



*Miguel Hernández*

Universidad Miguel Hernández de Elche

**Caracterización funcional  
de los genes CP3, CP4 y CP5  
de Arabidopsis**

**Lucía Juan Vicente**

Tutores:

José Luis Micol Molina

Eduardo Mateo Bonmatí

Unidad de Genética

Instituto de Bioingeniería

JOSÉ LUIS MICOL MOLINA, Catedrático 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 llevada a cabo por la Graduada Lucía Juan Vicente como Trabajo de Fin del 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.

Eduardo Mateo Bonmatí

José Luis Micol Molina

Elche, 30 de junio de 2017.

## I.- RESUMEN

Dos miembros de la familia génica CUPULIFORMIS (CP) de *Arabidopsis* muestran actividad epigenética: *INCURVATA11* (*ICU11*) y *CP2*. En este Trabajo de Fin de Máster hemos estudiado los restantes tres miembros de la familia CP: *CP3*, *CP4* y *CP5*. Hemos obtenido y verificado al menos dos alelos insercionales de cada uno de ellos, ninguno de los cuales tuvo efectos fenotípicos en homocigosis. Con el fin de establecer si la ausencia de fenotipo mutante observada se debe a que estos tres genes *CP* son redundantes, hemos iniciado y en varios casos concluido el diseño, construcción y transferencia a plantas de diferentes transgenes: (a) *CP3<sub>pro</sub>:GUS* y *CP5<sub>pro</sub>:GUS*, en los que el gen de la  $\beta$ -glucuronidasa de *Escherichia coli* (*GUS*) está bajo el control de los promotores de *CP3* y *CP5*, (b) *35S<sub>pro</sub>:CP5*, en el que *CP5* se transcribe bajo el control del promotor constitutivo *35S<sub>pro</sub>*, (c) *35S<sub>pro</sub>:CP5:GFP*, en el que *CP5* y el gen de la proteína fluorescente verde están fusionados en fase y (d) transgenes productores de microARN artificiales (*amiR*) o pequeños ARN interferentes sintéticos que actúan en *trans* (*syn-tasiR*), para silenciar simultáneamente varios genes *CP*. Hemos concluido que *CP3* se expresa mucho más que *CP5* durante el desarrollo vegetativo y que *CP5* parece pseudogenizado pero aún codifica una proteína nuclear cuya sobreexpresión carece de efecto fenotípico en la estirpe silvestre.

**Palabras clave:** *Arabidopsis*, dioxigenasas, epigenética, *CUPULIFORMIS*.

In *Arabidopsis*, two CUPULIFORMIS (CP) gene family members show epigenetic activity: *INCURVATA11* (*ICU11*) and *CP2*. In this End of Master Assignment, we studied the remaining three CP family members: *CP3*, *CP4* and *CP5*. We obtained and verified at least two insertional and likely null alleles of each of these genes, no one of which had phenotypic effects when homozygous. To ascertain if the observed absence of mutant phenotypes is due to functional redundancy among *CP* genes, we initiated and in some cases concluded the design, construction and transfer into plants of the following transgenes: (a) *CP3<sub>pro</sub>:GUS* and *CP5<sub>pro</sub>:GUS*, with the  $\beta$ -glucuronidase gene of *Escherichia coli* (*GUS*) driven by the *CP3* and *CP5* promoters, (b) *35S<sub>pro</sub>:CP5*, with the *CP5* transcription unit driven by the *35S<sub>pro</sub>* constitutive promoter, (c) *35S<sub>pro</sub>:CP5:GFP*, with the *CP5* and green fluorescent protein genes fused in frame, and (d) transgenes producing artificial microRNAs (*amiR*) and synthetic trans-acting small interfering RNAs (*syn-tasiR*) for the simultaneous silencing of several *CP* genes. We concluded that *CP3* is expressed at a larger extent than *CP5* during vegetative development and that *CP5* seems to be pseudogenized but still encodes a nuclear protein without phenotypic effect when overexpressed in Col-0.

**Keywords:** *Arabidopsis*, dioxigenases, epigenetics, *CUPULIFORMIS*.