

Anexo I: Formato para presentación de proyectos de investigación ante Consejo Divisional de la DCNI

Fecha de presentación del proyecto	
Sesión de Consejo de aprobación	
Clave del proyecto asignada por Consejo Divisional	

1.1 Título del proyecto.

Caracterización ómica del factor transcripcional BORIS en un modelo de glioblastoma humano.

1.2 Línea de investigación del Cuerpo Académico o Grupo de Investigación, o de Posgrado.

El Cuerpo Académico de Fisiología Celular y Tisular, al cual pertenezco tiene dos líneas de generación o aplicación innovadora del conocimiento, donde el proyecto tiene cabida:

- a)** Biología molecular y celular. Señalización, comunicación celular, efectos terapéuticos, bioinformática, efectos patológicos, diferenciación celular, entre otros de interés biomédico.
- b)** Métodos y herramientas en evaluación de la salud. Diseño, identificación, caracterización o validación de nuevos métodos diagnósticos, predictivos o terapéuticos en condiciones patológicas de diferentes sistemas, incluyendo ingeniería y diseño de materiales, diagnóstico molecular, histopatología, ingeniería de tejidos, entre otros.

1.3 Responsable del proyecto, participantes y adscripción de cada uno.

Responsable del proyecto:

Dr. Ernesto Soto Reyes Solís. Departamento de Ciencias Naturales, UAM-Cuajimalpa.

Participantes:

- a) Dra. Cynthia Gabriela Sámano Salazar. Departamento de Ciencias Naturales, UAM-Cuajimalpa. La Dra. estará involucrada en las decisiones de índole molecular relacionadas con tumores del sistema nervioso central.
- b) Dr. Gerardo Pérez Hernández. Departamento de Ciencias Naturales, UAM-Cuajimalpa. El Dr. Participará en los análisis de biología de sistemas para el desarrollo de la estructura tridimensional de BORIS.
- c) Dr. Gerardo Ramírez Mejía. Posdoctorado adscrito al Departamento de Ciencias Naturales, UAM-Cuajimalpa inscrito en el programa de posdoctorado Nacionales de CONACyT. El llevará acabo los experimentos de secuenciación de ChIP-seq y RNA-seq.

Participantes externos:

- a) Prof. Dr. Jan Baumbach (Universität Hamburg), apoyará en los análisis bioinformáticos complejos relacionados con la integración de los datos ómicos.
- b) Dra. Thalía Estefanía Sánchez Correa (Hospital General de Xoco, CDMX). La Dra. Sánchez es neurocirujana especialista en tumores del sistema nervioso, su participación

estará relacionada con la decisión en la selección de genes de importancia clínica que se decidan de manera específica en nuestro estudio.

2. 1.4 Orientación:

- Investigación básica (X)
- Investigación aplicada (X)
- Desarrollo o adaptación ()
- Transferencia de tecnología ()
- Desarrollo de tecnología ()
- Otros (), especificar: _____

3. 1.5 Fecha de inicio y duración

De abril de 2023 con una duración solicitada de 3 años.

2. Propuesta:

1. 2.1 Resumen.

El incremento en la expresión del factor transcripcional *Brother Of the Regulator of the Imprinted Site* (BORIS) se ha reportado en múltiples neoplasias. Se ha propuesto que este factor puede ocupar los sitios de unión al DNA de una proteína paróloga conocida como CTCF. Se ha sugerido que la competencia de dichos factores por el sitio de unión pudiera relacionarse con alteraciones en la expresión de múltiples genes implicados en las firmas moleculares del cáncer. Pero hasta ahora, poco se sabe sobre el papel de BORIS en tumores en el sistema nervioso central como los glioblastomas. Por ello, se pretende caracterizar por medio de inmunoprecipitación de la cromatina, la secuenciación masiva a los sitios de unión de BORIS y abordajes como la biología de sistema nos permitirá ondar en el impacto de este factor a nivel transcriptómico en un modelo de líneas celulares de glioblastomas. A su vez, se realizará el abatimiento de la expresión de BORIS usando ensayos de CRISPR-Cas13 con el fin de determinar los genes que pudieran ser regulados por dicho factor transcripcional. De tener éxito, este proyecto podría contribuir al entendimiento a nivel molecular a los genes que pudieran ser regulados por BORIS en una de las neoplasias más letales en población económicamente activa.

Palabras clave

Glioblastoma, BORIS, Secuenciación de alto rendimiento, ChIP-seq y RNA-seq, CRISPR-Cas13.

2.2 Antecedentes.

Los tumores del sistema nervioso central (SNC) son un grupo de neoplasias derivadas de diversas estirpes celulares, que representan alrededor del 3% de todos los nuevos casos de cáncer a nivel mundial. Este tipo de neoplasias significan la segunda causa de muerte por tumores malignos en niños y el 3% de las muertes por neoplasias malignas en la población estadounidense¹. En términos de años de vida perdidos, los tumores cerebrales son el tipo de cáncer con mayor impacto, con un promedio de 20 años de vida perdidos por paciente. Entre el 70% a 80% de los tumores primarios cerebrales son gliomas².

Normalmente se asocian a un mal pronóstico de supervivencia y alta mortalidad, afectando principalmente a adultos jóvenes y económicamente activos. Parte de los mecanismos moleculares responsables en el inicio o desarrollo de este tipo de neoplasias están los procesos epigenéticos².

El área de la epigenética es uno de los campos de más rápida expansión en la investigación biomédica, recientemente se ha convertido en un campo crítico para estudiar cómo los factores no genéticos pueden influir en los rasgos y funciones de un organismo. Los factores epigenéticos y su red interactiva regulan casi todos los procesos biológicos fundamentales, como el mantenimiento de patrones de expresión génica específicos de tejido en vertebrados³. Por lo tanto, la información epigenética incorrecta puede conducir a enfermedades complejas como el cáncer⁴.

Los cánceres humanos son las enfermedades más estudiadas que involucran alteraciones epigenéticas, que afectan la función de los genes y pueden conducir a la transformación celular maligna^{4,5}. Además, el inicio y la progresión del cáncer, visto tradicionalmente como una enfermedad genética, ahora se considera que implica anomalías epigenéticas junto con alteraciones genéticas⁴.

Actualmente, el estudio de la epigenética desde una perspectiva genómica ha sido posible gracias al uso de tecnologías de secuenciación de próxima generación (NGS), que conducen al surgimiento de la Epigenómica⁶. Dada esta nueva ola de investigación, el uso de herramientas computacionales es de gran importancia en el análisis y comprensión de datos para formular nuevas hipótesis. Por ejemplo, el proyecto ENCODE surgió de la necesidad de una lista completa de elementos funcionales en el genoma humano, incluidos los factores de transcripción que controlan la activación o represión transcripcional de un gen⁶.

La mayoría de los datos recopilados en ENCODE provienen de líneas celulares neoplásicas, en las que se han evaluado numerosos factores de transcripción. Por ejemplo, la proteína CTCF es una de las proteínas más estudiadas en ENCODE⁷ ya que este factor transcripcional está implicado en los cambios transcripcionales en el cáncer^{8,9}. El factor nuclear CTCF es una proteína de unión a DNA altamente conservada con un dominio de 11 dedos de zinc (ZF)¹⁰. Al principio, se pensó que CTCF era un represor transcripcional^{11,12}; sin embargo, debido al uso de tecnologías NGS, ahora se sabe que CTCF no es solo un represor. En la actualidad, se han realizado cientos de estudios de CTCF en todo el genoma, desde ChIP-seq y RNA-seq hasta experimentos Hi-C. Estos experimentos han demostrado que CTCF tiene miles de sitios de unión distribuidos a lo largo del genoma, el 35,5% son constitutivos y el 64,5% específicos de tejido¹³. Un análisis detallado de los sitios de unión de CTCF ha demostrado que participa en prácticamente todos los procesos relacionados con la regulación de la transcripción génica, activa y reprime genes, principalmente por el establecimiento de la organización tridimensional de la cromatina en el núcleo¹⁴. Debido a su innegable importancia, la falta de CTCF es inviable para la célula. Además, el gen *CTCF* tiene un parálogo llamado *CTCFL* (CTCF-Like) que codifica una proteína llamada BORIS (Brother Of the Regulator of the Imprinted Sites)¹⁰.

BORIS es una proteína con un dominio de unión a DNA 11 ZF, como CTCF, pero su sobreexpresión se observa con frecuencia en el cáncer¹⁵, lo que promueve el crecimiento celular y se ha propuesto que actúa como un oncogén¹⁶, en oposición a la función supresora de tumores de CTCF en células neoplásicas. BORIS regula la expresión génica al reconocer el DNA y puede modular la expresión génica específica del cáncer. BORIS, a diferencia de CTCF, tiene algunas características que la convierten en una proteína prometedora útil como biomarcador tumoral o como diana terapéutica en el cáncer¹⁷. Dadas las características únicas de la proteína BORIS en cáncer, el estudio de los cambios transcripcionales impulsados por su expresión en cáncer, y la localización de esta proteína a nivel genómico son de especial interés. Sin embargo, solo unos pocos estudios han

intentado dilucidar el papel de BORIS en cáncer, sin embargo, estos estudios se restringieron a la evaluación de unos pocos genes y no en modelos de glioblastomas. Pero los mecanismos exactos por los que interactúa con el genoma y la medida en que influye en los procesos celulares siguen siendo en gran parte desconocidos.

2.3 Objetivo general y objetivos particulares.

Objetivos General: Caracterización ómica y de biología de sistemas del factor transcripcional BORIS en un modelo de glioblastoma humano.

Objetivos Particulares

- 1) Determinar la abundancia y expresión del factor transcripcional BORIS en un modelo de líneas celulares de glioblastoma.
- 2) Evaluar los sitios de unión del factor transcripcional BORIS por medio de inmunoprecipitación de la cromatina y secuenciación de alto rendimiento (ChIP-seq) en un modelo de glioblastoma.
- 3) Abatir la expresión del gen *CTCF* (BORIS) por medio de la estrategia de CRISPR-Cas13 en líneas celulares de glioblastoma.
- 4) Caracterizar el transcriptoma de líneas celulares de glioblastoma en células WT y en células Knockdown al factor transcripcional BORIS por medio de secuenciación de alto rendimiento (RNA-seq).
- 5) Obtener la estructura 3D BORIS mediante estrategias computacionales y compararlo con su parálogo de CTCF.

2.4 Descripción, incluyendo hipótesis y metodología (máximo 2 cuartillas).

Hipótesis

Se observará a nivel ómico una localización del factor BORIS en muchos de los sitios de unión al factor nuclear CTCF, derivando en alteraciones a nivel transcripcional. A su vez, los análisis de la estructura tridimensional de las proteínas CTCF y BORIS presentarán una alta similitud, pero existiran diferencias importantes que podrían apuntar al reclutamiento de complejos protéicos distintos que pudieran sugerir funciones celulares diferentes.

Metodología

Análisis de la abundancia protéica por Inmunoblots.

Los cultivos de células de glioblastoma humano (T98G, U-87MG, U373MG) serán procesados para la extracción de proteínas totales. Éstas se desnaturalizarán y se separarán por electroforesis y serán transferidas a membranas de PVDF para la realización de inmunoblots contra el factor transcripcional BORIS. Las bandas obtenidas se analizarán para obtener la abundancia relativa.

Evaluación de expresión por qRT-PCR.

A partir de las líneas celulares se hará la extracción de RNA (con TRIzol). Con el RNA se hará una cuantificación fluorométrica (Qubit). La expresión relativa se analizará por medio de qRT-PCR usando SYBR Green/ROX. Con los valores C_T se seguirá el método $\Delta\Delta C_T$.

Determinación de la presencia de BORIS a nivel ómico por medio de ChIP-Seq.

Los cultivos de células se tratarán con buffer de entrecruzamiento (formaldehído 1%), lisis y sonicación para fragmentar la cromatina. Para la inmunoselección de los complejos proteína-DNA se usarán anticuerpos anti-BORIS (sc-377085 y HPA001472) y las perlas

magnéticas Magna-ChIP empleando el kit OneDay ChIP. La muestra obtenida se analizará por secuenciación de alto rendimiento empleando al menos 20 millones de lecturas single-end. La calidad de las secuencias se evaluará con FASTQC, las lecturas se ensamblarán contra el genoma de referencia usando el alineador BWA. La búsqueda y anotación de los picos se hará con MACS2. Finalmente, el análisis de distribución y ontología génica se realizará con R usando los paquetes CHIPseeker, gprofiler KeyPathwayMiner y ggplots2. Todos los ensayos se realizarán al menos por duplicado biológico.

Abatimiento del RNA por medio de la tecnología de CRISPR-Cas13.

Para estos análisis se seguirán los protocolos de Abudayyeh et al., 2017: se usarán los plásmidos que expresan Cas13a-GFP. Las guías y los shRNAs se diseñarán usando algoritmos para diseño de RNAs y siRNAs. La secuencia de las guías se clonará en el vector de expresión usando el kit GeneArt™ Type IIs Assembly (Invitrogen). Las células de glioblastoma humano serán transfectadas con el plásmido LwaCas13a y el plásmido guía usando lipofectamina 2000. La validación del knockdown de BORIS se hará por qRT-PCR usando SYBR Green/ROX. Con los valores de C_T se seguirá el método $\Delta\Delta C_T$.

Evaluación de la transcriptómica de líneas celulares.

Para el análisis de RNAseq se seguirá el protocolo de Salgado-Albarrán et al., 2022: Los cultivos de células de glioblastoma transfectadas se someterán a extracción de RNA (TRIzol) y el Kit Direct-zol RNA Miniprep. La integridad y calidad del RNA se analizará con el equipo Agilent 2200 TapeStation. Las librerías se prepararán con mRNA TruSeq y serán secuenciadas en la plataforma NovaSeq 6000 de Illumina con 10 millones de lecturas pair-end. Posterior a la secuenciación, la calidad de los datos obtenidos se evaluará con el paquete FASTQC. Las lecturas se ensamblarán contra su genoma de referencia con el alineador STAR y el conteo de lecturas por gen se realizará con featureCounts, el paquete DESeq2 se usará para identificar los genes diferencialmente expresados. Finalmente, se construirán redes de interacción proteína-proteína usando KeyPathwayMiner para R. Todos los análisis bioinformáticos se harán en el servidor esrs-epigenetics de la UAM-Cuajimalpa.

Modelado tridimensional de BORIS y CTCF

A la fecha no se cuenta con datos cristalográficos para BORIS, por lo que es necesario generar la estructura 3D que posteriormente se utilizará como plantilla para el análisis de acoplamiento molecular. Se empleará la versión 10.1 de Modeller¹⁸ para la creación de modelos de homología tridimensionales (3D) del dominio de dedo de zinc de BORIS y para fusionar los diferentes fragmentos cristalizados de CTCF en un solo modelo. Para BORIS, la región modelada abarca desde PRO284 hasta CYS568 (ZF2ZF11) y para CTCF, la región utilizada fue desde PRO293 hasta CYS577 (también ZF2ZF11). En ambos casos, se utilizaron como plantillas las estructuras CTCF XRay 5T0U¹⁹, 5YEF y 5YEL²⁰ disponibles en Protein Data Bank (PDB).

2.5 Formación de recursos humanos.

Se realizará la formación de recursos humanos incluyendo a DOS servicios sociales, DOS estudiantes de la licenciatura en Biología Molecular y/o licenciatura en Ingeniería Biológica de la UAM Cuajimalpa, DOS estudiantes de maestría y UNA estancia posdoctoral Nacional de CONACyT. El proyecto plantea que los estudiantes de licenciatura continúen sus estudios de Maestría dentro de nuestra institución.

2.6 Productos esperados.

Uno de los productos principales del proyecto es la publicación de TRES manuscritos UNO de tipo original y DOS de revisión. Ambos manuscritos serán enviados para su publicación a editoriales de circulación internacional indizadas en JCR para informar sobre los hallazgos encontrados y novedades en el campo de estudio.

También el trabajo se presentará tanto en foros de divulgación de la ciencia como en foros especializados como el Congreso Nacional de Bioquímica y se impartirán al menos 5 pláticas relacionada con el tema de investigación

2.7 Impacto esperado del proyecto (problemática nacional abordada).

Vinculación PRONACES: Salud.

El factor transcripcional BORIS se ha asociado a un mal pronóstico de supervivencia de diferentes tipos de neoplasias incluido el glioblastoma ^{10,21}. Sin embargo, hasta ahora se desconocen los eventos moleculares relacionados con la desregulación transcripcional mediados por la expresión aberrante de BORIS en un modelo de glioblastomas. Por ello, el principal objetivo del proyecto es la caracterización a nivel ómico (caracterizando la unión de BORIS al DNA, y la expresión a nivel ómica tanto de un modelo silverstre como células abatidas por el sistema de CRISPR-Cas13 que tiene como blanco al RNA). De tener éxito, este trabajo contribuirá tanto en el campo de la investigación básica, en el área de la epigenética y cáncer como también en el área clínica, ya que este factor podría proponerse como un blanco terapéutico en cánceres del sistema nervioso central.

2.8 Recursos necesarios para el proyecto:

Financiamiento e infraestructura física y humana actual en el proyecto.

Actualmente se tiene sometido un donativo solicitando financiamiento en Fronteras de la Ciencia 2023 por parte de CONACyT, del cual aún no se tiene respuesta. También se cuenta apoyo por parte del Departamento de Ciencias Naturales y se buscará mas recursos para el desarrollo de este proyecto. Cabe mencionar que toda la infraestructura física y de recursos humanos que se utilizará en este proyecto se encuentra disponible en la Unidad Cuajimalpa en el Laboratorio de Biología Celular. Actualmente hay varios estudiantes interesados en la línea de investigación de epigenética y cáncer los cuales apoyará sustancialmente al desarrollo del proyecto. Por otro lado, los análisis de secuenciación de alto rendimiento y las validaciones experimentales que se realizarán por medio de tiempo real. Para los análisis bioinformáticos se cuenta con la infraestructura computacional para realizar los análisis de dinámica y docking molecular; en el *episerver* ESRS que es un servidor PowerEdge R740 Dell con dos procesadores Intel Xeon Gold 6230 (2.1 GHZ, 35.75 M Cache 26C/52T) con 12 x 64 GB RDIMM, 3200 MT/S Dual rank (Total 768 GB).

Fuentes de financiamiento externas.

Estamos en espera del resultado de Ciencias de Frontera 2023, como también este donativo se someterá para la búsqueda de más recursos externos e internos para su desarrollo.

3. Calendario de actividades en períodos trimestrales.

Actividades	PERIODO	AÑO 1			AÑO 2			AÑO 3		
	I	II	II	IV	V	VI	VII	VII	IX	
Estandarización de cultivo en líneas celulares de glioblastomas humanos	X									
Obtención de plásmidos tanto de CRISPR Cas13 como las guías para el desarrollo del proyecto		X	X	X						
Estandarización de los inmunoblots con distintos anticuerpos en contra de CTCF y BORIS		X	X	X						
Diseño y prueba de oligonucleótidos sintéticos para qRT-PCR de CTCF y BORIS		X	X	X						
Estandarización de ensayos de inmunoprecipitación de la cromatina en líneas de glioblastomas						X	X	X	X	
Secuenciación de alto rendimiento de ChIP-seq						X	X			
Secuenciación de alto rendimiento de cDNA proveniente de distintas líneas celulares						X	X			
Abatimiento de BORIS mediante el sistema de CRISPR Cas 13		X	X	X	X	X	X			
Modelado tridimensional de BORS y CTCF			X	X	X	X	X	X		
Análisis bioinformático de las secuencias de alto rendimiento							X	X	X	

4. Información para el seguimiento del proyecto:

4.1 Calendarización de productos esperados a lo largo del proyecto.

PRODUCTO	AÑO 1	AÑO 2	AÑO 3
Formación de recursos humanos a nivel licenciatura			
Servicio Social	2		
Proyecto Terminal	2		
Formación de recursos humanos a nivel posgrado			
Especialización			

Maestría			2
Doctorado		1	
Proyecto Terminal			
Publicaciones			
Artículos	1	1	1
Capítulos de libro			
Memorias o Proceedings			
Difusión o Divulgación			
Congresos		1	1
Conferencias	1	2	2

4.2 Resultados esperados, según sea el caso, en términos de conocimiento producido, productividad científica, desarrollo tecnológico, formación de recursos humanos e impacto, o cualquier otra que, a juicio de la persona que funja como responsable y de las personas participantes en el proyecto, sirva para realizar una adecuada evaluación de seguimiento.

Este proyecto pretende realizarse de forma interdisciplinaria tanto con profesoras y profesores de la unidad, alumnos de las licenciaturas en Biología Molecular e Ingeniería Biológica y posdoctorantes. A su vez, se invitó a participar al Prof. Dr. Jan Bambach que es el jefe del laboratorio computacional de biología de sistemas de la Universidad de Hamburgo. También estará implicada en el proyecto a la Dra. Thalia E. Sanchez Correa, neurocirujada del Hospital General de Xoco. Parte del objetivo del grupo de trabajo es generar producción científica que abarque tanto la ciencia básica y la ciencia aplicada y que todas y todos los estudiantes se vean beneficiados esta estas dos áreas del conocimiento.

Referencias

1. Siegel, R.L., Miller, K.D., Wagle, N.S., and Jemal, A. (2023). Cancer statistics, 2023. *CA Cancer J Clin* 73, 17–48. 10.3322/caac.21763.
2. Contreras, L.E. (2017). EPIDEMIOLOGÍA DE TUMORES CEREBRALES. *Rev Med Clin Condes* 28, 332–338. 10.1016/j.rmclc.2017.05.001.
3. Callinan, P.A., and Feinberg, A.P. (2006). The emerging science of epigenomics. *Hum Mol Genet* 15 *Spec No 1*, R95-101. 10.1093/hmg/ddl095.
4. Hanahan, D. (2022). Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discov* 12, 31–46. 10.1158/2159-8290.CD-21-1059.
5. Han, Y., Ren, J., Yu, W., Terashima, M., and Muegge, K. (2015). Chapter 7 - Malignant Transformation and Epigenetics. In *Epigenetics and Dermatology*, Q. Lu, C. C. Chang, and B. C. Richardson, eds. (Academic Press), pp. 113–135. 10.1016/B978-0-12-800957-4.00007-2.

6. Wang, K.C., and Chang, H.Y. (2018). Epigenomics: Technologies and Applications. *Circ Res* 122, 1191–1199. 10.1161/CIRCRESAHA.118.310998.
7. ENCODE Project Consortium (2004). The ENCODE (ENCyclopedia Of DNA Elements) Project. *Science* 306, 636–640. 10.1126/science.1105136.
8. Soto-Reyes, E., and Recillas-Targa, F. (2010). Epigenetic regulation of the human p53 gene promoter by the CTCF transcription factor in transformed cell lines. *Oncogene* 29, 2217–2227. 10.1038/onc.2009.509.
9. Guerra-Calderas, L., González-Barrios, R., Patiño, C.C., Alcaraz, N., Salgado-Albarrán, M., de León, D.C., Hernández, C.C., Sánchez-Pérez, Y., Maldonado-Martínez, H.A., De la Rosa-Velazquez, I.A., et al. (2018). CTCF-KDM4A complex correlates with histone modifications that negatively regulate CHD5 gene expression in cancer cell lines. *Oncotarget* 9, 17028–17042. 10.18632/oncotarget.24798.
10. Debaugny, R.E., and Skok, J.A. (2020). CTCF and CTCFL in cancer. *Curr Opin Genet Dev* 61, 44–52. 10.1016/j.gde.2020.02.021.
11. Filippova, G.N., Fagerlie, S., Klenova, E.M., Myers, C., Dehner, Y., Goodwin, G., Neiman, P.E., Collins, S.J., and Lobanenko, V.V. (1996). An exceptionally conserved transcriptional repressor, CTCF, employs different combinations of zinc fingers to bind diverged promoter sequences of avian and mammalian c-myc oncogenes. *Mol Cell Biol* 16, 2802–2813. 10.1128/MCB.16.6.2802.
12. Klenova, E.M., Nicolas, R.H., Paterson, H.F., Carne, A.F., Heath, C.M., Goodwin, G.H., Neiman, P.E., and Lobanenko, V.V. (1993). CTCF, a conserved nuclear factor required for optimal transcriptional activity of the chicken c-myc gene, is an 11-Zn-finger protein differentially expressed in multiple forms. *Mol Cell Biol* 13, 7612–7624. 10.1128/mcb.13.12.7612-7624.1993.
13. Wang, H., Maurano, M.T., Qu, H., Varley, K.E., Gertz, J., Pauli, F., Lee, K., Canfield, T., Weaver, M., Sandstrom, R., et al. (2012). Widespread plasticity in CTCF occupancy linked to DNA methylation. *Genome Res* 22, 1680–1688. 10.1101/gr.136101.111.
14. Phillips, J.E., and Corces, V.G. (2009). CTCF: master weaver of the genome. *Cell* 137, 1194–1211. 10.1016/j.cell.2009.06.001.
15. Loukinov, D.I., Pugacheva, E., Vatolin, S., Pack, S.D., Moon, H., Chernukhin, I., Mannan, P., Larsson, E., Kanduri, C., Vostrov, A.A., et al. (2002). BORIS, a novel male germ-line-specific protein associated with epigenetic reprogramming events, shares the same 11-zinc-finger domain with CTCF, the insulator protein involved in reading imprinting marks in the soma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99, 6806–6811. 10.1073/pnas.092123699.
16. Martin-Kleiner, I. (2012). BORIS in human cancers -- a review. *Eur J Cancer* 48, 929–935. 10.1016/j.ejca.2011.09.009.

17. Salgado-Albarrán, M., González-Barrios, R., Guerra-Calderas, L., Alcaraz, N., Estefanía Sánchez-Correa, T., Castro-Hernández, C., Sánchez-Pérez, Y., Aréchaga-Ocampo, E., García-Carrancá, A., Cantú de León, D., et al. (2019). The epigenetic factor BORIS (CTCF) controls the androgen receptor regulatory network in ovarian cancer. *Oncogenesis* 8. 10.1038/s41389-019-0150-2.
18. Sali, A., and Blundell, T.L. (1993). Comparative protein modelling by satisfaction of spatial restraints. *J Mol Biol* 234, 779–815. 10.1006/jmbi.1993.1626.
19. Hashimoto, H., Wang, D., Horton, J.R., Zhang, X., Corces, V.G., and Cheng, X. (2017). Structural Basis for the Versatile and Methylation-Dependent Binding of CTCF to DNA. *Mol Cell* 66, 711-720.e3. 10.1016/j.molcel.2017.05.004.
20. Yin, M., Wang, J., Wang, M., Li, X., Zhang, M., Wu, Q., and Wang, Y. (2017). Molecular mechanism of directional CTCF recognition of a diverse range of genomic sites. *Cell Res* 27, 1365–1377. 10.1038/cr.2017.131.
21. Li, X., Ning, L., Zhang, Q., Ge, Y., Liu, C., Bi, S., Zeng, X., Nong, W., Wu, S., Guo, G., et al. (2020). Expression profile of ACTL8, CTCFL, OIP5 and XAGE3 in glioma and their prognostic significance: a retrospective clinical study. *Am J Transl Res* 12, 7782–7796.