



UNIVERSITAS
Miguel Hernández

Universidad Miguel Hernández de Elche

**Síntesis de transgenes para establecer la
localización subcelular de los factores PRH75,
UTP18, RRP36 y POL5 de Arabidopsis**

Lucía Vázquez Pagán

Tutores:

María Rosa Ponce Molet

Raquel Sarmiento Mañús

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Grado en Biotecnología

Facultad de Ciencias Experimentales

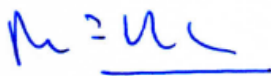
Curso académico 2021-2022

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

RAQUEL SARMIENTO MAÑÚS, Profesora Ayudante Doctora de la Universidad Miguel Hernández de Elche,

HACEMOS CONSTAR:

Que el presente trabajo ha sido realizado bajo nuestra dirección y recoge fielmente la labor realizada por Lucía Vázquez Pagán 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.



María Rosa Ponce Molet



Raquel Sarmiento Mañús

Elche, 27 de junio de 2022

I.- RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

I.- RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

Los genes *PRH75*, *UTP18*, *RRP36* y *POL5* de *Arabidopsis thaliana* codifican presuntos ortólogos funcionales de factores que participan en el control de la biogénesis del ribosoma en *Saccharomyces cerevisiae* y la especie humana. Del estudio de estos cuatro genes de *Arabidopsis* se podrá establecer si sus productos proteicos no sólo están conservados a nivel estructural, sino también funcional, o si sus funciones son divergentes. En este Trabajo de Fin de Grado se ha pretendido contribuir al análisis funcional de estos genes, generando los transgenes *PRH75_{pro}:PRH75:GFP*, *UTP18_{pro}:UTP18:GFP*, *RRP36_{pro}:RRP36:GFP* y *POL5_{pro}:POL5:GFP*. Hemos clonado, mediante la tecnología *Gateway*, sus alelos silvestres en vectores de entrada, transferido tres de ellos a vectores de destino y dos a *Arabidopsis*. Su expresión en plantas permitirá, (1) la determinación de la localización subcelular de sus productos proteicos, y (2) el rescate fenotípico en mutantes de pérdida de función de los cuatro genes. El rescate fenotípico de los mutantes con los transgenes permitirá confirmar que las proteínas de fusión con la GFP son funcionales y, por tanto, verosímil la localización subcelular de los factores a estudio.

Palabras clave: *Arabidopsis*, biogénesis del ribosoma, proceosoma SSU, *Saccharomyces cerevisiae*.

The *PRH75*, *UTP18*, *RRP36* and *POL5* genes of *Arabidopsis thaliana* encode putative functional orthologs of factors involved in the control of ribosome biogenesis in *Saccharomyces cerevisiae* and humans. From the study of these four *Arabidopsis* genes, it will be possible to establish whether their protein products are not only conserved at a structural level, but also functionally, or if their functions are divergent. In this Final Degree Project we have tried to contribute to the functional analysis of these four genes, generating constructs harboring the *PRH75_{pro}:PRH75:GFP*, *UTP18_{pro}:UTP18:GFP*, *RRP36_{pro}:RRP36:GFP* and *POL5_{pro}:POL5:GFP* transgenes. We have cloned, using the *Gateway* technology, their wild-type alleles into a donor vector, transferred three of the inserts to a destination vector, and two of them to *Arabidopsis*. Their expression in plants will allow: (1) the determination of the subcellular localization of their protein products and, (2) the phenotypic rescue in loss-of-function mutants of these four genes. The phenotypic rescue of the mutants with the transgenes will confirm that the fusion proteins with GFP are functional and, therefore, the subcellular localization of the factors under study will be genuine.

Keywords: *Arabidopsis*, ribosome biogenesis, SSU processome, *Saccharomyces cerevisiae*.