



4to COLOQUIO EN BIOCENCIAS 2024

TRANSFORMACIÓN GENÉTICA DE DOS VARIANTES DE *CHLAMYDOMONAS REINHARDTHII* CON ARN INTERFERENTE (ARNi) DIRIGIDO AL HERPES DE OSTREIDOS TIPO 1

Gallardo Ybarra Carolina, De la Re Vega Enrique, Sánchez Paz José Arturo, Grijalva Chon José Manuel, Minjarez Osorio Christian, León Bañares Rosa. Universidad de Sonora. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. Universidad de Huelva, España a211208430@unison.mx

Resumen

A lo largo del tiempo la producción de *Crassostrea gigas* ha sido afectada por distintos patógenos, uno de los virus de gran relevancia es el Herpesvirus de Ostreidos 1 (OsHV-1). Por esto, se han estudiado distintas técnicas para combatir los virus en organismos acuícolas. Una técnica novedosa es el ARN interferente (ARNi), su mecanismo permite el silenciamiento de genes, mediante la degradación del ARN mensajero, en el caso de los virus inhibe su replicación en las células del huésped. Se ha investigado su uso en virus que infectan a peces, crustáceos y moluscos. Pero persisten diferentes desafíos, como la estabilidad en el medio acuático, por eso la implementación de ARNi en acuicultura representa un reto. Siendo necesario el desarrollo de técnicas para administrarlo en sistemas de cultivo, una opción es por medio del alimento utilizando microalgas recombinantes. Se hipotetiza que, mediante la transformación utilizando perlas de vidrio, las construcciones Phyco69 y PAA-AC-GFP podrán ser clonadas eficientemente en las microalgas *Chlamydomonas reinhardtii* var 3403 y var CW1010. El objetivo del presente trabajo es transformar genéticamente las microalgas *C. reinhardtii* CW1010 y 3403 con el vector (pAAV-AC-GFP) que contiene un shARN dirigido al Herpesvirus de ostreidos 1 (OsHV-1). Para ello se transformó la microalga con dos vectores, uno que tiene insertado el shARN dirigido a la ADN polimerasa del Herpesvirus (pAAV-AC-GFP) y otro que contiene el gen de resistencia a paromomicina (Phyco69). Como resultados, se obtuvieron colonias de *C. reinhardtii* CW1010 y 3403 transformadas y mediante PCR y secuenciación se confirmó la presencia del shARN. Como conclusiones, la transformación genética nuclear de *C. reinhardtii* fue lograda por primera vez con la construcción pAAV-AC-GFP, la cual contiene un shARN dirigido al OsHV-1 para el control de la infección en moluscos bivalvos.



"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"



GENETIC TRANSFORMATION OF TWO VARIANTS OF *CHLAMYDOMONAS REINHARDTHII* WITH INTERFERING RNA (RNAi) TARGETING OSTREID HERPES TYPE 1

Abstract

Over time, the production of *Crassostrea gigas* has been affected by different pathogens, one of the most relevant viruses is the Ostreid Herpesvirus 1 (OsHV-1). For this reason, different techniques have been studied to combat viruses in aquaculture organisms. A novel technique is RNA interference (RNAi). Its mechanism allows gene silencing through the degradation of messenger RNA, which in the case of viruses inhibits their replication in host cells. Its use has been investigated in viruses that infect fish, crustaceans and mollusks. However, different challenges persist, such as stability in the aquatic environment, which is why the implementation of RNAi in aquaculture represents a challenge. It is necessary to develop techniques to administer it in culture systems, and one option is through the feed using recombinant microalgae. It is hypothesized that, by transformation using glass beads, the Phyco69 and PAAV-AC-GFP constructs can be efficiently cloned into the microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* var 3403 and var CW1010. The aim of the present work is to genetically transform the microalgae *C. reinhardtii* CW1010 and 3403 with the vector (pAAV-AC-GFP) containing a shRNA targeting ostreid Herpesvirus 1 (OsHV-1). For this purpose, the microalgae were transformed with two vectors, one containing the shRNA targeting the Herpesvirus DNA polymerase (pAAV-AC-GFP) and the other containing the paromomycin resistance gene (Phyco69). As results, transformed *C. reinhardtii* CW1010 and 3403 colonies were obtained, and PCR and sequencing confirmed the presence of the shRNA. As conclusions, nuclear genetic transformation of *C. reinhardtii* was achieved for the first time with the pAAV-AC-GFP construct, which contains a shRNA targeting OsHV-1 for infection control in bivalve mollusks.



"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"

