



Miguel Hernández

Universidad Miguel Hernández de Elche

Análisis funcional de los genes *NOP53* y *RRP7* de *Arabidopsis thaliana*

Alejandro Ruiz Bayón

Tutores:

María Rosa Ponce Molet

José Luis Micol Molina

Rosa Micol Ponce

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Grado en Biotecnología

Facultad de Ciencias Experimentales

Curso académico 2014/2015

MARÍA ROSA PONCE MOLET, Catedrática de Genética de la Universidad Miguel Hernández de Elche,

JOSÉ LUIS MICOL MOLINA, Catedrático de Genética de la Universidad Miguel Hernández de Elche, y

ROSA MICOL PONCE, Contratada predoctoral de la Universidad Miguel Hernández de Elche,

HACEMOS CONSTAR:

Que el presente trabajo ha sido realizado bajo nuestra dirección y recoge fielmente la labor llevada a cabo por el estudiante Alejandro Ruiz Bayón como Trabajo de Fin de Grado en Biotecnología. Las investigaciones reflejadas en esta memoria se han desarrollado íntegramente en la Unidad de Genética del Instituto de Bioingeniería de la Universidad Miguel Hernández de Elche.

María Rosa Ponce Molet

José Luis Micol Molina

Rosa Micol Ponce

Elche, 26 de junio de 2015.

I.- RESUMEN

El trabajo que se refleja en esta memoria es una contribución a la caracterización funcional de dos genes de *Arabidopsis* que no habían sido estudiados hasta ahora en ninguna especie vegetal: *NOP53* y *RRP7*, que codifican las presuntas ortólogas de Nucleolar Protein 53 y Ribosomal RNA-processing Protein 7 de *Saccharomyces cerevisiae*. Se ha demostrado en esta levadura que ambas proteínas son nucleolares y que participan en la biogénesis del ribosoma. Para estudiar las interacciones genéticas de *NOP53* y *RRP7*, hemos cruzado las líneas *nop53-1* y *rrp7-1*, entre sí y por mutantes portadores de alelos de genes que codifican proteínas ribosómicas o factores implicados en la biogénesis del ribosoma. Hemos genotipado, mediante amplificaciones de PCR y secuenciación, plantas de familias F₁, F₂ y F₃ derivadas de dichos cruzamientos, con el propósito de identificar inequívocamente dobles mutantes, algunos de los cuales resultaron ser sinérgicos, lo que reveló relaciones funcionales entre los genes a estudio. También hemos confirmado que *nop53-1* es un alelo nulo del gen *NOP53*. Además, hemos estudiado el patrón de expresión de los transgenes *NOP53_{pro}:GUS* y *RRP7_{pro}:GUS*, comprobado que *NOP53* y *RRP7* se expresan en los primordios foliares y en los conductos vasculares de las raíces, los cotiledones y las hojas en expansión, y que su actividad disminuye en etapas posteriores del desarrollo vegetativo.

Palabras clave: *NOP53*, *RRP7*, ARN ribosómicos, *Arabidopsis thaliana*.

Here, we describe a contribution to the functional characterization of two *Arabidopsis* genes that had not been studied in any plant species: *NOP53* and *RRP7*, which encode the putative orthologs of Nucleolar Protein 53 and Ribosomal RNA-processing Protein 7 of *Saccharomyces cerevisiae*. These proteins are nucleolar and are involved in ribosome biogenesis in yeast. To study the genetic interactions of *NOP53* and *RRP7*, we intercrossed *nop53-1* and *rrp7-1*, which were also crossed to mutants carrying alleles of genes encoding ribosomal proteins or factors involved in ribosome biogenesis. By means of PCR amplifications and sequencing, we genotyped plants from F₁, F₂ and F₃ families derived from those crosses, in order to unequivocally identify double mutants, some of which exhibited synergistic phenotypes indicating functional relationships among the genes under study. We also confirmed that *nop53-1* is a null allele of *NOP53*. The *NOP53_{pro}:GUS* and *RRP7_{pro}:GUS* transgenes allowed us to demonstrate that *NOP53* and *RRP7* are expressed in root, cotyledon and expanding leaf vasculature, as well as in leaf primordia, and that their activity decreases in later stages of vegetative development.

Keywords: *NOP53*, *RRP7*, ribosomal RNAs, *Arabidopsis thaliana*.