

HISTONAS H2A DE FENOTIPO SILVESTRE Y MUTANTES EN *Trypanosoma cruzi*. EFECTO SOBRE PROLIFERACIÓN

Julio B¹, S Sepúlveda¹, L Valenzuela¹, G Cabrera¹, N Galanti¹. ¹Programa de Biología Celular y Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

e-mail: ngalanti@med.uchile.cl

Trypanosoma cruzi, agente causal de la enfermedad de Chagas, sobrevive al daño oxidativo al ADN tanto en el insecto vector como en el hospedero mamífero. En eucariontes recientes la fosforilación de la histona H2AX en Ser¹³⁹ es una respuesta temprana fundamental para la reparación del ADN. En tripanosomátidos no se ha identificado genes ortólogos para H2AX pero en *T. brucei* se detectó que H2A canónica es fosforilada en Thr¹³⁰ a causa de daño al ADN. En *T. cruzi* este residuo corresponde a Thr¹³¹ y su rol en la respuesta al daño del ADN no se ha estudiado. Se realizaron tres mutaciones sitio-dirigidas en el codón que codifica para Thr¹³¹ de H2A de *T. cruzi*: alanina (no fosforilable), ácido glutámico y ácido aspártico (simulación fosforilación). Las secuencias nucleotídicas fueron insertadas en el vector pTREX, transfectadas a epimastigotes de *T. cruzi* y expresadas como proteínas de fusión con GFP. Se comprobó la expresión de las proteínas mediante visualización directa por microscopía de fluorescencia, IF y western blot. Las histonas unidas a GFP se localizan a nivel de núcleo, sugiriendo asociación con la cromatina. Parásitos que expresan H2A Thr¹³¹Ala proliferan más lento que aquellos que sobreexpresan la histona silvestre. Se concluye que la sustitución Thr¹³¹Ala en la histona H2A afecta negativamente la proliferación del parásito. Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1130113

PATRONES GENÓMICOS DE METILACIÓN Y ANCESTRÍA GENÉTICA EN PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA DE URUGUAY

Cappetta M¹, L Brignoni¹, N Artagaveytia², O Stefansson³, M Esteller^{3,4,5}, B Bertoni¹, M Berdasco³. ¹Departamento de Genética. Facultad de Medicina, UdelaR, Uruguay. ²Departamento Básico de Medicina. Facultad de Medicina, UdelaR. ³Cancer Epigenetics and Biology Program (PEBC), Bellvitge Biomedical Research Institute, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Catalonia, Spain. ⁴Department of Physiological Sciences II, School of Medicine, University of Barcelona, Barcelona, Catalonia, Spain. ⁵Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats (ICREA), Barcelona, Catalonia, Spain.

e-mail: bbertoni@fmed.edu.uy

Las alteraciones en los patrones de metilación del ADN han sido asociadas con diferentes tipos de tumores. Aunque estos patrones son tejido-específicos, datos recientes indican que cambios epigenéticos en leucocitos son promisorios marcadores de riesgo para tumores. Para detectar marcadores en cáncer de mama esporádico en la población uruguaya, determinamos el nivel de metilación del ADN de leucocitos (gADNmet) en 86 pacientes y 92 controles mediante cuantificación relativa de 5mC y medimos metilación sitio-específica utilizando HumanMethylation450 microarray. Encontramos una hipometilación gADNmet en pacientes en comparación a controles sanos, sugiriendo su potencial uso como marcador de riesgo. Dado que la población uruguaya es mestizada, estudiamos la correlación entre gADNmet y ancestría genética individual. Se detectó una correlación negativa entre ancestría africana y gADNmet en pacientes, lo cual sugiere que la estructura ancestral del genoma podría modelar los patrones de metilación. Se identificaron 77 sitios CpG diferencialmente metilados en pacientes, que incluyen genes conocidos asociados a cáncer y otros nuevos en oncogénesis. Este panel fue caracterizado y validado en muestreo independiente de tejidos mamarios, diferenciando leucocitos de pacientes con cáncer de mama de controles, así como tejido mamario sano del tumoral. Detectamos metilación diferencial del ADN a nivel global y sitio-específico en leucocitos de pacientes con cáncer de mama esporádico, sugiriendo la existencia de variación sistémica en la metilación del ADN asociada con riesgo a cáncer.

DNA METHYLATION LEVELS ARE AFFECTED BY SUBCULTURE PERIODS DURING SOMATIC EMBRYOGENESIS OF *Araucaria*

Fraga HPF¹, LN Vieira¹, CC Puttkammer¹, MP Guerra¹. ¹Graduate Program in Plant Genetic Resources, Plant Developmental Physiology and Genetics Laboratory, Federal University of Santa Catarina. e-mail: hugopff@gmail.com

In somatic embryogenesis, the dedifferentiation of target cells and the acquisition of embryogenic competence are modulated by DNA methylation and mediated by phytohormones, such as 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). This study aimed to investigate the global DNA methylation levels (GDML) in embryogenic cultures (EC) of *Araucaria angustifolia* exposed or not to 2,4-D after subculture periods. The plant material consisted of: zygotic embryos derived from immature cones; EC from the third cycle multiplication in the presence and absence of 2,4-D, until the 17th cycle, every two cycles. The results obtained for EC maintained in 2,4-D absence showed an heterogeneous pattern of GDML between successive multiplication cycles. Until the third cycle of subculture GDML remained constant (15.38%) as compared to control (15.98%), with a drop in the seventh cycle and then increased again. This unstable behavior persisted until the 17th cycle. EC maintained in 2,4-D presence indicated a regular pattern, with a initial decrease in GDML in the third cycle (10.62%), and remaining stable until the seventh cycle. From the ninth cycle (12.96%) there was a gradual and constant increase in methylation rate resulting in 14.43% in the 17th cycle. These results suggest that 2,4-D presence in culture medium is essential for the cells maintenance in an undifferentiated state during early development of *A. angustifolia*. It was also observed that the exposure time to 2,4-D interferes in GDML levels, which can affect the embryogenic competence and consequently the somatic embryos obtention.

CAMBIOS DE METILACIÓN DEL ADN EN RESPUESTA A ESTRÉS Y SU RELACIÓN CON LA APOMIXIS EN PASTO LLORÓN

Rodrigo JM¹, D Zappacosta^{1,2}, V Echenique^{1,2}. ¹CERZOS-CCT Bahía Blanca. ²Dto. de Agronomía UNS. e-mail: echeniq@criba.edu.ar

El estrés ejerce sus efectos sobre el organismo, no sólo a través de las vías de respuesta fisiológica, sino también a través de vías genéticas y epigenéticas, y el modo reproductivo no es ajeno a esta situación. Nuestro objetivo fue determinar el efecto de diferentes factores que generan estreses genómicos sobre la expresión de la apomixis en pasto llorón, como el estrés hídrico, el cultivo in vitro, la poliploidización y la hibridación intraespecífica. Para ello, se analizaron sacos embrionarios de plantas de distintos genotipos de pasto llorón luego de haber sido sometidas a dichas condiciones. Además, se realizaron pruebas de progenie con marcadores moleculares y se analizó el nivel de metilación de los genomas luego de los diferentes tratamientos. Se analizó la ocurrencia de cambios en el tiempo en el genoma (AFLPs) y en el epigenoma (MSAP). En plantas sometidas a estrés hídrico se hallaron cambios en el nivel de metilación y el número de sacos sexuales producidos por las plantas con un alto grado de correlación ($R^2=0,8$). Luego de la hibridación intraespecífica se observaron en dos híbridos diferentes, cambios en la estructura genética y epigenética que también fueron asociados a los niveles de apomixis/sexualidad. En ambos casos, las secuencias de las bandas mostraron homología con elementos transponibles. Los resultados obtenidos nos permiten discutir acerca del posible mecanismo de apomixis en pasto llorón, postulando la existencia de una región sujeta a control epigenético.

CAMBIOS EPIGENÉTICOS EN MAÍZ BAJO ESTRÉS SALINO

Barca HJ¹, MB Collado¹, MB Aulicino¹, M Arturi¹, MC Molina^{1,2}.

¹Instituto Fitotécnico de Santa Catalina, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP. ²CONICET.

e-mail: hernanbarca@hotmail.com

Las plantas expuestas a condiciones de estrés, pueden sufrir alteraciones epigenéticas heredables o modificaciones en la expresión génica, que no son acompañadas por cambios en la secuencia de ADN. El objetivo del trabajo fue evaluar el posible efecto epigenético sobre el crecimiento y desarrollo del maíz expuesto a distintas concentraciones salinas. La línea SC75 se expuso a tres tratamientos: sin sal (Control), 50mM de NaCl (Sal I) y 100 mM de NaCl (Sal II). Cada una de sus progenies fue sometida a los mismos tratamientos durante tres años consecutivos. Los caracteres evaluados fueron: área foliar y comportamiento en salinidad. De los resultados se dedujo que: i) En Control las progenies provenientes de generaciones con dos o más años en salinidad mostraron un área foliar significativamente mayor. ii) En Sal I, las progenies de plantas expuestas previamente a salinidad, evidenciaron un área foliar significativamente mayor a las no expuestas y mejoraron su comportamiento en sal; aunque un mayor número de generaciones en sal no incrementaron su área y iii) En Sal II el comportamiento del área foliar fue similar a Sal I; por otro lado las plantas con tres generaciones en sal no toleraron la alta concentración salina y murieron al igual que las plantas provenientes de tratamientos sin sal. En conclusión, los ambientes maternos salinos inducen cambios epigenéticos en el maíz que se transmiten a las próximas generaciones. La exposición sucesiva al estrés no incrementaría los cambios epigenéticos. Estos cambios no serían permanentes para el comportamiento frente a la salinidad.

VARIABILIDAD EPIGENÉTICA EN ESPECIE SILVESTRE DE PAPA *Solanum kurtzianum* EN UN GRADIENTE ALTITUDINAL

Ibáñez VN¹, F Berli², RW Masuelli¹, CF Marfil¹. ¹Laboratorio de Biología Molecular, Instituto de Biología Agrícola de Mendoza (IBAM), Facultad de Ciencias Agrarias, UNCuyo, Mendoza. CONICET. ²Laboratorio de Bioquímica Vegetal, Instituto de Biología Agrícola de Mendoza (IBAM), Facultad de Ciencias Agrarias, UNCuyo, Mendoza. CONICET.

e-mail: veronicanoeibanez@gmail.com

Desde una perspectiva ecológica es relevante evaluar la magnitud y estructura de la variación genética y epigenética dentro y entre poblaciones naturales, dilucidar si existen patrones sistemáticos de variación en relación a factores ambientales y reconocer en qué medida reorganizaciones a gran escala del genoma pueden participar en la respuesta de las plantas ante diferentes retos ambientales. Se analizó la variabilidad genética con AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) y epigenética con MSAP (*Methylation Sensitive Amplified Polymorphism*) de nueve poblaciones naturales de *Solanum kurtzianum* distribuidas a lo largo de un gradiente altitudinal en la Reserva Natural Villavicencio, Mendoza. No se encontraron diferencias entre poblaciones con AFLP, mientras que con MSAP las plantas de la población de mayor altitud mostraron patrones epigenéticos que la diferenciaron del resto. Adicionalmente, se recolectaron dos genotipos a los 1200 y 2100 m snm, se multiplicaron y obtuvieron clones que se cultivaron en jardines comunes a diferentes altitudes dentro de la Reserva. Los clones cuando fueron cultivados en un sitio contrastante a su sitio de origen experimentaron una desmetilación general de su genoma. Actualmente estamos evaluando cambios fenotípicos experimentados por los clones cultivados en los diferentes sitios y si existen epialelos que de acuerdo a sus frecuencias en las diferentes poblaciones se encuentren bajo selección.