



XXVIII REUNIÓN DE COMUNICACIONES CIENTÍFICAS, TÉCNICAS Y DE EXTENSIÓN

2, 3 Y 4 DE AGOSTO – 2023

ISBN 978-987-3619-92-2



ISBN 978-987-3619-92-2



9 789873 619922

www.agr.unne.edu.ar



Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Ciencias Agrarias
XXVIII Reunión de Comunicaciones Científicas, Técnicas y de
Extensión: agosto 2023. - 1a edición especial - Corrientes:
Universidad Nacional del Nordeste.
Facultad de Ciencia Agrarias, 2023.
Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-987-3619-92-2

1. Comunicación Científica. 2. Proyectos de Investigación.
I, Título CDD 601

Autoridades

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE

RECTOR:

Prof. Omar Larroza

VICERRECTOR:

Ing. José Leandro Basterra

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS - UNNE

DECANO:

Ing. Agr. (Dr.) Mario H. URBANI

VICEDECANO:

Ing. Agr. (Dr.) Aldo C. BERNARDIS

SECRETARIO DE EXTENSIÓN Y TRANSFERENCIA:

Ing. Agr. José Alejandro SÁNCHEZ

SECRETARIA ACADÉMICA:

E.E. (Dra.) Laura Itati GIMENEZ

SUBSECRETARIA ACADÉMICA:

Ing. (Mgter) Claudia R. SCREPNIK

SECRETARIO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO:

Ing. Agr. (Dr.) Humberto Carlos DALURZO

SECRETARIA DE ASUNTOS ESTUDIANTILES:

Ing. Agr. (Dra.) María Esperanza SARTOR

SECRETARIA ADMINISTRATIVA:

Cra. Lisa María DEL VALLE



UNIVERSIDAD NACIONAL
DEL NORDESTE



Facultad de Ciencias Agrarias



DISEÑO DE PRIMERS PARA AMPLIFICAR LA REGIÓN PROMOTORA DE METALOTIONEÍNAS

ALVAREZ, Mayra Y.^{1,2}; ACEVEDO, Raúl M.^{1,2}; ESPASANDIN, Fabiana D^{2,3}; SANSBERRO, Pedro A.^{1,2}

Las metalotioneínas (MTs) son proteínas de bajo peso molecular (4~7 kDa), ricas en cisteínas (20~30%) que brindan la posibilidad de ligar iones metálicos evitando así una intoxicación por exceso de metales. Sus principales características se deben a sus abundantes grupos tioles (-SH), que les permiten, por un lado, unirse a metales pesados tanto fisiológicos (Zn, Cu, Se, Ni) como xenobióticos (Cd, Hg, Ag, As). Por otro lado, participan en el mecanismo de defensa antioxidante capturando radicales libres. El mecanismo de acción y el rol fisiológico desempeñado por las MTs en plantas aún no ha sido esclarecido, en comparación con las MTs presentes en mamíferos. En este sentido el estudio de la región promotora del gen de MTs nos permitiría determinar en qué momentos el promotor activaría la transcripción de dicho gen. Funcionalmente, un promotor es una secuencia de ADN localizada “upstream” o “aguas arriba” (hacia el extremo 5' de la región codificante de un gen) que incluye las regiones de enlazamiento para factores de transcripción. La tecnología genómica moderna permite estudiar millones de regiones de cada muestra de ADN. La mayoría de estas tecnologías requieren la amplificación de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR); el éxito de esta reacción depende de la calidad del templado, enzima polimerasa, solución buffer y el diseño de primers o cebadores, los cuales pueden determinar la especificidad y eficiencia de la reacción. Aunque en muchos casos se han seleccionado cebadores de uso universal o publicados en artículos de investigación de referencia, a menudo la PCR sólo puede lograrse utilizando cebadores diseñados adecuadamente. Existen una variedad de softwares para el diseño de primers, muchos de acceso libre, como Primer3Plus, que nos permite tener un control personalizado y más completo sobre el experimento de la PCR. Con el objetivo del diseño in silico de cebadores que amplifiquen la región promotora del gen de MTs, se empleó el software primer 3 plus versión 0.4.0, utilizando como base la secuencia de ADN genómico de plantas de *Ilex paraguariensis*. Para la validación de los primers mediante PCR convencional, se emplearon muestras hojas de *I. paraguariensis*. Para la extracción del ADNg se empleó el protocolo de CTAB, mientras que para la amplificación se empleó el protocolo de la enzima taq polimerasa (Promega) y un protocolo de amplificación de 1 ciclo de desnaturalización inicial de 95°C por 2 min, 30 ciclos de 95°C de 1 min, 58°C de 1 min, 72°C de 1 min y, finalmente, una elongación final 72°C de 5 min en un termociclador Biorad MyCycler. Los amplicones fueron visualizados por electroforesis horizontal en gel de agarosa. Finalmente, la selección de cebadores se realizó considerando aquellas parejas que cumplían con los criterios establecidos por Abdelsalam y, además, se evaluaron las características físicas de los mismos empleando el programa Oligo Analyzer 3.0 de Integrated DNA Technologies (IDT). Como resultado se obtuvieron 5 pares de cebadores, seleccionándose los dos pares con Tm por encima de 50°C y un contenido de G/C mayor al 45%, descartándose aquellos con secuencias autocomplementarias.

¹ Instituto de Botánica del Nordeste (IBONE, UNNE – CONICET).

² Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional del Nordeste.

³ Instituto de Botánica del Nordeste (IBONE-CONICET).