



*Miguel Hernández*

Universidad Miguel Hernández de Elche

# **Análisis funcional de los interactores de MAS2 de *Arabidopsis thaliana***

**Alejandro Ruiz Bayón**

Tutores:

María Rosa Ponce Molet

Rosa Micol Ponce

Unidad de Genética

Instituto de Bioingeniería

Máster en Biotecnología y Bioingeniería

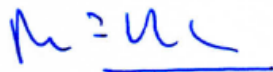
Curso académico 2015/2016

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

ROSA MICOL PONCE, contratada predoctoral de la Universidad Miguel Hernández de Elche,

HACEMOS CONSTAR:

Que el presente trabajo ha sido realizado bajo nuestra dirección y recoge fielmente la labor llevada a cabo por el Graduado Alejandro Ruiz Bayón como Trabajo de Fin de Máster en Biotecnología y Bioingeniería. 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



Rosa Micol Ponce

Elche, 23 de junio de 2016.

## I.- RESUMEN

La proteína MAS2 (MORPHOLOGY OF AGO1-52 SUPPRESSED2) de *Arabidopsis* está presuntamente implicada en la regulación del *splicing*, la síntesis del ARN ribosómico y la traducción. En un escrutinio basado en el ensayo de doble híbrido en levadura se identificaron tres proteínas que interactúan con MAS2; las ortólogas humanas y de *Saccharomyces cerevisiae* de dos de ellas están implicadas en la biogénesis del ribosoma: NOP53 (Nucleolar Protein 53) y RRP7 (Ribosomal RNA-processing Protein 7). Se desconoce la función de la tercera, CXIP4, que es específica de las plantas. Hemos comprobado que el mutante *rrp7-1* es hipersensible al ácido abscísico, y que el patrón de venación de sus cotiledones, hojas y pétalos es aberrante, rasgos que se sabe asociados a la disfunción de genes implicados en el metabolismo del ARN y la traducción. El mutante *nop53-1*, sin embargo, no muestra estos rasgos. Hemos construido dos transgenes productores de microARN artificiales diseñados para silenciar parcialmente a *CXIP4*, cuyos alelos nulos son letales. También hemos obtenido transgenes para visualizar la expresión de *CXIP4*, su sobreexpresión en plantas silvestres, la complementación de sus alelos mutantes, y la localización subcelular de la proteína CXIP4. Todas estas construcciones se han verificado y transferido a plantas para el ulterior estudio de sus efectos.

**Palabras clave:** *CXIP4*, *NOP53*, *RRP7*, ARN ribosómicos, *Arabidopsis thaliana*.

*Arabidopsis* MAS2 (MORPHOLOGY OF AGO1-52 SUPPRESSED2) is a protein putatively involved in the regulation of splicing, ribosomal RNA synthesis, and translation. Three MAS2 interactors were identified in a screen based on the yeast-two-hybrid assay; the human and *Saccharomyces cerevisiae* orthologs of two of these interactors are involved in ribosome biogenesis: NOP53 (Nucleolar Protein 53) and RRP7 (Ribosomal RNA-processing Protein 7). The other interactor, CXIP4, is of unknown function and plant specific. We found the *rrp7-1* mutant hypersensitive to abscisic acid, and its cotyledons, leaves and petals exhibited aberrant venation patterns, traits that are known to be associated to the loss of function of genes involved in RNA metabolism and translation. *nop53-1*, however, did not show these traits. We constructed transgenes producing artificial microRNAs designed to partially silence *CXIP4*, whose null alleles are lethal. We also obtained transgenes to visualize *CXIP4* expression, for its overexpression in wild type plants, for the complementation of its mutant alleles, and for the subcellular localization of the CXIP4 protein. All of these constructs were verified and transferred to plants for the eventual study of their effects.

**Key words:** *CXIP4*, *NOP53*, *RRP7*, ribosomal RNA, *Arabidopsis thaliana*.