

Título del Trabajo:

Análisis del papel de ABCG2 en la activación de células de riñón por cristales de urato monosódico (MSU) mediante la transfección de un sgRNA específico mediante la técnica de CRISPR-Cas9

Título del Trabajo en Inglés:

Analysis of the role of ABCG2 in the activation of kidney cells by monosodium urate (MSU) crystals by transfection of a specific sgRNA using the CRISPR-Cas9 technique

Nombre: ROSY YUNUEN

Apellidos: VELAZQUEZ JIMENEZ

ORCID:

País de Residencia: MEXICO

Área de Investigación: BÁSICA

Institución a la que Pertenece: UNAM

Área de Adscripción: QFB

Correo Electrónico: yunirovelji@gmail.com

Datos de los(as) coautores(as) del Trabajo

Rosy Yunuen Velázquez Jiménez, Karina Martinez Flores, Yessica Eduvigés Zamudio Cuevas, Javier Fernandez Torres, Jesus Fabian Cervantes Meneses, Ambar Lopez Macay, Roberto Sanchez Sanchez

QFB, UNAM, MEXICO, yunirovelji@gmail.com,

Laboratorio de liquido sinovial, INR, MEXICO, karinabiologist@hotmail.com,

Laboratorio de liquido sinovial, INR, MEXICO, yesszamudio@gmail.com,

Laboratorio de liquido sinovial, INR, MEXICO, javiesastrofan1971@gmail.com,

Laboratorio de liquido sinovial, INR, MEXICO, jesus cervantesp9@gmail.com,

Laboratorio de liquido sinovial, INR, MEXICO, lopez_macay@hotmail.com,

Ingenieria de tejidos , INR, MEXICO, sanchez2.roberto@gmail.com,

Palabras en Español:

Hiperuricemia, ABCG2, HEK293T, Gota

Palabras en Inglés:

Hyperuricemia, ABCG2, HEK293T, Gout

Titulo del Trabajo:

Análisis del papel de ABCG2 en la activación de células de riñón por cristales de urato monosódico (MSU) mediante la transfección de un sgRNA específico mediante la técnica de CRISPR-Cas9

Titulo del Trabajo en Inglés:

Analysis of the role of ABCG2 in the activation of kidney cells by monosodium urate (MSU) crystals by transfection of a specific sgRNA using the CRISPR-Cas9 technique

Área de Investigación:

BÁSICA

Introducción:

ABCG2 es una glicoproteína que contiene 655 aminoácidos y un peso molecular aproximado de 70 kDa. El gen que lo codifica está presente en el cromosoma 4q22.11,2. El reconocimiento y transporte de fármacos de esta proteína la ha convertido en un actor importante en los procesos de eliminación de fármacos. La función de ABCG2 como transportador de urato se dedujo a partir de análisis de asociación de todo el genoma y estudios funcionales posteriores, que demostraron específicamente su importancia para la eliminación del ácido úrico en diferentes tejidos. Estudios posteriores han mostrado asociación de polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) de ABCG2 con hiperuricemia y gota, especialmente

Objetivo:

Desarrollar y analizar una secuencia específica de sgRNA para silenciar la expresión génica de ABCG2 en HEK293T

Metodología:

Se utilizó la plataforma Horizon Discovery y su herramienta CRISPR Design Tool para obtener la secuencia sgRNA del gen ABCG2. Se realizó la transfección sembrando en placas de 96 pozos hasta llegar a un 80% de confluencia y posteriormente se reemplazó el medio de cultivo por medio de transfección que contenía el sistema CRISPR-Cas9 con la secuencia específica y DharmaFECT como vehículo de transfección. Una vez realizada la transfección se evaluó la eficacia de esta evaluando la expresión génica por qRT-PCR, y la expresión de la proteína ABCG2 por western blot e inmunofluorescencia. Los ensayos de activación con y sin MSU (100uM) se realizaron a las 3, 6, 24 y 48 horas, se analizó al microscopio la formación de vesículas por efecto del MSU y previamente se midió la viabilidad de las células mediante una curva de concentraciones de MSU por la técnica de cristal violeta.

Resultados:

Hasta el momento se ha encontrado una disminución a nivel de expresión génica como de expresión de la proteína (western blot) de ABCG2 en algunos grupos de las células transfectadas, se ha determinado la expresión basal por inmunofluorescencia de ABCG2 y con MSU a las 24 de IL1beta, se ha analizado la expresión de IL1beta por RT-PCR.

Conclusiones:

Se tienen células HEK293T editadas que expresan una menor cantidad de ABCG2 para ser secuenciadas y seleccionar para su activación por MSU.