

## OPTIMIZACIÓN DE TÉCNICAS DE EDICIÓN GENÓMICA LIBRES DE DNA EN SOJA

**Fleitas AL<sup>1</sup>, Gallino JP<sup>2</sup>, Señorale M<sup>3</sup>, Bonnacarrere V<sup>2</sup>, Vidal S<sup>1</sup>.**

Las metodologías de edición genómica, especialmente aquellas basadas en el sistema CRISPR/Cas9 se han establecido en los últimos años como herramientas poderosas al servicio del mejoramiento vegetal. Recientemente se han reportado metodologías de edición genómica «libres de DNA» en plantas, las cuales garantizan la no incorporación de DNA foráneo al genoma y confieren ventajas a las variedades editadas desde el punto de vista de su regulación. En este sentido, buscamos optimizar una metodología optimizada para la edición genómica libre de DNA de soja. Los sistemas libres de DNA consisten en incorporar en las células vegetales ambos componentes necesarios para realizar la edición genómica, estos son, la proteína Cas9 y los pequeños RNAs guía (SgRNA). La proteína Cas9 puede ser incorporada como proteína propiamente o como su mRNA codificante (Cas9-mRNA) generado mediante transcripción in vitro (IVT). Por otra parte, los SgRNAs son producidos por IVT.

El trabajo pretende abordar dos interrogantes: por un lado, qué forma de Cas9 es más eficiente utilizar, la proteína o su mRNA; por otro lado, qué tejido y metodología de entrega es más efectiva.

En cuanto al trabajo con la proteína Cas9, hemos generado construcciones que permiten la síntesis del Cas9-mRNA optimizado para su expresión en soja. Asimismo, hemos optimizado la expresión y purificación de la proteína Cas9 recombinante la cual ha sido activa en ensayos de corte realizados in vitro.

En cuanto a las metodologías transformación, hemos optimizado la entrega de proteínas mediante biolística en embriones somáticos, hemos implementado con éxito una metodología de transformación del ovario de la flor y hemos puesto a punto un protocolo para la obtención de protoplastos.

Estas metodologías desarrolladas serán utilizadas en combinación para editar genes en soja.

<sup>1</sup>Laboratorio de Biología Molecular Vegetal, Facultad de Ciencias

<sup>2</sup>Unidad de Biotecnología, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria

<sup>3</sup>Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias