



**UNIVERSITAS**  
*Miguel Hernández*

**Universidad Miguel Hernández de Elche**

# **Contribución a la caracterización funcional del gen *RRP8* de *Arabidopsis thaliana***

**Raquel Olivia Adrover Rico**

Tutoras:

María Rosa Ponce Molet

Rosa Micol Ponce

Sara Fontcuberta Cervera

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Grado en Biotecnología

Facultad de Ciencias Experimentales

Curso académico 2022-2023

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

ROSA MICOL PONCE, Investigadora postdoctoral 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 Raquel Olivia Adrover Rico 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



Rosa Micol Ponce



Sara Fontcuberta Cervera

Elche, 13 de junio de 2023.

## I.- RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

Los ribosomas son maquinarias muy conservadas en todos los seres vivos, constituidas de ARN ribosómico (ARNr) y proteínas ribosómicas (PR). Entender la biogénesis del ribosoma citoplasmático 80S requiere el estudio de los numerosos factores que participan en él, que suelen estar estructural y funcionalmente conservados en los eucariotas. Ribosomal RNA Processing 8 (RRP8) es uno de los factores de la biogénesis del ribosoma que participa en la maduración del ARNr 25S en *Saccharomyces cerevisiae* y en la especie humana, pero no se ha estudiado en las plantas. En este Trabajo de Fin de Grado se ha iniciado el análisis funcional del gen *RRP8* de *Arabidopsis*, caracterizando el fenotipo morfológico y molecular de dos alelos insercionales del gen *RRP8* y obteniendo transgenes para establecer la localización subcelular de la proteína RRP8 (*RRP8<sub>pro</sub>:RRP8:GFP*), recuperar el fenotipo silvestre de los mutantes insercionales (*RRP8<sub>pro</sub>:RRP8*) y establecer los efectos de su sobreexpresión (*35S<sub>pro</sub>:RRP8*). Hemos visualizado la maduración de los ARNr y su abundancia relativa mediante análisis de *northern* y electroforesis capilar. Para la obtención de los transgenes, hemos utilizado la tecnología Gateway y para transferirlos a plantas de *Arabidopsis*, su infiltración con la bacteria *Agrobacterium tumefaciens*.

**Palabras clave:** *Arabidopsis*, biogénesis del ribosoma, proceosoma SSU, RRP8.

Ribosomes are highly conserved machineries in all living organisms, consisting of ribosomal RNA (rRNA) and ribosomal proteins (RPs). Understanding the biogenesis of the cytoplasmic 80S ribosome requires studying the numerous factors involved, which are usually structurally and functionally conserved in eukaryotes. Ribosomal RNA Processing 8 (RRP8) is one of the ribosome biogenesis factors that participates in the maturation of 25S ribosomal RNA (rRNA) in *Saccharomyces cerevisiae* and humans, but has not been studied in plants. In this Bachelor's Thesis, we have initiated the functional analysis of the *Arabidopsis RRP8* gene, characterizing the morphological and molecular phenotype of two insertional alleles, obtaining transgenes to establish the subcellular localization of the RRP8 protein (*RRP8<sub>pro</sub>:RRP8:GFP*), rescue the wild-type phenotype of the insertional mutants (*RRP8<sub>pro</sub>:RRP8*), and establish the effects of its overexpression (*35S<sub>pro</sub>:RRP8*). We visualized rRNA maturation and their relative abundance through northern analysis and capillary electrophoresis. We have used the Gateway technology for obtaining the transgenes, which were transferred into *Arabidopsis* plants through infiltration with the bacterium *Agrobacterium tumefaciens*.

**Keywords:** *Arabidopsis*, ribosome biogenesis, SSU processome, RRP8.