El tiempo no perdona y la formación de profesionales que siempre ha sido necesaria para el desarrollo de nuestro país, ahora enfrenta una crisis que requiere de trabajo e imaginación, complementadas con profesionalismo, trabajo en equipo y un desarrollo institucional y del profesorado, para hacer frente a estas consecuencias de la pandemia.

José Víctor Calderón Salinas
Editor en Jefe de la REB
Laboratorio de Bioquímica Médica
Departamento de Bioquímica, CINVESTAV
jcalder@cinvestav.mx

Carlos Hernández Luna
Laboratorio de Enzimología
Facultad de Ciencias Biológicas, UANL
carlos.hernandezlna@uanl.edu.mx

CLASE INVERSA Y APRENDIZAJE ACTIVO PARA INCENTIVAR LA PARTICIPACIÓN Y LA MOTIVACIÓN DE LOS ALUMNOS EN PRÁCTICAS DE LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR*

Andrés González^{1,2**} y María F. Fillat^{1,2}

¹Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular, Universidad de Zaragoza. Pedro Cerbuna 12, 50009 Zaragoza, España.

²Instituto Universitario de Biocomputación y Física de Sistemas Complejos. Mariano Esquillor, Edificio I + D. Campus Río Ebro, Universidad de Zaragoza. 50018 Zaragoza, España.

**Autor de correspondencia: andresglezrod@gmail.com

RESUMEN

En el presente trabajo se describen y analizan los resultados obtenidos en el aprovechamiento y rendimiento académico de estudiantes de nivel universitario con la introducción de las metodologías de clase inversa y aprendizaje activo en sesiones de prácticas de laboratorio de Biología Molecular. El aprendizaje inverso fue verificado mediante la aplicación de cuestionarios previos en línea cuya evaluación implicó una bonificación del 10% de la nota final de la práctica de laboratorio. El aprovechamiento de las sesiones presenciales de prácticas fue evaluado con un informe final escrito individual y con un cuestionario integrador final en línea. El resultado de este último cuestionario implicó una bonificación adicional del 10% de la nota final de la práctica. Con el objetivo de estimar la apreciación de los propios alumnos sobre el efecto de la innovación en los resultados del proceso de aprendizaje y el interés en la asignatura, se aplicó una pequeña encuesta anónima en línea voluntaria tras finalizar la asignatura. La introducción de la clase inversa y el empleo de metodologías de aprendizaje activo como preguntas y respuestas, debates de aplicación del conocimiento adquirido a nuevas situaciones experimentales, instrucción por pares, instrucción basada en problemas, entre otras metodologías, permitió incrementar el rendimiento académico en comparación con cursos anteriores y una mayor uniformidad en la adquisición del conocimiento y desarrollo de competencias en la totalidad de los estudiantes. La apreciación de los propios alumnos del efecto de la innovación en los resultados del proceso de aprendizaje fue muy positiva y altamente motivadora.

ABSTRACT

In the present study, we described and analyzed the results obtained after the application of the methodologies of flipped classroom and active learning on achievement and academic performance of university students in laboratory practices of Molecular Biology. Flipped learning was evaluated by short online questionnaires, performed prior to the lab practice, which represented a 10% of the final grade. The student performance in the face-to-face lab practices was evaluated by a final individual report and a further online questionnaire. The results of this final integrative questionnaire represented an additional 10% of the final grade. A short anonym survey was applied online after the finalization of the course in order to value the students' opinion about the influence of these learning innovations on their personal achievement and interest for the course. The introduction of flipped classroom and active learning methodologies such as questions and answers, discussion of application to novel contexts, peer instruction, problem-based learning, among others, led to increase academic performance compared to the same results in previous years as well as a higher homogeneity in learning acquisition and competence development by all the students. Students' opinion of the innovation was highly positive and motivating.

PALABRAS CLAVE

Clase inversa, Aprendizaje activo, Docencia universitaria, Prácticas de laboratorio.

KEY WORDS

Flipped classroom, Active learning, University teaching, Laboratory practices.

INTRODUCCIÓN

En el modelo expositivo tradicional de enseñanza, el aprendizaje se basa casi exclusivamente en la transmisión de información desde el profesor a los alumnos. Los alumnos aprenden lo que los profesores le logran transmitir y demuestran el conocimiento aprendido en la mayoría de los casos, reproduciendo fielmente la información transmitida sin llegar a alcanzar, con frecuencia, un pensamiento crítico (1). Mucho del tiempo de clase con el modelo tradicional de enseñanza se emplea en explicar a los alumnos conocimientos básicos que pudieran adquirir por sí mismos si tan solo ocuparan parte de su tiempo fuera de clase a estudiar y analizar estos contenidos. La clase inversa o clase invertida, conocida en inglés como "flipped classroom", es un nuevo modelo de enseñanza semipresencial donde el profesor, mediante el uso de las tecnologías de la información y la comunicación (TICs), proporciona a los alumnos previamente a la clase presencial, materiales didácticos variados como monografías, videos y artículos científicos esenciales para una total comprensión y mejor aprovechamiento de la posterior sección de clase junto al profesor, ya sea una clase magistral teórica o una práctica de laboratorio (1, 2). Junto al material didáctico, el profesor deberá incorporar mecanismos que incentiven el estudio y el análisis crítico y profundo del material proporcionado, tales como pequeños cuestionarios comprobatorios del conocimiento cuya calificación suponga una recompensa que repercuta en la nota final de la asignatura (1).

La introducción de la clase inversa ahorra un tiempo vital en la clase presencial que puede ser empleado por el profesor para el desarrollo de metodologías de aprendizaje individual y colaborativo, que fomenten el esfuerzo, el razonamiento crítico, la creatividad y la capacidad de transferencia del conocimiento a nuevas situaciones (3). Según Faust y Paulson (4), el aprendizaje activo es toda actividad que involucra a los estudiantes dentro del aula, que va más allá de la simple escucha pasiva de una charla o clase magistral impartida por el profesor. De esta forma, aplicamos metodologías de aprendizaje activo con el cuestionamiento y la discusión constructiva (5), el aprendizaje basado en equipos (6), el aprendizaje basado

en problemas (7), la enseñanza justo a tiempo (8), la instrucción por compañeros (9) o la ludificación (10), entre otras metodologías educativas innovadoras (4). Todas estas actividades exigen del alumno un rol activo en clase y le permiten ejercitar, practicar, razonar, evaluar y crear, profundizando en el aprendizaje y logrando un mayor aprovechamiento de la clase, todo lo cual se traduce en un mayor nivel de comprensión y satisfacción personal, que cíclicamente inducen a un mayor interés por la asignatura y por el conocimiento en general (1, 2, 11-13).

Con el objetivo de incentivar el uso de las TICs entre los estudiantes de la Universidad de Zaragoza (España), para facilitar y profundizar el aprendizaje no presencial de conceptos teórico-prácticos necesarios para un buen desempeño y aprovechamiento durante las prácticas de laboratorio, así como detectar deficiencias en el conocimiento previo a las prácticas, atender individualidades, incrementar el interés, la atención y el rendimiento de los estudiantes durante las sesiones de prácticas, favorecer la adquisición de competencias y mejorar la calidad de la actividad docente, nos propusimos implementar un proyecto de innovación docente encaminado a la introducción y evaluación de la clase inversa y el aprendizaje activo como nuevas metodologías de aprendizaje en las sesiones de prácticas de laboratorio de Biología Molecular, impartidas en el último curso del Grado de Biotecnología. El estudio tiene el carácter de una encuesta descriptiva y no busca el análisis estadístico experimental de los datos obtenidos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Asignatura y estudiantes

La innovación docente fue implementada en el curso 2018-2019, con estudiantes de cuarto curso (último) del Grado de Biotecnología de la Universidad de Zaragoza, España. La innovación fue aplicada a las clases prácticas de laboratorio correspondientes al Área de Bioquímica y Biología Molecular de la asignatura Biotecnología Microbiana. Esta asignatura es obligatoria dentro del programa de estudio, es impartida en su totalidad en el primer cuatrimestre del curso y equivale a 6 créditos ECTS. El Sistema Europeo de Transferencia y Acu-

mulación de Créditos (ECTS, por sus siglas en inglés) es una herramienta del Espacio Europeo de Educación Superior para hacer que las calificaciones y cursos impartidos en cualquier institución europea sean reconocidos con iguales derechos para una titulación estudiada en otro centro similar.

Para las prácticas de laboratorio de Biología Molecular, los estudiantes ($n=47$) se subdividen en 4 grupos de prácticas, integrados por 10 a 12 alumnos como máximo cada uno, a fin de lograr un mejor aprovechamiento del material de laboratorio y favorecer la atención de individualidades. Cada grupo de prácticas recibe 3 sesiones de laboratorio en días consecutivos, con 4 horas de trabajo en cada sesión.

Metodologías de aprendizaje

La innovación consistió en incorporar metodologías de aprendizaje inverso en el Anillo Digital Docente (ADD) de la Universidad de Zaragoza, con el objetivo de recapitular o profundizar conceptos teórico-prácticos imprescindibles para un buen desempeño, aprovechamiento y seguridad durante las prácticas de laboratorio. El ADD, también conocido como Campus Virtual, es una plataforma en línea de apoyo a la docencia basada en la herramienta de gestión de aprendizaje Moodle. Esta plataforma se emplea para la docencia no presencial y para dar soporte en línea a la docencia presencial.

La inclusión de metodologías de aprendizaje inverso en las prácticas de laboratorio de Biología Molecular transfirió al estudio individual no presencial parte del tiempo usualmente empleado en la clase presencial para recapitular contenidos previos, mayormente teóricos, imprescindibles para un desarrollo satisfactorio de la práctica y un correcto aprovechamiento de los nuevos conocimientos teórico-prácticos y competencias adquiridas en la clase presencial. De esta forma, con la clase inversa se produjo una transferencia de tiempo y tareas que ahorró tiempo en la clase presencial, lo que permitió al profesor incorporar nuevas herramientas de aprendizaje activo, como ejercicios basados en preguntas y respuestas, debates de aplicación del conocimiento adquirido a nuevas situaciones experimentales, instrucción por pares, instrucción basada en problemas, entre otras metodologías.

Herramientas de retroalimentación o *feedback*

El estudio previo o aprendizaje inverso por parte de los alumnos del material docente seleccionado disponible en el ADD fue verificado mediante la aplicación de cuestionarios previos en línea, cuya evaluación implicó una bonificación del 10% de la nota final de la práctica de laboratorio.

El aprovechamiento de las sesiones de prácticas fue evaluado con un informe final escrito individual y con el cuestionario integrador final, también disponible en el ADD. El resultado de este último cuestionario implicó una bonificación adicional del 10% de la nota final de la práctica. A partir de un banco de preguntas, previamente confeccionado por los profesores en el ADD de la asignatura y validado por la Comisión de Garantía de la Calidad del Grado de Biotecnología, se diseñaron 4 cuestionarios previos y 4 cuestionarios finales, uno diferente para cada uno de los 4 grupos de prácticas. Las figuras 1 y 2 muestran ejemplos reales de cuestionarios previo y final aplicados a uno de los grupos de práctica.

Con el objetivo de estimar la apreciación de los propios alumnos sobre el efecto de la innovación en los resultados del proceso de aprendizaje y el interés en la asignatura, se incorporó en el ADD al finalizar las prácticas, una pequeña encuesta anónima.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El 100% de los estudiantes matriculados en la asignatura que debían cursar las clases prácticas ($n=47$) participaron en la innovación. Todos los estudiantes cumplieron los cuestionarios de evaluación del estudio previo disponibles en el ADD antes de la primera sesión de prácticas y todos cumplieron el cuestionario final integrador, disponible en el ADD tras finalizar las prácticas de cada grupo. El 100% de los estudiantes aprobó ambos cuestionarios, tanto el cuestionario de evaluación del estudio previo como el cuestionario final de evaluación del aprovechamiento de las prácticas. La nota media obtenida por los estudiantes en los cuestionarios de evaluación del estudio previo fue de 9,32 sobre 10, lo cual refleja un alto índice de participación de los alumnos en el estudio no presencial indicado,

Una vez estudiados los materiales incluidos en el Add (Guión de Prácticas y Materiales de Estudio Previo), indique a continuación cuáles constituyen afirmaciones correctas en cuanto a los temas que se tratarán en las prácticas de Biología Molecular:

Seleccione una o más de una:

- a. *Escherichia coli* es una biofábrica para la producción de proteínas recombinantes
- b. *Escherichia coli* no puede ser utilizada para la producción de proteínas eucarióticas
- c. Los ensayos o *screenings* de expresión permiten definir las condiciones óptimas de expresión recombinante en el sistema de expresión elegido.
- d. La fase de crecimiento y el volumen del inóculo pueden repercutir en los rendimientos de la expresión recombinante.
- e. La inducción de la expresión recombinante usualmente se realiza en la fase estacionaria del cultivo, cuando el cultivo ha alcanzado su número máximo de células.
- f. La electroforesis en gel de poliacrilamida con SDS permite estimar los niveles de expresión de proteínas recombinantes
- g. En el sistema discontinuo o de Laemmli, la proteína migrará a través de dos geles contiguos distintos que cumplen funciones diferentes.
- h. La cromatografía de afinidad de unión a metales aprovecha la capacidad de interacción de los residuos de cisteína con los metales divalentes para facilitar la purificación de una proteína a la cual se ha fusionado un péptido o cola rica en cisteínas.
- i. En el SDS-PAGE, las proteínas migran en función de su tamaño y su conformación nativa
- j. En el Western blot, el bloqueo con albúmina o proteínas de la leche minimiza la interacción inespecífica de los anticuerpos con la membrana
- k. La flavodoxina sustituye a la ferredoxina en la cadena fotosintética de transporte de electrones de cianobacterias durante condiciones de estrés férrico
- l. En la técnica de Western blot, la transferencia de proteínas desde el gel hacia la membrana ocurrirá solo si se aplica una diferencia de potencial.

Figura 1. Ejemplo de cuestionario previo aplicado a alumnos de cuarto curso del Grado de Biotecnología de la Universidad de Zaragoza, para comprobar el aprendizaje inverso indicado por el profesor en clases prácticas de Biología Molecular.

Pregunta 1

Necesitamos evaluar la actividad de unión al DNA de un regulador transcripcional mediante la técnica de retardo en gel (EMSA), en la cual la proteína y el promotor diana se mezclan bajo condiciones *in vitro* optimizadas. Si la proteína es activa, formará un complejo con el DNA. Este complejo al ser posteriormente aplicado a una electroforesis en gel de poliacrilamida experimentará un retardo en la migración en comparación con la proteína sola, debido a su mayor tamaño. ¿Qué tipo de electroforesis emplearía en el EMSA?:

Seleccione una:

- a. PAGE nativa
- b. SDS-PAGE con betamerceptoetanol
- c. SDS-PAGE sin betamerceptoetanol
- d. Da igual el tipo de electroforesis, lo importante es que la proteína esté activa cuando se mezcle con el DNA

Pregunta 2

Durante el Western blot frente a una proteína recombinante X, una muestra de extracto crudo soluble fue separada mediante SDS-PAGE, tras la electrotransferencia se bloqueó con leche desnatada, se empleó un antisuero policlonal como anticuerpo primario y un conjugado anti-IgG-peroxidasa como anticuerpo secundario. El revelado del Western nos mostró una alta reactividad cruzada frente a proteínas inespecíficas de la muestra. ¿Qué estrategia pudiera emplear para intentar disminuir la reactividad cruzada?:

Seleccione una:

- a. Aumentar la concentración de proteínas de la muestra de extracto crudo
- b. Aumentar la concentración de la leche desnatada en el bloqueo
- c. Absorber el antisuero policlonal frente al extracto crudo de la misma cepa de *E. coli* empleada como hospedero para producir la proteína X recombinante.
- d. Disminuir el voltaje en la electrotransferencia

Figura 2. Preguntas de cuestionario final aplicado a alumnos de cuarto curso del Grado de Biotecnología de la Universidad de Zaragoza. El cuestionario final evalúa de forma integradora el aprendizaje y el desarrollo de competencias mediante ejercicios de aplicación del conocimiento adquirido a situaciones experimentales diferentes a aquellas vistas en la práctica.

previo al inicio de las prácticas. El cumplimiento de las indicaciones del estudio previo se apreció no solo en la nota de los cuestionarios (Fig. 3), sino en la participación e implicación de los estudiantes en las actividades de aprendizaje activo. Una mayoría de estudiantes participó activamente en estos ejercicios y respondió y/o debatió adecuadamente las preguntas y los temas en ellos tratados; en tal sentido, la clase inversa contribuyó efectivamente a alcanzar los resultados de motivación, participación y aprovechamiento deseados.

La evaluación de los cuestionarios previos así como los ejercicios de aprendizaje activo realizados durante cada una de las sesiones de laboratorio contribuyeron no solo a identificar y corregir deficiencias en la base de conocimientos teórico-prácticos que deberían haber desarrollados los estudiantes en niveles anteriores de la enseñanza, sino además permitieron identificar individualidades en el proceso de aprendizaje, posibilitando un trabajo más personalizado del profesor con estos estudiantes.

La nota final de la práctica refleja el aprovechamiento global de cada estudiante, incluyendo su preparación previa para la práctica (clase inversa), la asistencia, puntualidad, el desempeño y la participación del estudiante durante las sesiones de prácticas, así como el grado de análisis y aplicación de los conocimientos obtenidos durante las sesiones presenciales. Para valorar todos estos criterios, la nota final fue ponderada teniendo en cuenta los siguientes porcentajes y actividades:

- Asistencia, puntualidad y desempeño en el laboratorio: 50%
- Informe final individual escrito: 30%
- Cuestionario inicial en ADD, previo a la práctica: 10%
- Cuestionario integrador final en ADD, posterior a la práctica: 10%

El informe final ha sido el método tradicional de evaluación del desarrollo de nuevos conocimientos y competencias durante las sesiones de prácticas de laboratorio. En este ejercicio, cada estudiante debe elaborar y entregar un informe o memoria final escrita, de no más de 4 folios, donde se detallen los resultados obtenidos durante la ejecución de cada experimento de la práctica y se discutan

críticamente estos resultados. La discusión de los resultados deberá reflejar si los mismos eran esperados o no, analizar cualquier variación de los resultados individuales respecto a los resultados esperados, indicar cualquier error experimental o cambio en el protocolo inicialmente propuesto y argumentar sobre las posibles implicaciones de estos cambios o errores en el resultado obtenido. Se incluirán en el informe las fotos, esquemas, cálculos, diagramas, etc., que el alumno estime necesario para reflejar y discutir sus resultados. Más que el resultado experimental en sí, en el informe se evalúa la calidad en la escritura y presentación de los resultados, la entrega a tiempo y en especial la profundidad en la discusión de los resultados obtenidos. La fecha de entrega de los informes para cada grupo es definida e indicada por el profesor durante la práctica y usualmente se corresponde con 1-2 semanas tras finalizada la última sesión de prácticas de cada grupo.

Con la innovación incluimos un nuevo método de evaluación del aprendizaje y el desarrollo de competencias durante las sesiones de prácticas: el cuestionario final integrador. Tras finalizar la última sesión de prácticas, los profesores ponen a disposición de los alumnos un nuevo cuestionario en línea en el ADD de la asignatura, que estará disponible hasta una semana después de culminada la práctica. A diferencia del cuestionario previo y como su nombre lo indica, este cuestionario final evaluará de forma integradora, los principales aspectos del conocimiento teórico-práctico adquirido durante las sesiones de prácticas, principalmente mediante ejercicios de aplicación del conocimiento adquirido a situaciones experimentales diferentes a aquellas vistas en la práctica. La nota media de la evaluación de este cuestionario final fue de 9,44 sobre 10, lo cual indica un excelente aprovechamiento en la mayoría de los estudiantes del conocimiento teórico-práctico impartido en las sesiones de prácticas de esta asignatura tras la implementación de la innovación (Fig. 3).

Los resultados favorables de la innovación sobre el proceso de aprendizaje y el desarrollo de competencias en los estudiantes en las prácticas de Biología Molecular de la asignatura Biotecnología Microbiana se lograron apreciar objetivamente al comparar los resultados académicos obtenidos en este curso,

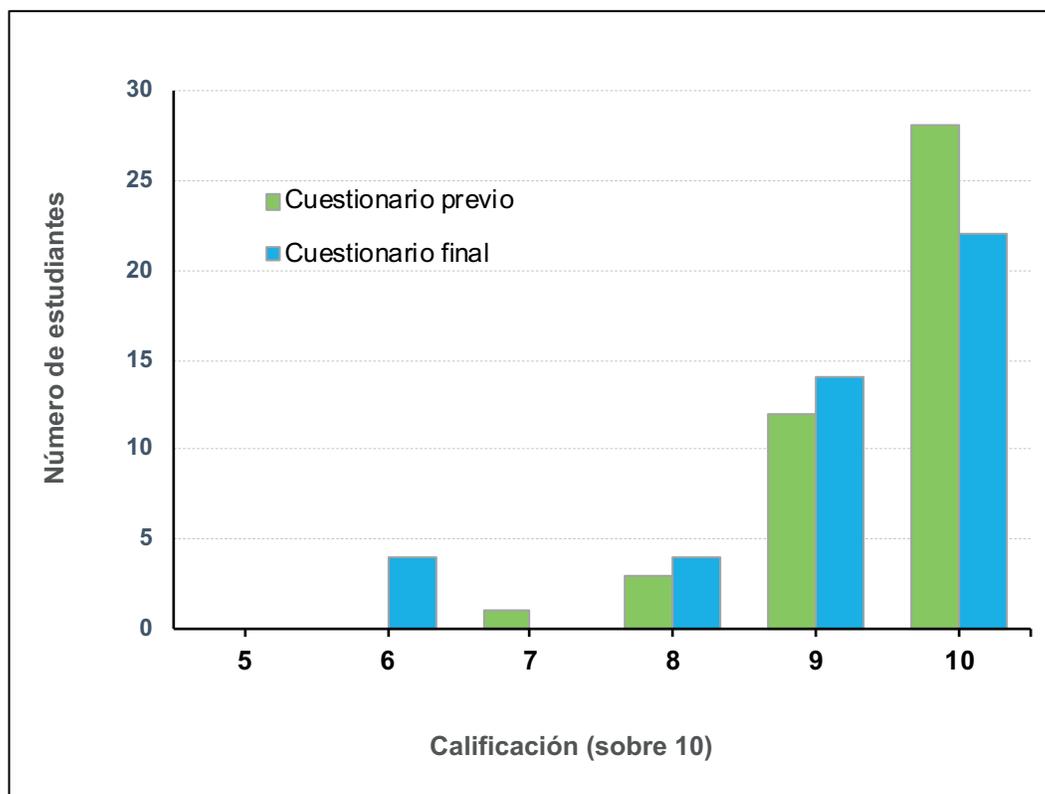


Figura 3. Resultados de la calificación de los cuestionarios previo y final. El cuestionario previo se realiza en línea antes del inicio de las sesiones presenciales de laboratorio y evalúa la preparación del estudiante gracias al aprendizaje inverso. El cuestionario final se realiza en línea tras finalizar las sesiones de prácticas y evalúa el desarrollo de competencias durante las prácticas de laboratorio. La nota de cada cuestionario representa un 10% de la nota final de la práctica.

con aquellos de cursos anteriores, 2016-2017 y 2017-2018, donde no se utilizó la técnica de la clase inversa. Como se aprecia en la figura 4, el número total de estudiantes con buena nota (notable + sobresaliente) se incrementó con respecto a promociones de cursos anteriores. De esta forma, los resultados de nuestra experiencia sugieren que el incremento en los niveles de aprovechamiento en el proceso de aprendizaje, alcanzado con la introducción de la clase inversa y las metodologías de aprendizaje activo, repercute directamente en el rendimiento académico de los estudiantes, de forma similar a lo observado en investigaciones previas (10-12).

Sin embargo, el resultado cualitativo más importante de la aplicación de la innovación en nuestra asignatura radicó en la uniformidad en la adquisición del conocimiento en la totalidad de los estudiantes del curso. Curiosamente, un mayor grado de exigencia en el proceso evaluativo, con un incremento del número de evaluaciones procedentes de cuestionarios y del desempeño y participación de los alumnos

en actividades de aprendizaje activo, resultó en una disminución del número de estudiantes con nota de sobresaliente; sin embargo, la inmensa mayoría de los estudiantes matriculados en la asignatura obtuvieron una nota calificada como notable, con muy pocos casos de notas inferiores. En cursos anteriores, no todos los alumnos alcanzaban el mismo grado de desarrollo de competencias en las prácticas, existiendo incluso casos de insuficiencia (Fig. 4). Este análisis de los resultados académicos sugiere que la aplicación de las nuevas metodologías de aprendizaje, incluyendo el aprendizaje inverso apoyado en la plataforma Moodle y ejercicios de aprendizaje activo durante las clases presenciales, aumenta la calidad del proceso de enseñanza. La observación de necesidades individuales en el proceso de aprendizaje y el trabajo con estos estudiantes permitió una mayor homogeneidad en los resultados académicos de la clase y un número mayor de estudiantes con nota notable-sobresaliente. Estos resultados eran esperados teniendo en cuenta anteriores experiencias en

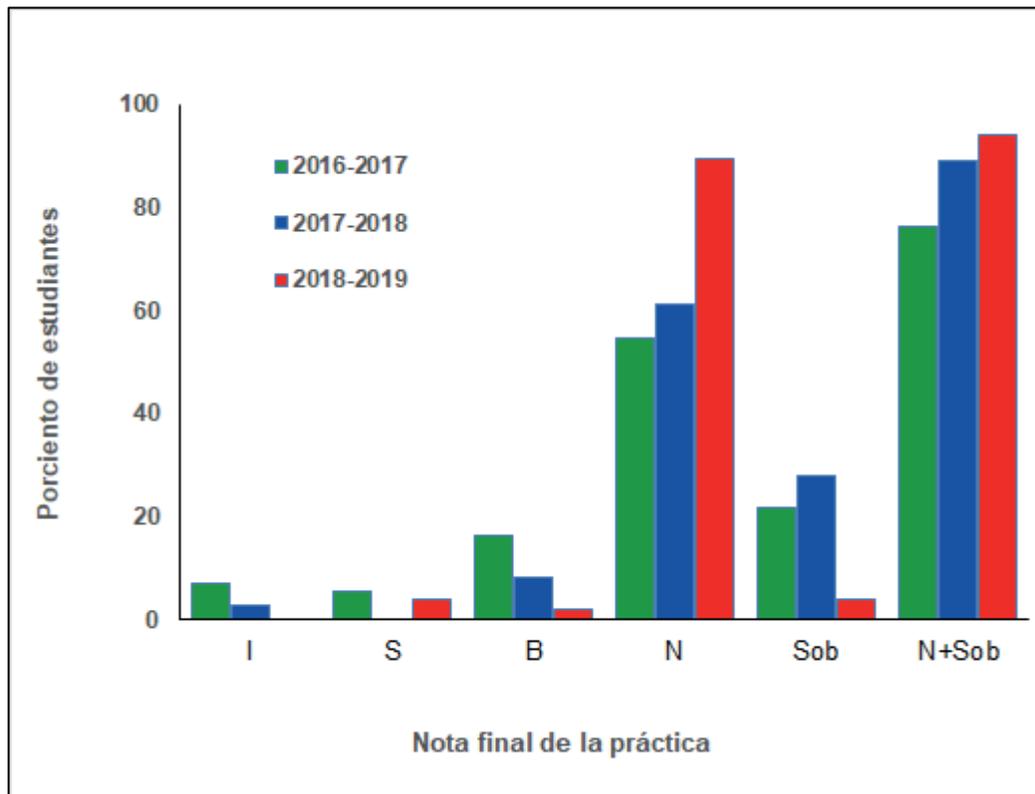


Figura 4. Resultados académicos obtenidos por los estudiantes de último curso del Grado de Biotecnología de la Universidad de Zaragoza en las prácticas de Biología Molecular, en tres promociones consecutivas. El número total de estudiantes matriculados en la asignatura en cada curso fue: $n=55$ (2016-2017), $n=36$ (2017-2018) y $n=47$ (2018-2019). I: insuficiente, S: suficiente, B: bien, N: notable, Sob: sobresaliente.

la aplicación del aprendizaje activo en estudiantes de nivel universitario. Varios estudios previos han demostrado que la aplicación de metodologías de aprendizaje activo incrementa la integración de los estudiantes, minimiza impedimentos emocionales y psicológicos experimentados por determinados alumnos en el proceso de aprendizaje y disminuye la brecha entre alumnos aventajados y no aventajados (13-15).

La apreciación de los propios alumnos del efecto de la innovación en los resultados del proceso de aprendizaje fue muy positiva y altamente motivadora. Tras finalizar la asignatura, antes de los exámenes, se incorporó en el ADD una pequeña encuesta en línea solicitando a los estudiantes su opinión personal sobre el impacto de esta nueva metodología de estudio y evaluación sobre su proceso de aprendizaje, su aprovechamiento académico en la asignatura, su interés por la asignatura en particular y por la investigación científica en general. La encuesta tuvo un carácter anónimo y se indicó que su cumplimentación no

era obligatoria ni tendría impacto sobre la nota final de la asignatura. De los 47 estudiantes matriculados en la asignatura, 21 estudiantes (44,7%) cumplimentaron la encuesta. El 100% de los encuestados tuvo una opinión favorable sobre la innovación, considerando que el estudio previo les permitió entender mejor algunos conceptos y procedimientos del laboratorio, favoreciendo un mayor rendimiento y aprovechamiento de las sesiones de prácticas presenciales. El 95% de los estudiantes encuestados consideró que sería conveniente/interesante la aplicación de esta metodología de aprendizaje y evaluación para incrementar el rendimiento y el interés de los estudiantes en otras asignaturas del Grado.

CONCLUSIONES

Las ventajas del modelo de aprendizaje inverso para mejorar la calidad del aprendizaje universitario es un hecho contrastado. La clase inversa permite a los profesores y

estudiantes emplear parte del tiempo presencial en profundizar en el conocimiento, en debatir, en analizar, en transferir y aplicar el conocimiento a nuevas situaciones. El alumno adquiere un rol protagónico y transforma sus hábitos de estudio, aumenta su motivación por el conocimiento, aprende a trabajar en equipo. El profesor es capaz de adaptar la clase a las necesidades cognitivas de los estudiantes, profundizando en aquellos contenidos que representan un mayor grado de dificultad según las herramientas

de retroalimentación utilizadas, ofreciendo además la oportunidad de detectar y trabajar las necesidades individuales. Uno de los resultados más visibles de la aplicación del modelo inverso de aprendizaje, como lo corrobora el presente estudio, es el incremento en la homogeneidad del desarrollo de competencias. Los alumnos más rezagados trabajan más y son motivados por el resto de estudiantes, mejorando sustancialmente el aprovechamiento en general y la calidad del proceso de aprendizaje.



REFERENCIAS

- Prieto A. Flipped learning: aplicar el modelo de aprendizaje inverso. Primera edición. Madrid, España: Narcea Ediciones; 2017.
- Medina JL. La docencia universitaria mediante el enfoque del aula invertida. Primera edición. Barcelona, España: Octaedro; 2016.
- Knight J, Wood WB. Teaching more by lecturing less. *Cell Biol Educ.* 2005; 4(4):298-310.
- Faust JL, Paulson DR. Active learning in the college classroom. *J Excell Coll Teach.* 1998; 9(2):3-24.
- McTighe J, Wiggins G. Essential questions: opening doors to student understanding. First edition. Alexandria, Virginia, U.S.A.: Association for Supervision & Curriculum Development; 2013.
- Michaelsen LK, Knight AB, Fink LD. Team-based learning: a transformative use of small groups in college teaching. First edition. Sterling, Virginia, USA: Stylus Publishers; 2002.
- Hmelo-Silver CE. Problem-based learning: what and how do students learn? *Educ Psychol Rev.* 2004; 16(3):235-266.
- Novak G, Gavrín A, Christian W, Patterson E. Just-in-time teaching: blending active learning with web technology. First edition. Upper Saddle River, New Jersey, U.S.A.: Prentice-Hall; 1999.
- Mazur E. Peer instruction: a user's manual. First edition. Upper Saddle River, New Jersey, USA: Prentice-Hall; 1997.
- Fuster-Guilló A, Pertegal-Felices ML, Jimeno-Morenilla A, Azorín-López J, Rico-Soliveres ML, Restrepo-Calle F. Evaluating impact on motivation and academic performance of a game-based learning experience using kahoot. *Front Psychol.* 2019; 10:2843.
- Freeman S, Eddy SL, McDonough M, Smith MK, Okoroafor N, Jordt H, Wenderoth MP. Active learning increases student performance in science, engineering, and mathematics. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014; 111(23):8410-8415.
- Freeman S, O'Connor E, Parks JW, Cunningham M, Hurley D, Haak D, Dirks C, Wenderoth MP. Prescribed active learning increases performance in introductory biology. *CBE Life Sci Educ.* 2007, 6(2):132-139.
- David C. Haak DC, HilleRisLambers J, Pitre E, Freeman S. Increased structure and active learning reduce the achievement gap in introductory biology. *Science.* 2011; 332(6034):1213-1216.
- Jordt H, Eddy SL, Brazil R, Lau I, Mann C, Brownell SE, King K, Freeman S. Values affirmation intervention reduces achievement gap between underrepresented minority and white students in introductory biology classes. *CBE Life Sci Educ.* 2017; 16(3):ar41.
- Theobald EJ, Hill MJ, Tran E, Agrawal S, Arroyo EN, Behling S, Chambwe N, Cintrón DL, Cooper JD, Dunster G, Grummer JA,

Hennessey K, Hsiao J, Iranon N, Jones L, Jordt H, Keller M, Lacey ME, Littlefield CE, Lowe A, Newman S, Okolo V, Olroyd S, Peacock BR, Pickett SB, Slager DL, Caviedes-Solis IW, Stanchak KE, Sundaravandan V, Valdebenito C, Williams CR, Zinsli

K, Freeman S. Active learning narrows achievement gaps for underrepresented students in undergraduate science, technology, engineering, and math. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020; 117(12):6476-6483.

¿CÓMO IDENTIFICO MICRORNAs EN MI PLANTA?*

Mayra Liliana López-Valle¹, Svetlana Shishkova^{1,2}

¹Departamento de Biología Molecular de Plantas, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. Cuernavaca, Morelos, México

²Autor de correspondencia. Correo electrónico: svetlana.shishkova@mail.ibt.unam.mx

RESUMEN

Los microRNAs (miRNAs) son RNAs pequeños no codificantes de 20-24 nucleótidos que regulan la expresión génica mediante silenciamiento. La identificación *de novo* de miRNAs se basa en las particularidades de su biogénesis. A grandes rasgos, los criterios considerados son: la identificación de un transcrito que se pliega en una estructura secundaria de tallo-asa, así como las secuencias del miRNA y del miRNA* encontradas en los resultados de secuenciación de RNAs pequeños. Estas secuencias deben ser casi perfectamente complementarias, mapearse sobre el tallo de dicha estructura secundaria con un desfase de 2 nucleótidos y representar la mayoría de las lecturas que se mapean sobre la estructura de tallo-asa. Este artículo presenta información sobre la base de datos de miRNAs, miRBase, miRNAs conservados y linaje-específicos, haciendo hincapié en los miRNAs de plantas. Se describen los procedimientos de identificación *de novo* de miRNAs por predicción de la estructura de tallo-asa. Para esto se utilizan datos de secuenciación masiva de RNAs pequeños y de genoma o transcriptoma. Se describen también los métodos de predicción y validación de transcritos-blancos de miRNA.

ABSTRACT

MicroRNAs (miRNAs) are small non-coding RNAs 20 to 24 nucleotides long that silence gene expression post-transcriptionally. *De novo* identification of miRNAs is based on features of its biogenesis. In general, the criteria considered are the identification of a transcript that folds into a stem-loop secondary structure, as well as the miRNA and miRNA* sequences resulting from small RNA-sequencing. These sequences should possess nearly perfect complementarity, map onto the stem part of the secondary structure with a displacement of 2 nucleotides and represent most of the reads mapped onto the stem-loop structure. In this article, the miRBase database, the conserved and lineage-specific miRNA with an emphasis on plant miRNAs, and the procedures of *de novo* identification of miRNAs based on prediction of the stem-loop structure are described. These bioinformatic methods employ data obtained by next generation sequencing techniques, that is, small RNA-seq, coupled with RNA-seq for *de novo* transcriptome assembly, or available genome sequences. The methods of bioinformatic prediction and experimental validation of miRNA targets are also described.

INTRODUCCIÓN

Los microRNAs (miRNAs) son moléculas de cadena sencilla de RNA entre 20 y 24 nucleótidos (nt) de longitud, frecuentemente de 21 nt, las cuales mediante silenciamiento modulan la expresión génica a nivel postranscripcional o traduccional. Estas moléculas están presentes en todos los órganos y tejidos de plantas y animales. Los miRNA son reguladores muy importantes del desarrollo de organismos multicelulares; en plantas su función también es

necesaria para la regulación de la plasticidad fenotípica, la interacción con organismos simbióticos y la respuesta a diferentes tipos de estrés biótico y abiótico (1, 2, 3).

Existen varios tipos de RNAs pequeños de entre 20 y 30 nt de longitud que participan en la regulación de la expresión génica. Entre los más abundantes se encuentran los miRNAs y siRNAs (del inglés "small interfering RNA": RNAs pequeños de interferencia). Podemos distinguir estos dos grupos de acuerdo con un detalle particular de su biogénesis: mientras

PALABRAS

CLAVE

miRNA, RNAs pequeños, estructura secundaria tallo-asa, plantas, secuenciación masiva

KEY WORDS

miRNA, small RNAs, stem-loop secondary structure, plants, next generation sequencing

que un miRNA deriva de una molécula de RNA de una sola cadena con una estructura secundaria particular, un siRNA deriva de molécula de RNA de doble cadena (4).

En este artículo se describirán los procedimientos que se tienen que utilizar para la adecuada identificación de miRNAs, utilizando datos de secuenciación de RNAs pequeños y genoma o transcriptoma ensamblado *de novo*. Dichos procedimientos se basan en la formación de una estructura secundaria de tallo-asa por la molécula de RNA que originará a un miRNA. Esta metodología puede aplicarse a especies vegetales no modelo, que no cuentan con genoma secuenciado.

Biogénesis y modo de acción de los miRNAs

Un miRNA se origina a partir de un gen *MIR* que se transcribe por la RNA polimerasa II, dando lugar a un transcrito primario (pri-miRNA). Generalmente, los genes *MIR* de plantas se encuentran entre otros genes (a veces se dice que se encuentran en regiones intergénicas), pero también pueden ser parte de intrones e incluso exones de otros genes (5), en este caso se les denomina como intragénicos. A su vez, los transcritos primarios pueden tener intrones, los cuales se eliminan por el proceso de "splicing", o empalme. Además, de manera similar a otros transcritos de RNA polimerasa II, se modifican por adición del cap y la cola de poliadenina. Como ya se mencionó, los pri-miRNAs son transcritos de cadena sencilla, pero adquieren una estructura secundaria de tallo-asa, también llamada tallo-bucle (Fig. 1a). Estas secuencias forman doble cadena correspondiente al tallo de dicha estructura. Este segmento de doble cadena incluye tanto la secuencia del miRNA maduro como una secuencia casi complementaria denominada miRNA estrella (miRNA*), representadas en azul y verde, respectivamente, en la figura 1a. De manera canónica, el pri-miRNA se procesa (es decir, es cortado) en dos pasos. En plantas, a diferencia de animales, ambos pasos se realizan en el núcleo por una sola enzima RNasa tipo III de la familia DICER-LIKE (DCL), generalmente DCL1, según la nomenclatura para *Arabidopsis thaliana*. Primero el pri-miRNA se procesa, convirtiéndose en un precursor del miRNA (pre-miRNA, Fig. 1b) y luego en un dúplex miRNA/miRNA* (Fig. 1c) generalmente con hebras de 20 a 22 nt, aunque se han reportado algunos

miRNA funcionales de 23 o 24 nt (revisado en 3, 8). Las RNA-endonucleasas DCL cortan el RNA de doble cadena, dejando dos nucleótidos sobresalientes en los extremos 3', por lo que este dúplex presenta extremos colgantes, también llamados cohesivos, de dos nt.

El miRNA maduro se separa del miRNA* y se asocia a una proteína de la familia ARGONAUTA (AGO), generalmente AGO1, para formar parte del complejo de silenciamiento inducido por RNA (RISC, por sus siglas en inglés: RNA-induced silencing complex) (Fig. 1d). Aunque anteriormente se pensaba que la formación del complejo RISC de plantas ocurre en el citoplasma, publicaciones recientes sugieren que este proceso podría llevarse a cabo en el núcleo (revisado en 3). El miRNA dirige al complejo RISC hacia el transcrito blanco (Fig. 1e). Los miRNAs de plantas, a diferencia de lo que pasa en animales, poseen generalmente una alta complementariedad de bases con sus RNA blancos y por eso a menudo pueden tener como blanco un transcrito único, mientras que los miRNAs de animales bilaterales pueden tener numerosos blancos.

Generalmente, los miRNAs de plantas regulan la expresión de transcritos que codifican para proteínas, aunque también pueden actuar sobre transcritos de RNAs largos no codificantes. Un caso específico es de los genes *TAS* que no codifican para proteínas: los transcritos *TAS* son reconocidos por miRNAs y cortados por el complejo RISC. Después de ser cortados se convierten a moléculas de doble cadena por la actividad de una enzima RNA polimerasa dependiente de RNA; y luego se cortan en varias moléculas de 21 nt para generar un tipo de siRNAs denominadas tasiRNAs (del inglés "trans-acting" siRNA) (8). Los tasi son un grupo particular de phasiRNAs (del inglés "phased siRNAs") que son reclutados a un complejo RISC y dirigen el silenciamiento postranscripcional de otros transcritos no relacionados con los genes *TAS*. Los phasiRNAs, pueden originarse de genes que codifican o no para proteínas por el mecanismo arriba descrito para tasiRNAs (9).

Los miRNAs pueden desencadenar diferentes mecanismos de silenciamiento. En plantas, el silenciamiento génico mediante el corte del transcrito blanco (Fig. 1f) y su posterior degradación por la exorribonucleasa XRN4 es el que se ha reportado con mayor

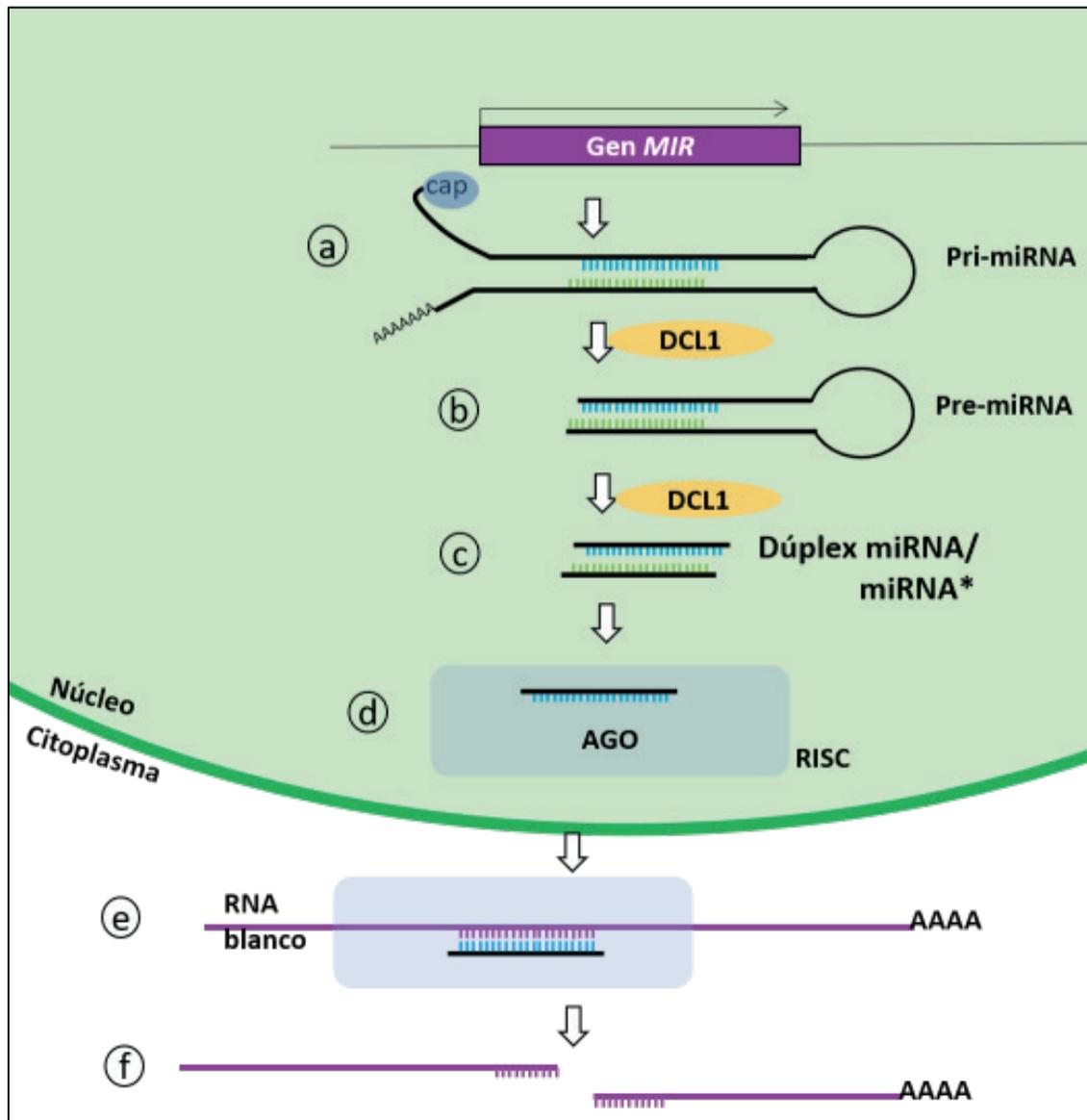


Figura 1. Biogénesis de miRNAs en plantas. (a) El gen MIR se transcribe generando un transcrito primario, o pri-miRNA, el cuál es procesado por la enzima DICER LIKE 1 (DCL1) en dos pasos; primero a precursor de miRNA, o pre-miRNA (b), y posteriormente a dúplex miRNA/miRNA* (c). Las hebras del miRNA y miRNA* tienen dos nucleótidos desapareados en su extremo 3'. (d) El miRNA maduro se asocia con la proteína ARGONAUTA (AGO), generalmente AGO1, como parte del complejo de silenciamiento inducido por RNA (RISC, por sus siglas en inglés: RNA-induced silencing complex). (e) El miRNA maduro dirige al complejo RISC hasta su transcrito blanco. (f) El modo más común de silenciamiento por miRNAs en plantas, el cual se indica en la figura, es el corte endonucleolítico del transcrito blanco por la proteína AGO. Para hacer esta imagen se utilizaron como referencia las revisiones 3, 6 y 7.

frecuencia. Sin embargo, cada día se acumulan más evidencias de inhibición de la traducción por miRNAs en plantas, como sucede, por ejemplo, con miR172, miR171, miR398 y miR156 que tienen como blancos a *APETALA 2*, *SCARECROW-LIKE PROTEIN 4*, *COPPER/ZINC SUPEROXIDE DISMUTASE 2* y *SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE 3*, respectivamente, así como sus parálogos. Los miRNA mencionados pueden regular a sus blancos por ambos mecanismos arriba

descritos (revisado en 6). Además, existen pocos reportes recientes de silenciamiento transcripcional mediante el mecanismo de metilación de DNA dependiente de miRNA. En un artículo se reporta en arroz la regulación de metilación de DNA mediante miRNAs de 24 nt, los cuales son generados por DCL3 y que se asocian a un complejo de silenciamiento que contiene a la proteína AGO4. En otro artículo se encontró que en *Arabidopsis* la complementariedad entre miR165/166 y sus

transcritos blanco *PHABULOSA* y *PHAVOLUTA* es necesaria para la metilación de estos dos genes (revisado en 3).

Familias de miRNAs

Los miRNAs maduros se agrupan en familias de acuerdo con sus secuencias. Los miembros de una familia comparten una similitud mayor al 84%, es decir, tienen al menos 17 nt en común y no más de 3 cambios de nucleótidos. Además, los miRNAs derivados del mismo precursor pueden tener diferentes longitudes por presentar o no un nucleótido extra en uno o ambos extremos del miRNA maduro; esto por el procesamiento diferencial por DCL, por particularidades del precursor o, en algunos casos por modificación después del procesamiento (10, 11).

Existen familias de miRNAs presentes en diversas especies vegetales que comparten blancos de la misma familia génica. Se refieren a ellas como familias conservadas de miRNAs. Por ejemplo, las plantas dicotiledóneas comparten 29 familias de miRNAs (12). No obstante, en las especies vegetales, son en realidad pocas las familias de las que se ha encontrado evidencia de conservación a lo largo de la historia evolutiva. Existen 9 familias de miRNAs que se han identificado desde el ancestro común de todas las embriofitas hasta las plantas con flores (10, 13). En cambio, la mayoría de los miRNAs que se han identificado son específicos de una sola especie. Se ha reportado que aproximadamente la mitad de los miRNA de cada especie no se conservan en otras taxa (10). Por ende, cada vez que se caracterizan los miRNAs de una nueva especie vegetal se descubren nuevos miRNAs.

MiRBase, la principal base de datos de miRNAs

MiRBase (<http://www.mirbase.org/>) es la principal base de datos de secuencias de miRNAs de todos los organismos en los que han sido identificados. Esta base de datos es pública y reúne no solo las secuencias de miRNAs maduros, sino también de sus precursores, así como información acerca del método por el cual fueron identificados y de su acumulación en diferentes órganos, etapas de desarrollo y bajo distintos tratamientos. En marzo del 2018 esta base de datos se actualizó a la versión 22, aumentando en más de un tercio su contenido

en comparación con la versión 21 liberada 4 años antes. Para la versión 22 de miRBase, se homologaron y curaron nombres asignados a los miRNA de distintas especies tanto vegetales, como animales.

La nomenclatura actual de miRBase para miRNAs de plantas se establece de la siguiente forma: las 3 primeras letras hacen referencia al organismo en el que fueron identificados, la primera letra al género, segunda y tercera letras a la especie; después de un guion se escribe el sufijo miR, el número de la familia y una letra para designar cada una de las isoformas, o variantes de este miRNA. Finalmente, con el sufijo -5p o -3p se indica si el miRNA maduro proviene del brazo 5' o 3' de la estructura tallo-asa del precursor. Por ejemplo: *ath-MIR156c-5p* se refiere a la isoforma "c" de la familia 156 de *Arabidopsis thaliana* proveniente del brazo 5' del tallo-asa. Actualmente se han publicado varios trabajos que reportan que ambas cadenas del dúplex son funcionales (14). Por esta razón, en las últimas versiones de miRBase ya no se aplica la terminología miRNA/miRNA* para distinguir el miRNA que se expresa más, sino la de 5p y 3p, para ambas cadenas del dúplex (revisado en 15). Esta nomenclatura desde hace tiempo está establecida para miRNAs de animales, y se ha ido aceptando para miRNAs de plantas. Sin embargo, en este trabajo utilizamos la terminología anterior, miRNA/miRNA*, para fines prácticos.

MiRBase 22 tiene registros de miRNAs provenientes de solamente 82 especies vegetales. Cabe mencionar, que el número de especies de plantas es mucho más alto: tan solo de angiospermas se conocen más de 369,400 especies (16). Entre ellas, el número de especies con secuencias genómicas ensambladas y publicadas es bastante más bajo: para noviembre del 2019 habían sido 351 especies. Muchos de estos 351 genomas públicamente accesibles se encuentran en estado de borrador todavía (<https://www.plabipd.de>). Por otro lado, datos transcriptómicos están disponibles para un mayor número de especies, por ejemplo, recientemente fueron publicados datos de transcriptoma de más de mil especies de embriofitas, es decir, plantas terrestres (17). En los últimos años la cantidad de especies vegetales con genomas y transcriptomas

disponibles ha aumentado drásticamente, lo que ha posibilitado la identificación por predicción *in silico* de genes *MIR* y miRNAs de estas especies, por ejemplo, de *Ipomoea batatas L* (camote) y *Arundo donax L* (caña) (18, 19). Para identificar genes *MIR* y miRNAs, así como comprobar la existencia de miRNAs, se requiere realizar la secuenciación de RNAs pequeños descrita abajo. A su vez, esta comprobación depende de las muestras analizadas, ya que la presencia de diferentes miRNAs puede variar entre los órganos o condiciones que se analizan (20).

Uso de microarreglos para la descripción de miRNAs

Los microarreglos de miRNAs, también llamados chips ("microarray" en inglés), se emplean principalmente para analizar la expresión diferencial de miRNAs (21), pero también se han utilizado algunas veces para describir miRNAs conservados en especies no modelo, como se hizo para *Opuntia ficus-indica* (22). Para este último fin se aprovecha la homología entre los miRNAs conservados que ya han sido caracterizados en especies modelo, para identificar a estos mismos en especies no modelo.

Los microarreglos de miRNAs son una colección de sondas, es decir, de moléculas pequeñas de DNA de una sola cadena que representan a cada una de las secuencias de miRNA descritos y depositados en la base de datos miRBase, o a su secuencia complementaria, dependiendo de la técnica del marcaje de muestras de RNA (23). Todas estas sondas están fijadas en una superficie sólida, por ejemplo, en vidrio o plástico. En los ampliamente utilizados microarreglos Affymetrix, actualmente vendidos por la compañía ThermoFisher (<https://www.thermofisher.com/mx/es/home/life-science/microarray-analysis/affymetrix.html>), las secuencias de las moléculas-sondas son complementarias a miRNAs conocidos. Al hibridarse estas sondas por complementariedad de bases con los miRNAs de las muestras de RNA marcados de algún modo, generalmente con un fluoróforo, se pueden identificar los miRNAs de secuencia conocida presentes en muestras de distintos órganos, etapas de desarrollo o tratamientos. El microarreglo de Affymetrix puede ser usado para evaluar la expresión de miRNAs tanto vegetales, como animales, ya que incluye sondas correspondientes a todos

los miRNA depositados a la base de datos miR-Base. En el caso de muestras de RNA que se utilizan para hibridar con los chips de Affymetrix, se marcan las mismas moléculas de RNA por poliadenilación y ligación de fragmentos de DNA marcados con biotina. En otros tipos de microarreglos, cuando las muestras se marcan en el proceso de la transcripción reversa, las sondas tendrán la secuencia de los miRNAs, y no su secuencia complementaria. Sin embargo, el uso de los microarreglos no asegura que las moléculas que se hibridan tengan exactamente la misma secuencia que la molécula de referencia utilizada en el microarreglo. En muchos de los casos los miRNAs detectados podrían representar una mezcla de varias isoformas que pertenecen a la familia de la secuencia usada como referencia, teniendo uno, dos o hasta tres nucleótidos distintos, por lo que no todas estas isoformas coinciden exactamente con la secuencia que se encuentra en el microarreglo. Esta tecnología sigue disponible y puede brindar un panorama muy general sobre las posibles familias de miRNA conservadas presentes y las diferencias en su acumulación en los órganos y condiciones estudiados. Una ventaja del uso de microarreglos para medir la acumulación diferencial de miRNA es que no requiere de un gran poder de cómputo y análisis bioinformáticos. Actualmente, en el mercado se encuentran disponibles microarreglos no solamente de miRNAs maduros de la versión 20 de miRBase, ("Affymetrix® miRNA 4.0 array"), sino también de secuencias de precursores (los cuales entre distintas especies pueden variar notablemente, por lo que se recomienda su uso para evaluar la acumulación diferencial en la especie, para la cual fue creado el microarreglo). Por otra parte, el abaratamiento de las tecnologías de secuenciación aunado a las ventajas que estas proveen ha desplazado el uso de microarreglos.

Identificación *de novo* de miRNAs utilizando secuenciación masiva

Se denomina secuenciación masiva a la secuenciación de moléculas de ácidos nucleicos en la que se determinan en paralelo miles o millones de secuencias nucleotídicas. En inglés este tipo de secuenciación se llama "Deep sequencing" o NGS ("next generation sequencing": secuenciación de la siguiente generación). La secuenciación masiva de RNAs pe-

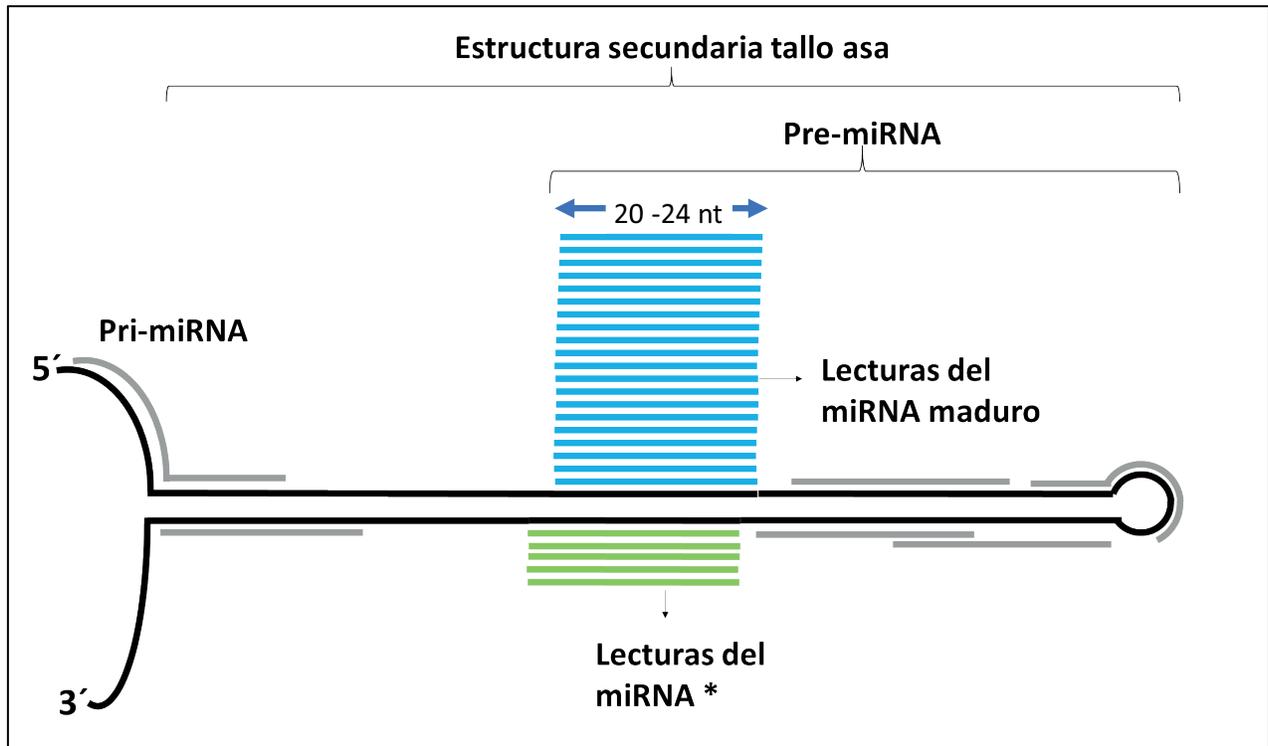


Figura 2. Análisis de posibles precursores de miRNAs. El miRNA primario (pri-miRNA) se representa con una línea negra. La estructura secundaria tallo-asa formada por el pri-miRNA y la sección que corresponde al precursor de miRNA (pre-miRNA) después del primer paso del procesamiento se indica con llaves. Con líneas grises se muestran las lecturas de la secuenciación de RNAs pequeños mapeados sobre el precursor de miRNA, la estructura tallo-asa, o el miRNA primario. En azul se representan las lecturas correspondientes al miRNA maduro y en verde las del miRNA*. La distribución de estas lecturas de RNAs pequeños es la que se espera por las características de la biogénesis de miRNAs (figura basada en la referencia 25).

queños ("small RNA-seq" en inglés, ver abajo) permite la identificación de probables miRNAs sin conocer previamente su secuencia. Técnicamente, cuando decimos secuenciación de RNA, en realidad se secuencian las moléculas de DNA complementario a este RNA. Como se mencionó arriba, para varias especies vegetales ya está disponible la secuencia de su genoma, y para muchas más están disponibles secuencias de transcriptomas ensamblados *de novo*. Si la especie de su interés no cuenta con genoma ni transcriptoma previamente reportado, para identificar miRNAs habría que realizar dos secuenciaciones distintas: una de RNA pequeños y otra de transcritos poliadenilados; esta última seguida por un ensamblado *de novo*. Más detalles acerca de la secuenciación y ensamblado *de novo* de transcriptomas se pueden consultar en una revisión de esta misma revista (24). El procedimiento para identificación *de novo* de miRNAs se basa en las particularidades de su biogénesis. A grandes rasgos, los criterios considerados, que se

explicarán detalladamente más adelante, son: las secuencias del miRNA y del miRNA* encontradas en los resultados de secuenciación como evidencia de su expresión, que forman un dúplex con un desfase de 2 ± 1 nt, como evidencia de corte por una RNAsa tipo III, además de la identificación de un precursor que cumple con características específicas de estructura secundaria (Fig. 2) (13).

En los últimos años se ha vuelto muy común el uso de secuenciación masiva de RNAs pequeños para la identificación de miRNAs. Se ha generado una gran cantidad de información, pero dicha información debe ser verificada utilizando datos transcriptómicos o genómicos de la especie de interés para averiguar el origen de los RNAs pequeños y comprobar si se trata o no de miRNAs. Solamente después del análisis abajo descrito, se deben depositar las secuencias de miRNAs identificados en bases de datos. Sin embargo, actualmente gran parte de la información depositada en miRBase no ha sido verificada más

allá de la secuenciación de RNAs pequeños. Esto ha provocado la anotación equivocada de otro tipo de RNAs pequeños, mayormente de siRNAs, como si fuesen miRNAs. Un análisis de los miRNAs de plantas de la versión 20 de miRBase mostró que el 75% de ellos no contaban con evidencia suficiente para ser anotados como miRNAs (26). Las imprecisiones en la identificación de miRNAs pueden resultar en su anotación errónea, lo que dificulta el estudio del papel de los miRNAs en la regulación génica.

A continuación, se describe la secuenciación de RNAs pequeños y los pasos de su posterior análisis necesario para una identificación exitosa de miRNAs.

Secuenciación masiva de RNAs pequeños

En un procedimiento de secuenciación masiva de RNAs pequeños se determina la secuencia de nucleótidos que corresponde a moléculas de RNA de entre 18 y 30 nt de longitud, aproximadamente, como su nombre lo define. Para ello, primero a partir de RNA total se aísla la fracción de moléculas de RNA de esta longitud que es utilizada en la construcción de bibliotecas para su secuenciación. En la purificación de RNAs pequeños, la muestra incluye moléculas cortas de RNA de varios tipos: además de los RNAs pequeños de interés, como miRNAs y siRNAs, también hay fragmentos de moléculas de RNAs más grandes, entre ellos los de RNAs mensajeros, RNAs de transferencia, RNAs ribosomales, entre otros.

En los extremos de estas moléculas de RNA se ligan fragmentos cortos de RNA denominados adaptadores. El adaptador ligado primero al extremo 3' de cada molécula de RNA contiene una secuencia conocida, y el adaptador ligado al extremo 5' tiene otra secuencia. Luego sobre el templado de las moléculas de RNA con adaptadores se sintetiza la primera cadena de cDNA en una reacción de transcripción reversa. Esta cadena de cDNA se utiliza para obtener varias moléculas de DNA de doble cadena por el proceso de PCR (reacción en cadena de la polimerasa, por sus siglas en inglés). Uno de los adaptadores se usará para iniciar la secuenciación. El método empleado en la elaboración de las bibliotecas que se secuenciarán es clave en la obtención de resultados, pues puede generar un ses-

go debido a que la incorporación de ciertos adaptadores puede verse desfavorecida. Se ha evidenciado que el uso de adaptadores con secuencias degeneradas, es decir, el uso de un conjunto de adaptadores con secuencias variables en el extremo en que se ligan a los RNAs pequeños, permite evitar este sesgo. Sin embargo, para el uso de adaptadores con secuencias degeneradas es preferible contar con un genoma de referencia para poder distinguir dentro de las lecturas de secuenciación los nucleótidos que fueron añadidos (adaptadores) y las secuencias propias de la especie de interés (27, 28).

Para la anotación de miRNAs se deben incluir resultados de secuenciación de al menos dos bibliotecas independientes. Otro de los objetivos importantes de la secuenciación de RNAs pequeños es el monitorear su expresión en diferentes órganos, etapas de desarrollo o condiciones. Para poder realizar el análisis estadístico de la expresión diferencial y resaltar resultados reproducibles, además de tener muestras de condiciones diferentes, es necesario incluir dos o tres replicas biológicas, es decir, muestras de una misma condición provenientes de experimentos independientes.

Procesamiento de los datos crudos de la secuenciación

Como resultado de la secuenciación se obtienen archivos en formato FastQ de cada una de las bibliotecas secuenciadas. Este es un formato basado en texto que contiene la secuencia de nucleótidos, así como valores de calidad de secuenciación para cada nucleótido. Al tratarse de secuencias cortas, los resultados de secuenciación son generalmente de alta calidad. Existen diversas herramientas que generan reportes de calidad a partir de este tipo de archivos; una de ellas es FastQC (29). Después de verificar la calidad de las secuencias obtenidas, se procede al procesamiento de resultados de secuenciación, es decir, la remoción de los adaptadores. Existen varias herramientas, como Atropos, cutadapt, Trimmomatic o BBDuk que permiten eliminar los adaptadores de secuencias conocidas no variables (Revisado en 30). Tras el procesamiento, se debe analizar la distribución de longitud de las secuencias procesadas, lo cual sirve tanto como control de calidad de la purificación del RNA, de la preparación de

bibliotecas y de la secuenciación, como para confirmar la ausencia de nucleótidos provenientes de adaptadores. Generalmente los RNAs pequeños más abundantes son siRNAs de 24 nt de longitud, seguidos por miRNAs de 21 nt (30).

Mapeo sobre genoma o transcriptoma de las lecturas procesadas

La secuencia de nucleótidos de cada una de las moléculas obtenida como resultado de secuenciación masiva de RNA se denomina lectura. Para identificar genes *MIR*, las secuencias exactas de las lecturas procesadas de secuenciación de los RNAs pequeños se buscan en el genoma de referencia o el transcriptoma ensamblado *de novo*. A este proceso se le denomina mapeo y se basa en algoritmos de alineamiento de ácidos nucleicos. Para posteriores análisis, deberán considerarse únicamente las lecturas que pudieron mapearse. Con este paso, se discriminan posibles artefactos generados por secuenciación o por contaminación. La longitud de las estructuras tallo-asa de los pri-miRNAs de plantas varía de entre menos de 100 y hasta 900 nt (10). Por esta razón, en caso de no contar con un genoma de referencia y mapear las lecturas de RNAs pequeños sobre el transcriptoma, deben considerarse los transcritos de este rango de longitud.

Conteo de lecturas

En el caso de los RNAs pequeños el número de lecturas con una misma secuencia (secuencia única) que se obtiene como resultado de secuenciación masiva indica directamente el número de veces que se secuenció dicha molécula en la biblioteca analizada. Después de que se han contabilizado las lecturas, deben conservarse solo las lecturas que aparecen en al menos dos bibliotecas: de dos muestras provenientes cada una de condiciones distintas o de dos muestras de una condición provenientes de dos experimentos independientes (replicas biológicas). Estos datos pueden usarse para la identificación de miRNAs y el número de lecturas puede normalizarse, como se explica más adelante, para posterior análisis de acumulación de miRNAs.

Otra alternativa es agrupar las lecturas con sus variantes posicionales (Fig. 3). Los miRNAs pueden tener variantes posicionales



Figura 3. Variantes posicionales del microRNA de *Arabidopsis thaliana* *ath-MIR156c-5p* de acuerdo con la secuencia de su precursor y de la variante más abundante del miRNA maduro disponible en la base de datos miRBase (<http://www.mirbase.org/>).

que ocurren como resultado de corte por enzimas Dicer/DCL en posiciones ligeramente variables (31), o modificaciones en el extremo 3', como es el caso de miR1510 de soya que al monouridilarse pasa de 21 a 22 nt (11). Actualmente la variación de un nucleótido de longitud en un extremo de la molécula es aceptada como una variante posicional de un mismo miRNA, lo cual permite agrupar 5 variantes de un mismo miRNA (Fig. 3). Algunos algoritmos para el análisis de RNAs pequeños utilizan esta estrategia. Sin embargo, debe tenerse especial cuidado en que las secuencias agrupadas sean idénticas a las secuencias sobre las que se mapean.

Cuando se agrupan las variantes posicionales, para validar la presencia de un miRNA, se suma el número total de lecturas de las variantes posicionales tanto para el miRNA, como para el miRNA* y se calcula el porcentaje de estas lecturas respecto al número total de lecturas mapeadas al locus o al transcrito, la suma de ambos o alguno de los dos debe ser de al menos el 75%; este valor está sugerido por Axtell & Meyers en (13).

Predicción de precursores de miRNAs

En la siguiente etapa de la identificación *de novo* de miRNAs, se analiza la posibilidad de que las secuencias del genoma o transcritos a los que se mapearon las lecturas obtenidas por la secuenciación de RNAs pequeños correspondan a genes *MIR* o a precursores de miRNAs, respectivamente. Para ello se recaban, o minan, hasta 150 nt hacia cada lado, las secuencias que están flanqueando los sitios en donde se mapeó una lectura de

la secuenciación de RNAs pequeños (13). Se modela la estructura secundaria de estas secuencias recabadas para probar si pueden formar la estructura tallo-asa característica de los transcritos de genes *MIR*. Existen varios programas computacionales para la predicción de la estructura secundaria de RNA que evalúan también la probabilidad de que dichas secuencias sean precursores de miRNAs. Entre ellos destacan: miRDeep-P2 (32), ShortStack (33), miR-PREFeR (34), MIRENA (35). Estos algoritmos son de código abierto y de libre acceso. ShortStack, además, está disponible como una herramienta en línea que puede ser accedida desde <https://de.cyverse.org/de/> y no requiere mayor poder de cómputo. Aún al utilizar cualquiera de estos programas, es necesario revisar que los resultados predichos cumplen con los parámetros establecidos para la identificación *de novo* de miRNAs.

Como se ejemplifica en la figura 2, después de la predicción de la estructura secundaria, todo el conjunto de lecturas de secuenciación de RNAs pequeños se mapea sobre las secuencias minadas capaces de formar la estructura tallo-asa (mostrada en la figura 2 en color negro). Se contabiliza, cuántas lecturas se mapean a la secuencia exacta que corresponde al miRNA maduro (líneas en color azul), al miRNA* (en verde) y al resto de la estructura tallo-asa (en gris). Si la proporción de lecturas correspondientes al posible miRNA maduro es mayor a la del posible miRNA* y también se mapean unas pocas lecturas en otras regiones de la secuencia en cuestión, es alta la probabilidad de que la secuencia corresponda a un precursor de miRNA (32). Si en cambio, las lecturas mapeadas se traslapan entre sí a lo largo de la estructura tallo-asa, es probable que las lecturas que se mapean sobre esta estructura secundaria sean fragmentos de RNA generados como productos de degradación de otros tipos de RNA que pueden presentarla, como RNAs ribosomales, RNAs de transferencia, RNAs pequeños nucleares y RNAs pequeños nucleolares, entre otros, y no se trate de un precursor de miRNAs.

Las características con las cuales debe cumplir un posible precursor de miRNA para la anotación *de novo*, propuestas en el artículo 13, son las siguientes:

- El dúplex miRNA/miRNA* debe presentar extremos 3' colgantes con dos nucleótidos libres

- El dúplex miRNA/miRNA* puede tener hasta 5 bases no apareadas, solamente 3 de ellas formando protuberancias
 - Más del 75% de las lecturas mapeadas sobre el posible precursor deben corresponder al miRNA maduro o al miRNA*
 - La región de la estructura del tallo que forma el dúplex miRNA/miRNA* no debe tener tallos secundarios largos
 - La longitud del precursor debe limitarse a 300 nt
 - En general deben anotarse miRNAs de 20 a 22 nt
 - La anotación de miRNAs de 23 a 24 nt requerirá de fuerte evidencia que la respalde.
- Algunas de estas características se ilustran en pre-miRNAs de plantas en la figura 4.

Anotación de miRNAs

Finalmente, entre los miRNAs predichos *de novo* deben estar presentes miRNAs conservados en varias especies vegetales. Distinguir los miRNAs conservados de los nuevos, no descritos anteriormente, sirve como un control del correcto proceso de identificación *de novo*. Los miRNAs predichos pueden compararse contra las bases de datos públicos de miRNAs, como miRBase. Para realizar estas comparaciones pueden usarse herramientas para mapeo como seqmap o bowtie (36, 37). Generalmente se considera un miRNA como nuevo cuando difiere en más de 4 nt de los miRNAs conocidos y se consideran como isoformas de miRNAs conocidos aquellos que difieran entre 1 y 4 nt. Una gran parte de los miRNAs conservados actúan en procesos de desarrollo y de respuesta a estrés (1, 2, 3), por lo que se esperaría encontrar este tipo de miRNAs. El número de familias conservadas que se esperaría encontrar varía de acuerdo con el clado al que pertenece la especie vegetal que se está analizando. Por ejemplo, en el caso de una planta dicotiledónea se esperaría encontrar varias de las 29 familias que han sido anotadas como conservadas entre dicotiledóneas (13). Al ser los miRNAs de 21 y 22 nt los más representados en las bases de datos disponibles (12), se espera que la mayoría de los miRNAs conservados que se identifiquen tengan esa misma longitud.

Al hacer esta anotación, es importante considerar que la historia evolutiva de los miRNAs muestra una divergencia entre miRNAs de plantas y animales. Hasta hoy

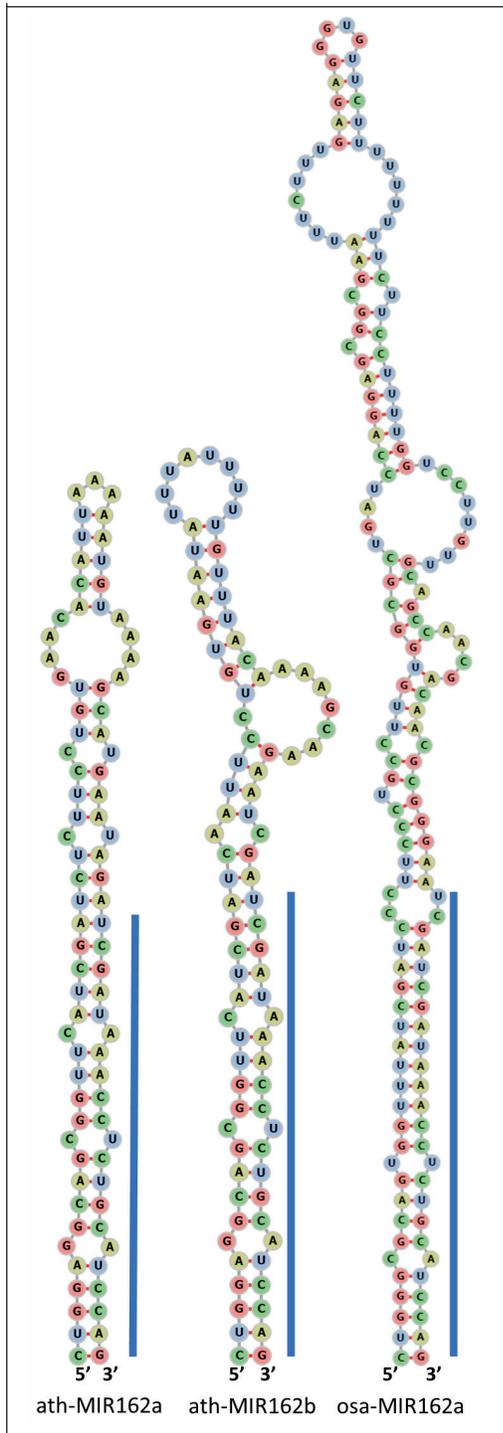


Figura 4. Estructura secundaria predicha de algunos precursores de miRNAs de *Arabidopsis thaliana* y *Oryza sativa*. La línea azul indica los nucleótidos de los miRNAs maduros. Imagen creada con <http://rna.tbi.univie.ac.at/cgi-bin/RNAWebSuite/RNAfold.cgi>, basada en la referencia 36. La parte de la estructura secundaria tallo-asa de pri-miRNA que se cortó durante el primer paso del procesamiento no se muestra.

en día son muy escasos los reportes sobre miRNAs que comparten homología en plantas y animales y que tienen el mismo blanco; por

ejemplo, en un artículo se describe que el miRNA con la misma secuencia en humanos y planta *Atropa belladonna* tiene un mismo blanco en humanos (39). Cuando en plantas se llegan a identificar varios miRNAs animales, lo más probable es que la muestra se haya contaminado en alguna etapa del proceso, por lo que sería recomendable no utilizar muestras contaminadas para la identificación de los miRNAs.

Los miRNAs identificados *de novo* en un procedimiento que cumple con todos los parámetros antes descritos, en el caso de tener menos del 84% de identidad con los miRNAs que pertenecen a una familia anteriormente reportada, se consideran como miRNAs nuevos, o linaje-específicos.

La normalización

Con el fin de poder comparar el nivel de acumulación de un miRNA entre diferentes condiciones estudiadas, es decir, entre las bibliotecas (muestras) analizadas, es necesario normalizar el número de lecturas, por lo que brevemente describimos las formas de normalizar las lecturas y las herramientas que se pueden utilizar para esto. Aunque las metodologías y parámetros para normalizar lecturas procesadas de secuenciación masiva de RNAs poliadenilados están más establecidos, estos métodos no siempre son los más apropiados para RNAs pequeños. En particular, la acumulación de distintos miRNAs sigue una distribución exponencial, es decir, la gran mayoría de lecturas totales provienen de unos cuantos miRNAs, mientras que el resto de miRNAs tienen bajo número de lecturas (40).

Se han implementado distintos métodos para normalizar los datos de secuenciación de RNAs pequeños. Dichos métodos pueden clasificarse en dos categorías: de escala, es decir, la aplicación de operaciones matemáticas lineales como en los métodos TMM (del inglés "Trimmed Mean of M-values"), RPTM ("Reads per ten million") o LOWESS ("locally weighted scatterplot smoothing") (41) y estadísticos, como cuantil, estabilización de varianza, método invariante o el algoritmo DEseq (42).

Una apropiada normalización facilitará la identificación de miRNAs diferencialmente expresados y, además, permitirá distinguir y descartar los datos de secuenciación cuya reproducibilidad no es confiable. Es recomen-

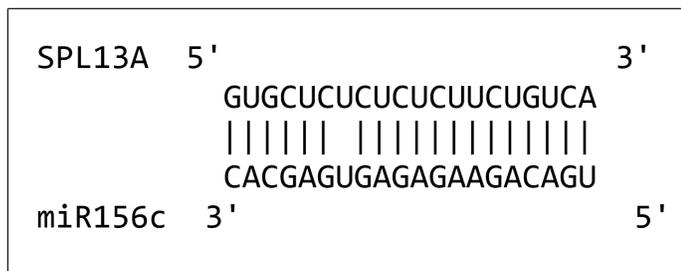


Figura 5. Sitio de unión de un miRNA y su transcrito blanco. Se muestra el apareamiento casi perfecto de miR156c de *Arabidopsis thaliana* con SPL13A (del inglés "Squamosa Promoter-Binding Protein Like 13A"), las líneas verticales representan los enlaces formados entre ambas moléculas. Imagen generada con la herramienta RNAhybrid de BiBiServ2 (<https://bibiserv.cebitec.uni-bielefeld.de/rnahybrid>).

dable el uso del software UEA workbench (42), ya que presenta una interfase amigable con el usuario para la aplicación de diferentes métodos de normalización de lecturas de RNAs pequeños. Esto facilita la elección del método más apropiado para las muestras utilizadas. Por otra parte, para utilizar esta plataforma se requiere de un genoma de referencia, lo que restringe su uso.

La expresión diferencial de un miRNA puede indicar la importancia de regulación de expresión génica por este miRNA durante un proceso en particular. Para poder descifrar el papel de un miRNA, es importante identificar los transcritos sobre los cuáles puede tener acción.

Predicción y validación de blancos de miRNA

Existen programas bioinformáticos para predecir los blancos sobre los que un miRNA podría actuar, uno de los más utilizados es psRNATarget (<http://plantgrn.noble.org/psRNATarget/>). Este tipo de programas mediante alineamientos identifican los sitios donde un miRNA se uniría a un blanco por complementariedad de bases. En la figura 5 se muestra un ejemplo de la predicción del apareamiento entre un miRNA y su blanco. Se recomienda en el caso de miRNAs de plantas considerar la región semilla (la región que debe ser complementaria con el transcrito) desde el nucleótido 2 al 13 del miRNA, permitiendo hasta dos nucleótidos desapareados en esta región.

La identificación de pares miRNA posibles blancos que previamente han sido reporta-

dos en otras especies sirve como control del correcto proceso. Es importante considerar que estos procedimientos realizados *in silico* requieren de comprobación experimental.

Por otra parte, el efecto de un miRNA que regula un transcrito mediante corte puede observarse en la disminución de la acumulación del transcrito. Por lo tanto, cuando se cuentan con datos de expresión de transcritos, pueden ser comparados cambios en acumulación de un miRNA y de su blanco. Una correlación inversa de la acumulación de miRNA y su blanco sugiere el papel del miRNA en la regulación de su blanco por corte endonucleolítico y posterior degradación. Sin embargo, no siempre se observa esta correlación inversa de acumulación del miRNA y su blanco, ya que en algunos casos puede requerirse de un umbral de acumulación para la activación de la regulación por corte endonucleolítico. Además, la regulación puede ser específica de algunos tipos celulares, por lo que podría no reflejarse en la acumulación de miRNA y su blanco en muestras de órganos completos que incluyen células pertenecientes a diferentes tejidos y tipos celulares (43). También debe considerarse que en el caso de inhibición de traducción mediada por miRNAs no se observará un efecto sobre la acumulación de transcrito.

De manera experimental la regulación de un miRNA mediante corte puede ser probada utilizando la técnica modificada de RACE (del inglés "Rapid Amplification of cDNA Ends": amplificación rápida de los extremos de cDNA). La modificación consiste en un paso previo de ligar un adaptador a la molécula de RNA, por lo que se denomina RLM-RACE ("RNA ligase-mediated RACE"). La acción de corte de AGO sobre un transcrito blanco de miRNA genera un monofosfato 5' en el extremo que ha sido cortado. La técnica de RLM-RACE aprovecha esta característica para ligar el adaptador de RNA en el extremo 5' (entonces, en este caso es 5' RLM-RACE). Luego, utilizando un oligonucleótido específico para el gen de interés y el otro homólogo a la secuencia del adaptador, se amplifica una parte del transcrito cortado río abajo del sitio de corte. Secuenciando el fragmento amplificado se evidencia el sitio exacto en donde ocurrió el corte (44). Esta técnica fue adaptada para analizar mediante secuenciación masiva todos

los sitios de corte por AGO en los transcritos de una muestra biológica, a esta técnica adaptada se le denomina degradoma o análisis en paralelo de los extremos de RNA, PARE por sus siglas en inglés (45, 46). Por la gran cantidad de información que el análisis de predicción de blancos o de su confirmación por PARE puede arrojar, es recomendable realizar una ontología de los genes y realizar un análisis de las categorías ontológicas a las que pertenecen los genes, cuya expresión se regula por miRNAs, y así identificar los procesos globales en los que pueden participar. El procedimiento de identificación y clasificación de miRNAs de plantas ha tenido grandes mejoras en los últimos años gracias a la aplicación de técnicas de secuenciación masiva y al arduo trabajo de diferentes grupos de investigación para refinar los procesos mediante los cuales se analizan dichas secuencias. Por un lado, se han ido refinando los parámetros de identificación de miRNAs, y por el otro lado, se han ido desarrollado diferentes herramientas que hacen más accesible su aplicación al requerir menos poder de cómputo y ser más amigables con el usuario. Actualmente existen plataformas y programas gratuitos, algunos de ellos mencionados arriba, que facilitan

el proceso descrito de identificación de miRNAs. La regulación genética es uno de los detonadores de la diversidad y la plasticidad en especies vegetales. La identificación de miRNAs en distintas especies vegetales ha permitido a su vez identificar genes que son regulados por miRNAs específicos en especies particulares. Pero, además, la recopilación y análisis de los datos que se van generando, permite visualizar parte del panorama de regulación genética que se comparte o no entre clados taxonómicos, influyendo en la diversidad de las especies vegetales.

Agradecimientos. El trabajo de las autoras sobre identificación de miRNAs y sus blancos en el cardón *Pachycereus pringlei*, una especie vegetal no modelo, ha sido parcialmente financiado por proyecto PAPIIT-UNAM IN201318. Agradecemos mucho todos los consejos y sugerencias del Dr. Damien Formey, Centro de Ciencias Genómicas - UNAM, a lo largo de realización de este proyecto de investigación, y las sugerencias de tres revisores anónimos que permitieron mejorar este artículo. A Mayra Liliana López-Valle se le otorgó una beca doctoral del CONACyT (registro 288069).



REFERENCIAS

1. D'Ario M, Griffiths-Jones S, Kim M (2017) Small RNAs: big impact on plant development. *Trends Plant Sci* 22:1056-1068.
2. Tang J, Chu C (2017) MicroRNAs in crop improvement: fine-tuners for complex traits. *Nature Plants* 3:17077.
3. Song X, Li Y, Cao X, Qi Y (2019) MicroRNAs and their regulatory roles in plant-environment interactions. *Annu Rev Plant Biol* 70:489-525.
4. Morris KV, Mattick, JS (2014) The rise of regulatory RNA. *Nature Reviews Genetics* 15:423-437.
5. Colaiacovo M, Lamontanara A, Bernardo L, Alberici R, Crosatti C, Giusti L, Cattivelli L, Faccioli P (2012) On the complexity of miRNA-mediated regulation in plants: novel insights into the genomic organization of plant miRNAs. *Biology Direct* 7:15.
6. Yu Y, Jia T, Chen X (2017) The 'how' and 'where' of plant microRNAs. *New Phytologist* 216:1002-1017.
7. Chen X (2009) Small RNAs and their roles in plant development. *Annu Rev Cell Dev Biol* 25:21-44.
8. Rogers K, Chen X (2013) Biogenesis, turnover, and mode of action of plant microRNAs. *Plant Cell* 25:2383-2399.
9. Deng P, Muhammad S, Cao M, Wu L (2018) Biogenesis and regulatory hierarchy of phased small interfering RNAs in plants. *Plant Biotechnol J*. 16:965-975.
10. Cuperus JT, Fahlgren N, Carrington JC (2011) Evolution and functional diversification of MIRNA genes. *Plant Cell* 23:431-442.
11. Fei Q, Yu Y, Liu L, Zhang Y, Baldrich P, Dai Q, Chen X, Meyers BC (2018) Biogenesis

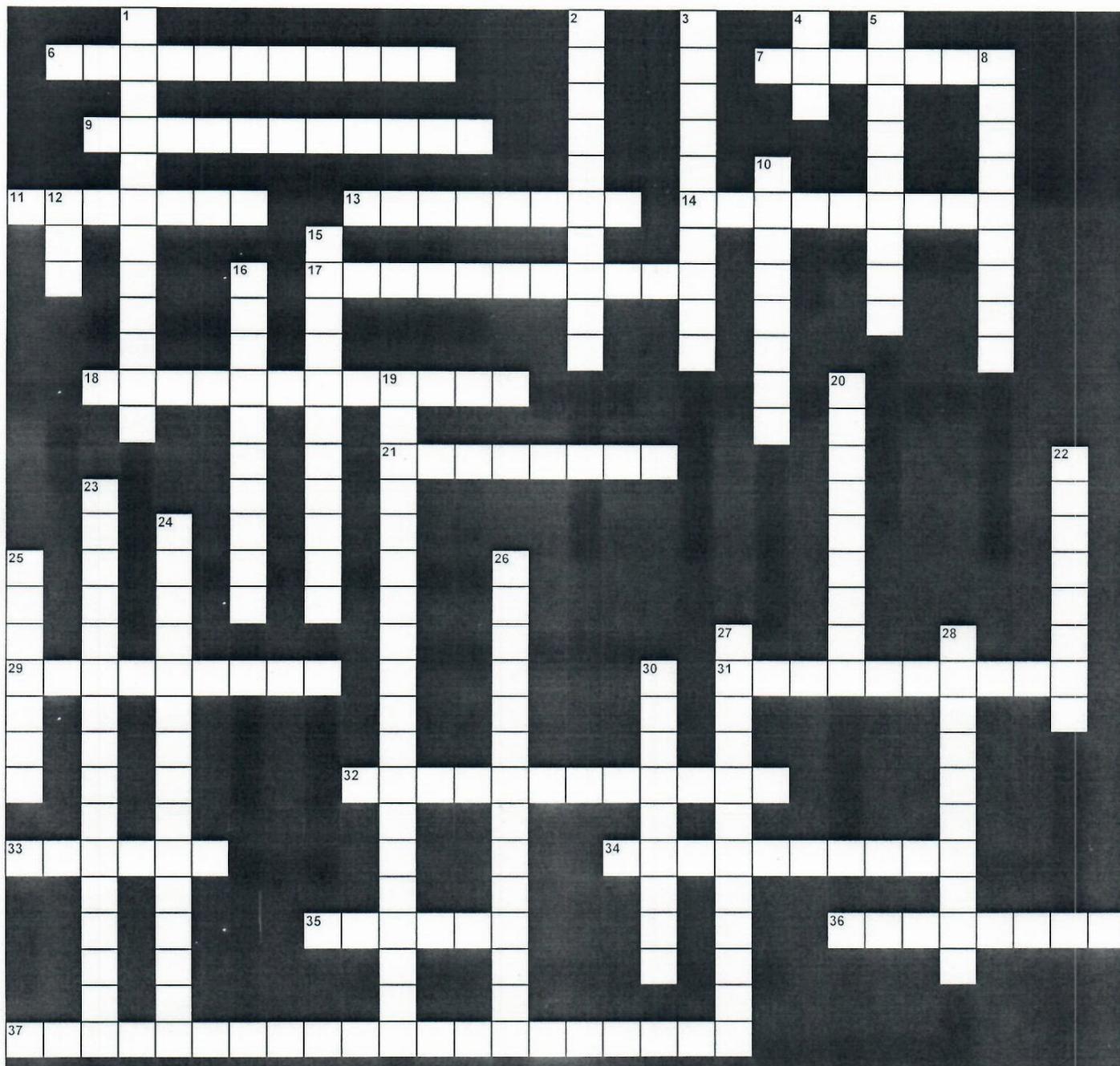
- of a 22-nt microRNA in *Phaseoleae* species by precursor-programmed uridylation. *Proc Natl Acad Sci* 115:8037–8042.
12. Chávez Montes RA, de Fátima Rosas-Cárdenas F, De Paoli E, Accerbi M, Rymarquis LA, Mahalingam G, Marsch-Martínez N, Meyers BC, Green PJ, de Folter S (2014) Sample sequencing of vascular plants demonstrates widespread conservation and divergence of microRNAs. *Nat Commun* 5:3722.
 13. Axtell M, Meyers B (2018) Revisiting criteria for plant microRNA annotation in the era of big data. *Plant Cell* 30: 272–284.
 14. Liu W W, Meng J, Cui J, Luan Y S (2017) Characterization and function of MicroRNAs* in plants. *Frontiers in Plant Science* 8:2200.
 15. Kozomara A, Griffiths-Jones S (2014) MiRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. *Nucleic Acids Research* 42: D68–D73.
 16. Lughadha E N, Govaerts R, Belyaeva I, Black N, Lindon H, Allkin R, Magill R E, Nicolson N (2016) Counting counts: revised estimates of numbers of accepted species of flowering plants, seed plants, vascular plants and land plants with a review of other recent estimates. *Phytotaxa* 272:82–88.
 17. One Thousand Plant Transcriptomes Initiative (2019) One thousand plant transcriptomes and the phylogenomics of green plants. *Nature* 574:679–685.
 18. Dehury B, Panda D, Sahu J, Sahu M, Sarma K, Barooah M, Sen P, Modi M (2013) *In silico* identification and characterization of conserved miRNAs and their target genes in sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) expressed sequence tags (ESTs). *Plant Signal Behav* 8:12.
 19. Jike W, Sablok G, Bertorelle G, Li M, Varotto C (2018) *In silico* identification and characterization of a diverse subset of conserved microRNAs in bioenergy crop *Arundo donax* L. *Scientific Reports* 8:16667.
 20. Cui J, You C, Chen X (2017) The evolution of microRNAs in plants. *Curr Opin Plant Biol.* 35:61–67.
 21. Thomson JM, Parker JS, Hammond SM (2007) Microarray analysis of miRNA gene expression. *Methods Enzymol* 427:107–22.
 22. Rosas-Cárdenas Fde F, Caballero-Pérez J, Gutiérrez-Ramos X, Marsch-Martínez N, Cruz-Hernández A, de Folter S (2015) microRNA expression during *prickly pear* cactus fruit development. *Planta* 241:435–48.
 23. Liu C, Calin G, Volinia S, Croce CM (2008) MicroRNA expression profiling using microarrays. *Nat Protoc* 3:563–578.
 24. Rodríguez-Alonso G, Shishkova S (2018) Estudio del transcriptoma mediante RNA-seq con énfasis en las especies vegetales no modelo. *Rev Educ Bioquímica* 37:75–88.
 25. Friedländer MR, Chen W, Adamidi C, Maaskola J, Einspanier R, Knespel S, Rajewsky N (2008) Discovering microRNAs from deep sequencing data using miRDeep. *Nature Biotechnology* 26:407–415.
 26. Taylor RS, Tarver JE, Hiscock SJ, Donoghue PC (2014) Evolutionary history of plant microRNAs. *Trends Plant Sci* 19:175–82.
 27. Sorefan K, Pais H, Hall AE, Kozomara A, Griffiths-Jones S, Moulton V, Dalmay T (2012) Reducing ligation bias of small RNAs in libraries for next generation sequencing. *Silence* 3:4.
 28. Dard-Dascot C, Naquin D, d'Aubenton-Carafa Y, Alix K, Thermes C, van Dijk E (2018) Systematic comparison of small RNA library preparation protocols for nextgeneration sequencing. *BMC Genomics* 19:118.
 29. Andrews S (2010) FastQC a Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data. <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>
 30. Chávez Montes RA, Jaimes-Miranda F, de Folter S (2019) Bioinformatic analysis of small RNA sequencing libraries. *Methods in Molecular Biology* 1932:51–63.
 31. Bologna NG, Schapire AL, Zhai J, Chorostecki U, Boisbouvier J, Meyers BC, Palatnik JF (2013) Multiple RNA recognition patterns during microRNA biogenesis in plants. *Genome Res* 23:1675–1689.
 32. Kuang Z, Wang Y, Li L, Yang X (2019) miR-Deep-P2: accurate and fast analysis of the microRNA transcriptome in plants. *Bioinformatics* 35:2521–2522.
 33. Johnson NR, Yeoh JM, Coruh C, Axtell MJ (2016) Improved placement of multi-mapping small RNAs. *G3* 6:2103–2111.
 34. Lei J, Sun Y (2014) miR-PREFeR: an accurate, fast and easy-to-use plant miRNA prediction tool using small RNA-Seq data. *Bioinformatics* 30: 2837–2839.

35. Mathelier A, Carbone A (2010) MIRENA: finding microRNAs with high accuracy and no learning at genome scale and from deep sequencing data. *Bioinformatics* 26:2226–2234.
36. Reinhart BJ, Weinstein EG, Rhoades MW, Bartel B, Bartel DP (2002) MicroRNAs in plants. *Genes Dev* 16:1616–1626.
37. Jiang H, Wong WH (2008) SeqMap: mapping massive amount of oligonucleotides to the genome. *Bioinformatics* 24:2395–2396.
38. Langmead B, Trapnell C, Pop M, Salzberg S L (2009) Ultrafast and memory-efficient alignment of short DNA sequences to the human genome. *Genome Biology* 10: R25.
39. Avsar B, Zhao Y, Li W, Lukiw WJ (2019) *Atropa belladonna* expresses a microRNA (aba-miRNA-9497) highly homologous to *Homo sapiens* miRNA-378 (hsa-miRNA-378); both miRNAs target the 3'-untranslated region (3'-UTR) of the mRNA encoding the neurologically relevant, zinc-finger transcription factor ZNF-691. *Cell Mol Neurobiol* 40:179–188.
40. Barquist L, Vogel J (2015) Accelerating discovery and functional analysis of small RNAs with new technologies. *Annu Rev Genet* 49:367–394.
41. Robinson MD, Oshlack A (2010) A scaling normalization method for differential expression analysis of RNA-seq data. *Genome Biology* 11:R25.
42. Beckers M, Mohorianu I, Stocks M, Applegate C, Dalmay T, Moulton V (2017) Comprehensive processing of high-throughput small RNA sequencing data including quality checking, normalization, and differential expression analysis using the UEA sRNA Workbench. *RNA* 23:823–835.
43. He J, Xu M, Willmann MR, McCormick K, Hu T, Yang L, Starker CG, Voytas DF, Meyers BC, Poethig RS (2018) Threshold-dependent repression of SPL gene expression by miR156/miR157 controls vegetative phase change in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genetics* 14:4.
44. Wang C, Fang J (2015) RLM-RACE, PPM-RACE, and qRT-PCR: an integrated strategy to accurately validate miRNA target genes. *Methods Mol Biol* 1296:175–186.
45. Addo-Quaye C, Eshoo TW, Bartel DP, Axtell MJ (2008) Endogenous siRNA and miRNA targets identified by sequencing of the *Arabidopsis* degradome. *Current Biology* 18:758–762.
46. German MA, Luo S, Schroth G, Meyers BC, Green PJ (2009) Construction of Parallel Analysis of RNA Ends (PARE) libraries for the study of cleaved miRNA targets and the RNA degradome. *Nat Protoc.* 4:356–62.

CRUCIBIOQ[®] SÍNDROME METABÓLICO

Yolanda Saldaña Balmori, Patricia V Torres Durán y Marco Antonio Juárez Oropeza

Correo E: balmori@bq.unam.mx



HORIZONTALES

- 6** Hay una relación de factores _____ secundarios de la resistencia a la insulina y del síndrome metabólico, como son: susceptibilidad genética, sedentarismo, dieta hipercalórica y tabaquismo, entre otros.
- 7** Se produce en las células β pancreáticas en una relación de 1/100 con la insulina, disminuye el apetito y el vaciado gástrico, inhibe la secreción de las enzimas digestivas y con ello se reduce la disponibilidad de la glucosa para su transporte a la sangre.
- 9** Proteína sanguínea que se glica durante la hiperglucemia; su valor de porcentaje de glicación en la fracción HbA1c refleja el control metabólico del paciente, es decir, su control glucémico.
- 11** Polipéptido presente en los adipocitos, su nombre proviene del griego *leptos* (delgado), es la encargada de regular el control del apetito desde el cerebro; en la obesidad probablemente haya una resistencia a esta molécula por la disminución o por la saturación de receptores que la transportan hacia el cerebro a través de la barrera hematoencefálica.
- 13** Se considera resistencia a esta proteína cuando la misma, presenta incompetencia para mantener un control de la glucosa en la sangre.
- 14** Célula con alto contenido graso cuyas funciones fisiológicas son la termogénesis y regular el metabolismo y el crecimiento celular, entre otras, además de producir mensajeros químicos denominados adipocinas.
- 17** Los datos de laboratorio clínico de un individuo en ayuno para considerar la _____ a la insulina son: glucosa en sangre superior a 100 mg/L; insulina superior a 16 mU/L; triacilgliceroles, superior a 150 mg/dL e índice de masa corporal superior a 25 kg/m².
- 18** Término que se refiere a la presencia de una o más enfermedades o trastornos adicionales a la enfermedad primaria y que ocurren en el mismo individuo. Regularmente se presentan al mismo tiempo o una después de otra, implicando una interacción entre ellas.
- 21** Se ha identificado como _____ metabólico a la suma de factores que representan un riesgo cardiovascular donde quedan incluidos: diabetes mellitus, dislipidemias, hipertensión arterial, obesidad central y anormalidades en el metabolismo de la glucosa que están asociados a la resistencia a la insulina.
- 29** Estas proteínas producidas por los linfocitos, los macrófagos, los adipocitos y las células endoteliales, entre otros, son las responsables de una comunicación intercelular; regulan el mecanismo de la inflamación, algunas son proinflamatorias y otras antiinflamatorias, dentro del primer grupo quedan incluidas principalmente el factor de necrosis tumoral (TNF- α), las interleucinas 1, 8, 12 y 16 y los interferones.
- 31** Este cuadro se caracteriza por una elevación en la concentración plasmática de colesterol y triacilgliceroles aunados a la disminución de colesterol-HDL, condiciones que propician la obstrucción de las arterias y posibilitan un accidente cerebrovascular, angina de pecho e infarto al miocardio.
- 32** Algunos _____ como los corticoides, antihistamínicos y antidepresivos, entre otros, podrían propiciar el síndrome metabólico ya que conducen a la intolerancia a la glucosa y a la obesidad.
- 33** En el síndrome de _____ poliquístico, la mujer produce grandes cantidades de andrógenos. Este padecimiento cursa con irregularidades menstruales, infertilidad, acné, aumento de vello y síndrome metabólico.
- 34** Algunas de las características del síndrome metabólico son el descenso del _____-lipoproteína de alta densidad, hipertensión arterial, hipertriacilglicerolemia, obesidad e hiperinsulinismo.
- 35** El síndrome metabólico está directamente relacionado con un aumento del _____ de padecer diabetes mellitus tipo 2, enfermedad cardiovascular, enfermedad coronaria y disminución de la sobrevivida.
- 36** El incremento de tejido adiposo _____ es un factor predecible del desarrollo de riesgo cardiovascular y de diabetes mellitus tipo 2 ya que aumenta el flujo de ácidos grasos libres e inhibe la acción de la insulina.

37 Esta condición es causada por el exceso de grasa corporal y por la inactividad física generados por la combinación de factores genéticos y los asociados con el estilo de vida, especialmente la sobrealimentación y el poco o nulo ejercicio físico.

VERTICALES

- 1** La presión arterial determina la cantidad de sangre que bombea el corazón y cuando por estrechamiento de las arterias o por factores hereditarios se elevan los valores de 120/80 mm de Hg, el individuo se encuentra en _____ arterial, que junto con obesidad, diabetes mellitus, hipoalfalipoproteinemia constituyen el síndrome metabólico.
- 2** Un _____ esencial del tratamiento del síndrome metabólico además de una alimentación conveniente y ejercicio físico, es la reducción de peso ya que se ha demostrado que mejora el perfil lipídico, reduce la presión arterial y disminuye el riesgo de mortandad por esta causa.
- 3** En esta región del cerebro se produce el neuropéptido Y el cual estimula el apetito, mismo que aumenta su concentración cuando la leptina se encuentra en niveles bajos.
- 4** Acrónimo del índice que refleja la relación del peso con la talla; sus valores muestran si la persona tiene bajo peso (<18.5 kg/m²), peso ideal (18.5 - 25.0 kg/m²), sobrepeso (25.0 -29.9 kg/m²) u obesidad (30.0 kg/m² o más).
- 5** Término que se refiere a la glucosilación no enzimática de las proteínas.
- 8** La dislipemia de este tipo incluye aumento de triacilglicérolos y de lipoproteínas con apolipoproteína B, un mayor número de lipoproteínas de baja densidad (LDL), y bajas concentraciones de HDL.
- 10** La variante de esta enfermedad denominada tipo 2, es la no insulino dependiente ya que la hormona se encuentra en cantidad suficiente para resolver las necesidades del individuo, pero las células no son capaces de responder y por ello se dice que son resistentes a la insulina; las causas pueden ser que haya mutaciones en el receptor de la hormona o bien si la ingesta alimenticia es muy alta se pueden suprimir la síntesis de receptores.
- 12** Acrónimo de la alteración neurológica que agrupa las causas trombótica, embólica y hemorrágica, comúnmente conocidas como choque o accidente cerebrovascular. Junto con la isquemia del miocardio, representa una de las mayores complicaciones del síndrome metabólico y sus comorbilidades.
- 15** Así se llama el cuadro cuando los niveles de glucosa son más elevados que los fisiológicos, pero sin llegar al rango patológico; dentro de sus posibles causas están, la resistencia a la insulina o la baja producción de la misma, y como factores que pueden desarrollarla está el sobrepeso y la poca actividad física.
- 16** Hormonas que se sintetizan en el intestino y son liberadas en respuesta a la presencia de alimentos en la luz intestinal; sus efectos más notables son el incremento de la secreción de insulina y la disminución de la glucemia posprandial. Las más conocidas son GIP y GLP-1, esta última también inhibe la secreción del glucagón.
- 19** La diabetes mellitus _____ se caracteriza por la ausencia de la hormona ya que el páncreas no produce células β o las que produce son defectuosas; las complicaciones de esta enfermedad son problemas renales y cardiacos entre otros, además de que la hiperglucemia conduce a la degeneración de la retina y glucosilación de las proteínas del cristalino.
- 20** Se ha planteado que este tipo de obesidad es el factor más importante de riesgo y desencadenante de las alteraciones del síndrome metabólico, ya que implica un acúmulo de grasa principalmente en hígado, músculo y páncreas.
- 22** El parámetro más constante para diagnosticar esta enfermedad es un IMC superior a 30 kg/m²; de acuerdo con la Federación Internacional de Diabetes se tiene que el perímetro de la cintura en las mujeres sea superior a 88 cm y el de los hombres superior a 102 cm.
- 23** Así se denomina a la inflamación grasa del hígado, la cual se clasifica con base en su asociación con la ingesta de etanol en alcohólica o no alcohólica; la denominada

no alcohólica es altamente prevalente en la diabetes tipo 2 y en el síndrome metabólico.

- 24** El valor sanguíneo normal de este lípido en un adulto es de 150 mg/dL que es lo mismo que 1.7 mmol//L (considerando un peso molecular promedio para la molécula de 880, se tiene que 150 mg son equivalentes al dato de la molaridad señalada).
- 25** Los valores plasmáticos fisiológicos de este azúcar, en ayuno, deben ser inferiores a 100 mg/dL, que es lo mismo que 5.6 mmol/L (180 mg en 1000 ml es 1 mmolar; de donde 100 mg en 100 mL da el dato en molaridad señalado).
- 26** Enfermedad ocasionada por la presencia de placas fibrosas con alto contenido de colesterol en las paredes de los vasos sanguíneos, debido a ello se pierde la elasticidad y se bloquea el flujo sanguíneo.
- 27** Es una citocina antiinflamatoria que se produce en los adipocitos, tiene como función aumentar la sensibilidad a la insulina en hígado, músculo esquelético y tejido adiposo, favorece la disminución de glucosa en la sangre y la lipólisis.
- 28** En el desarrollo de este síndrome, hay factores que lo exacerban como son la disminución de la actividad física, la edad avanzada, condicionantes genéticas, gran consumo de alimentos hipercalóricos y exceso de sal.
- 30** Dermatitis caracterizada por zonas de piel engrosadas y oscuras, por lo que se le agrega el adjetivo de *nigricans* o pigmentaria; este cuadro suele presentarse en personas obesas, con ovario poliquístico o con síndrome metabólico, también es una manifestación de adenocarcinoma.

DECONSTRUCCIÓN DE LA CLASE INVERSA

Rafael Camacho-Carranza¹ y María De la Luz Camacho-D'Amico^{1,2**}

¹Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM

²Facultad de Humanidades, Universidad La Salle, Cd.Mx.

**Autor de Correspondencia Correo E: lucy.cd1995@gmail.com

RESUMEN

Hoy como nunca, dada la actual situación de emergencia sanitaria, la educación a distancia ha sido probada por docentes de todos los niveles educativos, desde preescolar hasta posgrado, en diferentes países y en disímiles contextos. Por eso, propuestas educativas como la Clase Inversa, que es naturalmente afín a las TICs, se convierte en un modelo que llama la atención de los educadores, y que se utiliza como respuesta al contexto. En este trabajo presentamos breves notas introductorias al modelo, así como algunos elementos básicos de análisis sobre las ventajas y problemas que conlleva.

Palabras clave:

Clase Inversa, Aprendizaje Inverso

ABSTRACT

Today as never before, given the current health emergency, distance education has been tried out by teachers of all educational levels from preschool to postgraduate, in different countries and dissimilar contexts. That is why educational proposals such as the "Flipped Class," which is naturally akin to ICTs, become a model that draws educators' attention and is used to respond to the context. In this paper, we present brief introductory notes to the model and some basic analysis elements on the advantages and problems that it entails.

KEY WORDS:

Flipped Class, Flipped Learning

En el libro de 1998 titulado "Effective Grading: A tool for learning and assessment in college", Barbara E. Walvoord y Virginia Johnson Anderson, emplean el termino Clase invertida o "Flipped Classroom" (1) como una metodología en la que el estudiante es protagonista en la conceptualización e incorporación de conocimientos de manera individual fuera de los tiempos regulares de la clase, para dar espacio a la profundización del contenido por medio de la discusión en la sesión grupal. Pero es en 2007, cuando dos profesores de Química, de la Escuela Secundaria de la ciudad de Woodland Park, Colorado, Jonathan Bergmann y Aaron Sams, comenzaron a grabar sus clases con apoyo de PowerPoint y transmitir las por YouTube, popularizando el concepto. Jonathan y Aaron desarrollaron esta estrategia como una forma de ayuda para sus alumnos que, por diversas razones, no lograban comprender la lección en el aula. El éxito de su aproximación consistió en descubrir que sus alumnos tenían diferentes ritmos de tiempo para trabajar y madurar los conceptos y contenidos de la clase, lo que los condujo a invertir las estrategias para el aprendizaje de sus alumnos: brindando tiempo de trabajo individual para la búsqueda, investigación, estudio y análisis del contenido con apoyo de las lecciones grabadas, y aprovechando, como ya se mencionó, la clase grupal para profundizarlo, con el conocimiento primario analizado previamente por los estudiantes; en la misma lógica pedagógica que Barbara y Virginia propusieron. No fueron los primeros en grabar sus clases, pero si en popularizar el concepto de Clase Invertida (2).

Previamente, en 2004, Salman Amin Khan, matemático egresado del MIT, con el objeto de ayudar en matemáticas a sus jóvenes pri-

mos, comenzó a grabar sus clases y difundirlas en YouTube. Esta modalidad de enseñanza se transformó en una organización llamada "Khan Academy", la cual es ejemplo de la estrategia de Clase Invertida con una amplia difusión en varios idiomas y que actualmente cubre cada vez mayor número de campos del conocimiento (3).

Acorde con la asociación Red de trabajo para el Aprendizaje Inverso o "Flipped Learning Network" (FLN), el Aprendizaje Inverso es una aproximación pedagógica en la cual la enseñanza y las estrategias de aprendizaje se diseñan para el trabajo individual y para el trabajo grupal como dos espacios temporales separados; convirtiéndose el espacio de aprendizaje individual en un potenciador del espacio grupal, que debe ser un ambiente dinámico e interactivo en el que el educador guía a los estudiantes en la aplicación de conceptos y su vinculación creativa con el objeto de estudio (4).

La misma Red de trabajo claramente distingue entre lo que se conoce como Clase Inversa y el Aprendizaje Inverso. La Clase Inversa puede ser sólo una estrategia de transferencia de esfuerzos fuera del aula, sin que necesariamente se vinculen con los procesos y las actividades del espacio grupal, con el fin de ahorrar tiempo; por ejemplo, asignando a los estudiantes textos, videos, o cualquier tipo de recursos que deben revisar fuera de la clase para adentrarse en la temática de estudio, pero que no necesariamente implica una dinámica de Aprendizaje Inverso como afirma Kari M. Arfstrom, director de la FLN (5). Para Arfstrom, el Aprendizaje Inverso es una modalidad de Clase Inversa en la cual el objetivo educativo central es la construcción de aprendizajes individuales como base para la maduración del conocimiento mediante la discusión, en un contexto colectivo.

El fundamento teórico de la Clase Invertida/Aprendizaje Inverso se puede describir con las teorías desarrolladas por el Biólogo y Psicólogo Jean William Fritz Piaget y por el Filósofo y Pedagogo Lev Semionovich Vygotsky, sobre el Constructivismo y la Teoría Sociocultural del Desarrollo Cognitivo respectivamente, y que afirman que el individuo construye y asimila el conocimiento y sus propios procedimientos

de solución de problemas, mediante la relación con su entorno y la formación de un andamiaje desde la interacción social, para la reconstrucción interna; por tanto, la función del maestro es proporcionar herramientas y ambientes educativos para mediar y acompañar el logro de este proceso.

Por su origen epistemológico, la Clase Inversa y/o el Aprendizaje Inverso tienen como crítica las mismas que el Constructivismo y la Teoría Sociocultural del Desarrollo Cognitivo; además de los retos que, como comenta Raúl Santiago de la Universidad de la Rioja o el grupo Teach Thought fundado por Terry Heick, imponen las condiciones de accesibilidad a la tecnología entre los alumnos, la disparidad de estrategias para la autogestión educativa, el interés y motivación de los estudiantes por participar (que se convierte en un área crítica), la posibilidad de confrontación entre metodologías pedagógicas al enfrentarse a pruebas estandarizadas, y el agotamiento por la exposición a la pantalla de la computadora. Sin olvidar las consecuencias para el docente, como la organización de tiempo para la preparación de las actividades y su evaluación, la gestión de los diferentes ritmos o velocidades de aprendizaje de los alumnos, y la cuestión de la formación del profesorado para el desarrollo de la metodología de la Clase Inversa (6, 7).

En nuestra experiencia, aún cuando no se denominaba como tal Clase Inversa, en México tenemos ejemplos claros de la aplicación de esta estrategia, como en el Programa de licenciatura, maestría y doctorado en Investigación Biomédica Básica que inició en la UNAM en los años 70s, y que en 1996, se combinaron la maestría y el doctorado para la integración del Programa de doctorado directo en Ciencias Biomédicas de la UNAM. Una proporción importante de las clases en estos programas implican que el educando haga el esfuerzo individual para conocer el objeto de estudio y en la clase grupal el tiempo se aprovecha principalmente en el análisis del conocimiento adquirido. Seguramente otros programas, que el lector conoce, también han ocupado esta forma de educación con diverso grado de éxito. Una consideración importante es que en los ejemplos citados usualmente los grupos son pequeños, de 10 a 15 alumnos. Falta ver si en

grupos de mayor tamaño es igualmente efectiva la aplicación de esta estrategia.

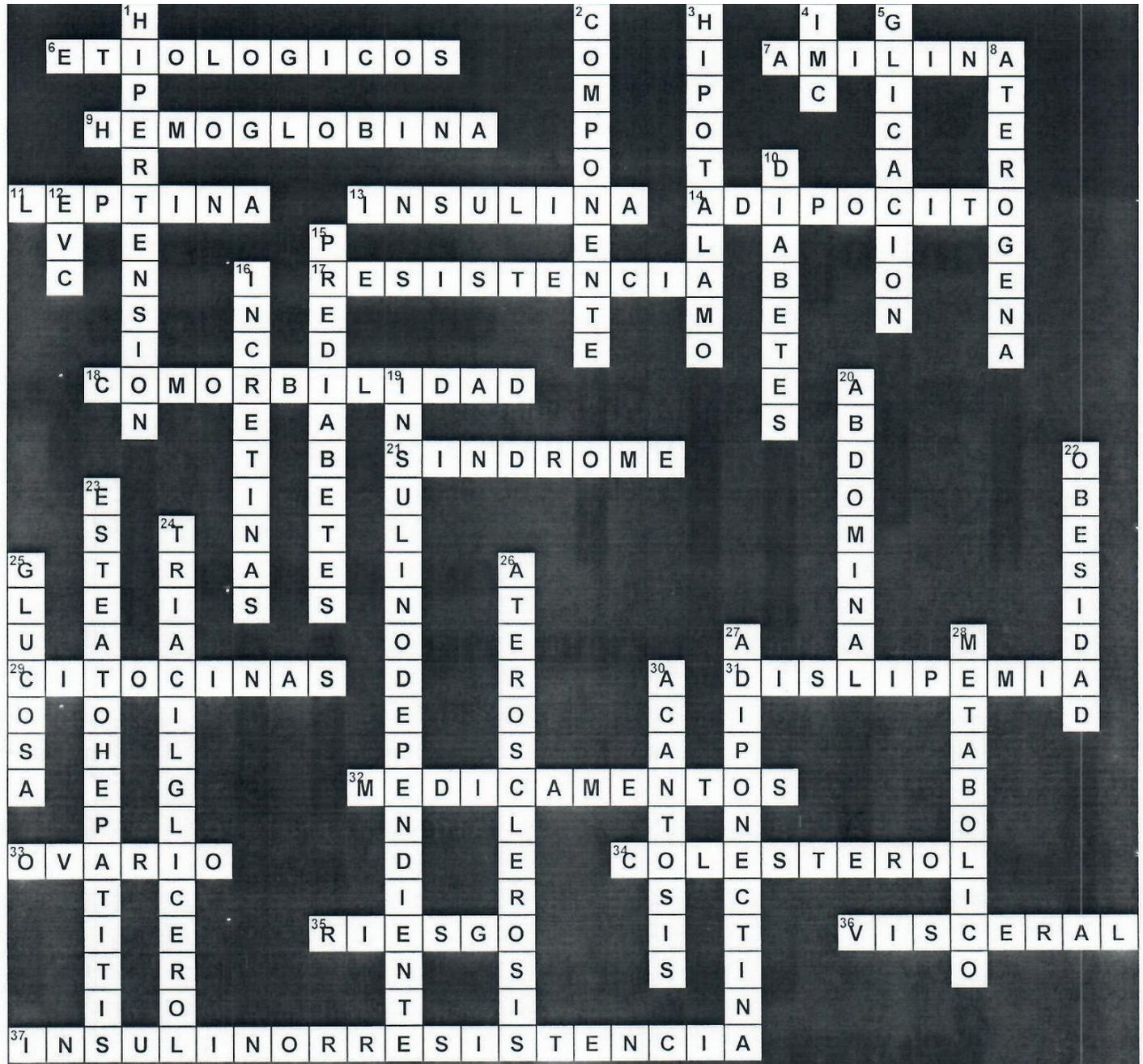
La Clase Inversa es una estrategia pedagógica que ha dado resultados, de la cual hay ejemplos concretos, y que en la especial situación que impone la pandemia actual, que impulsa/obliga a la educación mediante el uso de las TICs, parece natural el querer ensayar la Clase Inversa y/o el Aprendizaje Inverso. Seguramente el valor intrínseco que nuestros alumnos tienen para nosotros como educadores, nos animará para analizar las bondades y contraposiciones que este modelo educativo presenta.

1. Walvoord BE and Anderson VJ. Effective Grading: A Tool for Learning and Assessment in College. San Francisco, CA, USA: Jossey-Bass Publishers; 1998. p 272
2. Bergmann J y Aaron S. Dale la vuelta a tu clase: Lleva tu clase a cada estudiante, en cualquier momento y cualquier lugar. España: Ediciones SM; 2014. p 160
- 3 <https://www.khanacademy.org/>
- 4 <https://www.theflippedclassroom.es/>
- 5 <https://flippedlearning.org/definition-of-flipped-learning/>
- 6 <https://edtechmagazine.com/k12/article/2014/07/whats-difference-between-flipped-classroom-and-flipped-learning>
- 7 <https://www.teachthought.com/>

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ[®] SÍNDROME METABÓLICO

Yolanda Saldaña Balmori, Patricia V Torres Durán y Marco Antonio Juárez Oropeza

Correo E: balmori@bq.unam.mx



INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DE LA REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA (REB)

La REB es una revista dedicada a la divulgación, difusión, discusión, análisis y presentación de resultados derivados de investigaciones originales en temas relevantes en el campo de la bioquímica y áreas afines. La Revista está dirigida a investigadores, profesores y estudiantes de posgrado, licenciatura y educación media superior. Los trabajos que se someten a evaluación para su posible publicación no deben de haberse presentado total o parcialmente en otras publicaciones.

Se aceptan únicamente contribuciones originales con estricto contenido científico en forma de artículos de investigación, de revisión, de crítica, de análisis y otras comunicaciones que tengan que ver con diversas formas de estimular el aprendizaje de la bioquímica y sirvan de apoyo a investigadores, profesores y alumnos, tanto en aspectos de investigación, académicos y de actualización.

I. Los artículos se deben ajustar a los siguientes lineamientos editoriales:

1) Portada. En el primer párrafo incluir el título, el cual debe de ser claro, simple, atractivo y evitar las abreviaturas o en su caso, definir las al inicio del texto. En el siguiente párrafo se anotarán los nombres completos de los autores, iniciando por el nombre propio completo. La afiliación de los autores se escribirá en el siguiente párrafo, indicando departamento, institución, ciudad, estado y país y la dirección de correo electrónico del autor responsable. La afiliación de los autores se indicará con números entre paréntesis. Se proporcionará un título breve con un máximo de 60 caracteres.

2) Resumen. Se deberán incluir dos resúmenes, uno en idioma español y uno en inglés (Abstract) de no más de 350 caracteres.

3) Palabras clave. Se deberá proporcionar de tres a seis palabras clave en idioma español y en inglés.

4) Texto. El artículo deberá ser escrito en el procesador de textos "Word", con una extensión máxima recomendada de 15 cuartillas a doble espacio, en "Times New Roman 12" como fuente de la letra, sin formato de texto, tabuladores o pies de página. Las figuras y tablas se presentarán separadas del texto.

5) Referencias. Se indicarán en el texto con números entre paréntesis de acuerdo a su orden de aparición. Las referencias se enlistarán por orden numérico de aparición en el texto al final del trabajo y deben incluirse en el formato "Vancouver".

Autor/es. Título del artículo. Abreviatura internacional de la revista. Año; volumen (número): página inicial-final del artículo de acuerdo con el siguiente ejemplo: Dawes J. Rowley J. Enhancing the customer experience: contributions from information technology, J Business Res. 2005; 36(5):350-7. Los libros deben citarse de la siguiente forma: Libro completo: Autor/es. Título del libro. Edición. Lugar de publicación: Editorial; año. Por ejemplo: Bell J. Doing your research project 5th. ed. Maidenhead: Open University Press; 2005. Capítulo de libro: Autor/es del capítulo. Título del capítulo. En: Director/Coordinador/Editor del libro. Título del libro. Edición. Lugar de publicación: Editorial; año. Página inicial-final del capítulo. Por ejemplo: Franklin AW. Management of the problem. En: Smith SM, editor. The maltreatment of children. Lancaster: MTP; 2002. p. 83-85.

6) Figuras y Tablas. Las figuras se pueden presentar en formato "jpg" o integradas en un archivo de "Power Point" o del mismo "Word" separadas del texto del artículo. Las figuras pueden presentarse en colores, con fondo y sombreado. Las tablas deben de estar en "Word" sin formatos especiales y separadas del texto del artículo. Las figuras y las tablas se deberán numerar con arábigos. Las leyendas y los pies de figuras se deberán presentar en una hoja aparte. Se deberá considerar que las figuras y las tablas se reducirán a la mitad o a un cuarto de las dimensiones de una hoja tamaño carta; las letras y números más pequeños no deben ser menores de dos milímetros después de la reducción. En caso de emplear figuras previamente publicadas, deberá darse el crédito correspondiente y en su caso

obtener el permiso para su publicación. Las figuras dentro del texto deberán mencionarse con minúsculas, la palabra entera y sin paréntesis; cuando se haga referencia a ellas deberá citarse con la abreviatura, la primera letra mayúscula y entre paréntesis (Fig. 2). Las tablas siempre llevarán la primera letra a mayúscula y entre paréntesis (Tabla 2).

7) Abreviaturas. Las abreviaturas seguirán las normas de la IUPAC, aquellas específicas o poco comunes deberán definirse entre paréntesis, la primera vez que se utilicen.

II. Otras comunicaciones incluyen: resúmenes de artículos científicos interesantes, relevantes o significativos, información científica o académica de interés general, avisos de reuniones académicas y cursos, problemas teóricos, ejercicios prácticos, juegos didácticos con orientación educativa, bolsa de trabajo o comentarios de artículos publicados previamente en la REB, cartas al editor, entre otras. Éstas deberán seguir los siguientes lineamientos:

- 1) El contenido deberá ser desarrollado en forma resumida y de una manera explícita.
- 2) Se aceptará un máximo de 10 referencias que se citarán entre paréntesis en el texto, como se indica en el inciso I-5. Se podrán incluir figuras o tablas, con las características que se indican en el inciso I-6.

Los manuscritos que no cumplan con las especificaciones de la Revista no serán aceptados de primera instancia para su revisión.

Los manuscritos serán evaluados por lo menos por tres revisores seleccionados por el Comité Editorial a quienes se les enviará el trabajo con los autores en anónimo y quienes en todo momento permanecerán anónimos para los autores y entre

ellos; los revisores opinarán sobre la relevancia del trabajo en un lapso no mayor a un mes. Las correcciones y sugerencias de los revisores serán enviadas con anonimato entre ellos al Editor en Jefe. El resultado de la evaluación puede ser: rechazado, enviado para correcciones o aceptado. Una vez obtenida una evaluación global, el Editor en Jefe enviará las evaluaciones al autor responsable para que corrija e incorpore en el manuscrito las diferentes observaciones o en su caso, indique su opinión a observaciones que considere discutibles en los dictámenes de los revisores. El manuscrito corregido por los autores deberá ser devuelto a la Revista, en un lapso no mayor a 30 días naturales; de otra forma se considerará como un manuscrito enviado por primera vez. De ser necesario el Comité Editorial podrá enviar nuevamente el manuscrito corregido a los revisores para tener una nueva ronda de revisión, todo ello continuando con el anonimato. Una vez aceptado el trabajo, las pruebas de galera, se enviarán al autor responsable.

Los archivos electrónicos se deberán enviar a la Revista de Educación Bioquímica como archivos adjuntos (reb@bq.unam.mx), con atención al Editor en Jefe (jcalder@cinvestav.mx) y a partir de una dirección de correo electrónico que será considerada como la dirección oficial para la comunicación con los autores. El autor responsable deberá indicar plenamente su adscripción con teléfono, dirección electrónica y postal para comunicaciones posteriores. En el texto del mensaje enviado se deberá expresar la solicitud para considerar la posible publicación del artículo, el título del mismo, los nombres completos de los autores y su adscripción institucional, así como el número, tipo y nombre de los archivos electrónicos enviados. En el mismo texto se debe de aclarar que el trabajo no ha sido enviado a otra revista en su forma total o parcial, para su evaluación o que el mismo está en proceso de publicación en otra revista o en otro tipo de publicación. De igual manera se debe de aclarar que no existe conflicto de intereses entre los autores que envían el trabajo.