

Encuentros en la **b**iología



Cultivos modificados
genéticamente

Los primeros ojos que vieron
el coronavirus

Ferroptosis

Vol XIV | No 182
PRIMAVERA | 2022

ENCUENTROS EN LA BIOLOGÍA
Revista de divulgación científica
Indexada en *Dialnet*

Entidad editora:

Universidad de Málaga. EDITADA CON LA COLABORACIÓN DE LA UNIDAD DE IGUALDAD DE GÉNERO DE LA UMA, DEL INSTITUTO DE HORTOFRUTICULTURA SUBTROPICAL Y MEDITERRÁNEA “LA MAYORA” (IHSM-UMA-CSIC) Y EL DECANATO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS

Depósito legal: MA-1.133/94
ISSN (versión electrónica): 2254-0296
ISSN (versión impresa): 1134-8496

Periodicidad:

4 NÚMEROS ORDINARIOS (TRIMESTRALES) Y AL MENOS
1 NÚMERO EXTRAORDINARIO MONOGRÁFICO AL AÑO

Correspondencia a:

JUAN ANTONIO PÉREZ CLAROS
DEPARTAMENTO DE ECOLOGÍA
FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE MÁLAGA
29071 - MÁLAGA
JOHNNY@UMA.ES

EQUIPO EDITORIAL

DIRECTOR

- Juan A. Pérez Claros
johnny@uma.es
Paleontología
Edición Digital

COMITÉ EDITORIAL

- A. Victoria de Andrés Fernández
deandres@uma.es
Biología animal aplicada
Ciencia Sin Límites
- Elena Bañares España
elbaes@uma.es
Biología vegetal
- Juan José Borrego García
jjborregouma.es
Microbiología
- Rafael Antonio Cañas Pendón
rcanas@uma.es
Biología celular,
molecular y genética
- M. Gonzalo Claros
claros@uma.es

Biología celular,
molecular y genética
*Escribir bien no cuesta
trabajo. Anecdotario
científico*

- Juan Carlos Codina
jccodina@uma.es
Microbiología
*Coordinación y difusión
(Educación Secundaria)*
- José Córdoba Caballero
josecordoba@uma.es
Biología celular,
molecular y genética
Diseño y maquetación
- Belén Delgado Martín
belendm@uma.es
Biología celular,
molecular y genética
Diseño y maquetación
- Ana Grande Pérez
agrande@uma.es
Biología celular,
molecular y genética
*Jóvenes científicos.
Mujeres STEM UMA*
- Beatriz Martínez Poveda
bmpoveda@uma.es

Biología celular,
molecular y genética

- Miguel Á. Medina Torres
medina@uma.es
Biología celular,
molecular y genética
- Paul Palmqvist Gomes
paulpg21@gmail.com
Biología animal
- Luis Rodríguez Caso
caso@eelm.csic.es
Biología vegetal
Calidad y difusión
- Elena Rojano Rivera
elenarojano@uma.es
Biología celular,
molecular y genética
*Coordinación. Diseño y
maquetación*
- Héctor Valverde Pareja
hvalverde@uma.es
Edición Digital
- Enrique Viguera
eviguera@uma.es
Biología celular,
molecular y genética
- Patricia Zarza Herrero
pzherrero03@uma.es

Biología celular,
molecular y genética
*Coordinación y difusión
(Alumnos)*

COMITÉ CIENTÍFICO

- Antonio Diéguez Lucena
dieguez@uma.es
*Filosofía de la ciencia.
Epistemología*
- Juan Antonio Guadix Domínguez
jaguadix@uma.es
Biología animal
- María Rosa López Ramírez
mrlopez@uma.es
Astrobiología

COMITÉ EDITORIAL DE HONOR

- Salvador Guirado Hidalgo
guirado@uma.es
Biología Celular
- Esteban Domingo
edomingo@cbm.uam.es
Evolución de virus
- Gonzalo Álvarez Jurado
g.alvarez@usc.es
Genética

La portada



El aciano (*Centaurea cyanus*) es una planta herbácea de la familia de las asteráceas propia de los campos de cereales, aunque también se cultiva como flor ornamental por la belleza de sus flores. Es una planta anual, de tallo y hojas alargadas cubiertas de una ligera vellosidad. Las flores están formadas por un involucro de brácteas verdosas con tintes violetas y dos tipos de flósculos. Los exteriores, de mayor tamaño y vivo color azul, y los interiores, menores y de un tono azul violáceo mucho más intenso. Se documentan los usos medicinales del aciano desde el siglo XVI, especialmente por sus propiedades antiinflamatorias para diversos problemas oculares. Esta ilustración forma parte de la exposición *Ellas Ilustran Botánica*, comisariada por Toya Legido, Lucía Moreno Díaz y Ana J. Revuelta, un proyecto en el que se aúna la obra de más de cuarenta ilustradoras científicas, desde el siglo XVI hasta la actualidad. Se trata de una ilustración hecha con grafito y acuarela en la que se busca el carácter etéreo y ligero de la especie. Esta lámina acompaña a otra ilustración del cardo azul, otra planta en la que también se mezclan los tonos azules y verdosos, en la mencionada exposición.

Paula Martín Rodríguez (hola@paulailustra.com)

Índice

Editorial	4
La imagen comentada	5
Cultivos modificados genéticamente mediante biotecnología	6
Los primeros ojos que vieron un coronavirus	14
Ferroptosis	17
Anecdotalario científico: Esto va de un ruso que monta un pollo con la luz en Estados Unidos para estudiar la hipófisis	21
Del genoma humano a su pangenoma pasando por los consorcios ENCODE y T2T	23

Editorial

No creo que haya nadie a quien la convulsión de los últimos años no le esté afectando de una manera u otra. Primero la pandemia, de la cual no hemos terminado de salir, aunque hay que convenir que en el primer mundo sus consecuencias han sido muy atenuadas gracias a la vacunación. Luego ha llegado la guerra de Ucrania, cuyo desenlace es todavía incierto y que ha dinamitado el orden mundial alcanzado tras la caída del muro. El posicionamiento de condena por parte de nuestra revista, expresado en el anterior editorial, fue claro. Quizás por ello la web donde se aloja ha sido atacada en las últimas semanas. Nunca antes nuestra humilde revista había sido objeto de sabotaje. . . qué casualidad que el único ataque recibido ha tenido lugar tras denunciar la invasión rusa de Ucrania con sus terribles consecuencias en todos los ámbitos, entre ellos, en los ámbitos de la ciencia y cultura que nos tocan de lleno.

No obstante, en medio de estos lamentables acontecimientos siempre hay pequeños eventos locales que nos animan y empujan a seguir trabajando con ilusión. El poder de tales cosas no debe subestimarse, pues en ellas podemos tomar la inspiración para emprender caminos nuevos y creativos. Entre ellos me gustaría destacar

la *III Jornada de orientación profesional y fomento del emprendimiento*, que organizaron varios compañeros del Dpto. de Biología Molecular y Bioquímica de la UMA el pasado sábado 21 de mayo. La temática de este año fue: *Conectivismo, divulgación científica y trabajo profesional en red*. Quedé verdaderamente impresionado por diversas iniciativas en divulgación científica tanto en formato online como presencial que varios alumnos han llevado a cabo con el plus que han sido desarrolladas exclusivamente por ellos mismos. Me gustaría desde aquí animar a todo aquel que tiene la inquietud de desarrollar una idea a que por lo menos lo intente. No hace falta que todo sea perfecto, a veces unos comienzos humildes pueden terminar en carreras brillantes. Me gustaría igualmente animar a todos los lectores, en especial a los estudiantes, a que si tienen algo que comunicar: una idea, una foto, una ilustración. . . lo que sea, se animen a mandarlo a nuestra revista. Como dijo Lao Tse hace quince siglos: Un viaje de mil leguas comienza con un solo paso.

Juan Antonio Pérez Claros

La imagen comentada



Crédito de la imagen: Juan Antonio Pérez Claros.

ENTELODONTOS: ARTIODÁCTILOS BASALES

Aquí se muestra el cráneo de un entelodonto junto al de un jabalí a modo de comparación. En particular se trata de *Archeotherium mortoni*, un magnífico animal del tamaño de un buey que vivió durante el Oligoceno inferior en Norteamérica. A pesar de que estos organismos recuerdan a los suidos, filogenéticamente están algo más próximos a hipopótamos y ballenas que a los jabalíes y por lo tanto su parecido con éstos últimos podría tratarse de una convergencia evolutiva. Su dentición distal es bunodonta (muchas cúspides) y nos recuerda a la de los jabalíes, pero sus premolares (aserrados) y caninos nos evoca la dentición típica de un carnívoro. Estos elementos muestran que estos animales poseían una alimentación omnívora y por lo tanto la carne, bien en forma de carroña o bien como animales vivos, era

parte importante de su dieta. La cresta sagital y sus arcos zigomáticos dan testimonio de una musculatura temporal y masetérica formidables. Si lo unimos a que podría abrir la boca ampliamente, quizás como un felido diente de sable, es posible que muchas potenciales presas evitasen por todos los medios toparse con estos animales. El orden de los artiodáctilos (cetartiodáctilos para otros) que está compuesto por formas tales como los camellos, cerdos y rumiantes, actualmente también comprende a las ballenas, las cuales evolucionaron a partir de formas que podrían asemejarse a los hipopótamos modernos. Esta afinidad entre hipopótamos y cetáceos no se basó en el registro fósil si no que fue puesta de manifiesto gracias a la secuenciación del ADN.

Juan Antonio Pérez Claros

johnny@uma.es

CULTIVOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE MEDIANTE BIOTECNOLOGÍA

por CÉSAR PETRI SERRANO

DEPARTAMENTO DE HORTOFRUTICULTURA SUBTROPICAL Y MEDITERRÁNEA, INSTITUTO DE HORTOFRUTICULTURA

SUBTROPICAL Y MEDITERRÁNEA (IHSM-UMA-CSIC)

CESAR.PETRI@CSIC.ES

Resumen: La utilidad de organismos modificados genéticamente (MG) en investigación como una herramienta para generar conocimiento es indiscutible. Sin embargo, los cultivos MG generan mucha polémica. En la actualidad, la opinión pública se ha polarizado en grupos que defienden su uso fervientemente y grupos con una opinión igualmente contraria. En este escrito se repasa brevemente el estado de los cultivos MG y la legislación vigente; que define que un cultivo sea considerado MG y cuál es el proceso para su comercialización dentro de la Unión Europea. También se discute sobre la polémica existente en torno a los cultivos MG y si la legislación debería ser revisada o actualizada en alguno de sus aspectos.

Abstract: *The usefulness of the genetically modified organisms (GM) as a tool in research to generate knowledge is undeniable. However, GM crops are very controversial. Currently, public opinion has been polarized into groups that fervently defend its use and groups with an equally opposite opinion. This manuscript reviews briefly the status of GM crops and the current legislation; what defines a crop to be considered as GM and the process for its commercialization within the European Union. The existing controversy around GM crops and whether the legislation should be revised or updated in any of its aspects is also exposed.*

La biotecnología, que incluye el uso de técnicas de modificación genética, engloba aplicaciones en varias áreas como la salud, la agricultura, la seguridad alimentaria, el medio ambiente, o el control y erradicación de plagas y enfermedades. La agricultura mundial se encuentra inmersa en un debate sobre cultivos MG. Esta discusión, que engloba ciencia, economía, política e incluso religión, se produce en muchos ámbitos diferentes: en laboratorios de investigación, salas de juntas corporativas, cámaras de gobierno, redacciones de periódicos, instituciones religiosas, escuelas, supermercados, cafeterías e incluso en domicilios particulares.

Desde que comenzó la agricultura, los agricultores han estado alterando la composición genética de los cultivos mediante la selección de las mejores plantas y/o semillas y guardándolas para la próxima temporada. Los primeros agricultores descubrieron también cómo algunas plantas se pueden polinizar de forma cruzada para así intentar combinar las características deseables de los parentales en su descendencia. En la actualidad, los mejoradores examinan sus campos en búsqueda de los individuos que presentan las características deseables que se ajustan a los objetivos de su programa de mejora. A medida que los conocimientos científicos aumentan y las tecnologías mejoran, los mejoradores afinan más en la creación de nuevas variedades e híbridos vegetales.

En 2015, se publicó un interesante artículo en el

que se mostraba que el boniato domesticado (*Ipomoea batatas*) es un cultivo naturalmente transgénico^[1]. Parece que en la domesticación de esta especie los individuos seleccionados por la especie humana, con aptitudes agronómicas de interés, contenían en su genoma genes de la bacteria *Agrobacterium* spp. En la naturaleza esta bacteria infecta plantas y genera transgénesis en células vegetales, causando la enfermedad conocida como agallas de corona. Es capaz de introducir genes propios en el genoma de las células vegetales y que dichos genes sean expresados. Son genes implicados en síntesis de alimento para la bacteria y en biosíntesis de hormonas vegetales, lo que causa la aparición de tumores o raíces en las plantas infectadas. En la actualidad, en los laboratorios de investigación, el uso de *Agrobacterium tumefaciens* es una técnica muy común para la introducción y expresión de ADN en células vegetales. Kyndt y colaboradores^[1] hipotetizan sobre la posibilidad de que su descubrimiento cambié la perspectiva en la opinión pública y la legislación sobre los cultivos MG.

El objetivo de este trabajo es repasar el estado de los cultivos MG y la legislación vigente; que define que un cultivo sea considerado MG y cuál es el proceso de desregularización hasta poder utilizarlo a nivel comercial dentro de la Unión Europea (UE). También se discute sobre la polémica existente en torno a los cultivos MG y si la legislación o alguna de sus definiciones deberían ser revisadas o actualizadas

en alguno de sus aspectos.

Estado actual de los cultivos MG

En la página web del “International Service for the Acquisition of Agro-biotech Applications” (ISAAA) existe disponible una base de datos de cultivos comerciales MG^[2]. Desde 1996 hasta el 2014, el área dedicada al cultivo de MG se vio incrementada 100 veces, de 1,7 millones de hectáreas (ha) a 181,5^[3]. Un total de 28 países, 20 países en desarrollo y 8 países industriales, plantaron cultivos biotecnológicos en 2014. Los 5 primeros de la lista son EEUU con 73,1 millones de ha destinadas a cultivos MG (40 % del total mundial), Brasil con 42,2 millones de ha (23 %), Argentina con 24,3 millones de ha (13 %), India con 11,6 millones de ha (6 %) y Canadá con 11,6 millones de ha^[4].

La mayoría de la producción de plantas MG se basa en soja, maíz, algodón y colza (Figura 1). Existen múltiples modificaciones genéticas entre los cultivos comercializados^[2], pero las más comunes son (i) modificaciones que confieren tolerancia a un determinado herbicida, (ii) resistencia al ataque de insectos mediante la expresión de genes de la bacteria entomopatógena *Bacillus thuringiensis* (Bt) o (iii) cultivos con ambas características anteriores^[4]. En 2014, el 82 % (90,7 millones de ha) de los 111 millones de ha de soja plantada a nivel mundial fue biotecnológica. En algodón se plantaron 25,1 millones de hectáreas de algodón MG, que representan el 68 % de los 37 millones de ha del mundo. De los 184 millones de ha de maíz sembradas en el mundo en 2014, el 30 % o 55,2 millones de ha fueron de maíz biotecnológico. Finalmente, se plantaron 9 millones de ha (el 25 % de la superficie global) de colza resistente a herbicida^[3].

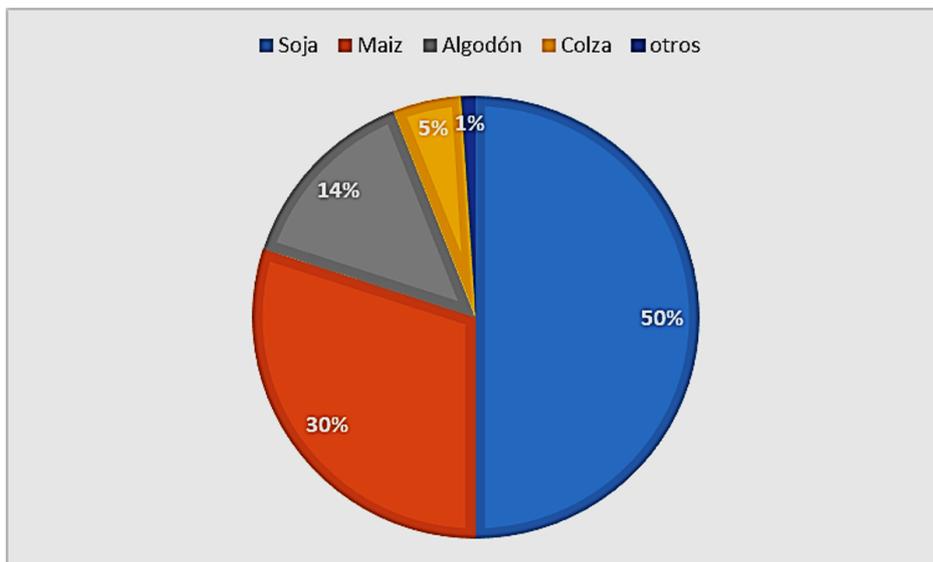


Figura 1. Principales cultivos MG a nivel mundial. Fuente: James (2014).

Legislación de organismos modificados genéticamente (OMG)

Normas internacionales

A nivel internacional, el transporte, etiquetado y el uso de organismos modificados genéticamente queda regulado mediante el Protocolo de Cartagena sobre Seguridad de la Biotecnología^[5] (https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/biotecnologia/cartagena_protocol_es_tcm30-190230.pdf). Fue adoptado el 29 de enero de 2000 como un acuerdo suplementario del Convenio sobre la Diversidad Biológica de Naciones Unidas^[6] (<https://www.cbd.int/doc/legal/cbd-es.pdf>) y entró en vigor el 11 de septiembre de 2003. La Unión Europea, España y el resto de Estados Miem-

bros son Partes del Protocolo. España fue uno de los primeros países en ratificar el Protocolo de Cartagena, el 16 de enero de 2002^[5] (https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/biotecnologia/Inst_ratificacion_protocolo_cartagena_tcm30-190283.pdf). Este instrumento es legalmente vinculante para las Partes Contratantes por lo que constituye el marco mínimo en materia de bioseguridad.

De conformidad con el principio de precaución, el Protocolo de Cartagena tiene por objeto garantizar que el movimiento transfronterizo de organismos vivos modificados resultantes de la biotecnología moderna se haga en condiciones seguras para la conservación de la biodiversidad y la salud humana. Este movimiento ha de estar precedido de un acuerdo fundamentado previo que garantice que los países

cuentan con la información necesaria para tomar las decisiones relativas a la aceptación de las importaciones de dichos organismos en su territorio.

Legislación a nivel de la UE

La UE, con el fin de proteger la salud humana y el medio ambiente, regula las actividades con OMG mediante dos Directivas: Directiva 2009/41, relativa a la utilización confinada de microorganismos modificados genéticamente (que deroga a la Directiva 90/219/CEE), y la Directiva 2001/18/CE, sobre liberación intencional en el medio ambiente de organismos modificados genéticamente y por la que se deroga la Directiva 90/220/CEE. Los documentos en Castellano están disponibles en la web del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA)^[5].

Estas normas han sido objeto de posteriores desarrollos y adaptaciones al progreso técnico. Cabe destacar el Reglamento 1830/2003, del Parlamento Europeo y del Consejo, relativo a la trazabilidad y al etiquetado de organismos modificados genéticamente y a la trazabilidad de los alimentos y piensos producidos a partir de éstos, y por el que se modifica la Directiva 2001/18/CE.

Asimismo, la Directiva 2001/18/CE ha sido modificada por la Directiva (UE) 2015/412, en lo que respecta a la posibilidad de que los Estados Miembros restrinjan o prohíban el cultivo de organismos modificados genéticamente en su territorio.

Legislación en España

Todos los documentos y leyes relacionados con OMG a nivel estatal están disponibles en la web del MAPA^[5].

El Real Decreto 452/2019, de 19 de julio, por el que se modifica el Real Decreto 178/2004, de 30 de enero, por el que se aprueba el Reglamento general para el desarrollo y ejecución de la Ley 9/2003, de 25 de abril, establece el régimen jurídico de la utilización confinada, liberación voluntaria y comercialización de organismos modificados genéticamente, entre ellos los cultivos vegetales. Mediante estas normas se ha transpuesto a la legislación española las Directivas y Reglamentos europeos.

Los artículos 3 y 4 de la Ley 9/2003 establecen respectivamente las competencias de la Administración General del Estado y de las Comunidades Autónomas, y la disposición adicional segunda contempla los órganos colegiados responsables del ejercicio de las actividades reguladas en la misma: Consejo Interministerial de Organismos Modificados Genéticamente (CIOMG) y Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB). El CIOMG es el órgano competente para otorgar las autorizaciones de solicitudes de OMG cuando la responsabilidad recae en la Administración General del Estado. También corresponde al CIOMG

autorizar la utilización confinada y la liberación voluntaria de OMG cuando éstos van a ser incorporados a medicamentos de uso humano y/o veterinario, además de las liberaciones que se realicen en el marco de los programas nacionales de investigación y aquellas relacionadas con el examen técnico para la inscripción en el registro de variedades comerciales. La CNB es un órgano colegiado de carácter consultivo cuya función es informar sobre las solicitudes de autorización de utilización confinada, liberación voluntaria y comercialización de OMG, presentadas tanto a la Administración General de Estado como a las Comunidades Autónomas.

Algunas Comunidades Autónomas (Andalucía, Aragón, Asturias, Baleares, Castilla-La Mancha, Castilla-León, Cataluña, Extremadura, Madrid, Navarra, Valencia) han desarrollado su propia legislación en materia de OMG, con el fin de poder desempeñar sus funciones asignadas por el artículo 4 de la Ley 9/2003. Según este artículo, las Comunidades Autónomas son competentes en:

1. La concesión de autorizaciones, salvo los casos que corresponden a la Administración General del Estado, de utilización confinada y de liberación voluntaria de OMG para cualquier otro propósito distinto de la comercialización.
2. La vigilancia, el control, y la imposición de sanciones de estas actividades, con excepción de las que son de competencia estatal.

Según la legislación española (Ley 9/2003, de 25 de abril), 'un OGM consiste en cualquier organismo, con excepción de los seres humanos, cuyo material genético ha sido modificado de una manera que no se produce de forma natural en el apareamiento o en la recombinación natural, siempre que se utilicen las técnicas que reglamentariamente se establezcan'. Dicho en otras palabras, un cultivo MG es una planta que tiene una nueva combinación de material genético obtenido mediante biotecnología. Por ejemplo, un cultivo MG puede contener uno o varios genes que han sido insertados en el genoma en lugar de que dichos genes hayan sido adquiridos por polinización.

Según la normativa vigente, se consideran técnicas que dan lugar a una modificación genética las siguientes:

- Técnicas de recombinación del ácido nucleico, que incluyan la formación de combinaciones nuevas de material genético mediante la inserción de moléculas de ácido nucleico –obtenidas por cualquier medio fuera de un organismo– en un virus, plásmido bacteriano u otro sistema

de vector y su incorporación a un organismo hospedador en el que no se encuentren de forma natural, pero puedan seguir reproduciéndose.

- Técnicas que suponen la incorporación directa en un organismo de material hereditario preparado fuera del organismo, incluidas la microinyección, la macroinyección y la microencapsulación.
- Técnicas de fusión de células (incluida la fusión de protoplastos) o de hibridación en las que se formen células vivas con combinaciones nuevas de material genético hereditario mediante la fusión de dos o más células utilizando métodos que no se producen naturalmente.

Quedan excluidos de este ámbito los organismos cuya modificación genética se obtenga por técnicas de mutagénesis o de fusión (incluida la de protoplastos) de células vegetales, en que los organismos resultantes puedan producirse también mediante métodos tradicionales de multiplicación o de cultivo, siempre que tales técnicas no supongan la utilización de moléculas de ácido nucleico recombinante ni de organismos modificados genéticamente. Igualmente, quedan excluidas de esta ley la utilización de las técnicas de fertilización in vitro, conjugación, transducción o cualquier otro proceso natural y la inducción poliploide, siempre que no supongan la utilización de moléculas de ácido nucleico recombinante ni de organismos modificados genéticamente obtenidos mediante las técnicas mencionadas anteriormente.

Camino para la desregularización de un cultivo MG en el ámbito de la UE

Los principios que se aplican, tanto a nivel nacional como internacional, son los de precaución y cautela con el fin de evitar posibles efectos adversos para la salud humana y el medio ambiente. Se aplica por tanto el caso a caso y paso a paso. Esto es, la evaluación de los riesgos asociados a los OMG para cada uno de ellos, y que solo se procederá a la liberación del OMG cuando la evaluación de las etapas anteriores revele que puede pasarse a la siguiente sin la existencia de riesgos. También se aplica el principio de información y participación pública, garantizando la consulta al público antes de autorizar algunas actividades con OMG y el acceso a los ciudadanos a la información sobre las liberaciones o comercializaciones autorizadas^[5] (<https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/biotecnologia/omg/participacion-publica/>).

Hasta la fecha, en la UE sólo hay dos ‘eventos’ autorizados para su cultivo comercial, el maíz MON810, resistente a la plaga del taladro, y la denominada patata ‘AmfloraTM’, destinada a la producción industrial de almidón; pero sólo el primero se cultiva en España.

Maíz (*Zea mays*) evento MON810: Comercializado por Monsanto como híbridos Yieldgard. Expresan una versión truncada del gen *cry1Ab* de Bt que le confiere resistencia frente al taladro del maíz (*Ostrinia nubilalis* y *Sesamia nonagrioides*). En España, desde que se inició el cultivo de maíz MG en 1998, la superficie cultivada fue en aumento hasta alcanzar el máximo de 131.538 ha en el año 2014. A partir de ese año, ha ido en descenso hasta las 98.151 ha en el año 2020^[5] (<https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/biotecnologia/omg/>). En España, esta superficie representa aproximadamente un cuarto de la superficie total destinada al maíz y convierte al país en el mayor productor de maíz Bt dentro de la UE con un 92 % de la superficie cultivada en Europa^[4]. La adquisición de este tipo de semillas por los agricultores parece responder fundamentalmente a la búsqueda de un incremento en los beneficios junto a una reducción de los riesgos de pérdidas asociadas a la plaga del taladro^[7,8].

Patata (*Solanum tuberosum*) evento EH92-527-1: Comercializada por BASF como patata AmfloraTM. Contiene una copia antisentido del gen de una enzima involucrada en la síntesis de almidón (*gbss*). Como resultado, se produce un silenciamiento del gen endógeno y la planta presenta almidón con niveles reducidos de amilosa y más amilopectina. Este hecho hace que su almidón sea de mayor calidad para la industria papelera. No se cultiva en España.

Sin embargo, hay otros muchos cultivos MG que, aunque no está permitido su cultivo, si está permitida su importación y uso en piensos para animales y/o alimentación humana. Por ejemplo, Europa importa anualmente aprox. 34 millones de toneladas (el equivalente a 60 kg/persona/año en la UE) de granos o harina de soja^[9], destinadas en su mayoría a la producción de piensos para la alimentación animal. Hoy en día, las variedades de soja que se usan por norma general son MG. Casi toda la soja importada procede de países de América, donde los cultivos de soja biotecnológica superan el 90 %.

La legislación específica de OMGs, mencionada en el apartado anterior, describe el proceso de aprobación y garantiza que todos los productos biotecnológicos que se venden en el mercado de la UE sean tan seguros como sus homólogos convencionales. La Figura 2 esquematiza los pasos en el proceso de desregularización de un cultivo MG en la UE.

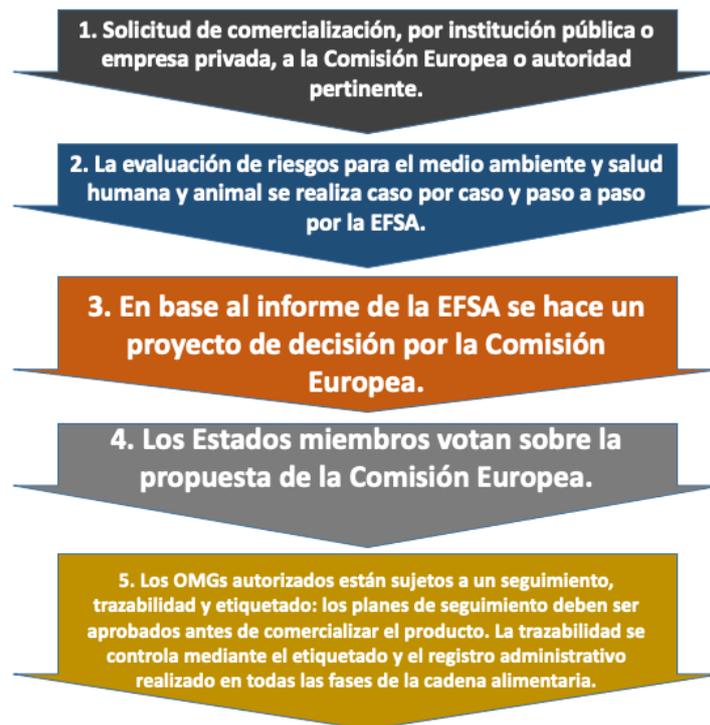


Figura 2. Esquema del proceso de desregularización en la UE.

1º. Solicitud por parte del titular de la actividad, institución pública o empresa privada, a la autoridad pertinente:

En España, en base al Real Decreto 452/2019, de 19 de julio, por el que se modifica el Real Decreto 178/2004, de 30 de enero, en el caso de las plantas superiores modificadas genéticamente (PSMG), es decir, plantas pertenecientes al grupo taxonómico de los espermatofitos (gimnospermas y angiospermas), la solicitud deberá facilitar la siguiente información (Para más detalles consultar el Real Decreto 452/2019, de 19 de julio):

- información genética entre plantas.
- Transferencia genética de las plantas a los microorganismos.
- Interacciones de las PSMG con los organismos objetivo.
- Interacciones de las PSMG con los organismos no objetivo.
- Impacto de las técnicas específicas de cultivo, gestión y recolección.
- Efectos sobre los procesos biogeoquímicos.
- Efectos en la salud humana y animal.

2º. Evaluación de riesgos y decisión por parte de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (European Food Safety Authority, EFSA):

A petición de la autoridad competente (Comisión Europea, Agencias Nacionales de Seguridad Alimentaria, Parlamento Europeo), la EFSA genera un informe científico evaluando los riesgos a la salud humana y el medio ambiente de la variedad/semilla presentada. El informe es elaborado por un panel de expertos científicos independientes y enviado de vuelta a el/los organismos que lo solicitaron.

3º. En base al informe de la EFSA, la autoridad competente pronuncia un informe de decisión y los Estados Miembros emiten su voto sobre ese informe.

4º. En caso de ser aprobado, los cultivos MG autorizados están sujetos a un seguimiento, trazabilidad y etiquetado: Los planes de seguimiento deben ser aprobados antes de comercializar el producto. La trazabilidad se controla mediante el etiquetado y el registro administrativo realizado en todas las fases de la cadena alimentaria.

Los planes de seguimiento deben ser aprobados antes de comercializar el producto. La trazabilidad se controla mediante el etiquetado y el registro administrativo realizado en todas las fases de la cadena alimentaria.

Controversia en torno a los cultivos MG

La utilidad de las plantas (y otros organismos) MG en investigación como una herramienta para generar conocimiento es indiscutible. Sin embargo, las ventajas del uso comercial de cultivos MG no están

tan claras. Existen grupos que defienden su uso ferientemente y grupos con una opinión igualmente contraria.

Para algunos colectivos pro-biotecnología, la evaluación de riesgos en la UE está ralentizada y politizada en contra de los cultivos MG. Según ellos, la EFSA invierte cada vez más tiempo en la evaluación de riesgos pasando de un tiempo inferior a 2 años a más de 7 años desde la presentación de la solicitud hasta la aprobación^[10]. Para otros colectivos en contra de los cultivos MG, la evaluación y el proceso de desregulación deja mucho que desear y favorece a las grandes compañías multinacionales.

Los consumidores están preocupados por la posible estrecha relación entre reguladores y empresas, y sobre la veracidad de los datos sobre seguridad alimentaria de las agencias reguladoras. La puerta giratoria entre la agroindustria y las agencias reguladoras, y las cantidades invertidas en 'sobornos' políticos por parte de los 'lobbies' también son motivo de alarma. Incluso la posición de académicos y/o científicos ha caído para la opinión pública, especialmente si existe una asociación empresarial o financiación de la industria para la investigación.

En la actualidad, para bien o para mal, en la conciencia pública los alimentos transgénicos están indisolublemente vinculados con empresas multinacionales, que personifican 'la codicia corporativa y el mal'. Sin embargo, hay muchos cultivos e híbridos biotecnológicos cuyas patentes pertenecen a pequeñas empresas o a instituciones públicas.

Un problema fundamental es que el debate público se ha enfocado desde una perspectiva equivocada desde el inicio. Para los consumidores, la pregunta gira en torno a alimentos transgénicos versus no transgénicos/orgánicos. Además, los reguladores europeos han agudizado los prejuicios contra estos productos mediante la creación de un sistema regulador que señala los productos transgénicos como suficientemente amenazantes para merecer especial atención. Incluso la industria biotecnológica refuerza la dicotomía MG/no MG defendiendo los beneficios agronómicos de este tipo de cultivos frente a los convencionales. Esto ha llevado a un debate enmarcado por posturas pro-MG o anti-MG excesivamente simplificadas. En lugar de ello, el debate debería ser sobre los pros y los contras de los productos individuales (cada evento de maíz Bt, soja EPSPS y así sucesivamente) y en cada situación socio-política y geográfica. No solamente centrando el discurso en el uso o no de cultivos MG, sino también en el modelo agroindustrial en cada territorio/comunidad, ya sean MG o no-MG. Las dudas de la opinión pública sobre los alimentos transgénicos van más allá del riesgo para la salud. El control

corporativo del suministro de alimentos, la privación de derechos de los pequeños agricultores, los posibles efectos adversos de las variedades modificadas genéticamente en flora y fauna autóctonas, y la 'contaminación' de los cultivos en parcelas/explotaciones no transgénicas u orgánicas también influyen en las percepciones negativas. Merece la pena señalar que, excepto en el caso de 'contaminación', los demás aspectos no son exclusivos de los cultivos MG y son temas que también habría que tener en cuenta con variedades e híbridos convencionales bajo el modelo actual de agricultura.

Existen casos en los que los cultivos biotecnológicos ha sido la solución a un determinado problema, como es el 'Arroz dorado'^[11], previniendo ceguera infantil en poblaciones con déficit en vitamina A, o variedades de papaya resistentes a PRSV en Hawái^[12], ambos productos desarrollados por instituciones públicas. Por otro lado, hay casos en los que el cultivo biotecnológico ha fallado en su objetivo. Por ejemplo, que la resistencia al patógeno objetivo haya sido superada rápidamente por este o que el cultivo haya resultado perjudicial para algún organismo no diana.

A día de hoy, pese a opiniones contrarias, hay evidencias de que el uso de cultivos transgénicos ha reducido el uso de pesticidas químicos, ha aumentado el rendimiento de los cultivos y ha incrementado las ganancias de los agricultores^[13]. Sin embargo, no se puede meter todo en un mismo saco. Hay que estudiar cada caso por separado; que son, para que son, que hacen, como lo hacen, donde lo hacen, con quien lo hacen, que no hacen, etc.

Otra cuestión en torno a los cultivos MG es la actualización de la legislación. Teniendo en cuenta que los conocimientos científicos y tecnologías avanzan rápidamente, es posible que en algunos casos la legislación haya quedado desfasada.

El hallazgo de Kyndt y colaboradores^[1], sobre la transgénesis de las variedades de boniato cultivadas, podría abrir espacio al debate de que debería ser considerado un evento 'natural'. El caso del boniato de transferencia horizontal de genes (THG), es decir, transferencia de material genético entre especies diferentes, está lejos de ser único. Se han descrito multitud de elementos virales en el genoma de muchas especies de animales, hongos y plantas^[14,15,16]. Los datos encontrados hasta la fecha indican que las plantas han participado tanto de donantes como de receptores en procesos de THG^[17], señalando el papel clave de la THG en la evolución y diversificación genética^[18].

Pero quizá, el caso más claro en la actualidad de desfase legislativo sea el de la mutagénesis dirigida. En la actualidad, si un cultivo es considerado MG,

es sometido a una exhaustiva y larga evaluación de riesgo. Esta evaluación considera dos aspectos: la caracterización del OMG y los posibles efectos de esta modificación, en términos de seguridad alimentaria y medioambiental. Sin embargo, tal como está la normativa vigente, el factor que determina si un organismo debe estar sujeto o no a los requerimientos específicos de esta legislación (evaluación de riesgo, procedimiento de autorización, etiquetado, trazabilidad...) es la técnica empleada. Ciertas técnicas se han excluido basándose en un uso convencional y un historial de uso seguro.

En 2018, el Tribunal de Justicia de la UE declaró que los organismos obtenidos por técnicas de mutagénesis dirigida (la más popular hoy en día es CRISPR/Cas9) estarán sujetos a las mismas obligaciones que las establecidas para OMG en su Directiva específica. Hay que recordar que los organismos obtenidos mediante técnicas de mutagénesis convencional están exentos de esas obligaciones.

Las técnicas de mutación dirigida permiten conseguir una modificación más precisa del genoma en una forma específica y dirigida, en lugar de mutaciones de varios genes al mismo tiempo o inserciones aleatorias de nuevos genes. En resumen, con estas técnicas, aunque cuentan con pasos intermedios de transgénesis, el producto final no es transgénico y la mutación se realiza en la/s secuencia/s deseada/s, no al azar. No parece que la legislación actual, basada en la técnica y no en el producto final, sea lo más apropiado. Con una misma técnica, pueden desarrollarse productos con diferentes niveles de seguridad y distintas técnicas pueden dar lugar a productos idénticos genéticamente. Las técnicas de mutagénesis dirigida generan mutaciones que es imposible distinguir en el producto final si han ocurrido de manera espontánea, por mutagénesis convencional o por otra técnica. Se podría dar el caso de que un mismo producto fuera regulado de formas diferentes. Además, será muy difícil aplicar controles para la identificar y cuantificar los productos MG, de acuerdo con los requerimientos de la legislación en la UE. En ausencia de este control, será muy difícil cumplir con las normativas de etiquetado y trazabilidad obligatorias para los cultivos MG.

En este contexto en 2019, la CIOMG presentó un informe en el cual solicitaban a Comisión Europea una revisión sobre la sentencia dictada por el Tribunal de Justicia de UE y la necesidad de modernización de la política europea sobre biotecnología^[5] (https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/biotecnologia/informeciomgsentenciamutagenesisdirigidad11_02_2019_tcm30-496814_tcm30-512235.pdf). La

CIOMG indica que la sentencia del Tribunal de Justicia de la UE respecto a la mutagénesis dirigida tiene importantes consecuencias para el sector agroalimentario, el comercio internacional, la investigación e innovación y los servicios de control e inspección, y solicita que la Comisión Europea ponga en marcha una revisión para dar prioridad a la seguridad del producto final por encima de las técnicas utilizadas. En este mismo sentido, recientemente, la red 'European Sustainable Agriculture Through Genome Editing' (EU-SAGE) ha presentado un escrito en el cual solicitan a la Comisión Europea que adopte un enfoque proporcionado y no discriminatorio respecto a la mejora genética avanzada en su informe sobre nuevas técnicas genómicas^[18]. Muchas asociaciones y centros públicos de investigación españoles han mostrado su apoyo a esta iniciativa de EU-SAGE, por ejemplo el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), el Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (IBMCP), el "Centre for Research in Agricultural Genomics" (CRAG), la Universidad de Barcelona, la Universidad Politécnica de Madrid y muchos más.

Conclusiones

En actualidad existe libertad de elección por parte de los agricultores, ciudadanos, investigadores y los diferentes sectores en los que la biotecnología puede aplicarse. A pesar de la incertidumbre sobre los cultivos biotecnológicos, una cosa parece clara. Esta tecnología, con su potencial para crear nuevas variedades de cultivos con importancia económica, es simplemente demasiado valiosa para ignorarla. Sin embargo, existen algunas preocupaciones legítimas. Para que este problema se resuelva, las decisiones de las autoridades deberían basarse en información científica y altamente fiable. Por último, dada la importancia que la gente da a los alimentos que consume y al medioambiente que le rodea, las políticas relativas a los cultivos biotecnológicos deberían basarse en un debate abierto y honesto, que involucre a un amplio abanico de la sociedad.

Tal y como expresa la CIOMG en su informe^[5], 'es preciso tener en cuenta que hay un desfase temporal entre el momento en el que se realiza la inversión en investigación y desarrollo y la obtención de beneficios en el mercado, que puede llegar a ser de hasta 20 años. Por tanto, las decisiones que se tomen en estos momentos en materia de inversión en investigación y desarrollo no deben subestimarse'.

Agradecimientos

Agradezco a Luis Rodríguez Caso su invitación a participar en esta revista.

Referencias

- [1] Kyndt, T., Quispe, D., Zhai, H., Jarret, R., Ghislain, M., Liu, Q., Gheysen, G. y Kreuzer, J.F. (2015) The genome of cultivated sweet potato contains *Agrobacterium* T-DNAs with expressed genes: An example of a naturally transgenic food crop. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 112(18), 5844–5849.
- [2] ISAAA (2021) <https://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/>, visitada el 19/02/2021.
- [3] ISAAA (2015) 50 Biotech bites. ISAAA: Ithaca, New York, USA.
- [4] James, C. (2014) Global status of commercialized biotech/GM crops: 2014. ISAAA Brief No. 49. ISAAA: Ithaca, New York, USA.
- [5] MAPA (2021) <https://www.mapa.gob.es/es/>, visitada el 19/02/2021.
- [6] CBD (2021) <https://www.cbd.int/>, visitada el 24/02/2021.
- [7] Gómez-Barbero, M., Berbel, J. y Rodríguez-Cerezo, E. (2008) Adoption and performance of the first GM crop introduced in EU agriculture: Bt maize in Spain. IPTS, <http://ftp.jrc.es/EURdoc/JRC37046.pdf>.
- [8] Lusser, M., Raney, T., Tillie, P., Dillen, K. y Rodríguez-Cerezo, E. (2012) International workshop on socio-economic impacts of genetically modified crops co-organised by JRC-IPTS and FAO - Workshop proceedings. JRC.
- [9] FAOSTAT (2021) <http://www.fao.org/faostat/en/#home>, visitada el 11/02/2021.
- [10] Fundación Antama (2021) <https://fundacion-antama.org/que-es-antama/>, visitada el 16/02/2021.
- [11] IRRI (2021) <https://www.irri.org/news-and-events/news/philippines-approves-golden-rice-direct-use-food-and-feed-or-> visitada el 23/02/2021.
- [12] Gonsalves, D. (1998) Control of papaya ringspot virus in papaya: a case study. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 36, 415–437.
- [13] Klümper, W. y Qaim, M. (2014) A meta-analysis of the impacts of genetically modified crops. *PLoS ONE*, 9(11), e111629.
- [14] Feschotte, C. y Gilbert, C. (2012) Endogenous viruses: insights into viral evolution and impact on host biology. *Nat. Rev. Genet.*, 13, 283–296.
- [15] Katzourakis, A. y Gifford, R.J. (2010) Endogenous viral elements in animal genomes. *PLoS Genet.*, 6, e1001191.
- [16] Koonin, E.V. (2010) Taming of the shrewd: novel eukaryotic genes from RNA viruses. *BMC Biol.*, 8, 1-4.
- [17] Bock, R. (2010) The give-and-take of DNA: horizontal gene transfer in plants. *Trends Plant Sci.*, 15, 11–22.
- [18] Soucy, S.M., Huang, J. y Gogarten, J.P. (2015) Horizontal gene transfer: building the web of life. *Nat. Rev. Genet.*, 16, 472–482.
- [19] EU-SAGE (2021) <https://www.eu-sage.eu/>, visitada el 14/04/2021.

LOS PRIMEROS OJOS QUE VIERON UN CORONAVIRUS: UN HOMENAJE A JUNE ALMEIDA

por ÍKER PUERTO SAN ROMÁN

ESTUDIANTE DE CUARTO CURSO DEL GRADO EN BIOQUÍMICA, UNIVERSIDAD DE MÁLAGA

MITOCONDRIO@UMA.ES

Se ha hablado y escrito muchísimo sobre los coronavirus en los últimos dos años. No obstante, a mi parecer, se ha hablado poco sobre el pasado de esta familia de virus, la familia *Coronaviridae*. El término “coronavirus” aparece por primera vez en un artículo publicado en la revista *Nature* el 16 de noviembre de 1968. En esta publicación, se daba a conocer que un equipo de virólogos había descrito un nuevo grupo de virus con una apariencia similar a la de la corona solar, de ahí su nombre. Sin embargo, parece ser que los primeros registros de infecciones provocadas por coronavirus datan de 1931^[1,2]. Entre los ocho autores mencionados en aquel trabajo publicado en 1968, me gustaría destacar especialmente la figura de June Almeida. June Almeida (1930-2007), nació en Glasgow como June Hart. De pequeña destacó en la escuela, pero tuvo que abandonar los estudios y empezar a trabajar a los 16 años debido a que procedía de una familia humilde^[3]. Consiguió una plaza como técnico de laboratorio en la *Glasgow Royal Infirmary*, y posteriormente en el *St. Bartholomew Hospital* de

Londres. Durante esta estancia en Londres conoció a su primera pareja, el artista venezolano Enriques Almeida, de quien tomó su apellido. Posteriormente, en 1956, se mudó a Toronto, Canadá, donde consiguió un puesto de técnico de microscopio electrónico en el *Ontario Cancer Institute*. Pese a que previamente no había usado este tipo de microscopio, a los dos años ya dominaba su uso y su destreza con este instrumento a la hora de observar virus le permitió llegar a publicar artículos científicos como autora principal. Almeida era consciente de que distinguir virus a partir de imágenes de microscopía electrónica podía ser una tarea compleja. Por ello, con el fin de obtener imágenes de mejor calidad, desarrolló una técnica basada en el tratamiento de las muestras a observar con anticuerpos que se unían específicamente a las partículas virales de interés. Sus publicaciones le valieron tal reconocimiento que, en 1964, el Dr. Anthony Peter Waterson le ofreció regresar al Reino Unido para trabajar en la *St. Thomas Hospital Medical School* de Londres, oferta que aceptó.

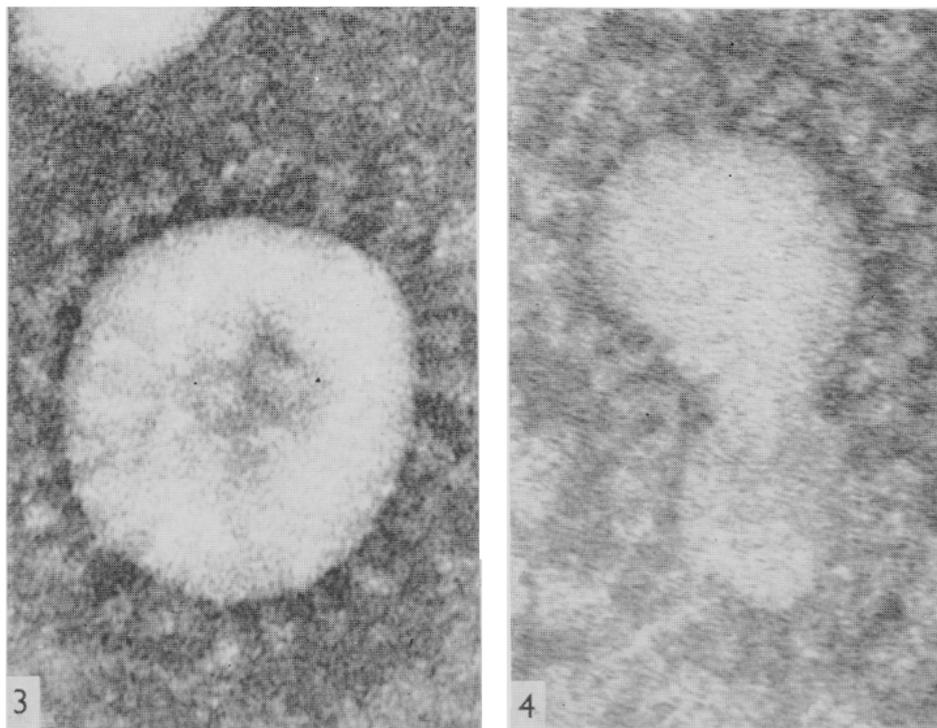


Figura 1. Imágenes del virus B814 publicadas por Almeida y Tyrrell, las primeras imágenes de microscopía electrónica obtenidas de virus de la familia *Coronaviridae*, publicadas en el *Journal of General Virology*^[5].

A su regreso a Londres, Almeida también colaboró con el Dr. David Tyrrell, director de la Unidad de Investigación del Resfriado Común. Tyrrell había descubierto en 1965 un nuevo tipo de virus respiratorio, catalogado como B814, pero tenía problemas para aislarlo y obtener imágenes de este^[4]. Almeida consiguió obtener imágenes claras del B814 (Figura 1), las que serían las primeras imágenes de un coronavirus, que quedaron recogidas en un trabajo publicado en 1967 en el *Journal of General Virology*[5]. A esta publicación le seguiría, un año después, el artículo publicado en *Nature* que comentábamos al principio. En 1967 el grupo de Almeida también publicó las primeras imágenes de microscopía electrónica del virus

de la rubeola, virus cuya enfermedad era bien conocida pero que no había sido observado a través de un microscopio electrónico^[6]. Ese mismo año, además, Almeida se trasladó a la *Royal Postgraduate Medical School*. Continuó investigando otros virus, como el virus de la hepatitis B, y tuvo un papel clave en el descubrimiento de los antígenos de superficie (HBsAg) y del *core* de este virus (HBcAg). La Dra. Almeida finalizó su carrera en el *Wellcome Research Laboratory*, donde participó en el desarrollo de vacunas y métodos diagnósticos. En 1980 publicó *Manual for rapid laboratory viral diagnosis* para la Organización Mundial de la Salud, y en 1985 se retiró.



Figura 2. June Almeida en 1968. Obtenida de www.whatisbiotechnology.org.

Tras su retiro, comenzó a trabajar como profesora de yoga y como comerciante de antigüedades. Sin embargo, a finales de los ochenta colaboró con el

St. Thomas Hospital en la obtención de imágenes en alta calidad del VIH. Sinceramente, cuando conocí la historia de esta investigadora, me fascinó, así que

espero que este humilde homenaje sirva para dar a conocer su figura. Para saber más sobre la vida de esta genial investigadora, recomiendo encarecidamente la bibliografía publicada en la web *WhatIsBiotechnology*: <https://www.whatisbiotechnology.org/index.php/people/summary/Almeida>

Referencias

- [1] Virology: Coronaviruses. *Nature* 220: 650, 1968.
 - [2] Mahase E. Covid-19: Coronavirus was first described in The BMJ in 1965. *BMJ* 369: m1547, 2020.
 - [3] Almeida J. June Almeida (née Hart). *BMJ* 336: 1511, 2008.
 - [4] Tyrrel DA y Bynoe ML. Cultivation of a novel type of common-cold virus in organ cultures. *Br Med J* 1: 1467-1470, 1965.
 - [5] Almeida JD y Tyrrell DA. The morphology of three previously uncharacterized human respiratory viruses that grow in organ culture. *J Gen Virol* 1: 175-178, 1967.
 - [6] Best J, Banatvala JE, Almeida J y Waterson AP. Morphological characteristics of rubella virus. *The Lancet* 290: 237-239, 1967
-
-

FERROPTOSIS

por CARLOS ULISES CÁRDENAS VELA

GRADO EN BIOLOGÍA, UNIVERSIDAD DE MÁLAGA

ULISESCARDENAS@UMA.ES

Palabras clave: ferroptosis, ROS, inflamación, cáncer

Resumen: La ferroptosis es una muerte celular programada, oxidativa y dependiente de hierro que ha sido recientemente descrita. A pesar del poco tiempo en el que se lleva estudiando, se han hecho grandes hallazgos sobre su regulación y sus implicaciones fisiopatológicas tanto en cáncer como en procesos inflamatorios. En este artículo se abordarán dichas cuestiones.

Abstract: *Ferroptosis is an oxidative and iron-dependent programmed cell death that has been recently described. Despite the little time it has been being studied for, great findings on its regulation and pathophysiological implications on both cancer and inflammatory processes have been made. These issues will be addressed in this article.*

¿Qué es la ferroptosis?

El hierro es un micronutriente esencial para todos los organismos; pero su exceso activa una serie de mecanismos que pueden llevar a la muerte celular. Se entiende como ferroptosis al proceso de muerte celular programada dependiente de hierro causada por un aumento en la peroxidación de los lípidos (se provocan daños en la membrana).

Al tratarse de una muerte celular programada, y no accidental, está mediada por una serie de mecanismos y vías de señalización. Existen dos formas principales por las que se puede inducir la ferroptosis: la vía extrínseca y la vía intrínseca^[6]. La vía extrínseca se activa por regulación de transportadores mientras que la vía intrínseca se activa directamente por el bloqueo de la expresión de ciertas enzimas antioxidantes.

Marcas distintivas de la ferroptosis

Desde que se acuñó el término ferroptosis en el año 2012, se han ido conociendo una serie de características que pueden indicar que se está dando un proceso de ferroptosis, tanto de tipo morfológico como bioquímico, genético o inmunológico^[7].

Características morfológicas

Las características morfológicas de una célula ferroptótica son similares a las de una célula en necrosis en muchos aspectos: pérdida de la integridad de la membrana celular, hinchamiento del citoplasma (oncosis) y de los orgánulos, y condensación de la cromatina.

La ferroptosis también puede acarrear desprendimiento de las células y un aumento en el número de autofagosomas. Además, la ferroptosis en una célula se puede extender rápidamente a otras células adyacentes. También se producen cambios morfológicos en las mitocondrias como un aumento en la densidad de sus membranas, la reducción o pérdida de las crestas y ruptura de la membrana externa.

Características bioquímicas

Las dos características bioquímicas fundamentales que definen a la ferroptosis es la acumulación de hierro y la peroxidación lipídica. La ferroptosis depende de los radicales libres de oxígeno (ROS) que se asocian a estas marcas.

Los mecanismos de la ferroptosis inhiben los sistemas antioxidantes conforme aumenta la concentración de hierro y con ello se incrementan los daños oxidativos. No está claro por qué el hierro, y no otros metales como el zinc, tiene la capacidad de inducir ferroptosis.

La peroxidación lipídica está provocada por la presencia de ROS y afecta principalmente a los lípidos insaturados de la membrana celular. A pesar de que la mitocondria sufre grandes cambios en este proceso, no se ha encontrado peroxidación de la cardiolipina (lípidos exclusivos de las membranas mitocondriales y bacterianas).

Características genéticas

La sobreexpresión de algunos genes se considera un marcador de la ferroptosis como los genes de la prostaglandín-endoperoxidase sintasa 2 (PTGS2/COX2), el miembro 4 de la familia de las acil-CoA sintetasa de cadena larga (ACSL4) y, genes relacionados con la regulación de la actividad oxidante y limitar el daño de la membrana ante la

peroxidación. Según el equilibrio entre señales pro-oxidativas y anti-oxidativas la célula entra o no en ferroptosis ante un estímulo.

Características inmunológicas

La situación inmunológica de un humano que está sufriendo algún tipo de proceso ferroptótico dependerá de si está afectando a leucocitos o no. En caso de que las células estén afectando a leucocitos, habrá una pérdida de la función inmunitaria favoreciendo las infecciones víricas o parasíticas.

En caso de que se vean afectadas otras células, se activaran procesos inflamatorios donde participan macrófagos por la liberación de señales DAMP (*damage-associated molecular pattern*).

Inducción de la ferroptosis

Los distintos factores que inducen ferroptosis afectan directa o indirectamente a la enzima glutatión peroxidasa por diferentes vías con un descenso en su capacidad antioxidante. Con ello aumenta la concentración de ROS, resultando en una muerte celular oxidativa^[4].

Supresión del sistema Xc-

El sistema Xc- es un heterodímero que conforma un antiportador. Este antiportador introduce cistina y expulsa glutamato de la célula. Esta cistina se reduce a cisteína en el interior celular y se dirige a la síntesis de glutatión (GSH). Una de las funciones más importantes del GSH contrarrestar la actividad de las glutatión peroxidadas (GPXs).

El gen P53 puede inhibir el sistema Xc- (reduce la expresión de uno de sus monómeros) con lo que se reduce la entrada de cistina e inactivando a las GPXs.

Así, se acumulan lípidos peroxidados que provocan la ferroptosis.

Supresión de GPX4

La GPX4 es la enzima del tipo GPX más importante en los procesos de ferroptosis regulándola negativamente. La GPX4 reduce los peróxidos de lípidos en el alcohol correspondiente oxidando el GSH.

Compuestos como RSL3, DP17 o DPI10 afectan directamente a GPX4 induciendo ferroptosis. También se regula la expresión génica, así, cuanto menor producción de GPX4 haya, más susceptible a ferroptosis será una célula. Además, es muy importante para su función una selenocisteína de su centro activo, así que solo se producirá GPX4 funcional cuando haya disponible selenocisteín-tRNA. La inhibición de la vía del mevalonato (MVA) reduce la síntesis de selenocisteín-tRNA y con ello induce a ferroptosis.

La proteína supresora de ferroptosis 1 (FSP1)

Se trata de una proteína que cuando es miristoilada es reclutada al citoplasma, donde actúa reduciendo a la ubiquinona-10 (COQ10), que actúa como anti-oxidante. Además, se relaciona con la vía MVA que tiene como producto a la COQ10 oxidada.

Metabolismo del hierro

El metabolismo del hierro en las células guarda un equilibrio homeostático importante donde se recicla el hierro en sus formas Fe³⁺ y Fe²⁺. El Fe³⁺ se une a la transferrina (TF) de las membranas celulares, este complejo se endocita y se reduce a Fe²⁺. Este hierro se almacena en un pool inestable (LIP). En principio el exceso de Fe²⁺ se puede oxidar por la ferroportina (FPN) y ser expulsado de la célula; pero, en caso de que este reciclaje no se dé adecuadamente, podrá ocurrir la reacción de Fenton y entrar en ferroptosis (Figura 1).

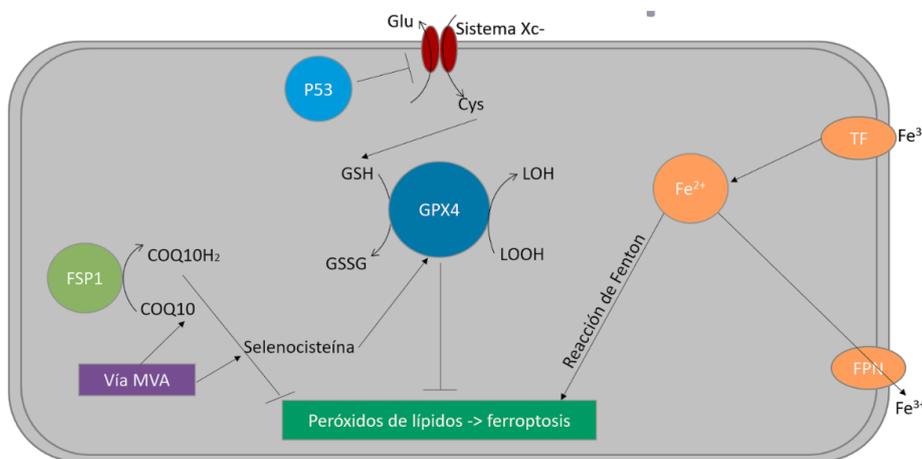


Figura 1. Principales vías de inducción de la ferroptosis. Realizado por Carlos Ulises Cárdenas Vela.

Ferroptosis en la salud y la enfermedad

Desde que los microorganismos adoptaron vías metabólicas aeróbicas, el hierro se convirtió en un catalizador fundamental de estas reacciones. Como resultado de estas reacciones es inevitable la aparición de ROS, por lo que las vías de inducción de la ferroptosis nos indican un posible origen evolutivo de la misma. Con ello, han ido apareciendo en la historia de la evolución varios sistemas de regulación que han protegido a las células de la ferroptosis^[3].

Durante mucho tiempo se pensó que las ROS y los peróxidos de lípidos eran solo productos secundarios tóxicos del metabolismo; pero ahora se sabe que cumplen importantes funciones fisiológicas. Del mismo modo, se puede pensar que la ferroptosis pueda haber sido adaptada para ser beneficiosa en los organismos.

Ferroptosis e inflamación

Se ha observado que los procesos de ferroptosis pueden ser tanto proinflamatorios como antiinfla-

matorios^[5]. Esto implica que es posible utilizar la ferroptosis como una potencial terapia ante enfermedades de tipo inflamatoria; pero para ello habrá que comprender bien las diferencias moleculares que diferencian una ferroptosis proinflamatoria de una antiinflamatoria y que hasta ahora no están del todo claras.

La ferroptosis puede provocar inflamación porque es un tipo de muerte celular inmunogénica. A diferencia de la apoptosis, la ferroptosis no es una muerte celular silenciosa, las células ferroptóticas liberan citoquinas y DAMPs que dejan al medio extracelular en un estado proinflamatorio. Además, la ferroptosis también estimula el metabolismo del ácido araquidónico (AA) a nivel transcelular liberando muchos intermediarios lipídicos oxidados (Figura 2).

En las células cutáneas parece ser que ocurre lo contrario. Moléculas como la ceramida reducen el número de selenoproteínas como las GPXs (aumentan las ROS) y cuando no aparecen, ocurren enfermedades inflamatorias cutáneas.

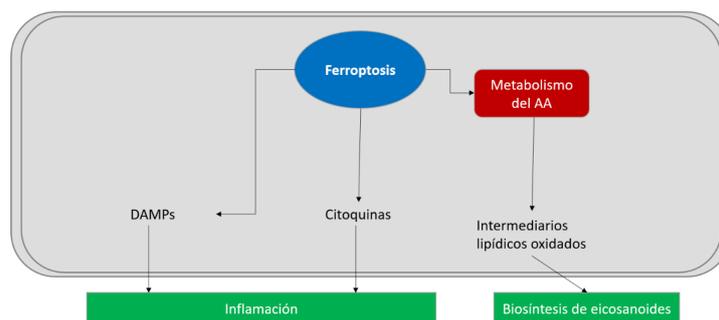


Figura 2. Ferroptosis e inflamación. Realizado por Carlos Ulises Cárdenas Vela.

Ferroptosis y cáncer

Es razonable pensar que la ferroptosis tiene fisiológicamente una función antitumoral; pues muchos supresores de tumores han mostrado capacidad para sensibilizar las células tumorales ante estímulos ferroptóticos^[3].

El futuro de la ferroptosis además es prometedor a nivel de tratamientos contra el cáncer; pero dada la heterogeneidad tumoral se debería combinar con otras terapias para que tenga una respuesta terapéutica in vivo suficiente como para acabar con el tumor sin que haya peligro de recurrencia y/o metástasis^[2]. Además, la combinación con otras terapias reduce los potenciales efectos secundarios tóxicos.

Una ventaja que tiene la ferroptosis sobre terapias como la quimioterapia o la termoterapia (basadas en apoptosis y necrosis) es que se dirige más efectivamente a las células cancerosas. Las células tumorales gracias a que requieren mayor aporte de hierro por su rápido metabolismo son más susceptibles a peroxi-

dación catalizada por hierro. El único inconveniente que existe para esta terapia es sus malas propiedades farmacológicas, las moléculas pro-ferroptóticas son poco solubles en agua y tienen una vida corta en sangre; por lo que deberán desarrollarse tecnologías que permitan superar esta problemática si se quiere utilizar como terapia.

Ensayos para medir la respuesta ferroptótica

Existen muchos métodos que permiten medir la respuesta ferroptótica de forma sencilla *in vitro*, pero es complicado medirla *in vivo*.

Para medir la cantidad de hierro se puede usar técnicas como indicadores fluorescentes (Ferrum 430, Ferrum 560 y Ursa 520-R permiten cuantificar Fe³⁺, el Phen Green SK permite cuantificar Fe²⁺ y otros iones) o anticuerpos para moléculas de membrana

relacionadas con el metabolismo del hierro (inmuno-histoquímica).

Detectar la presencia de peróxidos de lípidos es posible cuantificándolos directamente, cuantificando sus aldehídos y cuantificando antioxidantes. Para ello se pueden usar reactivos fluorescentes que interaccionan con los compuestos a cuantificar, usar espectrometría de masas o inmunohistoquímica.

A modo de conclusión

Es evidente que todavía quedan muchas cuestiones que aclarar sobre la ferroptosis, pero su papel fundamental en tantos organismos vivos es una muestra de su gran potencial terapéutico, y en especial en el cáncer. El hecho de que posiblemente sea una de las primeras muertes celulares programadas que aparecieran en la historia de la vida con la oxigenación de la atmósfera, no hace más que mostrar que probablemente tenga relación con otros numerosos procesos biológicos y que su comprensión nos acercará a un mejor entendimiento de la fisiología celular.

Referencias

- [1] Chen, X., Yu, C., Kang, R., & Tang, D. (2020). Iron metabolism in ferroptosis. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8, 590226.
- [2] Dong, Y. B., Guan, Q., & Zhou, L. L. (2021). Ferroptosis in cancer therapeutics: A materials chemistry perspective. *Journal of Materials Chemistry B*.
- [3] Jiang, X., Stockwell, B. R., & Conrad, M. (2021). Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 22(4), 266-282.
- [4] Li, J., Cao, F., Yin, H. L., Huang, Z. J., Lin, Z. T., Mao, N., Sun, B. & Wang, G. (2020). Ferroptosis: past, present and future. *Cell Death & Disease*, 11(2), 1-13.
- [5] Sun, Y., Chen, P., Zhai, B., Zhang, M., Xiang, Y., Fang, J., Xu, S., Gao, Y., Chen, X. Sui, X. & Li, G. (2020). The emerging role of ferroptosis in inflammation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 127, 110108.
- [6] Tang, D., & Kroemer, G. (2020). *Ferroptosis*. *Current Biology*, 30(21), R1292-R1297.
- [7] Tang, D., Chen, X., Kang, R., & Kroemer, G. (2021). Ferroptosis: molecular mechanisms and health implications. *Cell Research*, 31(2), 107-125.

Anecdotalario científico

ESTO VA DE UN RUSO QUE MONTA UN POLLO CON LA LUZ EN ESTADOS UNIDOS PARA ESTUDIAR LA HIPÓFISIS

Este artículo no va de echar la culpa a Vladimir Putin de que tengamos a luz a precio de oro ni nos vamos a meter con él por la guerra de Ucrania, sino que nos referiremos a Andrew Vladimir Nalbandov (1912-1986), un ruso huido de la península de Crimea allá por 1917 por pertenecer a una familia adinerada en la que su padre era botánico, arquitecto y abogado, y trabajó para el gobierno zarista antes de la revolución. Nalbandov estudió en el exilio y dio con sus huesos en Estados Unidos en 1935, donde se llegó a convertir en un líder de la fisiología aviar (aunque, sorprendentemente, no tenga ninguna entrada en la Wikipedia). El caso que nos ocupa es de 1940, cuando andaba enfrascado en saber para qué valía la **hipófisis**. Este órgano ya lo describieron los romanos como **glándula pineal** porque decían que se parecía a un piñón, y en él alojó Descartes (con poco tino) el alma y el origen de los pensamientos. Hoy sabemos que es clave para la integración hormonal entre el sistema nervioso y el resto del cuerpo. ¡Ah! Que aunque se llame en inglés *pituitary*, no es la \otimes pituitaria. El lío surge porque Vesalio acuñó en 1543 el término *glandula pituitam excipientis* en su libro *De Humani Corporis Fabrica* para lo que creyó que producía la secreción mucosa nasal (en latín *pituita*). Aunque pronto se reconociera su error, los términos *pituitary* y *pituitary gland* se conservaron en inglés. En español siempre se ha preferido **hipófisis** para la glándula y **pituitaria** para la mucosa nasal productora de moco hasta que las traducciones literales del inglés nos han 'moqueado' la glándula de nuevo.

La única estrategia con la que contaba Nalbandov en esa época para saber qué hacía ese órgano era la hipofisectomía (extirpación quirúrgica de la hipófisis). El problema radicaba en su difícil realización por estar justo debajo del cerebro. Por si esto no bastara, los pollos se le morían a los pocos días de la extirpación. Nalbandov se había resignado a hacer unos experimentos a corto plazo, pero estaba a punto de abandonar esta estresante dinámica cuando, como la mejor de las leyes de Murphy, los pollos empezaron a sobrevivir hipofisectomizados al menos tres semanas, y muchos llegaban hasta los seis meses. El muy ingenuo creyó que era porque de pronto había mejorado la técnica quirúrgica. Pero igual que empezaron a sobrevivir sin previo aviso, también empezaron a morir de un día para otro, sin previo aviso, tanto los recién operados como los que llevaban meses vivos. Después de muchos

fracasos, volvió a tener otro periodo bueno, pero seguía sin saber por qué. Hasta que una noche, muy tarde, cuando volvía a las 2 de la madrugada de una fiesta (sí, hay vida más allá del laboratorio), vio que las luces de la sala de animales estaban encendidas. Entró a apagarlas pensando que era culpa de algún estudiante descuidado. Pero volvió a ver las luces encendidas otra noche que volvía de jarana (desde luego, había mucha mucha vida fuera de su laboratorio), así que investigó por qué no estaban apagadas.

ANDREAE VESALII
BRUXELLENSIS DE HUMANI CORPORIS
FABRICA LIBER SEPTIMVS, CEREBRO AN-
MALIS FACULTATIS FEDI & SENSIUM ORGANIS DEDICATUS, & MOX IN INITIO OMNES
PROPRIETATUM IPIUS FIGURAS, UTI & DUO PROXIMÉ PRÆCEDEN-
TES LIBRI, COMMONSTRANS.
PRIMA SEPTIMI LIBRI FIGVRA.



Portada del séptimo libro que forma parte del *De Humani Corporis Fabrica* de Vesalio correspondiente al cerebro.

Resultó que había un conserje suplente que, al hacer la ronda nocturna, se 'acongojaba' un poco y prefería dejar encendidas las luces de la sala de los pollos para encontrar la salida que estaba en el otro extremo con respecto al interruptor. Al fijarse en los periodos de trabajo de este conserje, comprobó que coincidían con las épocas de enorme supervivencia de los animales hipofisectomizados. Nalbandov diseñó unos experimentos que demostraron que los pollos se morían en oscuridad nocturna, pero con luz casi continua, sobrevivían. También dio con la explicación fisiológica: los pollos en la oscuridad no comían, por lo que desarrollaban una hipoglucemia de la que no se recuperaban durante las horas de luz y morían. En cambio, en luz continua no dejaban de alimentarse, la glucemia se mantenía estable y sobrevivían. **Por eso, hoy hay que indicar en todos los trabajos científicos el número de horas de luz**

y oscuridad de los animalarios e invernaderos, no de la iluminación.
vaya a ser que nos encontremos otro efecto inesperado

Para saber más:

Beveridge, W. I. B (1960) *The art of scientific investigations*. Ed Heinemann, Londres.

Gratzer, W. (2004) *Eurekas y euforias. Cómo entender la ciencia a través de sus anécdotas*. Ed. Crítica.

López-Muñoz, F., Rubio, G., Molina, J. D. y Álamo, C. (2012) La glándula pineal como instrumento físico de las facultades del alma: una conexión histórica persistente. *Neurología* 27(3), 161-168.

Navarro, F. A. (2022) *Diccionario de dudas y dificultades de traducción del inglés médico (4.ª edición)*. Ed Cosnautas <https://www.cosnautas.com/es/libro> [consulta 19-IV-22]

Ramos Alonso, J. (2011) *La nariz de Charles Darwin y otras historias de la neurociencia*. Ed. Guadalmazán, Córdoba.

M. GONZALO CLAROS
Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Universidad de Málaga

DEL GENOMA HUMANO A SU PANGENOMA PASANDO POR LOS CONSORCIOS ENCODE Y T2T

por M. GONZALO CLAROS

CATEDRÁTICO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA.

CONTACTO: CLAROS@UMA.ES

Enviado: 25/4/2022

RESUMEN: Llevamos 21 años explotando un genoma humano quimérico lleno de huecos. Afortunadamente, sabemos que hay mucho más que genes codificantes gracias a que el consorcio ENCODE lo ha escudriñado a fondo. Entre los hallazgos más inesperados están que más del 75 % del genoma se transcribe, que cada gen sufre 6,3 tipos de ajuste alternativo y fabrica 4 transcritos distintos, que tenemos muchísimas regiones reguladoras repartidas por el genoma y, lo más sorprendente de todo, que desde el punto de vista transcripcional solo tenemos cinco tipos de células diferentes. En estos 21 años no solo hemos mejorado aquella primera secuencia y conocemos mejor para qué sirven las secuencias genómicas, sino que también hemos pasado de una secuenciación indiscriminada preamplificada de lecturas cortas (75 a 600 nt) a una secuenciación molécula a molécula que proporciona miles de bases contiguas. Gracias a ello se acaba de publicar el primer genoma humano completo (salvo el cromosoma Y), no quimérico y sin huecos, que está abriendo nuevas puertas a la genómica y la medicina, incluida la obtención del pangenoma humano que recoja toda la diversidad genética de nuestra especie.

ABSTRACT: We have been exploiting a chimeric human genome full of gaps for 21 years. Fortunately, we know that the genome has more than coding genes because the ENCODE Consortium scrutinised it in depth. Among the most unexpected findings are that more than 75 % of the genome is transcribed, that each gene undergoes 6.3 types of alternative splicing and makes 4 different transcripts, that there are many, many regulatory regions scattered throughout the genome and, the most surprising of all, that there are only five transcriptionally different cell types. In these 21 years, the initial sequence has been improved and a better understanding of what genomic sequences are for was achieved. But research has also moved from indiscriminate pre-amplified sequencing of short reads (75 to 600 nt) to single molecule sequencing that provides thousands of contiguous bases. Consequently, the first complete, non-chimeric, human genome (except for the Y chromosome) without gaps has just been published, opening new doors to genomics and medicine, including obtaining the human pangenome to gather the whole genetic diversity of our species.

Las verdades de la razón, una vez consolidadas en nuestra mente, debían prevalecer sobre las creencias irracionales que convenían a los ignorantes y les proporcionaba consuelo.

– Ramón Muñoz-Chápuli, *El sueño del anticristo*

structure has novel features which are of considerable biological interest.

Hace «tan solo» 21 años, el 15 de febrero de 2001, impulsado por el mismo Watson, se publicó en *Nature* el primer borrador del genoma humano gracias al Consorcio Internacional para la Secuenciación del Genoma Humano^[18]. Ese mismo día se publicaba en *Science* otro borrador de otro genoma elaborado por Celera Genomics de la mano de Craig Venter^[33]. Ambos borradores estaban llenos de huecos e incertidumbres. Muy poco después, en 2004, se dio el primero por completado^[15] a pesar de que solo abarcaba el 96 % de la eucromatina. Nota deprimente: ni un solo laboratorio español contribuyó en nada a este primer genoma humano.

Poco a poco se ha ido mejorando y refinando gracias a los avances de la tecnología de secuenciación y la bioinformática, hasta obtener la versión actual (GRCh38) elaborada por el [Genome Reference Con-](#)

Cómo llegamos al primer genoma humano:

El 25 de abril de 1953, hace nada menos que 69 años, Watson y Crick publicaron en *Nature* el artículo donde se describían las cuatro características incuestionadas de la estructura del DNA^[35]. Comenzaba con un párrafo que para algunos sería hoy una herejía al usar la primera persona del plural en inglés en lugar de la infame voz pasiva:

We wish to suggest a structure for the salt of deoxyribose acid (D.N.A.). This

sortium (GRC) en 2013 y revisada por última vez en 2019. El GRC ya veía poco margen de mejora porque la tecnología de **secuenciación indiscriminada** (→ *shotgun sequencing*) de lecturas cortas no daba más de sí.

Cualquier investigador tiene claro que la secuencia de un genoma no basta: para que resulte útil debemos conocer qué hay en ella y, a ser posible, con una resolución nucleotídica. Desde el primer borrador de 2001, quedamos sorprendidos (y los homocentristas deprimidos) porque:

1. solo teníamos entre 30 000 y 40 000 genes, muchos de los cuales se parecerían a los de otros vertebrados e incluso de las bacterias (¡a ver si vamos a ser transgénicos!);
2. la mitad del genoma derivaba de transposones;
3. se detectaron 1,4 millones de polimorfismos (para unos, mucho, pero poco para otros); y
4. había más pseudogenes y RNA no codificantes (que por entonces no se entendían muy bien qué pintaban ahí) de los que nos parecían razonables.

Cuando se completó el primer ensamblaje en 2004^[15] la situación fue a peor porque se estimó que la parte codificante de nuestro genoma no superaba el 2%, muy lejos del 10% que los más optimistas proponían a finales del siglo XX. También se rebajó significativamente el número de genes codificantes a tan solo 20 000 (nada que ver con los 100 000 que se suponía que teníamos antes de ponernos a secuenciar).

La versión más reciente del GRCh38 es de 2019 (**GRCh38.p13**) y sus principales rasgos son:

1. 3 096 649 726 pb de longitud;
2. 20 442 genes codificantes (aunque se le han predicho 51 756);
3. 23 982 genes no codificantes (la mayoría [16 896] largos);
4. 15 228 pseudogenes;
5. 237 081 transcritos diferentes sintetizados; y
6. 84 277 proteínas distintas traducidas, un número curiosamente cercano a la creencia inicial de que teníamos 100 000 genes distintos porque, ilusos de nosotros, estábamos convencidos de que un gen solo daba una proteína.

En febrero de 2022 se acaba de liberar una nueva revisión (y van 29) que responde a la secuencia **GCA_000001405.29** del futuro GRCh38.p14 con 208 688 nucleótidos menos. O igual no...

¿Que hay en un genoma con tan pocos genes?:

Como un ridículo 2% del genoma codificaba una cantidad tan irrisoria de genes, los científicos se preguntaron rápidamente qué había en ese 98% no codificante que denominábamos peyorativamente **DNA basura** (→ *junk DNA*) con ese homocentrismo típico que nos hace pensar que lo que no conocemos no tiene ningún valor, como ocurría en su día con las amígdalas, la apéndice, las malas hierbas, las alimañas, y tantas otras cosas (ojo, que hay quien propone recobrar este concepto y añadir otro denominado *spam DNA* para esas secuencias que perduran en el genoma de las especies sin ninguna utilidad aparente^[9]). De ahí nació en setiembre de 2003, impulsado por el National Human Genome Research Institute (NHGRI) estadounidense, el **consorcio ENCODE** (Encyclopedia of DNA Elements → **Enciclopedia de Elementos del DNA**) con el objetivo de catalogar los elementos funcionales y entender qué razones hay para replicar una y otra vez tanto genoma lleno de «basura». En 2007, el puñado de investigadores de laboratorio y bioinformáticos que intervino en la **fase piloto (ROADMAP)** del proyecto ENCODE publicó los resultados sobre un 1% del genoma (unas 30 Mb) de unas pocas líneas celulares en cultivo^[7].

En primer lugar, catalogaron las regiones del genoma que se transcribían en algún tipo de RNA (tanto codificante como no codificante). Llamó la atención que prácticamente todo el genoma se transcribiera (incluidas regiones que se creían silenciosas), y que había zonas donde se transcribían ambas hebras. A continuación buscaron las secuencias que regulaban tanto transcrito y vieron que, como cabía esperar, eran muy accesibles a las exonucleasas, a factores de transcripción y a enzimas modificadoras del DNA, y recibieron el nombre de **CRE** (*cis-regulatory elements* → **regiones reguladoras en cis**). No hay que confundir estas CRE con las secuencias CRE procariontas (*cAMP response elements* → **elementos de respuesta al AMPc**^[25]), aunque yo creo que en el subconsciente de los autores sí había alguna relación entre ellas. Como comprobaron que los CRE estaban distribuidos simétricamente en torno a los inicios de transcripción, sin ningún tipo de sesgo hacia un lado u otro, los clasificaron en dos grandes grupos:

- **promotores** (→ *promoters*) cuando se sitúan sobre el inicio de transcripción;
- **potenciadores** (o intensificadores, → *enhancer*) cuando están muy alejados del inicio y son más sensibles a la DNasa I.

Otra importante consecuencia de este estudio piloto la sufrió el concepto de gen, que obligó a redefinir como ‘unidad mínima heredada’ debido a que gran parte del genoma que hasta entonces se creía que no valía para nada se dedicaba a regular, con consecuencias fenotípicas nada despreciables (incluidas las enfermedades). Todas estas revelaciones despertaron aún más el interés por ese genoma no codificante, así que se acabaron implicando en el proyecto 440 investigadores repartidos por 32 centros de investigación del planeta (esta vez sí participaron grupos españoles).

El éxito del estudio piloto de ENCODE también impulsó el **proyecto GENCODE** (*encyclopaedia of genes and gene variants* → **enciclopedia de genes y variantes génicas**) liderado por The Wellcome Sanger Institute en Hinxton (Reino Unido) para identificar y localizar todos los posibles genes del genoma humano y del ratón mediante la combinación de análisis computacionales, anotación manual y validación experimental. Los primeros resultados aparecieron en 2006^[13], gracias a lo cual llevan encadenados varios exitosos proyectos, con la incorporación de investigadores de todo el mundo. Ambos consorcios siguen activos, se intercambian información, y todas sus anotaciones se ofrecen desde sus portales de la **Enciclopedia ENCODE** y del **proyecto GENCODE**, y se incorporan en las bases de datos de **Ensembl** y el **UCSC Genome Browser**, así como en su **espejo europeo**.

ENCODE entra en la fase de producción:

En 2012, la sociedad y los científicos nos quedamos sorprendidos por la publicación simultánea de 5 artículos en *Nature*, más otros 6 en *Genome Biology* y otros 18 en un número especial de *Genome Research*, sobre la segunda fase de ENCODE^[6]. En ella, extendieron lo puesto a punto en fase piloto por todo el genoma con muchas más (147) líneas celulares de humano y se generaron 1 640 conjuntos de datos.

Lo más sobresaliente fue la confirmación de que se transcribe el 75 % del genoma, una transcripción que se solapa tanto en las regiones codificantes como en las no codificantes. Estimaron que, de promedio, cada gen sufría 6,3 tipos de **ajuste alternativo** (→ *alternative splicing*) y fabricaba 4 transcritos distintos. También le dieron función (principalmente reguladora) al 80,4 % del DNA que hasta entonces se consideraba [⊗]basura, lo que supuso otro empujón al destierro de este término del vocabulario genómico). Se estimó que había 70 292 promotores para 20 687 genes (estos valores van variando en las nuevas versiones), cuya regulación dependía de 399 124

potenciadores (de los que solo unos 200 000 parecen activos en cada tipo celular). Se localizaron 8 801 ncRNA y 9 640 lncRNA, así como 11 224 seudogenes, de los que se transcribían solo 863 (¡o nada menos!). Resultó también sorprendente que muchísimos polimorfismos asociados a una enfermedad no se hallaran en las regiones codificantes, sino fuera de ellas, cerca o dentro de los CRE. De hecho, se identificaron más de 8,4 millones de secuencias a las que se unía algún factor de transcripción (para que nos hagamos una idea de su tamaño, ocupan el doble de secuencia que el exoma humano). Hasta ENCODE, para explicar los parecidos entre especies y las enfermedades se ponía el foco en las regiones codificantes de los genes, pero ahora empieza a centrarse en las secuencias reguladoras.

Impulsados por unos hallazgos tan reveladores y llamativos, muchos investigadores se plantearon que se deberían aplicar las mismas estrategias a otros seres vivos. Así, en 2014 aparecen los resultados para el genoma de ratón^[38] basados en 100 tipos de células y tejidos. La gran noticia fue que no solo se confirmaba todo lo novedoso del genoma humano sobre las secuencias funcionales, sino que la organización a gran escala de ambos genomas era muy parecida. Resultó especialmente llamativo que se conservara bastante la red de factores de transcripción reguladores, mientras que divergieran los CRE reconocidos en cada especie. También se confirmó que las secuencias con las que se distinguía mejor un genoma humano del de ratón descansaban en las secuencias repetitivas, no en las codificantes ni en las únicas. Por tanto, ya **empezamos a explicarnos cómo actúan las fuerzas evolutivas sobre los genes y su regulación**, y qué mecanismos de las enfermedades humanas compartimos con otros mamíferos.

Surgen los primeros disidentes:

No toda la comunidad científica admite las conclusiones de ENCODE tal como se cuentan^[11]. Muchos defienden que buena parte de esa enorme cantidad de transcritos carece de actividad o utilidad biológica, que no son más que errores de la RNA—polimerasa, que reconoce como promotores secuencias que no lo son. La crítica más sólida indica que se abusa del concepto de función al afirmar que basta con que se cumpla alguna de las siguientes ‘circunstancias’:

1. se transcribe (eso implica que todos los intrones son funcionales),
2. está en una zona accesible de la cromatina,
3. se le acoplan factores de transcripción, o
4. contiene dinucleótidos CpG metilados

Los detractores de ENCODE afirman que esta visión simplista de una secuencia reguladora no implica que sirva para regular, ni tan siquiera que lo haga. A diferencia de los negacionistas de la COVID-19, estos críticos aportan un respaldo experimental serio^[11]: en el último siglo, la genética ha demostrado que sólo el 10% del genoma humano se ha conservado evolutivamente gracias a la selección, por lo que hay un 70% de dudosa utilidad dado que las mutaciones en él no parecen alterar el funcionamiento de la célula.

ENCODE 3 durante la pandemia:

En julio de 2020, en plena pandemia de COVID-19, se publicó la tercera fase del proyecto ENCODE para humano y ratón en la que han intervenido unos 500 científicos de todo el mundo, incluida España^[8]. Como en el caso anterior, se publican de golpe todos los artículos, 9 de ellos en la revista *Nature*, y 5 más en otras del grupo. La lista completa junto con el resumen de los hallazgos se puede consultar en <http://go.nature.com/encode>. El estudio se ha completado con datos procedentes de 5 992 experimentos realizados con 13 069 muestras de células tomadas directamente de 503 tipos de células y tejidos de humano y de ratón. También hay otra novedad: se caracterizan los **CRE que aparecen en los ARN**, así como la **estructura 3D de la cromatina celular** (formación de bucles de cromatina que acercan los CRE a los genes que regulan). Pero por mucho que se expanda el catálogo de CRE, dado que muchos actúan solo en algunos tipos celulares o en momentos concretos, seguimos sin saber si ya los conocemos todos o si siguen faltándonos algunos. No obstante, las anotaciones de ENCODE ya se han convertido en la herramienta por antonomasia con la que conocer la regulación génica y la predisposición genética a las enfermedades. Por eso ya está ya en marcha la cuarta fase del proyecto en la que se incorporarán nuevas tecnologías (sobre todo las basadas en analizar las células una a una y la genómica funcional de alto rendimiento) y más tipos de células (incluidos los tejidos y las enfermedades poco frecuentes). Mientras tanto, vamos a comentar brevemente estos últimos hallazgos tan relevantes.

Registro exhaustivo de elementos funcionales del genoma. Este catálogo se puede consultar y descargar en el portal **SCREEN**, donde se recogen más de 1 200 000 cCRE (*candidate cis-regulatory elements* → **candidate a regiones reguladoras en cis**) en el genoma de humano (929 535) y de ratón (339 815), que representan el 7,9% y el 3,4% del genoma de

cada especie, respectivamente. Además, con la integración del estudio *in vivo* e *in vitro* de la interacción de las proteínas con el RNA han podido determinar el efecto que algunos CRE de ARN tienen sobre la estabilidad del transcrito y sobre el ajuste alternativo. También fue sorprendente observar que casi la mitad de las proteínas que se fijaban al RNA interaccionaban también con el DNA, aunque no sobre la misma secuencia. Seguro que ya estás pensando en la cantidad de conocimientos básicos sobre los procesos biológicos que aporta este registro, que también servirá para conocer mejor la salud y las enfermedades, y a destripar cómo los gobiernan los cCRE.

Los CRE y la topología del genoma. La mayoría de los CRE están ocupados por varios factores de transcripción que se unen de manera independiente y bien espaciada. Pero no todos los CRE están igual de ocupados, sino que entre promotores y potenciadores hay unos 5 000 CRE «calientes» (por el acrónimo **HOT** (*highly occupied target* → **dianas muy ocupadas**) en claro juego de palabras con los conocidos **puntos calientes** (→ *hot spot*) de los procariontes) en los que se fijan muchísimos factores de transcripción. Las interacciones de los CRE de la cromatina y los RNA con las proteínas forman bucles que pueden ser transitorios, específicos o característicos. Estos bucles acercan los CRE a los genes que regulan, por lo que su alteración cambiará la expresión génica. También se ha demostrado que los genes de mantenimiento están sujetos a la regulación de pocos CRE: su expresión estable y constante se ve favorecida por los circuitos de regulación sencillos. En cambio, se necesita la coordinación más compleja de muchos CRE para la regulación fina de ciertos genes. Sorprendentemente, con los bucles también se regula el ajuste de los genes para determinar qué exones e intrones se van a retener en el transcrito maduro.

Los datos que se conocen de los ratones en las situaciones que se hacen difíciles de estudiar en los humanos han demostrado lo valioso que resulta el estudio de los CRE en los animales. Por ejemplo, en los fetos murinos se ha observado que, a medida que avanza el desarrollo, se van desmetilando los CRE de la cromatina para instaurar nuevos modos de regulación génica rápidos y flexibles por la modificación de las histonas y por la accesibilidad de la cromatina. Así se espera conocer las bases moleculares de cCRE y genes que pueden ser responsables de los trastornos del desarrollo en los humanos, puesto que se ha visto que en los equivalentes humanos de los cCRE murinos de desarrollo se ubican muchas variantes asociadas a enfermedades relevantes.

Solo hay cinco tipos de células. En una de las publicaciones, esta vez en *Genome Research*, el grupo de investigación de Thomas Gingeras del Laboratorio Cold Spring Harbor (CHSL) de EE UU y el de Roderic Guigó del CRG de Barcelona concluyen que, en función del perfil de expresión de los genes (lo que denominamos el transcriptoma), en el cuerpo humano solo tenemos, contra todo pronóstico, cinco grupos de células diferentes, en lugar de presentar tantos perfiles como tejidos (que es lo que se esperaba). También comprobaron que la composición del transcriptoma tisular cambia con la edad, el sexo, y las enfermedades (esto, en cambio, no sorprendió nada). Está claro que se podrá conocer qué ocurre dentro de una célula normal y de una enferma, envejecida prematuramente, etc., y distinguir así entre los individuos enfermos y los saludables. También se han abordado estudios de perfiles de expresión de los genes en cada una de las células de un tejido. Cuando estos resultados por célula se integraron con los resultados por tejido, se consiguió predecir los CRE activos en cada uno de sus tipos de células.

Entonces llegó el consorcio T2T:

Seguro que muchos pensáis que tenemos un genoma completo y bien anotado en el que no caben muchas mejoras. Pero dijimos que tenía huecos irresolubles por culpa de la tecnología disponible. De ahí surge el Consorcio T2T (*telomere-to-telomere* → **de telómero a telómero**) —formado por más de 100 investigadores de todo el mundo, incluida España, y organizado entre la bióloga Karen Miga, profesora ayudante en la Universidad de California en Santa Cruz, y el bioinformático Adam Phillippy, investigador titular en el NHGRI (National Human Genome Research Institute → **Instituto Nacional de Investigación del Genoma Humano**), ambos en EE UU— con el objetivo de conseguir una secuencia completa y contigua de cada cromosoma, de telómero a telómero (T2T). Para ello había que cambiar de estrategia y echaron mano de las tecnologías de secuenciación más vanguardistas de Oxford Nanopore y de Pacific Biosciences capaces de secuenciar de un tirón moléculas muy largas. Lo primero que hicieron fue dedicarse a resolver lo más complicado: las secuencias teloméricas, subteloméricas y centroméricas. Así presentaron en 2018 el centrómero del cromosoma Y^[16], luego en 2020 la secuencia completa del cromosoma X^[24], y al año siguiente otro cromosoma entero, el cromosoma 8^[19]. Otras regiones repetitivas, sobre todo la que codifica los miles de copias de los rRNA (RNA ribo-

sómicos), que parecían imposibles de resolver^[22] han dejado por fin de ser un obstáculo.

El consorcio T2T prepublicó en mayo de 2021 un nuevo hito: la secuenciación completa, de telómero a telómero, de todos los cromosomas del genoma humano de la línea celular uniformemente homocigota CHM13hTERT derivada de la línea CHM13 (*complete hydatidiform mole* → **mola hidatiforme completa**, que es un tumor derivado de un embrión humano que rechazó el ADN de su padre y duplicó el de su madre)^[37] del hospital Magee-Womens de Pittsburgh EE UU)^[24]. El único defecto es que falta el cromosoma Y (si fuera una línea masculina no sería totalmente homocigota, ya que los cromosomas X e Y no son idénticos)^[26]. La primera versión, denominada T2T-CHM13 v1.0, contenía unos 200 millones de pares de bases nuevos con 115 genes codificantes que no estaban en el GRCh38.p13. La evolución de las versiones del T2T-CHM13, así como los artículos que los autores van publicando sobre él, van apareciendo en **su portal de GitHub**.

Casi un año después, este marzo de 2022, apareció publicado definitivamente el trabajo en la revista *Science*^[27] con ciertas mejoras sobre la prepublicación tanto en la secuencia como en la identificación de genes nuevos, que pasa a ser de 1956, de los cuales tan solo 99 codifican proteínas. En la **tabla 2** del artículo hacen una comparación exhaustiva con el genoma GRCh38. Los interesados en navegar por este genoma completo lo pueden hacer en el **UCSC Genome Browser** (el servidor de genomas de la Universidad de California en Santa Fe antes mencionado). En pocas palabras: se ha aumentado ligeramente el número de genes totales, el de genes codificantes, el de genes exclusivos, y el número de transcritos y proteínas que se pueden sintetizar.

Las mejoras introducidas por el T2T-CHM13 v2.0 se ven claramente en **la figura 1** del artículo de Nurk y colaboradores (2022)^[27].

Aunque en el artículo de *Science* se contempla también el análisis de las regiones repetitivas, dado que la línea de investigación de Karen Miga se centra en el DNA satélite, es en el de Hoyt y colaboradores^[14] donde las describen exhaustivamente:

- 43 repeticiones y variantes nuevas;
- 19 estructuras repetitivas complejas (muchas de ellas con genes en su interior);
- que se transcriben muchas menos regiones satélites que repeticiones transposónicas;

- que las repeticiones transposónicas sirven de frontera para la expansión de la metilación de los islotes CpG y los centrómeros;
- que las regiones repetitivas son hipervariables entre los humanos (aunque ya lo suponíamos).

Todo esto se ve completado con un estudio sobre las modificaciones epigenéticas de este genoma^[10] y el estudio completo de todos los centrómeros^[2], entre los que también se observa una enorme e inesperada variabilidad.

Para tener una visión general de lo que sabemos sobre las regiones repetitivas del genoma humano gracias al T2T-CM13, consulta la **figura resumen** del artículo de Hoyt y colaboradores (2022)^[14].

¿Estábamos engañados con el artículo de 2004^[15]? Pues no: la reconstrucción del genoma es como resolver un puzzle de más de 3 200 millones de piezas muy parecidas. Los primeros genomas que se secuenciaron tenían huecos donde no sabíamos qué piezas colocar debido a la limitación de la longitud de las lecturas de secuenciación y de los algoritmos de ensamblaje. Pero sí que sabíamos dónde estaban esos huecos, su tamaño y por qué no conseguíamos rellenarlos. Así que podemos afirmar que teníamos lo mejor que podíamos construir con la tecnología disponible: un modelo bastante completo de lo que debía ser el genoma humano. Los avances en la tecnología de secuenciación han permitido que el consorcio T2T se plantee secuenciar todos los cromosomas de telómero a telómero, sin huecos, ¡y que lo consiga!. Esto no invalida para nada todo lo que se sabía, sino que nos lo confirma y completa. Algunos investigadores confían en que en los huecos ahora rellenos resida la información necesaria para ciertas enfermedades que hasta ahora no se han logrado mapear en el genoma. Solo existe un problema: el T2T-CHM13 es distinto al GRCH38, por lo que la comunidad científica tendrá que plantearse seriamente si cambia de referencia o si, puestos a cambiar, mejor abandonamos el genoma unipersonal y evolucionamos hacia una estrategia pangenómica.

Próxima parada: el pangenoma:

No todo el mundo es consciente de que el genoma humano de referencia que llevamos usando (el

GRCh38) es un mosaico de más de 20 genomas distintos (aunque hay un individuo que aporta cerca del 70 % de la secuencia). Por eso siguen existiendo errores y configuraciones estructurales que no se han detectado en ningún otro genoma humano secuenciado (lo de los huecos ya se ha resuelto con el T2T-CHM13). Pero el principal escollo de cualquier genoma de referencia es que no representa la amplia diversidad genómica de la población, ni humana^[23] ni de ninguna otra especie. Para afrontarlo, en 2019 se empezó a trabajar en un pangenoma^a humano que sirva de referencia y que contemple la máxima diversidad genómica humana conocida. La propuesta parte de las líneas celulares que se usaron en el proyecto de 1000 Genomas representativos de 26 poblaciones diferentes a las que se irán incluyendo muestras de más poblaciones humanas^[34].

En la **figura 1** de la revisión de Miga de 2021^[23] encontrarás cómo ha progresado la secuenciación del genoma humano desde que apareció el primer borrador hasta que se inició tanto el proyecto del pangenoma como el consorcio T2T.

Esto no es un sueño, sino una realidad, dado que, como comentamos al principio, ya contamos con la re-secuenciación de muchos miles de personas^[1,30,31,20], de exomas andaluces^[5], e incluso de nuestros ancestros^[12,21]. En 2020 ya apareció el primer pangenoma humano a partir de 338 individuos muy bien ensamblados^[36] gracias a que también han empezado a aparecer las herramientas bioinformáticas más aptas para estos análisis^[3]. La aparición del primer genoma completo (T2T-CHM13) ha impulsado y facilitado de tal manera el proceso que el pasado 20 de abril de 2022 acaba de publicarse la primera versión de un pangenoma T2T con las 47 primeras secuencias completas (de telómero a telómero) de los cromosomas^[34]. Toda la información al respecto se irá haciendo pública en el portal [Human Pangenome](#).

El proteoma 3D sin cristalización:

Los artículos publicados por los consorcios ENCODE, T2T y del pangenoma humano demuestran lo importante que es generar datos a gran escala en la biología y ofrecerlos a la comunidad científica para que se puedan explorar con otros ojos. Lo mismo llevan haciendo otros consorcios de investigación, como [The Cancer Genome Atlas \(TCGA\)](#), el [Human Cell](#)

^aGenoma surgido de la unión de todas las secuencias genómicas (codificantes y no codificantes) de los individuos secuenciados de una especie para que esté representada toda la diversidad genética de dicha especie

Atlas^[28] y el 4D Nucleome Project^[4]. Todos ellos dan sentido a la existencia de portales de datos de acceso libre a la comunidad científica (desde GeneBank a FigShare o Zenodo), así como revistas como *Scientific Data* o *Data in Brief*. Gracias a ello se ha realizado un último avance sin precedentes: **la estructura tridimensional de 992 316 proteínas**, entre las que están el proteoma humano, el de otras 47 especies más, así como muchas proteínas de la base de datos UniProtKB.

Hasta ahora, cuando teníamos los marcos abiertos de lectura de los genes resultaba trivial obtener la secuencia de la proteína, pero era muy difícil predecir con suficiente exactitud su estructura tridimensional. Desde 1994, las competiciones de los algoritmos de predicción (CASP: Critical Assessment of protein Structure Prediction → **valoración crítica de la predicción de estructuras proteicas**) ofrecían un acierto que rondaba del 10 al 30 %. Pero la exitosa explotación de la inteligencia artificial con AlphaFold, creada por DeepMind, compañía hermana de Google en Londres, en la CASP13 de 2018 empezó a cambiar las tornas, puesto que alcanzó una valoración de 80 cuando sus competidores más cercanos (aunque utilizaran inteligencia artificial) no alcanzaban el 40^[29]. Tanto cambió, que en la CASP14 de 2020 presentaron una versión mejorada basada en los algoritmos de traducción automática de textos —AlphaFold2^[17]— con la que han logrado predecir correctamente el 98,5 % de las proteínas humanas (quedaron excluidas las proteínas maleables que, por definición, no tienen una estructura fija) con una puntuación media de 92 sobre 100. Lo más sorprendente de estas predicciones es que el 58 % de los residuos están en una estructura predicha fiable, de los que el 36 % se consideran tan fiables como si hubieran sido obtenidos por cristalografía de rayos X^[32]. Por fin empezamos a tener las primeras predicciones estructurales fiables después de décadas de tenues avances.

Vamos, que tras el genoma humano ha venido su anotación, el genoma completo, el pangenoma y la predicciones tridimensionales fiables. ¿Qué será lo próximo?

For the times they are a-changin'.

– Bob Dylan, *Official Audio*

Referencias

- [1] 1000 Genomes Project Consortium, Adam Auton, Lisa D Brooks, Richard M Durbin, Erik P Garrison, Hyun Min Kang, Jan O Korbel, Jonathan L Marchini, Shane McCarthy, Gil A McVean, and Gonçalo R Abecasis. A global reference for human genetic variation. *Nature*, 526(7571):68–74, Oct 2015. doi: 10.1038/nature15393.
- [2] Nicolas Altemose, Glennis A Logsdon, Andrey V Bzikadze, Pragma Sidhwani, Sasha A Langley, Gina V Caldas, Savannah J Hoyt, Lev Uralsky, Fedor D Ryabov, Colin J Shew, Michael E G Sauria, Matthew Borchers, Ariel Gershman, Alla Mikheenko, Valery A Shepelev, Tatiana Dvorkina, Olga Kunyavskaya, Mitchell R Vollger, Arang Rhie, Ann M McCartney, Mobin Asri, Ryan Lorig-Roach, Kishwar Shafin, Julian K Lucas, Sergey Aganezov, Daniel Olson, Leonardo Gomes de Lima, Tamara Potapova, Gabrielle A Hartley, Marina Haukness, Peter Kerpedjiev, Fedor Gusev, Kristof Tigyi, Shelise Brooks, Alice Young, Sergey Nurk, Sergey Koren, Sofie R Salama, Benedict Paten, Evgeny I Rogaev, Aaron Streets, Gary H Karpen, Abby F Dernburg, Beth A Sullivan, Aaron F Straight, Travis J Wheeler, Jennifer L Gerton, Evan E Eichler, Adam M Phillippy, Winston Timp, Megan Y Dennis, Rachel J O'Neill, Justin M Zook, Michael C Schatz, Pavel A Pevzner, Mark Diekhans, Charles H Langley, Ivan A Alexandrov, and Karen H Miga. Complete genomic and epigenetic maps of human centromeres. *Science*, 376(6588):eab14178, Apr 2022. doi: 10.1126/science.ab14178.
- [3] Computational Pan-Genomics Consortium. Computational pan-genomics: status, promises and challenges. *Brief Bioinform*, 19(1):118–135, 01 2018. doi: 10.1093/bib/bbw089.
- [4] Job Dekker, Andrew S Belmont, Mitchell Guttman, Victor O Leshyk, John T Lis, Stavros Lomvardas, Leonid A Mirny, Clodagh C O'Shea, Peter J Park, Bing Ren, Joan C Ritland Politz, Jay Shendure, Sheng Zhong, and 4D Nucleome Network. The 4d nucleome project. *Nature*, 549(7671):219–226, 09 2017. doi: 10.1038/nature23884.
- [5] Joaquín Dopazo, Alicia Amadoz, Marta Bleda, Luz Garcia-Alonso, Alejandro Alemán, Francisco García-García, Juan A Rodríguez, Josephine T Daub, Gerard Muntané, Antonio Rueda, Alicia Vela-Boza, Francisco J López-Domingo, Javier P Florido, Pablo Arce, Macarena Ruiz-Ferrer, Cristina Méndez-Vidal, Todd E Arnold, Olivia Spleiss, Miguel Alvarez-Tejado, Arcadi Navarro, Shomi S Bhattacharya, Salud Borrego, Javier Santoyo-López, and Guillermo Antiñolo. 267 spanish exomes reveal population-specific differences in disease-related genetic variation. *Mol Biol Evol*, 33(5):1205–18, 05 2016. doi: 10.1093/molbev/msw005.
- [6] ENCODE Project Consortium. An integrated encyclopedia of dna elements in the human genome. *Nature*, 489(7414):57–74, Sep 2012. doi: 10.1038/nature11247.
- [7] ENCODE Project Consortium, Ewan Birney, John A Stamatoyannopoulos, Anindya Dutta, Roderic Guigó, Thomas R Gingeras, Elliott H Margulies, Zhiping Weng, Michael Snyder, Emmanouil T Dermitzakis, Robert E Thurman, Michael S Kuehn, Christopher M Taylor, Shane Neph, Christoph M Koch, Saurabh Asthana, Ankit Malhotra, Ivan Adzhubei, Jason A Greenbaum, Robert M Andrews, Paul Flicek, Patrick J Boyle, Hua Cao, Nigel P Carter, Gayle K Clelland, Sean Davis, Nathan Day, Pawandeep Dhami, Shane C Dillon, Michael O Dorschner, Heike Fiegler, Paul G Giresi, Jeff Goldy, Michael Hawrylycz, Andrew Haydock, Richard Humbert, Keith D James, Brett E Johnson, Ericka M Johnson, Tristan T Frum, Elizabeth R Rosenszweig, Neerja Karnani, Kirsten Lee, Gregory C Lefebvre, Patrick A Navas, Fidencio Neri, Stephen C J Parker, Peter J Sabo, Richard Sandstrom, Anthony Shafer, David Vetrie, Molly Weaver, Sarah Wilcox, Man Yu, Francis S Collins, Job Dekker, Jason D Lieb, Thomas D Tullius, Gregory E Crawford, Shamil Sunyaev, William S Noble, Ian Dunham, France Denoeud, Alexandre Reymond, Philipp Kapranov, Joel Rozowsky, Deyou Zheng, Robert Castelo, Adam Frankish, Jennifer Harrow, Srinka Ghosh, Albin Sandelin, Ivo L Hofacker, Robert Baertsch, Damian Keefe, Sujit Dike, Jill Cheng, Heather A Hirsch, Edward A Sekinger, Julien Lagarde, Josep F Abril, Atif Shahab, Christoph Flamm, Claudia Fried, Jörg Hackermüller, Jana Hertel, Manja Lindemeyer, Kristin Missal, Andrea Tanzer, Stefan Washietl, Jan Korbel, Olof Emanuelsson, Jakob S Pedersen, Nancy Holroyd, Ruth Taylor, David Swarbreck, Nicholas Matthews, Mark C Dickson, Daryl J Thomas, Matthew T Weirauch, James Gilbert, Jorg Drenkow, Ian Bell, XiaoDong Zhao, K G Srinivasan, Wing-Kin Sung, Hong Sain Ooi, Kuo Ping Chiu, Sylvain Foissac, Tyler Alioto, Michael Brent, Lior Pachter,

- Michael L Tress, Alfonso Valencia, Siew Woh Choo, Chiou Yu Choo, Catherine Ucla, Caroline Manzano, Carine Wyss, Evelyn Cheung, Taane G Clark, James B Brown, Madhavan Ganesh, Sandeep Patel, Hari Tammana, Jacqueline Chrast, Charlotte N Heinrichsen, Chikatoshi Kai, Jun Kawai, Ugrappa Nagalakshmi, Jiaqian Wu, Zheng Lian, Jin Lian, Peter Newburger, Xueqing Zhang, Peter Bickel, John S Mattick, Piero Carninci, Yoshihide Hayashizaki, Sherman Weissman, Tim Hubbard, Richard M Myers, Jane Rogers, Peter F Stadler, Todd M Lowe, Chia-Lin Wei, Yijun Ruan, Kevin Struhl, Mark Gerstein, Stylianos E Antonarakis, Yutao Fu, Eric D Green, Ulaş Karaöz, Adam Siepel, James Taylor, Laura A Liefer, Kris A Wetterstrand, Peter J Good, Elise A Feingold, Mark S Guyer, Gregory M Cooper, George Asimenos, Colin N Dewey, Minmei Hou, Sergey Nikolaev, Juan I Montoya-Burgos, Ari Löytynoja, Simon Whelan, Fabio Pardi, Tim Massingham, Haiyan Huang, Nancy R Zhang, Ian Holmes, James C Mullikin, Abel Ureta-Vidal, Benedict Paten, Michael Seringhaus, Deanna Church, Kate Rosenbloom, W James Kent, Eric A Stone, NISC Comparative Sequencing Program, Baylor College of Medicine Human Genome Sequencing Center, Washington University Genome Sequencing Center, Broad Institute, Children's Hospital Oakland Research Institute, Serafim Batzoglou, Nick Goldman, Ross C Hardison, David Haussler, Webb Miller, Arend Sidow, Nathan D Trinklein, Zhengdong D Zhang, Leah Barrera, Rhona Stuart, David C King, Adam Ameur, Stefan Enroth, Mark C Bieda, Jonghwan Kim, Akshay A Bhinge, Nan Jiang, Jun Liu, Fei Yao, Vinsensius B Vega, Charlie W H Lee, Patrick Ng, Atif Shahab, Annie Yang, Zarmik Moqtaderi, Zhou Zhu, Xiaoqin Xu, Sharon Squazzo, Matthew J Oberley, David Inman, Michael A Singer, Todd A Richmond, Kyle J Munn, Alvaro Rada-Iglesias, Ola Wallerman, Jan Komorowski, Joanna C Fowler, Phillippe Couttet, Alexander W Bruce, Oliver M Dovey, Peter D Ellis, Cordelia F Langford, David A Nix, Ghia Euskirchen, Stephen Hartman, Alexander E Urban, Peter Kraus, Sara Van Calcar, Nate Heintzman, Tae Hoon Kim, Kun Wang, Chunxu Qu, Gary Hon, Rosa Luna, Christopher K Glass, M Geoff Rosenfeld, Shelley Force Aldred, Sara J Cooper, Anason Halees, Jane M Lin, Hennady P Shulha, Xiaoling Zhang, Mousheng Xu, Jaafar N S Haidar, Yong Yu, Yijun Ruan, Vishwanath R Iyer, Roland D Green, Claes Wadelius, Peggy J Farnham, Bing Ren, Rachel A Harte, Angie S Hinrichs, Heather Trumbower, Hiram Clawson, Jennifer Hillman-Jackson, Ann S Zweig, Kayla Smith, Archana Thakkapallayil, Galt Barber, Robert M Kuhn, Donna Karolchik, Lluis Armengol, Christine P Bird, Paul I W de Bakker, Andrew D Kern, Nuria Lopez-Bigas, Joel D Martin, Barbara E Stranger, Abigail Woodroffe, Eugene Davydov, Antigone Dimas, Eduardo Eyras, Ingileif B Hallgrímssdóttir, Julian Huppert, Michael C Zody, Gonçalo R Abecasis, Xavier Estivill, Gerard G Bouffard, Xiaobin Guan, Nancy F Hansen, Jacquelyn R Idol, Valerie V B Maduro, Baishali Maskeri, Jennifer C McDowell, Morgan Park, Pamela J Thomas, Alice C Young, Robert W Blakesley, Donna M Muzny, Erica Sodergren, David A Wheeler, Kim C Worley, Huaiyang Jiang, George M Weinstock, Richard A Gibbs, Tina Graves, Robert Fulton, Elaine R Mardis, Richard K Wilson, Michele Clamp, James Cuff, Sante Gnerre, David B Jaffe, Jean L Chang, Kerstin Lindblad-Toh, Eric S Lander, Maxim Koriabine, Mikhail Nefedov, Kazutoyo Osogawa, Yuko Yoshinaga, Baoli Zhu, and Pieter J de Jong. Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the encode pilot project. *Nature*, 447(7146): 799–816, Jun 2007. doi: 10.1038/nature05874.
- [8] ENCODE Project Consortium, Jill E Moore, Michael J Purcaro, Henry E Pratt, Charles B Epstein, Noam Shores, Jessika Adrian, Trupti Kawli, Carrie A Davis, Alexander Dobin, Rajinder Kaul, Jessica Halow, Eric L Van Nostrand, Peter Freese, David U Gorkin, Yin Shen, Yupeng He, Mark Mackiewicz, Florencia Pauli-Behn, Brian A Williams, Ali Mortazavi, Cheryl A Keller, Xiao-Ou Zhang, Shaimae I Elhajjajy, Jack Huey, Diane E Dickel, Valentina Snetkova, Xintao Wei, Xiaofeng Wang, Juan Carlos Rivera-Mulia, Joel Rozowsky, Jing Zhang, Surya B Chhetri, Jialing Zhang, Alec Victorsen, Kevin P White, Axel Visel, Gene W Yeo, Christopher B Burge, Eric Léucuyer, David M Gilbert, Job Dekker, John Rinn, Eric M Mendenhall, Joseph R Ecker, Manolis Kellis, Robert J Klein, William S Noble, Anshul Kundaje, Roderic Guigó, Peggy J Farnham, J Michael Cherry, Richard M Myers, Bing Ren, Brenton R Graveley, Mark B Gerstein, Len A Pennacchio, Michael P Snyder, Bradley E Bernstein, Barbara Wold, Ross C Hardison, Thomas R Gingeras, John A Stamatoyannopoulos, and Zhiping Weng. Expanded encyclopaedias of dna elements in the human and mouse genomes. *Nature*, 583(7818):699–710, 07 2020. doi: 10.1038/s41586-020-2493-4.
- [9] Nelson J R Fagundes, Rafael Bisso-Machado, Pedro I C C Figueiredo, Maikel Varal, and André L S Zani. What we talk about when we talk about "junk dna". *Genome Biol Evol*, 14(5), 05 2022. doi: 10.1093/gbe/evac055.
- [10] Ariel Gershman, Michael E G Sauria, Xavi Guitart, Mitchell R Vollger, Paul W Hook, Savannah J Hoyt, Miten Jain, Alaina Shumate, Roham Razaghi, Sergey Koren, Nicolas Altemose, Gina V Caldas, Glennis A Logsdon, Arang Rhie, Evan E Eichler, Michael C Schatz, Rachel J O'Neill, Adam M Phillippy, Karen H Miga, and Winston Timp. Epigenetic patterns in a complete human genome. *Science*, 376(6588):eabj5089, Apr 2022. doi: 10.1126/science.abj5089.
- [11] Dan Graur, Yichen Zheng, Nicholas Price, Ricardo B R Azevedo, Rebecca A Zufall, and Eran Elhaik. On the immortality of television sets: "functionin the human genome according to the evolution-free gospel of encode. *Genome Biol Evol*, 5(3): 578–90, 2013. doi: 10.1093/gbe/evt028.
- [12] Richard E Green, Johannes Krause, Adrian W Briggs, Tomislav Maricic, Udo Stenzel, Martin Kircher, Nick Patterson, Heng Li, Weiwei Zhai, Markus Hsi-Yang Fritz, Nancy F Hansen, Eric Y Durand, Anna-Sapfo Malaspinas, Jeffrey D Jensen, Tomas Marques-Bonet, Can Alkan, Kay Prüfer, Matthias Meyer, Hernán A Burbano, Jeffrey M Good, Rigo Schultz, Ayinuer Aximu-Petri, Anne Butthof, Barbara Höber, Barbara Höffner, Madlen Siegemund, Antje Weihmann, Chad Nusbaum, Eric S Lander, Carsten Russ, Nathaniel Novod, Jason Affourtit, Michael Egholm, Christine Verna, Pavao Rudan, Dejana Brajkovic, Željko Kucan, Ivan Gušić, Vladimir B Doronichev, Liubov V Golovanova, Carles Lalueza-Fox, Marco de la Rasilla, Javier Forstea, Antonio Rosas, Ralf W Schmitz, Philip L F Johnson, Evan E Eichler, Daniel Falush, Ewan Birney, James C Mullikin, Montgomery Slatkin, Rasmus Nielsen, Janet Kelso, Michael Lachmann, David Reich, and Svante Pääbo. A draft sequence of the neandertal genome. *Science*, 328(5979):710–722, May 2010. doi: 10.1126/science.1188021.
- [13] Jennifer Harrow, France Denoeud, Adam Frankish, Alexandre Reymond, Chao-Kung Chen, Jacqueline Chrast, Julien Lagarde, James G R Gilbert, Roy Storey, David Swarbreck, Colette Rossier, Catherine Ucla, Tim Hubbard, Stylianos E Antonarakis, and Roderic Guigo. Gencode: producing a reference annotation for encode. *Genome Biol*, 7 Suppl 1:S4.1–9, 2006. doi: 10.1186/gb-2006-7-s1-s4.
- [14] Savannah J Hoyt, Jessica M Storer, Gabrielle A Hartley, Patrick G S Grady, Ariel Gershman, Leonardo G de Lima, Charles Limouse, Reza Halabian, Luke Wojenski, Matias Rodriguez, Nicolas Altemose, Arang Rhie, Leighton J Core, Jennifer L Gerton, Wojciech Makalowski, Daniel Olson, Jeb Rosen, Arian F A Smit, Aaron F Straight, Mitchell R Vollger, Travis J Wheeler, Michael C Schatz, Evan E Eichler, Adam M Phillippy, Winston Timp, Karen H Miga, and Rachel J O'Neill. From telomere to telomere: The transcriptional and epigenetic state of human repeat elements. *Science*, 376(6588):eabk3112, Apr 2022. doi: 10.1126/science.abk3112.
- [15] International Human Genome Sequencing Consortium. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature*, 431(7011):931–45, Oct 2004. doi: 10.1038/nature03001.
- [16] Miten Jain, Hugh E Olsen, Daniel J Turner, David Stoddart, Kira V Bulazel, Benedict Paten, David Haussler, Huntington F Willard, Mark Akeson, and Karen H Miga. Linear assembly of a human centromere on the y chromosome. *Nat Biotechnol*, 36(4):321–323, 04 2018. doi: 10.1038/nbt.4109.

- [17] John Jumper, Richard Evans, Alexander Pritzel, Tim Green, Michael Figurnov, Olaf Ronneberger, Kathryn Tunyasuvunakool, Russ Bates, Augustin Židek, Anna Potapenko, Alex Bridgland, Clemens Meyer, Simon A A Kohl, Andrew J Ballard, Andrew Cowie, Bernardino Romera-Paredes, Stanislav Nikolov, Rishub Jain, Jonas Adler, Trevor Back, Stig Petersen, David Reiman, Ellen Clancy, Michal Zielinski, Martin Steinegger, Michalina Pacholska, Tamas Berghammer, Sebastian Bodenstein, David Silver, Oriol Vinyals, Andrew W Senior, Koray Kavukcuoglu, Pushmeet Kohli, and Demis Hassabis. Highly accurate protein structure prediction with alphafold. *Nature*, 596(7873): 583–589, 08 2021. doi: 10.1038/s41586-021-03819-2.
- [18] E S Lander, L M Linton, B Birren, C Nusbaum, M C Zody, J Baldwin, K Devon, K Dewar, M Doyle, W FitzHugh, R Funke, D Gage, K Harris, A Heaford, J Howland, L Kann, J Lehoczky, R LeVine, P McEwan, K McKernan, J Meldrim, J P Mesirov, C Miranda, W Morris, J Naylor, C Raymond, M Rosetti, R Santos, A Sheridan, C Sougnez, Y Stange-Thomann, N Stojanovic, A Subramanian, D Wyman, J Rogers, J Sulston, R Ainscough, S Beck, D Bentley, J Burton, C Clee, N Carter, A Coulson, R Deadman, P Deloukas, A Dunham, I Dunham, R Durbin, L French, D Grafham, S Gregory, T Hubbard, S Humphray, A Hunt, M Jones, C Lloyd, A McMurray, L Matthews, S Mercer, S Milne, J C Mullikin, A Mungall, R Plumb, M Ross, R Shownkeen, S Sims, R H Waterston, R K Wilson, L W Hillier, J D McPherson, M A Marra, E R Mardis, L A Fulton, A T Chinwalla, K H Pepin, W R Gish, S L Chissoe, M C Wendt, K D Delehaunty, T L Miner, A Delehaunty, J B Kramer, L L Cook, R S Fulton, D L Johnson, P J Minx, S W Clifton, T Hawkins, E Branscomb, P Predki, P Richardson, S Wenning, T Slezak, N Doggett, J F Cheng, A Olsen, S Lucas, C Elkin, E Uberbacher, M Frazier, R A Gibbs, D M Muzny, S E Scherer, J B Bouck, E J Sodergren, K C Worley, C M Rives, J H Gorrell, M L Metzker, S L Naylor, R S Kucherlapati, D L Nelson, G M Weinstock, Y Sakaki, A Fujiyama, M Hattori, T Yada, A Toyoda, T Itoh, C Kawagoe, H Watanabe, Y Totoki, T Taylor, J Weissenbach, R Heilig, W Saurin, F Artiguenave, P Brottier, T Bruls, E Pelletier, C Robert, P Wincker, D R Smith, L Doucette-Stamm, M Rubenfield, K Weinstock, H M Lee, J Dubois, A Rosenthal, M Platzer, G Nyakatura, S Taudien, A Rump, H Yang, J Yu, J Wang, G Huang, J Gu, L Hood, L Rowan, A Madan, S Qin, R W Davis, N A Federspiel, A P Abola, M J Proctor, R M Myers, J Schmutz, M Dickson, J Grimwood, D R Cox, M V Olson, R Kaul, C Raymond, N Shimizu, K Kawasaki, S Minoshima, G A Evans, M Athanasiou, R Schultz, B A Roe, F Chen, H Pan, J Ramser, H Lehrach, R Reinhardt, W R McCombie, M de la Bastide, N Dedhia, H Blöcker, K Hornischer, G Nordsiek, R Agarwala, L Aravind, J A Bailey, A Bateman, S Batzoglou, E Birney, P Bork, D G Brown, C B Burge, L Cerutti, H C Chen, D Church, M Clamp, R R Copley, T Doerks, S R Eddy, E E Eichler, T S Furey, J Galagan, J G Gilbert, C Harmon, Y Hayashizaki, D Haussler, H Hermjakob, K Hokamp, W Jang, L S Johnson, T A Jones, S Kasif, A Kasprzyk, S Kennedy, W J Kent, P Kitts, E V Koonin, I Korf, D Kulp, D Lancet, T M Lowe, A McLysaght, T Mikkelsen, J V Moran, N Mulder, V J Pollara, C P Ponting, G Schuler, J Schultz, G Slater, A F Smit, E Stupka, J Szustakowki, D Thierry-Mieg, J Thierry-Mieg, L Wagner, J Wallis, R Wheeler, A Williams, Y I Wolf, K H Wolfe, S P Yang, R F Yeh, F Collins, M S Guyer, J Peterson, A Felsenfeld, K A Wetterstrand, A Patrinos, M J Morgan, P de Jong, J J Catanese, K Osoegawa, H Shizuya, S Choi, Y J Chen, J Szustakowki, and International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 409(6822):860–921, Feb 2001. doi: 10.1038/35057062.
- [19] Glennis A Logsdon, Mitchell R Vollger, PingHsun Hsieh, Yafei Mao, Mikhail A Liskovych, Sergey Koren, Sergey Nurk, Ludovica Mercuri, Philip C Dishuck, Arang Rhie, Leonardo G de Lima, Tatiana Dvorkina, David Porubsky, William T Harvey, Alla Mikheenko, Andrey V Bzikadze, Milinn Kremitzki, Tina A Graves-Lindsay, Chirag Jain, Kendra Hoekzema, Shwetha C Murali, Katherine M Munson, Carl Baker, Melanie Sorensen, Alexandra M Lewis, Urvashi Surti, Jennifer L Gerton, Vladimir Larionov, Mario Ventura, Karen H Miga, Adam M Phillippy, and Evan E Eichler. The structure, function and evolution of a complete human chromosome 8. *Nature*, 593(7857):101–107, 05 2021. doi: 10.1038/s41586-021-03420-7.
- [20] Lasse Maretty, Jacob Malte Jensen, Bent Petersen, Jonas Andreas Sibbesen, Siyang Liu, Palle Villesen, Laurits Skov, Kirstine Belling, Christian Theil Have, Jose M G Izarzugaza, Marie Grosjean, Jette Bork-Jensen, Jakob Grove, Thomas D Als, Shujia Huang, Yuqi Chang, Ruiqi Xu, Weijian Ye, Junhua Rao, Xiaosen Guo, Jihua Sun, Hongzhi Cao, Chen Ye, Johan van Beusekom, Thomas Espeseth, Esben Flindt, Rune M Friborg, Anders E Halager, Stephanie Le Hellard, Christina M Hultman, Francesco Lescai, Shengting Li, Ole Lund, Peter Løngren, Thomas Mailund, Maria Luisa Matey-Hernandez, Ole Mors, Christian N S Pedersen, Thomas Sicheritz-Pontén, Patrick Sullivan, Ali Syed, David Westergaard, Rachita Yadav, Ning Li, Xun Xu, Torben Hansen, Anders Krogh, Lars Bolund, Thorkild I A Sørensen, Oluf Pedersen, Ramneek Gupta, Simon Rasmussen, Søren Besenbacher, Anders D Børghlum, Jun Wang, Hans Eiberg, Karsten Kristiansen, Søren Brunak, and Mikkel Heide Schierup. Sequencing and de novo assembly of 150 genomes from denmark as a population reference. *Nature*, 548(7665): 87–91, 08 2017. doi: 10.1038/nature23264.
- [21] Matthias Meyer, Martin Kircher, Marie-Theres Gansauge, Heng Li, Fernando Racimo, Swapan Mallick, Joshua G Schraiber, Flora Jay, Kay Prüfer, Cesare de Filippo, Peter H Sudmant, Can Alkan, Qiaomei Fu, Ron Do, Nadin Rohland, Arti Tandon, Michael Siebauer, Richard E Green, Katarzyna Bryc, Adrian W Briggs, Udo Stenzel, Jesse Dabney, Jay Shendure, Jacob Kitzman, Michael F Hammer, Michael V Shunkov, Anatoli P Derevianko, Nick Patterson, Aida M Andrés, Evan E Eichler, Montgomery Slatkin, David Reich, Janet Kelso, and Svante Pääbo. A high-coverage genome sequence from an archaic denisovan individual. *Science*, 338(6104):222–6, Oct 2012. doi: 10.1126/science.1224344.
- [22] Karen H Miga. Breaking through the unknowns of the human reference genome. *Nature*, 590(7845):217–218, 02 2021. doi: 10.1038/d41586-021-00293-8.
- [23] Karen H Miga and Ting Wang. The need for a human pangenome reference sequence. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 22: 81–102, 08 2021. doi: 10.1146/annurev-genom-120120-081921.
- [24] Karen H Miga, Sergey Koren, Arang Rhie, Mitchell R Vollger, Ariel Gershman, Andrey Bzikadze, Shelise Brooks, Edmund Howe, David Porubsky, Glennis A Logsdon, Valerie A Schneider, Tamara Potapova, Jonathan Wood, William Chow, Joel Armstrong, Jeanne Fredrickson, Evgenia Pak, Kristof Tigyi, Milinn Kremitzki, Christopher Markovic, Valerie Maduro, Amalia Dutra, Gerard G Bouffard, Alexander M Chang, Nancy F Hansen, Amy B Wilfert, Françoise Thibaud-Nissen, Anthony D Schmitt, Jon-Matthew Belton, Siddarth Selvaraj, Megan Y Dennis, Daniela C Soto, Ruta Sahasrabudhe, Gulhan Kaya, Josh Quick, Nicholas J Loman, Nadine Holmes, Matthew Loose, Urvashi Surti, Rosa Ana Risques, Tina A Graves Lindsay, Robert Fulton, Ira Hall, Benedict Paten, Kerstin Howe, Winston Timp, Alice Young, James C Mullikin, Pavel A Pevzner, Jennifer L Gerton, Beth A Sullivan, Evan E Eichler, and Adam M Phillippy. Telomere-to-telomere assembly of a complete human x chromosome. *Nature*, 585(7823):79–84, 09 2020. doi: 10.1038/s41586-020-2547-7.
- [25] M R Montminy and L M Bilezikjian. Binding of a nuclear protein to the cyclic-amp response element of the somatostatin gene. *Nature*, 328(6126):175–8, 1987. doi: 10.1038/328175a0.
- [26] Sergey Nurk, Sergey Koren, Arang Rhie, Mikko Rautiainen, Andrey V. Bzikadze, Alla Mikheenko, Mitchell R. Vollger, Nicolas Altomose, Lev Uralsky, Ariel Gershman, Sergey Aganezov, Savannah J. Hoyt, Mark Diekhans, Glennis A. Logsdon, Michael Alonge, Stylianos E. Antonarakis, Matthew Borchers, Gerard G. Bouffard, Shelise Y. Brooks, Gina V. Caldas, Haoyu Cheng, Chen-Shan Chin, William Chow, Leonardo G. de Lima, Philip C. Dishuck, Richard Durbin, Tatiana Dvorkina, Ian T. Fiddes, Giulio Formenti, Robert S. Fulton, Arkarachai Fungtammasan, Erik Garrison, Patrick G.S. Grady, Tina A. Graves-Lindsay, Ira M. Hall, Nancy F. Hansen, Gabrielle A. Hartley, Marina

- Haukness, Kerstin Howe, Michael W. Hunkapiller, Chirag Jain, Miten Jain, Erich D. Jarvis, Peter Kerpedjiev, Melanie Kirsche, Mikhail Kolmogorov, Jonas Korlach, Milinn Kremitzki, Heng Li, Valerie V. Maduro, Tobias Marschall, Ann M. McCartney, Jennifer McDaniel, Danny E. Miller, James C. Mullikin, Eugene W. Myers, Nathan D. Olson, Benedict Paten, Paul Peluso, Pavel A. Pevzner, David Porubsky, Tamara Potapova, Evgeny I. Rogae, Jeffrey A. Rosenfeld, Steven L. Salzberg, Valerie A. Schneider, Fritz J. Sedlazeck, Kishwar Shafin, Colin J. Shew, Alaina Shumate, Yumi Sims, Arian F. A. Smit, Daniela C. Soto, Ivan Sović, Jessica M. Storer, Aaron Streets, Beth A. Sullivan, Françoise Thibaud-Nissen, James Torrance, Justin Wagner, Brian P. Walenz, Aaron Wenger, Jonathan M. D. Wood, Chunlin Xiao, Stephanie M. Yan, Alice C. Young, Samantha Zarate, Urvashi Surti, Rajiv C. McCoy, Megan Y. Dennis, Ivan A. Alexandrov, Jennifer L. Gerton, Rachel J. O'Neill, Winston Timp, Justin M. Zook, Michael C. Schatz, Evan E. Eichler, Karen H. Miga, and Adam M. Phillippy. The complete sequence of a human genome. *bioRxiv*, 2021. doi: 10.1101/2021.05.26.445798. URL <https://www.biorxiv.org/content/early/2021/05/27/2021.05.26.445798>.
- [27] Sergey Nurk, Sergey Koren, Arang Rhie, Mikko Rautiainen, Andrey V Bzikadze, Alla Mikheenko, Mitchell R Vollger, Nicolas Altemose, Lev Uralsky, Ariel Gershman, Sergey Aganezov, Savannah J Hoyt, Mark Diekhans, Glennis A Logsdon, Michael Alonge, Stylianos E Antonarakis, Matthew Borchers, Gerard G Bouffard, Shelise Y Brooks, Gina V Caldas, Nae-Chyun Chen, Haoyu Cheng, Chen-Shan Chin, William Chow, Leonardo G de Lima, Philip C Dishuck, Richard Durbin, Tatiana Dvorkina, Ian T Fiddes, Giulio Formenti, Robert S Fulton, Arkarachai Functammasan, Erik Garrison, Patrick G S Grady, Tina A Graves-Lindsay, Ira M Hall, Nancy F Hansen, Gabrielle A Hartley, Marina Haukness, Kerstin Howe, Michael W Hunkapiller, Chirag Jain, Miten Jain, Erich D Jarvis, Peter Kerpedjiev, Melanie Kirsche, Mikhail Kolmogorov, Jonas Korlach, Milinn Kremitzki, Heng Li, Valerie V Maduro, Tobias Marschall, Ann M McCartney, Jennifer McDaniel, Danny E Miller, James C Mullikin, Eugene W Myers, Nathan D Olson, Benedict Paten, Paul Peluso, Pavel A Pevzner, David Porubsky, Tamara Potapova, Evgeny I Rogae, Jeffrey A Rosenfeld, Steven L Salzberg, Valerie A Schneider, Fritz J Sedlazeck, Kishwar Shafin, Colin J Shew, Alaina Shumate, Ying Sims, Arian F A Smit, Daniela C Soto, Ivan Sović, Jessica M Storer, Aaron Streets, Beth A Sullivan, Françoise Thibaud-Nissen, James Torrance, Justin Wagner, Brian P Walenz, Aaron Wenger, Jonathan M D Wood, Chunlin Xiao, Stephanie M Yan, Alice C Young, Samantha Zarate, Urvashi Surti, Rajiv C McCoy, Megan Y Dennis, Ivan A Alexandrov, Jennifer L Gerton, Rachel J O'Neill, Winston Timp, Justin M Zook, Michael C Schatz, Evan E Eichler, Karen H Miga, and Adam M Phillippy. The complete sequence of a human genome. *Science*, 376(6588): 44–53, Apr 2022. doi: 10.1126/science.abj6987.
- [28] Aviv Regev, Sarah A Teichmann, Eric S Lander, Ido Amit, Christophe Benoist, Ewan Birney, Bernd Bodenmiller, Peter Campbell, Piero Carninci, Menna Clatworthy, Hans Clevers, Bart Deplancke, Ian Dunham, James Eberwine, Roland Eils, Wolfgang Enard, Andrew Farmer, Lars Fugger, Berthold Göttgens, Nir Hacohen, Muzlifah Haniffa, Martin Hemberg, Seung Kim, Paul Klenerman, Arnold Kriegstein, Ed Lein, Sten Linnarsson, Emma Lundberg, Joakim Lundberg, Partha Majumder, John C Marioni, Miriam Merad, Musa Mhlanga, Martijn Nawijn, Mihai Netea, Garry Nolan, Dana Pe'er, Anthony Philippakis, Chris P Ponting, Stephen Quake, Wolf Reik, Orit Rozenblatt-Rosen, Joshua Sanes, Rahul Satija, Ton N Schumacher, Alex Shalek, Ehud Shapiro, Padmanee Sharma, Jay W Shin, Oliver Stegle, Michael Stratton, Michael J T Stubbington, Fabian J Theis, Matthias Uhlen, Alexander van Oudenaarden, Allon Wagner, Fiona Watt, Jonathan Weissman, Barbara Wold, Ramnik Xavier, Nir Yosef, and Human Cell Atlas Meeting Participants. The human cell atlas. *Elife*, 6, 12 2017. doi: 10.7554/eLife.27041.
- [29] Andrew W Senior, Richard Evans, John Jumper, James Kirkpatrick, Laurent Sifre, Tim Green, Chongli Qin, Augustin Zidek, Alexander W R Nelson, Alex Bridgland, Hugo Penedones, Stig Petersen, Karen Simonyan, Steve Crossan, Pushmeet Kohli, David T Jones, David Silver, Koray Kavukcuoglu, and Demis Hassabis. Improved protein structure prediction using potentials from deep learning. *Nature*, 577(7792):706–710, 01 2020. doi: 10.1038/s41586-019-1923-7.
- [30] Peter H Sudmant, Tobias Rausch, Eugene J Gardner, Robert E Handsaker, Alexej Abyzov, John Huddleston, Yan Zhang, Kai Ye, Goo Jun, Markus Hsi-Yang Fritz, Miriam K Konkel, Ankit Malhotra, Adrian M Stütz, Xinghua Shi, Francesco Paolo Casale, Jieming Chen, Fereydoun Hormozdiari, Gargi Dayama, Ken Chen, Maika Malig, Mark J P Chaisson, Klaudia Walter, Sascha Meiers, Seva Kashin, Erik Garrison, Adam Auton, Hugo Y K Lam, Xinxing Jasmine Mu, Can Alkan, Danny Antaki, Taejeong Bae, Eliza Cerveira, Peter Chines, Zechen Chong, Laura Clarke, Elif Dal, Li Ding, Sarah Emery, Xian Fan, Madhusudan Gujral, Fatma Kahveci, Jeffrey M Kidd, Yu Kong, Eric-Wubbo Lameijer, Shane McCarthy, Paul Flicek, Richard A Gibbs, Gabor Marth, Christopher E Mason, Androniki Menelaou, Donna M Muzny, Bradley J Nelson, Amina Noor, Nicholas F Parrish, Matthew Pendleton, Andrew Quitadamo, Benjamin Raeder, Eric E Schadt, Mallory Romanovitch, Andreas Schlattl, Robert Sebra, Andrey A Shabalina, Andreas Untergasser, Jerilyn A Walker, Min Wang, Fuli Yu, Chengsheng Zhang, Jing Zhang, Xiangqun Zheng-Bradley, Wanding Zhou, Thomas Zichner, Jonathan Sebat, Mark A Batzer, Steven A McCarroll, 1000 Genomes Project Consortium, Ryan E Mills, Mark B Gerstein, Ali Bashir, Oliver Stegle, Scott E Devine, Charles Lee, Evan E Eichler, and Jan O Korbel. An integrated map of structural variation in 2,504 human genomes. *Nature*, 526(7571):75–81, Oct 2015. doi: 10.1038/nature15394.
- [31] Amalio Telenti, Levi C T Pierce, William H Biggs, Julia di Iulio, Emily H M Wong, Martin M Fabani, Ewen F Kirkness, Ahmed Moustafa, Naisha Shah, Chao Xie, Suzanne C Brewerton, Nadeem Bulsara, Chad Garner, Gary Metzker, Efrén Sandoval, Brad A Perkins, Franz J Och, Yaron Turpaz, and J Craig Venter. Deep sequencing of 10,000 human genomes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 113(42):11901–11906, 10 2016. doi: 10.1073/pnas.1613365113.
- [32] Kathryn Tunyasuvunakool, Jonas Adler, Zachary Wu, Tim Green, Michal Zielinski, Augustin Zidek, Alex Bridgland, Andrew Cowie, Clemens Meyer, Agata Laydon, Sameer Velankar, Gerard J Kleywegt, Alex Bateman, Richard Evans, Alexander Pritzel, Michael Figurnov, Olaf Ronneberger, Russ Bates, Simon A A Kohl, Anna Potapenko, Andrew J Ballard, Bernardino Romera-Paredes, Stanislav Nikolov, Rishub Jain, Ellen Clancy, David Reiman, Stig Petersen, Andrew W Senior, Koray Kavukcuoglu, Ewan Birney, Pushmeet Kohli, John Jumper, and Demis Hassabis. Highly accurate protein structure prediction for the human proteome. *Nature*, 596(7873):590–596, 08 2021. doi: 10.1038/s41586-021-03828-1.
- [33] J C Venter, M D Adams, E W Myers, P W Li, R J Mural, G G Sutton, H O Smith, M Yandell, C A Evans, R A Holt, J D Gocayne, P Amanatides, R M Ballew, D H Huson, J R Wortman, Q Zhang, C D Kodira, X H Zheng, L Chen, M Skupski, G Subramanian, P D Thomas, J Zhang, G L Gabor Miklos, C Nelson, S Broder, A G Clark, J Nadeau, V A McKusick, N Zinder, A J Levine, R J Roberts, M Simon, C Slayman, M Hunkapiller, R Bolanos, A Delcher, I Dew, D Fasulo, M Flanigan, L Florea, A Halpern, S Hannenhalli, S Kravitz, S Levy, C Mobarry, K Reinert, K Remington, J Abu-Threideh, E Beasley, K Bid-dick, V Bonazzi, R Brandon, M Cargill, I Chandramouliswaran, R Charlab, K Chaturvedi, Z Deng, V Di Francesco, P Dunn, K Eilbeck, C Evangelista, A E Gabrielian, W Gan, W Ge, F Gong, Z Gu, P Guan, T J Heiman, M E Higgins, R R Ji, Z Ke, K A Ketchum, Z Lai, Y Lei, Z Li, J Li, Y Liang, X Lin, F Lu, G V Merkulov, N Milshina, H M Moore, A K Naik, V A Narayan, B Neelam, D Nusskern, D B Rusch, S Salzberg, W Shao, B Shue, J Sun, Z Wang, A Wang, X Wang, J Wang, M Wei, R Wides, C Xiao, C Yan, A Yao, J Ye, M Zhan, W Zhang, H Zhang, Q Zhao, L Zheng, F Zhong, W Zhong, S Zhu, S Zhao, D Gilbert, S Baumhueter, G Spier, C Carter, A Cravchik, T Woodage, F Ali, H An, A Awe, D Baldwin, H Baden, M Barnstead, I Barrow, K Beeson, D Busam, A Carver, A Center, M L Cheng, L Curry, S Danaher, L Davenport,

- R Desilets, S Dietz, K Dodson, L Doup, S Ferriera, N Garg, A Gluecksmann, B Hart, J Haynes, C Haynes, C Heiner, S Hladun, D Hostin, J Houck, T Howland, C Ibegwam, J Johnson, F Kalush, L Kline, S Koduru, A Love, F Mann, D May, S McCawley, T McIntosh, I McMullen, M Moy, L Moy, B Murphy, K Nelson, C Pfannkoch, E Pratts, V Puri, H Qureshi, M Rardon, R Rodriguez, Y H Rogers, D Romblad, B Ruhfel, R Scott, C Sitter, M Smallwood, E Stewart, R Strong, E Suh, R Thomas, N N Tint, S Tse, C Vech, G Wang, J Wetter, S Williams, M Williams, S Windsor, E Winn-Deen, K Wolfe, J Zaveri, K Zaveri, J F Abril, R Guigó, M J Campbell, K V Sjolander, B Karlak, A Kejarawal, H Mi, B Lazareva, T Hatton, A Narechania, K Diemer, A Muruganujan, N Guo, S Sato, V Bafna, S Istrail, R Lippert, R Schwartz, B Walenz, S Yoosheph, D Allen, A Basu, J Baxendale, L Blick, M Caminha, J Carnes-Stine, P Caulk, Y H Chiang, M Coyne, C Dahlke, A Mays, M Dombroski, M Donnelly, D Ely, S Esparham, C Fosler, H Gire, S Glanowski, K Glasser, A Glodek, M Gorokhov, K Graham, B Gropman, M Harris, J Heil, S Henderson, J Hoover, D Jennings, C Jordan, J Jordan, J Kasha, L Kagan, C Kraft, A Levitsky, M Lewis, X Liu, J Lopez, D Ma, W Majoros, J McDaniel, S Murphy, M Newman, T Nguyen, N Nguyen, M Nodell, S Pan, J Peck, M Peterson, W Rowe, R Sanders, J Scott, M Simpson, T Smith, A Sprague, T Stockwell, R Turner, E Venter, M Wang, M Wen, D Wu, M Wu, A Xia, A Zandieh, and X Zhu. The sequence of the human genome. *Science*, 291(5507):1304–51, Feb 2001. doi: 10.1126/science.1058040.
- [34] Ting Wang, Lucinda Antonacci-Fulton, Kerstin Howe, Heather A. Lawson, Julian K. Lucas, Adam M. Phillippy, Alice B. Popejoy, Mobin Asri, Caryn Carson, Mark J. P. Chaisson, Xian Chang, Robert Cook-Deegan, Adam L. Felsenfeld, Robert S. Fulton, Erik P. Garrison, Nanibaa’A. Garrison, Tina A. Graves-Lindsay, Hanlee Ji, Eimear E. Kenny, Barbara A. Koenig, Daofeng Li, Tobias Marschall, Joshua F. McMichael, Adam M. Novak, Deepak Purushotham, Valerie A. Schneider, Baergen I. Schultz, Michael W. Smith, Heidi J. Sofia, Tsachy Weissman, Paul Flicek, Heng Li, Karen H. Miga, Benedict Paten, Erich D. Jarvis, Ira M. Hall, Evan E. Eichler, David Haussler, and the Human Pangenome Reference Consortium. The human pangenome project: a global resource to map genomic diversity. *Nature*, 604(7906):437–446, 2022. doi: 10.1038/s41586-022-04601-8. URL <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04601-8>.
- [35] J D WATSON and F H CRICK. Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171(4356):737–8, Apr 1953. doi: 10.1038/171737a0.
- [36] Karen H Y Wong, Walfred Ma, Chun-Yu Wei, Erh-Chan Yeh, Wan-Jia Lin, Elin H F Wang, Jen-Ping Su, Feng-Jen Hsieh, Hsiao-Jung Kao, Hsiao-Huei Chen, Stephen K Chow, Eleanor Young, Catherine Chu, Annie Poon, Chi-Fan Yang, Dar-Shong Lin, Yu-Feng Hu, Jer-Yuarn Wu, Ni-Chung Lee, Wuh-Liang Hwu, Dario Boffelli, David Martin, Ming Xiao, and Pui-Yan Kwok. Towards a reference genome that captures global genetic diversity. *Nat Commun*, 11(1):5482, 10 2020. doi: 10.1038/s41467-020-19311-w.
- [37] Eiko Yamamoto, Kaoru Niimi, Tohru Kiyono, Toshimichi Yamamoto, Kimihiro Nishino, Kenichi Nakamura, Tomomi Kotani, Hiroaki Kajiyama, Kiyosumi Shibata, and Fumitaka Kikkawa. Establishment and characterization of cell lines derived from complete hydatidiform mole. *Int J Mol Med*, 40(3):614–622, Sep 2017. doi: 10.3892/ijmm.2017.3067.
- [38] Feng Yue, Yong Cheng, Alessandra Breschi, Jeff Vierstra, Weisheng Wu, Tyrone Ryba, Richard Sandstrom, Zhihai Ma, Carrie Davis, Benjamin D Pope, Yin Shen, Dmitri D Pervouchine, Sarah Djebali, Robert E Thurman, Rajinder Kaul, Eric Rynes, Anthony Kirilusha, Georgi K Marinov, Brian A Williams, Diane Trout, Henry Amrhein, Katherine Fisher-Aylor, Igor Antoshechkin, Gilberto DeSalvo, Lei-Hoon See, Meagan Fastuca, Jorg Drenkow, Chris Zaleski, Alex Dobin, Pablo Prieto, Julien Lagarde, Giovanni Bussotti, Andrea Tanzer, Olger Denas, Kanwei Li, M A Bender, Miaohua Zhang, Rachel Byron, Mark T Groudine, David McCleary, Long Pham, Zhen Ye, Samantha Kuan, Lee Edsall, Yi-Chieh Wu, Matthew D Rasmussen, Mukul S Bansal, Manolis Kellis, Cheryl A Keller, Christopher S Morrissey, Tejaswini Mishra, Deepti Jain, Nergiz Dogan, Robert S Harris, Philip Cayting, Trupti Kawli, Alan P Boyle, Ghia Euskirchen, Anshul Kundaje, Shin Lin, Yiing Lin, Camden Jansen, Venkat S Malladi, Melissa S Cline, Drew T Erickson, Vanessa M Kirkup, Katrina Learned, Cricket A Sloan, Kate R Rosenbloom, Beatriz Lacerda de Sousa, Kathryn Beal, Miguel Pignatelli, Paul Flicek, Jin Lian, Tamer Kahveci, Dongwon Lee, W James Kent, Miguel Ramalho Santos, Javier Herrero, Cedric Notredame, Audra Johnson, Shinnyong, Kristen Lee, Daniel Bates, Fidencio Neri, Morgan Diegel, Theresa Canfield, Peter J Sabo, Matthew S Wilken, Thomas A Reh, Erika Giste, Anthony Shafer, Tanya Kutuyavin, Eric Haugen, Douglas Dunn, Alex P Reynolds, Shane Neph, Richard Humbert, R Scott Hansen, Marella De Bruijn, Licia Selleri, Alexander Rudensky, Steven Josefowicz, Robert Samstein, Evan E Eichler, Stuart H Orkin, Dana Levasseur, Thalia Papayanopoulou, Kai-Hsin Chang, Arthur Skoultschi, Srikanta Gosh, Christine Disteche, Piper Treuting, Yanli Wang, Mitchell J Weiss, Gerd A Blobel, Xiaoyi Cao, Sheng Zhong, Ting Wang, Peter J Good, Rebecca F Lowdon, Leslie B Adams, Xiao-Qiao Zhou, Michael J Pazin, Elise A Feingold, Barbara Wold, James Taylor, Ali Mortazavi, Sherman M Weissman, John A Stamatoyannopoulos, Michael P Snyder, Roderic Guigo, Thomas R Gingeras, David M Gilbert, Ross C Hardison, Michael A Beer, Bing Ren, and Mouse ENCODE Consortium. A comparative encyclopedia of dna elements in the mouse genome. *Nature*, 515(7527):355–64, Nov 2014. doi: 10.1038/nature13992.
- Borfitz, D (2022) Scientists Finally Finish The Quest For A Gapless Human Genome. *BioIT World*. [consulta 20-IV-22]

Ámbito y política editorial

La revista *Encuentros en la Biología* (ISSN 1134-8496) es una revista de divulgación científica con carácter interdisciplinar, está editada por la Universidad de Málaga y publica periódicamente (primavera, verano, otoño, invierno) aquellas contribuciones originales que se enmarcan en un ámbito de encuentro entre las ciencias biológicas y las demás fuentes de conocimiento científico; esto es, conocimiento testado experimentalmente y avalado al menos por una fuente primaria de documentación. Aceptará también la edición de biografías de autores relevantes, de reseñas de libros y trabajos especializados, de imágenes para la portada, la sección «La imagen comentada» y otras secciones especializadas, así como noticias, comunicaciones y eventos relacionados con la biología. La editorial valorará positivamente la contribución de los trabajos en un formato ameno y accesible para estudiantes y profesores de todas las áreas de la biología, al igual que la presentación de las últimas novedades científicas en este área.

Encuentros en la Biología es un foro de difusión abierto para todas aquellas personas que estén interesadas en enviar sus aportaciones. Las contribuciones así presentadas deberán ajustarse a la política editorial y a las normas que a continuación aparecen como «Instrucciones para los Autores». La revista se reserva el derecho a realizar cuantas modificaciones en forma y diseño estime oportunas.

Instrucciones para los autores

1. Todas las contribuciones serán inéditas o contarán con la autorización expresa del organismo que posea los derechos para su reproducción, en cuyo caso la edición incluirá la referencia de su autoría. Los manuscritos recibidos podrían revisarse con medios técnicos para detección de plagios.
2. Cada contribución constará de un título, el nombre completo del autor o autores, su afiliación (institucional, académica o profesional) y correo electrónico. Para distinguir la afiliación de diferentes autores utilice símbolos (*, †, ‡, §, ¶, etc.) después del nombre de cada uno.
3. El documento se puede enviar en formato txt, rtf, sww/odt (OpenOffice/LibreOffice), doc/docx (MS-Word) o tex (L^AT_EX). Manuscritos largos pueden dividirse en varias partes que aparecerían en números distintos.
4. Los nombres de las proteínas se escribirán en mayúsculas y redondilla (ABC o Abc). Los de genes y especies aparecerán en cursiva (*ABC*, *Homo sapiens*). También se pondrán en cursiva los términos que se citen en un idioma distinto al castellano.
5. Los autores que no sean castellanohablantes pueden remitir sus manuscritos en inglés. Una vez aceptado, el equipo editorial elaborará un resumen en castellano.
6. Las tablas, figuras, dibujos y demás elementos gráficos deberán adjuntarse en ficheros independientes. Cuando sea posible, utilice el formato vectorial no propietario pdf, svg, eps o ps. En caso de fotografías o figuras tipo *bitmap* se pueden enviar en formato jpg, tif o png con una resolución mínima de 300 ppp. Existe la posibilidad de incorporar breves animaciones en formato gif a baja resolución.
7. Las referencias bibliográficas se citarán dentro del propio texto, numeradas por orden de aparición, entre corchetes en superíndice^[1]. Al final del mismo, se incluirá la sección de *Bibliografía* o *Referencias* de acuerdo con el estilo del siguiente ejemplo:
¹Einstein Z y Zwestein D. Spatial integration in the temporal cortex. *Res Proc Neurophysiol Fanatic Soc* 1: 45-52, 1974.
 Si hay más de dos autores, se citará el primero seguido de «y otros».
 Si el texto principal no incluye referencias bibliográficas, se ruega a los autores que aporten 3-4 referencias generales «para saber más» o «para más información».
8. Se anima a contribuir a la sección *la imagen comentada* con imágenes originales o de libre distribución (300 ppp de resolución como mínimo) acompañadas en documento aparte con un breve comentario de unas 300 palabras relacionado con la misma (descripción, información, técnica, etc.).
9. Se considerará cualquier contribución para las distintas secciones de la revista.
10. Envío de contribuciones: el original se enviará por correo a los coeditores o a cualquier otro miembro del comité editorial que consideren más afín al tema de la contribución. Como último recurso, se pueden enviar por correo postal acompañados de un CD. No se devolverá ningún original a los autores.
11. La aceptación de todas las contribuciones se hará a petición de los miembros del equipo editorial, manteniendo en todo caso los coeditores la decisión final sobre la misma. También se podrá sugerir al autor mejoras formales o de contenido para adaptar el artículo al perfil de la revista. La notificación se enviará por correo electrónico al autor que figure como corresponsal.