

**Anexo II: Formato para presentación de informes de proyectos de investigación registrados ante Consejo Divisional de la DCNI Informe del proyecto de investigación aprobado por el Consejo Divisional de la DCNI**

Fecha de presentación del informe	Agosto 2025
Sesión de Consejo de aprobación	CUA-DCNI-196-20+prórroga CUA-DCNI-240-22
Clave del proyecto asignada por Consejo Divisional	47301025

1. **Título del proyecto de investigación (PDI):** Análisis histológico y transcriptómico del proceso regenerativo del ajolote *Ambystoma mexicanum*
2. **Año a evaluar:** Informe final 2 de 2 (2024)
3. **Responsable del proyecto:** Dra. Cynthia Gabriela Sámano Salazar- Depto. de Ciencias Naturales (DCN); DCNI, UAM-Cuajimalpa.

**Participantes UAM:** Dr. Ernesto Soto Reyes Solís. Profesor del Departamento de Ciencias Naturales (DCN); DCNI, UAM Cuajimalpa. Dr. José Antonio Ocampo. Jefe de proyecto del Centro de Investigaciones Biológicas y Acuícolas de Cuernavaca (CIBAC), UAM Xochimilco.

**NOTA:** La Dra. Juana Jimena Otero Negrete ya no participa en el PDI.

**Participante externo:** Dr. Rodrigo González Barrios de la Parra. Investigador de la Unidad Biomédica en Cáncer. Instituto Nacional de Cancerología (INCan), México.

4. **Orientación del PDI:** Investigación básica (X)

#### **Resumen de avances del PDI**

El ajolote (*Ambystoma mexicanum*) es una salamandra endémica de la región lacustre de Xochimilco-Tláhuac, en la Ciudad de México y se encuentra en peligro de extinción. Este organismo posee la notable capacidad de regenerar tejidos y gran parte de sus órganos a lo largo de casi toda su vida, aunque esta capacidad disminuye con la edad. Uno de los principales intereses de nuestro grupo de trabajo es realizar un estudio multi-ómico comparativo de los procesos moleculares y epigenéticos involucrados en la regeneración de las extremidades inferiores, analizando ajolotes jóvenes (<1 año) versus ajolotes viejos (>8 años). En particular, durante la primera etapa de este proyecto, nos centramos en la caracterización del transcriptoma mediante secuenciación de ARN en ajolotes de dos edades (8 meses y 8 años), así como en el análisis del blastema generado tras la amputación de la extremidad inferior en ajolotes de 8 meses. A partir de este análisis, identificamos cuatro genes: *FSTL1*, *ADAMTS17*, *GPX7* y *CTHRC1*, con expresión diferencial entre la extremidad amputada y el blastema regenerado. Además, mediante un análisis de ontología génica, establecimos redes de coexpresión que nos han permitido identificar un conjunto de genes asociados con la regeneración. Hasta ahora, generamos un interactoma predicho y realizamos una anotación de ontología génica para el proteoma del ajolote, lo que nos ha

permitido comenzar a evaluar la funcionalidad y presencia de proteínas clave codificadas por los genes *FSTL1*, *ADAMTS17*, *GPX7* y *CTHRC1*. Adicionalmente, describimos que la expresión de estos genes clave en la regeneración es significativamente menor en la extremidad de los organismos de 8 años en comparación con los de 8 meses.

### **Avances del PDI en el período 2023-2024.**

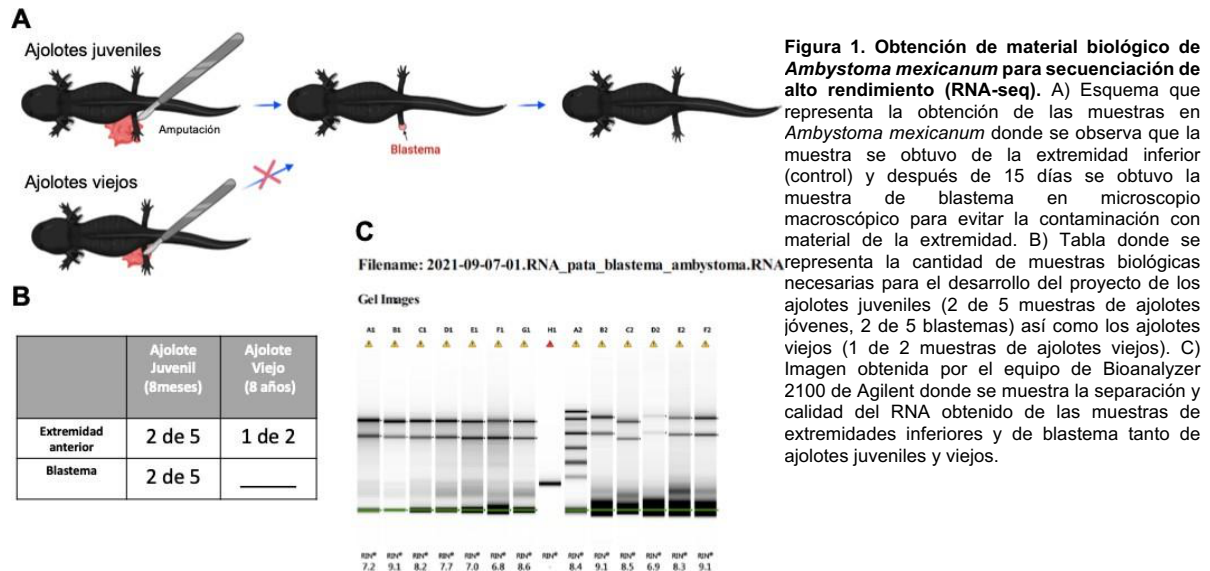
El informe final del PDI se elabora de acuerdo con los resultados obtenidos durante los años 2023 y 2024. Cabe señalar que este trabajo fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación (CEI) de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco (CEI.2023.007). La toma de muestras biológicas se realizó con ajolotes pertenecientes a la colonia de *A. mexicanum* mantenida en la Unidad de Manejo Ambiental (UMA) del Centro de Investigaciones Biológicas y Acuícolas de Cuernavaca (CIBAC) perteneciente a la UAM-Xochimilco, bajo los procedimientos establecidos en el CIBAC (Registro DGVS-CR-IN-0952-DF/07) y conforme a la Ley General de Vida Silvestre.

### **Caracterización mediante secuenciaciones de alto rendimiento de RNA (RNA-seq), después de inducir una amputación de los metacarpos de las extremidades inferiores de *A. mexicanum* de 8 meses y 8 años de edad, respectivamente.**

Con el objetivo de caracterizar el transcriptoma mediante secuenciación de ARN de alto rendimiento (RNA-seq) tras inducir una amputación en los metacarpos de las extremidades inferiores de *A. mexicanum* de 8 meses y 8 años de edad, se tomaron muestras de las extremidades inferiores de ajolotes de ambas edades, así como del blastema generado 10 días después de la amputación (10 dpa). Esta última muestra se obtuvo únicamente de los organismos de 8 meses, ya que los ajolotes de 8 años no generaron blastema.

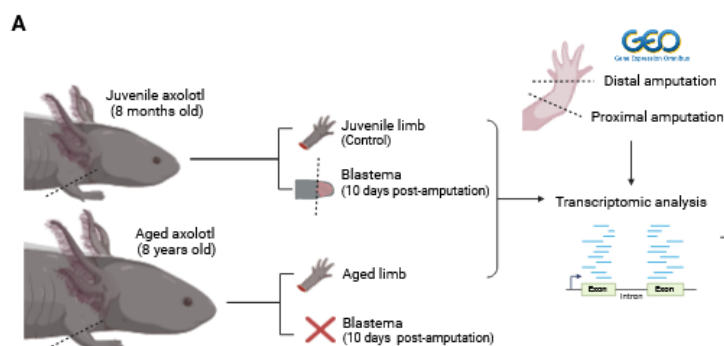
Algunas de las muestras biológicas se preservaron en RNA-later para evaluar la calidad del ARN mediante análisis con TapeStation y Qubit. Este procedimiento se realizó siguiendo un protocolo previamente estandarizado para la extracción de ácidos nucleicos. La toma de muestras incluyó tanto las extremidades inferiores de ajolotes juveniles como los blastemas generados 10 días después de la amputación (dpa) de la extremidad. Además, se obtuvo material biológico de las extremidades de un ajolote de más de ocho años de edad (Figura 1A). Este primer material sirvió para establecer los protocolos adecuados de extracción de ácidos nucleicos en este modelo de estudio, así como para realizar las primeras secuenciaciones de RNA-seq. El diseño experimental completo se detalla en la tabla de la Figura 1B.

A partir de todo el material biológico recolectado, se extrajo ARN utilizando el protocolo de Peña-Llopis y Brugarolas (Peña y Brugarolas, 2013). El número de integración del ARN (RIN), un valor que permite determinar si la muestra cumple con los estándares necesarios para secuenciación de alto rendimiento (RNA-seq), se evaluó con el sistema TapeStation 2200. Las muestras que no alcanzaron un valor mínimo de RIN de 8 fueron reextraídas y reevaluadas (Figura 1C). Con base en los análisis de calidad obtenidos mediante TapeStation y Qubit, el material biológico fue preparado para secuenciación de alto rendimiento (RNA-seq) y enviado a la compañía CD Genomics (<https://www.cd-genomics.com/>).



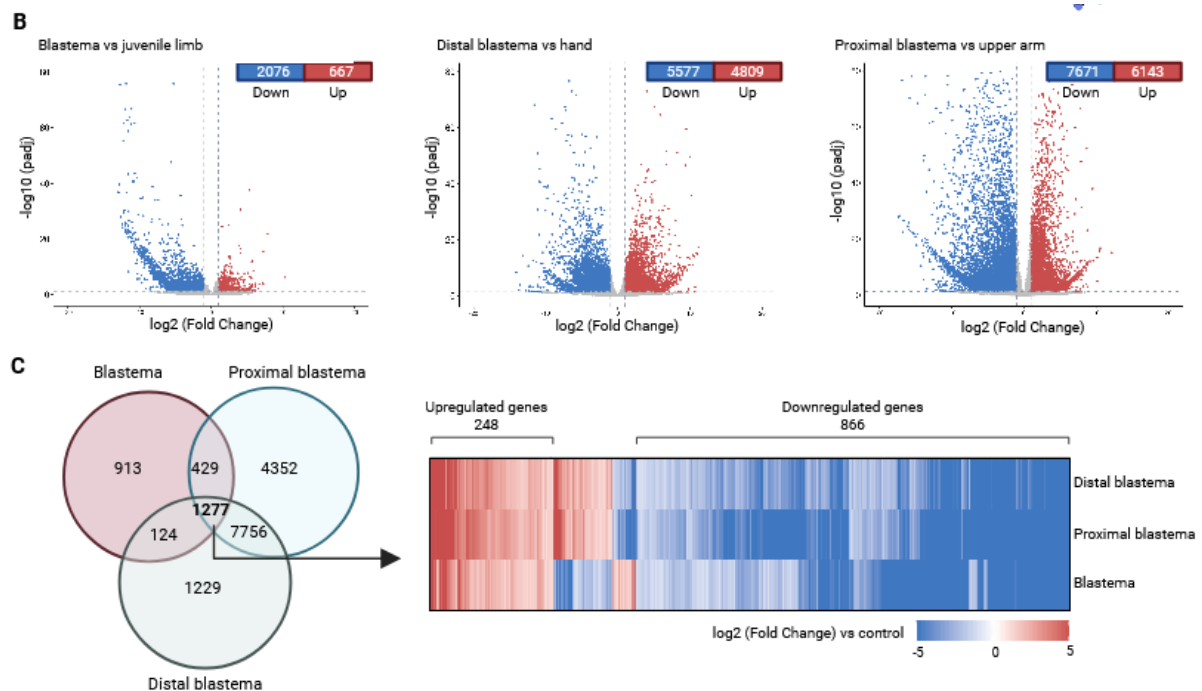
## Análisis bioinformático del grupo de genes diferencialmente expresados, en la extremidad inferior y en el blastema generado tanto en los ajolotes de 8 meses y 8 años, respectivamente.

Para cumplir este objetivo, evaluamos el transcriptoma del blastema formado a los 10 dpa en ajolotes de 8 meses de edad, en comparación con la extremidad de ajolotes de 8 años que no formaron blastema ni regeneraron la extremidad (Figura 2A). En los organismos jóvenes, encontramos 2,673 genes que estaban diferencialmente expresados (DEG) en el blastema a los 10 dpa, en comparación con la extremidad intacta. Al comparar los genes DEG del blastema a los 10 dpa con los DEG identificados en blastemas proximales y distales formados a partir de la amputación de otras regiones de la extremidad, se encontraron 1,251 DEG comunes entre las distintas condiciones (Figura 2B).



**Figura 2. Comparación de los genes diferencialmente expresados (DEG) en las diferentes muestras de blastema.** A) Representación esquemática de la toma de muestras de tejido y análisis posteriores. Se muestrearon 5 extremidades de ajolotes juveniles (control) y 2 extremidades de ajolotes adultos mayores (de más de ocho años). La amputación se realizó por debajo del codo (amputación proximal). Los blastemas de los ajolotes juveniles se recolectaron después de 10 días, mientras que los ajolotes adultos mayores no mostraron blastema en el mismo punto temporal. También se analizaron los conjuntos de datos publicados por Bryant et

al.; las muestras fueron tomadas de ajolotes de la cepa d/d en dos sitios de amputación diferentes: el primero a nivel de la mano (distal) y el segundo por debajo del codo (proximal). Los blastemas del conjunto de datos de Bryant se recolectaron 23 días después de la amputación. Después de la extracción de ARN y secuenciación, se realizaron análisis de expresión diferencial y de redes para encontrar genes relevantes y predecir términos de Ontología de genes (GO) asociados con la regeneración.

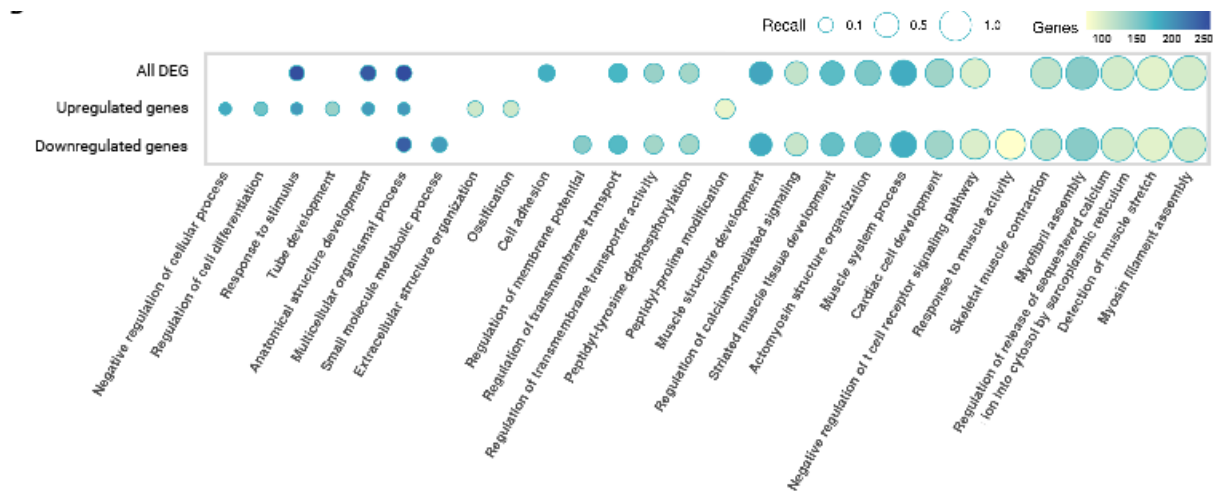


**B) Gráficos de volcán de genes diferencialmente expresados (DEG).** El panel izquierdo muestra la comparación entre el blastema y las extremidades de control (ajolotes juveniles). El panel central muestra el blastema distal comparado con la mano. El panel derecho muestra el blastema proximal comparado con el brazo superior. Los puntos rojos representan genes sobreexpresados (valor  $p < 0.05$  y  $\log_2(\text{Fold Change}) > 1$ ). Los puntos azules representan genes expresados a la baja (valor  $p < 0.05$  y  $\log_2(\text{Fold Change}) > 1$ ). C) Diagrama de Venn de la intersección entre DEG para blastema vs. control, blastema distal vs. mano, y blastema proximal vs. húmero. El panel izquierdo muestra el mapa de calor para los 1,277 genes en la intersección entre los DEG en ajolotes envejecidos y el blastema. El color de los mosaicos representa el valor  $\log_2(\text{Fold Change})$  para cada gen. Los genes con el mismo comportamiento en las muestras están indicados entre paréntesis (1,134 de 1,277 genes).

A partir de los resultados previamente descritos y considerando que la capacidad de regeneración tisular en *A. mexicanum* disminuye con la edad, realizamos una comparación entre los genes diferencialmente expresados (DEG) en el blastema a los 10 días post-amputación (dpa) de ajolotes de 8 meses de edad y los DEG de la extremidad de ajolotes de 8 años. Este análisis comparativo permitió identificar 26 DEG comunes entre ambas condiciones, de los cuales destacan cuatro genes estrechamente asociados con procesos de regeneración: *FSTL1*, *ADAMTS17*, *GPX7* y *CTHRC1*. Estos genes presentaron altos niveles de expresión en el tejido en regeneración, mientras que se encontraron subexpresados en los ajolotes de 8 años.

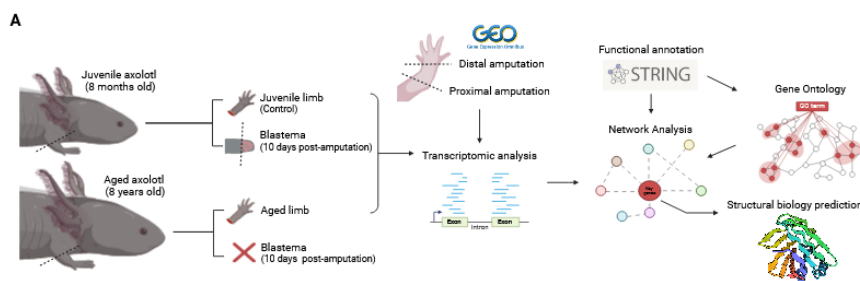
Dado que la capacidad regenerativa disminuye con la edad en *A. mexicanum*, proponemos que estos cuatro genes podrían desempeñar un papel clave en la regulación del proceso de regeneración de extremidades en esta especie. Posteriormente, con el objetivo de evaluar la posible función de los DEG y determinar sus redes de interacción, se realizó un análisis de ontología génica (GO). Para ello, se construyó una red basada en los términos de GO, utilizando diez términos más representativos de la figura 3, con el fin de proporcionar una visualización más completa de los genes involucrados en el proceso de regeneración. La mayoría de los genes se agruparon en el término relacionado con el desarrollo de estructuras anatómicas y una proporción significativa de estos mostró una regulación a la baja en el blastema en comparación con el tejido control. Por otro lado, se observó una sobreexpresión de genes asociados con la vía Wnt, como *WNT5A* y *WNT5B*, así como de varias metaloproteinasas, incluyendo *ADAMTS17*, *ADAM8*, *MMP19*, *MMP11* y *MMP13*, las cuales

también se vinculan con el término "organización de estructuras extracelulares" (Figura 3).



**Figura 3. Los 20 principales procesos biológicos de la ontología de genes (Gene Ontology; GO).** Se muestra la relación de todos los DEG anteriormente vistos en la intersección del diagrama de Venn (1,134 genes), los genes expresados a la baja (886 genes) o los genes sobreexpresados (248 genes). El tamaño de la barra corresponde al número de genes asociados con el término GO significativo. El color de las barras representa el log10 (valor p) del término.

Con el objetivo de predecir la estructura tridimensional y los dominios conservados de proteínas con potencial función en la regeneración tisular de *A. mexicanum*, realizamos un análisis detallado basado en los cuatro genes identificados como posibles reguladores del proceso regenerativo: *FSTL1*, *ADAMTS17*, *GPX7* y *CTHRC1*. Estos genes mostraron una mayor expresión en el tejido en regeneración de los organismos de 8 meses, en comparación con los ajolotes de 8 años de edad. El análisis incluyó la predicción estructural y un estudio de homología, lo que permitió identificar dominios conservados y evaluar su posible función biológica. Los resultados indicaron que estas proteínas están altamente conservadas entre vertebrados, lo que sugiere que podrían desempeñar funciones clave en procesos de desarrollo y regeneración tisular (Figura 4).



**Figura 4. Representación esquemática de la toma de muestras de tejido y los análisis posteriores.** La descripción de la toma de las muestras se detalla en la Figura 2. Después de la extracción de ARN y la secuenciación, se realizaron análisis de expresión diferencial y de redes para encontrar genes relevantes y predecir términos de

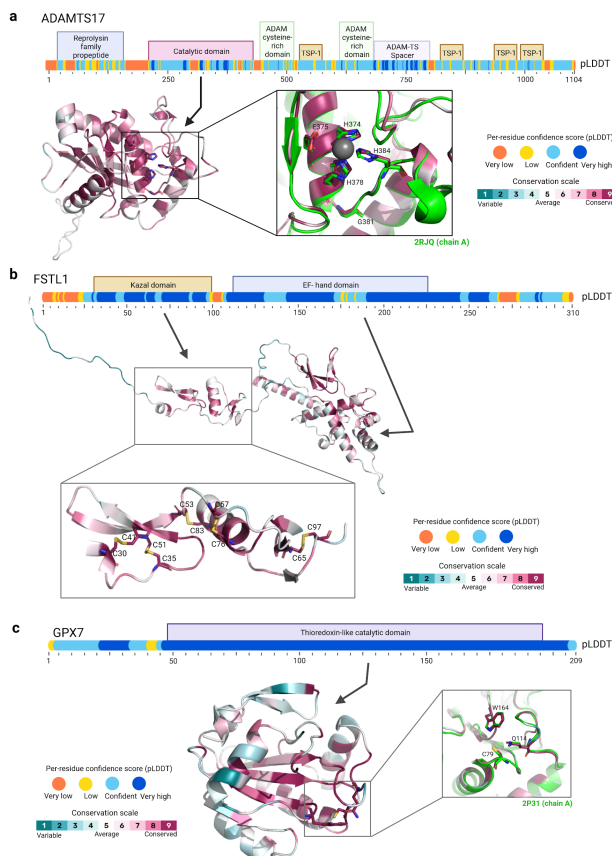
Ontología de Genes (GO) asociados con la regeneración. Realizamos un análisis transcriptómico e identificamos el grupo de genes relevantes para la regeneración en *A. mexicanum*. La funcionalidad y presencia de las proteínas codificadas por estos genes en otros organismos lo evaluamos a través de la búsqueda de homología contra la base de datos UniProtKB + Swiss-Prot 44, utilizando una selección de animales basada en la revisión exhaustiva de organismos modelo de S. Hedges 45. Predicción tridimensional de las proteínas ADAMTS17, FSTL1 y GPX7.

A partir del análisis realizado, encontramos que la proteína ADAMTS17 de *A. mexicanum* presenta varios dominios conservados, incluyendo un dominio catalítico característico de la familia de metaloproteasas ADAMTS, con el motivo de consenso de unión al zinc HExxHxxGxxH, correspondiente al sitio catalítico 51, típico de esta familia [52–54]. Además, contiene un propéptido de la familia reprotisina, dos regiones ricas en cisteína y varios motivos TSP-1. La comparación con la estructura cristalográfica de la proteína ADAMTS5 humana [55], perteneciente a la misma familia, mostró que los residuos catalíticos están presentes en

ADAMTS17 del ajolote y que la secuencia circundante está conservada, lo que sugiere que esta proteína podría ser catalíticamente activa (Figura 5A).

En el caso de FSTL1, se identificaron dos dominios principales, uno relacionado con un inhibidor de proteasa tipo Kazaly otro correspondiente a un dominio EF-hand. El análisis de conservación realizado con el programa ConSurf reveló que FSTL1 de *A. mexicanum* está altamente conservado. Es particularmente notable la presencia de un conjunto de enlaces disulfuro con alta conservación, junto con el dominio Kazal, que en conjunto constituyen el dominio folistatina-like 1 (Fstl1-FK) (Figura 5B).

En cuanto a GPX7, se observó que contiene un único dominio tipo tioredoxina. No obstante, los análisis estructurales indicaron que tanto el sitio catalítico como los residuos clave de la proteína están conservados en *A. mexicanum*. La comparación entre el sitio catalítico de GPX7 de *Homo sapiens* y la estructura predicha de GPX7 en ajolote mostró la presencia de los residuos W164, C79 y Q114, esenciales para su actividad enzimática (Figura 5C).



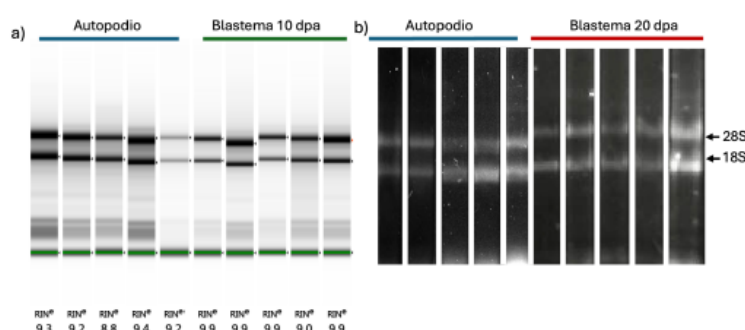


*mexicanum*", se detalla a continuación.

### Validación de los genes propuestos y obtenidos en la primera parte del proyecto. Extracción de ARN y diseño de oligonucleótidos sintéticos para PCR cuantitativa (qPCR).

Para iniciar la validación de los genes propuestos en la primera parte del proyecto, se extrajo ARN a partir de muestras de tejido obtenidas tanto de organismos de 8 meses como de 8 años de edad, utilizando el reactivo Trizol. Posteriormente, se evaluó la calidad del ARN mediante la medición del número de integridad del ARN (RNA Integrity Number, RIN) utilizando el sistema Agilent Bioanalyzer (Agilent Technologies) (Figura 6). Este sistema emplea electroforesis para determinar la proporción de ARN ribosómico 18S y 28S presente en cada muestra, a medida que el ARN se degrada, disminuye la abundancia relativa de estos ribosomas y en consecuencia, el valor de RIN.

Los valores de RIN cercanos a 1 indican un alto grado de degradación del ARN, mientras que valores entre 8 y 10 reflejan una integridad adecuada para aplicaciones sensibles. El ARN obtenido de los tejidos de la extremidad y del blastema a los 10 y 20 dpa mostró una calidad satisfactoria, adecuada para su posterior uso en análisis transcriptómicos.



**Figura 6. Geles de electroforesis para la evaluación de la calidad de ARN.** a) Gel de electroforesis obtenido mediante Agilent Bioanalyzer System de las muestras de la extremidad y de blastema de 10 dpa, con los respectivos valores de RIN según la proporción del ARN ribosomal 18S/28S. b) Gel de electroforesis de las muestras de la extremidad y del blastema de 20 dpa donde se observan las bandas correspondientes al ARN ribosomal 28S y 18S.

A partir de 200 ng de ARN, se generó ADN complementario (ADNc) mediante una reacción de retrotranscripción con oligos aleatorios, siguiendo el protocolo del kit GeneAmp® RNA PCR Core. El ADNc obtenido se utilizó para evaluar la expresión de los genes *FSTL1*, *ADAMTS17*, *GPX7* y *CTHRC1* en muestras de las extremidades de *A. mexicanum* de 8 meses y 8 años, así como en blastemas recolectados a los 10 y 20 dpa, mediante RT-qPCR cuantitativa. Para los ensayos de qPCR, se diseñaron oligonucleótidos sintéticos específicos para cada gen de interés, utilizando la herramienta Primer3 (<https://primer3.ut.ee/>). El diseño fue a partir de las secuencias codificantes de los genes obtenidos del portal [www.genome.axolotl-omics.org](http://www.genome.axolotl-omics.org). En su diseño se consideraron los siguientes parámetros, longitud mínima de 18 pb y máxima de 20 pb, complementariedad con la región 3' del CDS, inicio de la secuencia con una base rica en GC, tamaño del amplicón (<170 pb) y especificidad para el gen de interés. La especificidad de los oligonucleótidos fue confirmada mediante alineamientos globales contra las CDS respectivas utilizando la herramienta BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), con el fin de garantizar la ausencia de amplificaciones inespecíficas. Los oligonucleótidos seleccionados para cada gen, junto con sus características, se detallan en la Tabla 1. Estos parámetros garantizaron la fiabilidad de los ensayos de qPCR para una cuantificación precisa de la expresión génica en las diferentes condiciones experimentales.

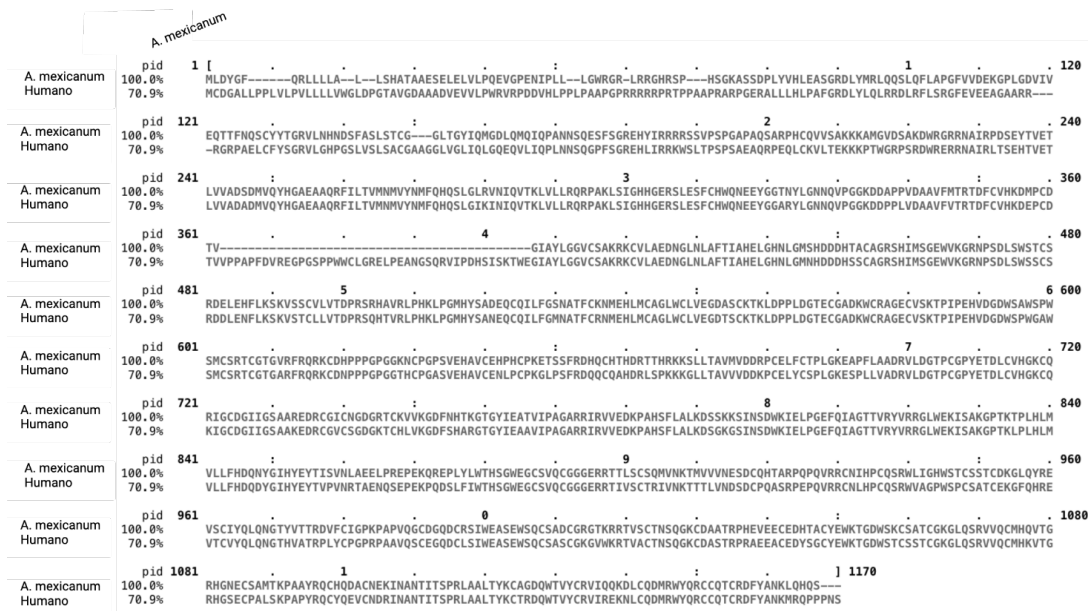
**Tabla 1. Oligonucleótidos sintéticos empleados para los ensayos de RT-qPCR**

Gen	Oligonucleótidos	Secuencia (5' → 3')	Tm (°C)	Amplificación esperado (pb)	ID del gen
<i>Adams17.1</i>	Forward	CTGCTCTGACCTACAAGTGC	60	130	AMEX60DD2010035 17.1
	Reverse	TTGGCATAAAAGTCTCGGCA			
<i>Fstl1</i>	Forward	ACGAGACAGCCATCAACAT C	60	117	AMEX60DD2010469 43.1
	Reverse	TCAGCTTCCAGTCTGCATT C			
<i>Gpx7</i>	Forward	CCTTCCCCATGTTACAGAA A	60	140	AMEX60DD3010196 07.1
	Reverse	GTTCTCCACCTTTCCATCGG			
<i>Cthrc1.1</i>	Forward	GCCTCGAGTTCAATTCCAC T	60	90	AMEX60DD3010402 53.1
	Reverse	CCACGTCCACTAAACCAGA G			
<i>Gapdh</i>	Forward	GCTGCCTCCTATGACGAAAT	60	84	AMEX60DD2010268 59.1
	Reverse	TTCTCGGTGTATCCAGAA			

### Obtención de los cortes de las muestras de *A. mexicanum* conservadas en formaldehído.

La abundancia de la proteína ADAMTS17.1 se evaluó en el blastema y la extremidad de *A. mexicanum* de 8 años, tras seleccionar y estandarizar el anticuerpo anti-ADAMTS17.1 mediante Western blot e inmunohistoquímica en diferentes tejidos y líneas celulares. El anticuerpo elegido (anti-ADAMTS17 Q12, Santa Cruz, sc-100480) mostró un 70% de identidad con la proteína de *A. mexicanum*, determinada mediante alineamientos globales con Blastp (Figura 7).

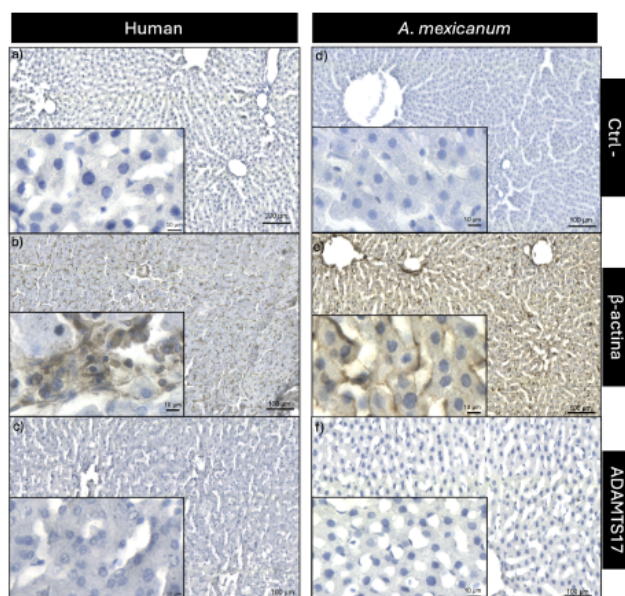




**Figura 7.** Imagen obtenida que muestra el alineamiento del inmunógeno del anticuerpo anti-ADAMTS17 Q12 con la proteína de ADAMTS17.1 de *A. mexicanum*. Del lado izquierdo se indica el porcentaje de identidad (pid) entre la secuencia de residuos de aminoácidos de *A. mexicanum* y del inmunógeno.

## Inmunohistoquímica para detectar la abundancia de la proteína ADAMTS-17

La estandarización del anticuerpo anti-ADAMTS17 mediante inmunohistoquímica se realizó en el Instituto Nacional de Cancerología (INCAN) bajo la supervisión del Dr. Carlo César Cortés González. Este método empleó tejido hepático de *A. mexicanum* y *H. sapiens*, seleccionado por su alta expresión del gen *ADAMTS-17* según Protein Atlas. Los tejidos, embebidos en parafina, se cortaron en secciones de 5 µm y se procesaron en el equipo automatizado BenchMark GX (Roche). El procedimiento incluyó LA desparafinación, recuperación antigénica, inhibición de peroxidasas, incubación con anticuerpos primarios (anti-Adamts17.1 y β-actina), secundarios y revelado con EL cromógeno diaminobencidina (DAB). Finalmente, los núcleos se tiñeron con hematoxilina y se estabilizó el color con carbonato de litio. Las muestras fueron analizadas con el microscopio AxioScan Z1 (ZEISS) del INCAN (Figura 8).



**Figura 8. Micrografías de inmunohistoquímica para la evaluación de la presencia de la proteína ADAMTS17 en el tejido de hígado de humano y de *A. mexicanum*. a) y d) Control negativo, donde el anticuerpo primario no se incluyó. b) y e) Enriquecimiento de  $\beta$ -actina. c) y f) Enriquecimiento de Adamts17.**

#### **Evaluación de la expresión de los genes *ADAMTS 17.1*, *FSTL1*, *GPX7* y *CTHRC 1.I* en blastemas formados a los 10 y 20 dpa durante la regeneración de la extremidad de *A. mexicanum* de 8 meses de edad.**

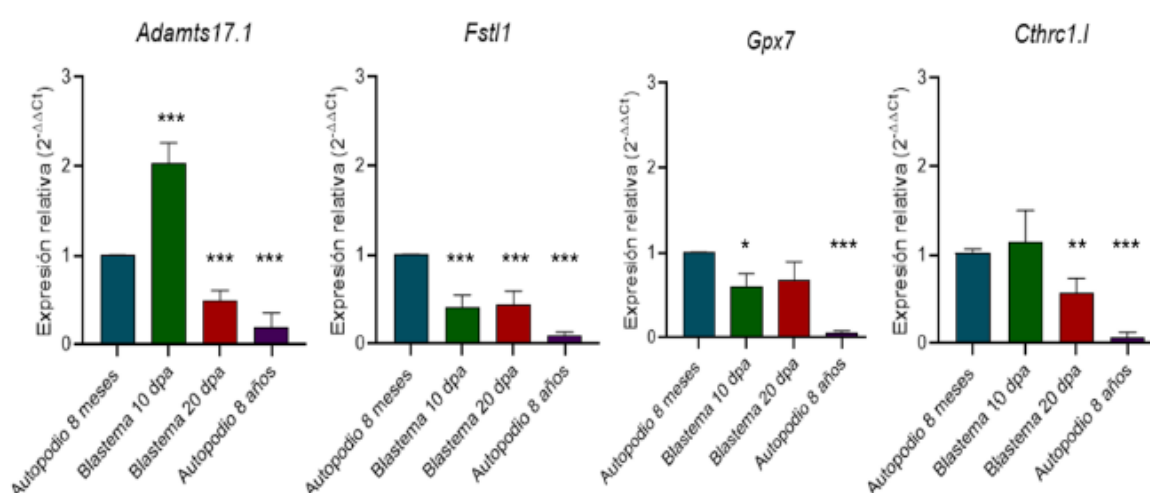
Para analizar los cambios en la expresión de los genes *ADAMTS17.1*, *FSTL1*, *GPX7* y *CTHRC1.I* durante la regeneración, nos centramos en el periodo de 9 a 24 dpa, cuando el blastema presenta la mayor cantidad de cambios transcripcionales. La evaluación de la expresión de estos genes se realizó en blastemas a los 10 y 20 dpa en las extremidades de organismos de 8 meses de edad, mediante RT-qPCR, utilizando como referencia la extremidad intacta, que representó la condición basal sin cambios esperados en la expresión génica. A los 10 dpa, la expresión de *ADAMTS17.1* fue significativamente mayor, mientras que *FSTL1* y *GPX7* mostraron una expresión significativamente menor, sin cambios significativos en *CTHRC1.I*. A los 20 dpa, *ADAMTS17.1*, *FSTL1*, *GPX7* y *CTHRC1.I* presentaron una expresión significativamente menor, aunque *GPX7* mostró una tendencia a la baja que no fue estadísticamente significativa (Figura 9).

#### **Evaluación de la expresión de los genes *ADAMTS17.1*, *FSTL1*, *GPX7* y *CTHRC1.I* en la extremidad de *A. mexicanum* de 8 meses y 8 años de edad**

Por otro lado, el análisis de la expresión basal de *ADAMTS17.1*, *FSTL1*, *GPX7* y *CTHRC1.I* en las extremidades de organismos de 8 meses frente a 8 años mostró que, mientras en los organismos jóvenes no se observaron cambios, la expresión de estos genes fue significativamente menor en los organismos de 8 años (Figura 9). Además, observamos que la expresión de *FSTL1*, *GPX7* y *CTHRC1.I* fue significativamente menor en la extremidad de los ajolotes de 8 años en comparación con el blastema a los 10 y 20 dpa de los organismos jóvenes. La expresión de *ADAMTS17.1* también fue menor en la extremidad de los ajolotes envejecidos en comparación con el blastema a los 20 dpa (Figura 9).

## Evaluación de la expresión de los genes *ADAMTS17.1*, *FSTL1*, *GPX7* y *CTHRC1.1* en la extremidad de *A. mexicanum* de 8 meses y 8 años de edad

Por otro lado, el análisis de la expresión basal de *ADAMTS17.1*, *FSTL1*, *GPX7* y *CTHRC1.1* en la extremidad de organismos de 8 meses versus 8 años mostró que, mientras que en los organismos de 8 meses no hay cambios, la expresión de estos genes es significativamente menor en los de 8 años (Figura 9). Además, observamos que la expresión de *FSTL1*, *GPX7* y *CTHRC1.1* es significativamente menor en la extremidad de los organismos de 8 años en comparación con el blastema a los 10 y 20 dpa de los organismos de 8 meses, mientras que la expresión de *ADAMTS17.1* también es menor en la extremidad de los organismos de 8 años en comparación con el blastema a los 20 dpa (Figura 9).



**Figura 9.** Gráficas que muestran la expresión relativa de los genes *ADAMTS17.1*, *FSTL1*, *GPX7* y *CTHRC1.1* en la extremidad de los organismos de 8 meses de edad en comparación con los de 8 años. La expresión de cada gen en la extremidad de los organismos de 8 años se muestra en relación con su expresión en la extremidad de los organismos de 8 meses. Para los organismos de 8 meses se presentan cinco réplicas biológicas, mientras que para los de 8 años se muestran dos réplicas biológicas, en ambos casos cada réplica biológica se compone del promedio de tres réplicas técnicas. Se muestra el error estándar de la media. Prueba T: \*p < 0.033, \*\*p < 0.002, \*\*\*p < 0.001.

Cabe mencionar que el cumplimiento de los objetivos planteados en este PDI dio como resultado una publicación original: Del Moral-Morales Aylin<sup>+</sup>, Sámano, Cynthia<sup>+</sup>, Ocampo-Cervantes, José Antonio, Topf Maya, Baumbach Jan, Hernández Jossephlyn, Torres-Arciga Karla, González-Barrios Rodrigo, Soto-Reyes Ernesto. Key Proteins for Regeneration in *A. mexicanum*: Transcriptomic Insights From Aged and Juvenile Limbs. *Scientifica*, 2024, 5460694, 23 pages, 2024. <https://doi.org/10.1155/2024/5460694>. Aceptado 10 de octubre. Publicado 14 de noviembre. Sámano, Cynthia comparte la primera autoría y la correspondencia.

## Conclusiones de los avances del PDI

En general, durante el desarrollo de las dos etapas del PDI hemos avanzado satisfactoriamente en el cumplimiento de los objetivos planteados. Dada la trascendencia de los resultados, logramos incluso publicar los resultados en la revista internacional arbitrada e indexada *Scientifica*, concretando algunos de los productos planeados para etapas sucesivas.

Avanzamos en la caracterización del transcriptoma mediante secuenciación de RNA en dos diferentes edades de ajolotes (8 meses y 8 años) y en el blastema. Identificamos cuatro genes, *FSTL1*, *ADAMTS17*, *GPX7* y *CTHRC1*, los cuales denominamos y consideramos clave en la regeneración de *A. mexicanum*, ya que muestran una expresión diferencial entre la extremidad y el blastema generado tras la amputación. Además, mediante un análisis de ontología de genes, establecimos redes de co-expresión, lo que nos permitió identificar el conjunto de genes asociados a la regeneración. Generamos un interactoma predicho y realizamos una anotación de ontología génica para el proteoma del ajolote, lo que nos permitió comenzar a evaluar la funcionalidad y presencia de proteínas clave codificadas por los genes *FSTL1*, *ADAMTS17*, *GPX7* y *CTHRC1*. Asimismo, describimos que la expresión de estos genes, es significativamente menor en la extremidad de los organismos de 8 años en comparación con los de 8 meses, mientras que su expresión es mayor en el blastema de los organismos jóvenes a los 10 y 20 dpa. Por lo tanto, consideramos que por el momento, no se presentarán complicaciones mayores para alcanzar otros objetivos relacionados con las características epigenéticas asociadas al proceso de regeneración, el cual constituirá una nueva propuesta para PDI.

#### Grado de avance (GA) en la primera etapa del PDI

Objetivos planteados en las etapas 1 y 2 del PDI	GA (%)	Productos etapa 2	GA (%)
<b>Objetivo general:</b> Caracterización molecular y bioinformática de los procesos regenerativos en el <i>Ambystoma mexicanum</i> endémico de Xochimilco.			
<b>Objetivos particulares:</b>	100%	1 servicio social	100
1. Evaluación a nivel histológico de los cambios tisulares que ocurren en la fase temprana de la regeneración, después de inducir un corte en la cola de los ajolotes adultos de <i>A. mexicanum</i>		1 proyecto terminal	100
		1 proyecto de maestría	100
		1 artículo original JCR	100
		1 artículo de divulgación	100
		1 congreso nacional	100
		1 simposio local	100
2. Secuenciaciones de RNA de alto rendimiento (RNA-seq), analizar el transcriptoma asociados a la regeneración tisular, después de inducir un corte en la cola y las manos de <i>A. mexicanum</i> en distintas edades.	100%	1 servicio social	100
		1 proyecto de maestría	100
		1 congreso nacional	100
		1 artículo original JCR	100

#### Compromisos adquiridos en la etapa 2 del PDI

##### Formación de recursos humanos

##### Maestría en el Posgrado de Ciencias Naturales e Ingeniería (PCNI) de la UAM, Cuajimalpa.

1. MAESTRÍA CONCLUIDA. Jossephlyn Hernández Alcántara. “Evaluación transcripcional de *Adamts17* en el proceso de regeneración tisular de *Ambystoma mexicanum*”. Co-dirección. **Dra. Cynthia Gabriela Sámano Salazar**, Dr. Ernesto Soto Reyes Solís. Maestría en el Posgrado de Ciencias Naturales e Ingeniería (PCNI), UAM-Cuajimalpa. Actualmente está en la escritura y revisión de la ICR. Fecha de la ICR: 12 de mayo del 2025.

2. Ingreso de 2 Biólogas Moleculares en el trimestre 24-O: Andrea Paola Olvera Sotres y Silvia

Montserrat Martínez Hernández.

### **Estudiante de la Licenciatura en Biología Molecular de la UAM, Cuajimalpa.**

1.REALIZADO. Violeta Guadalupe Silva Díaz. Caracterización epigenética de la región promotora del gen ADAMTS17 durante el proceso de regeneración en *Ambystoma mexicanum*. Proyecto terminal I, II y III. Asesores: **Dra. Cynthia Gabriela Sámano Salazar**, Dr. Ernesto Soto Reyes Solís, M. en C. Aylín del Moral Morales. Licenciatura en Biología Molecular (LBM). Laboratorio de Biología Celular, Depto. de Ciencias Naturales. UAM-Cuajimalpa.

2.REALIZADO. Violeta Guadalupe Silva Díaz. Apoyo al estudio del proceso regenerativo del *Ambystoma mexicanum* desde una perspectiva histológica genómica. Servicio Social Licenciatura en Biología Molecular (LBM). Asesora: **Dra. Cynthia Gabriela Sámano**. Laboratorio de Biología Celular, Depto. de Ciencias Naturales. UAM-Cuajimalpa.

### **Donativos**

#### **Interno:**

Apoyo de la Rectoría de la Unidad Cuajimalpa a Proyectos Divisionales. Convocatoria para apoyar proyectos de investigación aprobados por los consejos divisionales CCD, CNI y CSH de la unidad Cuajimalpa, 2022. (RC.153.22). Monto aprobado \$75,000 M.N.

#### **Externo:**

Convocatoria Ciencia de Frontera 2023, Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT). Estudio multi-ómico del proceso de regeneración tisular en *Ambystoma Mexicanum*. Número de proyecto: CF-2023-G398. Monto aprobado \$1,749,000.00 M.N.

### **Publicaciones**

1. Del Moral-Morales, Aylín<sup>+</sup>, **Sámano, Cynthia<sup>+</sup>**, Ocampo-Cervantes, José Antonio, Topf, Maya, Baumbach, Jan, Hernández, Jossephlyn, Torres-Arciga, Karla, González-Barrios, Rodrigo, Soto-Reyes, Ernesto, Key Proteins for Regeneration in *A. mexicanum*, *Scientifica*, 2024, 5460694, 23 pages, 2024. <https://doi.org/10.1155/2024/5460694>. Aceptado 10 de octubre. Publicado 14 de noviembre. Participación: <sup>+</sup>Primera autoría compartida y participación como autora corresponsal.

2. Artículo de Divulgación y Difusión. “Maravillas Naturales: El Ajolote Mexicano y su Sorprendente Capacidad de Regeneración.” **Dra. Cynthia Gabriela Sámano Salazar**. FORO UNIVERSITARIO. Publicación trimestral del STUNAM. Número 5, Sexta época. Pág 55. Julio 2024. Dirigido al público en general.

### **Congresos y simposios**

En esta primera etapa el compromiso fue presentar los avances del proyecto en un congreso a nivel nacional. Sin embargo, tuvimos la oportunidad de presentarlos en dos diferentes foros académicos especializados.

### **Simposio de la Licenciatura en Biología Molecular, UAM-Cuajimalpa**

1. Presentación del póster titulado: “Caracterización epigenética de la región promotora del gen ADAMTS17 durante la regeneración tisular en *Ambystoma mexicanum*”. Autores: Violeta

Guadalupe Silva Díaz, Aylín del Moral Morales, Ernesto Soto Reyes Solís, **Cynthia G. Sámano Salazar**. 8º Simposio de la Licenciatura en Biología molecular, DCN-DCNI, UAM-Cuajimalpa. 28 de agosto del 2024.

2. Presentación del póster titulado: “Estudios transcriptómicos de la regeneración tisular en *Ambystoma mexicanum*”. Autores: Aylín del Moral Morales, **Cynthia G. Sámano Salazar**, José A. Ocampo Cervantes, Maya Topf, Jan Baumbach, Rodrigo González Barrios y Ernesto Soto Reyes. Ernesto Soto Reyes Solís, 8º Simposio de la Licenciatura en Biología molecular, DCN-DCNI, UAM-Cuajimalpa. 28 de agosto del 2024.

### Congreso Nacional

1. Presentación del póster titulado: “Transcriptional evaluation of key genes involved in the tissue regeneration process in *Ambystoma mexicanum*”. Autores: **Cynthia G. Sámano Salazar**, Jossephlyn Hernández Alcántara, Aylín del Moral Morales, José Antonio Ocampo Cervantes, Ernesto Soto Reyes Solís. En el XXXIV Congreso Nacional de Bioquímica, SMB. 20-25 de octubre, 2024. Ciudad de Mazatlán, Sinaloa. México.

2. Presentación del póster titulado: “Key proteins for regeneration in *A. Mexicanum*: Transcriptomic insights from aged and juvenile limbs”. Autores: Aylín del Moral Morales, **Cynthia G. Sámano Salazar**, José Antonio Ocampo Cervantes, Maya Topf, Jan Baumbach, Rodrigo González-Barrios, Ernesto Soto-Reyes. En el XXXIV Congreso Nacional de Bioquímica, SMB. 20-25 de octubre, 2024. Ciudad de Mazatlán, Sinaloa. México.

3. Presentación del póster titulado: “Epigenetic characterization of ADAMTS17 gene promoter during tissue regeneration in *Ambystoma mexicanum*” Autores: Violeta Guadalupe Silva Díaz, Aylín del Moral Morales, José Antonio Ocampo Cervantes, **Cynthia G. Sámano Salazar**, Ernesto Soto Reyes Solís. En el XXXIV Congreso Nacional de Bioquímica, SMB. 20-25 de octubre, 2024. Ciudad de Mazatlán, Sinaloa. México.

### Tabla comparativa entre lo establecido en el calendario de actividades y lo alcanzado hasta la entrega del informe anual

Producto entregable	Planeado para el periodo de evaluación	Reportado en el periodo
<b>Formación de recursos humanos nivel licenciatura</b>		
Servicios Sociales	1	1
Proyectos terminales	1	1
<b>Formación de recursos humanos posgrado</b>		
Especialización Maestría	1	1
Doctorado	-	-
<b>Publicaciones</b>		
Artículos (JCR y divulgación)	2	2
<b>Difusión o Divulgación</b>		
Congresos	1	1
Conferencias	1	1
<b>Otros: Especificar y proveer detalle del producto</b>		
Adicionalmente durante el segundo año de renovación (2024) se incorporaron 2 alumnas de la Maestría del PCNI.		



En caso de informe final considerar todos los productos comprometidos en la duración total del proyecto.

1. **Justificación en caso de existir desviaciones en el proyecto. Ninguno**
2. **Atención a observaciones al informe anual previo por parte del Consejo Divisional (cuando aplique).**

*Dentro de los compromisos estipulados en la solicitud de prórroga de este proyecto se mencionó:*

- 1) *Obtención del grado de maestría de la estudiante Jossephlyn Hernández Alcántara.*
- 2) *Inicio de la colaboración de Redes Interinstitucionales con distintas unidades de la UAM.*
- 3) *Búsqueda de donativos provenientes de patrocinadores externos (CONAHCyT).*

*Pero no se incluye mención al respecto en el informe, adicionalmente se hace la solicitud de especificar el grado de avance total del proyecto y especificar fuentes de financiamiento. Por último, se pide considerar que el proyecto concluye en 2024, para tomar las medidas para el cierre del proyecto, a través de la entrega oportuna del informe final o la renovación de acuerdo con los lineamientos divisionales vigentes.*

Para dar respuesta a cada uno de los compromisos previamente mencionados se desglosa la siguiente información.

#### **Maestría en el Posgrado de Ciencias Naturales e Ingeniería (PCNI) de la UAM, Cuajimalpa.**

- **MAESTRÍA CONCLUIDA.** Jossephlyn Hernández Alcántara. “Evaluación transcripcional de *Adams17* en el proceso de regeneración tisular de *Ambystoma mexicanum*”. Co-dirección. **Dra. Cynthia Gabriela Sámano Salazar**, Dr. Ernesto Soto Reyes Solís. Maestría en el Posgrado de Ciencias Naturales e Ingeniería (PCNI), UAM-Cuajimalpa. Fecha de presentación de la ICR: 12 de mayo del 2025.

#### **Donativos**

##### **Interno:**

- Apoyo de la Rectoría de la Unidad Cuajimalpa a Proyectos Divisionales. Convocatoria para apoyar proyectos de investigación aprobados por los consejos divisionales CCD, CNI y CSH de la unidad Cuajimalpa, 2022. (RC.153.22). Monto aprobado \$75,000 M.N.

##### **Externo:**

- Convocatoria Ciencia de Frontera 2023, Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT). Estudio multi-ómico del proceso de regeneración tisular en *Ambystoma Mexicanum*. Número de proyecto: CF-2023-G398. Monto aprobado \$1,749,000.00 M.N.

#### **Colaboraciones con Redes Interinstitucionales**

Como resultado de la convocatoria emitida mediante el acuerdo 11/2022 del Rector General referente al Programa de Conformación y Consolidación de Redes de Investigación, se conformó la Red de Investigación denominada “Red de Investigación en Biotecnología y Bioingeniería” (Red B&B), de la cual formo parte desde inicios del 2023.