



Universidad Miguel Hernández de Elche

**Análisis de las funciones
postembrionarias de genes letales
embrionarios en *Arabidopsis thaliana*
mediante el uso de transgenes**

Oliver Pérez Howell

Tutores:

José Luis Micol Molina

Tamara Muñoz Nortes

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
TAMARA MUÑOZ NORTES, contratada predoctoral del Programa VALi+d de la Generalitat Valenciana,

HACEMOS CONSTAR:

Que el presente trabajo ha sido realizado bajo nuestra dirección y recoge fielmente la labor realizada por Oliver Pérez Howell como Trabajo de Fin de 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

Tamara Muñoz Nortes

Elche, 4 de julio de 2014.

I.- RESUMEN

El genoma de *Arabidopsis thaliana* contiene centenares de genes, cuyos alelos de pérdida de función causan letalidad embrionaria. Aunque gran parte de estos genes letales embrionarios se expresan también en etapas posteriores del desarrollo de la planta, sus funciones postembrionarias no pueden estudiarse mediante métodos convencionales, ya que todos sus alelos mutantes descritos causan letalidad en estadios tempranos de desarrollo. Las técnicas del análisis clonal proporcionan una solución a este problema, al hacer posible el estudio del fenotipo causado por las mutaciones letales embrionarias en grupos de células de plantas adultas.

Hemos elegido 17 genes letales embrionarios para su análisis clonal en hojas de *Arabidopsis thaliana* mediante una aproximación que implica el uso de transgenes y su escisión mediada por la recombinasa específica de sitio Cre. A partir de construcciones *pCB1-Gateway* generadas anteriormente, hemos obtenido líneas de plantas de *Arabidopsis* doblemente transgénicas. Hemos identificado plantas transformantes mediante siembra en medio selectivo y las hemos genotipado por PCR para confirmar la presencia de los transgenes.

The genome of *Arabidopsis thaliana* contains hundreds of genes whose loss-of-function alleles cause embryonic lethality. Although many of the embryo-lethal genes are also expressed in other stages of plant development, its postembryonic functions cannot be studied by conventional methods because all their known alleles cause early lethality. Clonal analysis techniques provide a solution to this problem, as they make possible the study of the phenotype caused by embryo-lethal mutations in groups of cells of adult plants.

We chose 17 embryo-lethal genes for clonal analysis in *Arabidopsis thaliana* leaves, in order to take an approach involving transgenes and their excision mediated by the site-specific recombinase Cre. From *pCB1-Gateway* constructs previously generated, we have obtained lines of *Arabidopsis* that are doubly transgenic. We have selected the transformed plants by sowing them in selective medium; the plants were genotyped by PCR to confirm the presence of both transgenes.

Palabras clave: *Arabidopsis thaliana*, letal embrionario, análisis clonal, Gateway, agroinfiltración, genotipado.