



UNIVERSITAS
Miguel Hernández

Universidad Miguel Hernández de Elche

**Obtención de construcciones para
el análisis funcional del gen *RPS24B*
de *Arabidopsis thaliana***

Noel Gómez Molina

Tutores:

María Rosa Ponce Molet

Adrián Cabezas Fuster

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Grado en Biotecnología

Facultad de Ciencias Experimentales

Curso académico 2018/2019

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

ADRIÁN CABEZAS FUSTER, Investigador posdoctoral de la Universidad Miguel Hernández de Elche,

HACEMOS CONSTAR:

Que el presente trabajo ha sido llevado a cabo bajo nuestra dirección y recoge fielmente la labor realizada por el Graduado Noel Gómez Molina como Trabajo de Fin de Grado en Biotecnología. Las investigaciones que se reflejan en esta memoria han sido desarrolladas íntegramente en la Unidad de Genética del Instituto de Bioingeniería de la Universidad Miguel Hernández de Elche.



María Rosa Ponce Molet



Adrián Cabezas Fuster

Elche, 27 de junio de 2019

I.- RESUMEN

En este trabajo se ha contribuido a la caracterización funcional del gen *RPS24B*, que codifica una proteína presente en la subunidad menor del ribosoma (40S), y que interaccionó en ensayos de doble híbrido de levadura con el ortólogo en *Arabidopsis* del factor humano NFK β Activating Protein (NKAP), que estamos estudiando en el laboratorio. NKAP está implicado en el splicing de los pre-ARNm y en la biogénesis del ribosoma. Hemos obtenido, mediante la tecnología *Gateway*, construcciones para la determinación de la localización subcelular de RPS24B, estudiar los efectos de su sobreexpresión y para rescatar el fenotipo de plantas mutantes *rps24b-2*. Hemos comprobado en las plantas T₁ que RPS24B se localiza en el nucléolo y citoplasma, pero no en el nucleoplasma. Hemos caracterizado un nuevo alelo puntual de *RPS24B* mediante ensayo de complementación con *rps24b-2* (*apiculata6*). Hemos obtenido plantas mutantes procedentes de cruzamientos de *rps24b-2* por otros mutantes, cuyos productos génicos están implicados en la biogénesis del ribosoma, el silenciamiento génico mediado por microARN o el splicing del pre-ARNm, obteniendo fenotipos sinérgicos en varios de ellos, lo que sugiere la existencia de interconexión entre estas rutas.

Palabras clave: *RPS24B*, proteína ribosómica, *Arabidopsis thaliana*.

In this work, we have contributed to the functional characterization of *RPS24B* gene, encoding a protein located in the minor ribosomal subunit (40S), which interacted in yeast two hybrid assays with the *Arabidopsis* ortholog of the human NFK β Activating Protein (NKAP), which has been studied in the laboratory. NKAP is involved in pre-mRNA splicing and ribosomal biogenesis. We have obtained, through *Gateway* technology, gene constructions in order to determine the subcellular location of the RPS24B protein, the effects from its overexpression and to carry out the phenotypic rescue of *rps24b-2* plants. We have proven in T₁ plants the nucleolar and cytoplasmic location of RPS24B protein and its nucleoplasm exclusion. We have identified a novel punctual *RPS24B* allele by a complementation assay (*apiculata6*). We have obtained double mutant crossing *rps24b-2* with mutants in genes which products are involved in ribosomal biogenesis, microRNA-mediated gene silencing or pre-mRNA splicing, obtaining synergistic phenotypes in some of them, which suggests an interconnexion among these pathways.

Keywords: *RPS24B*, ribosomal protein, *Arabidopsis thaliana*.