

Caracterización y análisis de expresión del gen *TCTP* en fagáceas

Purificación Covelo, Elena Varas, Saleta Rico, Nieves Vidal, Conchi Sánchez.

Departamento de Fisiología Vegetal. Instituto de Investigaciones Agrobiológicas de Galicia. IIAG (CSIC). Avda de Vigo s/n. 15705 Santiago de Compostela, A Coruña.
pcovelo@iiag.csic.es

Palabras clave: alcornoque, castaño, embriones, expresión génica, raíces, roble

Resumen

La proteína TCTP (“translationally controlled tumor protein”), aislada en organismos tan diferentes como levaduras, animales y plantas, tiene una secuencia altamente conservada en eucariotas y su expresión está regulada tanto a nivel transcripcional como traduccional. TCTP es una proteína multifuncional que parece estar implicada en diversos procesos celulares como proliferación, crecimiento celular, carcinogénesis, protección frente a situaciones de estrés o apoptosis.

Estudios previos en plantas indican que *TCTP* se expresa preferencialmente en zonas meristemáticas y tejidos en proliferación, actúa como regulador mitótico y su silenciamiento provoca serios problemas de crecimiento. La identificación de este gen en otras especies y el análisis de su patrón expresión en diferentes procesos y tejidos, nos aportará información de gran interés en cuanto a su posible función y en qué procesos puede estar participando en especies leñosas, concretamente dentro de la familia Fagaceae.

Los objetivos del presente trabajo son: 1) aislar e identificar los genes homólogos a *TCTP* en fagáceas y 2) analizar la expresión espacio temporal del gen mediante hibridación *in situ* y qPCR en diferentes procesos morfogénicos y tejidos meristemáticos: embriogénesis, enraizamiento, raíces, ápices y yemas.

Para la identificación del gen, se aisló ARN a partir de diferentes especies (roble, castaño y alcornoque) y se diseñaron cebadores específicos a partir de un EST de la base de datos de fagáceas (<http://www.fagaceae.org/home>) que presenta una elevada homología con el gen *TCTP*. Mediante retrotranscripción, reacciones de PCR y RACE 3' y 5' se obtuvieron los productos correspondientes, los cuales se clonaron y secuenciaron. El análisis de expresión en procesos embriogénicos, se realizó en embriones somáticos recogidos en diferentes estadios de desarrollo (globular, torpedo y cotiledonar) mediante qPCR y/o hibridación *in situ*. En algún caso el estudio se completó en embriones cigóticos. El análisis del patrón de expresión en tejidos meristemáticos se realizó mediante hibridación *in situ*, en primordios de raíz, raíces, yemas y ápices.

El análisis de las secuencias revela que el gen codifica una proteína de unos 168 aminoácidos, con dos dominios conservados, TCTP1 y TCTP2, que guarda una alta homología con proteínas de la superfamilia TCTP, y posee una secuencia altamente conservada entre las especies estudiadas. Los resultados previos del análisis de expresión durante la embriogénesis sugieren que el gen TCTP participa en el patrón de desarrollo embriogénico. Un estudio más exhaustivo de la localización del transcrito, en diferentes tejidos y procesos ayudará a dilucidar su función.

Este trabajo fue financiado por la Xunta de Galicia (10MRU400033PR)