



Universidad Miguel Hernández de Elche

**Análisis de las interacciones de
DESIGUAL1 con *PASTICCINO2* y
ECERIFERUM10 en *Arabidopsis***

Eduardo Muñoz Díaz

Tutores:

José Luis Micol Molina

David Wilson Sánchez

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Grado en Biotecnología

Facultad de Ciencias Experimentales

Curso académico 2016-2017

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

DAVID WILSON SÁNCHEZ, Contratado 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 Eduardo Muñoz Díaz 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.

David Wilson Sánchez

José Luis Micol Molina

Elche, 29 de junio de 2017.

I.- RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

En el laboratorio de J.L. Micol se han llevado a cabo varias búsquedas de mutantes foliares de *Arabidopsis*. En una de dichas búsquedas se identificaron unos 700 mutantes con alteraciones en la morfología de la hoja, portadores de inserciones indexadas de ADN-T, solo uno de los cuales manifestó asimetría bilateral: *desigual1-1* (*deal1-1*). DEAL1 es una proteína de membrana de función desconocida que se localiza en el retículo endoplásmico. En un escrutinio basado en el ensayo del doble híbrido de la levadura se identificaron varios presuntos interactores de DEAL1: PASTICCINO2 (PAS2), ECERIFERUM10 (CER10) y otras enzimas implicadas en la síntesis de ácidos grasos de cadena muy larga. En este trabajo hemos diseñado, construido y transferido a plantas de *Arabidopsis* las fusiones transcripcionales $35S_{pro}:PAS2$ y $35S_{pro}:CER10$. No hemos observado efecto alguno de estos transgenes sobre el fenotipo foliar de las plantas transgénicas así obtenidas. También hemos iniciado la construcción de las fusiones traduccionales *YFPn:DEAL1* e *YFPc:PAS2*, que permitirán más adelante la realización de ensayos de complementación fluorescente bimolecular para confirmar la interacción entre DEAL1 y PAS2 que se detectó mediante un ensayo del doble híbrido de la levadura.

Palabras clave: *Arabidopsis*; *DESIGUAL1*; *PAS2*; *CER10*; sobreexpresión; interacción entre proteínas.

Several screens for *Arabidopsis* leaf mutants have been conducted in the laboratory of J.L. Micol. Over 700 indexed T-DNA insertional lines with alterations in leaf morphology were isolated in one of these screens, only one of which showed bilateral asymmetry: *desigual1-1* (*deal1-1*). DEAL1 is a membrane protein of unknown function that localizes to the endoplasmic reticulum. A screen based in the yeast-two-hybrid (Y2H) assay identified physical interactors of the DEAL1 protein, including PASTICCINO2 (PAS2), ECERIFERUM10 (CER10) and other enzymes involved in Very Long Chain Fatty Acid synthesis. In this End of Degree Assignment, we designed, constructed and transferred into *Arabidopsis* plants the $35S_{pro}:PAS2$ and $35S_{pro}:CER10$ transcriptional fusions. No effect of these transgenes was observed on the leaf phenotype of the transgenic plants. We also designed and constructed *YFPn:DEAL1* and *YFPc:PAS2* translational fusions, in order to perform bimolecular fluorescence complementation assays to confirm the DEAL1-PAS2 interaction detected in a Y2H assay.

Keywords: *Arabidopsis*; *DESIGUAL1*; *PAS2*; *CER10*; overexpression; protein-protein interaction.