



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



ANÁLISIS DE LA RESPUESTA MOLECULAR DE MUTANTES NULAS Y SOBREENPRESORAS DE *Arabidopsis thaliana* EN EL GEN QUE CODIFICA PARA EL INHIBIDOR DE LA RNASA L

Elena María Peñaranda Lizarazo, Roberto Ruiz Medrano, Beatriz Xoconostle Cázares, CINVESTAV-IPN. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, México D.F. C.P. 07360, bxoconos@civestav.mx

Palabras clave: RLI, RNasa L, TuMV-GFP

Introducción. La RNasa L es una enzima expresada en casi todos los tipos celulares de mamífero y se activa por unión al oligonucleótido 2-5A (1). En animales, el inhibidor de la RNasa L (RLI) es una proteína supracelular, cuya expresión no está regulada directamente por interferones y es inducida por virus y RNAs de doble cadena, su sobreexpresión inhibe fuertemente la unión de 2-5A y la actividad de RNasa L (2). Aunque en humanos se ha demostrado la actividad inhibitoria de RLI sobre la actividad catalítica de la RNasa L, en plantas no se pudo probar su actividad *in vitro* (3). Aunque se ha demostrado su inducibilidad durante fenómenos de silenciamiento génico (4). En el grupo de trabajo se identificó a RLI y RNasa L (dos elementos del sistema antiviral 2-5A de mamíferos) en floema de calabaza y *A. thaliana*, por lo que se analizó la respuesta de la planta a la modificación en la expresión de RLI durante la infección viral en líneas de *Arabidopsis* que sobreexpresan y silencian los dos alelos y mutantes T-DNA para el alelo 19210 en comparación, con plantas silvestres. Con la cuantificación de acumulación de virus por RT-PCR en tiempo real, se comprobó que su movimiento local y sistémico disminuye. La evidencia de microscopía confocal refuerza estos resultados. El análisis histológico de las líneas transformadas mostró alteraciones morfológicas del tejido vascular.

Objetivo. Analizar la respuesta de la planta a la modificación en la expresión de RLI durante la infección viral.

Metodología. Se crecieron las diferentes líneas transformadas de *A. thaliana* para el gen RLI evaluando sus diferencias fenotípicas, se infectaron con el virus TuMV fusionado a GFP para su análisis por tiempo real y microscopía confocal del nivel de expresión y el patrón de acumulación del virus. Adicionalmente, se realizó el análisis histológico de las líneas vegetales con el fin de determinar si existían alteraciones morfológicas en el tejido vascular.

Resultados

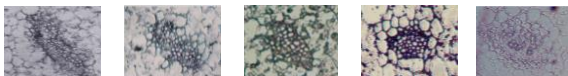


Fig. 1. Cortes histológicos de secciones transversales de hoja. De izquierda a derecha: Sobreexpresora alelo 19210 (SE 19210), Sobreexpresora alelo 13640 (SE 13640), silenciada, mutante T-DNA (19210) y línea silvestre.



Fig. 2. Fenotipo de líneas vegetales luego de 58 días de la siembra a. Líneas silenciadas b. mutante T-DNA c. SE alelo 19210 d. Silvestre

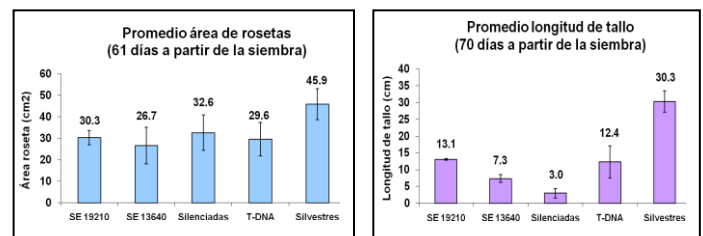


Fig. 3. Izq. Promedio diámetro de rosetas (61 días desde la siembra) Der. Promedio longitud de tallo (70 días desde la siembra)

Conclusiones. Las líneas transformadas en RLI tienen un retraso en desarrollo vegetativo y floral. Este efecto es debido posiblemente a la desregulación de la actividad de la RNasa L en el floema. A nivel morfológico, los haces vasculares aumentaron en mutantes sobreexpresoras y disminuyeron en las silenciadas. El virus de RNA TuMV-GFP disminuyó su movimiento sistémico en mutantes RLI, sugiriendo que la actividad RNasa L podría controlar la infección viral.

Agradecimientos. EMPL es becaria del CONACyT. Esta investigación es financiada por proyecto CONACyT 105985 a BXC.

Bibliografía.

1. Kerr I.M, Brown R.E. (1978). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol (75): 256-260.
2. Bisbal C, Martinand C, Silhol M, Lebleu B y Salehzada T (1995). *J. Biol. Chem.* Vol (270): 13308-13317.
3. Sarmiento C, Nigul L, Kazantseva J, Buschmann M, Truve E. (2006). *Plant. Molec. Biol.* Vol (61): 153-163.
4. Braz A, Finnegan J, Waterhouse P y Margis R. (2004). *J. Mol. Evol.* Vol (59): 20-30.