

XIX Congreso de Investigación.

SILENCIAMIENTO DE UN ARNm POR UN miARN

Graue Edgar, Lara Laura, Maza Marian, Palazuelos Rosa
CENTRO UNIVERSITARIO ANGLO MEXICANO DE MORELOS
Profesor responsable: IBB Alma Irma Ayala López
Área: Ciencias Biológicas, Biomédicas y Químicas.

Introducción:

Los procesos de expresión genética y sus mecanismos de regulación son temas de interés del área de Biología Molecular. Hace ya algunos años, se iniciaron las investigaciones con los micro ARN. Un micro ARN (miARN) es ARN monocatenario, que tiene una longitud de entre 21-23 nucleótidos, y que tiene la capacidad de regular la expresión de otros genes, mediante diversos procesos. Los miARN son genes de ARN que son transcritos a partir de ADN, pero no son traducidos a proteínas. Se ha observado que algunos de estos miARN pueden silenciar la expresión de algunos genes.

Planteamiento del problema:

La pregunta a responder con esta investigación es la siguiente: ¿El micro ARN miR1 tendrá la actividad de inducir la degradación de un ARNm blanco?

Objetivo:

El objetivo del presente proyecto consiste en demostrar que el supuesto micro ARN miR1, codificado en el genoma de frijol, es capaz de comportarse como un micro ARN al inducir la degradación de un ARNm blanco.

Hipótesis:

Si el micro ARN miR1 complementario al blanco utilizado, logra inducir la degradación de dicho ARN, entonces se podrá detectar su silenciamiento en las plantas experimentales.

Metodología:

En este proyecto de investigación se trabajará con un supuesto micro ARN llamado mir1, con el fin de determinar si es capaz de comportarse como un micro ARN al inducir la degradación de un ARN mensajero.

Durante el proyecto se harán experimentos utilizando la planta de tabaco *Nicotiana benthamiana* y la bacteria *Agrobacterium tumefaciens*, que será utilizada para introducir los genes en el genoma de la planta mencionada. Esta bacteria se eligió para infectar a las plantas a través de las heridas ya que es muy fácil trabajar con ella.

Se utilizará como ARNm blanco artificial al ARN producido por un gen modificado que codifica para la proteína verde fluorescente (GFP) al cual se le integrará la secuencia complementaria del miR1 sin que la proteína fluorescente pierda su funcionalidad. Esta proteína se eligió ya que es un marcador visible fácilmente rastreable en las hojas de la planta *Nicotiana benthamiana*.

Se introducirán los genes que codifican para el ARNm blanco y el miARN en plásmidos que se transferirán, por separado, a la bacteria. Además estos plásmidos van a contener unos marcadores,

antibióticos, para poder saber cual bacteria contiene el plásmido que codifica para GFP y miR 1. Después las bacterias se van a introducir a las plantas por medio de perfusión.

Se van a tener dos grupos uno mutante, en el cual el micro ARN se espera induzca la degradación de la GFP y otro el silvestre en donde no se espera la degradación del mensajero de la GFP ya que en el primero el miR 1 es complementario al gen de la GFP y en el segundo no.

Variables:

Independiente:

- Inyectar el micro ARN miR1 en la planta para determinar si se induce la degradación del micro ARN blanco que codifica la GFP.

Dependiente:

- La presencia o ausencia de la fluorescencia en la planta.

Grupo control:

- Plantas inyectadas sólo con bacterias que contengan el gen para la proteína GFP.

Método experimental:

1. Se utilizará como ARNm blanco artificial al ARN producido por un gen modificado que codifica para la proteína verde fluorescente (GFP) al cual se le integrará la secuencia complementaria del miR1 sin que la proteína fluorescente pierda su funcionalidad.
2. Se introducirán los genes que codifican para el ARNm blanco y el miARN en plásmidos que se transferirán, por separado, a la bacteria: *Agrobacterium tumefaciens*, la cual será utilizada para introducir los genes en el genoma de la planta: *Nicotiana benthamiana*.
3. Se infectarán las plantas con los dos cultivos de las bacterias transformadas con cada uno de los genes de interés, a través de perfusión con una jeringa.
4. Después de esperar a que se dé la expresión de los genes introducidos en las células vegetales, se detectará la fluorescencia que emita la proteína GFP. Si el miR1 es capaz de inducir la degradación del ARNm blanco artificial que codifica para la GFP, entonces la fluorescencia emitida por las hojas transformadas con los dos cultivos mencionados arriba, deberá ser menor que la de las hojas infectadas solamente con el gen para la GFP.

Resultados:

Hasta el momento se han hecho los cultivos de las bacterias, una silvestre y la otra mutante. A cada cultivo se les agregaron dos antibióticos; esto para que solamente obtuviéramos las bacterias deseadas, las cuales son resistentes a dichos antibióticos además de que estas ya llevan el plásmido que tiene los genes que codifican para GFP como se mencionó anteriormente. Después se colocaron las bacterias silvestres (WT) y mutantes en un medio rico y después de un día, se infectaron las plantas a través de perfusión con una jeringa con las bacterias. Días después se determinó la expresión de la proteína GFP en las plantas. Los resultados y las conclusiones serán presentados el día del Congreso debido a que actualmente están en proceso.

Fuentes de información:

<http://images.google.com.mx/images?hl=es&q=Nicotiana+benthamiana.&lr=&um=1&ie=UTF-8&sa=N&tab=wi>

es.wikipedia.org/wiki/Nicotiana_benthamiana

es.wikipedia.org/wiki/Agrobacterium_tumefaciens

<http://images.google.com.mx/images?q=Agrobacterium+tumefaciens&hl=es&um=1&ie=UTF-8&sa=X&oi=images&ct=title>

www.Argenbio.org/biblioteca/pdf/silenciamiento_genico:argenbio.pdf

es.wikipedia.org/wiki/Micro_ARN