



Universidad Miguel Hernández de Elche

**Obtención de transgenes para  
el análisis funcional de los genes  
*DEN3, DEN7 y DEN9* en Arabidopsis**

**Carla Navarro Quiles**

Tutores:

José Luis Micol Molina  
María Rosa Ponce Molet  
Eduardo Mateo Bonmatí

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Grado en Biotecnología

Facultad de Ciencias Experimentales

Curso académico 2014-2015

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

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

EDUARDO MATEO BONMATÍ, contratado predoctoral del Programa de Formación de Profesorado Universitario (FPU) del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte,

HACEMOS CONSTAR:

Que el presente trabajo ha sido realizado bajo nuestra dirección y recoge fielmente la labor realizada por Carla Navarro Quiles 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

Eduardo Mateo Bonmatí

José Luis Micol Molina

Elche, 26 de junio de 2015.

## I.- RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

En este trabajo se han desarrollado herramientas genéticas para contribuir al estudio del presunto papel morfogenético del ribosoma de *Arabidopsis*. En el laboratorio de J.L. Micol se aislaron tres mutantes *denticulata* (*den3*, *den7* y *den9*) que muestran hojas pequeñas, apuntadas e indentadas, un fenotipo usualmente asociado a la insuficiencia de función de las proteínas ribosómicas. El análisis de ligamiento de estos mutantes y la secuenciación masiva de sus genomas permitió identificar genes candidatos a causar su fenotipo: At3g62870, At1g73180 y At1g17960, respectivamente. Los alelos silvestres de estos genes han sido clonados en vectores de entrada *Gateway* en este trabajo. Los insertos así obtenidos fueron subclonados en diferentes tipos de vectores de destino en *Escherichia coli* y sucesivamente transferidos a *Agrobacterium tumefaciens* y plantas de *Arabidopsis* silvestres y mutantes *den*. Hemos construido por este procedimiento transgenes para la sobreexpresión de los genes a estudio, la determinación de su patrón de expresión espacial y temporal, y la localización subcelular de su producto proteico. Hemos confirmado que At3g62870 causa el fenotipo de *den3*, y excluido que At1g73180 y At1g17960 causen los de *den7* y *den9*, respectivamente.

**Palabras clave:** *Arabidopsis thaliana*; dorsoventralidad; ribosoma; *DENTICULATA*.

In this work, we describe genetic tools that we developed in order to contribute to the study of the putative morphogenetic role of *Arabidopsis* ribosomes. Three *denticulata* (*den3*, *den7* and *den9*) mutants were isolated in the laboratory of J.L. Micol, which exhibited small, pointed and dentate leaves, a phenotype usually associated to the loss of function of ribosomal proteins. Linkage analysis and massive genome sequencing of these mutants allowed the identification of genes that were considered likely candidates to cause their phenotypes: At3g62870, At1g73180 and At1g17960, respectively. We cloned in *Gateway* entry vectors the wild-type alleles of these genes. The inserts obtained in this way were subcloned in different types of destination vectors in *Escherichia coli*, then mobilized to *Agrobacterium tumefaciens* and finally transferred to wild-type and *den* *Arabidopsis* plants. We constructed in this way transgenes for the overexpression of the genes under study, to determine their spatial and temporal expression patterns, and the subcellular localization of their protein products. We confirmed that At3g62870 causes the phenotype of the *den3* mutant, and excluded At1g73180 y At1g17960 as causal genes for the phenotypes of *den7* and *den9*, respectively.

**Keywords:** *Arabidopsis thaliana*; dorsoventrality; ribosome; *DENTICULATA*.