

## **Análisis molecular y funcional de la proteína AtMBD4 de *Arabidopsis thaliana***

**Ramiro-Merina, Ángel<sup>1</sup>; Ariza, Rafael R.<sup>1</sup>; Roldán-Arjona, Teresa<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Genética, Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC)/Hospital Universitario Reina Sofía/Universidad de Córdoba, 14071 Córdoba, España

MBD4 es una ADN glicosilasa que ha sido propuesta como un factor central para el mantenimiento de la integridad del genoma y las respuestas al daño del ADN. Existen pruebas de que en vertebrados participa en la reparación por escisión de bases, la reparación de apareamientos erróneos, el control del ciclo celular en respuesta a daños en el genoma y la desmetilación del ADN, lo que implicaría un posible papel en procesos de regulación epigenética. Sin embargo, se desconoce si en plantas existe alguna proteína que desempeñe funciones similares.

Mediante análisis bioinformático hemos identificado un gen de la planta modelo *Arabidopsis thaliana* (*AtMBD4*) que codifica un posible ortólogo de MBD4. Nuestro objetivo es determinar si la proteína AtMBD4 participa en la reparación de productos de desaminación de la 5-meC y/o C, en el proceso de desmetilación de ADN, o en algún otro mecanismo relacionado con la integridad del genoma y/o la regulación epigenética en plantas.

Para la caracterización *in vitro* de la actividad bioquímica de AtMBD4 se ha purificado la enzima en forma recombinante y se ha analizado su actividad catalítica sobre diferentes lesiones localizadas en diversos contextos de secuencia. Hemos confirmado que posee actividad ADN glicosilasa frente a timina, uracilo y diversos derivados halogenados de éste. Además, los resultados indican que AtMBD4 se une al sitio abásico que genera en el ADN tras la escisión de la base, lo que explicaría su baja tasa de recambio *in vitro*.

Paralelamente a su caracterización bioquímica, hemos comenzado a estudiar la función *in vivo* de esta enzima. Mediante RT-PCR y transformación de plantas con una construcción del gen *GUS* precedido del promotor de *AtMBD4* hemos analizado los niveles de expresión en diferentes tejidos y etapas del desarrollo de *Arabidopsis*. Hemos observado que *AtMBD4* se expresa en múltiples tejidos y a lo largo de todo el desarrollo de la planta, sugiriendo una función basal aún por determinar.

Asimismo, hemos identificado una línea de plantas mutantes (FLAG\_249E06/\_238F06) que presentan una inserción de ADN-T próxima a la región 3' UTR de *AtMBD4*. Hemos comprobado por medio de RT-PCR que las plantas *atmbd4*<sup>-/-</sup> tienen un nivel de expresión de *AtMBD4* muy reducido a causa de esta inserción. Además, hemos realizado un análisis fenotípico de las plantas mutantes en comparación con las silvestres y se ha comenzado a estudiar su respuesta a la presencia de diferentes mutágenos en el medio de crecimiento.