



**XXVI JORNADAS CIENTÍFICAS
SOCIEDAD DE BIOLOGÍA DE CÓRDOBA
28 Y 29 DE SEPTIEMBRE DE 2023**

**INSTITUTO FERREYRA (INIMEC-CONICET-UNC)
CÓRDOBA, ARGENTINA**

Sociedad de Biología de Córdoba

Jornadas Científicas de la Sociedad de Biología de Córdoba
XXVI Jornadas Científicas de la Sociedad de Biología de Córdoba / compilación de Paola Boeris ; Andrés Liffourrena ; Carolina Touz. - 1a ed compendiada. - Córdoba : SBCor-Sociedad de Biología de Córdoba, 2023.
Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-987-47306-8-8

1. Biología. I. Boeris, Paola, comp. II. Liffourrena, Andrés, comp. III. Touz, Carolina, comp. IV. Título.
CDD 570.72

ISBN 978-987-47306-8-8



XXVI Jornadas Científicas

Sociedad de Biología de Córdoba

Instituto Ferreyra (INIMEC-CONICET-UNC)

Córdoba, ARGENTINA

SOCIEDAD DE BIOLOGÍA DE CÓRDOBA

89° Aniversario



S01

LA METILACIÓN DEL ADN MODULA LA RESPUESTA DE LAS PLANTAS A LOS CAMBIOS EN LA TEMPERATURA AMBIENTAL

Capella M¹

¹*Instituto de Agrobiotecnología del Litoral (UNL-CONICET), Colectora Ruta Nacional 168 km 0, S3000, Santa Fe, Argentina. E-mail: mcapella@fbcb.unl.edu.ar*

Las plantas se adaptan a las elevadas temperaturas a través de cambios fisiológicos y/o morfológicas conocidos como termomorfogénesis, que involucran una reprogramación transcripcional ejercida principalmente por el factor de transcripción PIF4 (PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR 4). La fluctuación en la temperatura también puede influenciar los patrones de metilación del ADN en los residuos de citosina, y de esta manera la modificar la expresión génica. Sin embargo, se desconoce si estos cambios epigenéticos resultan en una ventaja adaptativa para la planta. Nuestros resultados muestran que la metilación del ADN es importante para regular la termomorfogénesis. Las plántulas mutantes *drm1 drm2 cmt3* con baja metilación del ADN presentan una deficiencia en la elongación del hipocótilo frente a las elevadas temperaturas. En concordancia, el bloqueo de la metilación del ADN con el reactivo 5-azacitidina inhibe la respuesta de la planta a condiciones que promueven la termomorfogénesis. Además, el tratamiento con el reactivo 5-azacitidina disminuye la expresión el reportero artificial *DR5* de respuesta a auxinas. A nivel molecular, los bajos niveles de metilación del ADN bloquean la inducción de los genes regulados por PIF4 durante la termomorfogénesis. A su vez, demostramos que la metilación del ADN reprime la expresión del receptor de luz azul *CRY1* en condiciones de elevadas temperaturas, impidiendo la inhibición de la elongación del hipocótilo mediada por luz azul. En conjunto, nuestros resultados evidencian la regulación epigenética de un fotoreceptor para modular las respuestas de las plantas a las elevadas temperaturas. Finalmente, resultados preliminares indican que la metilación del ADN es importante para controlar el número de copias de regiones repetitivas dentro del genoma de la planta, y de esta manera evitar la inestabilidad cromosomal. Para poder identificar proteínas que controlan la estabilidad de las regiones repetitivas y el rol que cumple la metilación del ADN en dicho proceso, estamos diseñando las construcciones necesarias para utilizar la técnica CasID en plantas, que involucra la fusión entre la proteína CAS9 desactivada (dCAS9) y una biotina-ligasa.

S02

UTILIZACIÓN DEL SISTEMA CRISPR-CAS9 EN CÉLULAS ANIMALES. ¿EN CAMINO A LA EVOLUCIÓN DIRIGIDA?

Viale DL¹

¹*Laboratorio de Terapia Molecular y Celular - Fundación Instituto Leloir – IIBBA-CONICET – CABA – Argentina. E-mail: dviale@leloir.org.ar*

CRISPR es un mecanismo de inmunidad adaptativa de las bacterias frente a la infección por bacteriófagos. Este sistema de defensa consiste en la incorporación, procesamiento y expresión de ADN exógeno en el genoma bacteriano que conduce a la expresión de ARNs con capacidad de reconocer la secuencia del bacteriófago y cortar su genoma mediante las proteínas Cas. A partir de diferentes estrategias de adaptación para células eucariotas, las proteínas Cas permiten introducir cambios específicos y dirigidos en el ADN de cualquier célula, abriendo un amplio abanico de posibilidades de edición genómica. Cas9 es una de las proteínas de CRISPR con actividad nucleasa que puede cortar ADN doble cadena de manera sitio específica en una región de complementariedad de 20 pares de bases. El corte es mediado por dos ARNs, un ARN asociado al sistema CRISPR (crRNA) y un ARN trans-activador asociado al crRNA (tracrRNA). Estos dos ARNs se pueden combinar en una sola secuencia de ARN sintéticas denominada ARN guía pequeño (small guide RNA=sgRNA por sus siglas en inglés). El corte de ADN doble cadena dispara 2 vías de reparación de ADN en la célula eucariota, el sistema NHEJ (Non-Homologous End Joining) y HDR (Homologous Directed Repair). La reparación por NHEJ es un sistema impreciso que causa inserciones o deleciones y cambia el marco de lectura del gen, provocando la pérdida de expresión de la proteína blanco a partir del corrimiento de marco de lectura. Mientras que el sistema HDR permite reemplazar la región con el corte con una secuencia homóloga tanto endógena como exógena. La posibilidad de editar el genoma de animales abre la posibilidad de generar tanto resistencia a enfermedades o aumentar el rendimiento en los de interés agropecuarios como permitir la generación de órganos para xenotrasplante. Una de las características más importantes en los animales, tanto de interés deportivo como agropecuario, es la masa muscular. La miostatina es un regulador negativo de la generación de masa muscular en diferentes especies, la mutación de este gen ha sido asociada a la aparición de mayor masa muscular tanto en equinos como bovinos y canidos. Como modelo de estudio, se utilizó esta estrategia para editar la secuencia del gen de miostatina en fibroblastos equinos y bovinos. Las diferentes estrategias posibilitaron generar tanto líneas clonales como embriones equinos y bovinos con la edición esperada. Esta técnica abre la posibilidad de la edición de diferentes genes para lograr ventajas en la generación de individuos tanto para producción como la resistencia a enfermedades.

S03

LA ESTRATEGÍA BSA (BULK SEGREGANT ANALYSIS) ACOMPLADA A WGS (WHOLE GENOME SEQUENCING) EN LA IDENTIFICACIÓN DE REGIONES GÉNICAS IMPLICADAS EN LA ANDROESTERILIDAD EN ALCAUCIL (*CYNARA CARDUNCULUS* VAR. *SCOLYMUS*, ASTERACEA)

Martin E¹, Zayas A¹, Martina M², Acquadro A², Polli MF², Comino C², Portis E²

¹ IICAR (Instituto de Investigaciones en Ciencias Agrarias de Rosario), CONICET-UNR, Zavalla (SF), Argentina.

² DISAFA (Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari), Plant Genetics and Breeding, Università di Torino, Italia.

Email: eamartin@unr.edu.ar

El alcaucil ($2n=2X=34$, alógama) es una especie hortícola cuya parte comestible son sus inflorescencias inmaduras. Los principales países productores son aquellos de la Región Mediterránea, China y América, siendo Argentina el cuarto productor mundial. Tradicionalmente su producción comercial se basa en el cultivo de clones propagados vegetativamente, pero en las últimas décadas se ha volcado a la generación de materiales de propagación por semilla, a fin de superar los problemas fitosanitarios asociados a la multiplicación clonar y la posibilidad de explotar el vigor híbrido. El éxito de las variedades híbridas depende en parte de la posibilidad de contar con un sistema que permita realizar los cruzamientos de manera efectiva y a bajo costo a escala comercial. Una alternativa para disminuir los costos de la producción de semilla híbrida es la utilización de sistemas de androesterilidad. En alcaucil, la androesterilidad génica es utilizada con éxito en el desarrollo de híbridos F_1 superiores, sin embargo las bases genéticas de este carácter han sido poco estudiadas. En este contexto, el objetivo de este trabajo fue identificar las regiones génicas implicadas en la androesterilidad del cultivo combinando las técnicas BSA y WGS. Para ello, se utilizó una población F_2 segregante de 250 individuos, previamente desarrollada, derivada del cruzamiento inicial entre un genotipo de alcaucil androestéril y un cardo cultivado (*C. cardunculus* var. *altilis*). La evaluación fenotípica de la población permitió clasificar los individuos de acuerdo a la producción de polen en fértiles (MF) y androestéres (MS), así como determinar una segregación mendeliana monogénica (3:1) para el carácter. A partir de 15 plantas F_2 de cada fenotipo se conformaron grupos de ADN, los cuales fueron secuenciados junto a ambos parentales. Las secuencias limpias fueron alineadas con el genoma de referencia de alcaucil (V2 - <http://www.artichokegenome.unito.it>) y sometidas a análisis BSA-seq con QTLseqr de R. Se identificaron 4 regiones genómicas asociadas al carácter en tres cromosomas diferentes, las cuales fueron analizadas en búsqueda de genes candidatos que expliquen el carácter. Al hacer foco en el pico del QTL de mayor G' en el crom. 14, se identificaron 60 genes candidatos. El análisis con SnpEff de estos genes permitió identificar una mutación/sustitución deletérea en una citocromo P450 (CYP703A2) presente en el parental femenino (MS). Mutaciones en CYP703A2 han sido previamente reportadas como responsables de androesterilidad en otras especies. El modelado 3D de la proteína mostró que la sustitución Arg424Gly se encuentra en una región altamente conservada crucial para el correcto plegamiento proteico, sugiriendo que dicha mutación podría ser responsable de la androesterilidad en alcaucil.

SIMPOSIO II: MODELANDO LA VIDA: APLICACIONES DE LA BIOLOGÍA COMPUTACIONAL Y BIOINFORMÁTICA EN LA INVESTIGACIÓN BIOLÓGICA

S04

FUNCIONES DE PUNTUACIÓN ENTRENADAS POR APRENDIZAJE AUTOMATIZADO PARA PREDECIR INHIBIDORES FARMACOLÓGICOS DE PROTEÍNAS

Quiroga R^{1,2}, Villarreal MA^{1,2}

¹ Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Teórica y Computacional. Córdoba Capital, Argentina.

² Instituto de Investigaciones en Físico-Química de Córdoba (INFIQC-CONICET). Córdoba Capital, Argentina.

Email: rquiroga@unc.edu.ar

Introducción: El acoplamiento molecular es una simulación computacional utilizada en el diseño de fármacos que implica predecir la pose y la energía de la interacción entre una molécula pequeña y una proteína objetivo. La aplicación de principal interés de estas simulaciones es la realización de cribado virtual, donde se realizan millones de simulaciones con diferentes moléculas orgánicas en la búsqueda de potenciales inhibidores de una proteína de interés. Estas simulaciones constan de dos componentes principales, una función de puntuación y un método de búsqueda. Las funciones más ampliamente utilizadas son las funciones de puntuación empíricas, que han dado buenos resultados para predecir poses y resultados satisfactorios para predecir energía de interacción. Hasta el momento la aplicación de técnicas de aprendizaje automatizado permitió mejorar la capacidad de predecir energías de interacción, pero no han resultado de utilidad para predecir poses óptimas de interacción proteína-ligando. **Objetivo:** Construir un método de entrenamiento para funciones de puntuación empíricas basado en métodos utilizados en el aprendizaje automatizado, que sea auto-consistente e incorpore la capacidad de reproducir poses similares a las experimentales. **Metodología:** Escribimos un programa en el lenguaje de programación Julia, que mediante el método de derivadas automáticas permite entrenar los parámetros de una función empírica, y donde se incorpora a la función de pérdida la capacidad de predecir poses de interacción similares a las encontradas en estructuras experimentales para complejos proteína-fármaco. A este fin, la función de puntuación resultante de cada iteración de entrenamiento de parámetros es utilizada para generar poses para cada ligando presente en el dataset de entrenamiento, y la diferencia de energía con la pose experimental es incorporada a la función de pérdida. **Resultados:** Esta metodología permite desarrollar funciones de puntuación con similares o mejores capacidades de predicción de poses que las funciones empíricas del estado del arte en acoplamiento molecular, pero mejora significativamente la capacidad de predecir energías de interacción. **Discusión:** Esta metodología de desarrollo de funciones de puntuación empíricas podría representar un avance importante en la búsqueda de nuevos fármacos que puedan inhibir funciones proteicas específicas, lo cual permitiría descubrir posibles tratamientos de enfermedades para las cuales hoy no existen farmacoterapias adecuadas.