



UNIVERSITAS
Miguel Hernández

Universidad Miguel Hernández de Elche

**Identificación de interactores
de las proteínas
ICU11 y CP2 de Arabidopsis
mediante complementación
de fluorescencia bimolecular**

Sergio Vivo Filardi

Tutores:

José Luis Micol Molina

Riad Nadi

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Grado en Biotecnología

Facultad de Ciencias Experimentales

Curso académico 2021-2022

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

RIAD NADI, contratado 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 Sergio Vivo Filardi 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.

RIAD|
NADI

Firmado digitalmente por RIAD|NADI
Fecha: 2022.06.27 13:11:04 +02'00'

Riad Nadi

JOSE LUIS|
MICOL|
MOLINA

Firmado digitalmente por JOSE LUIS|MICOL|
MOLINA
Fecha: 2022.06.27 12:02:49 +02'00'

José Luis Micol Molina

Elche, 27 de junio de 2022

I.- RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

Las proteínas INCURVATA11 (ICU11) y CUPULIFORMIS2 (CP2) son componentes desigualmente redundantes de la maquinaria epigenética de *Arabidopsis*. Se ha demostrado mediante coimmunoprecipitación que ICU11 es una proteína accesoria del Polycomb Repressive Complex 2 (PRC2). Ensayos de purificación mediante afinidad en tándem realizados en el laboratorio de José Luis Micol han confirmado la interacción de ICU11, pero no la de CP2, con proteínas principales y accesorias del PRC2. Con el fin de estudiar *in vivo* las eventuales interacciones de ICU11 y CP2 con proteínas del PRC2, hemos diseñado y construido transgenes para realizar ensayos de complementación de fluorescencia bimolecular en hojas de *Nicotiana benthamiana*. Hemos constatado así las interacciones de ICU11 y CP2 con SWINGER (SWN) y CURLY LEAF (CLF), componentes principales del PRC2, y con sus proteínas accesorias LIKE HETEROCHROMATIN PROTEIN 1 (LHP1), TELOMERE REPEAT BINDING FACTOR 1 (TRB1) y TRB3. Nuestros resultados (1) confirman la interacción de ICU11 con el PRC2, previamente demostrada por coimmunoprecipitación, (2) sugieren la interacción entre CP2 y el PRC2, y (3) permiten explicar la semejanza de los fenotipos de los dobles mutantes *icu11 cp2* y de los mutantes simples portadores de alelos de los genes que codifican componentes principales del PRC2.

Palabras clave: Complementación de fluorescencia bimolecular, ICU11, CP2.

The INCURVATA11 (ICU11) and CUPULIFORMIS2 (CP2) proteins are unequally redundant components of the *Arabidopsis* epigenetic machinery. It has been shown by coimmunoprecipitation that ICU11 is an accessory protein of the Polycomb Repressive Complex 2 (PRC2). Tandem affinity purification assays performed in the laboratory of José Luis Micol confirmed the interaction of ICU11, but not CP2, with PRC2 core components and accessory proteins. To study *in vivo* the interactions of ICU11 and CP2 with PRC2 proteins, we designed and constructed transgenes to perform bimolecular fluorescence complementation assays in *Nicotiana benthamiana* leaves. We confirmed in this way the interaction of ICU11 and CP2 with the PRC2 core components SWINGER (SWN) and CURLY LEAF (CLF), as well as with the PRC2 accessory proteins LIKE HETEROCHROMATIN PROTEIN 1 (LHP1), TELOMERE REPEAT BINDING FACTOR 1 (TRB1) and TRB3. Our results (1) confirm the interaction of ICU11 with PRC2, previously demonstrated by coimmunoprecipitation, (2) suggest the interaction of CP2 with PRC2, and (3) explain the similarity of the phenotypes of the *icu11 cp2* double mutants and the single mutants carrying alleles of genes encoding PRC2 core components.

Keywords: Bimolecular fluorescence complementation, ICU11, CP2.