



UNIVERSITAS
Miguel Hernández

Análisis genético de genes de Arabidopsis que codifican presuntos interactores de la proteína ICU11

Débora Cerdá Bernad

Tutores:

José Luis Micol Molina

Eduardo Mateo Bonmatí

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Grado en Biotecnología

Facultad de Ciencias Experimentales

Curso académico 2017-2018

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 llevada a cabo por Débora Cerdá Bernad 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.

Eduardo Mateo Bonmatí

José Luis Micol Molina

Elche, 28 de junio de 2018.

I.- RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

El gen *INCURVATA11* (*ICU11*) codifica un componente de la maquinaria epigenética de *Arabidopsis thaliana* cuya función molecular concreta se desconoce. En un escrutinio de interactores de *ICU11*, basado en el ensayo del doble híbrido de la levadura, se identificaron en el laboratorio de José Luis Micol tres proteínas que participan en la ruta de la metilación dependiente de la S-adenosil-L-metionina (SAM): ADENOSINE KINASE 2 (*ADK2*), COBALAMIN-INDEPENDENT METHIONINE SYNTHASE (*CIMS*) y DEREPRESSED FOR RIBOSOMAL PROTEIN S14 EXPRESSION 2 (*DRE2*). Con el fin de confirmar estos resultados, hemos estudiado en este Trabajo de Fin de Grado las interacciones genéticas de *ICU11* con *ADK2*, *DRE2* y *CIMS*, así como con otros dos genes relacionados con el ciclo de la SAM: *S-ADENOSYL-L-HOMOCYSTEINE HYDROLASE 1* (*SAHH1*) y *ADK1*, un parálogo de *ADK2*. Hemos obtenido alelos mutantes de estos genes y sus combinaciones dobles con *icu11-1*, y caracterizado sus fenotipos. También hemos generado transgenes productores de microARN artificiales y pequeños ARN interferentes sintéticos que actúan en *trans*, a fin de determinar los efectos fenotípicos de la pérdida de función parcial de los genes a estudio, en plantas *icu11-1* y del tipo silvestre Col-0.

Palabras clave: *Arabidopsis*; *ICU11*; silenciamiento génico; interacciones entre proteínas.

The *INCURVATA11* (*ICU11*) gene encodes a component of the epigenetic machinery of *Arabidopsis thaliana*, whose specific molecular function is unknown. In a screen for *ICU11* interactors, based on the yeast two-hybrid assay, three proteins were identified in the laboratory of José Luis Micol, which participate in the S-adenosyl-L-methionine (SAM)-dependent methylation pathway: ADENOSINE KINASE 2 (*ADK2*), DEREPRESSED FOR RIBOSOMAL PROTEIN S14 EXPRESSION 2 (*DRE2*), and COBALAMIN-INDEPENDENT METHIONINE SYNTHASE (*CIMS*). In this End of Degree Assignment, we studied the genetic interactions of *ICU11* with *ADK2*, *DRE2* and *CIMS*, as well as with two other genes related to the SAM cycle: *S-ADENOSYL-L-HOMOCYSTEINE HYDROLASE 1* (*SAHH1*) and *ADK1*, an *ADK2* paralog. We obtained mutant alleles of these genes and their double mutant combinations with *icu11-1*, and characterized their phenotypes. We also generated transgenes producing artificial microRNAs and synthetic *trans*-acting small interfering RNAs, to ascertain the phenotypic effects of the partial loss of function of the genes under study in *icu11-1* and wild-type genetic backgrounds.

Keywords: *Arabidopsis*; *ICU11*; gene silencing; protein-protein interaction.