

VALIDACIÓN DEL PERFIL DE EXPRESIÓN DE miRNAs NUEVOS Y miRNAs CONSERVADOS EN *Amaranthus hypochondriacus* MEDIANTE qRT-PCR

Martínez Núñez, M.¹, Herrera López M. A., Vera Hernández P. F.¹, Téllez Valerio, C. E.¹, Sotelo Rodríguez, A., Rosas Cárdenas, F. de F.¹. ¹Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada-IPN, Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla Km 1.5, Tlaxcala C.P. 90700, México Tel. +52 248-48707-65, mmartinezn1202@alumno.ipn.mx.

Palabras clave: Amaranto, microRNAs, regulación.

Introducción. Los miRNAs son una clase de RNAs pequeños monocatenarios y no codificantes de aproximadamente 21 nucleótidos de longitud, que se han identificado como reguladores importantes de la expresión génica por la interacción específica con mRNAs y genes blanco en múltiples organismos tales como plantas, animales, y algunos virus [1,2]. En las plantas, la expresión de miRNAs está regulada espacial y temporalmente en diferentes órganos y tejidos y en diferentes etapas de desarrollo, donde desempeñan un papel clave en diversos procesos metabólicos y biológicos [3]. Además, se sabe que el nivel de expresión de cada miRNA varía en entre especies distintas [4]. A diferencia de los miRNA conservados, las familias de miRNA específicas de cada especie se generan a partir de un número limitado de copias de los loci de DNA, por lo que el nivel de expresión de los miRNAs específicos es menor [5].

El objetivo del proyecto fue validar el perfil de expresión de 5 miRNAs nuevos y 6 miRNAs conservados mediante qRT-PCR en la variedad "Gabriela" de *A. hypochondriacus* y correlacionarlo con la identificación *in-silico* de miRNAs mediante el software *ShortStack*.

Metodología. En el presente trabajo de investigación, se identificaron y se alinearon secuencias precursoras de miRNAs de la variedad "Gabriela" de *A. hypochondriacus* mediante el software *ShortStack*. Adicionalmente, se validó mediante qRT-PCR el nivel de expresión de 6 miRNAs conservados y 5 miRNAs específicos para amaranto.

Resultados. Mediante el software *ShortStack* se realizó la alineación, anotación y cuantificación de miRNAs. El análisis *in-silico* permitió la identificación de cuarenta y dos secuencias que cumplen con todos los criterios de *Shortstack* por lo que se consideran miRNAs genuinos de amaranto. Las 42 secuencias se clasificaron como miembros de 33 familias distintas de miRNAs. De las secuencias identificadas, 28 son reportados como miRNA conservados y 14 como miRNAs específicos de amaranto. La cuantificación de miRNAs mediante qRT-PCR indica que los niveles de expresión de miRNAs nuevos (miRNA1-

miRNA5) está considerablemente por debajo (-2.8 Log - 2.4 Log) en comparación con de los niveles de expresión de los miRNAs conservados (4 Log - 12.4 Log).

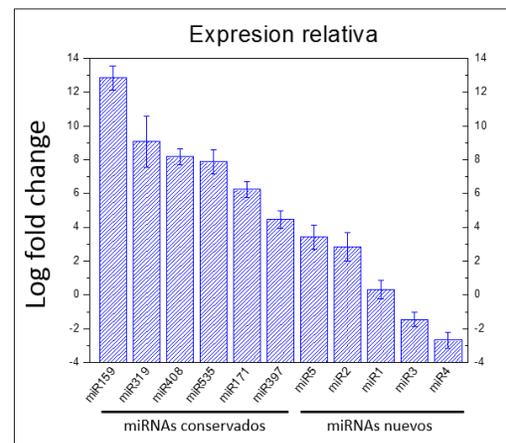


Fig. 1. Expresión relativa de miRNAs conservados (miR159, miR319, miR408, miR535, miR171, miR397) y miRNAs nuevos (miR1, miR2, miR3, miR4, miR5) en *A. hypochondriacus* variedad Gabriela.

Conclusiones. Los niveles de expresión de los nuevos miRNAs en el amaranto fueron considerablemente más bajos que el de los miRNA conservados. El bajo nivel de expresión de los miRNA no conservados se ha asociado a un procesamiento impreciso que se induce en condiciones particulares y en tejidos específicos. Esto sugiere que los miRNAs no conservados en el amaranto desempeñan un papel fisiológico crítico para las adaptaciones ambientales especiales.

Agradecimientos. Este trabajo fue financiado por el subsidio CONACyT CB-2013-221522, y los subsidios SIP 20180545 y 20195904.

Bibliografía.

1. Ferreira, T.H., *et al.* (2012). PLoS ONE. 7:e46703.
2. Li, C., Zhang, B. (2016). J Cell Physiol. 231:303-13.
3. Zhang, T., *et al.* (2017). Plant Physiol Biochem. 111:85-96.
4. Axtell, M. J. and Meyers B.C. (2018). Plant Cell. 30(2):272-284
5. Qin, Z., *et al.* (2014). Front Plant Sci 5: 586.