

IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN GEN RESPONSABLE DE LA SÍNTESIS DE VITAMINA C EN FRUTOS DE FRUTILLA

*Agius, F. y Valpuesta, V.**

Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República

* Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Málaga, España

La frutilla es considerado un fruto no climatérico por su independencia del etileno en el proceso de maduración. Este motivo sumado a las características anatómicas particulares de este fruto han llevado que sea utilizado como modelo para la comprensión de los mecanismos bioquímicos y moleculares que se suceden durante la maduración de un fruto. El proceso de maduración esta programado en el desarrollo por un gran cantidad de genes los que intervienen tanto en la modificación de la propiedades físicas del fruto como ser el ablandamiento hasta propiedades químicas como la acumulación de compuestos relacionados con aroma o color. En este trabajo se utilizó como herramienta para aislar genes específicos de maduración una genoteca de expresión diferencial la que generó una serie de clones de cDNA que correspondían a mRNAs de específicos de maduración. Uno de los cDNA aislados corresponde a una gen con homología con aldoceto reductasas de plantas (FaALKE). Una caracterización bioquímica y molecular mostró que este gen participa en la ruta de síntesis de vitamina C en frutos de frutilla. La utilización de plantas transgénicas de *Arabidopsis thaliana* que sobreexpresan el gen FaALKE demostró que se puede incrementar los contenidos de vitamina C de tejidos verdes. El análisis de actividad de la proteína mostró actividad específica para el ácido galacturónico lo que confirma resultados obtenidos hace 50 años donde se propuso una vía de síntesis de vitamina C en frutos de frutilla dependiente de la vía del ácido galacturónico.

UNA NUEVA SUBFAMILIA DE TRANSPORTADORES ABC DE *Leishmania*: CARACTERIZACION DEL GEN *LtrABC1.1*.

Parodi-Talice, A., Araujo, J.M., Torres, C., Pérez-Victoria, J.M., Gamarro, F. y Castanys, S.

Instituto de Parasitología y Biomedicina López Neyra (C.S.I.C), Granada-España.
E-mail: apartal@fcien.edu.uy

Leishmania es un protozooario tripanosomátido causante de la enfermedad denominada leishmaniasis. La quimioterapia empleada para combatir la enfermedad frecuentemente se enfrenta a casos de resistencia al tratamiento. Algunas de las proteínas del parásito que se han vinculado con procesos de resistencia pertenecen a la familia ABC. Hemos identificado en *Leishmania* un gen codificante de un transportador ABC relacionado con la subfamilia ABCA descrita en mamíferos. Miembros humanos de esta subfamilia se han relacionado con el transporte de colesterol y fosfolípidos. La caracterización molecular del gen de *Leishmania*, denominado *LtrABC1.1*, evidenció la existencia de una familia multigénica localizada en dos cromosomas de 1,2 y 0,6 Mb. El gen *LtrABC1.1* se encuentra duplicado en tandem sobre el cromosoma de mayor tamaño. Estudios de inmunolocalización demostraron que la proteína LtrABC1.1 se encuentra principalmente en el bolsillo flagelar, la membrana plasmática y el flagelo. Estudios de acumulación de análogos de fosfolípidos en parásitos que sobreexpresan LtrABC1.1, indicaron que este transportador puede estar involucrado en la translocación de fosfolípidos a través de la membrana. Ensayos de infección de macrófagos mostraron que los parásitos que sobreexpresan LtrABC1.1 fueron menos infectivos. Procesos tales como la exocitosis parecen estar alterados ya que la actividad fosfatasa ácida secretada fue significativamente menor en los parásitos que sobreexpresan LtrABC1.1. Estos resultados sugieren que este transportador ABC puede estar implicado en el movimiento de lípidos a través de la membrana y esta actividad puede afectar procesos tales como el tráfico vesicular y la infectividad.

IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE GENES DIFERENCIALMENTE EXPRESADOS DURANTE LA MEIOSIS

Geisinger, A. y Wettstein, R.

Departamento de Biología Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Unidad Asociada a la Facultad de Ciencias

La espermatogénesis es un proceso de diferenciación terminal complejo que puede ser descrito como la ejecución coordinada de al menos dos programas de expresión génica. El primero, que tiene lugar durante la meiosis, provee el aparato necesario para el apareamiento, recombinación y segregación que tienen lugar durante la meiosis; el segundo es responsable de los profundos cambios que ocurren durante la espermiogénesis. Con el objeto de identificar y caracterizar genes expresados diferencialmente durante la meiosis, hemos aplicado el "mRNA differential display" (DD; Liang *et al.*, 1993) para la comparación de ARN de poblaciones celulares altamente enriquecidas mediante elutriación en células meióticas (espermatoцитos paquiténicos) y postmeióticas (espermátidas redondas) de rata. De un total de 94 bandas de expresión diferencial identificadas, 73,4% correspondió a espermátidas, y sólo 26,6% a células meióticas. Varias de estas bandas han sido analizadas y caracterizadas. En particular, nos hemos centrado en la caracterización de dos genes de expresión diferencial durante la meiosis, identificados mediante el DD. Uno de ellos dirige la síntesis de una gran proteína de transmembrana; anticuerpos contra esta proteína nos han permitido su identificación. El segundo codifica para una probable proteína de ubicación nuclear, portadora de un largo tramo de homoserinas, a la que hemos denominado SSRP-1. Se presentará la información disponible hasta el momento sobre ambos genes, postulando algunas ideas acerca de la posible función de los productos por ellos codificados durante la espermatogénesis.

Liang, P., Averboukh, L. and Pardee, A.B. (1993). *Nucleic Acids Res.* 21: 3269-3275

ENFOQUE CITOGÉNÉTICO-MOLECULAR DE PATOLOGÍAS HEREDITARIAS EN BOVINOS

Llambí, S.

Área Genética, Facultad de Veterinaria. Montevideo. sllambi@adinet.com.uy

La aplicación de técnicas citogenéticas-moleculares ha permitido avanzar en el estudio del mapeo génico y análisis de variantes genéticas en bovinos. Una de las áreas de investigación que estamos desarrollando es el estudio de la fragilidad del cromosoma X, particularmente por su relación con alteraciones de la fertilidad y reordenamientos a nivel evolutivo. Mediante la realización de cultivos linfocitarios inducidos con afidicolina hemos identificado en este cromosoma 5 sitios de fractura, estableciéndose mediante bandeo RBG, el idiograma de fracturas en el cariotipo de bovinos de la raza Holando (Holstein). Mediante técnicas como la microdissección cromosómica, DOP-PCR, PRINS, se ha logrado avanzar en el estudio de estos sitios frágiles. La utilización de secuencias del gen FMR-1 humano en ADN de bovinos (secuencia AF323120, genbank) permitió detectar una homología del 87-89% identificándose la presencia del triplete CGG. Otra raza en estudio por su importancia como recurso genético son los bovinos criollos del Uruguay. En ésta se ha detectado la presencia de la translocación Robertsoniana 1/29. Actualmente se están realizando estudios moleculares con enzimas de restricción (MspI) en estos animales. Otro aspecto de estudio son las enfermedades hereditarias monogénicas, como la deficiencia en adhesión leucocitaria bovina (BLAD), la deficiencia en enzima uridina monofosfato sintasa (DUMPs) y la citrulinemia. Mediante PCR-RFLP en una muestra poblacional de bovinos Holando hemos detectado la presencia de portadores de BLAD con una frecuencia del alelo mutante de $q=0.029$. Para el DUMPs y citrulinemia no se han identificado hasta el momento la presencia de animales portadores.

Financiación : CSIC-UDELAR, AECl, CIDEc-Fac.Veterinaria.