



UNIVERSITAS
Miguel Hernández

Universidad Miguel Hernández de Elche

**Contribución al estudio de la relación
funcional entre la ruta de los microARN
y la biogénesis del ribosoma en
*Arabidopsis thaliana***

Rubén Delicado Mateo

Tutoras:

María Rosa Ponce Molet

Sara Fontcuberta Cervera

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Grado en Biotecnología

Facultad de Ciencias Experimentales

Curso académico 2020-2021

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

SARA FONTCUBERTA CERVERA, Investigadora 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 realizada por Rubén Delicado Mateo 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



Sara Fontcuberta Cervera

Elche, 27 de junio de 2021.

I.- RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

En este Trabajo de Fin de Grado se ha contribuido al estudio de la relación funcional que parece existir entre el silenciamiento génico postranscripcional mediado por los microARN (miARN) y la biogénesis del ribosoma en *Arabidopsis thaliana*; hemos analizado las interacciones genéticas y moleculares entre alelos de cuatro genes que codifican factores clave en la ruta de los miARN (*HYL1*, *HEN1*, *HST* y *AGO1*) y de tres genes que codifican factores de la biogénesis del ribosoma (*PARL1*, *SMO4* y *RRP7*). Hemos combinado mutaciones en estos genes de las dos rutas y estudiado los fenotipos morfológico y molecular de los dobles mutantes así obtenidos. Para la identificación de las plantas de interés, hemos genotipado mediante PCR y secuenciación por el método de Sanger individuos de las generaciones parental, F₂ o F₃ de los cruzamientos que hemos realizado. Hemos llevado a cabo análisis de *northern* para estudiar en los dobles mutantes obtenidos el procesamiento del pre-ARNr 45S, que origina los tres ARNr mayores del ribosoma citoplásmico, y que es defectuoso en los mutantes *parl1*, *smo4* y *rrp7*. Hemos observado en nuestros dobles mutantes fenotipos sinérgicos y epistáticos, así como defectos en la maduración de los ARNr. Nuestros resultados revelan relaciones funcionales entre los genes estudiados y, en consecuencia, entre las rutas en las que están implicados.

Palabras clave: Arabidopsis, microARN, biogénesis del ribosoma, pre-ARNr 45S, dobles mutantes

In this Final Degree Project, we contributed to the study of the functional relationship that seems to exist between microRNA (miRNA)-mediated post-transcriptional gene silencing and ribosome biogenesis in *Arabidopsis thaliana*; we analysed the genetic and molecular interactions among alleles of genes encoding four key factors of the miRNA pathway (*HYL1*, *HEN1*, *HST* and *AGO1*), and three ribosome biogenesis factors (*PARL1*, *SMO4* and *RRP7*). We combined mutations in these genes participating in two pathways and studied the morphological and molecular phenotypes of the double mutants obtained in this way. Using PCR and Sanger sequencing, we genotyped individuals of the parental, F₂ or F₃ generations of the crosses that we performed. We did northern blot analyses to study in the double mutants the processing of 45S pre-rRNA, which originates the three major rRNAs of the cytoplasmic ribosome, and is defective in the *parl1*, *smo4* and *rrp7* mutants. We observed in our double mutants synergistic and epistatic phenotypes, as well as defects in the maturation of rRNAs. Our results reveal a functional relationship among the genes under study, and hence, between the pathways in which they participate.

Keywords: Arabidopsis, miRNA, ribosome biogenesis, 45S pre-rRNA, double mutants