**GENOTIPIFICACIÓN DE LÍNEAS MUTANTES AFECTADAS EN LAS BIOGENES DE sRNAs en *Arabidopsis thaliana. (*ARIAL 12 PUNTOS CON NEGRITAS Y CENTRADO)**

***Elisa Torres, Facultad de Químico Farmacobiología (UMSNH)*** [***daria@hotmail.com***](mailto:daria@hotmail.com)***. Asesor Dr. Noé Valentín Durán Flores, Facultad de Biología (UMSNH)*** [***vduranflores@gmail.com***](mailto:vduranflores@gmail.com)(Arial 10 puntos)

**Planteamiento del problema** (Arial 10 puntos)

Diversas funciones biológicas se ven afectadas por la regulación génica mediada por pequeños transcritos de aproximadamente 21-26 nt (siRNAs y miRNAs). Entre ellas, cabe destacar el desarrollo vegetal, mecanismos de defensa contra agentes virales y transposones. Gracias a que existen estrategias de mutagénesis, se puede llevar a cabo su estudio, conociendo el rol que desempeña el gen de interés y la variabilidad fenotípica de la especie en estudio. Mediante la transformación de *Arabidopsis thaliana* por acción de *Agrobacterium tumefaciens* se generan líneas mutantes con inserción de T-DNA (Líneas Salk), que contribuyen al análisis del gen afectado a través de las características fenotípicas que se presenten.

**Metodología** (Arial 10 puntos)

Se prepararon células competentes con CaCl2, y se transformaron respectivamente. Se realizó la extracción del vector Pbs que contiene la región más probable del promotor del gen MIR 822, el cual a través de una digestión con enzimas de restricción HindIII-XbaI se liberó. Posteriormente, a través del gel de agarosa 0.7%, se cortó la banda de interés (inserto), la cual se purificó por medio de un kit. Se realizó la ligación del vector cortado (pBI) con el plásmido purificado con la ayuda de la enzima ligasa. Se llevó a cabo la transformación por choque térmico y se purificó el vector plasmídico (PBI-822) por lisis alcalina. Con respecto a la genotipificación de líneas mutantes, las semillas Salk\_050483 se sembraron en cajas con medio MS y MS-kanamicina. Después, se realizará la extracción de DNA correspondiente y se amplificará por PCR empleando los oligos LBb1, LBb13, LP483 y RP483. Se determina si es WT (Wild type), HM (Homocigota) ó HZ (Heterocigota) mediante la visualización de bandas en geles de agarosa.

**Resultados y conclusiones** (Arial 10 puntos)

Una vez purificado el vector pBI-822, se conocerá la función que desempeña el gen mutado (MIR 822) en la planta modelo. Con la genotipificación de las líneas Salk se espera obtener líneas homocigotas para facilitar el estudio de la mutación con relación al fenotipo adquirido.

**Literatura Citada (Máximo 5) (Arial 8 puntos)**

**Agradecimientos (Arial 8 puntos)**

Agradezco al Dr. X, profesor investigador de la Facultad de Medicina de la UMSNH, las sugerencias que han dado realce al presente trabajo. Este trabajo forma parte del proyecto de investigación X, financiado por la Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH.