



XV REUNIÓN CIENTÍFICA DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE MUTAGÉNESIS AMBIENTAL

CÓRDOBA, 19, 20 y 21 DE JUNIO DE 2006

CAMPUS DE RABANALES, UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA



ORGANIZADA POR EL GRUPO
"BIOLOGÍA MOLECULAR DE LOS
MECANISMOS DE RESPUESTA A ESTRÉS"

 SIGMA



AYUNTAMIENTO DE CÓRDOBA



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

 BIO-RAD



MINISTERIO
DE EDUCACIÓN
Y CIENCIA



CÓRDOBA 2016
Ciudad Europea de la Cultura



**XV REUNIÓN CIÉNTIFICA DE
LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE
MUTAGÉNESIS AMBIENTAL**

CÓRDOBA, 19-21 DE JUNIO DE 2006

Organizada por el Grupo:

Biología Molecular de los Mecanismos de Respuesta a Estrés

Universidad de Córdoba

ÍNDICE

PROGRAMA	1
RESÚMENES DE CONFERENCIAS	7
RESÚMENES DE COMUNICACIONES	13
ÍNDICE DE AUTORES	71
DIRECTORIO DE PARTICIPANTES	75

COMITÉ ORGANIZADOR

Presidenta: Carmen Pueyo de la Cuesta

Secretaria: Nieves Abril Díaz

Tesorera: María José Prieto Álamo

Vocales: Juan López Barea
Juan Jurado Carpio
Carmen María Michán Doña
Julia Ruiz Laguna
Inmaculada Osuna Jiménez
Carlos A. Fuentes Almagro
Patricia Aguilar Melero
Teresa Gómez Fernández
Beatriz Espejo Reyes

COMITÉ CIENTÍFICO

Dr. Ricardo Marcos Dauder. Universidad Autónoma de Barcelona
Dr. Amadeu Creus Capdevilla. Universidad Autónoma de Barcelona
Dr. Felipe Cortés Benavides. Universidad de Sevilla
Dr. Miguel Ángel Comendador García. Universidad de Oviedo
Dra. Luisa María Sierra Zapico. Universidad de Oviedo
Dra. Susanna Suárez Figueras. Universidad de Santiago de Compostela
Dra. Carmen Pueyo de la Cuesta. Universidad de Córdoba
Dr. Juan López Barea. Universidad de Córdoba
Dra. Nieves Abril Díaz. Universidad de Córdoba
Dr. Rafael Rodríguez Ariza. Universidad de Córdoba

ORGANISMOS Y ENTIDADES COLABORADORAS

Ministerio de Educación y Ciencia
Excmo. Ayuntamiento de Córdoba
Universidad de Córdoba
Sociedad Española de Mutagénesis Ambiental
Bio-Rad Laboratories, S.A.
Sigma-Aldrich Química, S.A.

SEDE DE LA REUNIÓN

Sala de Grados "Manuel Medina"
Edificio de Gobierno. Campus Universitario de Rabanales
Carretera Madrid-Cádiz, km 396a
14071-Córdoba

PROGRAMA

Lunes 19 de Junio de 2006

10.30-12.00 Entrega de la documentación

12.00-12.30 Inauguración Oficial del Congreso

12.30-13.30 CONFERENCIA INAUGURAL

Moderadora: Dra. Carmen Pueyo de la Cuesta

Genes, proteínas y metalómica

Prof. José Luis Gómez Ariza. Universidad de Huelva

13.30-15.00 Almuerzo

15.00-16.30 SESIÓN 1ª: GENÓMICA Y PROTEÓMICA

Moderadores: Dr. Miguel Ángel Comendador García y Dra. L. María Sierra Zapico.

15.00-15.15 Cambios de expresión génica en el hámster sirio tras exposición al arsénico.

Hernández A, Creus A, Xamena N, Marcos R.
Universidad Autónoma de Barcelona.

15.15-15.30 Genómica y proteómica del ratón de laboratorio *Mus musculus*: respuesta a estrés oxidativo inducido por paraquat.

Osuna-Jiménez I, Fuentes-Almagro CA, Chicano-Gálvez E, Jurado J, Prieto-Álamo MJ, López-Barea J, Pueyo C.
Universidad de Córdoba.

15.30-15.45 Biomarcadores bioquímicos y análisis proteómicos en ratón moruno para evaluar la contaminación potencial de Doñana.

Bonilla Valverde D, Ruiz Laguna J, Montes Nieto R, Ballesteros Barros J, Gómez Ariza J L, López Barea J.
Universidad de Córdoba.

15.45-16.00 Proteómica ambiental en ratones de zonas contaminadas de Andalucía.

Montes Nieto R, Fuentes Almagro C, Bonilla Valverde D, Chicano-Gálvez E, Pueyo C, López-Barea J.
Universidad de Córdoba.

16.00-16.15 Estudios con biomarcadores y análisis proteómicos en cangrejo de río.

Vioque-Fernández A, Alves de Almeida E, López-Barea J.
Universidad de Córdoba.

16.15-16.30 Identificación en bivalvos de proteínas alteradas por la contaminación.

Alhama J, Romero-Ruiz A, Carrascal M, Abián J, López-Barea J.
Universidad de Córdoba.

16.30-17.00 Pausa-café

17.00-18.30 SESIÓN 2ª: BIOMARCADORES TUMORALES.

Moderadores: Dr. Juan López Barea y Dra. Nieves Abril Díaz.

17.00-17.15 Ajuste alternativo del transcrito primario del proto-oncogen *c-fos*: cuantificación absoluta de una isoforma que conserva el intrón 3.

Fuentes-Almagro CA, Jurado J, Prieto-Álamo MJ, Pueyo C.
Universidad de Córdoba.

- 17.15-17.30 **Determinación de variantes del gen *BRCA1* en familias de mujeres con cáncer múltiple incluido mama.**
Ferreiro JA, Álvarez O, Fernández L, Pérez A, Sierra LM, López ML, Comendador MA.
Universidad de Oviedo.
- 17.30-17.45 **Análisis genotípico del gen *BRCA2* en familias de mujeres con cáncer múltiple incluido mama.**
Álvarez O, Fernández L, Pérez A, Álvarez L, Sierra LM, Comendador MA, López ML, Ferreiro JA.
Universidad de Oviedo.
- 17.45-18.00 **Efecto de las variantes genotípicas de los genes *TP53*, *GSTM1* y *GSTT1* en familias de pacientes con tumores múltiples incluido mama.**
Fernández L, Álvarez O, Pérez A, Álvarez L, Comendador MA, Sierra LM, López ML, Ferreiro JA.
Universidad de Oviedo.
- 18.00-18.15 **Efectos de la quimioterapia adyuvante en cáncer de mama analizados mediante el ensayo del cometa.**
Uriol E, Menéndez M, Sánchez R, Sierra M, Comendador MA, Sierra LM.
Universidad de Oviedo.
- 18.15-18.30 **Polimorfismos genéticos como marcadores de susceptibilidad al cáncer de tiroides.**
Pérez G, Marcos R, Hernández A.
Universidad Autónoma de Barcelona.
- 21.00- **Recepción en el Alcázar de los Reyes Cristianos, ofrecida por el Excmo. Ayuntamiento de Córdoba.**

Martes 20 de Junio de 2006

- 10.00-11.00 **CONFERENCIA INVITADA**
Moderador: Dr. Juan Jurado Carpio
Physiological relevance of the alternative nucleotide incision repair pathway in handling oxidative damage in DNA.
Dr. Murat K. Saparbaev. Institut Gustave-Roussy. CNRS. Francia.
- 11.00-11.30 **Pausa-Café**
- 11.30-12.15 **SESIÓN 3ª: INESTABILIDAD GÉNICA.**
Moderadores: Dra. Ángeles Alonso Moraga y Dra. Carmen Michán Doña.
- 11.30-11.45 **Inestabilidad de microsatélites en la línea somática de individuos mutantes para el gen *PCNA* de *Drosophila melanogaster* (*mus209^{B1}*).**
López A, Velázquez A, Xamena N, Marcos R.
Universidad Autónoma de Barcelona.
- 11.45-12.00 **Estudio epigenético de los mutantes *zeste*¹ de *Drosophila melanogaster*.**
Portela A, Badal M, Xamena N, Cabré O.

Universidad Autónoma de Barcelona.

- 12.00-12.15 **Caracterización de AtPOLK, una ADN polimerasa de la familia Y en *Arabidopsis thaliana*.**

García-Ortiz MV, Roldán-Arjona MT, Ariza RR.

Universidad de Córdoba.

12.15-13.30 SESIÓN 4ª: PREVENCIÓN Y REPARACIÓN DE DAÑOS A BIOMOLÉCULAS.

Moderadores: Dra. Susanna Suárez Figueras y Dr. Miquel Borràs Suárez.

- 12.15-12.30 **Regulación transcripcional del gen *Gsta3*: análisis comparativo de la región promotora en las especies *Mus musculus* y *Mus spretus*.**

Ruiz-Laguna J, Abril N, Pueyo C.

Universidad de Córdoba.

- 12.30-12.45 **Sistemas redox dependientes de tiorredoxina/glutación en el patógeno *Candida albicans*.**

Michán C, Pueyo C.

Universidad de Córdoba.

- 12.45-13.00 **Inhibición por siRNA de la expresión del gen *Prdx1* de mamífero.**

Aguilar-Melero P, Osuna-Jiménez I, Prieto-Álamo MJ, Pueyo C.

Universidad de Córdoba.

- 13.00-13.15 **Identificación y caracterización molecular de dos enzimas con actividad 5-metilcitosina-ADN glicosilasa en la planta modelo *Arabidopsis thaliana*.**

Morales-Ruiz MT, Ortega-Galisteo AP, Ponferrada-Marín MI, Martínez-Macías MI, Ariza RR, Roldán-Arjona MT.

Universidad de Córdoba.

- 13.15-13.30 **Estudio de la expresión y complementación en levaduras de los genes *AtPOLH* y *AtREV1* que codifican enzimas de síntesis translesión en *A. thaliana*.**

Santiago MJ, Alejandro E, Ruiz-Rubio M.

Universidad de Córdoba.

13.30-15.00 Almuerzo

15.00-16.00 SESIÓN 5ª: PREVENCIÓN Y REPARACIÓN DE DAÑOS A BIOMOLÉCULAS (Cont.)

Moderadores: Dra. Mª Teresa Roldán Arjona y Dr. Rafael Rodríguez Ariza.

- 15.00-15.15 **La sustitución del DNA con nucleósidos halogenados protege del envenenamiento de las topoisomerasas I y II que causa roturas de doble cadena.**

Orta M.L, Cantero G, Mateos S, Pastor N, Domínguez I, Cortés F.

Universidad de Sevilla.

- 15.15-15.30 **El agente antitumoral cisplatino induce endorreduplicación en células CHO.**

Cantero G, Pastor N, Mateos S, Campanella C, Orta ML, Domínguez I, Cortés F.

Universidad de Sevilla.

- 15.30-15.45 **Importancia de la inhibición catalítica de la enzima topoisomerasa II en la respuesta celular frente a radiación ionizante.**
Mateos S, Hajji N, Pastor N, Cantero G, Domínguez I, Cortés F.
Universidad de Sevilla.
- 15.45-16.00 **Inhibición de la topoisomerasa II de ADN y alta frecuencia de endorreduplicación inducida por flavonoides en células CHO.**
Cantero G, Campanella C, Mateos S, Cortés F.
Universidad de Sevilla.
- 16.00-16.30 **Pausa-café**
- 16.30-17.30 **Asamblea Anual de la Sociedad Española de Mutagénesis Ambiental.**
- 21.00- **Cena de la Reunión (Restaurante *Bodegas Campos*).**

Miércoles 21 de Junio de 2006

- 10.00-11.00 **SESIÓN 6ª: GENOTOXICIDAD Y ANTIGENOTOXICIDAD.**
Moderadores: Dra. Carmen Pueyo de la Cuesta y Dra. Mª José Prieto Álamo.
- 10.00-10.15 **Antigenotoxicidad y citotoxicidad de vegetales contenidos en la dieta.**
Lozano-Baena MD, Campos-Sánchez J, Romero-Jiménez M, Tasset-Cuevas I, Anter J, Rhouda T, Font R, De Haro A, Analla M, Muñoz-Serrano A, Alonso-Moraga A.
Universidad de Córdoba.
- 10.15-10.30 **Evaluación genotóxica de diversos subproductos de la cloración del agua de consumo.**
Liviac D, Creus A, Marcos R.
Universidad Autónoma de Barcelona.
- 10.30-10.45 **Mutación génica inducida por arsénico en el ensayo de linfoma de ratón.**
Soriano C, Creus A, Marcos R.
Universidad Autónoma de Barcelona.
- 11.00-11.30 **Pausa-Café**
- 11.30-12.00 **SESIÓN 7ª: GENOTOXICIDAD Y ANTIGENOTOXICIDAD (Cont.)**
- 11.30-11.45 **Efecto de una nueva benzofenantridina de origen vegetal sobre la fragmentación del ADN en dos líneas celulares.**
González-Linares J, Pachón G, Azqueta A, Raharisololalao A, López de Cerain A, de Lapuente J, Borràs M, Baudrimont I, Centelles JJ, Creppy E, Cascante M.
Parque Científico de Barcelona.
- 11.45-12.00 **Análisis de micronúcleos en aves marinas expuestas al vertido del prestige.**
Suárez S, Sueiro RA, Velando A, Oro D, Garrido J.
Universidad de Santiago de Compostela.
- 12.00-13.00 **CONFERENCIA DE CLAUSURA**

Moderador: Dr. Juan López Barea

Ecotoxicogenomics: opportunities for obtaining novel biomarkers and determining toxic responses in fish

Prof. J. Kevin Chipman. University of Birmingham. Reino Unido.

13.00-13.30 Clausura de la Reunión

13.30-15.00 Almuerzo.

RESÚMENES DE CONFERENCIAS

GENES, PROTEÍNAS Y METALÓMICA

Gómez Ariza JL, Garcia Barrera T, Arias A.

Departamento de Química y Ciencia de los Materiales; Facultad de Ciencias Experimentales; Universidad de Huelva; Campus de El Carmen; 21007-Huelva

La caracterización de metalobiomoléculas constituye la base de numerosos estudios relacionados con el papel que diversos elementos tienen en la vida. La presencia de metales, no metales y metaloides en los sistemas biológicos es crucial en la señalización celular, expresión génica, acción enzimática y otros procesos fundamentales para el funcionamiento celular. Numerosas enfermedades tienen su origen en una deficiencia o carencia de metales, los cuales son cofactores enzimáticos en la síntesis del ADN, los procesos metabólicos y antioxidativos y otras funciones. Por otro lado, la presencia de metales puede desencadenar efectos nocivos: carcinogénicos (As, Cr, Pt), inmunotóxico (Au, Co, Cr, Ni, Pt), embrio/teratogénico (Hg), espermogénico (Cd, Pb, Tl) o neurotóxico (Al, Hg, Mn), y elementos como el fósforo constituyen la base de la señalización celular. También es de gran interés el uso de metales como sondas farmacológicas, Pt (cisplatino y carboplatino) y Ru en la terapia del cáncer y Au en compuestos antiartríticos, siendo necesario conocer sus mecanismos de asociación al ADN y a las proteínas.

La presencia e importancia de heteroátomos (metales, no metales y metaloides diferentes al C, H, O y N) unidos al material genético y a las proteínas, ha impulsado el desarrollo de nuevas metodologías analíticas para el estudio de biomoléculas en las que dicho heteroátomo sirve de marcador molecular en niveles inferiores al sub-femtogramo. Ello ha sido posible por el uso de técnicas atómicas recientes de gran sensibilidad para la caracterización de elementos (ICP-MS; ICP-DRC-MS; ICP-HRMS) que ha recibido el nombre de proteómica con marcaje heteroatómico, y más recientemente, al ampliar la metodología a cualquier tipo de metalobiomolécula de **metalómica**.

El nuevo paradigma debe hacer frente no sólo al análisis de biomoléculas y metabolitos conocidos sino de forma especial a especies químicas desconocidas a nivel celular, lo que requiere el uso de procedimientos analíticos multidimensionales que combinen al menos tres componentes instrumentales: (a) Una unidad de separación, simple o múltiple que puede combinar técnicas de separación ortogonales de fundamento complementario, como la cromatografía de exclusión de tamaños (SEC), HPLC (con fase reversa, intercambio catiónico, intercambio aniónico, afinidad, y combinaciones de ellas), CE, 2-DE, **componente discriminador**, que permite la introducción secuencial de las diversas especies metálicas en el detector; (b) Una unidad detectora de elementos, generalmente un sistema ICP-MS, para la identificación y cuantificación del heteroátomo presente en la molécula, **componente marcador del heteroelemento**, y (c) Un sistema instrumental para la caracterización y confirmación de las moléculas desconocidas, basadas en el empleo de la espectrometría de masas (ESI-Q-TOF, ESI-IT-MS, MALDI-TOF, MALDI-TOF-TOF), **componente de identificación estructural**.

NOTAS:

PHYSIOLOGICAL RELEVANCE OF THE ALTERNATIVE NUCLEOTIDE INCISION REPAIR PATHWAY IN HANDLING OXIDATIVE DAMAGE IN DNA.

Saparbaev MK, Ishchenko AA, Daviet S, Couve-Privat S.

Institut Gustave Roussy, UMR 8126 C.N.R.S., 39, rue Camille Desmoulins, 94805 Villejuif, France.

Oxidative DNA damage have been postulated to be major type of endogenous damage leading to human degenerative disorders including cancer, cardiovascular disease and brain dysfunction. Despite the progress in understanding of the base excision repair (BER) pathway it is still unclear why mice deficient in DNA glycosylases that remove oxidized bases are not sensitive to oxidizing agents. Therefore, we investigated whether an alternative nucleotide incision repair (NIR) pathway may serve as back up system to BER to cleanse genomic DNA of potentially mutagenic and cytotoxic lesions. Recently, we attempted to elucidate the role of the NIR and 3'→5' exonuclease activities of AP endonucleases in handling cytotoxic DNA lesions and preventing 8oxoG-induced mutagenesis in *E. coli* and *S. cerevisiae*. We have shown that AP endonucleases can remove oxidized nucleotides at 3'-termini of a gap or a nick. Consistent with this, the yeast *Apn1* strongly suppresses the rate of G•C to T•A transversions in the *ogg1* mutants. Furthermore, we reported a mutational separation of various DNA repair functions of the *E. coli* *Nfo* which revealed the biological function of the NIR pathway. We extended data obtained on bacteria to human cells showing that the intranuclear environment of human cells is compatible with *Ape1*-catalyzed NIR activity. These findings further substantiate a role of the NIR pathway in the removal of oxidative DNA damage that, when left unrepaired, induces cell death and mutagenesis.

NOTAS:

ECOTOXICOGENOMICS: OPPORTUNITIES FOR OBTAINING NOVEL BIOMARKERS AND DETERMINING TOXIC RESPONSES IN FISH.

Chipman JK¹, George SG², Williams TD¹.

¹The University of Birmingham, Edgbaston, Birmingham, B15 2TT, UK

² University of Stirling, FK9 4LA, Scotland

Traditionally a number of useful biomarkers of pollutant responses have centred on the induction of stress-responsive genes. Genomic technologies offer an opportunity to gain a more global assessment of the health status of an organism through an understanding of the functional pathways that are responding to pollutant exposure. As an example, gene expression responses to genotoxic agents will be explored. Genomics may thus provide additional predictive biomarkers for environmental monitoring as well as identifying toxic mechanisms. Information is relatively forthcoming in model organisms for which adequate databases are available. However, toxicogenomics in organisms of environmental relevance is more difficult. We have developed a 13,000 cDNA microarray for the European flounder (EU-GENIPOL Project). Flounder taken from different sites in Northern Europe (and of different pollution status) can be distinguished according to their gene expression profile using bioinformatic approaches. To determine which gene expression differences may relate to pollutant impact, we have completed complementary laboratory exposures of flounder to selected toxicants and determined the associated gene expression profiles. This will be demonstrated in relation to response to cadmium and to estrogens. In addition to the detection of changes in known biomarkers, gene ontology analyses have indicated alteration of a range of pathways. In the case of cadmium, many of the changes seen can be associated with an oxidative stress. Importantly, interactive effects have been discovered e.g. between polycyclic aromatic hydrocarbons, estrogens and metals. A major challenge is the integration of such studies into risk assessment for example in the derivation of novel batteries of biomarkers. However, to achieve this, it is necessary to distinguish between compensatory and toxic responses and these issues will be illustrated with reference to CYP and HSP induction. This work was funded by the NERC, CEFAS and EU and has involved GENIPOL collaborations.

NOTAS:

RESÚMENES DE COMUNICACIONES

CAMBIOS DE EXPRESIÓN GÉNICA EN EL HÁMSTER SIRIO TRAS EXPOSICIÓN AL ARSÉNICO

Hernández A, Creus A, Xamena N, Marcos R.

Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra

El arsénico y las especies de arsénico derivadas de su biotransformación son considerados como genotóxicos y carcinogénicos en humanos, pero sus mecanismos de acción siguen siendo en parte desconocidos. Últimamente se han estado utilizando, *in vitro*, diferentes técnicas moleculares como, por ejemplo, los microchips de DNA o RNA, con el fin de determinar cuáles son los genes cuya expresión se ve afectada tras una exposición al arsénico o a alguno de sus compuestos, pero existe poca o nula información sobre lo que ocurre *in vivo*. En la siguiente comunicación se presentan los resultados obtenidos recientemente en un estudio en el que se han tratado machos de hámster sirio con arsenito sódico (AsIII). Se utilizaron dos tipos de tratamiento: agudo y crónico. El tratamiento agudo se administró por inyección intramuscular y el crónico a través del agua de bebida durante 16 semanas. Se utilizó la técnica *Differential Display PCR* (DD-PCR) para determinar el perfil de expresión génica en los diferentes órganos diana. Además de información acerca de los mecanismos de acción que pueda estar ejerciendo el arsénico de forma específica en los diferentes órganos, o según el tipo de exposición, los genes cuya expresión se vea alterada podrían ser candidatos a presentar polimorfismos que contribuyeran a explicar, al menos parcialmente, la variabilidad individual en la respuesta frente al arsénico que se conoce que existe en las poblaciones humanas.

NOTAS:

GENÓMICA Y PROTEÓMICA DEL RATÓN DE LABORATORIO *Mus musculus*: RESPUESTA A ESTRÉS OXIDATIVO INDUCIDO POR PARAQUAT.

Osuna-Jiménez I, Fuentes-Almagro CA, Chicano-Gálvez E, Jurado J, Prieto-Álamo MJ, López-Barea J, Pueyo C

Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba. Campus Rabanales. 14071-Córdoba. España.

El ratón es el principal organismo modelo en la generación de conocimientos aplicables al hombre. Las células se enfrentan a situaciones de estrés modulando los niveles de expresión de distintos grupos de genes. Las células eucariotas regulan la expresión génica a distintos niveles destacando la regulación de la transcripción, el control del procesamiento del RNA y el de la estabilidad del mRNA. La regulación a cualquiera de estos niveles explica que en un momento y circunstancia concreta de una célula, un determinado transcrito esté ausente o presente, y en qué cantidad. En último término, la regulación traduccional y postraduccional decide sobre los niveles de los productos proteicos y sus actividades.

Entre los métodos que cuantifican transcritos destacan las microseries (microarrays) por su enorme capacidad de análisis, y los basados en la RT-PCR por su extraordinaria sensibilidad. Mediante una metodología que se encuadra en esta segunda categoría nuestro grupo ha cuantificado los perfiles absolutos (número de moléculas) de expresión transcripcional *in vivo* de un amplio conjunto de genes (unos 75) implicados fundamentalmente en el mantenimiento de la homeostasis redox y en la respuesta a estrés oxidativo. En este trabajo se aborda un estudio de expresión diferencial mediante el uso de microseries comerciales del genoma de ratón, con el fin de identificar nuevos marcadores de respuesta a estrés oxidativo. Como agente estresante se utilizó el herbicida paraquat (PQ), un compuesto de ciclo redox que eleva los niveles intracelulares de radical superóxido. Se utilizó RNA total procedente de hígado de ratones de laboratorio (BALB/cByJ) tratados con 30 mg/kg de PQ durante 120 min, en comparación con sus correspondientes controles salinos. La expresión de 178 genes cambió de forma significativa en respuesta a PQ (134 inducciones y 44 represiones). Estos genes codifican proteínas implicadas en la respuesta frente a estrés oxidativo, a genotóxicos en general, control del ciclo celular, apoptosis y diferenciación celular, o genes cuya función aún se desconoce.

Los estudios de expresión génica a nivel de transcritos se están complementando con el análisis de los patrones de expresión proteica. Por 2-DE (pH 4-7, 24 cm) se resolvieron >2000 proteínas solubles. Hasta el momento, el análisis de imagen ha detectado 7 manchas cuya intensidad varió significativamente. Las manchas se recortaron de los geles, se digirieron con tripsina y se analizaron por MALDI-TOF para obtener su huella peptídica. Con esta metodología se han identificado 5 de las 7 proteínas alteradas. Dos de ellas se corresponden con las Prx2 y Prx3, muy relacionadas con el estrés oxidativo y cuyo cambio de intensidad puede deberse a alguna modificación posterior a la traducción.

Financiación: MEC (BFU2005-02896) y cofinanciación FEDER.

NOTAS:

BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS Y ANÁLISIS PROTEÓMICOS EN RATÓN MORUNO PARA EVALUAR LA CONTAMINACIÓN POTENCIAL DE DOÑANA.

Bonilla Valverde D¹, Ruiz Laguna J¹, Montes Nieto R¹, Ballesteros Barros J¹, Gómez Ariza J L², López Barea J¹.

¹Dpto. Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba. Campus Rabanales. Edif. Servero Ochoa. 2^a planta. 14071 Córdoba

²Dpto. de Química y Ciencia de los Materiales. Universidad de Huelva.. Avda. Fuerzas Armadas s/n. 21005 Huelva.

Para evaluar los efectos de la actividad humana en ecosistemas cercanos al PN de Doñana se ha empleado una batería de biomarcadores “convencionales” de contaminación y, en paralelo, las nuevas técnicas proteómicas usando como bioindicador el ratón moruno (*Mus spretus*).

Tras el vertido de Aznalcóllar, áreas terrestres cercanas al río Guadiamar se han evaluado cada año. Las respuestas de los biomarcadores analizados muestran que en el curso alto-medio del Guadiamar hay metales derivados del vertido, y en el medio-bajo contaminantes sin relación con el accidente, posiblemente plaguicidas usados en cultivos (arroz, fresa, cítricos) presentes en el Entorno de Doñana. Recientemente hemos empezado a evaluar el estado de áreas cercanas a los arroyos de La Rocina y El Partido (Oeste) y a un arrozal de Isla Mayor (Este) del entorno de Doñana. Ratones de áreas agrícolas muestran altos niveles de actividades EROD y Se-GSH peroxidasa y de glutatión oxidado. Estos resultados indican la posible presencia de metales, que podrían provenir del uso de fertilizantes, y de plaguicidas muy usados en agricultura.

Los biomarcadores convencionales requieren un conocimiento previo de las relaciones entre los contaminantes y sus efectos tóxicos. En cambio, la Proteómica permite la búsqueda sin sesgo de nuevas proteínas útiles como biomarcadores de contaminación. Por electroforesis bidimensional y análisis de imagen hemos analizado las intensidades de proteínas citosólicas de ratones de áreas problema y de referencia, en el corazón de la Reserva Biológica de Doñana. El análisis por 2-DE resuelve ≥ 2000 proteínas solubles (geles 24 cm, pH 4-7). Entre ellas se aprecian cambios de intensidad significativos en 28 proteínas precisamente en las zonas con mayores contenidos de plaguicidas y metales, lo que sugiere que pueden ser útiles como nuevos biomarcadores de contaminación. Las proteínas más intensas en zonas contaminadas del Guadiamar coinciden con las más intensas en áreas muy agrícolas. El análisis por espectrometría de masas de las proteínas con diferencias significativas permitirá su identificación para su posterior validación.

Financiación: proyecto REN2002-04366-C02 y Programa Doñana 2006.

NOTAS:

PROTEÓMICA AMBIENTAL EN RATONES DE ZONAS CONTAMINADAS DE ANDALUCÍA.

Montes Nieto R, Fuentes Almagro C, Bonilla Valverde D, Chicano-Gálvez E, Pueyo C, López-Barea J.

Dpto Bioquímica y Biol Mol, Universidad de Córdoba. Campus Rabanales. 14071 Córdoba. España.

Las nuevas herramientas proteómicas (2D electroforesis y espectrometría de masas) permiten estudiar los efectos de los contaminantes y detectar proteínas con niveles alterados que, tras su identificación y validación, podrían ser biomarcadores alternativos. Con esta aproximación se han estudiado en el ratón moruno (*Mus spretus*), dos zonas contaminadas de Huelva, una en el Estero de Domingo Rubio (ES1, ES4, ES6) y otra en la Punta del Sebo (PS), y otra de Sevilla, los Arrozales de Villafranco (ARZ), usando como referencia la Laguna de Santa Olalla (SOL), situada en el corazón la Reserva Biológica de Doñana.

La contaminación de las zonas estudiadas se comprobó analizado simultáneamente en hígado algunas actividades enzimáticas relacionadas con el estrés oxidativo (GSHPx, Kat, G6PDH, 6PGDH) y la biotransformación (EROD, GST), y algunos daños oxidativos (peroxidación lipídica, estado redox del glutatión) como biomarcadores bien establecidos. Los estudios mostraban un gran contraste entre la zona de referencia y las restantes zonas contaminadas.

Las proteínas citosólicas del hígado de *M. spretus* se separaron por 2-DE en geles PAGE de 24 cm y pH 4-7. Estas condiciones resolvían ~3000 proteínas que por análisis de imagen mostraban diferencias significativas de intensidad en 38 spots entre las zonas de muestreo, que se han agrupado en cinco patrones característicos. El análisis de huellas peptídicas (MALDI-TOF), ha permitido identificar proteínas muy relacionadas con el estrés oxidativo (Gpx1, Prx1, Gsto-1, GlyN-metil-transf, Met-Ado-transf), otras indirectamente conectadas con él (Enoil-CoA-hidrat, Asp-DH, β -3 tubulina, Fruct-1-6-bisPasa, Ornitina-Carbamil-transf) y otras de relación aún desconocida con los contaminantes (HMG-CoA sintasa).

Además del alto parecido entre las proteínas de ratones silvestre y de laboratorio, como indica su identificación por MALDI-TOF, se ha mostrado la correlación entre la contaminación de las zonas estudiadas, las respuestas de biomarcadores bien establecidos y la alteración de varias proteínas, que una vez identificadas podrían ser útiles como nuevos biomarcadores de contaminación. Los resultados confirman que la combinación de varios biomarcadores en estudios de contaminación ambiental es mucho más ventajosa que el uso de un único biomarcador.

Financiación: Proyecto de Excelencia (523RMN) Consej Innov Ciencia y Empresa, J Andalucía, MEC (BFU2005-02896) y cofinanciación FEDER.

NOTAS:

ESTUDIOS CON BIOMARCADORES Y ANÁLISIS PROTEÓMICOS EN CANGREJO DE RÍO

Vioque-Fernández A, Alves de Almeida E, López-Barea J.

Dpto Bioquímica y Biol Mol, Universidad de Córdoba. Campus Rabanales. 14071 Córdoba. España.

En *P. clarkii* se midieron varios biomarcadores convencionales de contaminación en gl. digestiva, t. nervioso y branquias, y se analizaron las proteínas solubles alteradas en busca de nuevos biomarcadores de contaminación alternativos. El estado del Parque Nacional de Doñana, que podría estar afectado por metales y plaguicidas usados en su entorno, se evaluó en animales muestreados en zonas de referencia –LD, RBD– y problema ubicadas en los arroyos de la Rocina (BER, ROC) y el Partido (PAR, AJO) y arrozales cercanos (VIL, MAT).

Animales de zonas problema –ROC, BER– tenían menores actividades antioxidativas y nivel de GSH y mayores actividades biotransformadoras y daños oxidativos, aunque en PAR la actividad EROD fue particularmente baja. Cangrejos de los arrozales mostraban tendencias parecidas, aunque más marcadas. Estos resultados indican que las áreas problema pueden estar afectadas por distintos grados de contaminación; es de destacar que en LD el glutatión estaba muy oxidado, lo que indica que esta zona es inadecuada como referencia. En los mismos animales de las zonas estudiadas, se analizaron posibles diferencias en las proteínas solubles de branquias tras su separación por 2-DE (geles 24 cm, pH 4-7). Por tinción de plata se detectaron ~3000 proteínas en cada una de las 3 replicas realizadas. El análisis de imagen con el programa PD-Quest detectó ~20 proteínas que mostraban diferencias significativas de intensidad entre las zonas de referencia y contaminadas estudiadas, que podrían ser útiles como nuevos biomarcadores.

El efecto de dos plaguicidas modelo, clorpirifos (organofosforado) y carbaril (carbamato), se estudió en animales expuestos durante 2 y 7 días a dos dosis, y otros 7 días sin plaguicida. El clorpirifos inhibió claramente ambas esterasas, AChE y CbE, de forma proporcional a su dosis. Siete días en ausencia de plaguicida fueron insuficientes para recuperar la actividad inicial. El carbaril inhibió la CbE en proporción a la dosis a los 7 días; a dosis baja la actividad se recuperó, pero no con la alta. La AChE no se inhibió con ninguna de las dosis utilizadas, observándose un cierto aumento respecto del control. El perfil proteico tras ambos tratamientos se estudió en branquias y t. nervioso por 2-DE (geles 18 cm, pH 4-7). Tras optimizar la extracción de las proteínas citosólicas, se resolvieron ~2000 en cada gel, encontrándose de 15 a 20 proteínas con diferentes patrones de expresión entre los distintos tratamientos.

Financiación: proyecto REN2002-04366-C02 y Programa Doñana 2006.

NOTAS:

IDENTIFICACIÓN EN BIVALVOS DE PROTEÍNAS ALTERADAS POR LA CONTAMINACIÓN

Alhama J¹, Romero-Ruiz A¹, Carrascal M², Abián J², López-Barea J¹

¹Dpto Bioquímica y Biol Mol, Universidad de Córdoba, Campus Rabanales, 14071 Córdoba, España

²Unidad de Espectrometría de Masas, IDIBAPS-CSIC, Barcelona, España

La aplicación de la proteómica a estudios ambientales es reciente, aunque un número creciente de estudios sigue esta línea. Las respuestas de los organismos a los contaminantes sirven como biomarcadores convencionales de contaminación, pero exigen un profundo conocimiento previo de su mecanismo de toxicidad. A diferencia de ellos, los métodos proteómicos pueden permitir identificar proteínas con intensidad alterada en respuesta a contaminantes sin que haya que conocer previamente sus relaciones causa-efecto. No obstante, la mayoría de los estudios realizados hasta la fecha no llegan a identificar las proteínas alteradas, limitándose a localizar aquellas con alteraciones significativas en respuesta a los contaminantes.

Hemos usado la Proteómica para evaluar la respuesta del bivalvo *Scrobicularia plana* en 3 sitios de la orilla del PN de Doñana que da al Estuario del Guadalquivir. Por 2-DE (pH 4-7, 18 cm) se resolvían >2000 proteínas solubles en extractos de branquias. El análisis de imagen detectó 19 manchas cuya intensidad variaba significativamente en las tres zonas estudiadas. Para intentar su identificación por espectrometría de masas, las manchas se recortaron de los geles, se digirieron con tripsina y se analizaron por MALDI-TOF para obtener su huella peptídica y, luego, por secuenciación *de novo* (nESI acoplado a MS/MS en trampa iónica). Con esta metodología se obtuvieron etiquetas de secuencia de 16 de las 19 proteínas alteradas.

Al comparar por métodos bioinformáticos las secuencias obtenidas y las presentes en las bases de datos se detectaron varias proteínas descritas en estudios previos como relacionadas con la contaminación (cit c peroxidasa mitocondrial, Cu,Zn-SOD, precursor HSP-21, prot ribosómica XL1a, cadena α de tropomiosina y DNA polimerasa). A pesar de ello, sólo se consideraron bien identificadas aquellas donde todas las etiquetas de secuencia derivadas de una mancha correspondían a la misma proteína. Las dos proteínas que cumplían esta condición fueron la gliceraldehido-3-P deshidrogenasa (metabolismo energético) y la hipoxantina-guanina P-ribosil transferasa (rescate de purinas), ambas con intensidad significativamente mayor en la zona con mayor nivel de metales. El cambio de intensidad observado puede deberse a alguna modificación posterior a la traducción. Tras identificar ambas proteínas hemos comprobado que son muy sensibles al estrés oxidativo, por lo que GPDH e HGPRT podrían ser útiles como nuevos biomarcadores de contaminación no sesgados.

Financiación: proyecto REN2002-04366-C02 y Programa Doñana 2006.

NOTAS:

AYUSTE ALTERNATIVO DEL TRANSCRITO PRIMARIO DEL PROTO-ONCOGÉN *c-fos*: CUANTIFICACIÓN ABSOLUTA DE UNA ISOFORMA QUE CONSERVA EL INTRÓN 3

Fuentes-Almagro CA, Jurado J, Prieto-Álamo MJ, Pueyo C.

Universidad de Córdoba, Dpto Bioquímica y Biología Molecular, 14071-Córdoba

El factor de transcripción AP-1 (*activator protein 1*) es un complejo dimérico formado por proteínas de las familias FOS, JUN, ATF y MAF. AP-1 puede estar formado por diferentes combinaciones de heterodímeros y homodímeros que determinan los genes que son regulados. El ajuste (*splicing*) alternativo es un mecanismo común en eucariotas para la producción de proteínas estructural y funcionalmente diferentes a partir de un único gen. Uno de los genes de la familia FOS, el gen *fosB*, codifica dos proteínas FosB y Δ FosB, de funciones antagónicas. En este trabajo se ha investigado el ajuste alternativo del transcrito primario del gen *c-fos*. Se ha detectado y cuantificado por RT-PCR en tiempo real una isoforma (que denominamos *c-fos-2*) que mantiene el tercer intrón del transcrito primario. La lectura del transcrito *c-fos-2* podría originar una versión truncada de la proteína c-FOS por la presencia de un codón de fin de mensaje en fase, al principio de la secuencia intrónica. Dicha proteína carecería de la cremallera de leucinas, necesaria para la formación de dímeros, y del dominio C-terminal que contiene sitios de fosforilación por quinasas específicas relacionadas con la estabilidad, capacidad transformadora y transrepresión de la proteína c-FOS.

El transcrito *c-fos-2* está presente, aunque en menor proporción que el transcrito *c-fos*, en todos los órganos de ratón investigados: pulmón, ovario, cerebro, corazón, bazo, hígado, testículo y riñón. Sin embargo, su abundancia varía hasta 244 veces entre órganos: 1222 moléculas/ng de RNA total en pulmón frente a 5 moléculas/ng en riñón. También está presente en embriones de diferentes estadios de desarrollo y en 2 líneas celulares, Hepa1-6 y NIH3T3. En esta última el transcrito *c-fos-2* es más abundante y está en cantidades equimoleculares con el transcrito sin el intrón. El mensajero del gen *c-fos* es uno de los transcritos mas inestables conocidos. Por tratamiento con el inhibidor transcripcional actinomicina D (AmD) se ha determinado la vida media de *c-fos-2* resultando ser inferior a 3 min, unas 10 veces más corta que la de *c-fos*. En células NIH3T3 quiescentes inducidas con suero *c-fos-2* presenta una cinética de producción distinta a la de *c-fos* y a la de otros proto-oncogenes investigados (*fosB*, Δ *fosB*, *fra-1*, *fra-2*, *junB*, *c-jun*, *p53* y *c-myc*). Por Western se ha detectado una proteína de unos 23kDa que podría ser la proteína c-Fos truncada cuya síntesis dirigiría el transcrito alternativo.

Financiación: MEC (BFU2005-02896) y cofinanciación FEDER.

NOTAS:

DETERMINACIÓN DE VARIANTES DEL GEN *BRCA1* EN FAMILIAS DE MUJERES CON CÁNCER MÚLTIPLE INCLUIDO MAMA

Ferreiro JA, Álvarez O, Fernández L, Pérez A, Sierra LM, López ML, Comendador MA

Área de Genética. Departamento de Biología Funcional e IUOPA. Universidad de Oviedo.

La ocurrencia de varios procesos tumorales en una misma persona sugiere la presencia de un defecto hereditario. Entre los distintos tumores primarios múltiples, aquellos que incluyen cáncer de mama son especialmente relevantes ya que éste es el tipo de cáncer más frecuente en mujeres, estimándose que 1 de cada 8 mujeres va a desarrollar esta patología a lo largo de su vida.

Entre los distintos genes implicados en riesgo de cáncer de mama y/u ovario, *BRCA1* es el más importante y el que explica un mayor número de casos.

En este trabajo estamos determinando la secuencia completa de la región codificante del gen *BRCA1* en personas que han padecido cáncer múltiple incluido mama y/o en sus familiares.

Los resultados de las 41 personas analizadas hasta el momento, pertenecientes a 25 familias, muestran que: (a) tres familias son portadores de pequeñas deleciones o inserciones que dan lugar a proteínas truncadas (1793delA, 589delCT ya descritas en poblaciones españolas y/o latinoamericanas, y 3021insTC que no ha sido descrita con anterioridad); (b) 10 de las familias restantes son portadoras de mutaciones que, en muchos casos, están presentes en baja frecuencia en la población (Q356R, D693N, D185V, IVS13+117G>A), y cuyo efecto sobre la funcionalidad de la proteína se desconoce; (c) 4 mutaciones que cambian la secuencia de aminoácidos, descritas con anterioridad como polimorfismos, segregan conjuntamente entre sí y con al menos otras 9 variantes, localizadas tanto en intrones como en exones, constituyendo un haplotipo presente en más del 50% de las personas analizadas.

NOTAS:

ANÁLISIS GENOTÍPICO DEL GEN *BRCA2* EN FAMILIAS DE MUJERES CON CÁNCER MÚLTIPLE INCLUIDO MAMA

Álvarez O, Fernández L, Pérez A, Álvarez L, Sierra LM, Comendador MA, López ML, Ferreiro JA.

Área de Genética. Dpto. Biología Funcional e IUOPA. Universidad de Oviedo. c/ Julián Clavería s/n, 33006 Oviedo

La aparición de varios tumores en una persona puede ser consecuencia de defectos genéticos, por lo que tener un familiar con cáncer múltiple es uno de los criterios utilizados para considerar a una familia de riesgo. Dentro de este grupo, los casos que incluyen un tumor de mama son especialmente relevantes por ser éste el tumor más frecuente en las mujeres occidentales, ya que se ha estimado que aproximadamente una de cada ocho mujeres desarrollará cáncer de mama.

Se estima que, aproximadamente, el 5-10% de los tumores de mama ocurren en familias de alto riesgo y son debidos a mutaciones con alta penetrancia. En este contexto, los genes supresores de tumores más importantes en riesgo de cáncer de mama son *BRCA1* y *BRCA2*. En el caso concreto de *BRCA2*, este gen parece estar en el origen del 35% de los casos de cáncer de mama familiar, incluidos la mayoría de los casos de cáncer de mama masculinos. Los portadores de mutaciones patogénicas en este gen tienen un riesgo superior a la población en general de desarrollar cáncer de mama y/u ovario hasta los 70 años (86% y 27% respectivamente).

En un intento de determinar la variación genotípica de este gen en una población constituida por familias de mujeres con cáncer múltiple, incluido mama, se ha comenzado el análisis molecular de toda la región codificante del gen *BRCA2*, por secuenciación directa del DNA genómico, en 60 individuos pertenecientes a 23 familias diferentes.

Los resultados revelan la existencia de 19 variantes, algunas que no producen cambio de aminoácido, como E342E, S455S, H743H, V842V, K1132K, V1269V, L1356L, L1521L, V2171V y S2414S, y otras que si lo cambian, como N289H, N372H, N991D, D1420Y, T1915M, S1961N, R2034C, A2466V e I3412V. Las variantes N372H, K1132K, V1269V y S2414S presentan una frecuencia alélica mayor del 20%.

Por último, 4 de estas variantes segregan conjuntamente, generando el haplotipo N289H-S455S-H743H-N991D.

NOTAS:

EFFECTO DE LAS VARIANTES GENOTÍPICAS DE LOS GENES *TP53*, *GSTM1* Y *GSTT1* EN FAMILIAS DE PACIENTES CON TUMORES MÚLTIPLES INCLUIDO MAMA

Fernández L, Álvarez O, Pérez A, Álvarez L, Comendador MA, Sierra LM, López ML, Ferreiro JA.

Área de Genética. Dpto. Biología Funcional e IUOPA. Universidad de Oviedo. C/Julián Clavería s/n, 33006 Oviedo

El gen *TP53*, fundamental en el control de ciclo celular y en la inducción de apoptosis, procesos claves en el mantenimiento de la estabilidad genética, también parece estar implicado en la predisposición al cáncer de mama y podría contribuir a la aparición de tumores múltiples.

Por estas razones, en un estudio tendente a determinar variaciones conductuales de riesgo, dependiendo del riesgo genético, en familias de pacientes con tumores múltiples que incluyen mama, se ha determinado la frecuencia de variantes genotípicas de este gen, acompañado del estudio genotípico de los genes *GSTM1* y *GSTT1*, que codifican enzimas del metabolismo xenobiótico, también relacionadas con predisposición a distintos tipos de cáncer, incluido mama.

Se han analizado las variaciones genotípicas de estos genes, en 152 personas de 60 familias diferentes, clasificadas en 3 grupos según la historia familiar de cáncer de mama y/u ovario.

Los resultados con *TP53* muestran la ausencia de mutaciones patogénicas, así como la presencia de alelos polimórficos en los codones 36 (CCA36), 72 (Pro72) y 213 (CGG213), cuyas frecuencias alélicas, 0.013, 0.223 y 0.046, respectivamente, están dentro del rango de frecuencias descritas con anterioridad. Además, para estas variantes no se observan diferencias entre sanos y enfermos, en las familias analizadas. No obstante, resulta llamativo el que la variante alélica rara del codón 213 no aparezca en ninguna familia con historia familiar de cáncer de mama.

Por otro lado, las frecuencias de los genotipos nulos de *GSTM1* y *GSTT1*, son similares a las descritas para una población asturiana, aunque en el caso de *GSTT1*, significativamente menor que la frecuencia descrita para poblaciones caucásicas.

NOTAS:

EFFECTOS DE LA QUIMIOTERAPIA ADYUVANTE EN CÁNCER DE MAMA ANALIZADOS MEDIANTE EL ENSAYO DEL COMETA

Uriol E^{1,2}, Menéndez M¹, Sánchez R^{2,3}, Sierra M^{2,3}, Comendador MA^{1,2}, Sierra LM^{1,2}

¹Dpto. Biología Funcional, ²Instituto Universitario de Oncología del Principado de Asturias (IUOPA), Universidad de Oviedo. ³Laboratorio de Oncología Médica, Hospital Universitario Centras de Asturias (HUCA).

Uno de los tratamientos del cáncer de mama, tras la cirugía, es la quimioterapia adyuvante, administrada en forma de poliquimioterapia. Muchos de los fármacos utilizados en esta poliquimioterapia son agentes genotóxicos, y algunos son carcinógenos humanos, lo que implica que pueden dañar las células sanas de los pacientes tratados.

En un intento por analizar el daño inducido por estos tratamientos se han biomonitorizado, con el ensayo del cometa en linfocitos de sangre periférica, 23 pacientes de cáncer de mama a lo largo del tratamiento con la combinación CMF (ciclofosfamida, metotrexato y 5-fluorouracilo).

Los resultados obtenidos permiten clasificar a las pacientes en dos grandes grupos, A, que incluye pacientes con valores basales de momento de la cola superiores a 10, y en las que el tratamiento no induce en ningún caso daños que sobrepasen dichos valores; y B, constituido por pacientes en las que el tratamiento induce respuestas que sobrepasan los valores basales, y que se subdivide en 3 grupos, dependiendo de que al término del tratamiento los valores de momento de la cola sean superiores, iguales o inferiores a los mencionados valores basales.

Para el análisis estadístico de estos resultados, se han establecido distintas variables como, valor basal del momento de la cola, valores del máximo y mínimo de respuesta, valor del momento en la muestra final o días transcurridos desde el inicio del tratamiento hasta la toma de la muestra en la que se observa la primera respuesta positiva (aquella que difiere estadísticamente de la muestra basal), y parámetros, como aquellos que permiten definir similitudes y diferencias entre las respuestas de los dos primeros ciclos de quimioterapia, y se han buscado relaciones con factores como el grupo, el genotipo de los genes *GSTM1* y *GSTT1* o la edad, y con aquellos obtenidos de las historias clínicas de las pacientes, como el número de ganglios afectados, la expresión de receptores hormonales, el grado de diferenciación del tumor y su estadio.

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto, entre otros, los siguientes hechos: (1) existe una relación entre el factor grupo y los valores basal y final del momento de la cola; (2) existe también relación entre factores como el genotipo de *GSTM1* o el estadio del tumor con los parámetros que determinan diferencias dentro y entre los dos primeros ciclos de quimioterapia; (3) existe interacción entre la edad y los días transcurridos hasta la primera respuesta positiva, o entre el grupo y la temporada de inicio del tratamiento.

NOTAS:

POLIMORFISMOS GENÉTICOS COMO MARCADORES DE SUSCEPTIBILIDAD AL CÁNCER DE TIROIDES

Pérez G., Marcos R, Hernández A.

Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra

La carcinogénesis es un complejo proceso con base poligénica-ambiental, en el cual intervienen genes de control del ciclo celular, del metabolismo, y de reparación del DNA, entre otros. Los polimorfismos de estos genes, ya sea de manera individual o en combinación, pueden alterar la susceptibilidad a la carcinogénesis. El cáncer de tiroides es la neoplasia maligna más común del sistema endocrino y contribuye en más del 50% a las muertes por cánceres de este origen. Sin embargo, no está esclarecido el mecanismo molecular que subyace en su malignización, ni cuál es la influencia de los polimorfismos genéticos sobre el riesgo. Por ello se estudiaron 14 SNPs que afectan genes del mecanismo de reparación por escisión de bases (*XRCC1* y *OGG1*), del mecanismo de reparación por recombinación homóloga (*XRCC2* y *XRCC3*), genes propios del tiroides (*TG* y *TSHR*) y genes de control del ciclo celular (*PTPRJ*). Para el genotipado se utilizaron técnicas de PCR y PCR en tiempo real con sondas FRET y LNA *primers*. Se hizo el estudio de asociación y el análisis de múltiples loci y, además, se evaluó la interacción gen-ambiente. Los mejores marcadores de susceptibilidad resultaron los SNPs del gen *TG*, sus alelos variantes analizados solos y en combinación haplotípica aumentaron la susceptibilidad al riesgo. El SNP *Arg280His* de *XRCC1*, y sus haplotipos *399Gln-280His-194Arg* y *399Arg-280His-194Arg* incrementaron el riesgo a desarrollar cáncer de tiroides. El SNP del codón 194 de *XRCC1*, el del *IVS5-14* de *XRCC3* y el del codón 188 de *XRCC2* tienen efecto protector. Los resultados en relación a *PTPRJ*, sin ser significativos, sugieren que la sustitución en el codón 872 de *PTPRJ* pudiera disminuir la susceptibilidad al cáncer de tiroides. *TSHR* y *OGG1* no parecen ser relevantes en la carcinogénesis tiroidea. No se detectaron interacciones significativas entre los genotipos analizados y los hábitos de fumar y de consumir alcohol.

NOTAS:

INESTABILIDAD DE MICROSATÉLITES EN LA LÍNEA SOMÁTICA DE INDIVIDUOS MUTANTES PARA EL GEN *PCNA* DE *Drosophila melanogaster* (*mus209^{B1}*)

López A, Velázquez A, Xamena N, Marcos R.

Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra

PCNA es una proteína muy conservada evolutivamente que desempeña un papel esencial en la replicación del DNA, así como en distintos procesos de reparación. Mutantes PCNA de levadura manifiestan inestabilidad de microsatélites (MSI), fenotipo característico de una deficiencia en la replicación de falsos apareamientos (MMR) y asociado a la aparición de ciertos tipos de cáncer. De hecho, recientemente varios estudios han demostrado la interacción entre PCNA y el sistema MMR. Nuestros estudios previos muestran que el mutante PCNA de *Drosophila melanogaster* (*mus209^{B1}*) presenta, en su línea germinal, inestabilidad genómica general y MSI, tanto en individuos homocigotos como en heterocigotos. Todas estas evidencias sugieren un papel importante de PCNA en la estabilidad del genoma de un organismo, pudiendo existir en la población variantes génicas que confieran una tasa de mutación somática más elevada en los individuos portadores. Por ello, en el presente trabajo se analizó MSI a nivel somático, determinando la distribución alélica de diferentes microsatélites en individuos *mus209^{B1}* mediante una técnica que combina la clonación de moléculas únicas y su amplificación por PCR. Los resultados obtenidos confirman la aparición de MSI somática en mutantes PCNA de *D. melanogaster* y apuntan la utilidad de un análisis de polimorfismos de PCNA en estudios de susceptibilidad al cáncer en poblaciones humanas. Por otro lado, con este trabajo hemos establecido una metodología sencilla para caracterizar niveles bajos de MSI que pasan desapercibidos con las técnicas utilizadas habitualmente.

NOTAS:

ESTUDIO EPIGENÉTICO DE LOS MUTANTES *zeste*¹ DE *Drosophila melanogaster*

Portela A, Badal M, Xamena N, Cabré O.

Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra

Las proteínas de los grupos *Polycomb* y *Trithorax* se encargan de mantener diversos genes implicados en el desarrollo transcripcionalmente activos o inactivos, mediante la regulación de la estructura de la cromatina en dichos genes. El gen *zeste* (*z*) de *Drosophila melanogaster*, pertenece al grupo *Trithorax*. Uno de los mutantes del gen *z*, da lugar al alelo neomórfico *zeste*¹, responsable de la llamada interacción *zeste-white*: un efecto parecido a la transvección dependiente del apareamiento de dos o más copias del gen *white* (*w*), que da como resultado adultos de ojos amarillos, debido a una menor expresión del gen *w*. Así pues, aún sin ser un gen de desarrollo, el gen *w* también ve modificada su expresión por el efecto de un gen *Trithorax*.

Una vez comprobada la reducción de la expresión del gen *w* en hembras *zeste*¹, decidimos estudiar cuál es la extensión del efecto de la interacción *zeste-white*, usando para este fin el gen *CG32795*, situado sólo a 700 bp del extremo 3' del gen *w*. Habiendo demostrado que la interacción *zeste-white* afecta exclusivamente al gen *w*, quisimos saber si esta interacción está de algún modo relacionada con modificaciones en el estado de la cromatina.

Por un lado estudiamos el posicionamiento de los nucleosomas a lo largo de una región de aproximadamente 12 Kb, que comprende el gen *w* entero y el extremo 5' del gen *CG32795*. Así se vio que el posicionamiento de nucleosomas se ve alterado en el extremo 5' del gen *w* en las hembras de la cepa *z*¹, debido posiblemente a la baja expresión del gen *w* en esos individuos. De todas maneras es imposible determinar si esas diferencias en el posicionamiento de los nucleosomas son la causa o el efecto del bajo nivel de expresión.

Por otro lado también estudiamos los patrones de metilación de esa región. Se estudió una región en 5' del gen *w* que comprende el *zeste binding site* (*ZBS*), una región que comprende el primer exón del gen *w* y otra que comprende el tercer exón del gen *CG32795*, como control. Además decidimos añadir una cuarta región en el *ZBS* del gen *decapentaplegic* (*dpp*) para ver si el efecto de *Zeste*¹ en la metilación de los *ZBS* es el mismo en todos los casos o bien es específico para el gen *w*.

NOTAS:

CARACTERIZACIÓN DE AtPOLK, UNA ADN POLIMERASA DE LA FAMILIA Y EN *ARABIDOPSIS THALIANA*

García-Ortiz MV, Roldán-Arjona MT, Ariza RR.

Departamento de Genética, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edificio Gregor Mendel, 1ª Planta, 14071-Córdoba

La protección del genoma contra agentes genotóxicos endógenos y exógenos depende de ADN polimerasas especializadas que desempeñan papeles esenciales en la reparación o la replicación de ADN dañado. Gran parte de estas enzimas están estructuralmente relacionadas entre sí y definen una nueva familia de ADN polimerasas, denominada familia Y, distinta de las familias A, B, C y X previamente identificadas. Los miembros de la familia Y varían en tamaño de 350 a 1200 aminoácidos, pero comparten 5 motivos de secuencia altamente conservados, distribuidos a lo largo de su mitad amino-terminal. La familia Y de ADN polimerasas incluye cuatro subfamilias cuyos miembros fundadores son pol IV y pol V de *E. coli* (previamente denominadas DinB y UmuC, respectivamente), y pol η (Rad30) y Rev1 de *S. cerevisiae*. El primer representante vegetal de la familia Y de ADN polimerasas fue clonado y caracterizado por nuestro grupo de investigación en la planta modelo *Arabidopsis thaliana*. Esta polimerasa, que hemos denominado AtPOLK, pertenece a la subfamilia DinB y es un homólogo de las polimerasas pol IV bacteriana y pol κ humana. AtPOLK es una ADN polimerasa dependiente de molde, cuya procesividad es modulada por su dominio carboxi-terminal, y que se expresa en tejidos específicos. En esta comunicación se describe el análisis cinético de la fidelidad de AtPOLK durante la replicación de ADN no dañado, así como su capacidad para extender cebadores con apareamientos incorrectos.

NOTAS:

REGULACIÓN TRANSCRIPCIONAL DEL GEN *Gsta3*: ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA REGIÓN PROMOTORA EN LAS ESPECIES *Mus musculus* y *Mus spretus*.

Ruiz-Laguna J, Abril N, Pueyo C.

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba. Campus de Rabanales. Carretera Madrid-Cádiz Km 396-a, 14071 Córdoba. España

Las enzimas glutatión transferasas (GST) catalizan la conjugación de GSH con una amplia gama de compuestos electrofílicos. La isoforma GSTA3 interviene en la diferenciación de adipocitos, viéndose su expresión regulada por un elemento ARE de respuesta antioxidante presente en la secuencia 5'-flanqueante del gen *Gsta3*.

Ratones de laboratorio de la especie *M. musculus* (*Mm*: estirpe BALB/cByJ) presentaron niveles de expresión del transcrito *Gsta3* entre 300 y 800 veces, según los órganos, superiores a los de la especie aborigen *M. spretus*, incluyendo individuos consanguíneos (*MsL*: estirpe SPRET/EiJ) e individuos capturados en el campo. No obstante, el 16% de estos ratones (procedentes de una zona muy contaminada) recuperaron parcialmente los niveles de expresión de *Mm* (13% en el hígado, 54% en pulmón). Estos datos sugieren diferencias interespecíficas en niveles de factores de transcripción (TFs) y/o en las correspondientes secuencias promotoras.

El análisis de las secuencias promotoras (~1,5 kb) reveló la existencia de 27 diferencias entre ambas especies. Ninguno de estos cambios afectó al elemento ARE, pero sí a otros sitios de unión de diversos TFs. Los individuos de campo con niveles del transcrito *Gsta3* similares a los de ratones *MsL* resultaron homocigotos y de secuencia idéntica a la de éstos. Por el contrario, los individuos de vida libre con niveles elevados del transcrito *Gsta3* (e.g. PS57) presentaron cambios en la secuencia promotora, algunos de los cuales recuperaban la secuencia de *Mm*.

La actividad de los distintos promotores (*Mm*, *MsL* y PS57) se estudió mediante fusión al gen luciferasa y transfección transitoria de células hepáticas Hepa1-6. Los tres promotores mostraron una actividad luciferasa entre 160 y 240 veces superior a la del vector de clonación. El plásmido pGL3-Promoter, portador de un promotor de SV40, usado como referencia, incrementó la actividad LUC menos de 10 veces por encima de la del vector. El promotor *Mm* fue 1,5 veces más efectivo promoviendo la transcripción del gen *luc* que el promotor *MsL*. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas y se mantuvieron cuando las células se cotransfectaron con un plásmido de expresión del factor transcripcional Nrf2, y cuando se trataron con extracto de semillas de brócoli, cuyos isotiocianatos inducen la expresión de *Gsta3*. Estos resultados realzan la importancia de los TFs en las diferencias interespecíficas, ya que cuando los promotores se ponen en un mismo contexto celular se minimizan las diferencias observadas *in vivo*. La actividad del promotor PS57 se mantuvo siempre en un nivel intermedio, sugiriendo que los cambios observados en la secuencia promotora determinan los niveles del transcrito *Gsta3*: superiores a los normales en ratones de su especie, pero inferiores a los de *M. musculus*.

(Financiación: MEC y Fondos FEDER)

NOTAS:

SISTEMAS REDOX DEPENDIENTES DE TIORREDOXINA/GLUTATIÓN EN EL PATÓGENO *Candida albicans*.

Michán C, Pueyo C

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Edificio Severo Ochoa, 2ª Pl. Campus de Rabanales. 14071 Córdoba

Los sistemas redox que dependen de tiorredoxina/glutación tienen particular interés en *C. albicans*, ya que de ellos depende en gran medida la resistencia de este patógeno ante las defensas celulares de los organismos hospedadores. Los genes analizados en este trabajo codifican: tiorredoxinas y su reductasa, glutaredoxinas, enzimas para la síntesis y reducción de glutación, tiorredoxina y glutación peroxidasa, glutación transferasa, flavohemoproteínas relacionadas con la eliminación del óxido nítrico y varios reguladores implicados en la respuesta a estrés oxidativo. Los métodos empleados incluyen la cuantificación de niveles absolutos de ARN mensajeros mediante PCR en tiempo real combinada con PCR múltiple, medida de actividades enzimáticas y evaluación de las cantidades de proteínas mediante métodos inmunológicos. Los resultados obtenidos muestran grandes diferencias en los niveles de los distintos transcritos en las distintas fases de un cultivo estanco. Asimismo, se han cuantificado las diferencias de niveles entre la forma de levadura y la forma de hifa necesaria para la infección, así como el efecto de mutaciones nulas en los genes que codifican los reguladores Cap1, Skn7 y Ssk1. Los niveles de actividad enzimática glutación reductasa fueron estimados y no muestran una correlación positiva con los niveles transcripcionales del gen *GLR1* lo que sugiere la existencia de mecanismos reguladores posttranscripcionales.

FINANCIACIÓN: MEC (BFU2005-02896)

NOTAS:

INHIBICIÓN POR siRNA DE LA EXPRESIÓN DEL GEN *Prx1* DE MAMÍFERO

Aguilar-Melero P, Osuna-Jiménez I, Prieto-Álamo MJ, Pueyo C

Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba. Campus Rabanales. 14071-Córdoba. España.

Las peroxirredoxinas (Prxs) son peroxididasas dependientes de tiorredoxina que desempeñan un papel esencial en el mantenimiento del estado tiol-redox intracelular, vital en todo organismo. Las Prxs forman una familia ubícua de enzimas antioxidantes que reducen H₂O₂, peroxinitrito y una gran variedad de hidroperóxidos orgánicos y que, además, están involucradas en procesos biológicos tan importantes como la expresión génica o la proliferación celular, diferenciación y apoptosis. En mamíferos se han descrito seis versiones (Prxs1-6) que se distribuyen en el citosol, las mitocondrias, los peroxisomas, el núcleo y el plasma, cooperando con otras defensas antioxidantes en el mantenimiento de los niveles intracelulares de las EROs. La regulación coordinada y cuantitativa de los niveles basales de expresión génica y de respuesta a distintos estímulos es una cuestión básica en el entendimiento funcional del genoma. Desde su descubrimiento, el silenciamiento génico mediado por siRNA se ha convertido en una herramienta esencial en el análisis funcional de genes en numerosos sistemas biológicos.

El presente trabajo aborda la puesta a punto y optimización del silenciamiento del gen *Prx1* mediante el uso de siRNAs en líneas celulares de ratón y humanas como paso previo a la caracterización funcional de dicho gen. Para ello se utilizaron siRNAs diseñados siguiendo las recomendaciones de Elbashir *et al* (Methods 26:199-213, 2002) y Reynolds *et al* (Nat Biotechnol 22:326-330, 2004). Los siRNAs se introdujeron en las células mediante lipofectación. Las condiciones experimentales para un silenciamiento óptimo se establecieron mediante la cuantificación absoluta por PCR en tiempo real del correspondiente mRNA (según condiciones establecidas previamente por nuestro grupo). El desfase temporal entre la máxima inhibición de mRNA (< 24 h postransfección) y de su proteína (48 h postransfección) se investigó mediante análisis Western con anticuerpos específicos. Se eligieron aquellas condiciones experimentales (secuencia de siRNA, concentración final 25 nM y tiempo postransfección 48 h) que dieron lugar a un mínimo de proteína Prx1 (16,2 %).

Inicialmente se ha abordado el silenciamiento transitorio del gen. Actualmente estamos optimizando las condiciones de silenciamiento mediante shRNA para el establecimiento de líneas celulares estables con niveles disminuidos de dicho gen, y que nos permitirá llevar a cabo estudios incompatibles con las condiciones experimentales de la inhibición transitoria.

Este trabajo constituye una primera aproximación para la caracterización funcional de los genes que codifican los componentes de la vía Trx, con el fin de evidenciar posibles mecanismos compensatorios en su expresión tanto a nivel basal como en respuesta a situaciones específicas de estrés.

Financiación: MEC (BFU2005-02896) y cofinanciación FEDER.

NOTAS:

IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE DOS ENZIMAS CON ACTIVIDAD 5-METILCITOSINA-ADN GLICOSILASA EN LA PLANTA MODELO *ARABIDOPSIS THALIANA*

Morales-Ruiz MT, Ortega-Galisteo AP, Ponferrada-Marín, MI, Martínez-Macías MI, Ariza RR, Roldán-Arjona MT.

Departamento de Genética, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edificio Gregor Mendel, 1ª Planta, 14071-Córdoba

La metilación de citosina (5-meC) es una marca epigenética del ADN que promueve el silenciamiento génico y juega un importante papel en el desarrollo y en el mantenimiento de la estabilidad del genoma. La metilación del ADN es llevada a cabo por metiltransferasas que catalizan la transferencia de un grupo metilo del donador S-adenosil-L-metionina a residuos de citosina. En fases concretas del desarrollo tiene lugar una pérdida activa de 5-meC, pero se desconoce la base enzimática de este proceso de desmetilación. En la planta modelo *Arabidopsis thaliana*, el gen *DEMETER* (*DME*) activa la expresión del alelo materno de dos genes improntados silenciados por metilación, y el gen *REPRESSOR OF SILENCING 1* (*ROS1*) es necesario para neutralizar el silenciamiento transcripcional de un transgen hipermetilado. *DME* y *ROS1* codifican dos proteínas estructuralmente relacionadas que presentan un dominio ADN glicosilasa en su región carboxi-terminal, pero se desconoce si ambas participan directamente en un proceso de desmetilación o bien contrarrestan el silenciamiento génico por un efecto indirecto sobre la estructura de la cromatina. La caracterización bioquímica de la actividad enzimática de *DME* y *ROS1* ha demostrado que ambas proteínas son ADN glicosilasas bifuncionales que catalizan la eliminación de 5-meC. Además de procesar 5-meC, *DME* y *ROS1* son capaces de reconocer y eliminar del ADN residuos de timina apareados erróneamente con guanina, pero no presentan actividad alguna sobre uracilo apareado incorrectamente con guanina. No obstante, ambas proteínas muestran una clara preferencia por 5-meC en comparación con timina en el contexto CpG, donde se sitúan la mayoría de los residuos de 5-meC en genomas de plantas y animales. Además, *DME* y *ROS1* también muestran actividad en secuencias CpApG y CpNpN, que constituyen sitios adicionales de metilación en plantas. En conjunto, nuestros resultados sugieren que una de las funciones de *DME* y *ROS1* en la planta es activar la expresión de genes silenciados, iniciando el borrado de 5-meC mediante un mecanismo análogo a la reparación por escisión de bases. En consecuencia, constituyen una firme evidencia experimental de la existencia de un mecanismo activo de desmetilación del ADN en plantas.

NOTAS:

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN Y COMPLEMENTACIÓN EN LEVADURAS DE LOS GENES *AtPOLH* Y *AtREV1* QUE CODIFICAN ENZIMAS DE SÍNTESIS TRANSLESIÓN EN *A. thaliana*

Santiago MJ, Alejandro E, Ruiz-Rubio M.

Dpto. de Genética, Facultad de Ciencias, Campus de Rabanales, Edificio Mendel, Universidad de Córdoba, 14071, Córdoba

Los organismos están expuestos a agentes endógenos y exógenos que producen lesiones en su material genético. La maquinaria celular posee ciertos mecanismos, como la fotorreactivación o la escisión de nucleótidos, implicados en reparar dichas lesiones, pero si estos procesos no son lo suficientemente efectivos, las polimerasas replicativas se bloquean ante las lesiones no reparadas. En esta situación intervienen las polimerasas de síntesis translesión (TLS), que son enzimas de baja procesividad y fidelidad, cuyo centro activo más laxo les permite polimerizar frente a dichas lesiones a costa de producir mutaciones. En *A. thaliana* existen las enzimas de TLS codificadas por los genes *AtPOLH* y *AtREV1*, implicadas en la polimerización frente a un molde con dímeros de pirimidina o con sitios abásicos, respectivamente.

Mediante estudios con PCR cuantitativa sobre ADNc de *A. thaliana*, se ha determinado que ambos genes se expresan en todos los tejidos, siendo la expresión de *AtREV1* unas cinco veces superior que la de *AtPOLH*. También se ha comprobado que dicha expresión es constitutiva, ya que no se han encontrado diferencias significativas en la expresión de ambos genes tras irradiar la planta con luz ultravioleta o a lo largo del ciclo circadiano.

Para determinar si esta aparente expresión sistémica de ambas enzimas era realmente general o se trataba de expresión en ciertos tipos celulares presentes en todos los órganos, se transformó *A. thaliana* con una construcción en la que el promotor de ambas proteínas estaba fusionado con el gen chivato de la β -glucuronidasa (*GUS*). Se hicieron cortes microscópicos de las plantas transformantes y se observó que a pesar de que en ciertos tipos celulares la expresión era más patente que en otros, ambas proteínas se expresaban en todos ellos. Estas plantas transformadas también se utilizaron para estudiar la expresión en los distintos estadios del desarrollo, y la expresión de dichas enzimas también fue general.

Para determinar la función de dichas proteínas, se clonaron los genes de *AtREV1* y *AtPOLH* en vectores de expresión de levaduras, y se transformaron con dichos vectores estirpes de *S. cerevisiae* con los genes homólogos correspondientes interrumpidos. Se estudió el fenotipo de dichas estirpes transformadas, observando que la expresión de *AtPOLH* en levaduras deficientes en *POLH* complementa la función del gen mutado, mientras que no ocurre lo mismo con *AtREV1* en una estirpe deficiente en dicho gen. Este último resultado se puede explicar debido a que la función de la proteína REV1 frente a la luz ultravioleta no se debe a su actividad citosil-transferasa, sino a su interacción con otras polimerasas de TLS.

NOTAS:

LA SUSTITUCIÓN DEL DNA CON NUCLEÓSIDOS HALOGENADOS PROTEGE DEL ENVENENAMIENTO DE LAS TOPOISOMERASAS I Y II QUE CAUSA ROTURAS DE DOBLE CADENA.

Orta ML, Cantero G, Mateos S, Pastor N, Domínguez I, Cortés F.

Departamento de Biología Celular, Universidad de Sevilla, Av/ Reina Mercedes 6, 41012.Sevilla.
Tel.:+34954557039; Fax.: +34954610261; e-mail: cortes@us.es; web: www.us.es/gcucera.

Las topoisomerasas (topos) de DNA son enzimas nucleares muy conservadas en la evolución, que son fundamentales para procesos como la replicación, transcripción, recombinación y reparación del DNA (Wang, 1996). Su modo de acción implica corte y unión covalente transitoria al extremo 3' del mismo, para luego girar y así relajar las tensiones topológicas. Dicho corte puede implicar a una o a dos cadenas dependiendo si se trata de la topo I o II respectivamente.

La topoisomerasa II en particular, debido a su mecanismo de acción, posee un papel fundamental en la necesaria segregación de las cromátidas hermanas. Nuestro grupo ha demostrado recientemente (Cortés et al., 2003) que cuando las células incorporan nucleósidos halogenados análogos de la timina, se produce una incorrecta separación de las cromátidas hermanas lo cual desencadena una alta tasa de endorreduplicación (forma de poliploidía que tiene como resultado la aparición de metafases con diplocromosomas constituidas por cuatro cromátidas en lugar de dos).

Utilizando el poder de resolución de la electroforesis en campo pulsante, hemos analizado la posible protección proporcionada por la incorporación de dichos análogos frente a las roturas de DNA inducidas por los venenos de topoisomerasa I y II, camptotecina y m-AMSA respectivamente. Nuestros resultados demuestran una clara disminución en la estabilización de los complejos de rotura establecidos entre las topos y el DNA, proporcionando con ello protección frente a las roturas del doble cadena. Además dicha protección es proporcional al porcentaje de incorporación de los nucleósidos halogenados en el DNA.

Como conclusión podemos decir que la presencia de dichos análogos disminuye la frecuencia de interacción de las topos con el DNA y por lo tanto la formación esperada de complejos de rotura inducidos por dichos venenos anti-topoisomerasas.

NOTAS:

EL AGENTE ANTITUMORAL CISPLATINO INDUCE ENDORREDUPLICACIÓN EN CÉLULAS CHO.

Cantero G¹, Pastor N¹, Mateos S¹, Campanella C², Orta ML ¹, Domínguez I¹, Cortés F.¹

¹Departamento de Biología Celular, Universidad de Sevilla, Av/ Reina Mercedes 6, 41012. Sevilla.

Tel.: +34954557039; Fax.: +34954610261; e-mail: cortes@us.es; web: www.us.es/gcucera

²Sezione di Anatomia Umana, Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università di Palermo, Palermo, Italia. Via del Vespro 129-90127. Policlinico. Palermo.

Estudios realizados recientemente en nuestro laboratorio apoyan la hipótesis de que distintas modificaciones en el ADN perturban el buen funcionamiento de la enzima topoisomerasa II como consecuencia de errores en el reconocimiento de su secuencia de unión al ADN. Esta pérdida de actividad catalítica lleva en último término a la producción de endorreduplicación, una forma de poliploidía, dada la función esencial que posee la enzima en la correcta segregación de los cromosomas tanto mitóticos como meióticos. Debido a la gran variedad de modificaciones que el *cisplatino* produce a nivel del ADN y a que actualmente se trata de la droga más utilizada en terapia antitumoral, nos pareció interesante estudiar el potencial que tiene este agente antitumoral para inducir endorreduplicación como resultado de una pérdida de la actividad catalítica de la enzima topoisomerasa II. Nuestros resultados muestran que este compuesto de platino provoca una inhibición dosis-dependiente de la actividad catalítica de la enzima que se correlaciona con los resultados en cuanto a la inducción de endorreduplicación. Globalmente, nuestros datos experimentales apoyan la hipótesis de que las modificaciones en el ADN provocadas por el *cisplatino* afectan a la funcionalidad de la topoisomerasa II y, por tanto, a la inducción de células endorreduplicadas. En este sentido, pensamos que este hecho podría ser en último término, a corto o medio plazo, el desencadenante del desarrollo de tumores secundarios observados como resultado del tratamiento de procesos tumorales primarios con *cisplatino*, dado que la poliploidía provocada por este compuesto podría ser el origen de inestabilidad genética y así, de nuevas formas de malignidad.

NOTAS:

IMPORTANCIA DE LA INHIBICIÓN CATALÍTICA DE LA ENZIMA TOPOISOMERASA II EN LA RESPUESTA CELULAR FRENTE A RADIACIÓN IONIZANTE

Mateos S, Hajji, N, Pastor N, Cantero G, Domínguez I, Cortés F

Departamento de Biología Celular, Grupo de Cultivo Celular y Radiobiología, Universidad de Sevilla, Avda. Reina Mercedes nº 6, 41012-Sevilla. Tfno. 954554339, Fax: 954 610261, e-mail: smateos@us.es,

URL: www.us.es/gcucera

Objetivo: Evaluar el potencial que tienen los inhibidores catalíticos de topoisomerasa II (ICRF-193 y Aclarubicina), para modificar la respuesta celular que la línea V79 y su mutante radiosensible *irs2*. presentan frente a radiación ionizante.

Materiales y métodos: 100 ng de un extracto proteínico nuclear elaborado a partir de cada línea se incubó con diferentes concentraciones de ICRF-193 (0,5-10 μ M) o Aclarubicina (0,05-2 μ g/ml) antes de proceder a la evaluación de la actividad catalítica topo II. En los experimentos combinados, las células se trataron durante tres horas con diferentes concentraciones del inhibidor (ICRF-193 o ACLA) y fueron posteriormente irradiadas. Finalmente, se determinó la supervivencia celular mediante ensayo clonogénico y el daño en el DNA mediante ensayo cometa.

Resultados: Observamos una inhibición dosis-dependiente de la actividad topoisomerasa II con ambos inhibidores. Los tratamientos combinados inhibidor/rayos X provocaron un incremento significativo en la citotoxicidad ($p < 0.01$). Sin embargo, no se observó ese mismo patrón respecto a la evaluación del daño en el ADN.

Conclusiones: Los datos del presente trabajo parecen indicar que las combinaciones de los inhibidores catalíticos de topo II (ICRF-193 o Aclarubicina) y rayos X son efectivas para potenciar la muerte celular inducida por radiación ionizante. Nuestros datos sugieren una participación directa o indirecta de la enzima topoisomerasa II en la reparación de dicho daño.

NOTAS:

INHIBICIÓN DE LA TOPOISOMERASA II DE ADN Y ALTA FRECUENCIA DE ENDORREDUPLICACIÓN INDUCIDA POR FLAVONOIDES EN CÉLULAS CHO

Cantero G¹, Campanella C², Mateos S¹, Cortés F¹.

¹Department of Cell Biology, Faculty of Biology, University of Seville, Spain.

cortes@us.es URL: www.us.es/gcucera

²Human Anatomy Section, Department of Experimental Medicine, University of Palermo, Italy

Los flavonoides *luteolina* y *quercetina* se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas y presentan una gran variedad de actividades químicas y biológicas, entre otras su capacidad para secuestrar radicales libres y sus efectos antioxidantes. Recientemente, se ha publicado que ambos flavonoides son capaces de inhibir las enzimas topoisomerasas I y II (topo I y topo II) de ADN, una propiedad que, unida a su capacidad para producir daño en el ADN y los cromosomas, los ha convertido en buenos candidatos para ser tenidos en cuenta como compuestos antitumorales. En el estudio que presentamos aquí, hemos confirmado que ambos flavonoides son inhibidores de la enzima topo II, mediante un análisis comparado del efecto de la *luteolina* y la *quercetina*, respectivamente, sobre la actividad catalítica de la topo II en células de la línea AA8 de fibroblastos de ovario de hámster Chino (CHO). Teniendo en cuenta que la interferencia con la función específica de la topo II de resolver el enmarañamiento del ADN al final de la replicación tiene como resultado una mala segregación cromosómica en la mitosis, nosotros hemos investigado también la posible eficacia de la *luteolina* y la *quercetina* en cuanto a inducir el fenómeno de la endorreduplicación (una forma de poliploidía caracterizada por la observación de diplocromosomas en metafase) en las células AA8. El resultado observado fue que el tratamiento con concentraciones de *luteolina* y de *quercetina* que inhibían la actividad catalítica de la topo II provocó frecuencias extraordinariamente altas de metafases que presentaban diplocromosomas. Teniendo en cuenta la relación que existe entre poliploidía y desarrollo de tumores, por vía de la aneuploidía y la inestabilidad genética, estos resultados cuestionan la posible idoneidad de los flavonoides *luteolina* y *quercetina* en la terapia antitumoral.

NOTAS:

ANTIGENOTOXICIDAD Y CITOTOXICIDAD DE VEGETALES CONTENIDOS EN LA DIETA

Lozano-Baena MD¹, Campos-Sánchez J¹, Romero-Jiménez M¹, Tasset-Cuevas I¹, Anter J¹, Rhouda T¹, Font R³, De Haro A³, Analla M², Muñoz-Serrano A¹, Alonso-Moraga A¹.

¹Dep. Genética, Univ. Córdoba, Edificio Gregor Mendel, Campus Rabanales, Universidad de Córdoba, 14071 Córdoba, Spain.

² Dep. Biology, Abdelmalek Essaadi University, P.O. Box 2121, 93002 Tetouan, Maroc.

³Instituto de Agricultura Sostenible, CSIC, Córdoba, Spain.

Nuestro grupo investiga la capacidad antimutagénica y tumoricida de alimentos de origen vegetal con el objetivo de detectar alimentos funcionales que jueguen un papel de prevención y/o tratamiento de enfermedades degenerativas. Se han estudiado aceites de uso alimentario y esenciales, plantas medicinales, plantas de consumo como *Borago officinalis*, *Brassica carinata* o *Raphanus sativus* cuya capacidad para acumular metales es bien conocida, y ciertos componentes activos de los alimentos citados. La detección de capacidad antimutagénica o desmutagénica de una sustancia frente a mutágenos de tipo oxidativo (como es el peróxido de hidrógeno) es importante, ya que las especies reactivas de oxígeno están muy relacionadas con los procesos inflamatorios persistentes, y éstos a su vez con muchos tipos de cánceres. Los compuestos antimutagénicos, podrían ser, además, citotóxicos frente a células cancerosas en proliferación. Por tanto un tipo y otro de pruebas complementan la información requerida para poder aconsejar el consumo de ciertos alimentos como funcionalmente beneficiosos.

Pruebas de genotoxicidad y antigenotoxicidad: se ha utilizado el sistema de Mutaciones y Recombinaciones Somáticas en células en proliferación de discos imaginales alares de *Drosophila melanogaster* (SMART).

Pruebas de citotoxicidad: se ha utilizado el modelo de líneas celulares promielocíticas humanas HL-60 para determinar la actividad tumoricida de los diferentes productos vegetales. Se relaciona las respuestas antimutagénicas y citotóxicas de las sustancias ensayadas con su contenido en fenoles, glucosinolatos e isotiocianatos.

NOTAS:

EVALUACIÓN GENOTÓXICA DE DIVERSOS SUBPRODUCTOS DE LA CLORACIÓN DEL AGUA DE CONSUMO

Liviac D, Creus A, Marcos R.

Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra

En su vida diaria, el ser humano se encuentra expuesto a diversos agentes con potencialidad genotóxica, para cuya evaluación podemos utilizar distintos ensayos. Existen relativamente pocos agentes a los que toda la población, o la mayoría de la misma, estén expuestas y que, además, esta exposición pueda darse de manera crónica a lo largo de la vida. Uno de estos casos corresponde al agua de consumo.

En el agua potable se encuentran compuestos orgánicos e inorgánicos producidos a raíz de la propia desinfección del agua, en la mayoría de las veces, por cloración. Estos compuestos que se forman, como subproductos de la desinfección, se encuentran en todas las aguas desinfectadas químicamente que contenían materia orgánica natural.

En el presente trabajo se ha estudiado la genotoxicidad de varios subproductos de la cloración del agua en la línea celular linfoblastoide humana (TK6) mediante el ensayo de micronúcleos con bloqueo de la citocinesis y el ensayo del cometa o SCGE (*Single Cell Gel Electrophoresis*). El primer ensayo mide la inducción de roturas y de aneuploidía, mientras que el segundo mide, además de roturas simples y dobles en el DNA, otras alteraciones como sitios álcali-lábiles y daño oxidativo.

Los productos seleccionados corresponden a diferentes estructuras químicas para evaluar su posible influencia en la capacidad de inducir daño en el DNA, habiendo evaluado compuestos clorados y sus homólogos bromados. Los datos que se presentan corresponden al bromonitrometano, tricloronitrometano, tribromoacetaldehído, hidrato de cloral, ácido mucobromico y ácido mucoclorico.

Los resultados obtenidos indican que el único componente con capacidad de inducir un aumento significativo en el número de micronúcleos es el ácido mucoclorico (a la máxima concentración evaluada), lo que demuestra que puede producir daño cromosómico (roturas y/o aneuploidía). En cambio, en el ensayo del cometa todos los compuestos evaluados son capaces de producir roturas a nivel del DNA, en varias de las concentraciones evaluadas.

NOTAS:

MUTACIÓN GÉNICA INDUCIDA POR ARSÉNICO EN EL ENSAYO DE LINFOMA DE RATÓN

Soriano C, Creus A, Marcos R.

Grup de Mutagènesi, Departament de Genètica i de Microbiologia, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra

El arsénico es un metaloide ubicuo en el ambiente. La mayoría de sus compuestos son altamente tóxicos y están asociados a diversas enfermedades en las poblaciones expuestas. Es un conocido carcinógeno humano cuyos mecanismos de carcinogénesis no han sido totalmente caracterizados, por lo que su estudio es de gran interés para los investigadores.

Está ampliamente demostrado que los compuestos de arsénico son potentes agentes clastogénicos, produciendo intercambios entre cromátidas hermanas y aberraciones cromosómicas estructurales. Por el contrario, los resultados obtenidos hasta el momento en ensayos de mutación génica en bacterias y en células de mamífero, para los loci *hprt* y *oubaina*, han sido negativos, por lo que se ha postulado que el arsénico y sus compuestos podrían ser carcinógenos no genotóxicos.

En esta comunicación se presentan los resultados de un trabajo reciente en el que se ha investigado la genotoxicidad de cuatro compuestos de arsénico: dos inorgánicos y dos orgánicos. Los inorgánicos son el arsenito de sodio y el trióxido de arsénico, y los orgánicos son el ácido dimetilarsínico (DMA V) y el ácido monometilarsónico (MMA V), presentes en la ruta de transformación metabólica del arsénico inorgánico.

El ensayo empleado para la determinación de la genotoxicidad ha sido el ensayo de linfoma de ratón (MLA) que emplea la línea celular linfoblastoide de ratón L5178Y y el locus *Tk* (timidina kinasa) como gen indicador. Este ensayo permite detectar un amplio rango de alteraciones genéticas, desde mutaciones puntuales hasta efectos clastogénicos, por lo que es considerado como el ensayo más sensible de los ensayos *in vitro* de mutación génica.

Los resultados que hemos obtenido ponen de manifiesto que los cuatro compuestos ensayados son genotóxicos mostrando una clara relación dosis-respuesta, siendo más potentes los compuestos inorgánicos que los orgánicos pentavalentes.

NOTAS:

EFFECTO DE UNA NUEVA BENZOFENANTRIDINA DE ORIGEN VEGETAL SOBRE LA FRAGMENTACIÓN DEL ADN EN DOS LÍNEAS CELULARES.

Gonzalez-Linares J⁵, Pachón G¹, Azqueta A², Raharisolalao A³, López de Cerain A², de Lapuente J⁵, Borràs M⁵, Baudrimont I⁴, Centelles JJ¹, Creppy E⁴, Cascante M¹.

¹Departament de Bioquímica i Biologia Molecular. Facultat de Química. Universitat de Barcelona, Martí i Franquès 1. 08028-Barcelona. Spain

²Departamento de Bromatología, Tecnología de Alimentos y Toxicología, Facultad de Farmacia, Universidad de Navarra, Irunlarrea s/n, 31008 Pamplona. Spain

³Laboratoire de Chimie, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo, B.P. 906 Antananarivo 101 Madagascar.

⁴Laboratoire de Toxicologie et d'Hygiène Appliquée, Université de Bordeaux 2, Victor Ségalen, Faculté des Sciences Pharmaceutiques, 146, rue Léo-Saignat. 33076 Bordeaux. France.

⁵Unitat de Toxicologia Experimental i Ecotoxicologia (UTOX-PCB). Parc Científic de Barcelona, Edificio modular C/Josep Samitier, 1-5 08028 Barcelona. Spain.

Durante las últimas décadas se ha incrementado el volumen de investigación sobre los posibles efectos anticancerígenos de moléculas derivadas de productos naturales. La búsqueda de estas moléculas ha hecho posible la identificación de diversas familias con actividad terapéutica, entre ellas las benzofenantridinas. En el presente estudio se han testado los efectos sobre el ADN de una nueva benzofenantridina, la rutacelina, identificada en *Zanthoxylum madagascariensis*. Los ensayos se realizaron en dos líneas celulares: CACO-2 (adenocarcinoma colorectal humano) y VERO (riñón de mono verde africano). Para cuantificar la fragmentación de ADN se utilizó la electroforesis en geles de agarosa a partir de la extracción del material genético de ambas líneas celulares tratadas a concentraciones próximas a la IC₅₀ (Caco-2 IC₅₀: 110 µg/mL y Vero IC₅₀: 115 µg/mL). El potencial clastogénico de la molécula en ambos cultivos celulares se testó mediante el Comet Assay a las concentraciones IC₁₀ y IC₂₀. Los resultados de electroforesis en geles de agarosa revelan una inducción de fragmentación inespecífica de ADN con patrón difuso, característica de las células muertas por necrosis. Por otro lado, a las concentraciones testadas, la rutacelina, muestra un efecto clastogénico con una aceptable correlación dosis-respuesta en ambas líneas celulares, siendo más sensibles las células Caco-2. Los porcentajes de células apoptóticas (identificadas como núcleos *hedgehog*) fueron inferiores al 3% en las dosis testadas, en ambas líneas celulares, y no presentaron diferencias respecto a las células control.

NOTAS:

ANÁLISIS DE MICRONÚCLEOS EN AVES MARINAS EXPUESTAS AL VERTIDO DEL *PRESTIGE*

Suárez S¹, Sueiro RA¹, Velando A², Oro D³ y Garrido J¹

¹ Laboratorio de Microbiología. Instituto de Investigación e Análises Alimentarias. Universidade de Santiago de Compostela. Rúa Constantino Candeira s/n, Campus sur. 15782, Santiago de Compostela (A Coruña).

² Departamento de Ecología e Biología Animal. Facultade de Ciencias. Campus Lagoas-Marcosende. Universidade de Vigo. 36200, Vigo (Pontevedra).

³ Institut Mediterrani d'Estudis Avançats IMEDEA. CSIC-UIB. C/ Miquel Marqués 21. 07190, Esporles (Mallorca).

El 13 de noviembre de 2002 el naufragio del petrolero *Prestige* y su posterior rumbo errático durante 6 días, provocó el derramamiento de unas 19.000 toneladas de fuel al mar, antes de su hundimiento a 130 millas de las Islas Cíes. Así mismo, durante los siguientes meses se estima que unas 40.000 toneladas más de fuel fueron liberadas, y se dispersaron a lo largo de una gran área de costa por el viento y las corrientes marinas.

Las aves marinas son probablemente las que tienen mayor riesgo de sufrir el impacto negativo de vertidos de petróleo o derivados, debido a que pasan mucho tiempo de sus vidas en contacto con la superficie del mar y adicionalmente, se congregan en la línea de costa durante el periodo de reproducción, lo que puede provocarles una mayor exposición al fuel a través de las olas. Otro aspecto a destacar, es que durante bastantes meses después del naufragio y posterior hundimiento del buque petrolero, el fuel permaneció en los ambientes costeros pudiendo provocar la exposición de aves que no hubieran estado expuestas con anterioridad.

Por todas estas cuestiones, nos planteamos un análisis de los efectos genotóxicos en aves marinas expuestas al vertido del *Prestige*. Para ello, se escogieron dos especies el cormorán moñudo (*Phalacrocorax aristotelis*) y la gaviota (*Larus cachinnans*) con distinta distribución, hábitat y ecología. En la primavera de 2004, y tras seleccionar una serie de colonias del litoral gallego y asturiano (afectadas y no afectadas por el vertido), se muestrearon dichas colonias para obtener muestras de sangre usadas en el análisis de micronúcleos en eritrocitos de sangre periférica. Tras la posterior extensión, fijación y tinción, se analizaron 10.000 eritrocitos, de cada individuo.

Los resultados preliminares de este trabajo, indican que las gaviotas de las colonias afectadas por el vertido presentan niveles de micronúcleos en eritrocitos superiores a los detectados en colonias consideradas no afectadas. Por el contrario, en el caso del cormorán moñudo, los niveles de eritrocitos en todas las colonias estudiadas son similares.

NOTAS:

ÍNDICE DE AUTORES

A

Abián J.	23
Abril N.	43
Aguilar-Melero P.	47
Alejandro E.	51
Alhama J.	23
Alonso-Moraga A.	61
Álvarez L.	29, 31
Álvarez O.	27, 29, 31
Alves de Almeida E.	21
Analla M.	61
Anter J.	61
Arias A.	7
Ariza RR.	41, 49
Azqueta A.	67

B

Badal M.	39
Ballesteros Barros J.	17
Baudrimont I.	67
Bonilla-Valverde D.	17, 19
Borràs M.	67

C

Cabré O.	39
Campanella C.	55, 59
Campos-Sánchez J.	61
Cantero G.	53, 55, 57, 59
Carrascal M.	23
Cascante M.	67
Centelles JJ.	67
Chicano-Gálvez E.	15, 19
Chipman JK.	11
Comendador MA.	27, 29, 31, 33
Cortés F.	53, 55, 57, 59
Couve-Privat S.	9
Creppy E.	67
Creus A.	13, 63, 65

D

Daviet S.	9
De Haro A.	61
Domínguez I.	53, 55, 57

F

Fernández L.	27, 29, 31
Ferreiro JA.	27, 29, 31

Font R.	61
Fuentes-Almagro C.	15, 19, 25

G

García Barrera T.	7
García-Ortiz MV.	41
Garrido J.	69
George SG.	11
Gómez Ariza, JL.	7, 17
González-Linares J.	67

H

Hajji N.	57
Hernández A.	13, 35

I

Ishchenko AA.	9
---------------	---

J

Jurado J.	15, 25
-----------	--------

L

Lapiente (de) J.	67
Liviac D.	63
López A.	37
López ML.	27, 29, 31
López-Barea J.	15, 17, 19, 21, 23
López de Cerain A.	67
Lozano-Baena MD.	61

M

Marcos R.	13, 35, 37, 63, 65
Martínez-Macias MI.	49
Mateos S.	53, 55, 57, 59
Menéndez M.	33
Michán C.	45
Montes Nieto R.	17, 19
Morales-Ruiz MT.	49
Muñoz-Serrano A.	61

O

Oro D.	69
Orta ML.	53, 55
Ortega-Galisteo AP.	49
Osuna-Jiménez I	15, 47

P

Pachón G.	67
Pastor N.	53, 55, 57
Pérez A.	27, 29, 31
Pérez G.	35
Ponferrada-Marín Ml.	49
Portela A.	39
Prieto-Álamo MJ.	15, 25, 47
Pueyo C.	15, 19, 25, 43, 45, 47

R

Raharisololalao A.	67
Rhouda T.	61
Roldán-Arjona MT.	41, 49
Romero-Jiménez M.	61
Romero-Ruiz A.	23
Ruiz-Laguna J.	17, 43
Ruiz-Rubio M.	51

S

Sánchez R.	33
Santiago MJ.	51
Saparbaev MK.	9
Sierra LM.	27, 29, 31, 33
Sierra M.	33
Soriano C.	65
Suárez S.	69
Sueiro RA.	69

T

Tasset-Cuevas I.	61
------------------	----

U

Uriol E.	33
----------	----

V

Velando A.	69
Velázquez A.	37
Vioque-Fernández A.	21

W

Willians TD.	11
--------------	----

X

Xamena N.	13, 37, 39
-----------	------------

DIRECTORIO DE PARTICIPANTES

A**Abril Díaz, Nieves**

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba.
Campus de Rabanales. Ed. Severo Ochoa (C-6), 2ª planta.
Carretera Madrid-Cádiz km 396a
14071-Córdoba
Tel: 957 218 139
e-mail: bb1abdim@uco.es

Aguilar Melero, Patricia

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba.
Campus de Rabanales. Ed. Severo Ochoa (C-6), 2ª planta.
Carretera Madrid-Cádiz km 396a
14071-Córdoba
Tel: 957 218 082
e-mail: b92agmep@uco.es

Alhama Carmona, José

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba.
Campus de Rabanales. Ed. Severo Ochoa (C-6), 2ª planta.
Carretera Madrid-Cádiz km 396a
14071-Córdoba
Tel: 957 218 082
e-mail: bb2alcaj@uco.es

Alonso Moraga, Ángeles

Departamento de Genética. Facultad de Ciencias. Universidad de Córdoba.
Campus de Rabanales. Ed. Gregor Mendel.
Carretera Madrid-Cádiz km 396a
14071-Córdoba
Tel: 957 218 674
e-mail: ge1almoa@uco.es

Álvarez Valles, Olaya

Departamento de Biología Funcional e IUOPA. Universidad de Oviedo.
C/ Julián Clavería s/n
33006-Oviedo
Tel: 985 103 599
e-mail: olayaalvarez@terra.es

B**Bonilla Valverde, Daniel**

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba.
Campus de Rabanales. Ed. Severo Ochoa (C-6), 2ª planta.

Carretera Madrid-Cádiz km 396a
14071-Córdoba
Tel: 957 218 082
e-mail: v52bovad@uco.es

Borràs Suárez, Miquel

Unidad de Toxicología Experimental y Ecotoxicología (UTOX-PCB).
Parc Científic de Barcelona. Edificio Modular.
Josep Samitier 1-5
08028-Barcelona
Tel: 93 403 71 93
e-mail: mborras@pcb.ub.es

C

Cantero Nieto, Gloria

Departamento de Biología Celular. Facultad de Biología. Universidad de Sevilla.
Avda Reina Mercedes nº 6
41012-Sevilla
Tel: 954 557 045
e-mail: gcantero@us.es

Chipman, J. Kevin

School of Biosciences. The University of Birmingham.
Edgbaston, Birmingham, B15 2TT, United Kingdom
Tel: 00 44 121 414 5422
e-mail: j.k.chipman@bham.ac.uk

Comendador García, Miguel Ángel

Departamento de Biología Funcional e IUOPA. Universidad de Oviedo.
C/ Julián Clavería s/n
33006-Oviedo
Tel: 985 104 195
e-mail: mac@uniovi.es

Cortés Benavides, Felipe

Departamento de Biología Celular. Facultad de Biología. Universidad de Sevilla.
Avda Reina Mercedes nº 6
41012-Sevilla
Tel: 954 557 039
e-mail: cortes@us.es

Creus Capdevilla, Amadeu

Grupo de Mutagénesis. Departamento de Genética y Microbiología. Facultad de Ciencias.
Universidad Autónoma de Barcelona.
Edificio Cc, Campus de Bellaterra
08193-Cerdanyola del Vallès

Tel: 935 814 702
e-mail: amadeu.creus@uab.es

Cruz Vaca, Roser

Unidad de Toxicología Experimental y Ecotoxicología (UTOX-PCB).
Parc Científic de Barcelona. Edificio Modular.
Josep Samitier 1-5
08028-Barcelona
Tel: 93 403 71 93
e-mail: rcruz@pcb.ub.es

F

Fernández Cuesta, Lynette

Departamento de Biología Funcional e IUOPA. Universidad de Oviedo.
C/ Julián Clavería s/n
33006-Oviedo
Tel: 985 103 599
e-mail: ettenyl23@hotmail.com

Ferreiro Ríos, José Antonio

Departamento de Biología Funcional e IUOPA. Universidad de Oviedo.
C/ Julián Clavería s/n
33006-Oviedo
Tel: 985 104 195
e-mail: ferreirojose@uniovi.es

Fuentes Almagro, Carlos

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba.
Campus de Rabanales. Ed. Severo Ochoa (C-6), 2ª planta.
Carretera Madrid-Cádiz km 396a
14071-Córdoba
Tel: 957 218 082
e-mail: b72fualc@uco.es

G

García Ortiz, Mª Victoria

Departamento de Genética. Facultad de Ciencias. Universidad de Córdoba.
Campus de Rabanales. Ed. C-5, 1ª planta.
Carretera Madrid-Cádiz km 396a
14071-Córdoba
Tel: 957 218 979
e-mail: b42gaorm@uco.es

Gómez Ariza, José Luis

Departamento de Química y Ciencia de los Materiales. Facultad de Ciencias Experimentales.
Universidad de Huelva.
Campus de El Carmen
21007-Huelva
Tel: 959 219 968
e-mail: ariza@uhu.es

H

Hernández Bonilla, Alba

Grupo de Mutagénesis. Departamento de Genética y Microbiología. Facultad de Ciencias.
Universidad Autónoma de Barcelona.
Edificio Cc, Campus de Bellaterra
08193-Cerdanyola del Vallès
Tel: 935 812 597
e-mail: alba.hernandez@uab.es

J

Jurado Carpio, Juan

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba.
Campus de Rabanales. Ed. Severo Ochoa (C-6), 2ª planta.
Carretera Madrid-Cádiz km 396a
14071-Córdoba
Tel: 957 218 082
e-mail: ge2jucaj@uco.es

L

Liviac Muñoz, Danae

Grupo de Mutagénesis. Departamento de Genética y Microbiología. Facultad de Ciencias.
Universidad Autónoma de Barcelona.
Edificio Cc, Campus de Bellaterra
08193-Cerdanyola del Vallès
Tel: 935 812 597
e-mail: danaemarcela.liviac@uab.es

López Barea, Juan

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba.
Campus de Rabanales. Ed. Severo Ochoa (C-6), 2ª planta.
Carretera Madrid-Cádiz km 396a
14071-Córdoba
Tel: 957 218 687

e-mail: bb1lobaj@uco.es

López Castel, Arturo

Grupo de Mutagénesis. Departamento de Genética y Microbiología. Facultad de Ciencias.
Universidad Autónoma de Barcelona.
Edificio Cc, Campus de Bellaterra
08193-Cerdanyola del Vallès
Tel: 935 811 831
e-mail: arturo.lopez@uab.es

M

Marcos Dauder, Ricardo

Grupo de Mutagénesis. Departamento de Genética y Microbiología. Facultad de Ciencias.
Universidad Autónoma de Barcelona.
Edificio Cc, Campus de Bellaterra
08193-Cerdanyola del Vallès
Tel: 935 812 052
e-mail: ricard.marcos@uab.es

Martínez Macías M^a Isabel

Departamento de Genética. Facultad de Ciencias. Universidad de Córdoba.
Campus de Rabanales. Ed. C-5, 1^a planta.
Carretera Madrid-Cádiz km 396a
14071-Córdoba
Tel: 957 218 979
e-mail: q92mamam@uco.es

Mateos Cordero, Santiago

Departamento de Biología Celular. Facultad de Biología. Universidad de Sevilla.
Avda Reina Mercedes n^o 6
41012-Sevilla
Tel: 954 554 339
e-mail: smateos@us.es

Michán Doña, Carmen

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba.
Campus de Rabanales. Ed. Severo Ochoa (C-6), 2^a planta.
Carretera Madrid-Cádiz km 396a
14071-Córdoba
Tel: 957 218 082
e-mail: bb2midoc@uco.es

Montes Nieto, Rafael

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba.
Campus de Rabanales. Ed. Severo Ochoa (C-6), 2^a planta.

Carretera Madrid-Cádiz km 396a
14071-Córdoba
Tel: 957 218 082
e-mail: montesrafa@hotmail.com

Morales Ruiz, Teresa

Departamento de Genética. Facultad de Ciencias. Universidad de Córdoba.
Campus de Rabanales. Ed. C-5, 1ª planta.
Carretera Madrid-Cádiz km 396a
14071-Córdoba
Tel: 957 218 979
e-mail: b52morum@uco.es

O

Orta Vázquez, Manuel Luis

Departamento de Biología Celular. Facultad de Biología. Universidad de Sevilla.
Avda Reina Mercedes nº 6
41012-Sevilla
Tel: 954 557 039
e-mail: manortvaz@alum.us.es

Ortega Galisteo, Ana Pilar

Departamento de Genética. Facultad de Ciencias. Universidad de Córdoba.
Campus de Rabanales. Ed. C-5, 1ª planta.
Carretera Madrid-Cádiz km 396a
14071-Córdoba
Tel: 957 218 979
e-mail: ge2orgaa@uco.es

Osuna Jiménez, Inmaculada

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba.
Campus de Rabanales. Ed. Severo Ochoa (C-6), 2ª planta.
Carretera Madrid-Cádiz km 396a
14071-Córdoba
Tel: 957 218 082
e-mail: b12osjii@uco.es

P

Pérez Machado, Gisselle

Grupo de Mutagénesis. Departamento de Genética y Microbiología. Facultad de Ciencias.
Universidad Autónoma de Barcelona.
Edificio Cc, Campus de Bellaterra
08193-Cerdanyola del Vallès

Tel: 935 812 597
e-mail: giselle.perez@uab.es

Ponferrada Marín, M^a Isabel

Departamento de Genética. Facultad de Ciencias. Universidad de Córdoba.
Campus de Rabanales. Ed. C-5, 1^a planta.
Carretera Madrid-Cádiz km 396a
14071-Córdoba
Tel: 957 218 979
e-mail: q92pomam@uco.es

Portela Mestres, Anna

Grupo de Mutagénesis. Departamento de Genética y Microbiología. Facultad de Ciencias.
Universidad Autónoma de Barcelona.
Edificio Cc, Campus de Bellaterra
08193-Cerdanyola del Vallès
Tel: 935 811 831
e-mail: anna.portela@uab.es

Prieto Álamo, M^a José

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba.
Campus de Rabanales. Ed. Severo Ochoa (C-6), 2^a planta.
Carretera Madrid-Cádiz km 396a
14071-Córdoba
Tel: 957 218 082
e-mail: bb2pralm@uco.es

Pueyo de la Cuesta, Carmen

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba.
Campus de Rabanales. Ed. Severo Ochoa (C-6), 2^a planta.
Carretera Madrid-Cádiz km 396a
14071-Córdoba
Tel: 957 218 695
e-mail: bb1pucuc@uco.es

R

Rodríguez Ariza, Rafael

Departamento de Genética. Facultad de Ciencias. Universidad de Córdoba.
Campus de Rabanales. Ed. C-5, 1^a planta.
Carretera Madrid-Cádiz km 396a
14071-Córdoba
Tel: 957 218 979
e-mail: ge2roarr@uco.es

Roldán Arjona, Teresa

Departamento de Genética. Facultad de Ciencias. Universidad de Córdoba.

Campus de Rabanales. Ed. C-5, 1ª planta.
Carretera Madrid-Cádiz km 396a
14071-Córdoba
Tel: 957 218 979
e-mail: ge2roarm@uco.es

Ruiz Laguna, Julia

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba.
Campus de Rabanales. Ed. Severo Ochoa (C-6), 2ª planta.
Carretera Madrid-Cádiz km 396a
14071-Córdoba
Tel: 957 218 082
e-mail: bb2rulaj@uco.es

S

Santiago García, Mª Jesús

Departamento de Genética. Facultad de Ciencias. Universidad de Córdoba.
Campus de Rabanales. Edif. Gregor Mendel.
Carretera Madrid-Cádiz km 396a
14071-Córdoba
Tel: 957 218 979
e-mail: b72sagam@uco.es

Saparbaev, Murat K

Institut Gustave Roussy, UMR8126. C.N.R.S.
Rue Camille Desmoulins.
94805-Villejuif, France
Tel: 00 33 142 115 404
e-mail: smurat@igr.fr

Sierra Zapico, L. María

Departamento de Biología Funcional e IUOPA. Universidad de Oviedo.
C/ Julián Clavería s/n
33006-Oviedo
Tel: 985 104 195
e-mail: lmsierra@uniovi.es

Soriano Tárraga, Carolina

Grupo de Mutagénesis. Departamento de Genética y Microbiología. Facultad de Ciencias.
Universidad Autónoma de Barcelona.
Edificio Cc, Campus de Bellaterra
08193-Cerdanyola del Vallès
Tel: 935 812 597
e-mail: carolina.soriano@uab.es

Súarez Figueras, Susanna

Laboratorio de Microbiología. Instituto de Investigación y Análisis Alimentarios
Universidad de Santiago de Compostela.
Rúa Constantino Candeira s/n, Campus Sur.
15782-Santiago de Compostela
Tel: 981 563 100
e-mail: ssuarez@usc.es

V

Vioque Fernández, Amalia

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba.
Campus de Rabanales. Ed. Severo Ochoa (C-6), 2ª planta.
Carretera Madrid-Cádiz km 396a
14071-Córdoba
Tel: 957 218 082
e-mail: b72vifea@uco.es