

ABSTRACT

IDENTIFICACIÓN Y SELECCIÓN DE LÍNEAS DE TRIGO HIPOALERGÉNICAS PRODUCIDAS POR CRISPR/CAS y ARNi

Gálvez-García, R.¹, Medrano Baena, A.¹, Serrano Quesada, M.¹

Profesora coordinadora: Elena León Rodríguez¹

Investigadores: Barro Losada, F.², Gavilán Camacho, M.², Marín Sanz, M.², Guzmán López, H.²

¹ IES Fidiana C/Saturno s/n (C.P. 14014)

² Instituto de Agricultura Sostenible IAS-CSIC

En el Instituto de Agricultura Sostenible (IAS) se ha llevado a cabo una investigación científica en la que se han identificado y seleccionado líneas de trigo hipoalergénico sin gluten. Primero se preparó el material para comenzar dicha investigación (se tomaron 500-600 mg de granos de cada línea de trigo en tubos de 2mL), posteriormente se utilizó un molino de bolas para moler las muestras y después se tararon en una báscula de precisión. A continuación, se extrajeron **las gliadinas** preparando un tampón de extracción B1 (compuesto de etanol puro disuelto en H₂O) y se utilizó el molino para mezclar correctamente la muestra con el tampón B1 y centrifugar para poder obtener las gliadinas. A continuación, se utilizó un **HPLC en fase reversa (RP-HPLC)** para separar las fracciones de gliadinas y cuantificar los resultados de la investigación. Para ello se filtraron las muestras de gliadinas previa a la inyección en el HPLC. Las líneas de trigo que presentaron menor cantidad de cada una de las fracciones de proteína (**gamma-, omega- y alpha-gliadinas**) fueron las que habían sido obtenidas con las tecnologías CRISPR x RNAi y después CRISPR. Por tanto, la mejor tecnología para producir las líneas de trigo hipoalergénicas es la combinación de **CRISPR x RNAi**.

Palabras clave: RP-HPLC, CRISPR, CRISPR x RNAi, gamma-, omega- y alpha-gliadinas

A scientific investigation has been carried out at the Institute of Sustainable Agriculture (IAS), where gluten-free hypoallergenic wheat lines have been identified and selected. To obtain them, the students from IES Fidiana worked and followed these steps: first, wheat grains from the different lines were prepared to begin the research (500-600 mg of each line were prepared in 2mL tubes), then a **ball mill** was used to grind the samples, and afterwards, they were weighed using a precision scale. Next, gliadins were extracted by preparing an **extraction buffer B1** (pure ethanol dissolved in H₂O), and the mill was used again to mix properly the samples with the B1 buffer and centrifuge to obtain the gliadins. Then a reverse phase HPLC (RP-HPLC) was used to separate the gliadin fractions and quantify the results of the investigation. For this purpose, the gliadin samples were filtered prior to HPLC injection. The wheat lines that presented the lowest amount of each of the protein fractions (gamma-, omega- and alpha-gliadins) were those that had been obtained with CRISPR x RNAi and then CRISPR technologies. Therefore, the best technology to produce hypoallergenic wheat lines is the CRISPR x RNAi combination.

Keywords: RP-HPLC, CRISPR, CRISPR x RNAi, gamma-, omega- and alpha-gliadins