

ASPECTOS EVOLUTIVOS DEL CROMOSOMA 7 Y DE LA REGIÓN DE DELECCIÓN DEL SÍNDROME DE WILLIAMS-BEUREN

Pastene E. Centro Nacional de Genética Médica "Dr. Eduardo E. Castilla", ANLIS, C. A. de Buenos Aires.
e-mail: epastene@gmail.com

El síndrome de Williams-Beuren (SWB) se debe a una delección en la banda 7q11.23. Esta región está delimitada por duplicaciones segmentarias que han aumentado en número y complejidad durante la evolución de los primates. Utilizando herramientas bioinformáticas se comparó el cromosoma 7 humano con aquellas especies de primates que cuentan con un proyecto genómico ensamblado al nivel cromosómico. Para ello se desarrolló un software que representa el %GC a lo largo de la secuencia nucleotídica como una sucesión de líneas en tonos de gris reproduciendo un patrón de bandas G (bando *in silico*). Como dato de interés se observa que el ensamble del cromosoma 7 de *Gorilla gorilla* (gorGor 3.1) no muestra la presencia de una inversión paracéntrica registrada en la literatura en base a datos experimentales. En un análisis más detallado de la región de delección se reconstruyó el mapa físico actualizado a las versiones genómicas GRCh38.1, Pan_troglodytes-2.1.4 y gorGor 3.1 observándose una inversión de la región completa en el genoma de chimpancé. Además se evaluó la presencia de fragmentos repetidos en el cromosoma 7 humano y se observaron 20 repeticiones de un fragmento que contiene genes *SPDYE* (*WBSCR19*) localizados en regiones cercanas a los puntos de ruptura de inversiones evolutivas en las bandas 7p22.1, 7p13, 7q11.23 y 7q22, que están presentes en número elevado en chimpancé y gorila y que disminuyen su número en especies inferiores. Estas repeticiones podrían dar indicios del origen de la complejidad de las duplicaciones segmentarias que rodean a la región de delección del SWB.

PREDICCIÓN DE LA ACTIVIDAD RESIDUAL *IN SILICO* DE MUTACIONES NOVELES EN CYP21A2

Bruque CD^{1,2}, M Delea¹, JV Orza¹, CS Fernández¹, M Taboas¹, LD Espeche¹, N Buzzalino¹, AD Nadra³, L Dain^{1,2}. ¹Centro Nacional de Genética Médica, ANLIS, Buenos Aires, Argentina. ²Instituto de Biología y Medicina Experimental, CONICET, Buenos Aires, Argentina. ³Departamento de Química Biológica, IQUIBICEN-CONICET, FCEN, UBA, Buenos Aires, Argentina.
e-mail: bruque_carlos@hotmail.com

La deficiencia de 21-hidroxilasa (21OHLasa) es la causa del 90-95% de los casos de hiperplasia suprarrenal congénita. Recientemente, se logró cristalizar la primera proteína CYP21 de origen bovino que posee un 79% de identidad de secuencia con la humana. El objetivo del trabajo fue desarrollar un modelo molecular *in silico* de la proteína humana y predecir el efecto patogénico de mutaciones noveles halladas en el gen *CYP21A2*. Se realizó un modelado molecular mediante el programa Modeller V.9.1 tomando como templatado la cristalografía de la proteína bovina (3QZ1). Se analizaron 94 mutantes para las cuales se conocía su actividad residual (AR) *in vitro* por bibliografía. Se excluyeron aquellas mutantes (n=54) que se ubicaban en sitios de unión al hemo, sustratos u otras proteínas y para las otras 40 mutaciones se determinó la estabilidad proteica con el programa FOLDX. Los valores de estabilidad se correlacionaron con la AR obtenida *in vitro*. A partir del modelo y de esta correlación se caracterizaron 3 de 4 mutaciones noveles halladas en pacientes de nuestra cohorte. La correlación entre la AR y la estabilidad proteica fue de $R^2=0,78$. p.L107Q interacciona con el Hemo y para p.L122R y p.P335S, se obtuvo una AR *in silico* de 23% y 100%, respectivamente. Dada la elevada correlación obtenida, este nuevo modelo sería útil como herramienta para determinar la AR *in silico* de mutaciones noveles en las que no se conoce la AR *in vitro*. Los resultados de esta predicción serán validados por ensayos funcionales.

MAMUSHKA: UN NUEVO ALGORITMO PARA DETECTAR MOTIVOS REPETIDOS ANIDADOS

JR Romero¹, JA Carballido², I Garbus¹, VC Echenique^{1,3}, I Ponzoni^{2,4}.

¹Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS)-CONICET, Bahía Blanca, Argentina. ²Departamento de Ciencias e Ingeniería de la Computación, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina. ³Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina. ⁴Planta Piloto de Ingeniería Química (PLAPIQUI)-CONICET, Bahía Blanca, Argentina. e-mail: jromero@criba.edu.ar

La identificación de motivos anidados en secuencias genómicas es un problema computacional complejo. La detección de estos patrones es importante para descubrir elementos transponibles (TEs), que sufrieron inserciones, transcripciones incompletas, deleciones y mutaciones a través de su evolución. En particular, los elementos transponibles de clase I, que se caracterizan por ser los más abundantes en los genomas vegetales, constituyen bloques que pueden anidarse dentro de otros elementos de transposición, semejando las muñecas rusas. Existen diferentes metodologías para la identificación de TEs pero las mismas poseen limitaciones significativas para la detección de LTRs (Repeticiones Terminales Largas) anidados. Es por ello que se diseñó un algoritmo *de novo*, denominado Mamushka, que permite detectar motivos anidados, es decir motivos flanqueados por otro motivo, basado en la búsqueda exhaustiva de pares de motivos. Los patrones identificados por el algoritmo se agrupan y se muestran en tres categorías: 1) motivos dentro de otros motivos, 2) motivos flanqueados por otros motivos y 3) motivos largos. Mamushka fue probado utilizando secuencias transcriptómicas y genómicas de dos especies vegetales: *Eragrostis curvula* y *Aegilops tauschii*. Los experimentos muestran que el algoritmo desarrollado permite, efectivamente, encontrar TEs anidados. Estos resultados fueron validados utilizando el software *RepeatMasker*, demostrando la eficacia y utilidad del método desarrollado.

SECUENCIA Y ANÁLISIS PRIMARIO DE LA BACTERIA *Delftia* sp. JD2

Jara E¹, A Iriarte^{1,2}, M More³, S Castro⁴, H Musto¹. ¹Laboratorio de Organización y Evolución del Genoma, Facultad de Ciencias, Montevideo, Uruguay. ²Dpto. de Bioquímica y Genómica Microbianas y Dpto. Genómica, IIBCE, Montevideo, Uruguay. ³Microbiología Molecular, IIBCE, Montevideo, Uruguay. ⁴Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Montevideo, Uruguay. e-mail: eugeniojara19@gmail.com

Delftia sp. JD2 es una procariota que pertenece a la clase β -proteobacterias. Posee una gran versatilidad en sus vías metabólicas, reduce Cr (VI) a Cr (III) y es capaz de fijar N₂ en vida libre, con una nitrogenasa que funciona con vanadio. En este resumen comunicamos la secuenciación y ensamblado del genoma de *Delftia* sp. JD2, su clasificación filogenética y comparación con dos organismos emparentados completamente secuenciados: *Delftia acidovorans* y *Delftia* sp. Cs1-4. Se analizaron los “reads” en busca de los de mejor calidad mediante la utilización del programa fastQC. El ensamblado se realizó mediante el programa SPADES, se juntaron los *contigs* del ensamblado mediante el programa ABACAS, tomando como referencia a las *Delftias* ya secuenciadas. Se identificaron las proteínas putativas a través del programa *online* RAST y mediante el programa ANI se calculó el promedio de identidad nucleotídica entre las secuencias. Se realizó la reconstrucción filogenética mediante el programa PHYML a partir de las secuencias de los ARNr, 16S y de las proteínas ribosomales. *Delftia* sp. JD2 presentó un genoma de tamaño de 6765786 pb, un total de 6051 genes de los cuáles 597 no se encuentran en las otras dos *Delftias*, estando algunos de estos genes involucrados en la resistencia a metales pesados. No se encontró ningún rearrreglo genómico entre *Delftia* sp. JD2 con respecto a los otros dos organismos. Presenta en promedio una identidad nucleotídica del 98% \pm 2,14% en relación a las dos organismos ya mencionados. Se discute un análisis primario del uso de codones sinónimos en las tres especies.

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE UNA CEPA DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO *Beauveria* NATIVA DE MISIONES

Bich GA, ML Castrillo, PL Zini, FL Kramer, LL Villalba, PD Zapata. Laboratorio de Biotecnología Molecular. Instituto de Biotecnología Misiones-InBioMis. Posadas, Misiones. e-mail: biotecmol2010@gmail.com

La utilización de caracteres morfológicos para la identificación de cepas fúngicas es una herramienta sumamente importante pero, para llegar a una identificación de especies de manera certera y completa, son complementados mediante la utilización de herramientas moleculares. El objetivo del presente trabajo fue aislar e identificar morfológica y molecularmente una cepa del hongo entomopatígeno *Beauveria* nativa de Misiones. A partir de muestras de suelos, se realizaron diluciones seriadas y se sembraron en placas de Petri conteniendo agar papa dextrosa como medio de cultivo. Fueron incubadas a 28° C por 7 días. Luego se realizó la caracterización morfológica de las mismas. Una vez identificada a nivel de género y especie, se procedió al aislamiento de ácidos nucleicos para su corroboración molecular. A partir del material genético extraído, se logró amplificar y secuenciar la región ITS1-5,8S-ITS2 mediante la utilización de cebadores universales ITS 1 e ITS 4. Una vez obtenida la región de interés, se contrastó la información obtenida con la existente en las bases de datos, mediante la herramienta Blast (*Basic Local Alignment Search Tool*) del NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) y la herramienta *Pairwise sequence alignment* del *Fungal barcoding* disponibles *on line*. Se seleccionaron aquellas secuencias con mayor porcentaje de similitud, y se analizaron filogenéticamente tanto por el programa *Geneius* 3.6.1, como por *Mega* 5.1. Fue posible corroborar, por métodos moleculares, que la cepa aislada e identificada morfológicamente correspondía a *Beauveria bassiana*.

POSIBLE ORIGEN POLIPLOIDE DE *Daucus montanus* Y FILOGENIA DE *Daucus Y Agrocharis* BASADOS EN ITS

Ibañez MS^{1,2,5}, EL Camadro^{1,5}, R Masuelli^{3,4,5}. ¹EEA Balcarce, INTA-FCA UNMdP. ²Nidera. ³INTA La Consulta. ⁴FCA UNCuyo. ⁵CONICET. e-mail: silvinaibanez@yahoo.com.ar

Daucus montanus es un especie poliploide ($2n=6x=66$), emparentada con la zanahoria cultivada diploide, *D. carota* ($2n=2x=18$), cuyo origen poliploide se desconoce. En el presente estudio se obtuvieron tres diferentes secuencias quiméricas de ADN ribosómico que comprenden dos regiones no codificantes, espaciadores internos transcritos (*ITS1* e *ITS2*), y la región codificante entre ellos (región 5.8S). Las secuencias se obtuvieron a partir de un genotipo de *D. montanus* utilizando las metodologías de clonado y secuenciación. El análisis reveló dos tipos de secuencias de la región *ITS1*, dos tipos de la región 5.8S, y un tipo de la región *ITS2*. Estas secuencias quiméricas indicarían un posible origen aloploide de la especie. A su vez, y en base a datos de secuencias combinadas de *ITS1* e *ITS2* obtenidas del Genbank, se realizó la estimación de distancias de a pares y el análisis filogenético de 32 introducciones de diferentes especies de *Daucus* e introducciones del género *Agrocharis*, ya que estos dos géneros son los únicos con especies poliploide dentro de las Apiaceae. Los resultados de ambos análisis dieron sustento a la estrecha relación y distancias genéticas entre las especies poliploides de *Daucus*, *D. montanus* y *D. glochidiatus*, y las especies poliploides de *Agrocharis*.

IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL CICLOTÍDEOS EN REPRESENTANTES DE LA FAMILIA POACEAE

Silva-Lima SCB, B Piereck, JP Bezerra-Neto, SSA Araujo, AM Benko-Iseppon, V Pandolfi. Universidade Federal de Pernambuco.
e-mail: sheyla_bio@hotmail.com

Los ciclotídeos son proteínas de acción antimicrobiana, insecticida, anti-helmíntica, antiviral y anti fúngica que se expresan de forma natural. Contienen de 28 a 37 residuos de aminoácidos, seis son cisteínas conservadas y unidas por tres puentes disulfuro. En este trabajo se buscó la identificación y caracterización de candidatos a ciclotídeos en representantes de la Familia Poaceae. La secuencia ACG47570.1 de *Z. mays*, conteniendo 83 aminoácidos, fue elegida como sonda en el NCBI. La secuencia fue analizada en el banco TIGR a través del tBLASTn, eligiendo como criterio de selección un punto de corte mayor o igual que e^{-05} . Fueron obtenidas 31 secuencias homólogas, una de la especie *A. stolonifera*, una de *S. bicolor*, ocho de *T. aestivum* y 21 secuencias de *Z. mays*. El BLASTx contrastado con el GenBank permitió la observación funcional de 19 secuencias semejantes a las proteínas hipotéticas, 11 a proteínas sin caracterización y una semejante a los ciclotídeos. Todas las secuencias fueron caracterizadas a través de sus puentes disulfuro, péptido señal y dominios conservados, donde 22 presentaron un patrón similar al de un ciclotídeo. El modelado por homología reveló 45,1% de identidad con el modelo del circulin B (2ERI) y un gráfico de Ramachandran indicó 80% de los residuos en las regiones permitidas, 20% en las altamente permitidas y ningún residuo en las regiones no permitidas. Así concluimos que aunque es escasa la información existente relacionada a los ciclotídeos, fue posible la identificación, caracterización y modelado comparativo, que puede ser utilizado en estudios biotecnológicos.