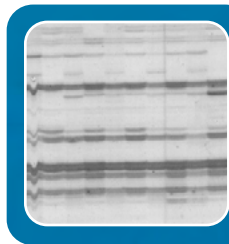




BAG
Journal of
Basic & Applied Genetics

COMUNICACIONES LIBRES



GGM

**GENÓMICA Y
GENÉTICA
MOLECULAR**

GGM 1

EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO AGRONÓMICO DE UNA LÍNEA HÍBRIDA DE *Bombyx mori* EN MISIONES Y OBTENCIÓN DE HUELLAS GENÉTICAS

Duarte LD^{1,2}, M Pereira¹, C Zalazar^{1,2}, L Acuña¹, T Pedrozo^{1,2}, G López Guerra^{1,2}, C Cáceres^{1,2}, S López^{1,2}, A Martos³, H Walantus^{1,2}. ¹Planta Piloto de Sericicultura–Centro de Investigaciones Entomológicas–Parque Tecnológico Misiones, ²Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales–Universidad Nacional de Misiones, ³Programa de Sericicultura de la UNALM (Universidad Nacional Agraria La Molina), Lima, Perú.

e-mail: luciano.d.duarte@live.com.ar

La Sericicultura es una actividad económica practicada hace más de 5000 años. La seda es una fibra textil sumamente preciada. Se presenta como una actividad productiva para Misiones debido a su ubicación geográfica, condiciones ambientales y culturales. Para lograr capullos de buena calidad se necesita buen material genético además de realizar buenas prácticas de cría. Actualmente en Argentina no se cuenta con un banco de líneas genéticas de *Bombyx mori*, pero se cuenta con la Ley Nacional de la Sericicultura N° 25747 que promociona la cría del gusano de seda. En la Sericicultura la selección genética a partir de rasgos morfológicos presenta serias limitaciones por lo cual se necesita el aporte de técnicas moleculares. En el presente proyecto se caracterizó el rendimiento agronómico de una línea híbrida de *Bombyx mori* procedente de la Universidad Nacional de La Molina, Perú. Un objetivo era evaluar la productividad en seda de éste híbrido bajo condiciones normales de cría en Misiones; por otro lado para apoyar el desarrollo de huellas dactilares se trabajó con marcadores moleculares empleando la técnica ISSR-PCR. Se extrajo ADN de larvas del 5° estadio, empleando el protocolo Suzuki et al., 1972; citado por Nagaraja y Nagaraju, 1995. La integridad de los ácidos nucleicos se testeó mediante gel de agarosa al 1%; la corrida electroforética se realizó por 30' a 110 V en buffer TBE 0,5X; la tinción fue con Bromuro de Etidio. Se determinó la cantidad y calidad del ADN por espectrofotometría. Se testearon 10 cebadores que arrojaron un perfil genético característico del híbrido.

GGM 2

ESTUDIO DE LOS SUBTIPOS MOLECULARES EN LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA PML/RARÁ EN

PACIENTES PERUANOS, INEN 2010 – 2012

Castro Mujica M, Y Sullcahuamán Allende, A Arias Velasquez. Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas-INEN-Lima, Perú.

e-mail: mari_j4u@hotmail.com

La Leucemia Promielocítica Aguda (LPA) posee características clínicas, morfológicas y moleculares distintivas del resto de leucemias mieloides agudas (LMAs), así como una alta incidencia en adultos jóvenes y países latinoamericanos. En el 95% de los casos de la LPA se encuentra la traslocación t (15; 17) que resulta en la fusión génica PML/RAR α , que posee tres subtipos moleculares según el punto de corte en PML (bcr1, bcr2 y bcr3). El 5% restante de las LPAs corresponde a variantes. En el presente trabajo hemos descrito la distribución de PML/RAR α y sus subtipos moleculares según sexo y edad, encontrándose que del total de pacientes positivos para PML/RAR α por RT-PCR, 54% fueron varones y 54% pertenecían al grupo etario de 16-40 años. El subtipo molecular bcr1 fue el más frecuente (62%), seguido de bcr3 (24%) y bcr2 (14%). También se encontró una mayor frecuencia del subtipo bcr1 en los pacientes con riesgo de recaída intermedio y morfología hipergranular, así como del subtipo bcr3 en pacientes con riesgo de recaída alto y morfología hipogranular. Hubieron 5 casos con morfología mixta y 1 caso catalogado como LMA no LPA, que tras realizar el estudio de RT-PCR se determinó la presencia de la fusión PML/RAR α y su subtipo molecular. Concluimos que en los pacientes peruanos predomina el subtipo molecular bcr1 y que existe una mayor relación de bcr1 y bcr3 con determinadas características morfológicas y grupo de riesgo de recaída. Todo paciente con sospecha de LPA debe realizarse el estudio de RT-PCR para llegar al diagnóstico definitivo y determinar su subtipo molecular.

GGM 3

MOLECULAR MECHANISMS CONTROLLING SEQUENCE VARIATION DURING POLYPLOIDIZATION IN GRASS SPECIES

Weihmüller E¹, M Podio^{1,2}, C Coronel¹, F Espinoza², M Sartor², JP Selva³, V Echenique³, C Spampinato⁴, S Pessino¹. ¹CONICET, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario, Zavalla, Santa Fe, Argentina, ²IBONE, CONICET, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina, ³CERZOS, CONICET,



Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina, ⁴CEFOBI, CONICET, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Santa Fe, Argentina.
e-mail: emilse1984@hotmail.com

In several grass species autopolyploidization was associated with the occurrence of genetic modifications. The objectives of this work were: 1) confirm that the previously reported genetic variation involves specific loci; 2) analyze the role of the DNA repair system in establishing such modifications. Two pairs of *P. plicatum* lines with a common genetic background but different ploidies (4C-2x/4C-4x and 7D-2x/7D-4x) were analyzed to detect genetic alterations associated with autopolyploidization. AFLP and RAPD profiles showed 23.98 % and 25.51 % polymorphic loci in the 4C and 7D-derived systems, respectively. Around 20% of these polymorphisms were detected concurrently in both polyploidization events. Prior work had revealed extensive genetic variation (29-32%) following autopolyploidization in *Eragrostis curvula*. We selected the latter model to quantify the DNA repair system transcript representation in plants with different ploidy and common genetic background. Thirteen genes corresponding to the MMR, BER, NER, nudix helicases, NHEJ, and HR subsystems were studied. None of them showed differential expression associated with polyploidy. Besides, most of the polymorphic fragments isolated from both the *Paspalum* and *Eragrostis* systems corresponded to retrotransposons, pseudogenes and retrotransposons+pseudogenes. Our results confirmed the occurrence of conserved genetic alterations during autopolyploidization in the grasses, which do not seem to involve the DNA repair system, but the insertion of retrotransposons into pseudogenes.

GGM 4

DISEÑO Y ANÁLISIS DE PRIMERS QUE REVELARON REGIONES cpSSRs EN *Calophyllum brasiliense*

Percuoco CB^{1,3}, LN Talavera Stéfani¹, ME Rodríguez², AE Cardozo², NL González², CF Argüelles¹. ¹IBS-GIGA-FCEQyN-UNaM, ²Cátedra Sistemática Teórica-FCEQyN-UNAM, ³Becario CONICET TII.
e-mail: genemol@fceqyn.unam.edu.ar

El genoma cloroplástico es extensamente empleado en estudios de genética de poblaciones debido al alto grado de conservación de la molécula, lo que

permite la utilización de cebadores universales o interespecíficos como estrategia de amplificación cruzada entre especies, sin que éstas estén estrechamente emparentadas. En el caso del intrón trnL de *Calophyllum brasiliense* "arary", se amplificó la región con *primers* universales en 60 individuos, de los que cuatro fueron secuenciados. El intrón de la especie posee 611 pb y las cuatro muestras exhibieron una identidad de secuencia del 100%. El objetivo del presente trabajo fue diseñar un par de cebadores internos específicos para "arary" a partir del fragmento de 611 pb del intrón TrnL obtenido previamente y caracterizar de manera estricta la variabilidad genética contenida en las poblaciones argentinas de esta especie. De esta manera se describe el primer par de *primers* Cbra_1F y Cbra_2R. La especificidad de los mismos fue comprobada mediante BLAST. Los iniciadores se sintetizaron y fueron testeados tanto con ADN genómico total como templado, como con el intrón completo previamente obtenido. En ambos casos, la amplificación fue positiva, corroborándose la identidad de la región con secuencias de otras especies cercanas disponibles en GenBank. De esta manera se registra el primer par de cebadores diseñados para la especie constituyendo el punto de partida para el *screening* de SNPs del intrón TrnL en todos los individuos de las poblaciones argentinas de "arary".

GGM 5

LINAJES AUTÓCTONOS EN EL NORTE ARGENTINO: UNA OBSERVACIÓN A TRAVÉS DE 17 MICROSATÉLITES ESPECÍFICOS DEL CROMOSOMA Y

Alfaro EL¹, ME Albeck¹, JE Dipierri², LS Jurado Medina³, J Beltramo³, CM Bravi^{3,4}, G Bailliet³. ¹UNJu-CONICET, ²INBIAL - UNJu, ³IMBICE CCT-CONICET La Plata, CICPBA, ⁴FCNyM - UNLP.
e-mail: ealfaro@inbial.unju.edu.ar

Los linajes autóctonos del cromosoma Y (Q1a3a) son muy frecuentes en el NOA y especialmente en Jujuy. Se analizaron los haplotipos construidos a partir de 17 microsatélites (YFiler, Applied Biosystems) en 229 muestras con haplogrupo Q1a3a procedentes de poblaciones urbanas de Jujuy, Salta, Catamarca, La Rioja, San Juan y Mendoza y poblaciones aborígenes (wichis, tobas, chorotes, mocovíes, mapuches, tehuelches, lengua y ayoreo). Se observaron 28 linajes portadores del alelo 14 para DYS 393 que se comportaron como monofiléticos y

con cierta especificidad de provincia (20 de Jujuy, 4 de Salta, 2 de Catamarca, 1 de Mendoza y 1 de San Juan). El linaje ancestral se construyó mediante la combinación de los alelos más frecuentes para cada locus y se encontró en 4 individuos que presentaron una posición central en la red mediana. La distancia máxima en pasos mutacionales entre el fundador y los distintos haplotipos fue de 5. La diversidad media para las 14 poblaciones analizadas fue de 0.461 ($\pm 0,23$) y la total fue 0,547 ($\pm 0,18$), mientras que la estimada para el grupo monofilético fue 0,174 ($\pm 0,18$) menos de la mitad de la diversidad media calculada. Al considerar el origen del apellido se observó que, en el grupo monofilético, 15 de los 28 individuos que lo integran, son portadores de apellidos autóctonos (54%) mientras que en el total de la muestra esta frecuencia fue sólo de 20%. Debido a la baja diversidad del grupo, a su distribución espacial y a la elevada proporción de portadores de apellidos autóctonos, estos linajes, hipotéticamente podrían ser propios de la región.

GGM 6

NUEVOS APORTES EN LA CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE *CEBUS* (PRIMATES: PLATYRRHINI) DE DISTRIBUCIÓN EXTREMA SUR

Hassel DL^{1,2}, CF Argüelles², MD Mudry¹, M Nieves¹. ¹Grupo de Investigación en Biología Evolutiva, Dpto. EGE, IEGEBA, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (Universidad de Buenos Aires, Argentina), ²Grupo de Investigaciones en Genética Aplicada, Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales (Universidad Nacional de Misiones, Argentina). e-mail: dianahassel@yahoo.com.ar

La integración de distintos tipos de datos que permitan el análisis de las relaciones evolutivas en primates es compleja. El género *Cebus* es un excelente ejemplo de esta afirmación: presenta una gran diversidad de coloración de pelaje; y a nivel citogenético exhibe una notable variabilidad cariotípica, particularmente asociada a la distribución y proporción de heterocromatina extracentromérica. Sin embargo, los estudios de la variabilidad genético-molecular en el grupo son aún escasos. En este contexto, el presente trabajo tuvo como objetivo la caracterización genética de ejemplares de *Cebus* de Argentina y Paraguay. Se efectuó el diagnóstico citogenético corroborándose la asignación de especie en 12 *C. libidinosus* (CLI) y 6 *C. nigrurus* (CNI) detectándose polimorfismos de presencia/ausencia del bloque heterocromático del par #13

en 4 CLI, y una inversión proximal en homocigosis involucrando al bloque heterocromático del par #13 en 1 CNI. Simultáneamente se caracterizaron 6 loci STRs partiendo de muestras de sangre y pelos (19 CLI y 6 CNI), con presencia de variantes polimórficas en 5 de ellos: pepC_8, pepC_3, pepC_59, Ceb_120 y Ceb_130. Las variantes alélicas identificadas en agarosa al 3,5% fueron confirmadas por PAGE y se determinaron alelos mediante secuenciación capilar para 2 de los marcadores propuestos: pepC_8 y Ceb_130. La descripción de STRs polimórficos representa una contribución inicial importante en la tipificación integral de la estructura genética de las dos especies de *Cebus* que conforman la distribución extrema sur del género.

GGM 7

ANÁLISIS FILOGENÉTICO DE LA REGIÓN ÚNICA DE LA PROTEÍNA DE LA CÁPSIDE DE BOCAVIRUS HUMANO 1

Insfrán C, LM Ghiotto, MP Adamo. Laboratorio de Rubeola y Parvovirus. Instituto de Virología "Dr. J. M. Vanella", InViV. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba. Calle Enfermera Gordillo S/N (5016). e-mail: coti_insfran@hotmail.com

El Bocavirus humano 1 (HBoV1) es un nuevo parvovirus asociado a infección respiratoria alta y baja, principalmente en niños. Las proteínas estructurales del virión, VP1 y VP2, están codificadas en un marco de lectura y comparten la región C-terminal, pero son sintetizadas a partir de sitios de inicio alternativos. Por ello, VP1 posee una región única (VP1u, nt 3056-3443), que en otros parvovirus contiene epítopes neutralizantes. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la variabilidad intraespecífica de VP1u en un grupo de aislamientos de HBoV1 obtenidos en Córdoba, Argentina, entre 2007 y 2011. Se estudiaron 26 aislamientos locales, de los cuales 18 pudieron ser amplificados y secuenciados (nt 3009 a 3574). Las secuencias se editaron mediante Bioedit v7.0.9 y para el cálculo de distancias genéticas y construcción árboles filogenéticos se utilizó MEGA v5.05. En la región VP1u sólo se observaron 4 sustituciones nucleotídicas no relacionadas a cambios aminoácidos y la distancia genética general fue 0.001. La escasa variabilidad intraespecífica de HBoV1 en la región VP1u podría estar relacionada a la ausencia de presión de selección que se asocia con la presentación de epítopes neutralizantes. Por otra parte, se identificaron 2 sitios de sustitución



nucleotídica asociados con cambios aminoacídicos aguas abajo de VP1u, en la región VP2, incluyendo la inserción de uno o dos nucleótidos en 6 de las 18 cepas analizadas. Estas mutaciones refuerzan la hipótesis de que la principal región antigénica de HBoV1 se encuentra en VP2.

GGM 8

OBTENCIÓN DE MARCADORES STS MEDIANTE AMPLIFICACIÓN INTERTAXA EN *Anadenanthera colubrina* var. *cebil*

Ramos ME^{1,2}, ME Barrandeguy^{1,3}, MV García^{1,3}. ¹Cátedra de Genética de Poblaciones y Cuantitativa, Departamento de Genética, FCEQyN, Universidad Nacional de Misiones, ²Comité Ejecutivo de Desarrollo e Innovación Tecnológica, ³Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. e-mail: me.ramos.01@gmail.com

Anadenanthera colubrina (Vell.) Brenan var. *cebil* (Fabaceae-Mimosoideae) es una especie forestal nativa de América del Sur. En Argentina se conoce popularmente como “curupay” o “cebil colorado” y su distribución natural abarca las provincias biogeográficas Chaqueña; Paranaense y de las Yungas. Los marcadores moleculares de tipo Sequence Tagged Sites (STS) son secuencias cortas de copia única en el genoma nuclear. Su naturaleza codominante permite estimar de modo confiable parámetros genéticos poblacionales. Se transfirieron marcadores STS diseñados para *Medicago truncatula* a *A. colubrina* var *cebil* con el fin de desarrollar, a partir de sus secuencias, marcadores PCR-RFLP para analizar la diversidad genética nuclear en poblaciones naturales de esta última especie. Estos STSs han sido transferidos a numerosas leguminosas incluida *Piptadenia viridiflora* de la misma tribu que *A. colubrina*. Se analizaron 35 individuos provenientes de dos localidades: Calilegua (Jujuy) y Santa Ana (Misiones) mediante PCR-RFLP a partir de cuatro pares de cebadores para amplificar regiones STS. Estos cebadores fueron diseñados a partir de secuencias EST (Expressed Sequence Tag). Para caracterizar la diversidad genética se calculó el número de alelos por locus, número efectivo de alelos, la heterocigosidad observada y la heterocigosidad esperada. Se logró la transferencia exitosa de los cuatro pares de cebadores y a partir de los amplicones se obtuvieron marcadores PCR-RFLP. Estos marcadores detectaron diversidad en las poblaciones estudiadas indicando diferencias entre poblaciones.

OBTENCIÓN DE SSRNU *DE NOVO* EN CURUPAY (*Anadenanthera colubrina* var. *cebil*): UN RECURSO SUDAMERICANO

Barrandeguy ME^{1,2}, K Prinz³, MV García^{1,2}, R Finkeldey³. ¹Departamento de Genética. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones; Posadas (3300) Misiones, Argentina, ²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET-Argentina), ³Forest Genetics and Forest Tree Breeding, Georg-August-University Göttingen D-37077 Göttingen, Alemania. e-mail: ebarran@fceqyn.unam.edu.ar

A. colubrina var *cebil* es una especie forestal cuya distribución natural comprende Perú, S y E de Brasil, Paraguay, Bolivia y N de Argentina. Presenta características que la hacen ideal para reforestar áreas degradadas. Se desarrollaron dos librerías enriquecidas con motivos repetidos en tándem para obtener los SSR nucleares de novo. Una fue enriquecida con motivos (GA)₁₀ y la otra con una mezcla equimolar de motivos (GAA)₈, (CAA)₈ y (CA)₁₀. Los fragmentos fueron capturados magnéticamente, clonados y 200 insertos secuenciados. La librería (GA)₁₀ resultó más exitosa. Se diseñaron 30 pares de cebadores, 16 de los cuales produjeron fragmentos únicos del tamaño esperado. Estos amplicones fueron clonados, resecuenciados y alineados con los fragmentos originales obtenidos desde el enriquecimiento. Las secuencias para 15 pares de cebadores fueron complementarias a los fragmentos originales. Estos cebadores fueron marcados con fluorescencia y se utilizaron para realizar las pruebas de polimorfismo en 69 individuos provenientes de 4 poblaciones argentinas. El tamaño de los alelos fue asignado mediante GeneScan. Ocho pares de cebadores resultaron polimórficos en las poblaciones estudiadas. Se observaron entre 8 y 28 alelos por locus, mientras que los rangos de heterocigosidad observada y esperada fueron de 0,073 a 0,725 y de 0,756 a 0,841, respectivamente. Estos resultados confirman la utilidad de estos cebadores para estudios de diversidad genética y de desequilibrio de ligamiento en poblaciones de esta especie y su potencial transferencia a otras leguminosas nativas.

GGM 10

GENÓMICA CUANTITATIVA EN EL ESTUDIO DE LAS RESPUESTAS DE ESCAPE

AL SOMBREADO EN PLANTAS

Kasulin L, Y Agrofoglio, BF Botto. Instituto de Investigaciones Fisiológicas y Ecológicas vinculada a la Agricultura (IFEVA), Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.
e-mail: lkasulin@agro.uba.ar

Las plantas son organismos sésiles que compiten por los recursos escasos como la luz. Las plantas perciben la disminución de la relación luz rojo/rojo-lejano en cercanía de plantas vecinas y promueven anticipadamente un conjunto de respuestas morfológicas de escape al sombreado (SAS) como la elongación de las estructuras vegetativas. El objetivo de este trabajo es identificar y caracterizar loci QTLs (*Quantitative Trait Loci*) involucrados en la respuesta de escape al sombreado en plántulas de *Arabidopsis thaliana* simulando condiciones de sombreado en el laboratorio. Para el mapeo de QTLs, se utilizaron tres poblaciones de líneas recombinantes y endocriadas (RILs) que comparten una misma línea parental (LerxNos, LerxCVI y LerxCol-0). Las plántulas fueron expuestas a un tratamiento de luz blanca (control) y a luz blanca finalizando el fotoperiodo con un pulso de RL (EOD). La variable respuesta analizada fue la elongación de los hipocótilos de los individuos de cada una de las RILs. Se mapearon un total de 5 QTL asociados con la sensibilidad de respuesta al EOD. Además se realizaron estudios de mapeo por asociación con 116 accesiones obteniéndose loci asociados con la SAS. Algunos de ellos colocalizaron con los identificados en los mapeos de QTL. Algunos de los loci mapeados en el cromosoma 2 fueron confirmados mediante evidencias experimentales independientes. El fitocromo B, principal fotorreceptor responsable de mediar las SAS y, ERECTA, un gen que codifica para una proteína quinasa involucrada en la morfogénesis de las plantas, son los genes candidatos de estos mapeos.

GGM 11

INVESTIGAÇÃO MOLECULAR DE POLIMORFISMOS NO GENE LPL EM INDIVÍDUOS COM OBESIDADE INFANTIL

Santos MF, LR Martins, FC Soardi, MAS Balarin. Disciplina de Genética/UFTM.
e-mail: mariana_fernanda@hotmail.com

A obesidade é definida como o acúmulo excessivo de gordura corporal. O aumento do índice de obesidade na população mundial levanta questões de saúde pública. A análise molecular é um meio utilizado

para detectar genes e alterações ligados a obesidade. Recentemente, foi observado que mutações e polimorfismos no gene da lipase lipoproteica (LPL) podem resultar em distúrbios do metabolismo lipídico com conseqüente acúmulo de gordura corporal, tanto em crianças quanto em adultos. Considerando esse gene, o polimorfismo +495T/G foi triado em uma amostra populacional Chinesa, onde a homozigose GG está associado ao risco aumentado de obesidade infantil nessa população. No trabalho foram analisados vinte pacientes entre 7 e 15 anos, com fenótipo de obesidade infantil (IMC > 30), e vinte sobre-peso (IMC entre 25 à 30) de famílias não relacionadas. O grupo controle é formado de 80 indivíduos que não apresentaram obesidade infantil e adulta (IMC < 25). Foi coletado sangue periférico. A técnica de extração de DNA utilizada foi fenol clorofórmio. Para avaliação da presença do polimorfismo +495T>G no gene LPL foi realizada a PCR, com utilização de *primers* específicos, seguida pela análise de restrição com a enzima Hind III, quando na presença do alelo G.O resultado encontrado considerando a classificação: obesidade, sobrepeso e controle versus o genótipo de cada indivíduo foi insignificante, já a análise da classificação versus a presença da base G no genótipo foi estatisticamente significativa, observando-se assim, associação entre o polimorfismo LPL e a obesidade infantil.

GGM 12

CARACTERIZACIÓN DE 10 Y-STRS EN INDIVIDUOS PERTENECIENTES AL HAPLOGRUPO Q DE ARGENTINA

Beltramo J¹, LS Jurado¹, V Ramallo^{1,2}, M Muzzio^{1,3,4}, MR Santos^{1,4}, E Alfaro⁵, S Salceda^{4,6}, JE Dipierri⁵, CM Bravi^{1,4}, G Bailliet¹, ME D'Amato⁷. ¹Laboratorio de Genética Molecular Poblacional, IMBICE, La Plata, Argentina, ²Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil, ³Stanford University School of Medicine, Department of Genetics, Stanford, California, ⁴Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP, Argentina, ⁵INBIAL, UNJU, Argentina, ⁶Dpto. de Antropología Biológica, FCNyM, UNLP, Argentina, ⁷Forensic DNA Laboratory, UWC, Cape Town, South Africa.
e-mail: julietabeltramo@hotmail.com

El Cromosoma Y ha sido ampliamente utilizado en los últimos tiempos para reconstruir la historia de las poblaciones humanas, la evaluación de parámetros fundamentales de los Y-STRs ha sido clave a la hora de hacer inferencias filogenéticas claras. En el siguiente trabajo estudiamos la variabilidad haplotípica de un nuevo set de 10 loci

Y-STRs (DYS710, DYS385AB, DYS447, DYS504, DYS449, DYS626, DYS644, DYS612, DYS481, DYS518) diseñados y validados por D'Amato *et al.* en una muestra de 159 individuos pertenecientes al Haplogrupo amerindio Q (SNP 242) provenientes de Argentina, comparando la misma con datos disponibles para la población sudafricana de Ciudad del Cabo. Se calcularon las frecuencias alélicas, la diversidad haplotípica según Nei (HD=0,991), la capacidad de discriminación (DC=86,79 %) y se obtuvieron 138 haplotipos distintos y 21 compartidos. Para el marcador DYS504 se halló el alelo 19 y para el DYS710 el 31.1 y 32.1 nunca antes informados. El haplotipo más frecuente fue el (32.2-15,16.1-24-15-28-23-16-29-24-32). Por otro lado, se estudió la estructura del linaje utilizando el programa Structure 2.3.3 en donde se obtuvieron 4 grupos más probables con los cuales se calculó la información aportada por cada STR con el programa Infocalc, resultando los marcadores CYS626, CYS612, CYS710 y CYS449 como los más informativos.

GGM 13

HAPLOTIPOS DE 17 STRS DEL HAPLOGRUPPO Q1A3A EN POBLACIONES URBANAS Y NATIVAS DE ARGENTINA

Jurado LS¹, J Beltramo¹, V Ramallo^{1,2}, M Muzzio^{1,3,4}, MR Santos^{1,4}, E Alfaro⁵, S Salceda^{4,6}, JE Dipierri⁵, ME D'Amato⁷, CM Bravi^{1,4}, G Bailliet¹. ¹Laboratorio de Genética Molecular Poblacional. IMBICE. La Plata. Argentina, ²Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil, ³Stanford University School of Medicine, Department of Genetics, Stanford, California, ⁴Facultad de Ciencias Naturales, UNLP. Argentina, ⁵INBIAL, UNJu. Argentina, ⁶Dpto. de Antropología Biológica. FCNM, UNLP, ⁷Forensic DNA Laboratory, UWC. e-mail: laurajurado87@hotmail.com

Con el fin de tener una visión general del estado actual de la configuración genética masculina de las poblaciones que habitan la región del Noroeste de Argentina se analizaron 17 STR's del cromosoma Y (Kit AmpFISTR Yfiler) en 182 varones provenientes de 9 provincias con diferentes localidades urbanas y asentamientos indígenas. Los individuos analizados fueron previamente tipificados con SNPs del cromosoma Y e identificados dentro del clado M3 (Haplogrupo Q1a3a), a partir de estos análisis es posible observar patrones regionales que permiten identificar la presencia de linajes aborígenes y el posible origen regional de estos dentro de las poblaciones urbanas actuales. En las poblaciones indígenas analizadas en el presente estudio se encontró una contribución de aproximadamente el

70% del linaje Q1a3a que es el mayoritario para nativos americanos mientras que en las poblaciones urbanas se encontró en aproximadamente un 20%. La prueba de análisis de varianza molecular de los STR's mostró un bajo grado de diferenciación ($F_{st}=0.06665$) entre las poblaciones. La prueba exacta de diferenciación poblacional mostró que la población de Gran Chaco se diferenció significativamente del resto de poblaciones. Se encontraron 163 haplotipos diferentes en todas las localidades, de los cuales 18 son compartidos entre las poblaciones. Las representaciones gráficas obtenidas a partir de análisis de componentes principales muestran un agrupamiento para las regiones más cercanas geográficamente, lo cual puede explicarse por su relación migratoria.

GGM 14

EXPRESIÓN DE GENES DE VITELOGENINA EN EL VECTOR DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS *Triatoma infestans*

Blariza MJ¹, NW Soria², BA García¹. ¹Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, ²Cátedra de Biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Católica de Córdoba, Córdoba. e-mail: mariablariza@yahoo.com.ar

Con el propósito de analizar en *Triatoma infestans* un gen involucrado en el proceso de ovogénesis, como el que codifica para vitelogenina (Vg), se determinaron secuencias de ADNc que permitieron detectar dos genes de Vg (Vg-A y Vg-B). A partir de estas secuencias se diseñaron primers específicos y sondas Taqman para cuantificar la expresión relativa de ambos genes, mediante el método de PCR en Tiempo Real, en diferentes tejidos, estadios y condiciones de alimentación. Nuestros resultados revelaron que los genes de Vg-A y Vg-B se expresaron moderadamente en cuerpo graso de hembras adultas después de la muda, mientras que su expresión aumentó significativamente después de la ingesta de sangre, con un primer pico de expresión al cuarto día y un segundo mayor incremento con un máximo de expresión el día 12. En ovarios de hembras adultas sólo se detectó expresión del gen Vg-B, con un patrón de expresión similar al descrito, mientras que en cuerpo graso de hembras de V. estadoninfa y de machos adultos no se detectó expresión de los genes Vg. En esta especie, las ovarios que constituyen el ovario exhiben un desarrollo asincrónico, por este motivo existen simultáneamente

diferentes estados de maduración de los ovocitos en el ovario y la oviposición se produce durante varios días después de aproximadamente 15 días de la ingesta de sangre. La detección de un primer pico de expresión, seguido de un segundo aumento en los niveles de ARNm podría estar relacionada con este proceso asincrónico de formación de los huevos y el largo período de oviposición que caracteriza a esta especie.

GGM 15

EXPRESIÓN DE UN GEN DE CITOCROMO P450 EN EL VECTOR DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS *Triatoma infestans*

Grosso CG¹, MJ Blariza¹, NW Soria², BA García¹. ¹Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, ²Cátedra de Biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Católica de Córdoba, Córdoba.
e-mail: cggrosso@hotmail.com

Los citocromos P450 (CYP450) son un grupo de enzimas que intervienen en vías de biosíntesis y degradación de diversos compuestos endógenos y en la desintoxicación de compuestos exógenos. Incrementos en la expresión a nivel de la transcripción de genes CYP450 son considerados responsables de aumentar el metabolismo de insecticidas y del desarrollo de resistencia en insectos. Con el propósito de analizar genes que podrían estar relacionados con la resistencia a insecticidas en *Triatoma infestans*, se inició el estudio con la obtención de fragmentos de ADN copia (ADNc) correspondientes a 3 genes CYP450. A partir de la secuencia de ADNc de uno de esos genes aislados se diseñaron primers específicos y una sonda Taqman para la determinación de su expresión mediante la técnica de PCR en Tiempo Real. Inicialmente se determinó la dosis letal 50% (DL₅₀) del principio activo deltametrina con la que se realizó una aplicación tópica en la parte ventral del abdomen de ninfas V de *T. infestans* provenientes de una colonia de laboratorio. Las determinaciones de expresión se llevaron a cabo a partir de ARN total extraído de puelles de cuerpo graso de esos insectos en distintos intervalos de tiempo después de la aplicación tópica del principio activo insecticida. Los resultados obtenidos muestran que los niveles de ARNm del gen analizado se incrementan después de la aplicación de insecticida en relación a lo detectado en los individuos no expuestos, alcanzando el máximo de expresión a las 2 hs de exposición. Este estudio podría aportar nuevas bases para el

desarrollo del manejo de resistencia.

GGM 16

OBTENCIÓN DE MICROSATÉLITES CLOROPLÁSTICOS EN POBLACIONES ARGENTINAS DE *Calophyllum brasiliense*

Talavera Stefani LN^{1,2}, CB Percuoco^{1,3}, LG Giménez¹, ME Rodríguez², AE Cardozo², NL González², CF Argüelles¹. ¹IBS-GIGA-FCEQyN-UNaM, ²Cátedra Sistemática Teórica-FCEQyN-UNaM, ³Becario CONICET TII.
e-mail: genemol@fceqyn.unam.edu.ar

Los marcadores genéticos de tipo microsatélites o SSRs han sido los sistemas de elección para evaluar polimorfismos en plantas durante los últimos años debido a su elevada informatividad. El objetivo del presente trabajo fue obtener marcadores cloroplásticos (cpSSRs) que puedan utilizarse en la evaluación de la diversidad genética de dos poblaciones argentinas de *Calophyllum brasiliense*, conocida vulgarmente como "arary", especie arbórea característica de las selvas ribereñas. Las poblaciones estudiadas se localizan en Rincón Ombú, Ituzaingó-Corrientes y San Ignacio-Misiones. Utilizando la estrategia de amplificación cruzada, se seleccionaron cebadores que amplificaron loci microsatélites polimórficos en especies filogenéticamente cercanas a *C. brasiliense*. Se optimizaron, en 30 individuos de cada población, los pares de primers trnLc-trnLd y ccmp2. Los amplicones se verificaron en geles de agarosa, observándose bandas únicas de 611 pb para el intrón TrnL y de 194 pb para ccmp2. Se secuenciaron amplicones de cuatro individuos seleccionados al azar, describiéndose los primeros cpSSRs para la especie, tres dentro del intrón trnL y uno en ccmp2, los cuatro de tipo interrumpido. El análisis preliminar de las regiones cpSSRs evaluadas reveló un único haplotipo cloroplástico para ambas poblaciones. No obstante se propone el *screening* de variantes polimórficas de base única a través de la secuenciación de estas regiones cloroplásticas en los 60 individuos analizados, a los efectos de confirmar la ausencia de polimorfismos intra o interpoblacional.

GGM 17

CARACTERIZACIÓN DE POLIMORFISMOS EN EL GEN BOVINO FABP4 INVOLUCRADO EN EL METABOLISMO LIPÍDICO

Goszczyński DE, DM Posik, G Giovambattista, MV Ripoli. Instituto de Genética Veterinaria (IGEVET), CCT La Plata-CONICET-Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad

Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.
e-mail: mvripoli@fcv.unlp.edu.ar

La FABP4 es una proteína citoplasmática involucrada en el metabolismo lipídico y la adipogénesis músculo-específica por lo tanto su caracterización en diferentes razas bovinas resulta un tema de suma importancia en la industria de la carne. Distintos autores han detectado diversos SNPs en el gen FABP4 que han sido asociados con caracteres de espesor de grasa dorsal, contenido de ácido palmitoleico en grasa muscular, marmoleo y deposición de grasa subcutánea. Estos estudios han sido realizados principalmente en razas japonesas y coreanas, sin embargo se conoce poco sobre la distribución de los polimorfismos y el efecto sobre marmoleo de este gen en la mayoría de las razas bovinas. El objetivo del trabajo consistió en caracterizar la variabilidad genética del gen FABP4 en un panel de 30 muestras correspondientes a razas criadas en Argentina con diferente grado de marmoleo. La detección de SNPs se realizó por medio de PCR-secuenciación directa y el uso de programas computacionales y herramientas de alineamiento online. Se detectaron 16 SNPs de los cuales 4 no estaban reportados. Los dos primeros SNPs se encontraron en la región promotora en la raza Aberdeen Angus, el tercero en la región 5' UTR en animales Brahman y Nelore, y el último en el intrón 1 en las razas Aberdeen Angus, Limousin, Criollo Argentino y Hereford. Con el fin de validarlos se diseñarán métodos de tipificación poblacional. La información resultante será de importancia para realizar trabajos de asociación entre polimorfismos del FABP4 y el grado de marmoleo en bovinos.

GGM 18

GLYCEROL-3-PHOSPHATE DEHYDROGENASE ISOFORMS EXPRESSION IN FLIGHT MUSCLES OF

Triatoma infestans

Stroppa MM¹, ME Lagunas¹, CS Carriazo¹, BA García¹, G Iraola², Y Panzera², NM Gerez de Burgos¹. ¹Cát. de Bioq. y Biol. Molec. FCM. UNC, ²Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, Montevideo Uruguay.
e-mail: mercedesstroppa@hotmail.com

In *Triatoma infestans* (*T. infestans*) flight muscles, glycerol-3-phosphate dehydrogenase (GPDH) isoforms are differentially expressed during development and between sexes. GPDH1 is involved in flight metabolism and GPDH2 provides lipid precursors. We studied isoforms expression in

flight muscles of natural populations and laboratory colonies of *T. infestans*, and analyzed intake and temperature effects in transcript patterns in laboratory colonies. We determined GPDH total activity and performed semiquantitative RT-PCR and non-denaturing PAGE revealed with specific activity. Total activity was lower in first and second laboratory generations than in natural populations. We observed concordance among RNA level and isoform specific activity. We demonstrated that GPDH1 predominates in adult *T. infestans* flight muscle from natural population and laboratory first and second generations. The GPDH2 expression of natural population compared with the first and second laboratory generations increased and GPDH1 decreased. Under laboratory conditions, the increase of the intake time from 30 to 120 min. promoted transcript patterns changes: before last molt, GPDH1 and GPDH2 increased 2 and 25 fold, respectively; in young adults, GPDH1 decreased 20% and GPDH2 increased 40%; in 30 days old adults, the GPDH2 was 20% higher and GPDH1 had no significant modification. Patterns differed at 22°C and 28°C temperatures. At 22°C pattern had delayed changes. Results showed isoforms adaptive expression in flight muscles, possibly due to alternative splicing and consistent with metabolic requirements.

GGM 19

UTILIDAD DE 10 MARCADORES STR EN ESTUDIOS DE DIVERSIDAD GENÉTICA Y PATERNIDAD EN VICUÑA

Anello M¹, MS Daverio¹, S Romero², L Vidal Rioja¹, F Di Rocco¹. ¹Instituto Multidisciplinario de Biología Celular (IMBICE) CCT-CONICET-CICPBA La Plata, Buenos Aires, ²EEA Abra Pampa, INTA-Jujuy.
e-mail: genmol@imbice.org.ar

En 1965 el INTA inició, con 16 animales un programa de manejo de vicuñas en cautiverio en el Campo Experimental de Altura de Abra Pampa, Jujuy. Actualmente se estima que el plantel es de 1300 animales. En 2003, en Cieneguillas (Jujuy), se realizó la primera experiencia de manejo de vicuñas en silvestría, mediante captura, esquila y liberación de los animales. El objetivo de este trabajo fue evaluar la utilidad de 10 marcadores microsatélites recomendados por la ISAG para llamas y alpacas, en estudios de diversidad genética y filiación en vicuñas. En 26 muestras del INTA y 22 de Cieneguillas se amplificaron los 10 loci en dos reacciones en multiplex, con primers fluorescentes. La separación

de los alelos de hizo por electroforesis capilar. Los parámetros de diversidad genética se evaluaron utilizando el programa Arlequin 3.5, mientras que el contenido de información polimórfica (PIC) y la probabilidad de exclusión (PE) para cada marcador se calculó con el programa Cervus. Todos los loci estuvieron en equilibrio de Hardy-Weinberg y con excepción del marcador YWLL46 en Cieneguillas, fueron polimórficos. Los valores de PIC fueron desde 0,02 a 0,83, siendo LCA19, LCA37, LC29, LCA99 y YWLL44 los loci más informativos. La PE combinada fue de 0.972. Concluimos que estos marcadores son una herramienta válida para estudios de variabilidad genética y paternidad en vicuña. Asimismo, sugerimos incrementar el número de marcadores para aumentar la probabilidad de exclusión.

GGM 20

ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO GSTP1 ILE105VAL CON LA EXPRESIÓN DE GSTP1 EN MIELOMA MÚLTIPLE

Stella F, N Weich, J Panero, I Slavutsky, A Fundia. Laboratorio de Genética, Instituto de Medicina Experimental IMEX, CONICET/ANM, Buenos Aires, Argentina.
e-mail: affundia@hematologia.anm.edu.ar

La enzima Glutathion-S-transferasa P1 (GSTP1) participa en el metabolismo de xenobióticos. Este gen presenta el SNP c.313A>G (p.Ile105Val) que genera una variante con menor actividad catalítica asociada a susceptibilidad a cáncer y variación en la respuesta terapéutica. En este trabajo se evaluó la expresión y los polimorfismos de GSTP1 en mieloma múltiple (MM) a fin de determinar su rol en la patología. Se estudiaron 94 casos (40 varones; edad media: 65,8 años; rango: 24-87 años; estadios Durie & Salmon: I: 21,3%, II: 8,5%, III: 70,2%) y 134 controles normales (62 varones; edad media: 43,4 años; rango: 18-73 años). Se empleó QRT-PCR para evaluar expresión y PCR-RFLP para identificar los individuos con genotipo wild type (GSTP1-AA), heterocigota (GSTP1-AG) y homocigota variante (GSTP1-GG). Las frecuencias genotípicas de los controles están en equilibrio Hardy Weinberg (χ^2 : 0,152, $p=0,927$). El 51% de los casos tenía sobre-expresión ($0,1\pm 0,03$) y el 49% mostró baja expresión ($0,007\pm 0,001$) tomando como punto de corte los controles ($0,017\pm 0,003$). Las frecuencias genotípicas de controles GSTP1-AA (43,9%), GSTP1-AG (45,5%) y GSTP1-GG (10,6%) y pacientes (42,6%, 54,6% y 2,7%, respectivamente)

fueron similares. La mayoría de los pacientes con sobre-expresión presentó genotipo *wild type* (64%) y el 77% de los heterocigotas tenía baja expresión ($p=0,007$). Estos resultados indican que la sobreexpresión de GSTP1 se asocia a genotipo *wild type* en tanto que los heterocigotas muestran baja expresión, sugiriendo que el genotipo puede influir en el patrón transcripcional en MM.

GGM 21

DETECCIÓN POR ESTRATEGIAS TIPO TILLING DE VARIABILIDAD INDUCIDA EN EL GEN PLASTÍDICO rpl23 DE CEBADA

Lencina F^{1,2}, AM Landau¹, MG Pacheco¹, K Kobayashi², A Prina¹.
¹Instituto de Genética "E. A. Favret", CICVyA, CNIA, INTA Castelar, ²Laboratorio de Agrobiotecnología, Departamento de Fisiología, Biología Celular y Molecular, FCEN, UBA.
e-mail: flencina@cnia.inta.gov.ar

El gen rpl23 que codifica la proteína ribosomal L23 está localizado en las repeticiones invertidas del genoma plastídico y una versión no funcional del mismo, o pseudogen, se encuentra en su región de copia simple grande. En 15 plantas de cebada derivadas de familias conteniendo un genotipo mutador de cloroplastos y que se seleccionaron por presentar diferencias morfológicas o de coloración, se identificaron mediante TILLING, desde 1 hasta 5 cambios puntuales en el gen rpl23. A través del clonado de un fragmento conteniendo dicho gen, su posterior digestión con Cell y secuenciación, se observó que algunas de estas mutaciones estaban tanto en el estado de homo como de heteroplasma, así como también, en una variedad de combinaciones diferentes. Empleando la misma estrategia de amplificación de un fragmento del plastoma conteniendo al pseudogen, su digestión con Cell y posterior secuenciación, se comprobó aquí también la existencia de hasta 5 mutaciones puntuales en homo y heteroplasma. Curiosamente, la comparación de las secuencias revela que los 5 cambios encontrados tanto en el gen como en el pseudogen corresponden a las 5 diferencias de bases que habitualmente existen entre ambos. Los resultados sugieren la ocurrencia de varios eventos de recombinación homóloga entre estas dos regiones del plastoma, cuya alta frecuencia podría deberse al genotipo mutador antes mencionado.

GGM 22

DETECCIÓN DE REGIONES SINTÉNICAS

ENTRE *Paspalum notatum*, ARROZ Y MAÍZ CON MARCADORES EST-SSR

Siena LA¹, J Stein¹, CL Quarin², JP Ortiz². ¹Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario, Santa Fe, Argentina, ²Instituto de Botánica del Nordeste (IBONE), Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina.
e-mail: lorenasiena@yahoo.com.ar

Paspalum notatum Flüggé es una gramínea rizomatosa perenne cuyas razas tetraploides se reproducen por apomixis del tipo aposporica. Trabajos previos en la especie desarrollaron mapas de ligamiento genéticos e identificaron la región genómica responsable del carácter aposporia. Los marcadores microsatélites génicos (EST-SSR) derivan de secuencias expresadas que contienen repeticiones microsatélites (SSR) internas y son muy polimórficos. El objetivo de este trabajo fue transferir marcadores de secuencia conocida (EST-SSR y SSR) a *P. notatum* y caracterizar los grupos de ligamiento de la especie mediante análisis comparativos. Marcadores EST-SSR de trigo y SSR genómicos de *P. notatum* fueron ensayados sobre una población de mapeo. Ciento diez marcadores fueron integrados a los mapas genéticos disponibles, extendiendo su cobertura e identificando nuevos grupos de ligamiento. En especial, 12 marcadores resultaron asociados a la región relacionada a la aposporia y en particular dos de ellos mapearon a ambos lados del locus responsable del carácter. Mediante un análisis de mapeo *in silico* los marcadores fueron localizados en los genomas de arroz y maíz. La identificación de secuencias ortólogas entre las tres especies permitió detectar varios segmentos cromosómicos conservados entre las 3 especies. Los marcadores localizados en los grupos de ligamiento asociados a la aposporia definieron un segmento del genoma de arroz que contendría genes candidatos a controladores del carácter.

GGM 23

EXPRESIÓN DE LOS GENES LYN Y PTEN EN LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA (LMC)

Ferri C¹, M Bianchini¹, R Bengió², I Larripa¹. ¹IMEX-Instituto de Medicina Experimental-CONICET-Academia Nacional de Medicina, ²IIHEMA-Instituto de Investigaciones Hematológicas-Academia Nacional de Medicina.
e-mail: clnafer@yahoo.com.ar

La LMC presenta el rearrreglo molecular BCR-ABL1 y el tratamiento actual son los inhibidores de tirosina kinasa (ITK) (Imatinib, Nilotinib, Dasatinib). La

resistencia al tratamiento se debe a mutaciones en el dominio kinasa del gen ABL1 u otros mecanismos independientes de BCR-ABL1. En este trabajo estudiamos la expresión de los genes LYN (src-kinasa) y PTEN (oncosupresor) en pacientes con LMC con y sin respuesta a los ITK. El análisis se realizó mediante PCR cuantitativa utilizando β -actina como gen control. Se estudiaron muestras de sangre periférica de 128 individuos divididos en 6 grupos: **A**-Fase crónica estable tratados con Imatinib (n=20), **B**-Resistentes sin mutaciones en ABL1 tratados con Imatinib o Nilotinib (n=47), **C**-Resistentes con mutación en ABL1 tratados con Imatinib o Nilotinib (n=10), **D**-Idem B tratados con Dasatinib (n=21), **E**-Idem C tratados con Dasatinib (n=10) y **F**-Controles sanos (n=20). La relación LYN/PTEN mostró los siguientes resultados (media \pm desvío estándar): 1,52 \pm 0,7; 2,30 \pm 1,7; 1,43 \pm 0,89; 1,57 \pm 1,12; 1,70 \pm 1,89 y 1,49 \pm 0,23 respectivamente. Un incremento significativo sólo se observó en el grupo B (p<0.03). Dasatinib, a diferencia de los otros ITK, inhibe src-quinasas (incluyendo LYN), por lo cual los grupos tratados con Dasatinib no mostraron diferencias respecto a los controles. Nuestros resultados indican que la resistencia al tratamiento con Imatinib o Nilotinib, en ausencia de mutaciones, podría estar mediada por la desregulación de la expresión de los genes LYN y PTEN, representando un mecanismo de resistencia independiente de BCR-ABL1.

GGM 24

POLIMORFISMOS MOLECULARES EN PARENTALES DE CEBADA PARA FUTURO MAPEO DE UN GEN MUTADOR DEL PLASTOMA

Petterson ME, A Prina, MG Pacheco. Instituto de Genética "Ewald A. Favret", CICVyA INTA Castelar. Pcia. de Buenos Aires, Argentina.
e-mail: mpacheco@cni.inta.gov.ar

Los mutadores del plastoma son genes nucleares que causan mutaciones en el ADN cloroplástico y se proponen como una herramienta eficaz para aumentar la variabilidad disponible en este genoma altamente conservado. En cebada se ha identificado un genotipo mutador de este tipo a partir del cual se ha aislado y caracterizado un amplio espectro de mutantes; sin embargo, aún se desconoce la identidad del gen mutador. Este trabajo tiene como objetivo evaluar el nivel de polimorfismo molecular entre la línea portadora del genotipo mutador y posibles

parentales contrastantes no mutadores, en una estrategia de mapeo con la finalidad de identificar el gen mutador. Se ensayaron 70 SSR (Single Sequence Repeat) en plantas de genotipo mutador y 5 cultivares de la colección de cebada del IGAEF. Se generaron patrones claros y reproducibles con 49 SSR, mediante los cuales fueron evaluados los polimorfismos entre el genotipo mutador y cada cultivar no mutador, con el objeto de identificar cuál cruzamiento sería más eficiente para el mapeo. El número de SSR polimórficos osciló entre 28 y 31 por combinación; cinco SSR fueron monomórficos y 15 polimórficos en todas las combinaciones; para 29 SSR se presentaron polimorfismos en al menos una de éstas. Se concluye entonces que las 5 combinaciones serían similarmente informativas para el mapeo y que la estrategia más provechosa sería generar poblaciones segregantes derivadas de todas las combinaciones ensayadas, para lograr de esta forma, una cobertura más amplia del genoma.

GGM 25

POLIMORFISMOS EN LOS GENES TP53, GSTM1 Y GSTP1 EN LEUCEMIA AGUDA

Weich N¹, G Galimberti², G Elena², S Acevedo³, I Larripa^{1,3}, A Fundia¹. ¹Laboratorio de Genética Hematológica, IMEX-CONICET/ANM, Buenos Aires, ²Unidad Hematológica-Oncológica del Hospital General de Niños Pedro Elizalde, Buenos Aires, ³Departamento de Genética, Instituto de investigaciones Hematológicas, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires.
e-mail: natalia.weich@gmail.com

Los polimorfismos en genes de metabolización de carcinógenos y de estabilidad genética influyen en la susceptibilidad a desarrollar leucemias agudas (LAs) y en la respuesta terapéutica. Los genes TP53, GSTM1 y GSTP1 presentan polimorfismos funcionales que modifican o anulan la actividad enzimática. El objetivo de este trabajo fue estudiar el rol de estos polimorfismos en el desarrollo de LAs y evaluar la interacción entre los genotipos variantes. Se estudiaron 109 individuos sanos (34 mujeres y 65 varones; edad media: 38,8 ± 1,26 años) y 37 pacientes con LA (18 varones y 18 mujeres; edad media 8,03 ± 0,80 años). Los SNPs TP53c.215C>G (p.Arg72Pro) y GSTP1 c.313A>G (p.Ile105Val) se estudiaron por PCR-RFLP y la delección de GSTM1 por PCR múltiple con β-globina. Se encontró que GSTM1 nulo es un factor protector (p<0,03; OR: 0,34; IC: 0,13-0,89) y GSTP1-GG es un factor de riesgo (p=0,002; OR: 4,30; IC: 1,63-11,37). No se encontraron diferencias significativas para TP53

respecto de controles (p>0.8). El análisis combinado de los polimorfismos reveló mayor proporción de pacientes con genotipos GSTM1+/GSTP1-GG (p<0.01); TP53-GG/GSTP1-GG (p<0.02) y TP53-GC/GSTP1-GG (p<0.04). Se observó menor frecuencia de casos con genotipo TP53-GG/GSTM1 nulo (p<0.04). El análisis de las frecuencias genotípicas en función de las variables clínicas no reveló diferencias significativas. Estos resultados sugieren que estas variantes solas o en combinación podrían actuar como factores moduladores de la susceptibilidad a desarrollar LA.

GGM 26

DESREGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE LA FAMILIA DE GENES RHOMBOIDE EN EL DESARROLLO DEL CÁNCER DE MAMA

Canzoneri R, E Lacunza, A Segal-Eiras, MV Croce, MC Abba. Centro de Investigaciones Inmunológicas Básicas y Aplicadas (CINIBA), Facultad de Ciencias Médicas, UNLP. e-mail: canzonerir@hotmail.com

Los genes de la familia Romboide codifican proteínas politópicas de membrana, filogenéticamente conservadas en todo el reino animal. En humanos se conocen 9 miembros, los cuales han sido involucrados en procesos celulares tales como apoptosis, proliferación, diferenciación y activación del receptor del factor de crecimiento epidérmico. El objetivo del presente trabajo fue analizar el perfil de expresión de los genes romboides humanos en el cáncer de mama. Se efectuó un análisis *in silico* sobre microarreglos de líneas celulares (n=51), tejido mamario normal (n=143) y neoplásico (n=266), con la finalidad de evaluar la expresión diferencial de los genes romboide en función de los subtipos tumorales. Los resultados *in silico* fueron posteriormente validados mediante RT-PCR cuantitativa en un grupo independiente de muestras (n=45). Todos los miembros, a excepción de RHBDL3 que se comportó de manera opuesta (p<0.001), mostraron un incremento significativo de la expresión en tumores respecto al tejido normal (p<0.001). Se observó expresión diferencial entre los subtipos tumorales, con algunos miembros sobre-expresados en carcinomas basales RHBDL2, RHBDF2, PARL (p<0.01); y otros en carcinomas luminales: RHBDD1/2/3 y RHBDF1 (p<0.01). El análisis de agrupamientos jerárquicos en los perfiles de expresión mostró similitud con el análisis filogenético a nivel aminoacídico. El presente estudio demuestra que los genes romboide humanos

se hayan sistemáticamente desregulados durante el desarrollo del cáncer de mama humano, en asociación específica con el subtipo tumoral.

GGM 27

CONSTRUCTION OF SUBTRACTIVE CDNA LIBRARY FROM CASTOR BEAN LEAVES SUBMITTED TO DROUGHT STRESS

Almeida SCP, JGM Farias, PFC Neto, KC Scortecchi. Depto de Biologia Celular e Genética, CB, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal-RN-Brasil.
e-mail: otaciliacarol@gmail.com

Castor bean (*Ricinus communis* L.) is an important oil plant, Euphorbiaceae, with high potential for biodiesel and has being planted at Brazil northeastern, where water availability it is an important problem. The aim of this work was to identify messengers differently expressed in leaves from plant submitted to drought stress using subtractive cDNA libraries. In order to do this, castor bean plants (BRS Energy cultivar) were grown at 5L vase with substrate (two types of sand and humus, 2:2:3). The drought treatment was done when plants were producing fruits (approximately 120 days old) and was conducted with 5, 10 and 10 days cyclic (10 days of dry stress + 10 days of irrigation). Leaves were collected and it were frozen in liquid nitrogen and kept at -80°C freezer. Total RNA was extract using the GE kit for total RNA extraction Illustra. Then, cDNA library was done according to Super SMART PCR cDNA Synthesis Kit and PCR-Select cDNA Subtraction Kit (Clontech). In all the steps were done the controls to check the RNA extraction quality, adaptor ligation, and subtraction and PCR amplification. Then the library was cloned into pGEM-Teasy (Promega) and transformed into *E. coli* DH10B competent cells. It was done six libraries, in forward and reverse. Minipreps were done with white colonies obtained and EcoRI digestion was done. The results showed that inserts were ranging from 300-650 bp. These results showed that the libraries were ok and the next step is to sequence 300-400 clones from each library to identify which are the messengers expressed on leaves on these conditions.

GGM 28

ANÁLISE DE POLIMORFISMO DO TIPO INDEL DOS GENES XRCC1, CASP8, NFKB1

E IL-1A EM CÂNCER GÁSTRICO NO ESTADO DO PARÁ

Albuquerque CI¹, SC Paiva SC¹, NPC Santos¹, SEBC Santos¹, AB Bona¹, PCM Vieira¹, MR Fernandes¹, PP Assumpção², RR Burbano¹, A Khayat¹. ¹Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Belém, PA, Brasil, ²Serviço de Cirurgia, Hospital Universitário João de Barros Barreto, Universidade Federal do Pará, Belém, PA, Brasil.
e-mail: inagakica@gmail.com

O desenvolvimento de biomarcadores para o câncer gástrico visa melhorias em diagnóstico e terapia, podendo aumentar a sobrevida do paciente. Sendo assim, foram utilizadas amostras de 100 pacientes com diagnóstico de adenocarcinoma gástrico do Estado do Pará. O DNA foi extraído a partir do sangue total pelo método com fenol-clorofórmio. A análise molecular dos polimorfismos foi realizada através de amplificação com iniciadores marcados com fluorocromos específicos e a leitura dos amplicons, contendo INDEL, em eletroforese capilar. Os INDEL IL-1 α (rs3783553), NFKB1 (rs28362491) e CASP8 (rs3834129) não apresentaram diferenças entre as frequências observadas nos casos e nos controles, já o INDEL XRCC1 (rs3213239) apresentou associações significativas para susceptibilidade ao câncer gástrico. No gene XRCC1, o genótipo DEL/DEL mostrou efeito de proteção ($p=0,045$, OR=0,299, IC95%=0,092-0,973) em relação ao desenvolvimento de neoplasia gástrica. Em relação às características clínico/patológicas, tumores na região não cárdia foram associados ao alelo INS do gene XRCC1, os estádios mais avançados foram associados ao alelo INS, do gene CASP8, e também ao alelo DEL e ao genótipo DEL/DEL do gene NFKB1. Assim, somente este último marcador poderia ser um bom alvo gênico para análise de suscetibilidade individual. Sendo possível incluí-lo em um painel de biomarcadores voltados ao estudo no câncer gástrico. Tais componentes genéticos devem contribuir para a susceptibilidade/proteção ao câncer por envolver a interação entre múltiplos alelos localizados em diferentes genes.

GGM 29

CONSTRUCTION OF A GENETIC LINKAGE MAP IN *Ilex paraguariensis* (YERBA MATE)

Stein J¹, C Luna², F Espasandin², ME Sartor², ME Saucedo¹, F Espinoza², JPA Ortiz^{1,2}, P Sansberro², SC Pessino¹. ¹Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario, Zavalla, Provincia de Santa Fe, Argentina, ²Instituto de Botánica del Nordeste (IBONE - CONICET), Fac Cs Agrarias, UNNE.
e-mail: jstein@unr.edu.ar

The use of molecular technologies applied to the breeding of *Ilex paraguariensis* might accelerate the generation of superior varieties. The objectives of this project were: 1) characterize the *I. paraguariensis* genome by the use of molecular markers and 2) generate a group of anchored markers with transference potential, covering the whole genome on a systematic approach. Crossing of a female genotype (SI-67) to a highly divergent male one (SI-49) generated an abundant seed set. Immature embryos were rescued and cultivated in vitro to produce a pseudo-tescross segregating progeny of 700 individuals. After assaying several techniques, a protocol based on a combination of CTAB and glucose was selected to extract genomic DNA from a 60-plants subpopulation. Currently, we are starting map construction. Up to date, 14 RAPD decamers and 4 AFLP primer combinations were used to produce 22 female markers, 23 male markers and 10 allelic bridges. Female, male and bridge data were loaded into binary matrixes and processed with the JoinMap 3 program. Linkage groups were constructed using LOD scores between 1.0-6.0 and $r_{\max} = 0.40$. In the female map, 16 markers resulted linked in 5 different groups. In the male map, 24 markers assembled in 7 different groups. Once the groups were defined, markers were ordered using the Kosambi mapping function at LOD value ≥ 0.5 . Four and five linkage groups were ordered from the female and male maps, respectively. Ten markers were selected to start the construction of a set of RFLP clones evenly distributed onto the yerba mate genome.

GGM 30

PERFIL DE EXPRESSÃO DOS GENES MYC, HTERT E TP53 EM LINHAGENS DE CÂNCER GÁSTRICO HUMANO

Bona AB¹, DQ Calcagno², CI Albuquerque¹, DFA Alcântara¹, LRCS Cunha Jr¹, FAR Mello Junior¹, RMR Burbano¹.
¹Universidade Federal Do Pará, Laboratório de Citogenética Humana, ²Universidade Federal De São Paulo, Departamento de morfologia.
 e-mail: amandinhabona@hotmail.com

O câncer gástrico (CG) é a quarta neoplasia mais frequente no mundo e dois terços dos casos ocorrem em países em desenvolvimento. O conhecimento do processo de carcinogênese gástrica é essencial para tomar medidas profiláticas. No desenvolvimento do câncer, a manutenção dos telômeros é consequência da desrepressão da telomerase. O fator limitante

deste processo é a transcrição do gene hTERT, que codifica a subunidade catalítica do complexo telomerase. Evidências revelam que na via da regulação transcricional do promotor de hTERT, a proteína MYC (C-MYC) atua como ativador enquanto que a proteína p53 age como supressor. Avaliamos a expressão de RNAm e proteína dos genes MYC, hTERT e TP53 em quatro linhagens celulares de CG. Os resultados demonstram que na carcinogênese gástrica, o gene MYC se expressa em estágio anterior ao gene hTERT. Isto corrobora com a hipótese de que MYC regula positivamente hTERT, já que para ativar a transcrição do gene HTERT, o gene MYC deve ser expresso antes. Também inferimos que o gene TP53 regula negativamente a expressão de hTERT, visto que a elevação da expressão do gene hTERT somente aconteceu nas linhagens em questão, quando a expressão do gene TP53 diminuiu. Os níveis de expressão de MYC foram superiores aos do hTERT em todas as linhagens estudadas. Nossos resultados apoiam a hipótese de que a desrepressão de hTERT e a inativação da via supressora do tumor de p53 são induzidas pela superexpressão de MYC. As propriedades relatadas colocam o gene MYC como um alvo atrativo para estratégias terapêuticas.

GGM 31

ESTIMACIÓN DE VARIABILIDAD GENÉTICA EN UNA POBLACIÓN DE *Aloysia grattisima* TRONC

Martínez Pulido, L., A Pastoriza, A Nasif, CJ Budeguer, P Herrero Nasif. Facultad de Agronomía y Zootecnia, Universidad Nacional de Tucumán.
 e-mail: lmartinezpulido@yahoo.com.ar

Aloysia grattisima (Verbenaceae), conocida como Cedroncillo, es una especie propia de zonas áridas y semiáridas, En Argentina, habita en zonas serranas y cumbres altas. Es un arbusto aromático, rico en aceites esenciales. Utilizado en medicina, industria y consumo familiar, sufre una gran depredación antrópica, reflejada en la notoria reducción de sus ejemplares, en la zona de los Valles Calchaquíes. Estudios anteriores la señalan como una especie hexaploide, con meiosis altamente irregular y escasa fertilidad. El objetivo de este trabajo es estimar la variabilidad genética de *Aloysia grattisima* Tronc., mediante electroforesis de isoenzimas esterasas y peroxidadas. Las muestras se tomaron de Tafí del Valle, Tucumán. Se realizó electroforesis vertical en gel de poliacrilamida y se reveló para α y β esterasas y para peroxidadas. Los resultados obtenidos para

peroxidases muestran una banda única, observada también en otras especies de géneros relacionados. En α y β esterasas las bandas obtenidas indican escasa variabilidad para estos marcadores. Si bien se señala a esta especie como ampliamente distribuida, los resultados de este trabajo sumados a la alta infertilidad informada anteriormente y a la excesiva extracción, traen como consecuencia una alta vulnerabilidad y riesgo de erosión genética. Es alarmante la disminución del número de especímenes que se observa, mientras crece la población de un agresivo arbusto (*Crataegus pyracantha*) que ocupa sus nichos ecológicos naturales, por lo que resulta muy importante el rescate de esta especie y la conservación de su germoplasma.

GGM 32

ANOTACIÓN DE GENES Y GENÓMICA COMPARADA DE LA RESPUESTA A HIPOXIA EN *Rhodnius prolixus*, VECTOR DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Fernández A¹, C Figueroa¹, A Pascual¹, G Pergentil¹, S Perrone¹, A Rolandelli¹, L Traverso¹, R Rivera Pomar^{1,2}, A Lavore^{1,2}. ¹Departamento de Ciencias Básicas y Experimentales, Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires, Pergamino, Argentina, ²Centro de Bioinvestigaciones, Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires.

e-mail: alavore@gmail.com

Los estudios de Wigglesworth en *Rhodnius prolixus* sentaron las bases de la fisiología de la respiración en insectos pero la genética sólo se conoce en *Drosophila melanogaster*. El genoma de *R. prolixus* ha sido completamente secuenciado y como parte del esfuerzo por anotar los genes conservados en distintas vías metabólicas, analizamos los genes de la respuesta a hipoxia y el desarrollo traqueal. La búsqueda iterativa en bases de datos, identificación de secuencias en Vectorbase (www.vectorbase.org) y definición de regiones genómicas permitieron identificar los ortólogos de *Drosophila* en *Rhodnius* para *trachealless*, *breathless*, *VHL*, *branchless*, *sima*, *spalt* y *fatiga*. La anotación se realizó con el software Artemis corrigiéndose la estructura de cada gen por similitud con ortólogos de insectos con genoma secuenciado. Se realizó un análisis filogenético de cada gen identificado para determinar si su evolución se ajustaba a un patrón común para toda la vía de respuesta a hipoxia. Nuestros estudios de genómica comparada indican que los componentes de la respuesta a hipoxia se hallan conservados y que los genes han evolucionado independientemente sin

perder sus características funcionales. Este análisis, único en insectos fuera de *Drosophila*, es el resultado de los trabajos prácticos de la asignatura "Genómica" de la carrera de Licenciatura en Genética y el paso obligado para futuros estudios de genética reversa.

GGM 33

TRANSCRIPTOME ANALYSIS REVEALS THE PARTICIPATION OF INFLAMMATION GENES IN GESTATIONAL DIABETES

Cezar NJB, RS Almeida, DJ Xavier, AF Evangelista, FS Manoel-Caetano, P Takahashi, ET Sakamoto-Hojo, EA Donadi, GA Passos. Molecular Immunogenetics Group, University of São Paulo, Campus of Ribeirão Preto, SP, Brazil. e-mail: nathaliacezar@usp.br

Variations in the transcriptional profiling of immune cells may influence the production of inflammatory mediators and predispose to various diseases. Expression of immune system associated genes including cytokines and chemokines is altered in these cells of gestational diabetes mellitus (GDM) and type 2 diabetes mellitus (T2DM) patients. This suggests that inflammation may be important in the pathogenesis of both GDM and T2DM. In this study we compared the transcriptome profiling of peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) of 15 GDM to 15 T2DM women patients, focusing on genes involved with inflammatory response. The total RNA samples from patients were hybridized to Agilent ® 4 x 44 K oligo microarrays covering the whole human functional genome. Advanced data analysis and the hierarchical clustering of genes and samples were performed using the Agilent GeneSpring GX bioinformatics platform. The DAVID database was used to classify genes according to their functional annotation (gene ontology), which were positioned in their respective molecular function and/or pathways. We observed 175 significant biological processes ($p < 0,05$), emphasizing 50 genes involved with inflammatory response, including those encoding chemokines (CCL13, CCL23, CCL3L3, CCR1, CCR3, CXCL1, CXCL10, CXCL2, CXCL3); IL-6; TNF; IL-1 β and IL-1RA. Since these genes were induced in GDM patients, this suggest a role for the inflammation process in the pathogenesis of this disease. Financial support: FAPESP, CNPq, CAPES (Brazil).

GGM 134

CARACTERIZACIÓN DE COLECCIONES

DE *Minthostachys verticillata* (GRISEB) EPL. (PEPERINA) MEDIANTE SSR

Marsal V¹, M Arteaga², M Bonafede². ¹Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad de Morón, Morón (1708), Buenos Aires, Argentina, ²Instituto de Recursos Biológicos, CIRN, INTA Castelar (1686) Hurlingham, Buenos Aires, Argentina.
e-mail: arteaga@agro.uba.ar

Minthostachys verticillata (Griseb) Epl., conocida como peperina, es una especie medicinal nativa cuya área natural de distribución comprende la región centro y noroeste de Argentina. Posee aceites esenciales encontrados principalmente en sus hojas e inflorescencias, los cuales varían en su composición. Como objetivo de estudio se propone caracterizar y analizar la diversidad genética de la especie utilizando marcadores moleculares tipo microsatélites diseñados a partir de EST de la especie *Menta X Piperita* perteneciente a la misma familia (Lamiaceae). Se trabajó con 83 muestras recolectadas en 10 sitios de las provincias de Tucumán, Córdoba y San Luis, se extrajo ADN y se amplificó mediante PCR utilizando 12 cebadores de tipo EST-SSR desarrollados a partir de la base de datos del NCBI. La electroforesis se realizó en geles de poliacrilamida, revelándose mediante tinción con nitrato de plata. De los marcadores ensayados, 6 fueron polimórficos y se evaluaron 11 diferentes alelos. El análisis de datos se realizó utilizando el software NTSyS. Si bien los resultados obtenidos mediante el análisis de agrupamientos nos han permitido evaluar, la variabilidad genética en esta especie, es necesaria la incorporación de un mayor número de alelos a la matriz de datos. Para esto se prevee el incremento en el número de marcadores. El desarrollo de microsatélites a partir de EST se muestra como una alternativa en el estudio genético de plantas nativas, incluso en casos como este, donde la transferibilidad de marcadores es a nivel de familia.

GGM 35

DIFFERENTIALLY EXPRESSED PROTEINS IN TOBACCO RESPONSIVE TO AC2 GENE FROM TOMATO CHLOROTIC MOTTLE VIRUS

Carmo LS^{1,2}, RO Resende¹, LP Silva², SG Ribeiro², A Mehta². ¹Departamento de Biología Molecular, Instituto de Biología, Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brazil, ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, Brazil.

e-mail: lilianstcarmo@ig.com.br

The AC2 gene is a virulence factor that encodes a protein known for acting as a transcriptional activator and silencing suppressor in response to the plant defense mechanism. This protein has been proposed to be involved in the viral infection process; however, information regarding the effect of this protein in the global protein expression of host plants is still limited. To identify differentially expressed proteins of *N. benthamiana* in response to the presence of the AC2 gene, isolated from the begomovirus *Tomato chlorotic mottle virus*, plants were inoculated with *Agrobacterium* containing the viral vector Potato virus X (PVX) and with the construction PVX-AC2. The proteomic profile of inoculated *N. benthamiana* plants was investigated by bidimensional electrophoresis followed by protein identification by mass spectrometry. A total of 42 proteins were differentially expressed, including 24 up- and 13 down-regulated, as well as 3 exclusive proteins from the profile of plants inoculated with PVX-AC2. MALDI TOF-TOF analysis revealed proteins involved in different biological processes, such as defense, oxidative stress, metabolism, photosynthesis, electron transport, respiratory chain/TCA-Krebs cycle, transcription, proteolysis, translation and protein folding. Furthermore, it seems that AC2 also regulates the expression of a transcription factor. Studies have shown that overexpression of certain transcription factors could be related to the increased susceptibility of the host plant.

GGM 36

PADRÃO DE EXPRESSÃO DE MICRORNAS EM CÉLULAS SANGÜÍNEAS DE CRIANÇAS COM SÍNDROME DE DOWN

Biselli JM¹, BL Zampieri¹, CRS Silva¹, MC Bürger², JES Souza³, WA Silva⁴, EN Ferreira⁵, DM Carraro⁵, EM Goloni-Bertollo¹, EC Pavarino¹. ¹Unidade de Pesquisa em Genética e Biologia Molecular-UPGEM, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto-FAMERP, Brasil, ²Laboratório de Bioinformática, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-FMRP, Universidade de São Paulo-USP, Brasil, ³Instituto de Bioinformática e Biotecnologia, ²Bio; Laboratório de Bioinformática, Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto-FUNDHERP, Brasil, ⁴Laboratório de Genética Molecular e Bioinformática, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-FMRP, Universidade de São Paulo-USP, Brasil, ⁵Hospital A.C. Camargo, Fundação Antônio Prudente-FAP, Centro Internacional de Ensino &

Pesquisa, Brasil.
e-mail: erika@famerp.br

A trissomia do cromossomo 21 é a base genética da síndrome de Down (SD). Acredita-se que a expressão elevada em 50% de um gene específico ou de um grupo de genes localizados no cromossomo 21 seja diretamente responsável pelas características da síndrome, mas há evidências que sugerem a existência de efeitos secundários dos genes em triplicata, que afetariam múltiplas vias metabólicas, resultando em disfunção celular. Estudos mostram que a trissomia do 21 resulta na expressão elevada de microRNAs, contribuindo para o fenótipo da SD. O objetivo deste estudo foi identificar microRNAs diferencialmente expressos em células mononucleares do sangue periférico de crianças com SD em relação a crianças sem a síndrome. Foram incluídas no estudo seis crianças com trissomia livre do 21 e seis crianças sem a síndrome. A quantificação de 754 microRNAs maduros foi realizada por PCRq-TaqMan® Low Density Arrays (Applied Biosystems). Os dados foram analisados pelo programa HTqPCR (Bioconductor). Dos 375 microRNAs maduros expressos em pelo menos 60% das amostras, 42 apresentaram expressão reduzida e 15 apresentaram expressão elevada no grupo de crianças com SD. Os microRNAs localizados no cromossomo 21 não apresentaram expressão diferencial entre os grupos. Portanto, crianças com SD apresentam expressão diferencial de microRNAs não localizados no cromossomo 21. Esses achados reforçam a existência de efeitos secundários da trissomia do 21 e de mecanismos de compensação de dosagem de genes em triplicata. Apoio: FAPESP, CNPq, CAPES, Equipe Ding-Down, FAMERP/FUNFARME.

GGM 37

PROTEOMIC PROFILES OF RESISTANT AND SUSCEPTIBLE BRASSICA OLERACEA INOCULATED WITH *Xanthomonas campestris*

Villeth GRC¹, SG Teixerense², PE Melo³, OL Franco¹, Mehta A⁴.
¹Universidade Católica de Brasília, ²Universidade de Brasília, ³Embrapa Estudos e Capacitação, ⁴Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.
e-mail: gabivilleth@gmail.com

The Brassicaceae family comprises economically important cruciferous plants, which are severely affected by black rot, a serious disease caused by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc).

The disease control is extremely difficult since the seeds are the main source of bacterial dissemination. In this view, this work aims to identify proteins from *Brassica oleracea* potentially involved in the resistance to Xcc. Plants from resistant and susceptible genotypes were bacterium inoculated and leaves were further collected at 5, 10 and 15 days after inoculation. Approximately 0.1 g of plant tissue was used for protein extraction. The proteins were quantified and 800 µg of total protein were subjected to two-dimensional electrophoresis. The 2DE maps analyses were performed in triplicate with the software Platinum®. Comparisons between gels of the inoculated plants with the control condition of the resistant and susceptible genotypes were performed. The analysis of the resistant genotype revealed 36 differential proteins, including 1 exclusive, 18 up- and 16 down-regulated in inoculated plants, when compared to the control. In susceptible genotype evaluation, 32 differentially expressed proteins were observed, including 19 up- and 3 down-regulated in the inoculated plants, as well as 6 proteins exclusive to the inoculated plants and 4 to the control condition. Proteins were identified by mass spectrometry, including proteins involved in plant defense.

GGM 38

RAPID IDENTIFICATION OF KNOWN MUTATIONS IN HUMAN MITOCHONDRIAL DNA ASSOCIATED WITH DEAFNESS: A PILOT STUDY

Enes ALT, SF Baptista, AP Alves, CA Oliveira. UNIARARAS, Araras, SP, Brazil.

Laboratório de Análises Moleculares, Programa de Pós-graduação em Ciências Biomédicas, FHO e-mail: alte.enes@gmail.com

Deafness is one of the most common human health problems, affecting one in 700-1000 newborns and can be caused by gene alterations and environmental factors including ototoxic drugs. Specific mitochondrial DNA mutations in MTRNR1 and MTTTS1 genes cause non-syndromic hearing loss in some countries. The aim of the present study was to develop a rapid screening method to determine whether these mutations are present in the Brazilian population. DNA samples from 159 control subjects were screened for mitochondrial mutations m.709G>A, m.827A>G, m.1095T>C, m.1494C>T, m.1555A>G in the gene MT-RNR1 and m.7445A>G, m.7462C>T in the MT-TS1 gene by ARMS-PCR. In this pilot study, mutations in MT-RNR1 and MT-



TS1 genes were detected in 41 individuals (25.8%), and 85.4% (35/41) presented these mutations in homoplasmic. The m.1555G>A and m.7445A>G mutations were identified at a frequency of 0.63% (1/159) in the studied samples. The variants m.709G>A and m.827A>G of controversial pathological nature were found in 12.6% (20/159) and 11.9% (19/159), respectively. The m.1095T>C, m.1494C>T and m.7462C>T mutations were not identified in any of the study participants. The high frequencies of the m.709G>A and m.827A>G variants suggest that are a common non-pathogenic polymorphisms. Our findings provide support for that only the presence of mitochondrial mutations is not sufficient for the phenotypic manifestation of deafness. However, further studies are required to show the contribution of modulating factors as use of aminoglycosides, mitochondrial haplotypes and nuclear modifiers genes.

GGM 39

SÍNDROME DE DOWN: POLIMORFISMO NO GENE DNMT3B E METILAÇÃO GLOBAL DO DNA

Mendes CC, PY Barbosa, A Dorta, BL Zampieri, JM Biselli, EM Goloni-Bertollo, EC Pavarino. Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP, Brasil.
e-mail: cristianicm@gmail.com

A síndrome de Down (SD) é a cromossomopatia humana mais frequente e a principal causa de deficiência intelectual de origem genética. Estudos sugerem que a ocorrência da SD, independente da idade materna, está relacionada à hipometilação do DNA materno como consequência do metabolismo anormal do folato. Esse estudo teve como objetivo investigar a influência do polimorfismo DNA metiltransferase 3B (DNMT3B) -579G>T como fator de risco materno para a SD e a associação desse polimorfismo com a metilação global do DNA, bem como comparar a metilação global do DNA entre mães de indivíduos com SD e mães com filhos sem a síndrome. Foram incluídas no estudo 75 mães de indivíduos com SD e 86 mães de indivíduos sem a síndrome. O polimorfismo DNMT3B -579G>T foi avaliado por meio da Reação em Cadeia da Polimerase – Polimorfismos de Comprimentos de Fragmentos de Restrição (PCR-RFLP). A metilação global do DNA foi quantificada por meio do Imprint Methylated DNA Quantification Kit (Sigma Aldrich). O polimorfismo DNMT3B -579G>T não foi associado ao risco materno para a

SD e a metilação global do DNA não diferiu entre os grupos ($P = 0,19$). No modelo recessivo para o alelo polimórfico, o DNA apresentou-se mais metilado nas mães com o genótipo TT (média = 27,22) em relação àquelas com genótipos GG e GT (média = 18,28) ($P = 0,03$). Portanto, na casuística estudada, o polimorfismo DNMT3B -579G>T está associado com a metilação global do DNA. Estudos posteriores são necessários para um melhor entendimento da função da metilação do DNA na não disjunção cromossômica. Apoio: Fapesp, CAPES, CNPq.

GGM 40

EXPRESSÃO MOLECULAR E PROTEICA DA GSH, GSH-PX E GSTPI EM NEOPLASIAS MAMÁRIAS DE CADELAS

Leonel C¹, GB Gelaleti¹, BV Jardim¹, LC Ferreira¹, JR Lopes¹, MG Moschetta², DAPC Zuccari^{1,2}. ¹Universidade Estadual Paulista-UNESP, ²Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto-FAMERP.
e-mail: camilaleonels_1@hotmail.com

Glutathione (GSH) em conjugação com as enzimas glutathione peroxidase (GSH-Px) e glutathione S transferase (GST) tem importante papel na defesa antioxidante das células e detoxificação de quimioterápicos. O objetivo deste estudo foi avaliar a expressão da glutamato cisteína ligase (GCLC) e glutathione sintetase (GSS), que sintetizam GSH e da GSH-Px, em resposta à doxorrubicina em 10 cultivos primários de neoplasia mamária e das proteínas GSH, GPX e GSTpi em 30 tumores de mama de cadelas acompanhadas por 18 meses, a fim de relacionar às características clínico-patológicas. As células foram cultivadas e expostas ao fármaco e a expressão gênica determinada por qPCR. As proteínas foram detectadas por imunohistoquímica e quantificadas por densitometria óptica. Não houve diferença significativa na expressão de GSH-Px entre os grupos, porém, houve baixa expressão de GCLC em todas as amostras tratadas ($p=0.0001$) e de GSS em 90% ($p=0.001$). Foi observado aumento de GSH nas cadelas com maior sobrevivência ou que continuaram vivas durante o seguimento ($p=0.0003$) e naquelas sem metástase ($p=0.0003$), enquanto a baixa expressão foi relacionada à alta taxa de mortalidade ($p=0.002$). No tratamento *in vitro*, a doxorrubicina reduziu significativamente a expressão dos genes GCLC e GSS, que com estes resultados poderão ser considerados candidatos a marcadores preditivos de resposta terapêutica no câncer de mama. Ainda, a alta expressão da proteína GSH associou-se às

características de pronóstico favorable nas cadelas com neoplasia mamária, exercendo papel importante na proteção contra células tumorais.

GGM 41

FUNCIÓN DE JNK Y LAS CASPASAS EN EL CONTROL DEL CRECIMIENTO DE LOS DISCOS GENITALES EN *Drosophila*

Fussero GB, AM Macías, MC Arias, M Zacharonok. Laboratorio Genética del Desarrollo "Ginés Morata". Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.

e-mail: gimefussero@gmail.com

El disco genital está formado por la fusión de tres primordios abdominales embrionarios. Da lugar a la genitalia de ambos sexos, a la analia y a parte del intestino posterior. Debido a la regulación del sexo, se crean dos contextos genéticos y la apoptosis ocurre en su desarrollo. Estas características hacen a este disco un excelente modelo para estudiar los mecanismos que controlan el crecimiento, proliferación y muerte celular. En este sentido, se analizó el rol sobre el crecimiento de la vía Jun-NH2-Terminal-Kinasa (JNK) y sus blancos las enzimas caspasas. Los factores de crecimiento Decapentaplegic (Dpp) y Wingless (Wg) reprimen la activación de JNK/Caspasas, de tal manera que, los niveles de ambos aumentan en los bordes de expresión de Dpp/Wg. Allí, se produce una discontinuidad en las condiciones de crecimiento, determinado por la up-regulación de las caspasas. JNK/Caspasas tienen un rol dual sobre la proliferación. Por un lado, la reprimen, siendo necesario que los niveles entre células vecinas no difieran, de lo contrario, se genera competencia celular con la consiguiente muerte de aquella que tiene el mayor contenido de caspasas. Por otro, niveles altos de JNK y caspasas son necesarios en la proliferación que compensa la muerte, de lo contrario, la muerte no es compensada. La muerte celular programada, requiere la mediación de JNK, no así, la muerte por competencia celular. En condiciones fisiológicas, la primera afecta a las células larvales y la segunda se sitúa en los bordes de expresión de Dpp/Wg.

GGM 42

DETERMINACIÓN *IN-SILICO* DE SNP EN *S. salar*: UN ENFOQUE PARA RELACIONAR SNPS CON GENES INMUNOLÓGICOS

Gonzalez R, D Reyes, P Verdugo, R Vidal. Laboratorio de

Ecología Molecular, Genómica y Estudios Evolutivos, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. e-mail: ruth.gonzalez@usach.cl

Los polimorfismos de nucleótido simple (SNPs) juegan un papel importante en la comprensión de la base genética de muchas enfermedades complejas. Por lo tanto, la variación fenotípica en la genética del salmón del Atlántico podría ser comprendida conociendo las funciones de estos SNPs, sin embargo sigue siendo un reto importante para identificar SNPs funcionales relacionados con genes inmunológicos. El descubrimiento de SNPs se puede hacer por métodos experimentales y computacionales. Las estrategias informáticas para el descubrimiento de SNPs permiten hacer uso de un gran número de secuencias presentes en bases de datos públicas [en la mayoría de los casos, como marcadores de secuencias expresadas (EST)] y son consideradas más rápidas y más económicas que los procedimientos experimentales. En el presente estudio, la predicción en línea de SNPs fue realizada en el genoma del salmón del Atlántico privilegiando genes inmunológicos. 1931 SNPs putativos fueron identificados a partir de 1,914 ESTs inmunológicos de Salmón del Atlántico, con un promedio de 0,26 SNPs por cada 100 pares de bases. De 37 SNPs no-sinonimos, 12 (32,4%) se predijo que tendrían un efecto negativo sobre la función de las proteínas y 19 (51,4%) se predijo que serían variantes tolerantes. Los restantes 6 nsSNPs (16,2%) de esas variantes tendrían resultados conflictivos.

GGM 43

CUANTIFICACIÓN DE NIVELES DE EXPRESIÓN DE GENES CANDIDATOS DE RELEVANCIA INMUNOLÓGICA EN *S. salar*

Verdugo P, D Reyes, R Gonzalez, R Vidal. Laboratorio de Ecología Molecular, Genómica y Estudios Evolutivos, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

e-mail: pab.verdugo@uandresbello.edu

El Salmón de Atlántico (*Salmo salar*) es una especie acuícola de gran interés económico a nivel mundial. Sin embargo, esta especie presenta susceptibilidad a diversos patógenos, que se traducen en cuantiosas pérdidas para el sector salmonero. Uno de los patógenos de mayor relevancia es el virus ISA (ISAV), el cual causa una enfermedad multisistémica, llegando a alcanzar mortalidades entre 15 a 100%. Actualmente existen tratamientos para contrarrestar al virus, sin embargo su efectividad no es la óptima.

A pesar de esto, se ha observado en terreno que existen familias que presentan una reducida tasa de mortalidad frente al virus (familias resistentes), pudiendo ser estos la clave para la comprensión de la inmunidad del salmón y el desarrollo de tratamientos efectivos. En el presente trabajo se evaluó y caracterizó la respuesta de diez genes candidatos inmunológicos, tanto de inmunidad innata, como de inmunidad adquirida, esto en muestras de salmónes con fenotipos susceptibles y resistentes a la infección con ISAV. En paralelo se evaluó el efecto de una vacuna en ambos fenotipos. Los patrones de expresión de cada gen fueron analizados mediante la técnica de PCR en tiempo real. Preliminarmente, los resultados muestran que existen 2 genes que tendrían una relación directa con las diferencias entre los fenotipos resistente y sensible. Por otra parte los 8 genes restantes, demostrarían el efecto de la vacuna y la importancia de los genes inmunológicos en la sobrevivencia frente a este tipo infección y la adquisición de resistencia.

GGM 44

ANÁLISIS PRELIMINAR DEL TRANSCRIPTOMA DE HORMIGA *Atta laevigata* REALIZADO POR NUEVA GENERACIÓN

Rodvalho CM, M Ferro, M Bacci. Laboratório de Evolução Molecular, Centro de Estudos de Insetos Sociais, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"-UNESP. e-mail: cynaramr@yahoo.com.br

Las hormigas *Atta* son un sistema modelo para el estudio de castas, división del trabajo y simbiosis con microorganismos. Las bases genéticas de estos fenómenos podrían ser entendidas por medio de secuenciación masiva de DNA. Se utilizó Trizol para la extracción de RNA total de soldados y las bibliotecas de cDNA fueron secuenciadas en un equipo Illumina HiSeq 2000 (*paired-ends reads* 2x50 pb). Más de 120 millones de reads fueron obtenidos. Basándose en el tamaño estimado para el genoma de hormigas *Atta* (300 Mpb), este número de secuencias posiblemente cubre la totalidad de los genes transcritos (~18000). Los *reads* fueron sometidos a montaje *de novo* usando VELVET (kmer 43), lo que resultó en 31632 contigs con tamaño medio de 300 pb. La anotación fue hecha utilizando Blast2GO (evalúe 1e-06, NR, blastx). 16479 contigs (52,2%) presentaron similitudes con otras secuencias depositadas en el GenBank. La mayoría de los *best hits* provienen de *Acromyrmex*

echinator, otra especie de cortadora. El mapeo de términos GO (*Gene Ontology*) fue obtenido para 12215 secuencias y 3875 secuencias presentaron términos EC (*Enzyme Code*). Los datos de GO (nivel 2) indicaron un gran número de secuencias relacionadas con procesos metabólicos y procesos celulares (Procesos Biológicos), células y organelas (Componentes Celulares) y actividad ligante y catalítica (Función Molecular). Este conjunto de resultados será utilizado para anotación del transcriptoma con la intención de generar una base de datos de gran importancia para estudios de expresión génica y entendimiento de fenómenos clave en hormigas.

GGM 45

EXPRESIÓN GÉNICA Y POLIMORFISMO FUNCIONAL: CITOQUINAS IL8, IL19 Y TNFA Y RIESGO PARA CÁNCER GÁSTRICO

Silva AE¹, AFT Rossi¹, DM Nizato¹, ACT Cadamuro¹, MV Curado¹, P Rahal¹, PM Biselli-Chicote², EC Pavarino², EM Goloni-Bertollo², JG Oliveira^{1,3}. ¹Universidade Estadual Paulista, UNESP Campus de São José do Rio Preto-SP, Brasil, ²Faculdade de Medicina, FAMERP, São José do Rio Preto-SP, Brasil, ³Universidade do Sagrado Coração, USC, Bauru-SP, Brasil. e-mail: anabete@ibilce.unesp.br

Polimorfismos (SNPs) funcionais de genes de citoquinas pueden alterar la actividad transcripcional y niveles de expresión del ARNm con resultado en la respuesta inmune. Objetivo: evaluar la asociación de SNPs funcionais de los genes de citoquinas pro y anti-inflamatorias IL8 (rs4073-rs2227532), TNFA (rs1800629-rs1799724) y IL10 (rs1800872) en el riesgo de cáncer gástrico (CG) y gastritis crónica (GC); y correlacionar los genotipos polimórficos con los niveles de ARNm de esas citoquinas. Fueron genotipados 723 individuos (CG=207, GC=276, C=240). La expresión del ARNm fue realizada por qPCR (CG=45, GC=47). SNPs IL8-251A/T y TNFA-857C/T no fueron asociados con lesiones gástricas, pero IL8-845T/C, IL10-592C/A y TNFA-857C/T presentaron frecuencias alélicas/genotípicas estadísticamente superiores ($p < 0,01$) en el grupo CG. Los niveles medios de expresión génica para IL8 y IL10 se redujeron en los grupos CG (-0,45+2,63 y -2,66+2,19) y GC (-0,71+3,40 y 0,37+3,47), mientras TNFA enseñó expresión agrandada en el grupo CG (1,85+1,77), pero basal en GC (0,06+1,45). Después del montaje de acuerdo con las variantes polimórficas los genotipos IL-8TC/CC mostraron una mayor expresión en ambos



grupos (2,3 y 1,6 veces), mientras las variantes IL-10CA/AA mostraron una reducción (CG =-0,9; GC=-3,1). Para TNFA no se observó un patrón definido. Conclusión: SNPs IL8-845T/C, IL10-592C/A y TNFA-857C/T se asocian al riesgo de cáncer gástrico y los niveles de expresión se alteran según los genotipos polimórficos, así revelando la relevancia funcional de estos polimorfismos.

GGM 46

DETECCIÓN POR PCR EN TIEMPO REAL DE LOS POLIMORFISMOS RS8099917 T>G Y RS12979860 T>C DEL GEN IL28B 7

Sfalcin J, S Giustina, A Seravalle, S Baquedano, F Fay. CIBIC S.A.

e-mail: sgiustina@cibic.com.ar

La variabilidad en el curso de la infección por HCV y la respuesta al tratamiento se atribuye a factores del hospedador y virales. Estudios de GWAS identificaron variantes genómicas asociadas a respuesta virológica sostenida al tratamiento con peg-Interferon y Ribavirina, y a depuración espontánea viral. Dos variantes, rs8099917T>G y rs12979860T>C, del gen de interleuquina 28B mostraron la mayor asociación al estudiarlos en forma independiente. No existen estudios del efecto de los genotipos combinados. El objetivo de este trabajo fue desarrollar un método de genotipificación de dichas variantes por PCR en tiempo real. Se utilizó la plataforma Light Cycler 2.0 con sondas fluorescentes alelo específicas. Para el diseño de primers y sondas se usó el software BeaconDesigner7.0. Para la puesta a punto técnica se requirió contar con todos los genotipos, por ello, se secuenciaron muestras de pacientes HCV positivos no respondedores, relapsers, respondedores y controles sanos. Se analizaron 9 muestras (n=4, pacientes y n=5, controles sanos) por secuenciación directa y PCR en tiempo real. Los resultados obtenidos por ambos métodos fueron coincidentes. A la fecha se evaluaron 54 pacientes. Los genotipos hallados fueron los siguientes: rs8099917: TT n=24, TG n=26, GG n=4. rs12979860: CC n=18, CT n=25, TT n=11. Mediante PCR en tiempo real es posible evaluar en forma rápida los polimorfismos rs8099917T>G y rs12979860T>C del gen de IL28B que pueden ser utilizados como factor predictivo de depuración espontánea del HCV y como de respuesta al tratamiento con peg-Interferon y Ribavirina.

IDENTIFICACIÓN DE LA MUTACIÓN JAK2 V617F MEDIANTE SONDAS FRET Y ANÁLISIS DE CURVAS DE MELTING

Seravalle A, J Sfalcin, S Baquedano, MF Gosso, F Fay. CIBIC S.A.

e-mail: aseravalle@cibic.com.ar

Los neoplasmas mieloproliferativos crónicos (NMCs) son desordenes hematológicos clonales caracterizados por la proliferación anormal de uno o más linajes mieloides. Estudios recientes demostraron que un número significativo de pacientes diagnosticados con NMCs no LMC, tienen una mutación adquirida en la proteína JAK2 que involucra el cambio de una guanina por una timina en el nucleótido 1849 de la secuencia génica, resultando en la sustitución de una valina por una fenilalanina en la posición 617 de la proteína. Esta mutación conlleva a la pérdida de la autoinhibición proteica y JAK2 se vuelve constitutivamente activa. Con el objetivo de implementar un diagnóstico rápido de esta mutación, pusimos a punto una PCR en tiempo real con sondas FRET que permite la identificación del estado mutacional de JAK2. Se procesaron 20 muestras de sangre periférica de pacientes diagnosticados con NMCs. La PCR en tiempo real se llevó a cabo en el equipo LightCycler 2.0 (ROCHE). Para la validación metodológica, las 20 muestras fueron procesadas simultáneamente por ARMS PCR. Los resultados obtenidos por ambos métodos fueron coincidentes en el 100% de los casos. Mediante el análisis de las curvas de melting pueden identificarse los distintos alelos, alelo wild type: Tm=61°C, alelo mutado: Tm=53°C. Conclusión: mediante PCR en tiempo real puede identificarse la mutación JAK2 V617F de manera simple y rápida. Aunque esta mutación no es específica de una patología, su identificación es importante al momento del diagnóstico de pacientes con sospecha de NMCs no LMC.

GGM 48

TREZE LOCOS MICROSSATÉLITES DE *Anopheles (N.) triannulatus* S.L. E AMPLIFICAÇÃO INTERESPECÍFICA

Cruz PF^{1,3}, JS Batista², MS Rafael^{1,3}, WP Tadei^{1,3}, JMM Santos^{1,3}.
¹Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos

Naturais, Universidade do Estado do Amazonas. Manaus, CEP 69065-170 - Manaus, Amazonas, Brasil. ²Coordenação de Biodiversidade-CBIO; Laboratório de Fisiologia Comportamental e Evolução-LFCE; Laboratório Temático de Biologia Molecular-LTBM ³Coordenação de Sociedade, Ambiente e Saúde-CSAS, Laboratório de Vetores da Malária e Dengue, Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia. Manaus, CE.

e-mail: mendesdossantos.jsantos@gmail.com

Anopheles triannulatus, do subgênero *Nyssorhynchus*, é um complexo de espécies crípticas: *Anopheles triannulatus* s.s., *Anopheles halophylus*, e outra ainda não identificada -*A. triannulatus* C. É crepuscular, zoofílica e exofílica. Porém, tem a capacidade endofílica e antropofílica. Foi encontrada infectada por *Plasmodium vivax* e *Plasmodium falciparum*, e considerada uma possível vetora da malária na Venezuela. Diante do seu *status* taxonômico e importância epidemiológica, foi construída uma biblioteca genômica enriquecida com microssatélites (SSRs). Esta biblioteca gerou 96 clones com insertos, 84 sequências nucleotídicas, sendo 83 com SSRs e apenas 1,31% de redundância. Treze locos foram caracterizados, em 25 indivíduos coletados em Manaus, Amazonas, Brasil. Foram obtidos 88 alelos, variando entre 3 a 10 alelos por loco (média de 6,0 alelos). A heterozigotidade observada (H_o) variou entre 0,157 a 0,866, enquanto a esperada (H_e) variou entre 0,322 a 0,843. Nenhum loco mostrou Desvio de Ligação (DL) na população analisada. Os valores de F_{IS} variaram de -0,014 a 0,362 (média de 0,125). A amplificação interespecífica de 13 locos SSRs realizada em quatro espécies do mesmo subgênero (*Anopheles benarrochi*, *Anopheles rangeli*, *Anopheles oswaldoi* e *Anopheles darlingi*) revelou compartilhamento alélico em seis locos. Desses, quatro mostraram polimorfismo (2-3 alelos): Atr04 em *A. rangeli*, Atr13 em *A. darlingi*, *A. rangeli* e *A. benarrochi*, Atr24 em *A. darlingi* e *A. rangeli* e Atr39 em apenas *A. benarrochi*. Estes locos podem ser úteis em estudos de genética de populações de *Anopheles*.

GGM 49

ANIDROBIOSE (VIDA SEM ÁGUA) EM *P. Superbus*: ANÁLISES FENOTÍPICAS DO SILENCIAMENTO DE UMA THIOREDOXINA PEROXIDASE

Evangelista, CCS¹, A Burnell², A Tunnacliffe³, TC Pereira¹. ¹Lab. de Genética Molecular da Anidrobiose, Depto de Biologia, FFCLRP-USP, Brasil, ²Depto of Biology, National University of Ireland, Maynooth, Ireland, ³Dept of Chemical Engineering and

Biotechnology, University of Cambridge, United Kingdom. e-mail: ccsevangalista@gmail.com

Algumas espécies, de vários reinos biológicos, têm a capacidade de entrar em um estado de organização biológica de alta estabilidade chamado anidrobiose (vida sem água) quando expostos a forte estresse hídrico. A partir deste fenômeno natural, uma nova área de pesquisa biotecnológica vem sendo desenvolvida com o intuito de tornar materiais biológicos resistentes à dessecação extrema, visando um avanço para a medicina ao possibilitar métodos mais eficientes de conservação de órgãos, vacinas, enzimas e moléculas de interesse, bem como outras aplicações a longo prazo. Durante a anidrobiose é sugerido que espécies reativas de oxigênio (ROS) encontram-se em elevada concentração, o que levaria a danos nas estruturas celulares. Neste contexto, as peroxiredoxinas são importantes na via de anidrobiose por constituírem uma família de enzimas antioxidantes promotoras de proteção durante o processo. Este estudo visou caracterizar a participação de uma peroxiredoxina, a thioredoxina peroxidase, na via de anidrobiose por meio do silenciamento por interferência por RNA (RNAi), com redução de 24% na expressão. Para analisar os efeitos do knockdown deste gene foram observadas morfologia, comportamento e desenvolvimento, além da viabilidade pré- e pós- dessecação do nematóide anidrobiótico modelo deste trabalho, *Panagrolaimus superbus*. O knockdown levou a declínio da sobrevivência pós-dessecação para 57%, indicando associação do gene à anidrobiose, mas nenhum efeito pleiotrópico foi atribuído. Desta forma, mais estudos são necessários para determinar a relevância deste gene na anidrobiose.

GGM 50

EXPRESSÃO DA PROTEÍNA MYC NOS TIPOS DE CÂNCER GÁSTRICO EM PACIENTES DO ESTADO DO PARÁ

Mello Junior FAR¹, C Rosal-Teixeira¹, DQ Calcagno², MF Leal², AKCR Santos¹, CI Albuquerque¹, RR Burbano¹, AS Khayat¹. ¹Universidade Federal do Pará, Laboratório de Citogenética Humana, ²Universidade Federal de São Paulo, Departamento de morfologia.

e-mail: fernando.mellojr@hotmail.com

O câncer gástrico é a quarta neoplasia mais frequente no mundo e aproximadamente dois terços dos casos ocorrem em países em desenvolvimento, como o Brasil. No Estado do Pará, essa neoplasia representa

um grave problema de saúde pública. A infecção pelo *Helicobacter pylori* é considerada o principal fator de risco etiológico. Segundo Lauren, o Câncer gástrico pode ser dividido em dois tipos: Intestinal e Difuso. Alterações no número de cópias do gene MYC podem ser usadas como marcador de diagnóstico desse câncer. O gene MYC é constituído por três éxons e codifica uma fosfoproteína com propriedade de ligar-se ao DNA. Após a tradução, a proteína MYC é transportada para o núcleo, ativando a transcrição de genes relacionados à proliferação celular. A imunorreatividade da sua proteína no citoplasma, reforçou a necessidade de se sequenciar do éxon 3, responsável pelo domínio protéico que permite a importação da proteína para o núcleo, possibilitando determinar se mutações são responsáveis pelo sequestro da proteína no citoplasma. Foram analisadas 74 amostras de adenocarcinoma gástrico de pacientes do Estado do Pará. Todos os tumores analisados apresentaram a bactéria *H. pylori*. Detectou-se a expressão da proteína MYC em maior frequência nos adenocarcinomas do tipo intestinal, que nos difuso ($p=0,007$), porém não foram detectadas mutações no éxon 3 do gene MYC. Acredita-se que a presença da proteína MYC no citoplasma da célula gástrica neoplásica tem um significado biológico que futuramente poderá ser utilizado no diagnóstico ou mesmo no prognóstico e tratamento dessa malignidade.

GGM 51

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DEL GEN DE MIOSTATINA (MSTN) DE PACU (*Piaractus mesopotamicus*)

Díaz J, GV Villanova, SE Arranz. Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (CONICET/UNR), Area Biología, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR.
e-mail: diaz@ibr.gov.ar

Una de las variantes más importantes para la producción en acuicultura es el crecimiento. El gen de la miostatina (MSTN) está relacionado con la regulación del mismo y desempeña un papel fundamental en el control del desarrollo muscular, siendo así un marcador molecular a tener en cuenta en planes de mejora del crecimiento en peces de cultivo. En el presente estudio se reporta por primera vez la caracterización molecular del gen que codifica miostatina de Pacú, *Piaractus mesopotamicus* (orden Characiformes), que es una de las especies de mayor importancia para la piscicultura en Argentina. Para ello, se diseñaron cebadores degenerados, a

partir de apilamientos de secuencias genómicas de especies de peces cercanos filogenéticamente. Se realizó la amplificación a partir de ADN genómico y ADNc proveniente de tejido muscular. Fue posible amplificar y secuenciar 2967 pares de bases, que incluyen las secuencias de sus tres exones, 2 intrones y el extremo 3' UTR. El análisis de la secuencia proteica deducida, mostró la presencia de elementos conservados dentro de la superfamilia TGF β : un péptido señal, un sitio de procesamiento proteolítico RXXR y 9 residuos de cisteínas. La secuencia de MSTN de pacú caracterizada posee una mayor similitud con secuencias de MSTN tipo 1 y una identidad superior al 97% con respecto a MSTNs de peces del orden Cipriniformes. El presente estudio proporciona información para futuras investigaciones sobre el rol de MSTN en el desarrollo muscular en peces.

GGM 52

FAS-670A/G NO TIENE EFECTO EN LA CARGA PROVIRAL Y EN LA ENFERMEDAD HAM/TSP EN INDIVIDUOS PERUANOS HTLV-1 POSITIVOS

Rosado J¹, G Lopez¹, D Clark², M Talledo^{1,3}. ¹Inst de Med Trop Alexander von Humboldt, Univ. Peruana Cayetano Heredia, ²Fac de Ciencias y Filosofía Lab de Inves y Des, Univ. Peruana Cayetano Heredia, ³Dept of Med Genetics, Univ. of Antwerp, Belgium.
e-mail: javier.rosado.s@upch.pe

Se ha asociado la alta carga proviral (PVL) como un factor predisponente al desarrollo de HAM/TSP (Paraparesia Espástica Tropical/ Mielopatía Asociada a HTLV-1), sin embargo, PVL no explica completamente el desarrollo de esta enfermedad. La genética del hospedero puede tener un impacto en el control de la PVL en individuos infectados por HTLV-1. Fas es un receptor transmembrana tipo I, que media apoptosis. Se ha reportado que la presencia de un SNP en la región promotora del gen FAS (-670A/G), podría ser un factor de predisposición a desarrollar ATL. Sin embargo, no se conoce el efecto verdadero de este SNP en relación al desarrollo de la enfermedad de HAM/TSP. En este trabajo hemos evaluado la distribución del SNP FAS -670 A/G y su efecto en PVL en individuos infectados por HTLV-1. 209 sujetos HTLV-1 positivos fueron incluidos en el análisis (140 Portadores Asintomáticos (ACs), 69 HAM/TSP). FAS -670 A/G fue genotipado usando primers específicos. PVL fue determinada por Real Time PCR cuantitativo usando el retrovirus

endógeno 3 como gen de referencia. Se realizó un Análisis de Regresión Logística y Linear para determinar el efecto de FAS -670 A/G en HAM/TSP y PVL, respectivamente. FAS -670 A/G mostró no tener efectos en PVL ($P=0.426$) ni en el desarrollo de HAM/TSP ($P=0.881$), apoyando los resultados encontrados en una población de Brasil. Nosotros no encontramos evidencia de que este gen controle PVL en sujetos infectados por HTLV-1, tampoco tener efecto en el desarrollo de HAM/TSP.

GGM 53

MODIFICADORES GENÉTICOS DE LAS ANOMALÍAS DEL PALADAR EN EL SÍNDROME DE MICRODELECCIÓN 22q11

Espinoza K¹, C Vial¹, M Palomares^{3,4}, S McGhee⁵, NK Henderson-MacLennan⁶, ML Guzman^{1,2}, G Lay-Son^{1,2}, G Repetto^{1,2}. Centro de Genética Humana, Facultad de Medicina, Clínica Alemana- Universidad Desarrollo, ²Hospital Padre Hurtado, Santiago, Chile, ³Fundación Gantz, ⁴Hospital Calvo Mackenna, Santiago, Chile, ⁵Stanford University, Stanford, CA, ⁶UCLA, Los Angeles, CA.
e-mail: kespinoza@udd.cl

El síndrome de microdelección 22q11 (del22q11) es un trastorno genético que se debe a una delección heterocigota de 3 Mb. El 70-80% de los pacientes presenta anomalías palatinas. La causa de la penetrancia incompleta de esta manifestación es desconocida. Realizamos un estudio de asociación del genoma completo (GWAS) para buscar modificadores genéticos del fenotipo palatino en 91 pacientes chilenos diagnosticados con del22q11 por FISH, con anatomía palatina conocida. Las muestras se genotificaron utilizando el array Affymetrix® SNP 6.0 y se compararon casos con anomalías palatinas ($n=69$) con controles de paladar normal ($n=22$). Los datos de 728.000 SNPs se analizaron con PLINK v1.07, usando el test de Fisher para evaluar asociación y un análisis de estratificación de población con el método de escalamiento multidimensional (MDS). Esta información fue utilizada para realizar la asociación con el test Cochran-Mantel-Haenszel. Se consideró como evidencia de asociación un valor de p de 1×10^{-7} . Encontramos 2 regiones asociadas al fenotipo de paladar. La primera en la región cromosómica 7q11.23-7q21.11, donde se incluyen 4 SNPs con un valor de p entre 7×10^{-8} y 1.3×10^{-5} . La segunda es de 120 kb en la región 20q13.12 que incluye 8 SNPs con un valor de p entre 1.3×10^{-6} y 5.6×10^{-5} , aunque estos resultados no son estadísticamente significativos, apuntan a una región de interés

potencial. Una muestra de mayor tamaño en el GWAS y la secuenciación de la región permitirían identificar los genes modificadores del fenotipo palatino en del22q11. Financiado por Fondecyt-Chile #1100131.

GGM 54

MAPEO DE LOS GENES DE RESPUESTA A LA VERNALIZACIÓN Y RESTAURACIÓN DE LA FERTILIDAD EN ZANAHORIA

Alessandro MS¹, CR Galmarini^{1,2}, PW Simon^{3,4}. ¹EEA La Consulta INTA, ²FCA, UNCuyo, ³USDA, ⁴Universidad de Wisconsin.
e-mail: malessandro@laconsulta.inta.gov.ar

La zanahoria es una especie bienal que requiere de un período de vernalización para florecer, existiendo dos grandes grupos de cultivares: anuales y bienales, que se diferencian por un gen simple. Además, es una especie alógama que posee androesterilidad citoplasmática con genes nucleares restauradores, este carácter es ampliamente utilizado para la producción de híbridos comerciales. Con el objetivo de mapear estos genes de interés reproductivo se analizaron a campo y mediante marcadores moleculares individuos de una población F2 segregante para ambos caracteres. A campo las plantas fueron caracterizadas como anuales o bienales y con anteras funcionales o no funcionales. Se evaluaron 335 marcadores microsátélites, 193 RAPDs, 6 SCARs y 867 AFLPs. La segregación de ambos caracteres fenotípicos se ajustó al modelo de un gen simple con dominancia para la anualidad (*Vrn1*) y la restauración de la fertilidad (*Rfl*). Se obtuvo un mapa con 355 marcadores que cubren los 9 cromosomas de la zanahoria con un tamaño total de mapa de 669 cM y una distancia promedio entre marcadores de 1,88 cM. El gen *Vrn1* se ubicó en el cromosoma 2 con los marcadores más cercanos a 0,70 y 0,46 cM, y el gen *Rfl* se ubicó en el cromosoma 9 con marcadores a 4,38 y 1,12 cM. Estos son los primeros caracteres reproductivos mapeados en el genoma de la zanahoria. La información generada a partir de este mapa servirá para estudiar caracteres relacionados con la domesticación y biología reproductiva de la especie, así como para facilitar el mejoramiento genético.

GGM 55

IDENTIDADE MOLECULAR DE PÓLEN APÍCOLA DE COQUEIRO (*Cocos nucifera*)



SUBMETIDO A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO

Araujo YLFM^{2,3}, JS Souza¹, GM Marchioro¹, APC Costa¹, FT Jesus¹, S Jain¹, N Narain^{2,3}, ED Araujo^{1,3}. ¹Laboratório de Genética e Conservação de Recursos Naturais - GECON, Departamento de Biologia, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, ²Lab. de Flavor e Análises Cromatográficas-LAF, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, Sergipe-Brasil, ³Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia-RENORBIO. e-mail: ylmaia@yahoo.com.br

O pólen apícola é um suplemento alimentar natural, sendo o pólen originado do coqueiro o de maior produção no Nordeste brasileiro. O método TBP (Tubulin-based polymorphism) utiliza a presença de polimorfismos de DNA específicos de introns na família de genes de tubulina das plantas. Utilizamos aqui o TBP como ferramenta para a obtenção da impressão digital molecular para a presença de pólen de coqueiro em amostras de pólen apícola produzido na região litorânea do Nordeste do Brasil submetidos a três métodos de processamento. Foram utilizadas amostras de Pólen apícola seco em estufa, pólen liofilizado (INPI:221109687430) e pólen light (INPI:221112717913), comparados com os controles: pólen e folhas de coqueiro in natura. O DNA genômico foi extraído usando o método CTAB modificado e a integridade do DNA foi avaliada por eletroforese em gel de agarose. Para a análise molecular, as amostras de DNA genômico foram submetidas a PCR utilizando primers TBP degenerados. O PCR utilizou 1 µM de primer, 30 ng de DNA, Taq DNA Polimerase, Master Mix (Amplicon) nas condições: 94°C 5' → 94°C 30" → 55°C 45" → 72°C 1'2" → 72°C 8" → 4°C. Os resultados de integridade evidenciaram que o DNA total obtido nos diferentes métodos de processamento apresentaram grande degradação. No entanto, a análise dos produtos de amplificação demonstrou que é possível confirmar a identidade molecular do pólen apícola de coqueiro nos diferentes métodos de processamento utilizados. Esses resultados apontam que o TBP pode ser utilizado como método de escolha para a identidade molecular e rastreamento de pólen apícola.

EM Goloni-Bertollo⁵, AE Silva¹. ¹UNESP – Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, SP, Brasil, ²Centro de Endoscopia Rio Preto, São José do Rio Preto, SP, Brasil, ³Hospital de Base, São José do Rio Preto, SP, Brasil, ⁴IAPC – Instituto de Anatomia Patológica e Citopatologia, São José do Rio Preto, SP, Brasil, ⁵FAMERP – Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, São José do Rio Preto, SP, Brasil. e-mail: maysucci@hotmail.com

A progressão do câncer colorretal tem sido associada à transição do epitélio colônico normal para adenoma (AD) e adenocarcinoma (ADC) com possível alteração dos níveis de expressão das proteínas anti-inflamatórias anexina-A1 (ANXA1) e galectina-1 (LGALS1). Em geral, as neoplasias apresentam expressão elevada do antígeno Ki-67, encontrado nas fases ativas do ciclo celular. Neste estudo foi investigada a expressão do RNAm dos genes ANXA1 e LGALS1 em biópsias de 24 AD e 30 ADC e no tecido normal adjacente, por qPCR em tempo real, e avaliado o índice de proliferação celular (IP) pela detecção do Ki-67, por imuno-histoquímica. O IP foi considerado positivo em casos com marcação nuclear maior que 10%. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste de Wilcoxon e P<0,05 foi considerado significativo. Os resultados evidenciaram um aumento nos níveis de expressão gênica da ANXA1 e LGALS1 nas amostras de ADC em relação ao tecido normal (ANXA1 Mediana=3,12; P<0,0001 e LGALS1 Mediana=1,54; P=0,003) e nível basal nas amostras de AD (ANXA1 Mediana=0,12; P=0,0001 e LGALS1 Mediana=0,25; P=0,001). O IP avaliado em 18 amostras de AD e 4 de ADC foi elevado nos dois grupos, contudo, foi maior no ADC (72%) em relação ao AD (58%). Portanto, os resultados evidenciam expressão gênica elevada de ANXA1 e LGALS1 em ADC, com intensa atividade proliferativa, mas não em lesão pré-cancerosa como AD, sugerindo que essas proteínas podem estar envolvidas nas vias inflamatórias relacionadas à progressão do câncer colorretal, assim como nas vias de proliferação celular.

GGM 57

GGM 56

EXPRESSÃO DE PROTEÍNAS ANTI-INFLAMATÓRIAS E PROLIFERAÇÃO CELULAR NA PROGRESSÃO DO CÂNCER COLORRETAL

Succi M¹, A Caetano², W Colaiacovo², JG Netinho³, CF Mendiburu⁴, JA Thomé⁴, PM Biselli-Chicote⁵, EC Pavarino⁵,

GENOTIPAGEM MITOCONDRIAL PARA ESTIMAR O NÚMERO E A DIVERSIDADE DE MACHOS FECUNDANDO ATTA LAEVIGATA

Bezerra CMS, JD Mantovani, M Ferro, M Bacci. UNESP. e-mail: cintiams_bezerra@yahoo.com.br

Uma fêmea de formiga cortadeira pode acasalar

com vários machos e armazenar por longos anos os espermatozoides em sua espermateca. O número e a diversidade de machos contribuindo com a genética da prole é um fator importante na evolução das formigas. Para estimar estes parâmetros, nosso estudo utilizou 18 fêmeas recém-fecundadas coletadas na região de Botucatu e Bauru, no Brasil, que foram dissecadas para a retirada e armazenagem da espermateca a seco a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. A seguir, cada espermateca foi perfurada com um alfinete estéril, o sêmen foi coletado cuidadosamente com uma micropipeta e o DNA total foi extraído. Uma região do DNA mitocondrial compreendendo os lócus COI, IGS, Leu-tRNA e COII foi amplificada e clonada. Um total de 336 sequências foi obtido, sendo 124 correspondentes a região mitocondrial e 212 a pseudogenes. Dois a nove haplótipos mitocondriais, resultando uma média geral de quatro haplótipos, foram caracterizados por fêmea fecundada. Os haplótipos continham 421 a 464 pares de base e 99 a 100 % de identidade. Considerando que dois machos carregando o mesmo haplótipo mitocondrial podem fecundar a mesma fêmea, os números estimados de haplótipos pelo o procedimento aqui descrito resultaram no número mínimo de fecundações por fêmea e na caracterização da variabilidade genética dos machos que a fecundaram. O método é funcional, mas necessita ser aprimorado, possivelmente com o desenho de iniciadores específicos para os genes mitocondriais. Apoio: FAPESP 2011/50226-0 e 09/51872-2

GGM 58

PREVALENCIA DEL POLIMORFISMO W452C EN EL GEN HER2 EN INDIVIDUOS CON CÁNCER DE MAMA Y CONTROLES

Acosta KB, EA Acosta, MM Tiscornia, PD Zapata. Laboratorio de Biotecnología Molecular; Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones. e-mail: acostakb@yahoo.com.ar

Se han identificado varias alteraciones estructurales y funcionales en el receptor de tirosina kinasa HER2 que estarían implicadas en el proceso de carcinogénesis. Según un análisis *in silico* previo en el gen HER2, el polimorfismo W452C (G>T) (rs4252633) que provoca un cambio aminoacídico de triptófano a cisteína, sería el Polimorfismo de Nucleótido Simple no sinónimo (SNPns) de mayor efecto deletéreo en el receptor HER2. Al momento, no existen registros en cuanto a la prevalencia de este polimorfismo en otras poblaciones de Argentina.

El objetivo del presente trabajo fue determinar la prevalencia del polimorfismo W452C (G>T) en el gen HER2 en individuos con cáncer de mama y controles. Se analizaron 30 muestras de biopsias de carcinoma mamaria y 30 muestras de sangre de individuos sin cáncer como controles. El ADN fue extraído mediante el método de *salting out* y la identificación del polimorfismo W452C mediante RFLP-PCR utilizando la enzima de restricción Cac8I. Los resultados obtenidos fueron corroborados por secuenciación y luego se determinaron las frecuencias genotípicas. Las frecuencias genotípicas encontradas fueron del 100% para el genotipo homocigota G/G (Cys) tanto en casos como en controles, no identificándose genotipos heterocigotas G/T (Cys/Trp) y homocigotas T/T (Trp). Estos resultados preliminares se encuentran en concordancia con otros registrados en poblaciones asiáticas.

GGM 59

ESTUDIOS DE EXPRESIÓN DE GENES CANDIDATOS ASOCIADOS A LA SENESCENCIA FOLIAR EN GIRASOL (*Helianthus annuus* L.)

Moschen S¹, P Fernandez¹, S Bengoa Luoni¹, GAA Dosio², LAN Aguirrezábal², HE Hopp¹, NB Paniego¹, RA Heinz¹. ¹Instituto de Biotecnología - Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - (IB INTA), Hurlingham, Argentina, ²Unidad Integrada (FCA/INTA) Balcarce, Pcia. de Buenos Aires, Argentina, ³CONICET, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina. e-mail: pfernandez@cniia.inta.gov.ar

La senescencia foliar temprana es un proceso clave en el desarrollo vegetal que condiciona el rendimiento del cultivo de girasol. El inicio y progresión de la senescencia están controlados tanto por factores internos como externos y regulados por un conjunto de genes asociados a la senescencia (SAG). La identificación de genes desencadenantes de este proceso constituye una herramienta clave tanto dilucidar los mecanismos moleculares como para el desarrollo de biomarcadores útiles para el mejoramiento asistido de esta especie. Este trabajo tiene por objetivo estudiar los perfiles de expresión de genes candidatos asociados a la senescencia foliar en hojas de girasol cultivado en condiciones de crecimiento no limitantes y en diferentes muestreos a lo largo del desarrollo del cultivo. Se analizaron mediante qPCR dos factores de transcripción NAC (ORE1 y ORE3) reportados recientemente como reguladores importantes en las vías de señalización



del proceso de senescencia en especies modelo. Asimismo, mediante la técnica de northern blot, se estudió la abundancia relativa del micro RNA 164 como potencial regulador negativo del gen ORE1. Estos análisis mostraron una sobreexpresión significativa de los genes ORE1 y ORE3 a lo largo del desarrollo de la hoja, en forma anticipada a la detección de los síntomas de senescencia, y una correlación negativa entre el patrón de expresión del gen ORE1 y el miRNA164. Estos resultados se corresponden a los observados en *Arabidopsis* señalando a estos factores de transcripción como posibles activadores del proceso de senescencia en girasol.

GGM 60

POLIMORFISMOS NOS GENES DE REPARO XRCC1 E XRCC3 ASSOCIADOS A SUSCETIBILIDADE AO CÂNCER

Vieira PCM^{1,2}, NP Santos², SE Santos², MR Fernandes², F. A Mello Junior¹, AB Bona¹, CI Albuquerque¹, RM Burbano¹.
¹Universidade Federal do Pará, Laboratório de Citogenética Humana, ²Universidade Federal do Pará, Laboratório de Genética Humana e Médica.
 e-mail: priscillavieira@hotmail.com

A integridade do genoma é mantida por mecanismos capazes de reconhecer e reparar danos na molécula de DNA. Falhas nesses mecanismos podem resultar no aumento da taxa de desenvolvimento de câncer. Dada a complexidade da atuação das proteínas codificadas pelos genes XRCC1 e XRCC3 no sistema de reparo do DNA, é de fundamental importância avaliar os efeitos funcionais dos polimorfismos destes genes e suas consequências na suscetibilidade ao câncer. Assim, este trabalho visou identificar possíveis associações entre os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) Arg194Trp/XRCC1 e Thr241Met/XRCC3 com o desenvolvimento de diferentes tipos de câncer na cidade de Belém-PA-Brasil em um estudo caso-controle. A análise molecular dos SNPs foi realizada em 173 amostras, sendo 83 casos 90 controles, pela técnica de PCR em tempo real através do sistema TaqMan®. Em relação ao polimorfismo Arg194Trp não foram observadas diferenças significativas entre os genótipos dos dois grupos investigados que pudessem associar este polimorfismo com a suscetibilidade ao câncer ($P > 0,05$). Para o polimorfismo Thr241Met (C241T) observou-se um efeito significativo de proteção ao câncer para os genótipos homocigoto selvagem CC (OR= 0,756; 95% IC 0,564-1,012; $P = 0,05$) e

heterocigoto CT (OR= 0,415; 95% IC 0,197-0,874; $P = 0,019$). Para o genótipo TT foi observado um aumento do risco de desenvolvimento do câncer (OR= 1,500; 95% IC 0,403-5,571; $P = 0,543$). Sendo assim, o polimorfismo C241T/Thr241Met demonstrou ser um importante marcador molecular para suscetibilidade ao câncer.

GGM 61

AVALIAÇÃO DE RISCO DE POLIMORFISMOS NOS GENES CLU E CR1 PARA A DOENÇA DE ALZHEIMER ESPORÁDICA

Belcavello L^{1,2}, D Camporez^{1,2}, LR Santos², SRS Freitas², RL Morelato^{3,4}, FIV Errera^{1,4}, MCP Batitucci^{1,2}, F Paula^{1,2}.
¹Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Rede Nordeste de Biotecnologia, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, ES, Brasil, ²Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, ES, Brasil, ³Hospital da Santa Casa de Misericórdia de Vitória, Vitória, ES, Brasil, ⁴Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória, Vitória, ES, Brasil.
 e-mail: belcavello@gmail.com

Os fatores genéticos são responsáveis por 60-80% do risco atribuído à Doença de Alzheimer (DA), a principal causa de demência em idosos. Estudos mostraram que variações em alguns genes são fatores de risco para a doença. Recentemente, foram identificados polimorfismos nos genes da clusterina (CLU) e do receptor complemento 1 (CR1), associados com risco aumentado para a DA em caucasianos europeus. Para avaliar a influência dos polimorfismos rs11136000 (CLU) e rs6701713 (CR1) no risco de AD de populações brasileiras, nós conduzimos um estudo caso-controle com 81 pacientes diagnosticados com AD provável e 162 controles não-demenciados, pareados por gênero e idade, na população de Vitória, Espírito Santo, Brasil. Os indivíduos foram genotipados pela técnica PCR-RFLP. As análises estatísticas por meio do Teste Exato de Fisher, 95% IC, mostraram que não houve diferenças significativas quanto às frequências alélicas e genotípicas entre pacientes e controles ($p > 0,05$) para os polimorfismos estudados, não havendo assim, associação desses polimorfismos com a susceptibilidade à AD na população de Vitória. A ausência de significância estatística pode ser devido ao tamanho amostral uma vez que esses polimorfismos só mostraram associação com DA em estudos GWAS que analisaram milhares de indivíduos. Adicionalmente, a população brasileira é altamente miscigenada e apresenta um perfil

genético peculiar em relação à europeia, o que pode levar a variações nas frequências alélicas entre as diversas populações. Apoio: FACITEC, FAPES e CNPq.

Ferraz TC¹, MAHZ Fortes¹, HP Brentani², D Giannella Neto¹, MLC Correa-Giannella¹, RR Giorgi¹. ¹LIM 25 da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, ²Universidade de São Paulo.

e-mail: thaischile@uol.com.br

GGM 62

ANÁLISIS *IN VITRO* E *IN VIVO* DE SECUENCIAS DE *Helicobacter pylori* EN EL SISTEMA DE REPARACIÓN DEL ADN

Maniezzo NM¹, JC Santos², MC Alvarez², ML Ribeiro².

¹UNESP-IBILCE, ²USF-Bragança Paulista.

e-mail: nmmbiomedica@hotmail.com

Helicobacter pylori es el principal factor de riesgo para el cáncer gástrico. Sus mecanismos oncogénicos son mediados por la inflamación crónica y activa, que aumenta los niveles de reactivos de oxígeno y nitrógeno, pero la influencia de la bacteria en la reparación del ADN no está clara y este fue el objetivo del trabajo. La cepa SS1 se cultivó y para el co-cultivo la cepa gástrico (PG100) se cultivó con *H. pylori* (2×10^6 UFC) por 24 y 48 horas seguido por análisis por RT-qPCR array. Los genes fueron validados en 107 pacientes (pacientes con cáncer, niños y adultos Hp+ y Hp-) mediante la técnica de RT-qPCR para evaluar la expresión de 20 genes. El array reveló que 18% de los genes estaban relacionados con el daño del ADN, el crecimiento y diferenciación y la apoptosis fueron hiperexpresos, mientras que 14% relacionados a la reparación del ADN se expresaron menos. Para la validación de los *arrays* en los seres humanos, hubo una supresión significativa del gen XRCC2 en pacientes adultos Hp+, comparados con los adultos HP-, lo mismo se observó para los niños. Se observó una represión del gen GTF2H1 en adultos Hp+ en comparación con Hp-. Los genes RAD18 y Ku86 fueron reprimidos en el cáncer independientemente de *H. pylori*. La conclusión es que *H. pylori* reduce la expresión de genes implicados en la reparación de roturas dobles del ADN y la reparación por escisión de nucleótidos, independientemente de los factores de virulencia de las bacterias. También se deduce que en el cáncer gástrico es una represión global de genes relacionados con la reparación del ADN.

GGM 63

ANÁLISE FUNCIONAL E EXPRESSÃO DO GENE HOMEBOX HOXB7 EM ADENOCARCINOMAS PANCREÁTICOS DUCTAIS

O adenocarcinoma pancreático ductal representa a quarta causa de morte por câncer, visto que as taxas de incidência são praticamente idênticas às taxas de mortalidade, o que justifica a natureza altamente agressiva do tumor. Em uma análise preliminar realizada por nosso grupo, avaliou-se a expressão do gene homeobox HOXB7 nas linhagens celulares MIA PaCa-2, BxPC-3 e Capan-1, bem como em tecidos pancreáticos normais, detectando-se o aumento significativo da expressão nas células derivadas de adenocarcinoma pancreático. Alterações na expressão de HOXB7 foram relatadas na formação e progressão de outros cânceres. Nessas condições, este estudo visou não somente avaliar a expressão deste gene em uma série de 29 adenocarcinomas pancreáticos ductais, 6 tecidos metastáticos e 24 tecidos peritumorais, comparando-os aos tecidos normais, mas também averiguar o efeito de sua inibição sobre o perfil de expressão das células citadas. A análise da expressão gênica demonstrou a hiper-regulação do transcrito do gene HOXB7 nos tecidos tumorais, corroborando os resultados observados nas linhagens celulares MIA PaCa-2, BxPC-3 e Capan-1. A inibição realizada com RNA de interferência promoveu a modulação de diferentes processos biológicos, bem como a indução de apoptose e diminuição da proliferação celular. Nesse contexto, o homeobox neste estudo investigado representa mais um componente associado à ampla rede de moléculas envolvidas na caracterização do câncer pancreático e um promissor alvo para futuras terapias biológicas.

GGM 64

IDENTIFICAÇÃO DE REGIÕES PROMOTORAS DE GENES EXPRESSOS DURANTE DÉFICIT HÍDRICO EM CULTIVARES DE SOJA

Marin SRR^{1,2}, D Todaka³, K Maruyama³, K Yamaguchi-Shinozaki³, AL Nepomuceno¹. ¹Embrapa-Soja-Londrina/PR/Brasil, ²UEL-Universidade Estadual de Londrina-Londrina/PR/Brasil, ³JIRCAS-Japan International Research Center for Agricultural Science-Tsukuba/Ibaraki/Japão.

e-mail: srrmarin@gmail.com

Na produção de plantas geneticamente modificadas

é importante a escolha do promotor, o qual regula a expressão do gene inserido. É necessário que ele seja compatível com a função do gene modulando a expressão em tecidos ou momentos específicos, pois a utilização de promotores constitutivos nem sempre acarreta em plantas agronomicamente produtivas. O objetivo desse trabalho foi a obtenção de sequências de regiões promotoras de genes que são ativados ou inibidos durante o estresse hídrico em soja. Foram avaliadas as cultivares MGBR-46, BR-16, Enrei e Willians-82, nos tempos zero (T0), cinco (T5) e oito (T8) dias de estresse hídrico e em controles não estressados. A validação do déficit hídrico sofrido pelas plantas e as diferenças na expressão entre as cultivares foi determinado por análises de qPCR e Northern Blot de tecidos foliares. Três genes alvos (LEA4, LEA3 e LEA8) e dois endógenos (18S e β -Actina) foram avaliados por qPCR e selecionado o de melhor correlação entre alvo e endógeno. O gene selecionado LEA8 apresentou expressão de 3 a 5 vezes maior nos tratamentos de 5 e 8 dias de estresse hídrico em relação aos controles, porém não foi observada diferença significativa na expressão entre as cultivares. O Northern Blot do gene LEA8 detectou expressão somente nos tratamentos T5 e T8 para todas as cultivares. A cultivar BR-16 no tratamento T8 foi selecionada para análise de microarranjo utilizando chip Agilent G2534 no formato 4x 44K. Foram identificados 4570 genes up e 5435 down expressos. As sequências foram categorizadas e identificados promotores em genes selecionados.

GGM 65

BÚSQUEDA INTENSIVA DE MICROSATÉLITES EN EL TREMATODO *H. nimia* USANDO LA APROXIMACIÓN “SEQ TO SSR” Y SECUENCIACIÓN MASIVA

Cárdenas L¹, I Valdivia², M Oliva³. ¹Instituto de Ciencias Ambientales y Evolutivas, Facultad de ciencias, Universidad Austral de Chile, ²Instituto de Investigaciones Oceanológicas, Facultad de Recursos del Mar Universidad de Antofagasta, ³Programa Doctorado Ciencias Aplicadas, Mención Sistemas Marinos Costeros, Universidad de Antofagasta.
e-mail: leylacardenas1@gmail.com

El avance en tecnologías de secuenciación de ADN ha generado gran impacto en ecología, evolución y genética de poblaciones. Estos avances han facilitado el estudio de organismos no modelo como los parásitos. SSR son reconocidos como los marcadores moleculares para estudios de genética

de poblaciones y ofrecen una excelente oportunidad para entender como se estructura la diversidad genética en especies con ciclo de vida complejo. *H. nimia* es un parásito digeneo encontrado en al menos 10 especies de peces marinos en el norte de Chile y representan 6 familias (Serranidae, Haemulidae, Pinguipedidae, Labrisomidae, Gobiesocidae y Ophidiidae) todas con diferentes habilidades de natación. Este trabajo describe la generación de loci de microsatélites a partir de una librería shotgun. La secuenciación se llevó a cabo en el sistema illumina HI-Seq. Los reads resultantes (mas de 5 millones) se analizaron en el software Pal_Finder v02.03 para localizar motivos de microsatélites con di, tri, tetra, penta y hexanucleotidos. Posteriormente las secuencias fueron extraídas y se diseñaron partidores en el software Primer3 (v2.0.0). Siguiendo criterios como número de repeticiones, tipo de motivo y características de los partidores seleccionamos 100 loci para probar amplificación y polimorfismo y para determinar si existe amplificación cruzada con especies relacionadas. La generación de estos marcadores permitirá entender como influencia la capacidad natatoria del hospedador en la estructura genética poblacional de parásitos de vida compleja. Financiamiento Fondecyt 1110067.

GGM 66

POLIMORFISMO NA REGIÃO -197 (G/A) DO GENE IL17A E SUA RELAÇÃO COM O DESENVOLVIMENTO DE LESÕES INTRAEPITELIAIS CERVICAL

Lima CAD^{1,2}, TMN Cavalcanti³, LA Mascena³, MMD Maia³, LAC Brandão², PRE Souza³. ¹Universidade de Pernambuco, ²Universidade Federal de Pernambuco, ³Universidade Federal Rural de Pernambuco.
e-mail: camilladelima@gmail.com

O Câncer de Colo (CC) é a segunda maior causa de câncer em mulheres no mundo. A infecção pelo papilomavírus humano (HPV) é o principal fator de risco para o desenvolvimento de Neoplasias Intraepiteliais Cervicais (NICs) e o desenvolvimento do CC. Polimorfismos de base única (SNPs) em diversos genes de citocinas têm sido correlacionados com a progressão da NIC para o CC em mulheres portadoras de HPV. A interleucina 17A (IL-17A) é membro do grupo da família das citocinas IL-17, possui atividade próinflamatória, e tem sido relacionada à diversas doenças, inclusive às causadas por patógenos intracelulares. O presente estudo analisou se existe relação entre o

polimorfismo na região -197 (G/A) do gene IL17A com a susceptibilidade a infecção pelo HPV e com a progressão para o câncer cervical. Foram analisadas 53 Pacientes infectadas pelo HPV com lesão cervical e 53 controle saudáveis. A detecção do polimorfismo foi realizada pela técnica da PCR-RFLP. Os resultados não mostraram diferença significativa na distribuição genotípica e alélica entre os grupos analisados (Controle X NIC I, NIC II/III/CC) ($p=0,6172$ e $p=0,8305$). Da mesma forma, não se observou diferença significativa quando os pacientes com lesão cervical foram estratificados (NIC I x NIC II/III/CC) ($p=0,8310$ e $p=0,2960$). A partir destes dados conclui-se que não existe relação deste polimorfismo com susceptibilidade a infecção pelo HPV nem com a progressão das lesões cervicais.

GGM 67

POLIMORFISMO NA REGIÃO +7488 (A/G) DO GENE IL17F E A SUSCEPTIBILIDADE AO DESENVOLVIMENTO DAS LESÕES CERVICIAS

Cavalcanti TMN¹, CAD Lima^{2,3}, LA Mascena¹, MMD Maia¹, PRE Souza¹, LAC Brandão³. ¹Universidade Federal Rural de Pernambuco, ²Universidade de Pernambuco, ³Universidade Federal de Pernambuco.

e-mail: tassiacavalcanti@hotmail.com

A interleucina-17 (IL-17) é uma citocina recentemente descrita e que une os sistemas imune inato e adaptativo. IL17A e IL17F são membros da família de citocinas responsáveis pela atividade patogênica das células Th17, uma linhagem distinta de células CD4 efectoras. A IL-17F possui atividade proinflamatória e antiviral reconhecida. O câncer cervical (CC) é precedido por Lesões Intraepiteliais Cervicais (NICs) e tem como principal fator de risco, a infecção pelo papilomavirus humano (HPV). Embora o polimorfismo na região +7488 (A/G) do gene IL17F tenha sido correlacionado à alterações no sistema imune, interferindo na susceptibilidade à diversas doenças, sua influência no câncer de colo de útero (CC) ainda não é conhecida. O presente estudo teve por objetivo verificar se existia relação deste polimorfismo com o desenvolvimento de lesões cervicais associadas a infecção pelo HPV num estudo caso-controle. Foram analisadas 53 pacientes com lesão cervical infectadas pelo HPV e 53 controle saudáveis. O polimorfismo na região +7488 do gene IL-17F foi determinado pela técnica da PCR-RFLP.

Os resultados mostraram associação significativa com a susceptibilidade à infecção HPV ($p < 0,0001$). Porém, quando as pacientes foram estratificadas de acordo com o grau de lesão cervical não houve diferença significativa (NIC I x NIC II/III e CC) ($p=0,2360$). Estes dados sugerem que o genótipo GG na região +7488 do gene IL-17F está associado com o aumento na susceptibilidade ao desenvolvimento do CC em pacientes infectados pelo HPV, mas não com a progressão da lesão cervical.

GGM 68

AMPLIFICAÇÃO CRUZADA DE 31 LOCI DE MICROSSATÉLITES EM DECÁPODES

Marques CG, CA Santos, PM Galetti Jr, PD Freitas. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos/SP Brasil.

e-mail: guinartc@gmail.com

Uma alternativa eficiente que vem sendo utilizada nos estudos genético-populacionais de espécies que não possuem marcadores microsatélites descritos é a utilização de locos heterólogos. Nos camarões há uma escassez de microsatélites descritos para grande parte de suas espécies, as quais representam um importante recurso ecológico e econômico. O presente trabalho avaliou a transferabilidade de 31 locos microsatélites, descritos para *Litopenaeus vannamei*, em 12 espécies de camarões marinhos e água doce (*Litopenaeus schmitti*, *Farfantepenaeus brasiliensis*, *Farfantepenaeus paulensis*, *Xiphopenaeus kroyeri*, *Rimapenaeus constrictus*, *Metapenaeus stebbing*, *Marsupenaeus japonico*, *Fenneropenaeus indicus*, *Penaeus monodon*, *Macrobrachium jelskii*, *Macrobrachium amazonicum*). Amostras de DNA foram utilizadas em reações de touchdown, com temperaturas variando de 53°C a 49°C. Foram utilizados 21 loci obtidos de regiões expressas (EST) e 10 de regiões arbitrárias. Todos os locos testados apresentaram ampliações positivas em ao menos duas espécies, com exceção de um único locus. A espécie que apresentou maior taxa de transferabilidade foi a *L. schmitti*, provavelmente devido sua proximidade filogenética com *L. vannamei*. As espécies *M. jelskii* e *M. amazonicum* foram as que apresentaram a menor taxa de amplificação. Estes dados ainda mostram que mesmo em espécies menos relacionadas, a utilização de locos heterólogos pode ser uma alternativa eficiente para o estudo de organismos que possuem ausência ou escassez de

locos microssatélites descritos. Apoio financeiro: CAPES, CNPq, FAPESP.

GGM 69

DETECCIÓN DEL INDEL DE 3'UTR (RS16430) DE TYMS Y EL RFC1 G80A (RS1051266) EN CÁNCER DE MAMA

Ahuerma, MM¹, MM Tiscornia^{1,2}, NS Ogonowski¹, MA Lorenzati³, PD Zapata^{1,2}, ¹Instituto de Biotecnología Misiones, ²Cátedra de Biología Molecular y Genética de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Misiones, ³Servicio de Anatomopatología del Sanatorio Boratti.

e-mail: miliahuerma@hotmail.com

Un gran porcentaje de la incidencia del cáncer ha sido asociada a factores nutricionales como el folato. En esta vía se encuentra el gen timidilato sintasa (TYMS) que en la región 3'-UTR presenta una delección de 6pb (rs16430), que alteraría la estabilidad del ARNm y la expresión proteica. El carrier de folato reducido 1 (RFC1) contiene un SNP 80G>A (rs1051266) que contribuiría a condiciones patofisiológicas. Ambas proteínas son blancos quimioterapéuticos. El objetivo del trabajo fue determinar las variantes alélicas correspondientes rs16430 de TYMS y rs1051266 de RFC en pacientes con cáncer de mama de Posadas-Misiones. Se utilizaron 16 biopsias de carcinoma mamario cedidas por el Sanatorio Boratti. Para la extracción se realizó el protocolo salting-out modificado. Se diseñaron los cebadores con el programa Primer3 y se optimizaron las condiciones de PCR, variando las condiciones de MgCl₂, dNTPs, cebadores y tm. Para la detección del rs16430 se utilizó la técnica SSCP en geles de poliacrilamida desnaturizante. En cambio, el SNP rs1051266 se detectó con PCR-RFLP en geles no desnaturizantes. Para TYMS se encontraron 5 individuos con el patrón I, 11 para el II y 1 para el III, restando la secuenciación para corroborar las variantes. Para RFC se encontraron 7 heterocigotas A/G, 2 A/A y 4 G/G, corroborando estos resultados por secuenciación de 2 fragmentos amplificados. Se concluye que las variantes alélicas descritas para rs16430 y rs1051266 están presentes en individuos con cáncer de mama en Posadas-Misiones, restando determinar las frecuencias y comparar con controles.

GGM 70

POLIMORFISMO NA REGIÃO + 2199 (A/C) DO GENE IL23R E A SUSCEPTIBILIDADE AO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES

CERVICAIS

Mascena, LA¹, CAD Lima^{2,3}, TMN Cavalcanti¹, PRE Souza^{1,2}, SA Heráclio⁴, MR Amorim⁴, MMD Maia¹. ¹Universidade Federal Rural de Pernambuco, ²Universidade de Pernambuco, ³Universidade Federal de Pernambuco, ⁴Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira.

e-mail: lumascena@gmail.com

Citocinas pró-inflamatórias, como a IL-23, participam da ativação da resposta imune podendo estar associadas a quadros de inflamação crônica como Neoplasias Intraepiteliais Cervicais (NICs) e câncer cervical (CC). Apesar infecção pelo Papillomavirus Humano (HPV) ser o principal fator de risco para o câncer cervical, cofatores genéticos e ambientais contribuem significativamente para o aumento do risco a doença. Polimorfismos de base única (SNPs) em genes de citocinas fazem parte dos mais importantes fatores genéticos que influenciam na capacidade de produção de citocinas por alterar sua transcrição e expressão gênica. Nós avaliamos se havia associação entre o polimorfismo existente na região + 2199 (A/C) do gene IL23R com a susceptibilidade as lesões cervicais em indivíduos infectados pelo HPV num estudo caso-controle. A população de estudo foi composta por 45 pacientes HPV+ e com lesão cervical e 65 controles saudáveis. Para detecção deste SNP, utilizou-se a técnica da PCR-RFLP. Os resultados mostraram diferença significativa nas frequências dos genótipos entre os dois grupos analisados (Controle X HPV+) (p<0,0001). Porém, quando as amostras foram estratificadas de acordo com o grau de lesão cervical não foi observada diferença significativa (p = 0,616). Estes resultados sugerem uma relação do polimorfismo no gene IL23R com a susceptibilidade à infecção pelo HPV mas não com a progressão das lesões cervicais.

GGM 71

ESTRATEGIA TRANSCRIPTÓMICA MASIVA (RNA-SEQ) REVELA PUTATIVOS MARCADORES ASOCIADOS AL TAMAÑO DE BAYA EN VID DE MESA

Muñoz C^{1,4}, A Di Génova^{2,4}, A Maass^{2,4}, M González-Aguero³, A Orellana^{1,4}, P Hinrichsen³. ¹Centro de Biotecnología Vegetal, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, ²Centro de Modelamiento Matemático, Universidad de Chile, ³INIA La Platina, ⁴Centro FONDAF de Regulación del Genoma.



e-mail: camunoz2009@gmail.com

El proceso de desarrollo y maduración de las bayas de vid ha sido intensamente estudiado, aún cuando su regulación molecular es poco conocida. Nuestro objetivo es identificar factores genéticos asociados al tamaño de baya, los cuales puedan ser usados como marcadores de selección en el fitomejoramiento de vid de mesa. Para ello, usando la plataforma Illumina de secuenciación masiva (RNA-Seq) se analizaron 47 muestras correspondientes a 12 segregantes y sus parentales (cruce Ruby x Sultanina), en los estados fenológicos de anthesis, cuaja y bayas de 6-8 mm, este último con y sin aplicación de GA₃. Los segregantes elegidos combinan fenotipos contrastantes para tamaño de baya y contenido de semilla. Las secuencias obtenidas (477 millones; largo promedio de 47 bp) fueron alineadas al genoma de referencia PN40024. Para identificar genes relacionados a tamaño de bayas, se compararon sólo los datos obtenidos de los segregantes apirenos de bayas grandes y pequeñas, al tiempo que se identificaron SNPs en estos alineamientos. De esta manera, se han detectado 1.479 genes con expresión diferencial en los tres estados fenológicos analizados, los que luego de filtrados ($\log_{2}FC \geq 2$) se redujeron a 627 genes candidatos, identificándose 616 SNPs no sinónimos y sinónimos. Una fracción de los SNPs putativos se validarán en la población segregante RxS, así como en un fondo genético más amplio que representa la diversidad genética de *Vitis vinifera*. Financiado por Genoma-Chile, FONDEF G07I-1002, Basal-CMM, PCB-MN ICM P06-065-F, PFB-16, Centro FONDAP de Regulación del Genoma y Programa Mecesup.

GGM 72

ANÁLISE PROTEÔMICA DE *Escherichia coli* MODIFICADA GENETICAMENTE AUMENTANDO-SE O GLICIL-TRNA

Bravim O¹, VA Michalczeczen-Lacerda¹, C Coelho², GR Vianna², AM Murad², EL Rech². ¹Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e Molecular, Universidade de Brasília, ²EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia.
e-mail: andre.murad@embrapa.br

A Bactéria *Escherichia coli* é usada no mundo inteiro como biorreator genético, bem como na expressão de proteínas heterólogas de interesse industrial. Neste trabalho, utilizou-se a engenharia genética para aumentar a disponibilidade de glicil-tRNA e avaliar a proteômica das linhagens construídas. A

partir da bactéria W3110, o gene glyVXY (glicil-tRNA) foi amplificado e inserido no plasmídeo pACYC184. Este recebeu uma ou duas cópias do gene sendo então denominados pTetglyVXY e pTetgly2, respectivamente. Bactérias BL21(DE03) foram transformadas e o extrato proteico total foi tratado, quantificado, e aliquotas BL21(DE03), BL21(DE03), pTetglyVXY, BL21(DE03)pTetgly2 submetidas ao protocolo de Murad *et al* (2011), e analisadas em nanoUPLC-MS^E. Os resultados foram avaliados no programa ProteinLynx Global Server 2.4, e as proteínas foram identificadas por um algoritmo de contagem de íons. Após análise, obteve-se que a linhagem BL21(DE03)pTetglyVXY aumentou a produção de 99 proteínas e diminuiu de 52 em relação à BL21(DE03). Já a BL21(DE03)pTetgly2 aumentou a produção de 52 proteínas e diminuiu de 79 em relação à linhagem original. Ao comparar BL21(DE03)pTetgly2 à BL21(DE03)pTetglyVXY notou-se aumento de 6 proteínas e diminuição de 165. Os resultados obtidos pela análise proteômica destas linhagens podem contribuir para o desenvolvimento de novos bioreatores capazes de expressar proteínas maiores que 100 kDa.

GGM 73

EXPRESSION ANALYSIS OF N19, A GENE RELATED WITH SEXUAL AND APOMICTIC DEVELOPMENT IN *Paspalum notatum*

Sartor ME¹, F Espinoza¹, G Seijo¹, AM González¹, S Pessino². ¹Instituto de Botánica del Nordeste (IBONE-CONICET), Facultad de Ciencias Agrarias, UNNE, ²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario.
e-mail: mariasartor@agr.unne.edu.ar

In former expression analysis aimed at identifying genes differentially expressed in reproductive tissues of apomictic and sexual genotypes, we isolated a differentially expressed tag (experimental code N19), which kept similarity with checkpoint homologue CHK1. This candidate gene showed a high expression level, and was found upregulated in sexual plants. The objective of this work was to better characterize N19 structure and expression in reproductive tissues of apomictic and sexual plants of *P. notatum*. Relative expression quantitation using q-RT-PCR revealed heterochronic temporal expression patterns, with minor upregulation in apomictic plant at premeiosis and meiosis, downregulation at postmeiosis and equal expression at anthesis. Spatial expression patterns were

examined by using in situ RNA hybridization on reproductive tissues at meiosis and anthesis. During meiosis, the antisense probe revealed a strong signal in the teguments and nucella of the apomictic plant, but only in the area of the megaspore mother cell of the sexual plant. In anthesis, both reproductive types (apomictic and sexual) displayed a uniform expression pattern when hybridized with the antisense probe, displaying signal in teguments, egg apparatus and polar nuclei. No signal was observed with the sense probe. Rapid amplification of cDNA ends (RACE) experiments allowed the isolation of single bands, which will be sequenced in order to characterize the transcript full-length structure. Our results showed that the expression pattern of N19 actually differs between both reproductive types.

GGM 74

AUTENTIFICACIÓN GENÉTICA DE ESPECIES ÍCTICAS CHILENAS: PRIMERAS BASES MOLECULARES PARA SU CERTIFICACIÓN

Mancilla J¹, P Prieto¹, J Gallardo¹, C Espinoza¹, R Pepe², S Mora³, V Faúndez¹. ¹Universidad Católica de la Santísima Concepción. Laboratorio de Genómica y Biotecnología Acuicola, ²Universidad de Tarapacá, Arica, ³IFOP, Talcahuano. e-mail: pprieto@ucsc.cl

La riqueza íctica marina de Chile ha sido un factor esencial para el desarrollo de nuestro país, en especial aquellas especies que han sustentado las pesquerías durante décadas. Sin embargo, muchos de estos recursos han sido objeto de una inmensa presión extractiva que los ha puesto en peligro de desaparición. En este contexto, se pretende crear las primeras bases de identificación a nivel molecular de especies de peces marinos de Chile, en particular aquellos que tienen importancia económica y son destinados a la exportación. Además de obtener información genético molecular especie-específica para autenticar las distintas especies de peces, esta información puede ser utilizada para complementar los sistemas de control de calidad existentes, evitando problemas de adulteración o sustitución de especies que son o puedan ser exportadas. Este estudio se centró en la caracterización genético-molecular realizada a través del análisis de secuencias de ADN mitocondrial (Cyt-*b* y COI) y nuclear (ITS). Utilizando la combinación de los tres marcadores genéticos se obtuvo una completa discriminación de 10 especies de peces marinos chilenos (N=5 individuos por especie). Las especies analizadas

fueron: *M. gayi*, *M. australis*, *P. adspersus*, *P. microps*, *H. macrops*, *C. gilberti*, *T. Murphy*, *S. japonicus*, *S. lalandi* y *X. gladius*. Mediante estos resultados se permite establecer de forma inequívoca la identidad biológica de estos recursos ícticos y se crean las bases tecnológicas para autenticar las especies comercializadas cuando se carece de base anatómica. Agradecimientos: Proyecto UCSC-DIN 02-2011.

GGM 75

DETECCIÓN DE MMP9 C.574G>C Y MMP-11 C.38C>T EN PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA CON Y SIN METÁSTASIS

Ogonowski, NS, NR Mohr de Krause, MM Tiscornia, MM Ahuerna, PD Zapata. Laboratorio de Biotecnología (InBioMis) FCEQyN UnaM. Posadas, Misiones, Argentina. e-mail: natuskawski2010@gmail.com

Se han descrito 25 miembros de la familia MMP de las cuales MMP-9 y MMP-11 estarían involucrados con el proceso metastásico de cáncer de mama (CM). En diversas investigaciones de los SNPs rs2250889 del gen MMP-9 y rs738792 del MMP-11, observaron relación con la carcinogénesis. Analizar los SNPs c.574G>C (Arg574Pro) del gen MMP-9 y c.38 C>T (Ala38Val) del MMP-11, en relación a las metástasis del cáncer de mama mediante la utilización de la técnica RFLP-PCR. Se obtuvieron muestras de sangre de pacientes diagnosticados con carcinoma mamario 16 con metástasis y 7 sin. Se diseñaron cebadores para ambos rs2250889 y rs738792 utilizando el programa Primer3. Luego, se optimizaron las condiciones de amplificación, como ser la tm y las concentraciones de MgCl₂, dNTPs y cebadores. Las variantes alélicas fueron determinadas por RFLP utilizando la enzima MbiI para MMP9 y AatII para MMP11, se visualizaron los amplicones en geles de poliacrilamida no desnaturalizante. El análisis de individuos sin metástasis para el gen MMP9 determinó 5 con C/C y 2 con C/G, en cambio para metastásicos 5 con C/C y 13 con C/G. En el caso de MMP11 obtuvimos 4 con C/T y 3 con T/T para no metastásicos, mientras que con metástasis observamos 1 con C/C, 13 con C/T y 4 con T/T. Preliminarmente, para ambos genes no encontramos diferencias. Podemos concluir que para ambos genes se observaron las variantes alélicas descriptas para pacientes con carcinoma mamario de Posadas-Misiones, restando ampliar las muestras y comparar con controles.