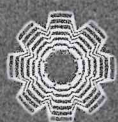
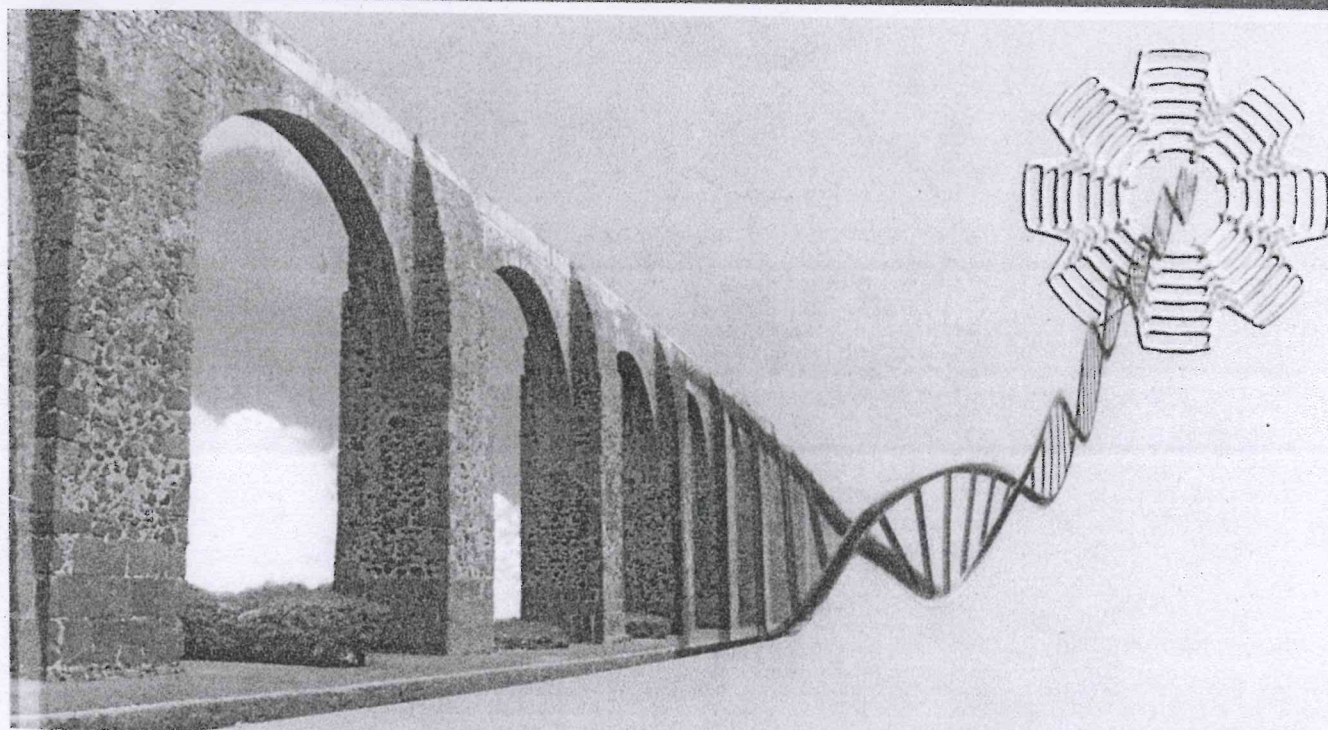


XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería

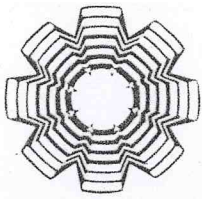
19 A 24 DE JUNIO, 2011
Querétaro, Qro., Hotel Misión Juriquilla

PROGRAMA

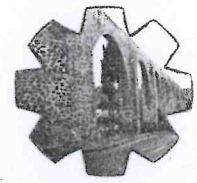


Sociedad Mexicana de
Biotecnología y Bioingeniería





XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



AVANCES EN EL ESTABLECIMIENTO DE UN SISTEMA DE TRANSFORMACIÓN GENÉTICA ESTABLE PARA EL MUSGO *Plagiomnium cuspidatum*.

Fret Cervantes-Díaz, Alejandra Chamorro-Flores, Analilia Arroyo, Miguel A. Villalobos. Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Instituto Politécnico Nacional, Tepetitla de Lardizabal, Tlaxcala C.P. 90700. ciba_mangel_ipn@hotmail.com

Palabras clave: Transformación genética, musgo, *P. cuspidatum*.

Introducción. La transformación genética de plantas ha tenido muchas aplicaciones en diversos campos de la ciencia, gracias al desarrollo de diversas estrategias de transformación (1). Recientemente, la transformación genética de los musgos ha surgido como una alternativa para estudios de biología del desarrollo, genética, y biología molecular, debido a que la fase dominante en su ciclo de vida es haploide y poner lo de recombinación homóloga. En adición, se han comenzado a utilizar para la producción de biofarmacéuticos (2). *Plagiomnium cuspidatum* es un musgo mexicano que presenta cualidades que lo hacen un organismo de gran interés biotecnológico. Se ha observado que sus gametóforos pueden tolerar condiciones de desecación rápida (30% de humedad relativa) por periodos mayores a 2 años. Además el desarrollo de un eficiente sistema de propagación *in vitro*, tanto en medio sólido como líquido, ha permitido conocer que en otras fases de su ciclo de vida, como son las esporas y protonemas, pueden germinar y/o sobrevivir aún bajo condiciones extremas de estrés osmótico y salino (NaCl 200 mM, Manitol 600 mM y NaCl 300 mM, Manitol 1000 mM, respectivamente); sin embargo, el desarrollo de un protocolo para la transformación de este musgo aumentaría las herramientas para su estudio a nivel molecular así como su uso biotecnológico.

De esta manera, el objetivo que se pretende alcanzar es: Establecer un sistema de transformación genética estable para el musgo *P. cuspidatum*, que permita conocer la función de probables genes de respuesta a estrés abiótico (mediante Knockout) y explorar la producción de proteínas recombinantes.

Metodología. En primera instancia se estableció un procedimiento de obtención de protoplastos de *P. cuspidatum* y se utilizó como referencia el musgo modelo *Physcomitrella patens*, el cual cuenta con eficiente sistema de transformación genética, aunque este musgo no es tan tolerante a estreses abióticos como *P. cuspidatum*. Los protoplastos fueron obtenidos a partir de tejido protonemal mediante la acción de driselasa en una concentración de 2 % durante 1.5 hrs, posteriormente fueron resuspendidos en una concentración de 1.6×10^6 protoplastos/ml. A continuación fueron transformados con los plásmidos pTFH38.9c y pPGX8 mediante choque osmótico generado por polietilenglicol 8000. Ambos plásmidos pueden ser utilizados para la sobreexpresión

de algún transgen. Los protoplastos fueron sembrados en medio de regeneración, donde permanecieron 4 días. Posteriormente fueron transferidos a medio selectivo (con antibióticos) para seleccionar los protoplastos transformados genéticamente.

Resultados. La eficiencia en la obtención de protoplastos en *P. cuspidatum* y *P. patens* ha sido muy alta, 5.2×10^6 y 4.5×10^6 , respectivamente (fig.1).

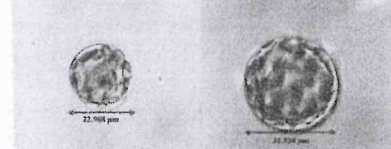


Fig. 1. Imagen representativa de un protoplasto de *P. cuspidatum* (izquierda) y de *P. patens* (derecha) (fotografías a 1000X).

Los protoplastos de ambas especies han sido capaces de regenerar tejido en el medio de regeneración (fig. 2).



Fig 2. Protoplastos de *P. cuspidatum* y *P. patens* (respectivamente) regenerando tejido.

No obstante, hasta este momento sólo se han podido transformar los protoplastos de *P. patens* (fig. 3).



Fig. 3. Protonema de *P. patens* creciendo en medio con antibiótico.

Conclusiones. La obtención de protoplastos y la regeneración de tejido a partir de ellos, han sido muy exitosas; sin embargo, aún faltan adecuaciones adicionales para obtener la transformación genética de *P. cuspidatum*. **Agradecimiento.** Los autores agradecemos a SIP (20113190, 20113106, 20113727 y 20113728).

Bibliografía.

1. Newell C A. 2000. *Mol. Biotech.* 16:53-65.
2. Beike A K, Decker E L, Frank W, Lang D, Vervliet-Scheebaum M, Zimmer A D y Reski R. 2010. *Trop. bryol.* 31:22-32.