



UNIVERSITAS
Miguel Hernández

Universidad Miguel Hernández de Elche

**Edición genética del promotor de
ARGONAUTE1 de *Arabidopsis thaliana*
mediante el sistema CRISPR/Cas9**

Antonio Corbalán Acedo

Tutores:

María Rosa Ponce Molet

Adrián Cabezas Fuster

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Grado en Biotecnología

Facultad de Ciencias Experimentales

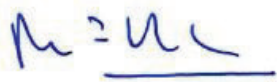
Curso académico 2019/2020

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

ADRIÁN CABEZAS FUSTER, Investigador predoctoral de la Universidad Miguel Hernández de Elche,

HACEMOS CONSTAR:

Que el presente trabajo ha sido llevado a cabo bajo nuestra dirección y recoge fielmente la labor realizada por el Graduado Antonio Corbalán Acedo como Trabajo de Fin de Grado en Biotecnología. Las investigaciones que se reflejan en esta memoria han sido desarrolladas íntegramente en la Unidad de Genética del Instituto de Bioingeniería de la Universidad Miguel Hernández de Elche.



María Rosa Ponce Molet



Adrián Cabezas Fuster

Elche, 3 de septiembre de 2020

I.- RESUMEN

I.- RESUMEN

En este Trabajo Fin de Grado se ha pretendido contribuir a la caracterización funcional del promotor del gen *ARGONAUTE1* (*AGO1*) de *Arabidopsis thaliana*. *AGO1* es la endorribonucleasa central de los complejos de silenciamiento génico que contienen microARN y otros pequeños ARN interferentes, endógenos o virales, denominados RISC (*RNA-induced silencing complex*). Dado lo poco que se conoce sobre su regulación transcripcional, en este trabajo se ha pretendido contribuir a la disección funcional de dos elementos reguladores de respuesta a proteínas mal plegadas (UPR) en el retículo endoplásmico, *UPRE2AT* (CCACGTCATC) y *UPRMOTIFIAT* (CCN₁₂CCACG), previamente identificados mediante análisis *in silico* en el promotor del gen *AGO1* en el laboratorio de M.R. Ponce. Hemos utilizado el sistema CRISPR/Cas9 de *Streptococcus pyogenes* y obtenido construcciones capaces de generar tres ARN guías diferentes para mutagenizar los dos elementos UPR. Tras su transferencia a *Arabidopsis*, hemos identificado una planta T₁ de fenotipo silvestre cuyo genoma porta una delección de una C en el elemento *UPRE2AT*, que esperamos ayude a comprender su papel como silenciador o potenciador de la transcripción de *AGO1*.

Palabras clave: *AGO1*, promotor, UPR, CRISPR/Cas9, *Arabidopsis thaliana*

The goal of this Degree Final Project has been to contribute to the functional characterization of the *ARGONAUTE1* (*AGO1*) promoter in *Arabidopsis thaliana*. *AGO1* is the endoribonuclease present in the RNA-induced silencing complexes (RISCs), containing microRNAs, viral or other small endogenous RNAs. Due to the lack of knowledge about its transcriptional regulation, in this work we try to clarify the regulatory role of two Unfolded Protein Response (UPR) elements, *UPRE2AT* (CCACGTCATC) y *UPRMOTIFIAT* (CCN₁₂CCACG), previously identified *in silico* in its promoter, at the laboratory of M.R. Ponce. For its functional dissection we used the CRISPR/Cas9 system of *Streptococcus pyogenes*. We generated three CRISPR constructions to generate three RNA guides complementary to the two elements. We sequenced T₁ plants and we identified one event of genetic edition, deletion in a C, only in the element *UPRE2AT* in one of the plants, which didn't have any phenotype associated to the mutation. This new allele will help us to understand the role of this element as possible silencer or enhancer of *AGO1* transcription.

Keywords: *AGO1*, promoter, UPR, CRISPR/Cas9, *Arabidopsis thaliana*