

GGM

**GENÓMICA
Y GENÉTICA
MOLECULAR**

**GENOMICS
AND MOLECULAR
GENETICS**

Humanos / Humans

GGM 1

ROLE OF HSA-MIR-451A ON PROGRESSION OF HUMAN BREAST CANCER

Hernandez Velandia A.¹, A.F. Aristizabal Pachón¹. ¹Ciencias, Nutrición y Bioquímica, Pontificia Universidad Javeriana, Colombia. andres_aristizabal@javeriana.edu.co

Breast cancer is a global concern related to public health with an average of 2.200.000 global new cases and close to 7% of world deaths related to cancer. Breast cancer, as other solid tumours, behave generally in steps described as proliferation, migration, and invasion which are regulated by tumour microenvironment, a specialized network promoting cancer cells which finally will achieve stabilization with support of signalling pathways. Within the great variety of molecules and the reported dysregulation of microRNAs (miRNAs) in tumour progression, has attracted attention, and based on previous reports, how highly expressed placental miRNAs are related in specific signalling pathways which in placenta are under control but they are not in cancer. The aim of this research was to evaluate the role of hsa-mir-451a in breast cancer progression. Human MCF-7 cell line was cultured in Dulbecco's modified Eagle's medium and transfected with hsa-mir-451a mimic. Cell line transfected was evaluated for classical tumour progression assays as, colony formation, proliferation, invasion, and migration. The results showed that cell lines transfected decreased their abilities to progress *in vitro*, revealing reduced capacity to form colonies ($p < 0.01$) and properties related to migration and invasion ($p < 0.01$). The hsa-miRNA451a is involved in several signalling pathways related to proliferation, migration and invasion, its overexpression in cancer cells impact the capacities of tumour cells to progress. *In vitro* results were analysed with support of bioinformatics tools available for miRNA. In conclusion, we show evidence about suppressor tumour function of hsa-mir-451a in breast cancer.

Pontificia Universidad Javeriana, Apoyo a proyectos interdisciplinarios de investigación. ID 20018

GGM 2

SUPPRESSOR TUMOR ROLE OF THE miRNAs-C19MC CLUSTER IN MAMMARY TUMORIGENESIS

Aristizabal-Pachon A.F.¹, A.Y. García-Fonseca¹, A. Hernandez Velandia¹, M. Bueno Martinez¹, D.M. Grajales Urrego¹. ¹Facultad de Ciencias, Departamento de Nutrición y Bioquímica, Pontificia Universidad Javeriana, Colombia. andres_aristizabal@javeriana.edu.co

Placenta is a tissue with the ability to proliferate and invade the myometrium, using similar molecular mechanisms that tumor cells use in tumorigenesis process. In recent years, many evidences indicate that these genes come under strong expression modulations by small RNAs, called microRNAs (miRNAs). In this context, the cluster of miRNAs-C19MC involves 46 miRNAs that show exclusive expression in placental tissue, as previously demonstrated by our research group. Some gene targets of miRNA-C19MC cluster have been characterized in different cancer types, since they stimulate cell proliferation by apoptotic inhibition and promote cell migration and invasion. However, it is unclear the role of miRNAs-C19MC cluster members in tumor process. The objective of this study was to identify the biological role of miRNAs-C19MC cluster in breast cancer development. miRNAs of C19MC's cluster were overexpressed by transfection with miRNAs mimics into breast cancer cell line SKBR3. The successful transfection was verified by RT-qPCR. After transfection, it was performed clonogenic, migration and invasion assays to determine the biological role of miRNAs-C19MC cluster in breast cancer development. The results showed a significant decrease in number of colony-forming ($p < 0.05$) after transfection with miRNAs mimics. It was also observed, a highly significant decrease of migration and invasive potential ($p < 0.001$) in breast cancer cell line transfected with miRNAs mimics. Our results provide clear evidence of functional role of miRNAs-C19MC cluster in breast cancer, as it may be regulating proliferation, migration and invasion cell processes.

Pontificia Universidad Javeriana, Apoyo a proyectos interdisciplinarios de investigación

GGM 3

MIR-224-3P OVEREXPRESSION IS ASSOCIATED WITH INCREASED DOSE OF I131 RADIOTHERAPY IN EXTRAHEPATIC CCA CELLS

Calastri M.C.J.¹, R.F. Ferreira², L.S. Poletto¹, G.D. Tenani¹, P.H. Fogaça Jordão³, S.L. Ferreira Júnior¹, E.M. Zanovelo³, D. Souza³, M.F.R. Roque Botelho⁴, A.M.C. Abrantes⁴, A.F. Marques De Brito⁴, J.G. Tralhão⁴, D.D.S. Neto³, R.F. Da Silva¹, R.D.C.M. Alves Da Silva¹, L.B.E. Da Costa², I.D.F.S. Ferreira Boin², D.R. Silva Souza¹, G.F. Vieira¹. ¹Fac. de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP, Biología Molecular, Fac. de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP, Brasil; ²Fac. de Ciências Médicas, Cirurgia, Univ. Estadual de Campinas (UNICAMP), Brasil; ³Fac. de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP, Patología, Hptal. de Base de São José do Rio Preto – HB, Brasil; ⁴Fac. de Medicina, Biofísica, Univ. de Coimbra, Portugal. mariaclarajessica@hotmail.com

Cholangiocarcinoma (CCA) affects the bile ducts, constituting a heterogeneous tumor, being the second most common type of primary liver cancer. Metabolic radiotherapy using Iodine-131 (I^{131}) is associated with cell death by apoptosis in CCA. Micro-RNAs (miRNAs) play essential roles in carcinogenesis by acting as oncogenes or tumor suppressors. We analyze the effect of radiotherapy with I^{131} on the expression of miRNA 224-3p in intra (HuCCCT-1) and extra-hepatic (TFK-1) CCA cell lines. Human CCA cells (TFK-1 and HuCCCT1) and cholangiocytes (H69) were cultured and subjected to irradiation with I^{131} at different doses (1,20 and 60 Gy) after 2 h, 48 h and 12 d. Analysis of miRNAs expression was performed by real-time polymerase chain reaction. An alpha error of 5% was admitted. In HuCCCT-1 cells, underexpression of miR-224-3p was noted under all conditions analyzed relative to control. An increase in the expression of miR-224-3p was also observed when using a dose of 60Gy in 2 h (0.31), 48 h (0.39) and 12 d (0.61; $p=0.001$). In TFK-1 cells, overexpression of miR-224-3p was observed associated with increased dose after 2 h (1Gy=2.28, 20Gy=3.78 and 60Gy=5.89; $p=0.001$). 48 h after irradiation with I^{131} , the expression levels of this miRNA continued to be overexpressed, however, a decrease was observed in all doses (1Gy=1.53, 20Gy=1.41 and 60Gy=2.91; $p=0.0001$) compared to cells treated at 2 h. miRNA 224, tumor suppressor in several carcinogenic pathways, has overexpression associated with increased dose of I^{131} radiotherapy in extrahepatic CCA cells.

National Council for Scientific and Technological Development (CNPq); São Paulo Research Foundation (FAPESP), Grant: 2018/00356-3

GGM 4

ESTUDIO DE LA CAPACIDAD INVASIVA DE CÉLULAS TUMORALES PROSTÁTICAS

Chiale C.¹, A. Diaz¹, P. Frade¹, L. Pastro¹, M. Rodriguez- Teja¹. ¹Facultad de Medicina, Montevideo, Universidad de la República, Uruguay. clauchiale@gmail.com

En Uruguay el cáncer de próstata presenta la mayor tasa de incidencia y tercera tasa de mortalidad, siendo la edad el principal factor de riesgo. A lo largo de la vida, el tejido prostático sufre un progresivo crecimiento y endurecimiento, afectando sus propiedades visco-elásticas. Con el paso de los años ocurre una pérdida de elasticidad en la membrana basal que rodea a los acinos glandulares; uno de los factores que contribuyen a esta pérdida es la acumulación de productos finales de glicación avanzada (AGEs). La acumulación de AGEs genera fuerzas tensionales sobre la superficie de la célula, generando un cambio en el fenotipo epitelial. Esto es censado y transmitido por el mecano-receptor Endo180, desencadenando una transición tipo epitelio-mesenquimal con adquisición de capacidades migratorias. Se ha visto que Endo180 forma un complejo con la proteína CD36, cuya expresión es un marcador de células madre cancerosas iniciadoras de metástasis en diferentes tipos de cáncer. En este trabajo nos propusimos estudiar cómo la acumulación de AGEs afecta la capacidad migratoria e invasiva de las células tumorales Endo180+/CD36+. Para esto testamos la expresión del marcador CD36 en dos líneas celulares metastásicas de cáncer de próstata e indujimos su expresión. Utilizamos ensayos de migración e invasión para determinar si un microambiente con AGEs modula la capacidad invasiva de células tumorales Endo180+/CD36+. El estudio de una población celular que expresa marcadores diferenciales de células madre como CD36, CD44, CD133 contribuirá al entendimiento del desarrollo del cáncer de próstata metastásico y al descubrimiento de blancos potenciales de tratamiento.

GGM 5

IODINE-131 METABOLIC RADIOTHERAPY LEADS TO ANGIOGENESIS GENES UNDEREXPRESSION ON CHOLANGIOCARCINOMA CELLS

Fernandes Ferreira R.¹, M.C.J. Calastri², L. Poletto Spinola², G.D. Tenani², P.H. Fogaça Jordão², S.L. Ferreira Junior², E. Zanovello², M.F. Rabaça Roque Botelho³, A.M. Coelho Abrantes³, J.G. Tralhão³, R. Ferreira Da Silva², R.D.C. Martins Alves Da Silva², L. Bastos Eloy Da Costa¹, D. Rossi Silva Souza², I.D.F. Santana Ferreira Boin¹. ¹Fac.Ciências Médicas, Cirurgia, Univ.Estadual de Campinas (UNICAMP), Brasil; ²Fac.ade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP), Biologia Molecular, Brasil; ³Faculdade de Medicina, Biofísica, Universidade de Coimbra, Portugal. rafael91_fernandes@hotmail.com

Cholangiocarcinoma (CC) is an aggressive bile duct tumor with a high mortality rate and limited treatment. We evaluated the effect of metabolic radiotherapy with ¹³¹I considering the expression of *Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)* and *Hypoxia-Induced Factor (HIF-1α)* in CCA cell line. Extrahepatic CC (TFK-1) and intrahepatic CC (HuCCT1) cells and cholangiocytes (H69) were cultured and subjected to irradiation with ¹³¹I with doses 1, 20 and 60 Gy after 2 h, 48 h and 12 d. Real-time polymerase chain reaction mRNA expression analysis was performed. Significance level was assumed for $p < 0.05$. Underexpression of *HIF-1α* in HuCCT-1 was observed at 2 and 48 h after irradiation with 1 Gy (0.70 and 0.51), 20 Gy (0.65 and 0.66) and 60 Gy (0.59 and 0.91; $p = 0.001$). In TFK-1, there was *HIF-1α* underexpression within 2 h at the dose of 60 Gy (0.08) compared to 1 Gy (1.63) and 20 Gy (1.88; $p = 0.004$). In HuCCT-1, underexpression of VEGF at the three doses at 2 h and 12 d (1 Gy=0.26 and 0.37; 20 Gy=0.53 and 0.61; 60 Gy=0.41 and 0.23, respectively) compared to 48 h (1 Gy=0.56; 20 Gy=0.99; 60 Gy=0.93; $p = 0.01$ and $p = 0.03$) was observed. In TFK-1, underexpression of VEGF was highlighted at a dose of 20 Gy in 48 h (0.53) and 12 d (0.23) compared to 2 h (19.42; $p < 0.0001$). Radiotherapy with ¹³¹I at different doses and exposure time is associated with underexpression of *HIF* and *VEGF* in intra- and extra-hepatic CCA cells.

National Council for Scientific and Technological Development (CNPq)

GGM 6

CHOLANGIOCARCINOMA: TUMOR SUPPRESSOR MIR-101-3P AS POTENTIAL DIAGNOSIS AND PROGNOSTIC BIOMARKER

Ferreira Junior S.L.¹, M.C.J. Calastri¹, R. Fernandes Ferreira^{1,2}, L. Spinola Poletto¹, G. Domitila Tenani¹, P.H. Fogaça Jordão¹, G. Feltrin Vieira¹, E. Milharcis Zanovello³, D. Souza³, M.F. Rabaça Roque Botelho⁴, A.M. Coelho Abrantes⁴, A.F. Marques De Brito⁴, J.G. Tralhão⁴, D.D.S. Neto³, R.F. Da Silva¹, R.D.C. Martins Alves Da Silva¹, L.B. Eloy Da Costa², I.D.F. Santana Ferreira Boin², D.R. Silva Souza¹. ¹Molecular Biology, Medical School of São José do Rio Preto (FAMERP), Brazil; ²Fac. Medical Sciences, Dept. of Surgery, Univ. of Campinas (UNICAMP), Brazil; ³Medical School of São José do Rio Preto (FAMERP), Pathology, Base Hptal. (HB), Brazil; ⁴Fac. of Medicine, Dept. of Biophysics, Univ. Coimbra (FMUC), Portugal. sferreirajunior1@gmail.com

Patients with cholangiocarcinoma (CCA) tumor located in the biliary tract, have low survival due to difficulties in diagnosis in its early stage. In this context, microRNAs with inhibitory potential on tumor proliferation, such as miR-101-3p, are a potential molecular marker for diagnosis and prognosis of CCA. The aim of this study was to evaluate the expression of miR-101-3p in patients with CCA and its relationship with survival, lifestyle habits and comorbidities. 41 patients (SG) (median age: 56 y; 51.2% female) and 21 individuals from the control group (CG) (median age: 39 y; 80.9% female) who underwent cholecystectomy were studied. RNA was extracted from tumor tissue embedded in paraffin in SG and fresh tissue in CG. Expression analysis of miR-101-3p was performed by real-time reverse transcription polymerase chain reaction with significance level assumed for a value of $p < 0.05$. The analysis of miR-101-3p expression showed that it was underexpressed in the SG compared to the CG (0.17; $p = 0.0001$), which didn't occur for lifestyle habits and comorbidities ($p > 0.05$). For lifestyle habits, smoking prevailed in patients (36.6%; $p = 0.034$) while alcoholism was similar in both groups (24.4%, 23.8%; $p > 0.05$). The same occurred for systemic arterial hypertension (24.4%; 23.8%, $p > 0.05$, respectively) and diabetes mellitus (9.75%, 19.0%, $p > 0.05$, respectively). However, body mass index (BMI) $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ excelled in controls (66.6%, $p = 0.012$). The underexpression of mir-101-3p, an important tumor suppressor, is associated with patients with CCA. Smoking and increasing age seem to be important independent risk factors for cholangiocarcinoma.

National Council for Scientific and Technological Development (CNPq); São Paulo Research Foundation (FAPESP)

GGM 7

UNDEREXPRESSION OF THE TUMOR SUPPRESSOR MIR-145 IN PATIENTS WITH CHOLANGIOCARCINOMA

Fogaça Jordão P.H.¹, M.C.J. Calastri¹, R.F. Ferreira¹, L. Spinola Poletto¹, G. Domitila Tenani¹, S.L. Ferreira Júnior¹, G. Feltrin Vieira¹, E. Milharchix Zanovelo², D. Souza², M.F.R.R. Botelho³, A.M.C. Abrantes³, A.F. Marques De Brito³, J.G. Tralhão³, D.D.S. Neto², R. Ferreira Da Silva¹, R.D.C.M. Alves Da Silva¹, L.B. Eloy Da Costa⁴, I.D.F.S. Ferreira Boin⁴, D.R. Silva Souza¹. ¹Molecular Biology, Medical School of São José do Rio Preto (FAMERP), Brazil; ²Medical School of São José do Rio Preto (FAMERP), Pathology, Base Hptal. of the Medical School of São José do Rio Preto - HB, Brazil; ³Fac. of Medicine, Biophysics, Univ. of Coimbra (FMUC), Portugal; ⁴Fac. of Medical Sciences (FCM), Surgery, Univ. of Campinas (UNICAMP), Brazil. pedro.hf.jordao@hotmail.com

Cholangiocarcinoma (CCA) is the second most incident type of primary liver cancer, a heterogeneous and rare tumor representing approximately 3% of gastrointestinal neoplasms. Admittedly, angiogenesis mediated by microRNAs (miR) can interfere in carcinogenesis. Thus, miR-145 acts as a tumor suppressor, and is involved in inflammatory processes related to comorbidities. Therefore, angiogenic and inflammatory factors can act influencing the CCA pathophysiology. The objective of this work was to assess the miR-145 expression and its relation with lifestyle habits and comorbidities in CCA patients. Sixty-two individuals were studied, distributed into: Study Group (SG) – 41 patients with CCA (median age=56 y; 51.2% female)-; Control Group (CG) – 21 individuals without CCA, undergoing gallbladder removal surgery (median age=39 y; 80.9% female)-. RNA was extracted from paraffined tumor tissue (SG) and cystic duct sample (CG). The miR-145 expression was analyzed by real-time polymerase chain reaction. Life habits (smoking and alcoholism) and comorbidities (diabetes mellitus (DM), systemic arterial hypertension (SAH) and body mass index (BMI±25kg/m²) were obtained through medical questionnaires and records. The admitted alpha error was 5%. There was a decrease in miR-145 expression in patients compared to controls (mean=0.46; $p=0.0001$). Lifestyle habits and comorbidities were not associated with miR-145 expression. For lifestyle habits, smoking prevailed in the SG (36.6%; $p=0.034$), while alcohol consumption was similar between groups (SG=24.4% and CG=23.8%; $p>0.05$). The same occurred for DM and SAH (9.75%, 19% and 24.4%, 23.8%, respectively; $p>0.05$). BMI stood out in controls (66.6%, $p=0.012$). The miR-145 underexpression is associated with CCA. Smoking appears to be an independent risk factor for the disease.

National Council for Scientific and Technological Development (CNPq); São Paulo Research Foundation (FAPESP), Grant: 2021/02964-3

GGM 8

EXPRESSION OF TUMOR SUPPRESSOR MIR-142-3P IS REDUCED IN PATIENTS WITH CHOLANGIOCARCINOMA

Poletto Spinola L¹, R. Fernandes-Ferreira², G. Feltrin Vieira¹, M.C.J. Calastri¹, G. Domitila Tenani¹, P.H. Fogaça Jordão¹, E. Milharchix Zanovelo³, D.C. Brito De Souza³, M.F. Rabaça Roque Botelho⁴, A.M. Coelho Abrantes⁴, J.G. Lopes Rodrigues Tralhão⁴, R. Ferreira Da Silva³, R.D.C. Martins Alves Da Silva¹, I.D.F. Santana Ferreira Boin², D. De Santi Neto³, D. Rossi Da Silva Souza¹. ¹Medicine, Molecular Biology, Fac. of Medicine of São José do Rio Preto - FAMERP, Brazil; ²Fac. of Medicine, State Univ. of Campinas (UNICAMP), Brazil; ³São José do Rio Preto Base Hptal. - HB, Brazil; ⁴Fac. of Medicine, Univ. of Coimbra, Portugal. biomedlucaspoletto@gmail.com

Cholangiocarcinoma (CCA), bile duct neoplasm, is a rare tumor with a low survival rate. Numerous molecular events contribute to carcinogenesis, including microRNAs, responsible for modulating several genes. In this case, the miR-142-3p, which regulates genes involved in angiogenesis, is highlighted. –The objective was to evaluate the expression of miR-142-3p in patients with CCA, lifestyle habits and comorbidities, compared to the control group. Eighty-seven individuals were studied, distributed in a study group (SG): 65 patients with OKC (aged between 30 and 87 y, 51% male); Control Group (CG): 22 individuals without liver disease (aged between 24 and 67 y, 82% female). Tissue RNA was extracted, followed by expression analysis by real-time PCR. Lifestyle habits and comorbidities were obtained through an interview and analysis of medical records. An alpha error of 5% was admitted. The miR-142-3p was reduced in EG? SG? (median=0.4286, minimum=0.002430, maximum=2.934), compared to CG ($p=0.0016$). There was no association of lifestyle habits and comorbidities with miRNA expression. A higher age group was observed in SG (median age=62 y), compared to CG (median age=39 y; $p=0.0001$). Regarding gender, there was an equivalence in SG (male=51%, female=49%) compared to CG, with female prominence (82%; $p=0.0116$). Smoking stood out in SG (SG=45%; CG=9%; $p=0.0022$), which did not occur for alcohol consumption, DM and SAH. The underexpression of miR-142-3p, which acts in the modulation of genes involved in angiogenesis, in patients with CCA, indicates its association with the disease.

National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), Grants: 400988/2016-0 and 301704/2017-1

GGM 9

EVALUACIÓN DEL PAPEL DEL GRUPO 3 DEL C19MC EN SOBREVIDA, MIGRACIÓN E INVASIÓN EN LA LÍNEA CELULAR U87 DE GLIOBLASTOMA

Grajales Urrego D.M.¹, A.F. Aristizabal Pachon². ¹Ciencias, Departamento de Nutrición y Bioquímica, Pontificia Universidad Javeriana, Colombia; ²Facultad de Ciencias, Departamento de Nutrición y Bioquímica, Pontificia Universidad Javeriana, Colombia. digrajales@javeriana.edu.co

El Glioblastoma Multiforme es uno de los tipos más malignos de tumores del sistema nervioso central, a pesar de los avances en el tratamiento, sigue siendo incurable. Esto ha llevado a encontrar nuevas estrategias terapéuticas que contribuyan al control de la progresión de esta enfermedad. Por tanto, los microARNs se han propuesto como una alternativa para el tratamiento del cáncer, debido a su papel en la expresión genética. El clúster de microARNs del cromosoma 19 tiene importancia biológica, al regular diferentes procesos celulares en condiciones fisiológicas y patológicas como el cáncer, donde se ha visto involucrado en procesos de reproducción, diferenciación, migración, proliferación, apoptosis, invasión, entre otros. Por lo tanto el objetivo de nuestra investigación fue evaluar en la línea celular de GBM U87, el papel de los miARNs del grupo 3 del clúster C19MC (miR 512-5p, miR 516a, miR 516b, miR 498) en procesos relacionados con progresión tumoral. La línea celular fue transfectada con cada miARN de forma independiente y se ejecutaron ensayos funcionales de migración, invasión y supervivencia. Entre los resultados más relevantes, identificamos que los miARNs evaluados tuvieron un efecto inhibitorio en la supervivencia celular exceptuando el miR-516a-5p. Adicionalmente, identificamos que el miR-516b-5p presenta una regulación positiva en el proceso de migración celular, mientras que los otros miARNs presentaron un papel inhibitorio en el índice de migración e invasión celular, exceptuando al miR516a-5p. Basado en estos resultados, podemos concluir que los miARNs del clúster C19MC presentan un importante rol en la progresión tumoral del Glioblastoma Multiforme.

Vicerrectoría de investigaciones Pontificia Universidad Javeriana

GGM 10

VARIANTES POLIMÓRFICAS EN PACIENTES COLOMBIANOS CON CÁNCER DE PIEL TIPO MELANOMA EN EL GEN CDKN2A

Tovar-Parra D.¹, L.D. Gutierrez-Castañeda¹, J.A. Nova-Villanueva¹. ¹Grupo de investigación en Dermatología General, Bogotá D.C., Hospital Universitario - Centro Dermatológico Federico Lleras Acosta, Colombia. luzdgutierrezc@dermatologia.gov.co

En la actualidad los factores genéticos juegan un papel importante en la susceptibilidad para el desarrollo del melanoma. Algunas variantes genéticas en el gen *CDKN2A* son las que mayor asociación con melanoma han mostrado. El objetivo de este trabajo fue analizar las variantes *rs104894097* (*p.R24P*), *rs104894095* (*p.M53I*), *rs104894094* (*p.G101W*), *rs104894098* (*p.V126D*), *rs3731249* (*p.A148T*), *rs11515* (*500-3'UTR*) y *rs3088440* (*540-3'UTR*) del gen *CDKN2A* en pacientes con diagnóstico de melanoma cutáneo. Se realizó un estudio de tipo casos y controles, con una relación 1:2. Posteriormente, se extrajo DNA y se realizó genotipificación por medio de PCR-HRM. Como control para análisis de HRM se secuenciaron 20 muestras por Sanger. Se realizó análisis de Chi-Cuadrado (χ^2) en STATA 16®, los datos con significancia estadísticas fueron $p < 0,05$. Se realizaron análisis Odds Ratio con intervalos de confianza del 95%, y análisis de haplotipo por R-Studio (Haplo.Stats versión 1.7.7). Se incluyeron 85 casos y 166 controles pareados por sexo, edad y fototipo. El subtipo de melanoma lentigo maligno fue el más frecuente (37%), seguido del melanoma lentiginoso acral (25%). Ninguna de las variantes genotipificadas en el gen *CDKN2A* presentó asociación con el desarrollo de melanomas. Sin embargo, el análisis de haplotipos mostró que las variantes *p.G101W* y *500-3'UTR* fueron asociadas con el desarrollo de melanoma en hombres con historia familiar de cáncer $p = 0,047$ y $OR = 2,76$ (1,01-7,52), respectivamente. La frecuencia de las siete variantes del gen *CDKN2A* fue entre el 1 al 27% entre casos y controles, las variantes *p.G101W* y *500-3'UTR* mostraron asociación con el desarrollo del melanoma.

Centro Dermatológico Federico Lleras Acosta

GGM 11

WHOLE EXOME SEQUENCING IDENTIFIES A GENETIC VARIANT IN COMPONENT OF EXTRACELLULAR MATRIX THAT MODIFIES THE CARDIOVASCULAR PHENOTYPE IN MARFAN SYNDROME

Jimenez Bejarano Y.¹, J.F. Calderón G.². ¹Facultad de Medicina–Clínica Alemana, Doctorado en Ciencias e Innovación en Medicina, Universidad Del Desarrollo, Chile; ²Facultad de Medicina–Clínica Alemana, Centro de Genética y Genómica, Universidad Del Desarrollo, Chile. yjimenezb@udd.cl

Marfan Syndrome (MFS) is an autosomal dominant condition caused by mutations in the fibrillin-1 (*FBN1*) gene, which encodes an extra-cellular matrix protein. Cardinal features of MFS include, ectopia lentis (EL), musculokeletal features and aortic root aneurysm dilatation and/or dissection. Although aneurysm and dissection of aorta is the main cause of mortality in these patients, clinical course of MFS differs considerably in relation to the age of onset and severity, even between individuals with the same disorder and who share the same causative mutation. This leads us to hypothesize the existence genetic variations elsewhere in other loci that are related to the severity of the cardiovascular phenotype in MFS. The patients were classified in severe phenotype (n=7) and mild phenotype (n=16) according to the age of presentation of the first cardiovascular manifestation and/or accident related to the aorta. We used Whole Exome Sequencing to identify genetic variations that may be associated with the severity of this clinical manifestation and, we perform the analysis using the VAAST software. Our results show that there is a variant in a component of extra-cellular matrix that modifies the cardiovascular phenotype in MFS. We are analyzing at time the mechanism by which this genetic variant could participate in the cardiovascular phenotype severity of these patients.

FONDECYT N°11170353

GGM 12

IDENTIFICACIÓN DE VARIANTES SOMÁTICAS NOVEL Y POSIBLE GERMINAL EN PACIENTES CHILENOS CON CÁNCER COLORRECTAL

Maureira Caviedes I.^{1,2}, E. González¹, J. González¹, O. Barajas^{1,3}, A. Blanco⁴, G. Sepúlveda⁴, L. Oliveira¹, M. Ahumada^{1,3}, I. Gallegos⁵, R. Armisen⁴, K. Marcelain¹. ¹Fac. de Medicina, Depto. de Oncología Básico Clínico, Univ. de Chile, Chile; ²Fac. de Medicina, Depto. de Tecnología Médica, Univ. de Chile, Chile; ³Fac. de Medicina, Depto. de Medicina Interna, Univ. de Chile, Chile; ⁴Instituto de Ciencias e Innovación en Medicina, Centro de Genética y Genómica, Univ. del Desarrollo, Chile; ⁵Fac. de Medicina, Depto. de Anatomía Patológica, Univ. de Chile, Chile. ignaciomaureira@uchile.cl

El cáncer colorrectal (CRC) corresponde a la tercera causa de muerte por cáncer a nivel mundial y en nuestro país. Para mejorar los posibles tratamientos a los pacientes es necesario identificar y caracterizar las diferentes mutaciones en genes biomarcadores de respuesta a terapia, como también de riesgo a la enfermedad. En este trabajo se secuenciaron 161 genes relacionados con cáncer, que se encuentran incluidos en el panel *Oncomine Comprehensive Assay-v3 (ThermoFisher^{MR})* y la plataforma de Next-Generation Sequencing Ion TorrentTM S5, en 40 pacientes chilenos con CRC, del Hospital Clínico de la Universidad de Chile. Se identificaron mutaciones somáticas en 40 pacientes, con mayor frecuencia en los genes: *TP53* (55%), *KRAS* (30%), *ATR* (28%), *ATM* (35%), *POLE* (22%) y *PI3KCA* (22%). En 17 pacientes se identificaron 19 mutaciones no descritas previamente, de las cuales 14 son potencialmente *driver*. En 16 pacientes se identificaron 11 mutaciones clasificadas como posibles germinales en genes como *MSH2*, *BRCA1*, *CCND3* y una mutación posible germinal no descrita previamente en el gen *AR*. Algunas de estas mutaciones se relacionan con predisposición al cáncer. Mutaciones en *CCND3* se identificaron en 11 pacientes, de los cuales ocho presentaron un familiar de primer grado con un cáncer digestivo. El estudiar muestras de pacientes chilenos nos permite identificar y caracterizar mutaciones conocidas y posibles variantes nuevas, de tipo somática y germinal, en nuestra población, en relación con genes biomarcadores de respuesta a terapia y riesgo de enfermedad.

Proyecto FONDEF N° IT16I10051; CORFO International Center of Excellence Program, Grant: 13CEE2–21602

GGM 13

CCR5-Δ32 AND HLA-B*5701 VARIANTS DETECTED IN PERUVIAN PEOPLE LIVING WITH AND WITHOUT HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS (HIV)

Obispo D.^{1,2}, S. Echavarría³, C. Yabar⁴, O. Acosta^{1,2}, S. Espetia⁴, M. Dedios⁵, A. Sanchez⁶, L. Castro⁶, F. Durand¹, E. Mamani³, M.L. Guevara¹, R. Fujita¹. ¹Fac. de Medicina Humana, Centro de Investigación de Genética y Biología Molecular, Univ. de San Martín de Porres, Lima, Perú; ²Fac. de Farmacia y Bioquímica, Grupo de Investigación de Genética, Ómicas, Bioinformática y Desarrollo Computacional, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú; ³Fac. de Ciencias Biológicas, Lab. de Virología Clínica y Molecular, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú; ⁴Lab. de VTS/VIH-SIDA, Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú; ⁵Hptal. Santa Rosa, Lima, Perú; ⁶Asociación Voluntades Lima Norte, Lima, Perú. dobispoa@usmp.pe

Host genetic factors play an important role in HIV infection and antiretroviral drug toxicity. *HLA-B* and *CCR5* genes are genetic markers associated with the susceptibility/resistance to HIV infection. The *HLA-B*5701* allele has been associated with hypersensitivity reaction to abacavir antiviral drug, while *CCR5* gene encodes a protein which acts as a receptor for chemokines. Moreover, *CCR5-Δ32*, a 32-base pair deletion of the coding region, confers infection resistance in homozygous individuals slowing the rate of progression to AIDS in heterozygous. We aimed to detect the *CCR5-Δ32* and *HLA-B*5701* variants in people living with HIV and in HIV-uninfected individuals in Peruvian population. Clinical evaluations and rapid screening control test were done for 100 individuals in the Santa Rosa Hospital and LGBT Voluntades Association in Lima, Peru. Blood samples were taken from 50 disease individuals and 50 people with healthy status, after signing a consent form, which included the completion of a survey related to HIV/AIDS control actions and high-risk behavior factors. DNA was extracted using NucleoSpin Blood Kit following the kit protocol. We analyzed the *CCR5* gene region containing the $\Delta 32$ deletion by PCR using flanking primers, followed by 3% agarose gel electrophoresis and, Sanger Sequencing. *HLA-B*5701* genotyping was performed by real-time PCR using Genvinset HLA-B57 Kit. The preliminary results will be reported, including the standardization and characterization of the *CCR5-Δ32* and *HLA-B*5701* genetic variants. The *CCR5-Δ32* variant was detectable in low frequency in both groups; these findings are consistent with the reported population data. Most Peruvian people living with HIV were *HLA-B*5701* negative.

FONDECYT, Contrato N° 012-2019

GGM 14

VALIDATION OF POOLED TESTING FOR SARS-CoV-2 USING DROPLET DIGITAL PCR

Pacini A.¹, N. Adrianil, S.B. Heckel¹, F. Paredes¹, M. Perez¹, M.V. Petreli¹, P. Metzler¹, J. Sesma^{1,2}. ¹Biología Molecular, Hospital Provincial de Rosario, Argentina; ²FCM-UNR, IDICER, CONICET, Argentina. anto.pacini@live.com.ar

The outbreak of COVID-19 has spread around the world and become a public health emergency. Viral nucleic acid detection by reverse transcription PCR (RT-PCR) is the gold standard method for diagnosis of COVID-19. Droplet digital PCR (ddPCR) is a highly sensitive PCR technology based on the generation of 20,000 nanodrops per tube. This technology is rarely used in clinical laboratories, due to its higher cost when compared with PCR. As the use of pooled testing greatly reduces the costs, we proposed to use ddPCR to detect SARS-CoV-2 of pooled samples. A negative test result indicates that all individuals in the pool are negative while a positive result indicates that at least one individual within the pool is positive. Pooled testing may be particularly useful to communities with low prevalence of COVID-19. For example, detection in the bubbles of workplaces, schools and sport competitions would allow to isolate a positive bubble and stop the widespread of the virus in that community. In the present work, we validated the use of pooled testing by combining up to 34 samples per pool. In order to do it, we determined the specificity (we measured 100 negatives pools), the limit of detection (three independent octuplicates of the greatest dilution that it is positive) and the robustness of the method (the ability to withstand small but deliberate variations in method parameters by performing 20 repetitions changing the order of pooling and purification; and by measuring RNAs obtained using different extraction method: magnetic beads, columns and heat).

Proyecto de convenio SF 06 COVID Federal EX-2020-39070239- APNDDYGD#MECCYT; MINCYT, Facultad de Ciencias Médicas, UNR; CONICET.

GGM 15

ABUNDANCE OF VARIANTS OF UNCERTAIN SIGNIFICANCE (VUS) FOUND USING MULTI-GENE PANELS IN PERUVIAN PATIENTS WITH HEREDITARY BREAST CANCER

Paredes-Moscosso S.R.¹, J.L. Buleje¹, C. Villegas-Llerena¹, M. Dueñas-Roque², V.G. Chávez-Pasco², A. Prötzel-Pinedo², R. Fujita¹, M.L. Guevara-Fujita¹. ¹Instituto de Investigación, Facultad de Medicina Humana, Universidad de San Martín de Porres, Perú; ²Servicio de Genética, Hptal. Nacional Edgardo Rebagliati Martins, Perú. sparedesm@usmp.pe

Breast cancer is the most common malignancy in women worldwide and the second in Peru. Up to 10% of all cases are hereditary, the majority of which corresponds to causal mutations in *BRCA1/2*. The introduction of multi-gene tests by massive parallel sequencing (NGS) has allowed the identification of variants in other genes. Therefore, the aim of this project was to interrogate? find? relevant genes using a panel of hereditary cancer genes in Peruvian patients with hereditary breast cancer. To this end, blood samples were taken from patients recruited by the Genetics Department - Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins, and selected according to the National Comprehensive Cancer Network (NCCN, USA) criteria. We used the Illumina TruSight Cancer panel to analyse 94 genes and 284 SNPs associated with cancer predisposition. Data was evaluated using Illumina's BaseSpace Variant Interpreter software, focusing on 20 genes proposed by the NCCN for hereditary breast and ovarian cancer. We found that, apart from *BRCA1/2*, *MLH1* and *CDH1* exhibited most of the pathogenic variants (17%), *MSH6* showed likely pathogenic mutations (3%); whilst approximately 80% of variants were classified as VUS. Hence, this study raises the question if there is a potential overlap with Lynch syndrome within our cohort. In addition, our findings underlie the importance of the identification, modelling and interpretation of VUS within underrepresented populations such as Peruvian cohorts. As a whole, this study warrants further investigation of the genetic makeup of Peruvian patients with hereditary cancer.

Universidad de San Martín de Porres, Lima, Perú

GGM 16

CARACTERIZACIÓN CLÍNICA Y MOLECULAR EN PACIENTES CON DELECCIONES Y DUPLICACIONES ATÍPICAS EN LA REGIÓN 22Q11.2

Pérez M.M.¹, M.E. Foncuberta¹, G. Zelaya², A.I. Gómez¹, L.P. Gravina¹, M.G. Obregon³. ¹Lab. de Biología Molecular, Servicio de Genética, Hptal. de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina; ²Lab. de Citogenética, Servicio de Genética, Hptal. de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina; ³Servicio de Genética, Hptal. de Pediatría Garrahan, CABA, Argentina. mercedesperez_17@hotmail.com

La región 22q11.2 es rica en secuencias repetitivas en tándem (LCR), siendo susceptible a rearrreglos cromosómicos que dan origen a síndromes de microdelección (22q11.2SD) y microduplicación 22q11.2. La mayoría de las delecciones/duplicaciones ocurren entre los puntos de ruptura LCRA-LCRD abarcando una región de 3Mb. Sin embargo, un grupo minoritario presenta delecciones o duplicaciones atípicas que difieren en tamaño y/o posición. Los objetivos de este trabajo fueron, describir la frecuencia de los subtipos de alteraciones atípicas 22q11.2 y caracterizar fenotípicamente los niños con dichas alteraciones. De una cohorte de 361 pacientes con alteraciones de 22q11.2, 119 propósitos fueron estudiados por MLPA (P250, MRC-Holland). Se realizó una revisión retrospectiva de las historias clínicas de los pacientes con alteraciones atípicas. Algunos de ellos requirieron análisis por FISH y *array-CGH* para una mejor caracterización cromosómica. De los 119 pacientes, 106 presentaron la delección común de 3Mb y una duplicación recíproca de 3Mb, y 12 pacientes (10%) presentaron alteraciones atípicas (nueve delecciones, dos duplicaciones y una delección/duplicación); en dos de los doce casos se observaron rearrreglos cromosómicos. Mediana de edad al diagnóstico: seis meses. Los pacientes con alteraciones atípicas mostraron rasgos clínicos que se solapan en parte con 22q11.2SD, incluyendo las dismorfias, malformaciones cardíacas y anomalías del paladar. La frecuencia de alteraciones atípicas encontrada en nuestra cohorte es similar a las reportadas previamente en la bibliografía. El espectro fenotípico de las alteraciones comunes LCRA-LCRD es variable, sin embargo podemos observar que las principales características clínicas del síndrome se encuentran también presentes en los pacientes con alteraciones atípicas.

GGM 17

SÍNDROME DE AU-KLINE: PACIENTE CON MICRODELECCIÓN EN 9Q21.32Q21.33 DETERMINADA POR HIBRIDACIÓN GENÓMICA COMPARADA MEDIANTE ARRAY (A-CGH)

Rodríguez F.G.I.¹, G. Zelaya^{1,2}, A. Moresco³, J.M. Daroqui¹, M.V. López, E.M. Baialardo¹, V. Huckstadt³, M.E. Foncuberta^{2,4}, C. Alonso⁵. ¹Laboratorio de Citogenética, Servicio de Genética, Hptal. de Pediatría Garrahan, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; ²Lab. de array-CGH, Unidad de Genómica, Hptal. de Pediatría Garrahan, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; ³Área Clínica, Servicio de Genética, Hptal de Pediatría Garrahan, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; ⁴Lab. de Biología Molecular, Hptal. de Pediatría Garrahan, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; ⁵Unidad de Genómica, Hptal. de Pediatría Garrahan, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. rodfgi@gmail.com

El síndrome de Au-Kline (AKS OMIM 616580) es causado por la haploinsuficiencia del gen *HNRNPK* que codifica para la ribonucleoproteína K, siendo al día de hoy la mayoría de los casos por variantes puntuales en este gen. En la bibliografía se han descrito pocos pacientes con microdeleciones que abarcan el gen y se presentan como síndrome de AKS. El síndrome se caracteriza por presentar malformaciones múltiples, discapacidad intelectual (DI), retraso global del desarrollo (RGD), hipotonía y anomalías genitourinarias. Se presenta un paciente que contribuye a delinear el fenotipo de AKS en base a la microdelección en 9q21.32 detectada por a-CGH y la revisión de la literatura publicada. Paciente de sexo masculino de tres años de edad, consulto por retraso madurativo, RGD, criptorquidia bilateral, poliquistosis renal, quiste branquial y dismorfias que orientaban a la sospecha clínica de síndrome de Kabuki-like, también conocido como AKS? KS?. Se realizó estudio citogenético por bandeado GTW Normal: 46,XY[20]. El a-CGH mostró una deleción de aproximadamente 3,84 Mb, en el brazo largo del cromosoma 9, [GRCh37/hg19] 9q21.32q21.33 (85295971x2,85348781_89190207x1,89250911x2). Dicha región involucra al gen *HNRNPK*. El fenotipo y la microdelección que presenta este paciente apoyan la necesidad de considerar esta entidad como diagnóstico diferencial del Síndrome de Kabuki que es más frecuente. La técnica utilizada para el diagnóstico etiológico de este paciente permitió identificar con certeza la etiología del cuadro y realizar un asesoramiento genético adecuado.

GGM 18

MODELAMIENTO CON CRISPR/CAS9 DE “VARIANTES DE SIGNIFICADO INCIERTO” DEL GEN *BRCA1* IDENTIFICADAS EN PACIENTES PERUANAS CON CÁNCER DE MAMA

Sanchez Macedo R.¹, C. Villegas-Llerena¹, J. De León¹, J.L. Buleje¹, O. Acosta Conchucos¹, M.L. Guevara-Fujita¹, R. Fujita¹, S.R. Paredes-Moscoso¹. ¹Instituto de Investigación, Facultad de Medicina Humana, Universidad de San Martín de Porres, Perú. rodrigo.sanchez@ombquality.com

La implementación de las nuevas tecnologías *Next-Generation Sequencing* (NGS), plantea nuevos retos. Entre ellos, distinguir las variantes genéticas con impacto o significancia clínica para los pacientes. Dichas variantes no siempre son mutaciones del tipo *nonsense* o *missense*, y se les denomina variantes de significado incierto (*Variants of Uncertain Significance*, VUS). En un estudio previo, nuestro centro de investigación (CIGBM) identificó seis nuevas VUS en el gen *BRCA1* en 18 familias peruanas. De ellas, la variante intrónica c.5074+28T>A fue encontrada en siete familias con cáncer hereditario de mama y ovario; y puede ser considerada como potencialmente patogénica, según análisis *in silico* de eventos de empalme (ESEfinder). El objetivo del estudio fue modelar, con la técnica CRISPR/Cas9, la VUS c.5074+28T>A en líneas celulares de tejido mamario sano (SVCT) y de cáncer de mama (MDA-MB-231). Los cultivos celulares libres de *Mycoplasma* fueron transfectados por electroporación con los complejos ribonucleoproteicos, Cas9 y gRNA. Se han generado clones genéticamente modificados que están siendo caracterizados por secuenciación Sanger en la región de interés y otras para descartar efectos *off-target*. Asimismo, se evaluarán los efectos de esta variante en los sitios de empalme del ARN mediante ensayos de RNA-splicing. Una vez modelada, el efecto de esta variante podrá ser evaluado a través de estudios funcionales. Los resultados obtenidos sirven como data preliminar para desarrollar una plataforma de modelamiento con CRISPR/Cas9 y el estudio de VUS en pacientes peruanas con cáncer de mama.

Universidad de San Martín de Porres, Lima, Perú

GGM 19

THE ROLE OF *NRF2* IN THE MODULATION OF FERROPTOSIS IN TEMOZOLOMIDE-RESISTANT CELLS

Souza I.¹, M. Andrade-Tomaz¹, L.K. Seregni Monteiro¹, C. Banca Guedes¹, M. Molina Silva², B. Felício Milazzotto Maldonado Porchia², M. Teatin Latancia², M. Lazarini³, L. Rodrigues Gomes⁴, C. Ribeiro Reily Rocha¹. ¹Dept.f Clinical and Experimental Oncology, Federal Univ. of São Paulo (UNIFESP), Brazil; ²Institute of Biomedical Science, Univ. of São Paulo (USP), Brazil; ³Dept. of Pharmaceutical Sciences, Federal Univ. of São Paulo (UNIFESP), Brazil; ⁴Cell Cycle Lab., Butantan Institute, Brazil. izadora.souza@unifesp.br

Glioblastoma patients tend to have a poor prognosis with a median survival rate of only 14.6 months mainly due to temozolomide (TMZ) resistance. *NRF2* is an important transcript factor involved in chemotherapy resistance due to its ability to regulate genes related to antioxidant response and to prevent cell death processes such as ferroptosis, an iron-dependent cell death recently described. Thus, this study aimed to analyze how *NRF2* modulates ferroptosis in glioblastoma. It was analyzed two human glioblastoma cell lines (U251MG and T98G) after treatment with TMZ and ferroptosis inducers, and it was performed gene expression analysis of glioma patients from the GlioVis portal. Our results demonstrated that T98G compared to U251MG was more resistant to chemotherapy and showed elevated levels of *NRF2* expression. Interestingly, T98G revealed higher sensitivity to ferroptosis. In the *NRF2*-silenced T98G cell line (T98G-sh*NRF2*) there was a significant viability reduction after TMZ treatment. On the other hand, T98G-sh*NRF2* was resistant to ferroptosis, indicating that *NRF2* plays a key role in the modulation of TMZ resistance and ferroptosis induction. Furthermore, it was observed that *NRF2* has a positive correlation with its target genes associated with ferroptosis induction such as *ABCC1* and *HMOX1* in glioma patients, which are related to higher tumor aggressiveness and poor overall survival. In general, our data indicate that high levels of *NRF2* may result in collateral sensitivity on glioblastoma through the expression of its pro-ferroptotic targets. Thus, combinatorial treatment between TMZ and ferroptosis inducers may be an important therapeutic strategy to reverse drug resistance.

FAPESP (Process 2019/26268-6; 2019/21745-0)

GGM 20

IDENTIFICACIÓN DE NUEVAS VARIANTES SOMÁTICAS Y POSIBLES GERMINALES EN TUMORES DE PACIENTES CON CÁNCER GÁSTRICO

Toro J.¹, E. González¹, A. Blanco², G. Sepúlveda², I. Gallegos^{1,3}, R. Armisen^{1,2}, K. Marcelain¹. ¹Facultad de Medicina, Departamento de Oncología Básico Clínico, Universidad de Chile, Chile; ²Fac. Medicina, Centro Genética y Genómica. Instituto de Ciencias e Innovación en Medicina, Univ. del Desarrollo, Chile; ³Fac. de Medicina, Depto. de Anatomía Patológica, Univ. de Chile, Chile. jessica.toro@gmail.com

En Chile, el cáncer gástrico (CG) constituye una de las principales causas de muerte por cáncer. En este escenario, la detección de mutaciones en genes biomarcadores de respuesta a tratamiento y/o a riesgo de la enfermedad se hace crítica. En este trabajo se secuenciaron muestras de CG de 50 pacientes del Hospital Clínico de la Universidad de Chile. Se realizó secuenciación dirigida en 161 genes del cáncer, usando el panel *OncoPrint Comprehensive Assay-v3* (*ThermoFisher*^{MR}) y la plataforma de Next-Generation Sequencing Ion TorrentTM S5. 40 de 50 pacientes presentaron mutaciones somáticas: *TP53* (38%), *ATM* (20%), *ARID1A* (18%), *NOTCH1* (14%), *POLE* (14%) y *PIK3CA* (12%), encontrándose mutaciones en genes biomarcadores de respuesta a drogas: *BRCA2*, *KIT*, *KRAS*, *PTCH1*, *TSC1* y *TSC2*. En 22 pacientes se detectaron mutaciones somáticas noveles, en 12 de ellos con mutaciones potencialmente conductoras o *drivers*. En ocho pacientes se encontraron mutaciones posiblemente germinales que presentan un alto índice de deleteridad ($CADD \geq 25$) en genes como *MSH6*, *POLE* y *TSC2*. Estas mutaciones han sido descritas en síndromes hereditarios con predisposición al cáncer. Interesantemente, cuatro de estos pacientes presentan antecedentes de cáncer en familiares de primer grado. El análisis de mutaciones en muestras tumorales permite identificar mutaciones nuevas y conocidas predictoras de la respuesta a terapias en CG, así como variantes que podrían asociarse a un mayor riesgo de la enfermedad.

FONDEF N° IT16I10051; CORFO International Center of Excellence Program, Grant # 13CEE2-21602

GGM 21

SÍNDROME DE DELECCIÓN DE GENES CONTIGUOS *TSC2/PKD1* CARACTERIZADO MEDIANTE ARRAY CGH

Zelaya G.^{1,2}, M.E. Foncuberta^{2,3}, C. Alonso⁴, M. Bonetto^{3,5}, A. Tardivo⁶, A. Moresco⁶. ¹Lab. de Citogenética, Servicio de Genética, Hptal. de Pediatría Garrahan, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; ²Lab. de array-CGH, Unidad de Genómica, Hptal. de Pediatría Garrahan, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; ³Lab. de Biología Molecular, Servicio de Genética, Hptal. de Pediatría Garrahan, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; ⁴Unidad de Genómica, Hptal. de Pediatría Garrahan, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; ⁵Lab. de extracción centralizada de ácidos nucleicos, Hptal. de Pediatría Garrahan, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; ⁶Área Clínica, Servicio de Genética, Hptal. de Pediatría Garrahan, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. gabyzelaya1@gmail.com

El síndrome de delección de genes contiguos *TSC2/PKD1* (OMIM#600273) es una entidad poco frecuente que implica una delección parcial en el cromosoma 16p13.3. Se caracteriza por una enfermedad renal poliquística grave de inicio temprano con diversas manifestaciones de esclerosis tuberosa (angiomiolipomas múltiples, linfangioleiomiomatosis y calcificaciones periventriculares del sistema nervioso central). El objetivo de este trabajo es presentar un paciente con sospecha clínica de síndrome de genes contiguos *TSC2/PKD1* confirmado mediante la técnica de *array CGH*. Se trata de un niño de seis años de edad con diagnóstico clínico de esclerosis tuberosa (ET) y compromiso renal severo desde los cuatro meses (presencia de múltiples quistes, pérdida de la diferenciación corticomedular y marcado adelgazamiento del parénquima renal), que lo condujo a insuficiencia renal temprana. Se realizó la técnica de *array CGH* sobre la plataforma SurePrint G3 ISCA V2 CGH 8x60k, que evidenció una delección en mosaico de aproximadamente 570kb en el brazo corto del cromosoma 16: arr[GRCh37] 16p13.3(2117076_2174541x1~2) involucrado parcialmente los genes *TSC2* y *PKD1*. Aproximadamente el 80% de los pacientes con complejo esclerosis tuberosa presentan compromiso renal, con angiomiolipomas seguidos de enfermedad quística. La presencia temprana de riñones agrandados y poliquísticos en pacientes con criterios de ET sugiere fuertemente la indicación de estudios genéticos específicos para detectar la delección de genes contiguos. Resaltamos la utilidad de la técnica de *array CGH* para confirmar la sospecha diagnóstica en este paciente. Es importante el seguimiento del paciente ante futuras complicaciones asociadas a este síndrome.

GGM 22

INTRINSIC SUBTYPES AND ANDROGEN RECEPTOR GENE EXPRESSION IN PRIMARY BREAST CANCER. A META-ANALYSIS

Rangel N.¹, P. Cruz-Tapias², M. Rondon-Lagos², V. Villegas³. ¹Ciencias, Nutrición y Bioquímica, Pontificia Univ. Javeriana - PUJ, Colombia; ²Ciencias, Escuela de Ciencias Biológicas, Univ. Pedagógica y Tecnológica de Colombia - UPTC, Colombia; ³Ciencias Naturales, Centro de Investigaciones en Microbiología y Biotecnología-UR (CIMBIUR), Univ. del Rosario-UR, Colombia. rangeljne@javeriana.edu.co

The androgen receptor (AR) is frequently expressed in breast cancer (BC), but its association with clinical and biological parameters of BC patients remains unclear. Here, we investigated the clinical significance of AR gene expression according to intrinsic BC subtypes by meta-analysis of large-scale transcriptomic datasets. Available microarray datasets related to BC were downloaded from the GEO repository in NCBI until August 2020. Finally, sixty-two datasets including 10,315 BC patients were used. For association analyses of AR with clinical and biological features, standardized mean difference (SMD) with 95% confidence interval (CI) was used as a summary statistic, because all the studies measured the same outcome but at different scales. Interestingly, AR mRNA level was significantly increased in patients categorized with less aggressive intrinsic molecular subtypes, including Luminal A compared to Basal-like (SMD:2.12; CI:1.88-2.35; $p < 0.001$) or Luminal B compared to Basal-like (SMD:1.53; CI:1.33-1.72; $p < 0.001$). The same trend was observed when analyses were performed using immunohistochemistry-based surrogate subtypes. Consistently, the AR mRNA expression was higher in patients with low histological grade ($p < 0.001$). Furthermore, our data revealed higher levels of AR mRNA in breast cancer patients expressing either estrogen and progesterone receptors ($p < 0.001$). Together, our findings indicate that high mRNA levels of AR are associated with breast cancer subgroups having a better prognosis.

Univ. Pedagógica y Tecnológica de Colombia; Univ. del Rosario; Ministry of Science, Technology and Innovation, Colombia

GGM 23

ASIGNATURA GENÉTICA DE LAS HISTONAS METILTRANSFERASAS Y SU IMPLICANCIA EN CÁNCER DE HÍGADO: UN ENFOQUE COMPUTACIONAL

D'Afonseca V.¹, M. Salazar-Viedma¹, T.I. Aravena Vásquez².
¹Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Maule, Universidad Católica del Maule, Chile; ²Escuela de Ingeniería en Biotecnología, Universidad Católica del Maule. vdfonseca@ucm.cl

El hepatocarcinoma (HCC) es el tumor hepático primario más frecuente y su incidencia y tasa de mortalidad se encuentran en claro aumento. En 2018, en Chile, el hepatocarcinoma fue el décimo cáncer más frecuente representando el 3,22% del total de cáncer, con 1.582 nuevos casos. En diversos tipos de cánceres, una clase de proteínas llamadas histonas metiltransferasas (HMT) están alteradas. La desregulación de estas enzimas lleva a efectos epigenéticos aberrantes, lo que podría provocar tumorigénesis. Aquí, realizamos un análisis computacional de 50 genes que codifican las HMTs en 366 muestras de cáncer de hígado de repositorios públicos, y encontramos vínculos intrínsecos entre las alteraciones del número de copias génicas y las mutaciones somáticas con la supervivencia de pacientes. A través del análisis integrador, identificamos trece genes HMTs (*ASH1L*, *EHMT2*, *KMT2B*, *KMT2C*, *KMT2D*, *KMT5B*, *NSD3*, *PRDM14*, *PRDM16*, *SETD2*, *SETDB1*, *SMYD2*, *SMYD3*) con mayor alteración genética, sea alteración en el número de copias génicas o alteraciones somáticas, que podrían desempeñar un papel clave en el desarrollo y la progresión del cáncer de hígado. De estos trece HMTs, *ASH1L*, *KMT2B*, *KMT2C*, *KMT2D* y *SETD2* presentaron más alta tasa de mutación en el cáncer de hígado. En los análisis de supervivencia, las HMTs *KMT2D*, *SETDB1* y *NSD3* alteradas disminuyeron significativamente la chance del paciente supervivir, en contraste con las muestras cuyas HMTs nos estaban alteradas. Nuestros análisis traen como resultado posibles dianas terapéuticas, proporcionando una base para futuras investigaciones que utilizan HMTs como blanco para tratar el cáncer de hígado.

GGM 24

EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE miRNA-145 CIRCULANTE EN PLASMA DE MUJERES PERUANAS Y ANÁLISIS *IN SILICO* EN CÁNCER.

Motta Pardo A.^{1,2}, O. Acosta Conchucos^{1,2}, J. Buleje Sono², A. Murillo Carrasco², R. Fujita Alarcon², P. Danos Diaz², M.L. Guevara Gil², A. Salazar Eusebio¹. ¹Facultad de Farmacia y Bioquímica, GENOBIDC, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú; ²Facultad de Medicina Humana, Centro de Investigación de Genética y Biología Molecular, Universidad San Martín de Porres, Perú. anglo.motta@gmail.com

Los miRNAs son pequeñas secuencias no codificantes que regulan la expresión génica a nivel post-transcripcional en diversos procesos biológicos. Diversos estudios han reportado bajos niveles de expresión del miRNA-145 en plasma asociado a cáncer, describiéndolo como supresor tumoral. El objetivo fue evaluar los niveles del miRNA-145 circulante en plasma de mujeres peruanas y analizar *in silico* su impacto metabólico en cáncer. Un total de 30 muestras de plasma de mujeres residentes en Lima, entre 20 y 67 años, con diagnóstico negativo para cáncer entre los años 2016 y 2018 en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN) y Oncosalud, fueron analizadas utilizando dos ensayos con fluorescentes VIC y FAM para la cuantificación de los valores del control exógeno Cel-miR-39 y de miRNA-145 respectivamente, en una plataforma de amplificación basada en chips (sistema PCR digital 3D QuantStudio). Los niveles de miRNA-145 circulante en plasma, en este grupo de mujeres peruanas, fueron mayores que los valores reportados en otros estudios en cáncer de mama. En el análisis *in silico* se identificaron 35 transcritos diana, los cuales pertenecen a la ruta de señalización y metabólicas asociadas a la variación de los niveles de miRNA-145 en cáncer de mama y ovario, con gran impacto en el metabolismo de la glucosa y glutamina, específicamente sobre las enzimas hexoquinasa 2 (HK2) y glutaminasa (GLS). De esta manera se aporta al conocimiento de los factores epigenéticos en cáncer y en el contexto de la medicina personalizada en el Perú.

Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Vicerrectorado de Investigación y Postgrado. Programa de Promoción de Tesis de Pregrado, Proyecto A17040824A

GGM 25

ANÁLISIS COMPUTACIONAL DE LAS ALTERACIONES GENÉTICAS DE GENES QUE CODIFICAN LAS HISTONAS METILTRANSFERASAS EN CÁNCER DE ESTÓMAGO

Salazar Viedma M.¹, V. D'Afonseca¹, D.A. Reyes². ¹Vicerrectoría de Investigación y Posgrado, Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Maule, Universidad Católica del Maule, Chile; ²Fac. de Ciencias Agrarias y Forestales, Univ. Católica del Maule, Chile. marcelaloretosalazar@gmail.com

El cáncer de estómago (CG) es uno de los más frecuentes en del mundo. El adenocarcinoma de estómago es un tumor heterogéneo, por lo que resulta complejo el pronóstico y manejo clínico de los pacientes. Las pruebas para diagnosticar CG se han desarrollado utilizando conocimientos basados en polimorfismos, alteración del número de copias somáticas (SCNA) y metilación aberrante de histonas. Las histonas metiltransferasas (HMT) son proteínas responsables de la metilación de residuos de aminoácidos específicos en las histonas. Aquí, se evaluó *in silico* las alteraciones en el número de copias, mutaciones somáticas y el nivel de expresión de genes que codifican 50 histonas metiltransferasas en muestras de adenocarcinoma de estómago. Para el estudio, fueron analizados datos de 440 muestras de repositorios públicos. Como resultado, se identificaron los diez genes de HMTs más alterados (tasas por sobre el 30%) en muestras de adenocarcinoma de estómago, que son: *PRDM14*, *PRDM9*, *SUV39H2*, *NSD2*, *SMYD5*, *SETDB1*, *PRDM12*, *Genes SUV39H1*, *NSD3* y *EHMT2*. El gen *EHMT2* se encuentra entre los HMT más mutados y amplificados dentro del conjunto de datos estudiado. *NSD3* mostró cambios en su nivel de expresión de ARNm dependiendo del tipo de SCNA. Finalmente, la expresión del gen *SUV39H2* disminuyó en pacientes con recidiva/progresión del tumor. Varias histonas metiltransferasas están alteradas en diversos cánceres. Es importante la generación de un atlas genético de alteraciones de genes relacionados con el cáncer para mejorar la comprensión de los eventos de tumorigénesis y proponer novedosas herramientas de diagnóstico y pronóstico para el control del cáncer.

GGM 26

GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDY AND POLYGENIC RISK SCORES OF SERUM DHEAS LEVELS IN A CHILEAN CHILDREN COHORT

Miranda Marín J.P.^{1,2}, M.C. Lardone³, F. Rodríguez³, J.L. Santos¹, C. Corvalán⁴, A. Pereira⁴, V. Mericq³. ¹Nutrición, Diabetes y Metabolismo, Medicina, Pontificia Univ. Católica de Chile, Chile; ²Advanced Center for Chronic Diseases (ACCDiS), Pontificia Univ. Católica de Chile and Univ. de Chile, Chile; ³Instituto de Investigaciones Materno-Infantil (IDIMI), Medicina, Univ. de Chile, Chile; ⁴Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Medicina, Univ. de Chile, Chile. jose.miranda@uc.cl

Adrenarche is a developmental process resulting from the activation of the zona reticularis of the adrenal gland leading to an increase in the production of the adrenal androgens (e.g., DHEA/DHEAS). We hypothesized that the study of the genetic determinants associated with variation in serum DHEAS during adrenarche, may detect genetic variants influencing the rate or timing of this process. Genome-wide genotyping was performed in participants of the cChilean pediatric GOCS cohort (n=788). The effect of sexual dimorphism at the genome-wide level and in targeted genes associated with steroidogenesis was also evaluated. Variants associated with DHEAS concentration during adrenarche were used to develop a polygenic risk score for the onset of age at pubarche, in children from this same cohort. In the full cohort, one significant variant was identified at the genome-wide level, close to the *GALR1* gene ($p=3.81 \times 10^{-8}$). In addition, variants suggestive of association ($p < 1 \times 10^{-5}$) were observed in *PRLR* and *PITX1*. Stratifying by sex, we found variants suggestive of association in *SERBP1* for boys and in *ZNF98* and *SULT2A1* for girls. Significant reductions in the age at pubarche, in both boys and girls, were found in those children with higher polygenic risk scores, based on these newly identified variants for greater DHEAS during adrenarche. Our results disclose several gene variants that are associated with DHEAS concentration at adrenarche, and which differ from the genes associated with DHEAS concentration in adults. These gene variants may be involved in the genetic regulation of adrenarche.

FONDECYT 1120326, 1190346, 1140447, 1150416

Animales / Animals

GGM 27

DETECCIÓN DE NUMT_s EN EL GENOMA DE LA ALPACA (*Vicugna pacos*)

Anello M., F. Di Rocco¹. ¹Laboratorio de Genética Molecular, Instituto Multidisciplinario de Biología Celular (IMBICE), CONICET-UNLP-CIC, Argentina. melianello@gmail.com

Los NUMTs son copias de ADN de origen mitocondrial que fueron transferidas al núcleo. Exhiben diferentes grados de homología con sus contrapartes mitocondriales, presentando tamaño, distribución y características variables. El análisis involuntario de NUMTs como secuencias del mitogenoma puede conducir a conclusiones erróneas en reconstrucciones filogenéticas, estudios poblacionales o forenses. El objetivo de este trabajo es identificar y caracterizar los NUMT_s presentes en el genoma de la Alpaca (*Vicugna pacos*). Para ello, el genoma de referencia (VicPac3) fue alineado con el mitogenoma (AJ566364.1) usando ocho estrategias de búsqueda de homología con la herramienta BLAST. La estrategia que proporcionó mayor cantidad de secuencias homólogas fue el programa BLASTN con parámetros match/mismatch/gap_opening_cost/gap_extensión_cost: 1/-1/4/1 y como secuencia de consulta dos copias concatenadas del mitogenoma linealizado. Se encontraron 267 secuencias con homología (hits) que representaron en total 233.411 pb alineadas en el genoma nuclear. El tamaño medio de los hits fue 874 pb y todo el mitogenoma estuvo representado, siendo los genes *12S*, *16S*, *NADH1*, *NADH4L*, *Cox-i* y la región d-loop los más frecuentes. Estos 267 hits correspondieron a 159 NUMTs distribuidos en 32 de los 36 pares de cromosomas de la alpaca. Entre ellos se destacan un NUMT del cromosoma 29 que presentó 11.977 pb continuas con 80,2% de identidad y otro fragmentado del cromosoma 4 con 13.977 pb, los cuales representan el 72% y 83% del mitogenoma respectivamente. Los resultados de este trabajo servirán para evitar la co-amplificación de NUMTs y tendrán aplicación en estudios evolutivos en los camélidos.

GGM 28

IDENTIFICACIÓN DE MARCADORES MOLECULARES ASOCIADOS AL SEXO EN CONGRIO COLORADO (*Gnyptherus chilensis*) MEDIANTE GBS

Cordova Alarcon V.^{1,2,3}, N. Lam^{1,2}, P. Magnolfi⁴, C. Araneda^{1,2}. ¹Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile, Departamento de Producción Animal, Food Quality Research Center, Chile; ²Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile, Departamento de Producción Animal, Laboratorio de Genética y Biotecnología en Acuicultura, Chile; ³Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile, Departamento de Producción Animal, Programa Colaborativo Doctorado en Acuicultura, Chile; ⁴ Colorado Chile S.A., Coquimbo, Región de Coquimbo, Chile. valentina.cordova@ug.uchile.cl

Congrio colorado (*Gnyptherus chilensis*) es una especie prioritaria para la diversificación de la acuicultura en Chile, que presenta un importante dimorfismo sexual en edad adulta, siendo las hembras un 30% más grandes que los machos. Sin embargo, la imposibilidad de sexar los individuos durante el desarrollo temprano dificulta el estudio de los rasgos productivos asociados al sexo y su manejo en acuicultura. A medida que el cultivo de esta especie escala a una producción comercial, el desarrollo de herramientas genómicas que permitan un adecuado manejo del plantel se vuelve fundamental para lograr una producción sostenible. Con el objetivo de identificar marcadores genéticos que permitan el sexaje temprano, en este trabajo se identificaron SNPs y secuencias específicas asociadas al sexo fenotípico de la especie. A partir de 6.225 SNPs obtenidos por *Genotyping By Sequencing* (GBS) y 22 individuos sexados (10 machos, 12 hembras), se estudió el nivel de diferenciación genética (F_{ST}), las diferencias en profundidad de secuenciación, heterocigosidad y la presencia/ausencia de marcadores moleculares, entre sexos. En total, se identificaron 195 SNPs asociados al sexo y cuatro secuencias macho-específicas. Utilizando 46 SNPs identificados por al menos dos aproximaciones y el método de asignación bayesiano de Rannala, se obtuvo un 85% de asignación correcta al sexo fenotípico. Los marcadores moleculares identificados en este estudio pueden ser aplicados en la predicción del sexo de juveniles de congrio colorado para el manejo de los planteles y mejora de la productividad acuícola mediante la generación de planteles monosexo hembra.

CONICYT (ANID) N° 21160532; PAI T7818110003; 15PTEC-4781; Canadian Research Chaire in Genomics and Conservation of Aquatic Resources

GGM 29

EVALUANDO EL EFECTO DE LA CONTAMINACIÓN CON GENES CITOCROMO p450: ¿TEJIDO Y/O TIPO DE FAMILIA?

Cortés-Miranda J.¹, D. Véliz¹, C. Vega-Retter¹. ¹Facultad de Ciencias, Departamento de Ciencias Ecológicas, Universidad de Chile, Chile. jorge.cortes.m@ug.uchile.cl

La contaminación es un problema a escala global y es particularmente relevante en aguas continentales, debido a que gran parte de las actividades humanas se desarrollan en torno a éstas. Los organismos que habitan ambientes contaminados han desarrollado respuestas adaptativas y plásticas producto de estas condiciones. En este contexto, las familias de genes citocromo p450 (*CYP*) son muy importantes, y pueden codificar proteínas que metabolizan tanto compuestos endógenos como exógenos, siendo estos últimos los más estudiados en contexto de contaminación, aunque ambos han mostrado cambio en su expresión en estas condiciones. La cuenca del Río Maipo en Chile es una de las más afectadas por la contaminación de origen doméstico y agrícola. En esta cuenca habita el pejerrey endémico *Basilichthys microlepidotus*, en el cual se han detectado respuestas adaptativas y plásticas a la contaminación. El objetivo del presente estudio fue determinar expresión diferencial (a partir de datos de RNA-seq) de genes endógenos y exógenos de *CYP* en hígado y branquias de *B. microlepidotus* en condiciones de contaminación en la cuenca del Río Maipo. Se observó que los genes *CYP* de familias relacionadas con compuestos endógenos se expresan diferencialmente en el hígado, mientras que los de familias relacionadas con compuestos exógenos se expresan diferencialmente en las branquias. Nuestros resultados nos indican que al momento de monitorear los efectos de la contaminación con genes *CYP* es necesario tener en cuenta el órgano y también el tipo de familia a la cual el gen pertenece.

FONDECYT 11150213

GGM 30

AVPR2 VARIATION AND PLATYRRHINI ADAPTIVE RADIATION

Fam B.¹, P. Vargas-Pinilla^{1,2}, P. Paré¹, R. Maestri³, T. Falótico⁴, M.C. Bortolini¹. ¹Bioscience Institute, Department of Genetics, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.; ²Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, Departamento de Bioquímica e Imunologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil.; ³Bioscience Institute, Department of Ecology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.; ⁴School of Arts, Sciences and Humanities, University of São Paulo, São Paulo, SP, Brazil. bibiana.so@gmail.com

New World primates (Platyrrhini) have experimented an adaptive radiation since they arrived to the American continent at approximately 40 Ma, occupying diversified ecological niches and environments. AVPR2 receptor is expressed in kidneys and modulates water homeostasis. We evaluated the variability of *AVPR2* coding region in 78 primate species, including original data from 38 Platyrrhini species. We used the PAML 4.9 package to estimate the evolutionary rates. Our analysis revealed that the receptor has a high evolutionary rate ($\omega=2.57072$, $p=0.0008$) with one site, at position 190 of AVPR2, with a high probability of being under positive selection (BEB=0.99). Prediction of short linear motifs indicated different distribution patterns of SH3 binding motifs in the N-terminal domain of AVPR2, indicating a possible difference in signaling recognition and affinity pattern in this receptor. We used the multivariate Phylogenetic Generalized Least Squares (PGLS) analysis to test if the residues in AVPR2 orthologues, located at critical functional sites, were correlated with 19 bioclimatic variables, considering the regions where the primate species investigated inhabit. We found some correlations, for instance, between the position 4 (threonine>alanine) and precipitation of the warmest quarter period of the year, while the change at 761 position (valine > isoleucine) of AVPR2 is correlated with climatic seasonality. Isoleucine residue is found in Cebidae species that inhabit dry regions. These results, as a whole, indicate that AVPR2 modifications may have contributed to the osmotic balance maintenance, favoring the occupation of different environments throughout the primate's evolutionary history.

CNPq- Conselho nacional de Pesquisa e Desenvolvimento

GGM 31

IDENTIFICACIÓN DE LOS GENES VITELOGENINA Y 3-HIDROXI-3-METILGLUTARIL COA SINTASA EN EL VECTOR DEL HLB *Diaphorina citri* (HEMIPTERA: PSYLLIDAE)

Fioravante C.A., N.A. Macsemchuk¹, S.L. Litwiński¹, M.M. Miretti¹, M.J. Blariza¹. ¹UNaM-CONICET, Grupo de Investigación de Genética Aplicada, Instituto de Biología Subtropical (IBS), Argentina. agustinafioravante@gmail.com

Diaphorina citri es el principal vector de la enfermedad de Huanglongbing (HLB) en América. Hasta el momento la enfermedad no tiene cura, por lo que las plantas afectadas deben erradicarse. Por ello, resulta de interés iniciar en esta especie el estudio de genes vinculados a la reproducción como el que codifica para vitelogenina (Vg) y 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA sintasa (HMG-CoAS) a efectos de aportar bases que podrían orientar en el futuro el desarrollo de nuevas estrategias de control. Con este propósito, se extrajo ARN total de hembras y machos adultos de *D. citri*. Se amplificaron y secuenciaron fragmentos de ADN copia (ADNc) correspondiente a los genes *Vg* y *HMG-CoAS* en adultos de ambos sexos. Se obtuvo un segmento de 508 pb correspondientes al gen *HMG-CoAS* y otro de 3.194 pb de la porción N-terminal del gen *Vg*. El análisis de las secuencias de aminoácidos deducidos a partir de las secuencias nucleotídicas de ADNc de *Vg* permitió localizar un sitio de clivaje altamente conservado en el extremo N-terminal, RXXR. Este sitio se encuentra flaqueado por dos regiones poliserinas, las cuales corresponden a sitios de fosforilación imprescindibles para la interacción entre *Vg* y su receptor. Asimismo, se identificaron potenciales sitios de fosforilación en *HMG-CoAS*. Por otra parte, el análisis comparativo de las secuencias de aminoácidos de otras especies de Hemípteros reveló un porcentaje de aproximadamente 50% de identidad con *D. citri* para ambos genes. Este estudio constituye el primer análisis de los genes *Vg* y *HMG-CoAS* en el insecto vector del HLB.

FONCYT - PICT-2018-02022

GGM 32

IDENTIFICACIÓN DE ARN LARGOS NO CODIFICANTES INVOLUCRADOS EN LA PIGMENTACIÓN DEL PÁRPADO DE GANADO HEREFORD

Jara Tellechea E., F. Peñagaricano², E. Armstrong¹, C. Menezes³, L. Tardiz¹, G. Rodons¹, A. Iriarte⁴. ¹Facultad de Veterinaria, Unidad de Genética y Mejora Animal, Departamento de Producción Animal, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay; ²University of Wisconsin-Madison, Department of Animal and Dairy Sciences, University of Wisconsin-Madison, Madison, USA; ³Facultad de Veterinaria, Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo Animal, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay; ⁴Facultad de Medicina, Laboratorio de Biología Computacional, Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Instituto de Higiene, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. eugeniojara19@gmail.com

Varias patologías oculares, como el cáncer de ojo y la queratoconjuntivitis infecciosa bovina, se han asociado con una reducida pigmentación en párpados. El objetivo de este estudio fue analizar el transcriptoma de la piel del párpado pigmentado *versus* el no pigmentado en ganado Hereford focalizando en la identificación de ARN largos no codificantes (*lncRNA*) posiblemente asociados a la pigmentación. Los *reads* se asignaron y ensamblaron utilizando como referencia al genoma de bovino, ARS-UCD1.2 (*TopHat/Cufflinks*). Los *lncRNAs* se identificaron filtrando los transcritos que presentan el código de clase "=", "e", "p" y "c", con menos de dos exones, niveles de expresión bajos y menos de 200 pb. Se exploraron las bases de datos ALDB y NONCODE para identificar transcritos no codificantes ya reportados (*BLASTn*). Se estimó el potencial de codificación (*CPC2*, *CPAT* y *PLEK*). Se identificaron los genes expresados diferencialmente (ED) ($p \leq 0,05$ y $|\log_2FC| \geq 1,5$) (*DESeq2*). Se analizaron las asociaciones en *trans* de los *lncRNAs* ED con genes codificantes de proteínas ED (p -valor $\leq 0,01$ y $|\log_2FC| \geq 1$) utilizando la complementariedad de secuencia (*LncTar*) y se estimó la correlación en la co-expresión. En total se predijeron 4.937 novel *lncRNAs* enriqueciendo el catálogo de *lncRNA*. Se identificaron 27 *lncRNAs* ED, sugiriendo que podrían desempeñar un papel en el fenotipo de pigmentación del párpado. Finalmente, se encontró que los genes diana de los *lncRNAs* ED están vinculados a la respuesta inmune y la pigmentación. Este trabajo contribuye a una mejor comprensión de la biología de la pigmentación del párpado.

Comisión Sectorial de Investigación Científica, UdelaR, Uruguay

GGM 33

EARLY-LIFE NUTRITION INTERACTS WITH DEVELOPMENTAL GENES TO SHAPE THE BRAIN AND SLEEP BEHAVIOR IN *Drosophila melanogaster*

Núñez Villegas F.D.^{1,2}, G. Olivares Heranez^{1,2}, N. Candia^{1,2}, K. Oróstica³, F. Vega-Macaya^{1,2}, N. Zúñiga^{1,2}, C. Molina¹, T. Mackay⁴, R. Verdugo^{1,5}, P. Olguin Aguilera^{1,2}. ¹Facultad de Medicina, Program of Human Genetics, Universidad de Chile, Chile; ²Facultad de Medicina, Department of Neuroscience, Universidad de Chile, Chile; ³Biotechnology and Materials, Department of Chemical Engineering, Universidad de Chile; ⁴Center for Human Genetics, Clemson University, USA; ⁵Facultad de Medicina, Department of Translational Oncology, Universidad de Chile, Chile. fnunezvillegas@gmail.com

Prenatal severe malnutrition increases the risk of suffering neurodegenerative dementias and psychiatric diseases, which are strongly associated with sleep disorders and neurodevelopmental defects. The mechanisms by which the genotype interacts with nutrition during development to contribute to brain morphology and sleep behavior variation are not well understood. To identify genes and pathways underlying this interaction in sleep behavior and brain morphology, we use the *Drosophila* Genetic Reference Panel, a collection of 205 sequenced isogenic lines representing the genetic variation of a natural population, allowing the association between genotype and phenotype. Using genome-wide association studies (GWAS), we identified genes associated with sleep sensitivity to early-life nutrition, from which protein networks responsible for translation, endocytosis regulation, ubiquitination, lipid metabolism, and neural development emerge. Knockdown of candidate gene expression in neurons and mushroom bodies, confirmed that genes regulating translation, neural development and insulin signaling in mushroom bodies contribute to the variable response to early-life nutrition. Interestingly, decreased expression of the same gene in all neurons or specific neuronal populations may have opposite effects on sleep behavior and brain morphology in response to nutritional restriction in early life. These data suggest that the contribution of genotype by early-life nutrition interaction to sleep behavior variation depends on the subset of neurons or neural progenitors where the genetic variants affect gene expression. We propose that natural variation in genes that control the development and function of the brain interact with early-life malnutrition to contribute to variation of adult sleep behavior.

ANILLO ACT-14,01; ICM P09015F, BNI

GGM 34

CHARACTERIZATION OF THE GENETIC PROGRAM USED IN THE REGENERATION OF PAIRED FIN IN *Polypterus senegalus* Cuvier

Tavares Uchôa Guimarães C¹, L. Neiva Perez¹, J.F. Sousa¹, G. Oliveira², I. Schneider¹. ¹Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Brazil; ²Instituto Tecnológico Vale, Brazil. camilauchoaiguimaraes@gmail.com

The ability to regenerate damaged or lost body parts is a characteristic that varies widely among phyla in the animal kingdom, especially in the vertebrates. Among vertebrates, the fish of the species *Polypterus senegalus* represents a promising model for studies of the regeneration mechanisms of vertebrate appendages, due to their high capacity to regenerate paired fins. However, few studies have attempted to uncover the shared and distinct molecular events of ray and endoskeleton fin regeneration in juvenile *Polypterus*. Thus, this study aims to identify the genetic program used in the regeneration of paired fins in juvenile *Polypterus*. The RNA sequencing was performed using Nextseq 500/550 platform (Illumina), frobiological triplicates (n=6) of the pectoral fin rays and endoskeleton. The assembly of the transcriptome was achieved using Trinity and differential expression analysis was performed using CLC Bio Genomics Workbench. Library sequencing resulted in approximately 48 million reads, with 78% valid reads from the raw data. The assembly generated 157,198 contigs with an average size of 413 bp and 20,208 N50 contigs with 1,907 bp. 652 upregulated genes and 1,119 downregulated genes were identified during fin ray regeneration in the juvenile *Polypterus*. Despite 90.9% of similarity among transcripts in the regeneration of fin rays and fin endoskeleton, the profile of gene expression varied considerably between the two regenerative genetic programs. The data obtained suggest that the regeneration of fin rays and fin endoskeleton each present unique aspects, with distinct genetic programs that allow successful regeneration in these fin compartments.

CAPES, CNPQ

GGM 35

ESTUDIO DE ASOCIACIÓN DE GENOMA COMPLETO PARA UN ENSAYO DE LONGEVIDAD ESPERMÁTICA EN TOROS

Teran E.M.¹, R. Morales², A. Molina², S. Demyda-Peyrás³.

¹Facultad de Ciencias Veterinarias-UNLP, CONICET, Instituto de Genética Veterinaria 'Ing. Fernando Noel Dulout', Argentina; ²Departamento de Genética, Universidad de Córdoba, España; ³Facultad de Ciencias Veterinarias, Departamento de Producción Animal, Universidad Nacional de La Plata, Argentina. esterteran24@gmail.com

La fertilidad de los toros está determinada, entre otras causas, por la potencialidad de sus espermatozoides de moverse progresivamente hasta alcanzar el ovocito. Actualmente, esta capacidad se evalúa objetivamente mediante sistemas de análisis espermático asistido por computadora (CASA). Por otro lado, la disponibilidad de tecnologías que mapean el genoma permiten conocer qué regiones están involucradas en la determinación del carácter, permitiendo asociar variantes específicas con fenotipos. Nuestro objetivo fue explorar vías biológicas o genes candidatos asociados con la motilidad y progresividad espermática a través del tiempo en el bovino. Para ello se analizaron la motilidad espermática total (MT) y progresiva (MP) de muestras seminales de 53 toros de la raza Retinta incubadas durante cinco horas utilizando un equipo CASA. El modelo lineal mixto de análisis incluyó el tiempo y dosis como factores fijos y los individuos como aleatorio. Las soluciones de cada animal fueron utilizadas como fenotipos para realizar un estudio de asociación de genoma completo con 364.859 SNPs por individuo obtenidos mediante SNP-array, implementado en el software GCTA. Las regiones candidatas (p -valor ajustado $< 0,01$) fueron posteriormente estudiadas mediante anotación funcional en la plataforma PANTHER. Se encontraron 216 y 107 SNPs significativos en MT y MP respectivamente. Aunque no se hallaron vías biológicas significativamente enriquecidas, se encontraron 14 genes anteriormente reportados relacionados con motilidad y espermatogénesis en ambos caracteres incluyendo los genes *TTL9* y *CCIN*. Nuestro estudio ha detectado por primera vez la existencia de regiones genómicas específicas involucradas en la supervivencia y progresividad espermática en bovinos.

FONCYT, PICT-2016-4832; Beca Doctoral Interna CONICET

GGM 36

¿QUÉ FUNCIONES PODRÍA ESTAR CUMPLIENDO EL GENOMA NO CODIFICANTE EXPRESADO DURANTE LA ESPERMATOGÉNESIS DEL RATÓN?

Trovero M.F.^{1,2}, R. Rodríguez Casuriaga², M. François², C. Romeo³, F. Santiñaque⁴, G. Folle⁴, R. Benavente⁵, J. Sotelo Silveira^{3,6}, A. Geisinger^{2,7}.
¹Departamento de Genética, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Uruguay; ²Laboratorio de Biología Molecular de la Reproducción, Departamento de Biología Molecular, IIBCE, Uruguay; ³Departamento de Genómica, IIBCE, Uruguay; ⁴Servicio de Citometría de flujo y Clasificación Celular, IIBCE, Uruguay; ⁵Biocentro, Departamento de Biología Celular y del Desarrollo, Universidad de Würzburg, Alemania; ⁶Facultad de Ciencias (FCien), Departamento de Biología Celular y Molecular, Universidad de la República (UdelaR), Uruguay; ⁷FCien, Sección Bioquímica y Biología Molecular, UdelaR, Uruguay. mafertro@gmail.com

Alrededor del 70% del genoma es transcrito, pero solamente un 2-5% del mismo es traducido a proteínas. Por mucho tiempo se consideró este porcentaje de genoma no codificante como “basura transcripcional”. Recientemente comenzaron a identificarse funciones muy importantes para estos transcritos, principalmente regulatorias, en diversos procesos biológicos y mecanismos celulares, así como relacionadas a diferentes patologías. El objetivo de nuestro trabajo consistió en dilucidar las posibles funciones a nivel molecular que dichos transcritos, especialmente los ARNs no codificantes largos (*lncRNAs*), podrían cumplir durante el proceso espermatogénico.

Partiendo del ARN extraído de distintas poblaciones celulares de la espermatogénesis del ratón purificadas mediante citometría de flujo, construimos y secuenciamos librerías direccionales. Del análisis de los datos derivaron listas de *lncRNAs* diferencialmente expresados, de las cuales se seleccionaron algunos candidatos para estudiar su localización sub-celular mediante hibridación *in situ*. Los estudios de co-expresión muestran una altísima correlación para los *lncRNAs* antisentido y sus ARNs mensajeros solapantes, y una correlación que aumenta a medida que la distancia entre *lncRNAs* intergénicos y sus mensajeros vecinos disminuye. Además, todos los *lncRNAs* seleccionados muestran una señal en el cuerpo cromatoide (CC), un organelo sin membrana típico de espermátidas, cuyo rol se vincularía a la regulación postranscripcional. Curiosamente, para uno de estos *lncRNAs* se estudió también la localización de su mensajero antisentido y se vio que ambos tienen señal co-localizada en el CC. Esto podría ser un indicio de un posible mecanismo de regulación entre *lncRNAs* y mensajeros, por ejemplo, de secuestro y direccionamiento del mensajero al CC.

Proyecto FCE-ANII (Uruguay). Proyecto CSIC Grupos I+D (UdelaR-Uruguay). PEDECIBA (Uruguay).

GGM 37

INTESTINAL TRANSCRIPTOME ANALYSIS REVEALS ENRICHMENT OF GENES ASSOCIATED WITH IMMUNE AND LIPID MECHANISMS, FAVORING SOYBEAN MEAL TOLERANCE IN HIGH-GROWTH ZEBRAFISH

Ulloa P.E.^{1,2}, L. Valenzuela³, S. Pacheco⁴, G. Rincón⁵, L. Pavez¹, N. Lam², A.J. Hernández⁶, P. Dantagnan⁶, F. Gonzalez¹, F. Jilberto², C. Araneda².
¹Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, Núcleo de Investigaciones Aplicadas en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Universidad de Las Américas, Chile; ²Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Producción Animal, Universidad de Chile, Chile; ³Omics Lab, Santiago 8320164, Chile; ⁴Programa de Doctorado en Inmunología y Microbiología, Universidad San Sebastián, Chile; ⁵Zoetis, VMRD Genetics R&D, Estados Unidos; ⁶Facultad de Recursos Naturales, Departamento de Ciencias Agropecuarias y Acuícolas, Universidad Católica de Temuco, Chile. pilar.ulloa@udla.cl

The molecular mechanisms underlying fish tolerance to a diet with high content of soybean meal (SBM) remain unclear. Identifying these mechanisms would be beneficial, as this trait favors growth. This study compared the intestinal transcriptomes of zebrafish with higher (HG) and lower (LG) growth rates on a SBM-based diet supplemented with saponin. Two fish replicates from 19 experimental families were fed fishmeal-based (100FM) or SBM-based diets supplemented with saponin (50SBM+2SPN), from juvenile to adult stages. Individuals were selected from families with a genotype-by-environment interaction higher (HG- 50SBM+2SPN, 170±18 mg) or lower (LG- 50SBM+2SPN, 76±10 mg) weight gain on 50SBM+2SPN for intestinal transcriptomic analysis. A histological evaluation confirmed middle intestinal inflammation in the LG- vs. HG- 50SBM+2SPN group. A total of 665 genes were differentially expressed (DEGs) by growth phenotype. According to the enrichment analysis, genes were associated with immunity and lipid metabolism processes. Genes linked to intestinal immune mechanisms (*mpx*, *cxc3.2*, *cftr*, *irg1l*, *itln2*, *sgk1*, *nup61l*, *il22*) were downregulated in HG fish, likely dampening inflammatory responses. Conversely, genes involved in retinol signaling pathways (*rbp4*, *stra6*, *nr2f5*) were upregulated, potentially favoring growth by suppressing insulin responses. Finally, genes associated with lipid metabolism were upregulated, including genes regulating key components of the SREBP pathways (*mbtps1*, *elov5l*, *elov6l*) and cholesterol catabolism (*cyp46*, *cyp27* and *cyp7*). These results strongly suggest that transcriptomic changes in lipid metabolism mediated SBM tolerance. Genotypic variations in DEGs may become biomarkers for improving early selection of fish tolerant to a SBM diet.

FONDECYT 11170847

GGM 38

TRANSCRIPTÓMICA COMPARADA EN EL CHORITO CHILENO (*Mytilus chilensis*): PERFILES DE EXPRESIÓN DEL GENOMA COMPLETO Y MITOCONDRIAL ENTRE TEJIDOS Y LOCALIDADES

Yévenes M.^{1,2}, G. Núñez-Acuña³, C. Gallardo-Escárate³, G. Gajardo². ¹Programa de Doctorado en Ciencias, mención Conservación y Manejo de Recursos Naturales, Vicerrectoría de Investigación y Postgrado, Universidad de Los Lagos, Chile; ²Laboratorio de Genética, Acuicultura y Biodiversidad, Departamento de Ciencias Biológicas y Biodiversidad, Universidad de Los Lagos, Chile; ³Laboratorio de Biotecnología y Genómica Acuícola, Centro Interdisciplinario para la Investigación en Acuicultura, Universidad de Concepción, Chile. marco.yevenes@ulagos.cl

El estudio del funcionamiento de los genomas de los individuos en sus hábitats nativos es relevante porque ayuda a predecir cómo responderían al cambio climático o traslocaciones de hábitat impulsadas por el ser humano. Así, los estudios transcriptómicos son una valiosa herramienta para hacer una evaluación de la expresión génica subyacente a las respuestas de los individuos a sus condiciones ecológicas locales. Este estudio comparó transcriptomas totales y mitocondriales (RNA-Seq) del bivalvo chileno *Mytilus chilensis*, ensamblados a partir de branquias y mantos de individuos de dos localidades ecológicamente diferentes, Cochamó (41° S) y Yaldad (43° S), muy impactadas por la mitilicultura debido a su uso como bancos de semillas. Los resultados mostraron que las diferencias, entre tejidos y localidades, pueden ser explicadas por 1.716 transcritos expresados diferencialmente ($fold\ change \geq |100|$, Bonferroni $p\text{-valor} \leq 0,05$), mayormente anotados para genes involucrados con el metabolismo, procesamiento de información ambiental y procesos celulares. Los genes mitocondriales también se expresaron diferencialmente, con alto número de transcritos anotados para el gen *ND4* en el manto de individuos de Yaldad y con ausencia de transcritos para *ND6* y *ATP8* en ambas localidades. Los resultados permiten concluir que existen diferencias tejido y localidad-específicas en expresión génica de estos individuos, tanto de genomas completos como mitocondriales, dando cuenta del potencial de respuesta a condiciones ambientales locales. Estos transcriptomas aportan con marcadores genómicos funcionales útiles para estudiar el potencial evolutivo de *M. chilensis* y para ser considerados en planes de manejo sustentables y conciliadores con el mantenimiento de sus diferencias locales.

Becas de Doctorado y Finalización de Tesis, U. Los Lagos; proyectos FIC-BIP30423060 y FONDAP #15110027.

GGM 39

SISTEMAS DE IDENTIFICACIÓN GENÉTICA DE SEXO EN MUESTRAS BIOLÓGICAS DE *Tapirus terrestris*

Ferreyra A.M.^{1,2}, K. E. De Matteo, K.E.^{2,3}, C. F. Argüelles C.F.^{1,2}.

¹Universidad Nacional de Misiones, Departamento de Genética, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales (FCEQyN), Posadas, Misiones, Argentina;

²Instituto de Biología Subtropical (IBS) – Nodo Posadas (UNaM – CONICET), Grupo de Investigación en Genética Aplicada (GIGA), Posadas, Misiones, Argentina; ³Washington University in Saint Louis, Department of Biology & Environmental Studies, St. Louis, MO, USA. analiaferreyra0@gmail.com

Las pruebas genéticas más utilizadas para la identificación sexual en mamíferos se basan en la amplificación del gen *SRY*. No obstante, en ciertas muestras biológicas (*e.g.*, heces), múltiples factores pueden provocar una ausencia de amplificación del fragmento del gen conllevando a errores en la asignación del sexo (*e.g.*, presencia de ADN degradado, inhibidores de la PCR). Para eludir esta limitación, complementamos la amplificación del gen *SRY* con amplificaciones adicionales, no específicas de sexo, utilizando el gen mitocondrial de *ARNr 12s* y los genes nucleares *ZFX/ZFY*. El objetivo del trabajo fue generar un sistema genético de sexado preciso que pueda ser aplicado a muestras de ADN obtenidas a partir de heces de individuos de *Tapirus terrestris* silvestres. Los ensayos fueron realizados a partir de ADN obtenido de tejido cadavérico proveniente de un ejemplar de tapir macho, atropellado en ruta, y de saliva obtenida de un tapir hembra mantenida en cautiverio. Se realizaron reacciones de PCR múltiple, amplificando de manera simultánea las dos regiones génicas de interés (*SRY-ZFX* con *ZFY* y *SRY* con *ARNr 12s*). El rendimiento de las amplificaciones fue verificado en geles de agarosa al 2,5%. Los tres sistemas de amplificación mostraron una eficiencia del 100%, permitiendo confirmar el sexo en todas las muestras y mostrando doble banda para el macho versus simple banda (ausencia de amplificación del *SRY*) para la hembra. Estos sistemas serán utilizados en la determinación del sexo de individuos silvestres de *T. terrestris* genotipificados a partir de ADN obtenido de heces.

Conservation, Food, & Health Foundation; Eppley Foundation for Research; Little Rock Zoo Foundation; Beca de UNaM a AMF

Plantas / Plants

GGM 40

A COMPLETELY PHASED DIPLOID GENOME ASSEMBLY FOR ‘MALBEC’ CULTIVAR (*Vitis vinifera* L.)

Calderón L., Carbonell-Bejerano P.², Mauri N.³, Muñoz C.⁴, Bree L.⁵, Sola C.⁵, Bergamin D.⁵, Gomez-Talquenca S.⁶, Ibañez J.³, Martínez-Zapater J.M.³, Weigel D.², Lijavetzky D.¹. ¹Instituto de Biología Agrícola de Mendoza (CONICET-UNCuyo), Mendoza, Argentina; ²Max Planck Institute for Developmental Biology, Tübingen, Alemania; ³Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (CSIC), Logroño, La Rioja, España; ⁴Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina; ⁵Vivero Mercier Argentina, Mendoza, Argentina; ⁶Plant Virology Laboratory (EEA Mendoza-INTA), Mendoza, Argentina. lucianocalderon@yahoo.com.ar

Most grapevine cultivars originated from the outcrossing of two genetically diverse parents, and are clonally propagated to preserve phenotypes of productive interest. Hence, cultivars are first filial generations (F1) with highly heterozygous diploid genomes, that turn challenging to assemble. ‘Malbec’ is the main cultivar for the Argentine wine industry and it originated in France, from the outcrossing of ‘Magdeleine Noir des Charentes’ and ‘Prunelard’ cultivars. Based on that mother-father-offspring relationship, here we followed the algorithm implemented in the software CanuTrio to produce a phased assembly of ‘Malbec’ genome. For this aim, parental cultivars’ Illumina short-reads were used to sort ‘Malbec’ PacBio long-reads into its haploid complements, to be assembled separately. Post-assembly, bioinformatic procedures were employed to reduce the number of duplicated regions and perform sequence error corrections (using ‘Malbec’ Illumina short-reads). We obtained two highly complete and contiguous haploid assemblies for ‘Malbec’, Haplotype-Prunelard (482.4 Mb size; contig N50=7.7 Mb) and Haplotype-Magdeleine (479.4 Mb size; contig N50=6.6 Mb), with 96.1 and 95.8% of BUSCO genes, respectively. We tested for the composition of both haplophases with the tool Merqury, and observed <0.13% of haplotype switches, meaning that ‘Malbec’ genomic information was correctly assigned to each haploid assembly. Finally, a variant calling analysis indicated a great diversity between ‘Malbec’ haplophases, with >15% of both assemblies affected by structural variations, along with 3.2 million SNPs and 0.6 million InDels. Our results indicate that this is a valid approach to assemble highly heterozygous and complex diploid genomes in a completely-phased way.

FONCyT - PICT 2018-0281; vWISE (MCSA-RISE), COST action CA17111, Max Planck Core funding Weigel Lab, MCSA-IF 797460.

GGM 41

ENSAMBLADO DEL GENOMA DE *Paspalum umbrosum* COMO REFERENCIA PARA ESTUDIOS COMPARATIVOS Y MEJORAMIENTO EN GRAMÍNEAS FORRAJERAS DEL GRUPO DILATATA

Gaiero P.¹, Monteverde E.¹, Vaio M.¹, Speranza P.¹. ¹Facultad de Agronomía, Departamento de Biología Vegetal, Universidad de la República, Uruguay. pgaiero@fagro.edu.uy

Paspalum dilatatum Poir., una gramínea forrajera de alto potencial, es un pentaploide complejo, de reproducción apomítica. Perteneció al grupo Dilatata que incluye cinco especies alotetraploides sexuales que en conjunto representan un considerable acervo genético. Con el objetivo de desarrollar herramientas genéticas para apoyar futuros programas de hibridación y retrocruza, se requiere un genoma de referencia. *P. umbrosum* Trin. es una especie diploide cuyo genoma es homólogo de uno de los genomas del complejo. A diferencia de la mayoría de las especies del género, es autocompatible, lo que permite obtener materiales homocigotos para facilitar el ensamblado. Luego de seis generaciones de endocria, se extrajo ADN de hoja fresca de *P. umbrosum* para su secuenciación en PacBio Sequel II en modo CCS, obteniéndose una cobertura de 45x de lecturas largas y precisas (*HiFi reads*). Las lecturas se ensamblaron con Canu y abarcan 83% del genoma (660 Mpb), con N50 11,3 Mpb, incluyendo en total 1.610 *contigs*, con dos grandes *contigs* de 35 Mpb cada uno. El genoma tiene 46,55% de GC y el espacio génico está representado en un 95%. Se cuenta con 65x de lecturas cortas de Illumina HiSeq3000 que permitirán cerrar brechas en los *scaffolds*. Este ensamblado servirá de referencia para mejorar la búsqueda de SNPs para construir un mapa genético y de QTL en RILs a partir de híbridos interespecíficos entre las especies aloploides sexuales. A largo plazo, servirá de referencia para determinar el grado de colinearidad de los genomas de las especies alotetraploides del complejo.

Proyecto Grupos de I+D “Desarrollo de herramientas moleculares para el mejoramiento de *Paspalum dilatatum*”. CSIC Universidad de la República, Uruguay.

GGM 42

OPTIMIZACIÓN DEL MUESTREO PARA EL ANÁLISIS DE LA ESTRUCTURA POBLACIONAL DE *Bromus auleticus* CON METODOLOGÍAS GENÓMICAS

Gillman L.¹, F. Condón², C. Petrolí³, M. Rivas⁴. ¹CURE, Sistemas Agrarios y Paisajes Culturales, Universidad de la República, Uruguay; ²Mejoramiento de Plantas Forrajeras, Recursos genéticos, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Uruguay; ³Programa de Recursos Genéticos, Centro Internacional de mejoramiento de Maíz y Trigo; ⁴Facultad de Agronomía, Biología Vegetal, Universidad de la República, Uruguay. lucianagillman@gmail.com

El muestreo es un paso crítico en el diseño de investigaciones de genómica de poblaciones; entre las cuestiones a considerar se encuentran: el tamaño muestral y la utilización de *pooles*. En este trabajo se utilizó la gramínea forrajera autóctona no modelo *Bromus auleticus* con los siguientes objetivos: determinar el número mínimo de plantas a muestrear para el cálculo de parámetros poblacionales y validar los *pooles* como metodología para determinar frecuencias alélicas. Para ambos objetivos se muestrearon 20, 30, 40, 50 y 60 individuos de cinco accesiones secuenciadas con DArT-SeqTM. Para el primer objetivo se calcularon parámetros poblacionales a partir de datos individuales. Para el segundo objetivo se secuenciaron *pooles* y se compararon sus frecuencias alélicas con las obtenidas con las secuencias individuales utilizando el coeficiente de correlación de concordancia (ccc). Para el primer objetivo los resultados muestran que A, H₀ y H_E presentan una tendencia general leve a aumentar a medida que se incrementa el número de plantas muestreadas, y en general el *ranking* entre accesiones se mantiene. El F_{ST} y los análisis de AMOVA arrojaron resultados similares para los diferentes tamaños muestrales. Por tanto, para los parámetros calculados las diferencias obtenidas a lo largo de los tamaños muestrales no serían sustanciales. Se continuará con los análisis para determinar significancia y otros parámetros poblacionales. Para el segundo objetivo, los resultados muestran un ccc cercano a 0.9 para varias de las duplas *pooles*/individuos. Por consiguiente, los *pooles* son una alternativa a considerar, pero se evaluará aumentar la profundidad de secuencia.

ANII, INIA, CURE- UdelaR.

GGM 43

ANÁLISIS GENÓMICO DE LAS COPIAS DEL GEN *FLOWERING LOCUS T* EN SÉSAMO Y SUS EXPRESIONES DURANTE LA FLORACIÓN

López M.¹, Iehisa J.C.M.¹. ¹Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Biotecnología, Universidad Nacional de Asunción, Paraguay. jcmiehisa@qui.una.py

El sésamo (*Sesamum indicum* L.) es uno de los cultivos con importancia socio-económica debido a que constituye una fuente de ingreso para agricultores familiares. El acortamiento del tiempo de floración podría evitar la exposición de los cultivos a condiciones ambientales desfavorables y a patógenos. Por lo tanto, el estudio de la floración y los mecanismos implicados en la variación del tiempo de floración son importantes para aumentar el rendimiento. En un estudio previo hemos identificado la presencia de cuatro copias de genes similares a *FLOWERING LOCUS T (FT)* en el genoma del sésamo, un importante regulador de la floración. Con el objetivo de conocer su origen evolutivo y sus probables funciones, se realizó la comparación de bloques genómicos (que incluyen 10 genes corriente arriba de *SiFTLs* y 10 genes corriente abajo) del sésamo y especies filogenéticamente cercanas como *Mimulus guttatus*, olivo (*Olea europea*) y tomate (*Solanum lycopersicum*). El bloque genómico que contiene a *SiFTL1* presentó un alto grado de conservación con el de las tres especies sugiriendo que es la copia ancestral. *SiFTL4* probablemente se originó en el ancestro común de sésamo y *Mimulus*. *SiFTL2* y *SiFTL3* se encuentran contiguos en el mismo cromosoma indicando que una de ellas se originó mediante la duplicación en tándem, encontrándose estas copias de *FT* solamente en el sésamo. El análisis de expresión de estos genes durante la floración sugiere que *SiFTL1* y *SiFTL2* actúan en forma redundante como inductores de la floración, mientras que *SiFTL3* y *SiFTL4* presentaron expresión nula y baja respectivamente.

GGM 44

ADVANCES IN PLANT AND ANIMAL GENETIC IMPROVEMENT USING THE CRISPR-CAS 9 TECHNIQUE

Kandus M.V.^{1,2,3}, Lima N.S.⁴, González Plá F.⁵, Michel Fariña J.J.⁶, Almorza Gomar D.⁷, Prada Oliveira A.⁸, Salerno J.C.^{1,2,3}. ¹INTA, CICVyA, Instituto de Genética, Argentina; ²Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, USAL; ³ESIICA, UM, Argentina; ⁴UBA-CONICET, Argentina; ⁵Facultad de Psicología, UBACyT, Argentina; ⁶UBA-CONICET-UM, Argentina; ⁷Facultad de Ciencias del Trabajo, Universidad de Cádiz; ⁸Facultad de Medicina (Departamento de Anatomía Humana Embriología), Universidad de Cádiz, España. kandus.mariana@inta.gob.ar

CRISPR-Cas9 gene editing systems have started a biotechnological revolution in different fields ranging from medicine to plant and animal breeding. They are being used extensively due to their simplicity, low cost and versatility, however, there are restrictions regarding the negative effects of the technique (such as “off targets”), and the ignorance of the complex relationships between genes and environment. In relation to plant improvement, advances were obtained in yield (rice, wheat), in quality and nutritional value (rice, corn, wheat, soybeans, bastard sesame, rapeseed, lettuce, tomato, potato, cassava), resistance to biotic factors (wheat, tomato, rice, cucumber, cotton, tobacco, *Citrus* sp.), resistance to abiotic factors: water deficit (rice, corn), soil toxicity, nutritional deficiencies (rice) and, resistance to herbicides (soybean, corn, wheat, rice, watermelon, flax and cassava). In addition, male-sterile (rice and wheat), haploid (corn and rice), self-compatible (potato) and short-cycle (rice) plants were obtained. In animal improvement, advances include the improvement of productive and quality traits (sheep, goats, pigs, cattle), greater resistance and speed in equines, resistance to diseases (pigs, cattle), the improvement of animal welfare and the control of pest species (genetic drive). Other applications include the use of animal models to study human diseases. The bibliographic review carried out provides an idea of the ethical, social, political, environmental, biosafety and public health aspects that must be taken into account for the application of this technology, setting a future challenge that requires a multidisciplinary approach.

Proyecto DC/18 N° 80020190100017UM, INTA-USAL.

GGM 45

CARACTERIZACIÓN Y DINÁMICA EVOLUTIVA DE SECUENCIAS REPETIDAS EN ESPECIES DE LA SECCIÓN *ARACHIS* (GÉNERO *ARACHIS*, LEGUMINOSAE)

Samoluk S.S.¹, Vaio M.², Chalup L.¹, Robledo G.¹, Seijo G.¹.
¹Instituto de Botánica del Nordeste (UNNE-CONICET), Argentina; ²Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Uruguay. samocarp31@gmail.com

Las especies de *Arachis* se caracterizan por una elevada diversidad genómica y cariotípica, principalmente determinada por cambios cualitativos y cuantitativos en la eu- y heterocromatina. Sin embargo, poco se conoce acerca de los cambios globales en la fracción repetitiva que condujeron a dicha diversidad en este género. En este trabajo, se realizó un análisis comparativo de la fracción repetitiva de ADN en especies diploides, con $2n=20$, pertenecientes a diferentes genomas de la sección *Arachis* a partir de datos de secuenciación genómica de baja cobertura. En todas las especies analizadas, la fracción repetitiva de ADN constituye aproximadamente el 70% del genoma. Las especies pertenecientes a un mismo genoma presentaron una composición similar de secuencias repetidas mientras que las diferencias fueron más significativas en comparaciones intergenómicas. Las variaciones más notables se encontraron en dos grupos de elementos repetitivos, uno perteneciente a las secuencias móviles y el otro a las secuencias satélites. Los retrotransposones Athila (LTR/Ty3-gypsy) fueron los más abundantes, mostrando diferencias significativas tanto en abundancia como en los perfiles transposicionales temporales. Por otro lado, una superfamilia de ADN satélite rica en AT presentó una amplia variación en abundancia intergenómica explicando gran parte de las diferencias en los patrones de heterocromatina. Los resultados sugieren que la acumulación y distribución diferencial de retrotransposones Athila y de una superfamilia de ADN satélite rico en AT fueron los principales fenómenos que acompañaron la evolución de los diferentes genomas diploides de la sección *Arachis*.

ANPCyT Argentina, FONCYT - PICT 2017- 3220.

Otros / Others

GGM 46

BASES MOLECULARES DE LOS MECANISMOS DE PATOGENICIDAD DE *Diaporthe caulivora* EN SOJA

Garaycochea Solsona S.¹, Mena E.², Stewart S.³, Montesano M.^{2,4}, Ponce De León I.². ¹Unidad de Biotecnología, Estación Experimental Las Brujas, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Uruguay; ²Departamento de Biología Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Uruguay; ³Programa Cultivos de Secano, Estación Experimental La Estanzuela, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Uruguay; ⁴Facultad de Ciencias, Laboratorio de Fisiología Vegetal, Centro de Investigaciones Nucleares, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. eilyn.mena@gmail.com

Diaporthe caulivora es uno de los principales agentes causales del cancro del tallo de la soja en las regiones productoras de todo el mundo, causando importantes pérdidas en el rendimiento y calidad de la semilla. En este trabajo presentamos el primer genoma nuclear de *D. caulivora* y el perfil transcriptómico de un patógeno *D. caulivora* durante la infección de la planta. El genoma tiene un tamaño estimado de 57,86 Mb y contiene 18.385 genes codificantes. Se identificaron genes relacionados con la patogenicidad de *D. caulivora*, tales como enzimas de hidrato de carbono-activas (CAZymes), oxidorreductasas, policétido sintasas y efectores. El perfil transcripcional durante las etapas tempranas de la infección de la soja mostró una expresión diferencial de 2.659 genes de *D. caulivora*, de los cuales una alta proporción están representados en la base de datos de genes de interacción patógeno-hospedador. Los patrones de expresión de genes regulados positivamente y el análisis de enriquecimiento de ontología genética revelaron que las estrategias de infección del huésped dependen de la degradación y modificación de la pared celular de la planta, la desintoxicación de compuestos tóxicos, las actividades de transporte y la producción de toxinas. Además, el incremento en la expresión de genes que codifican efectores sugiere que la patogenicidad de *D. caulivora* también depende de la evasión de las defensas de las plantas. El análisis completo combinado del genoma y transcriptoma brinda nueva e importante información sobre los mecanismos moleculares implicados en la patogénesis de *D. caulivora* y el proceso de colonización del huésped.

ANII