



Universidad Miguel Hernández de Elche

**Obtención de transgenes
para el análisis funcional
de los genes *CP3 (CUPULIFORMIS3)*,
CP4 y *CP5* de *Arabidopsis***

Lucía Juan Vicente

Tutores:

José Luis Micol Molina

Eduardo Mateo Bonmatí

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Grado en Biotecnología

Facultad de Ciencias Experimentales

Curso académico 2015-2016

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

EDUARDO MATEO BONMATÍ, contratado predoctoral del Programa de Formación de Profesorado Universitario (FPU) del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte,

HACEMOS CONSTAR:

Que el presente trabajo ha sido realizado bajo nuestra dirección y recoge fielmente la labor realizada por Lucía Juan Vicente como Trabajo de Fin del 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.

Eduardo Mateo Bonmatí

José Luis Micol Molina

Elche, 27 de junio de 2016.

I.- RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

Una parte importante de la regulación de la transcripción de los genes eucarióticos depende del marcaje epigenético de las histonas y el ADN. En este Trabajo de Fin de Grado hemos estudiado la familia génica CUPULIFORMIS (CP), cuyos cinco miembros parecen ser nuevos elementos de la maquinaria epigenética de la planta modelo *Arabidopsis*. En el laboratorio de José Luis Micol se identificó y caracterizó el miembro fundador de la familia CP, *INCURVATA11* (*ICU11*) de *Arabidopsis*, y se constató la existencia de redundancia funcional entre *ICU11* y *CP2* y entre *CP3* y *CP4*. Hemos iniciado una caracterización de *CP3*, *CP4* y *CP5*, obteniendo transgenes para el análisis de su función. Hemos empleado para ello la tecnología *Gateway*, amplificando segmentos de sus alelos silvestres, que hemos clonado en vectores de entrada y subclonado en vectores de destino en *Escherichia coli* y transferido sucesivamente a *Agrobacterium tumefaciens* y a plantas de *Arabidopsis*. Los transgenes que hemos obtenido son de cuatro tipos: *CP_{pro}:GUS*, para visualizar patrones de expresión espacial y temporal; *CP_{pro}:CP:GFP* y *35S_{pro}:CP:GFP*, para determinar la localización subcelular de las proteínas CP; y *35S_{pro}:CP*, para estudiar los efectos de la sobreexpresión de los genes CP.

Palabras clave: *Arabidopsis*, *Gateway*, epigenética, CUPULIFORMIS, dioxigenasas.

An important layer of eukaryotic gene transcription regulation depends upon epigenetic marking of histones and DNA. In this End of Degree Assignment, we studied the CUPULIFORMIS (CP) gene family, whose five members seem to be novel elements of the epigenetic machinery. The founder member of the *Arabidopsis* CP family, *INCURVATA11* (*ICU11*), was identified and characterized in the laboratory of José Luis Micol, where redundancy between *ICU11* and *CP2*, as well as between *CP3* and *CP4*, was also shown. Here, we initiated a characterization of *CP3*, *CP4* and *CP5*, obtaining transgenes for their functional analysis. For that purpose, we used the *Gateway* technology, and amplified segments of their wild-type alleles, which were cloned in entry vectors and subcloned in destination vectors, in *Escherichia coli*, and successively transferred into *Agrobacterium tumefaciens* and *Arabidopsis* plants. The transgenes that we obtained belong to four classes: *CP_{pro}:GUS*, to visualize temporal and spatial expression patterns; *CP_{pro}:CP:GFP* and *35S_{pro}:CP:GFP*, to determine the subcellular localization of the CP proteins; and *35S_{pro}:CP*, to study the effects of CP gene overexpression.

Keywords: *Arabidopsis*, *Gateway*, epigenetics, CUPULIFORMIS, dioxigenases.