

BV36. Expresión del factor de crecimiento fibroblástico básico humano recombinante en plantas transplastómicas de *Nicotiana tabacum*

Müller, C. (1,5); Mirkin, F.G. (1); Pérez Castro, C. (2); Bravo-Almonacid, F.F. (1,3); Wirth, S.A. (4,5); Segretin, M.E. (1,6)*.

(1) INGEBI-CONICET Obligado 2490, CABA (C1428ADN) Argentina. (2) IBioBA-CONICET-MSPS Godoy Cruz 2390, CABA (C1425FQ) Argentina. (3) Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes, Bernal, Buenos Aires, Argentina (B1876BXD). (4) IBBEA-CONICET Intendente Güiraldes 2160, CABA (C1428EGA) Argentina. (5) Laboratorio de Agrobiotecnología, DFBMC-FCEN-UBA. (6) Departamento de Fisiología, Biología Molecular y Celular, FCEyN, Universidad de Buenos Aires. [*mariasegretin@gmail.com](mailto:mariasegretin@gmail.com)

Los factores de crecimiento son proteínas de señalización que regulan distintos procesos cruciales durante el desarrollo en animales, tales como la división celular, diferenciación celular y angiogénesis. Estas proteínas son utilizadas para el mantenimiento in vitro de líneas celulares con propiedades de células madre, siendo responsables de mantener el estado pluripotente de las células y modular su plasticidad. Disponer de factores de crecimiento recombinantes representa un alto costo para la investigación. Por esta razón, en el presente trabajo nos propusimos evaluar un sistema alternativo para la producción local de factores de crecimiento recombinantes utilizando biorreactores vegetales. En particular, enfocamos el estudio a la expresión y producción del factor de crecimiento fibroblástico básico humano (hbFGF) en plantas transplastómicas. La transformación del genoma plástido es un sistema de expresión estable que permite alcanzar niveles de expresión potencialmente altos de proteínas heterólogas. Para la generación de plantas transplastómicas, se clonó la secuencia codificante de hbFGF en un vector de transformación plástica y se transformaron plantas de *Nicotiana tabacum* mediante la técnica de biobalística. La naturaleza transplastómica de los brotes regenerantes se analizó mediante PCR, corroborando la integración del transgén para tres líneas independientes. Las líneas obtenidas fueron sometidas a sucesivas rondas de regeneración para alcanzar la homoplastía y posteriormente rusticadas. Mediante la técnica de western blot, se detectó la presencia de la proteína recombinante hbFGF en plantas rusticadas de las tres líneas. Se realizó la caracterización fenotípica de las líneas transplastómicas, observando un fenotipo de retardo en el crecimiento y clorosis respecto a su contraparte *wild type*. Este fenotipo sugiere que el desempeño fotosintético en estas plantas se encuentra comprometido. Para determinar las causas del fenotipo observado, se realizará un análisis fotosintético en distintos estadios del desarrollo de la planta, junto a la caracterización molecular para determinar potenciales rearrreglos a nivel del genoma plástico. A su vez, se analizarán distintas estrategias a fin de optimizar la expresión y/o

revertir los efectos fenotípicos de la expresión de hbFGF recombinante. En base a estos resultados, se puede concluir que la expresión de hbFGF recombinante es factible en plantas transplastómicas. Además, estas plantas se convierten en un modelo para permitirnos estudiar las bases moleculares y fisiológicas de los efectos pleiotrópicos asociados a la expresión de algunas proteínas recombinantes a partir del genoma plastídico, y explorar alternativas para mejorar el desarrollo de futuras plantas transplastómicas.