



Universidad Miguel Hernández de Elche

**Identificación de mutaciones
puntuales mediante
secuenciación masiva en
*Arabidopsis thaliana***

Ana García Pérez

Tutores:

José Luis Micol Molina

David Wilson Sánchez

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Grado en Biotecnología

Facultad de Ciencias Experimentales

Curso académico 2013/2014

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

DAVID WILSON SÁNCHEZ, contratado predoctoral del Programa Valid+d de la Generalitat Valenciana,

HACEMOS CONSTAR:

Que el presente trabajo ha sido realizado bajo nuestra dirección y recoge fielmente la labor realizada por Ana García Pérez 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.

José Luis Micol Molina

David Wilson Sánchez

Elche, 4 de julio de 2014.

I.- RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

La organogénesis en general y el desarrollo foliar en particular sólo pueden comprenderse si se identifican los genes que los controlan para desentrañar sus funciones. La disección genética del desarrollo mediante abordajes mutacionales se ha basado tradicionalmente en la clonación posicional de los genes mutados mediante análisis de ligamiento a marcadores moleculares. Las técnicas de secuenciación masiva han modificado drásticamente estas aproximaciones, reduciendo considerablemente el tiempo necesario para recorrer el camino que separa el fenotipo del gen.

En este trabajo hemos identificado la mutación causante del fenotipo del mutante *angulata9-1* (*anu9-1*) de *Arabidopsis thaliana*, que presenta hojas cloróticas, estrechas y con indentaciones. Hemos secuenciado el genoma de *anu9-1* y su ancestro silvestre Ler utilizando un secuenciador masivo Ion Proton. Empleando la plataforma bioinformática Galaxy, hemos analizado las lecturas proporcionadas por el secuenciador y hemos encontrado una mutación en el gen At5g14100, que codifica la proteína NON-INTRINSIC ABC PROTEIN 14 (NAP14). Esta mutación introduce un codón de terminación prematuro.

An understanding of organogenesis in general and in particular leaf development can only be gained through the isolation and study of the genes that control these processes in order to unravel the functions of these genes. The genetic dissection of development through mutational approaches has traditionally been based on the positional cloning of the mutated genes by linkage analysis to molecular markers. Massive sequencing techniques have dramatically modified these approaches, considerably reducing the time required to go from the phenotype to the gene.

We studied in this work the *angulata9-1* (*anu9-1*) mutant of *Arabidopsis thaliana*, which exhibits narrow, chlorotic and dentate leaves. We sequenced the genome of *anu9-1* and its wild type Ler in an Ion Proton massive sequencer. Using the Galaxy bioinformatics platform, we analyzed the reads provided by the sequencer and have found a mutation in the At5g14100 gene, which encodes NON-INTRINSIC ABC PROTEIN 14 (NAP14). This mutation creates a premature stop codon.

Palabras clave: Desarrollo foliar, análisis de mutantes, clonación posicional, secuenciación masiva, Ion Proton.