



Tipo de Documento:	DI
Presentado por:	Ecuador
Tipo de Sesión:	CACAT
Punto de la Agenda	11.1

**Estudio de la expresión transcripcional de
genes del erizo de mar antártico
(*Sterechinus neumayeri*) en respuesta al
estrés inducido por diferentes
concentraciones de Cloruro de Cadmio.**

Estudio de la expresión transcripcional de genes del erizo de mar Antártico (*Sterechinus neumayeri*) en respuesta al estrés inducido por diferentes concentraciones de Cloruro de Cadmio (CdCl_2)

1. Objetivo general

Determinar la diferencia en la acumulación de los ARNm de dos genes de interés en respuesta al estrés ante diferentes concentraciones de Cloruro de Cadmio en el erizo de mar Antártico (*Sterechinus neumayeri*).

2. Objetivos específicos

- Evaluar el efecto del cloruro de cadmio sobre la acumulación de transcritos de una familia de Proteínas de Estrés Térmico (HSP70), y de un tipo de Metaloproteína (Metalotioneínas) identificadas en el *Sterechinus neumayeri*.
- Validar como control para la normalización del estado fisiológico del erizo de mar Antártico los ARNm constitutivos de Actina y 28S ribosomal.
- Determinación del erizo de mar Antártico como especie bioindicadora de la contaminación ante metales pesados en la Antártida.

3. Resumen

El presente trabajo forma parte de un proyecto efectuado durante la estadía en la Base Antártica Chilena “Profesor Julio Escudero”, el mismo que se basa en el estrés ante metales pesados (Cloruro de Cadmio) a Erizos de Mar Antárticos, y se fundamenta en la validación de los genes fisiológicos 28S Ribosomal (28S) y Actina (ACT) como genes control para la normalización de los genes experimentales de Metalotioneínas (MTs) y Proteínas de Estrés Térmico (HSP70), en tejidos intestinales del Erizo de Mar Antártico, *Sterechinus neumayeri*, sometidos a estrés ante diferentes concentraciones (2mM y 5mM) de Cloruro de Cadmio (CdCl_2).

La validación de los genes fisiológicos 28S y ACT como controles para la normalización de los genes experimentales se efectuó mediante un análisis de varianza, ANOVA 1 vía con un valor de $p=0.05$, de los valores correspondientes a los niveles de expresión transcripcional y acumulación de los ARNm, obtenidos en 3 tiempos de exposición (1 hora, 6 horas y 24 horas) ante las diferentes concentraciones de CdCl_2 , por medio de la técnica de RT-PCR en Tiempo Real.

La validación de los genes experimentales MTs y HSP70 como genes empleados en la determinación del erizo de mar Antártico como especie bioindicadora de la contaminación ante metales pesados, se efectuó mediante la normalización de los valores correspondientes a la expresión transcripcional de estos genes con el gen 28S Ribosomal mediante el método de doble delta Ct ($2^{-\Delta\Delta C_T}$), el cual expresa la proporción obtenida de la relación entre los valores de Ct de los genes experimentales y los valores del gen control.

El primer análisis efectuado para la validación de los genes controles 28S y ACT correspondió a las muestras del Mix efectuado de todos los individuos experimentales en cada tiempo de exposición al estrés de cadmio.

Se está terminando de efectuar el análisis más concreto de los datos correspondientes a las muestras individuales, datos en los cuales se pueden determinar y descartar los errores a causa de la mala toma de muestras, o de la mala manipulación de los ARNm de los genes.

4. Cronograma de trabajo

A continuación se adjunta el cronograma de trabajo con la planificación pensada para todas las actividades del proyecto, el mismo que por medio de un visto en el casillero respectivo, enuncia el cumplimiento de dichas actividades.

tiempo actividad	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre
Obtencion ARNm	✓							
Analisis de muestras Mix		✓						
Validacion del gen 28S			✓					
Validacion del gen ACT			✓					
Analisis de muestras Individuales				✓				
Normalizacion del gen HSP70					✓			
Normalizacion del gen MT					✓			
Analisis Estadistico del gen HSP70						✓		
Analisis Estadistico del gen MT						✓		
Analisis de Resultados						✓	✓	
Conclusiones							✓	✓

5. Resultados

La información preliminar obtenida en este estudio hasta el momento, confirma el uso del 28S Ribosomal como gen control del experimento, y descarta el uso de la Actina (ACT) como gen control, también corrobora la función de la superfamilia HSP70 como proteínas chaperonas relacionadas con la síntesis de proteínas de respuesta ante metales pesados, y la importancia de las MTs en procesos de detoxificación en el erizo de mar Antártico.

Los datos obtenidos hasta el momento también nos permiten inferir de manera positiva el posible uso de este organismo como Bioindicador de la contaminación por metales pesados en la Antártida.

6. Agradecimientos

El trabajo de estrés con cloruro de cadmio en erizos de mar Antárticos, *S. neumayeri*, corresponde a un proyecto derivado del primer proyecto de cooperación interespecífica (Comparación del estrés térmico en erizos de mar antárticos y tropicales) entre el INAE y el INACH.

Dicho proyecto se llevó a cabo en base a la cooperación existente entre la ESPOL-INAE-INACH; en el cual se denota un especial agradecimiento a Marcelo González Aravena Ph.D., Investigador del Instituto Antártico Chileno (INACH) por su constante apoyo durante la estadía en la Antártida en la base Chilena “Profesor Julio Escudero”, y la respectiva acogida en el laboratorio de Biorrecursos Antárticos del INACH en Punta Arenas, para el respectivo procesamiento de las muestras.