



UNIVERSITAS
Miguel Hernández

Universidad Miguel Hernández de Elche

**Establecimiento de la localización
subcelular de POL5, UTP18, PRH75
y RRP36 de *Arabidopsis thaliana***

Juan Zaragoza Lillo

Tutoras:

María Rosa Ponce Molet

Rosa Micol Ponce

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Máster en Biotecnología y Bioingeniería

Instituto de Bioingeniería

Curso académico 2022-2023

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

ROSA MICOL PONCE, Investigadora postdoctoral 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 Juan Zaragoza Lillo como Trabajo de Fin del Máster 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

Elche, 21 de junio de 2023.

I.- RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

El ribosoma es una maquinaria universal y esencial cuya biogénesis consume la mayor parte de los recursos energéticos de cualquier célula y, por tanto, está estrictamente regulada. Estamos estudiando varios genes de *Arabidopsis* que codifican presuntos factores de la biogénesis del ribosoma (RBF) y que pudieran participar en su regulación: *PLANT RNA HELICASE75 (PRH75)*, *U3 SMALL NUCLEOLAR RNA-ASSOCIATED PROTEIN 18 (UTP18)*, *RIBOSOMAL RNA PROCESSING 36 (RRP36)* y *POLYMERASE 5 (POL5)*. No se han publicado estudios funcionales de estos genes en *Arabidopsis*, excepto de *PRH75*, que participa en la maduración del ARNr 18S. Para determinar la localización subcelular de estos supuestos RBF, generamos fusiones traducionales de los genes que los codifican con el de la proteína verde fluorescente (GFP), bajo el control de sus propios promotores. Transferimos los transgenes a plantas *POL5/pol5-1*, *UTP18/utp18-1*, *prh75-1/prh75-1* y a sus respectivos tipos silvestres. Los transgenes *PRH75_{pro}:PRH75:GFP* y *UTP18_{pro}:UTP18:GFP* rescataron parcialmente el fenotipo mutante de *atr7-2* y *utp18-1*, respectivamente. Sin embargo, el transgén *POL5_{pro}:POL5:GFP* rescató por completo el fenotipo letal embrionario del mutante *pol5-1*. Además, hemos determinado que las cuatro proteínas son predominantemente nucleolares, que era lo que esperábamos.

Palabras clave: *Arabidopsis*, biogénesis del ribosoma, procesoma SSU, GFP.

The ribosome is a universal and essential machinery whose biogenesis consumes the majority of the energy resources of any cell and, therefore, it is strictly regulated. We are studying several *Arabidopsis* genes encoding putative ribosome biogenesis factors (RBFs): *PLANT RNA HELICASE75 (PRH75)*, *U3 SMALL NUCLEOLAR RNA-ASSOCIATED PROTEIN 18 (UTP18)*, *RIBOSOMAL RNA PROCESSING 36 (RRP36)* and *POLYMERASE V (POL5)*. No functional studies of these genes have been published in *Arabidopsis*, except for *PRH75*, which participates in 18S rRNA maturation. To determine the subcellular localization of these putative RBFs, we generated transgenes containing translational fusions of these genes and the *GFP* gene, driven by their endogenous promoters. We transferred the transgenes to *POL5/pol5-1*, *UTP18/utp18-1* and *prh75/prh75* and their respective wild-types. The *PRH75_{pro}:PRH75:GFP* and *UTP18_{pro}:UTP18:GFP* transgenes partially rescued the *atr7-2* and *utp18-1* mutant phenotype, respectively. However, the *POL5_{pro}:POL5:GFP* transgene completely rescued the embryonic lethal phenotype of the *pol5-1* mutant. Furthermore, we have determined that all four proteins are predominantly nucleolar, which was expected.

Keywords: *Arabidopsis*, ribosome biogenesis, SSU proceosome, GFP.