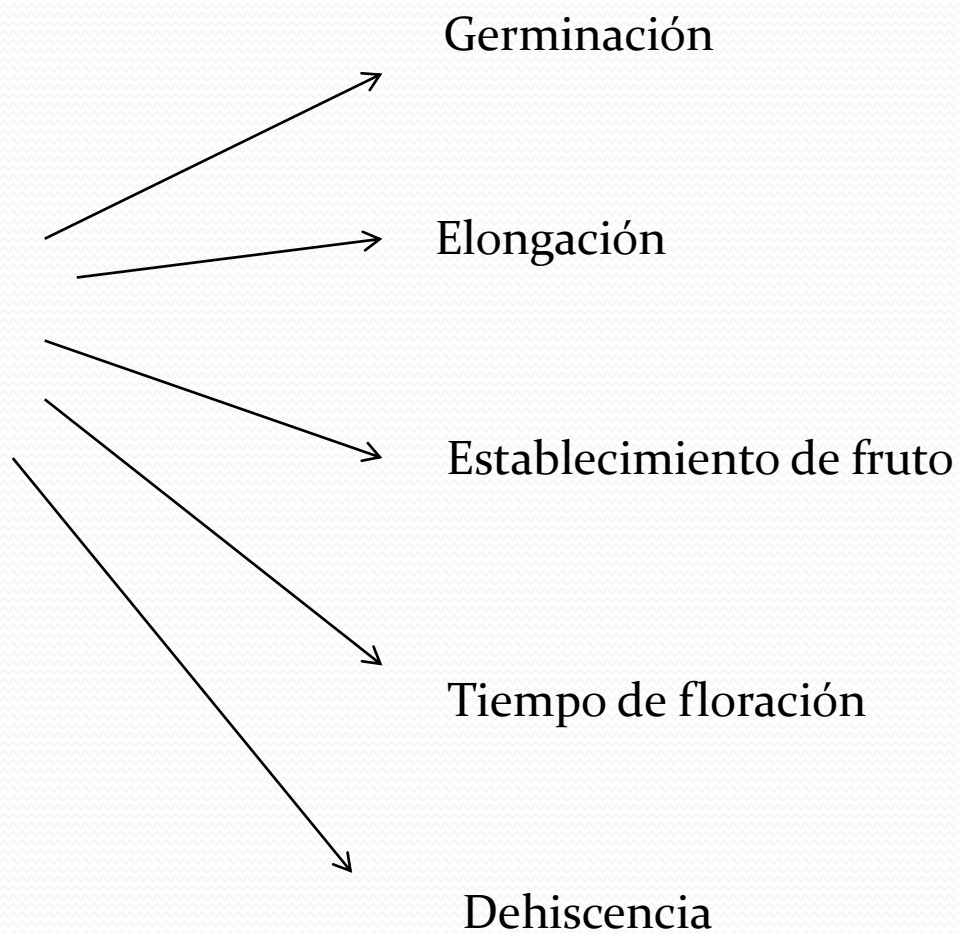


# REGULACIÓN ESPACIAL DE LA RUTA DE SEÑALIZACIÓN POR GIBERELINAS

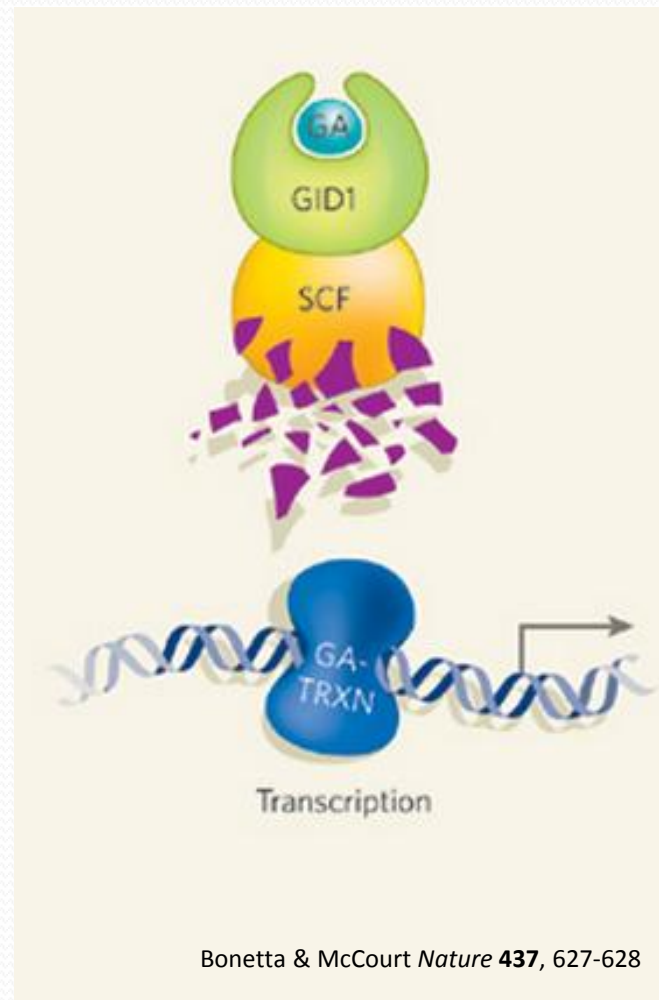
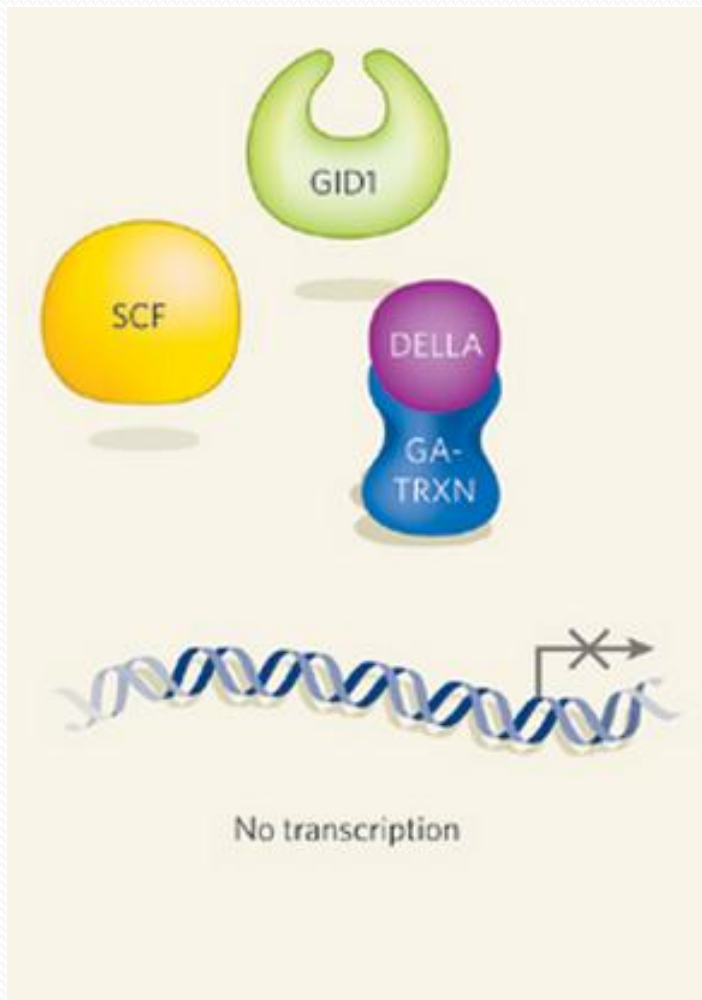
Juan Camilo Álvarez Mahecha

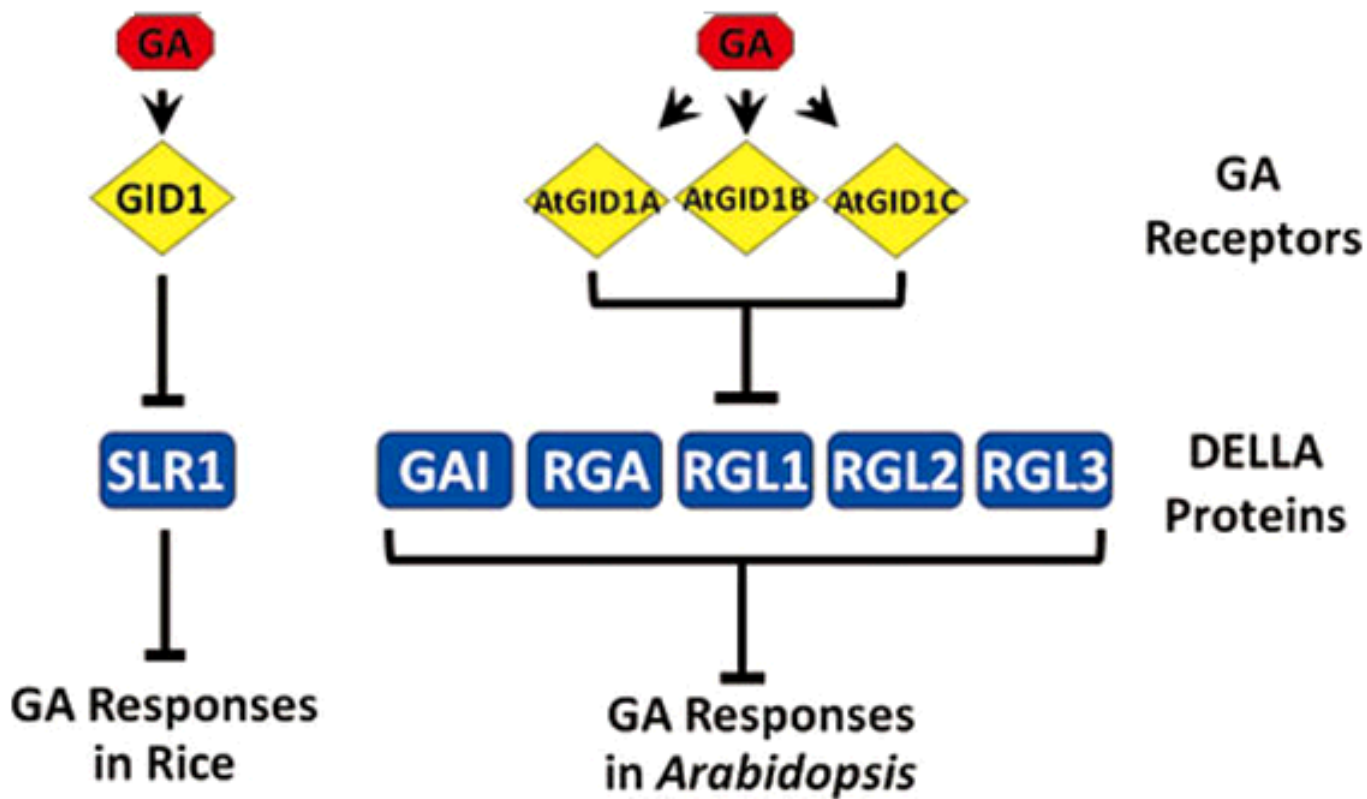
**Master en Biología Molecular y Celular de Plantas**

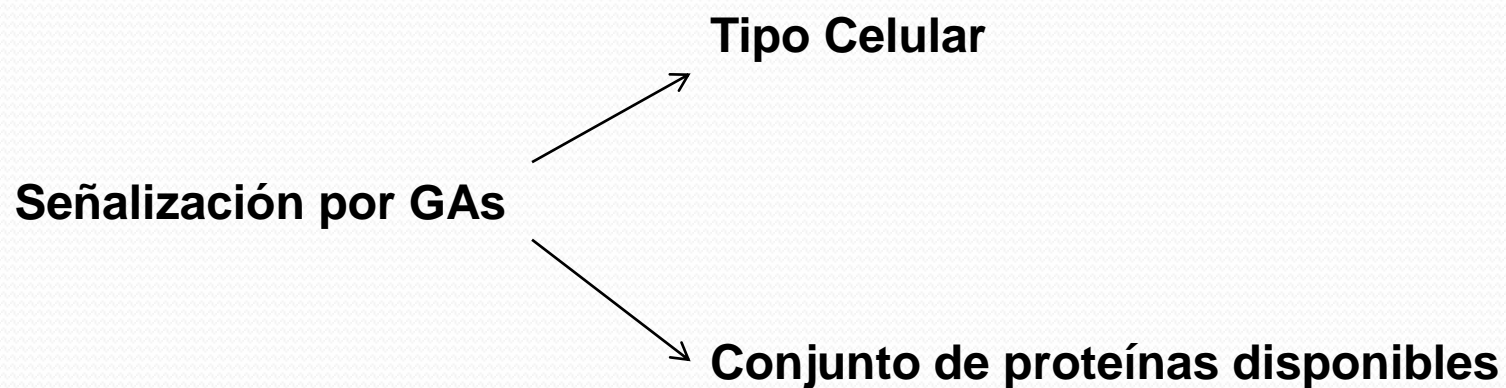
**GIBERELINAS (GAs)**



## Ruta de señalización por GAs





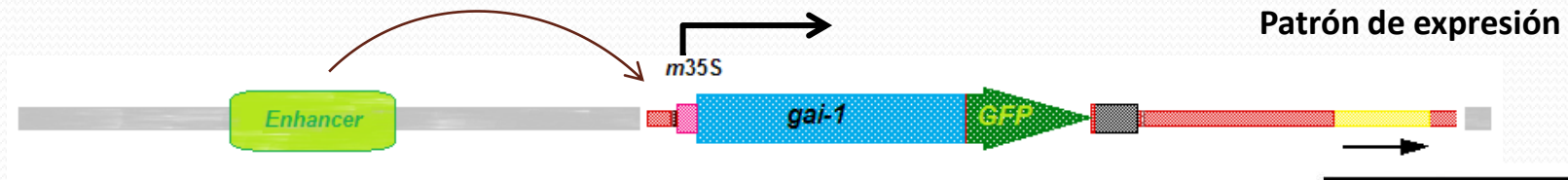
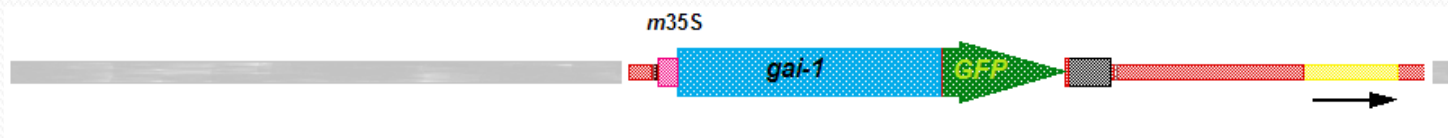
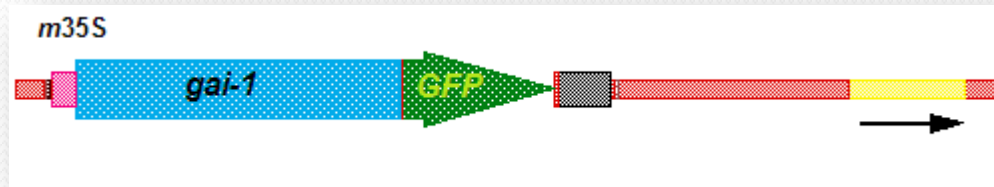


## OBJETIVOS

Realizar un rastreo de tipo *enhancer trap* que permita obtener líneas con patrones de expresión específicos de tejido para la señalización por giberelinas.

- Generar líneas de expresión de la proteína de fusión *gai-1:GFP* en tejidos concretos que sean útiles como herramienta para estudios posteriores.
- Realizar una correlación entre la expresión de *gai-1:GFP* y el fenotipo.

# MATERIALES Y MÉTODOS



GA <sub>3</sub>	-	+	-	+
	Ler		gai-1	

The Plant Cell, Vol. 17, 1941–1952, July 2005, www.plantcell.org © 2005 American Society of Plant Biologists

## Phytochrome B in the Mesophyll Delays Flowering by Suppressing *FLOWERING LOCUS T* Expression in *Arabidopsis* Vascular Bundles

Motomu Endo,<sup>a</sup> Satoshi Nakamura,<sup>a</sup> Takashi Araki,<sup>b</sup> Nobuyoshi Mochizuki,<sup>a</sup> and Akira Nagatani<sup>a,1</sup>

<sup>a</sup>Laboratory of Plant Physiology, Graduate School of Science, Kyoto University, Kitashirakawa-Oiwake-Cho, Sakyo-Ku, Kyoto 606-8502, Japan

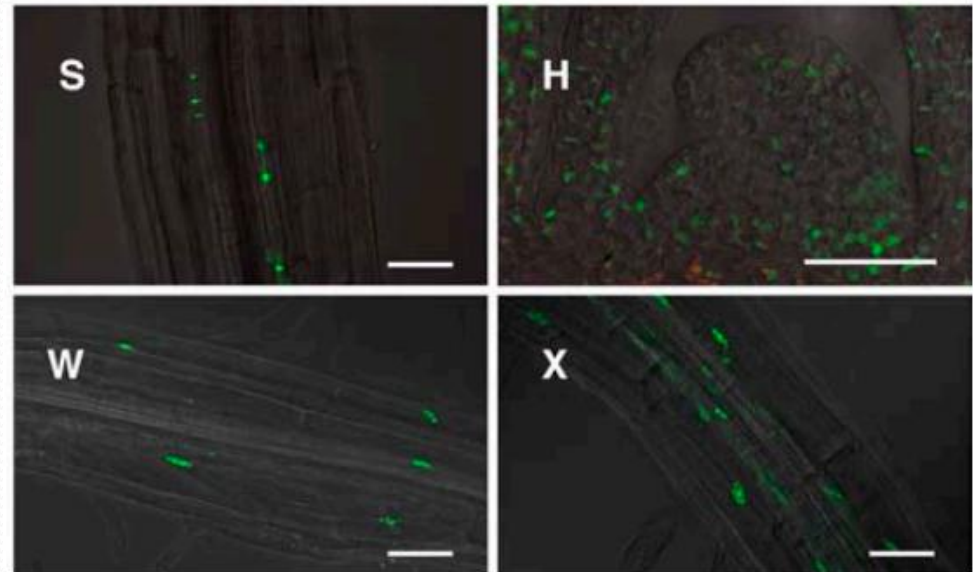
<sup>b</sup>Laboratory of Developmental Genetics, Graduate School of Science, Kyoto University, Kitashirakawa-Oiwake-Cho, Sakyo-Ku, Kyoto 606-8502, Japan



336 primary transformants

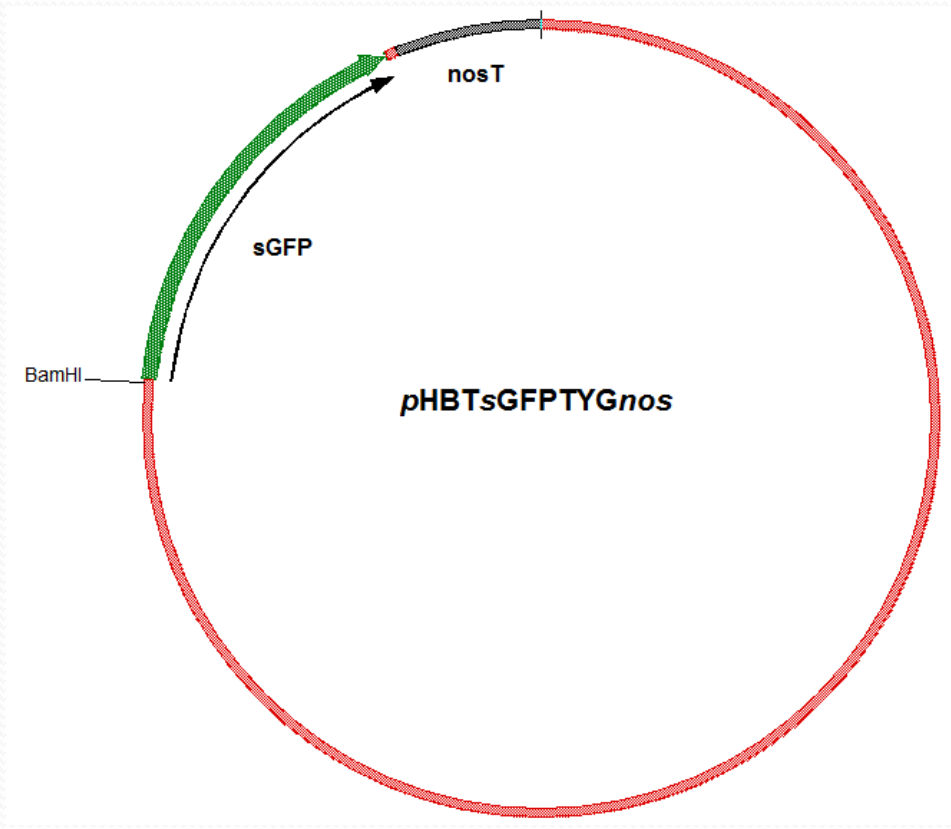
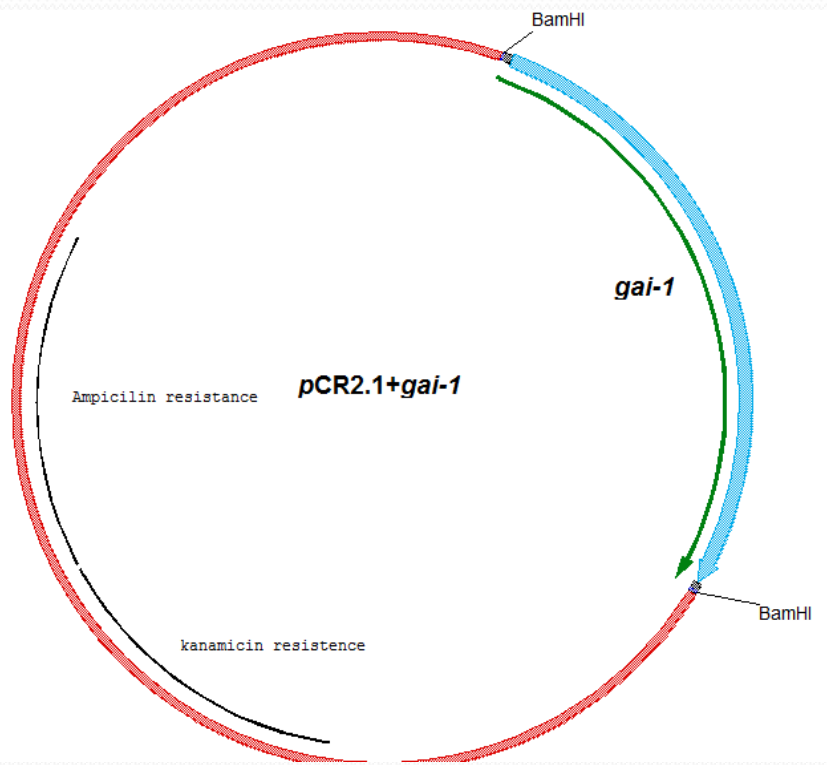
74 GFP-positive plants

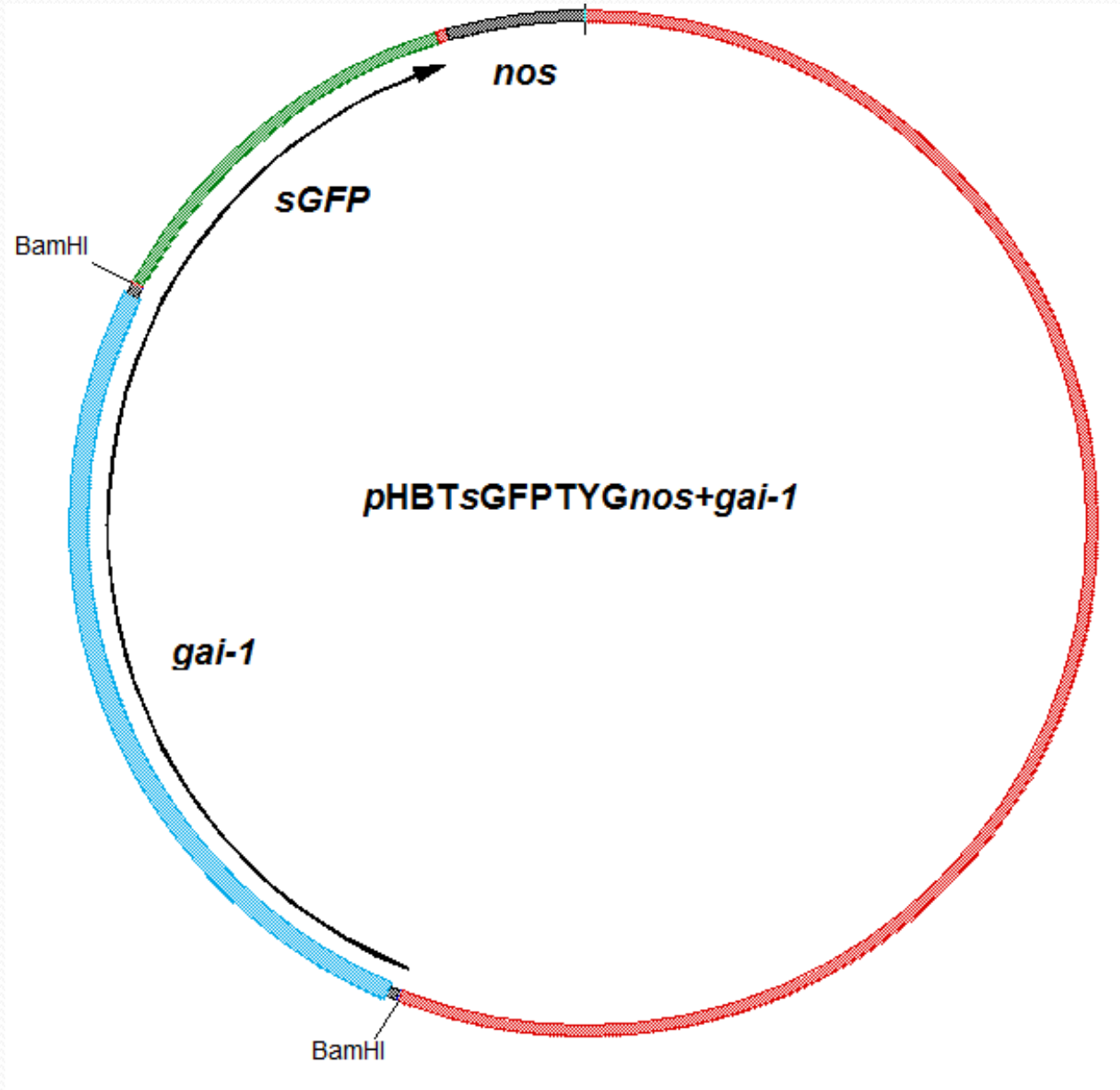
8 different expression patterns



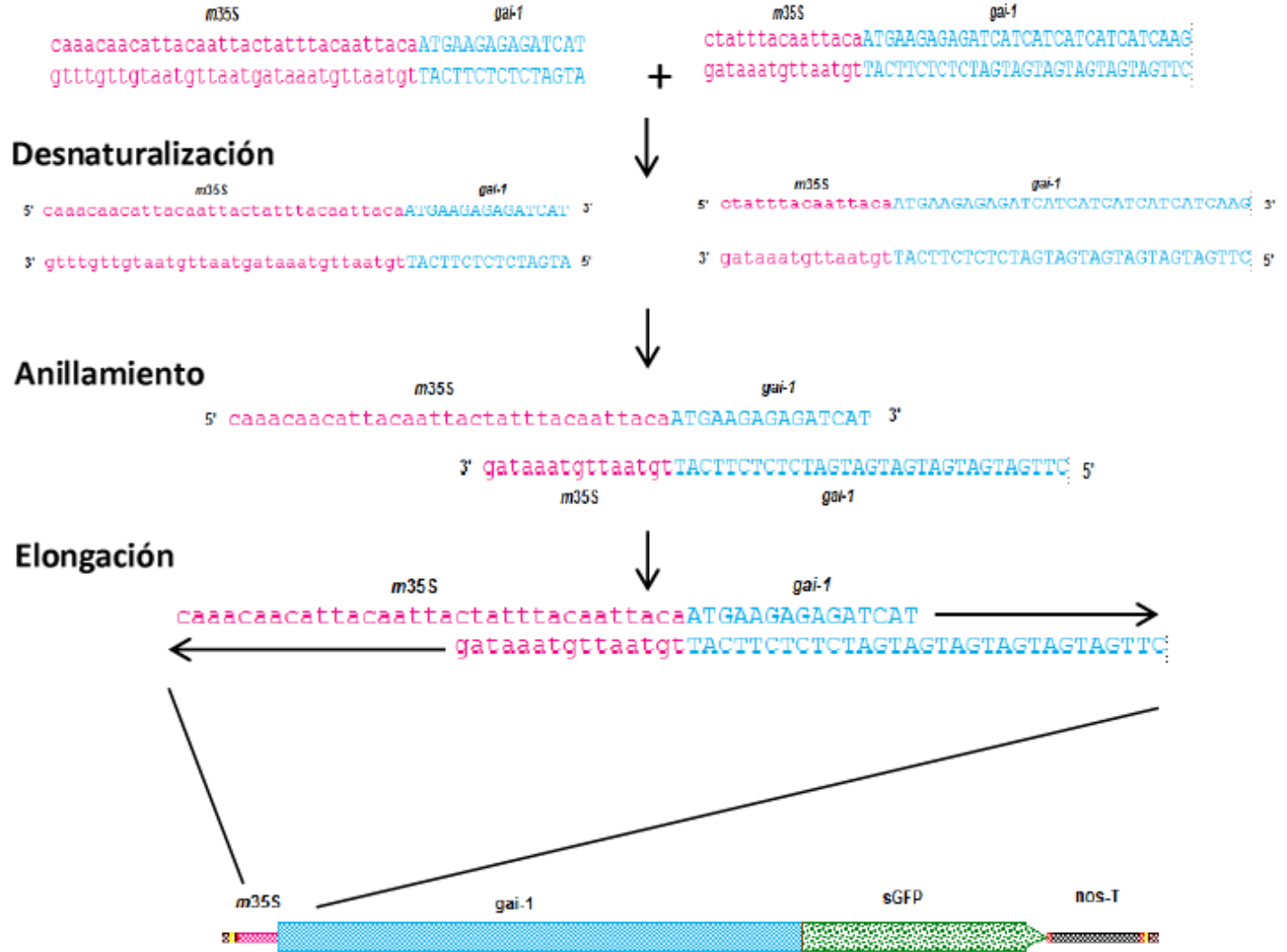


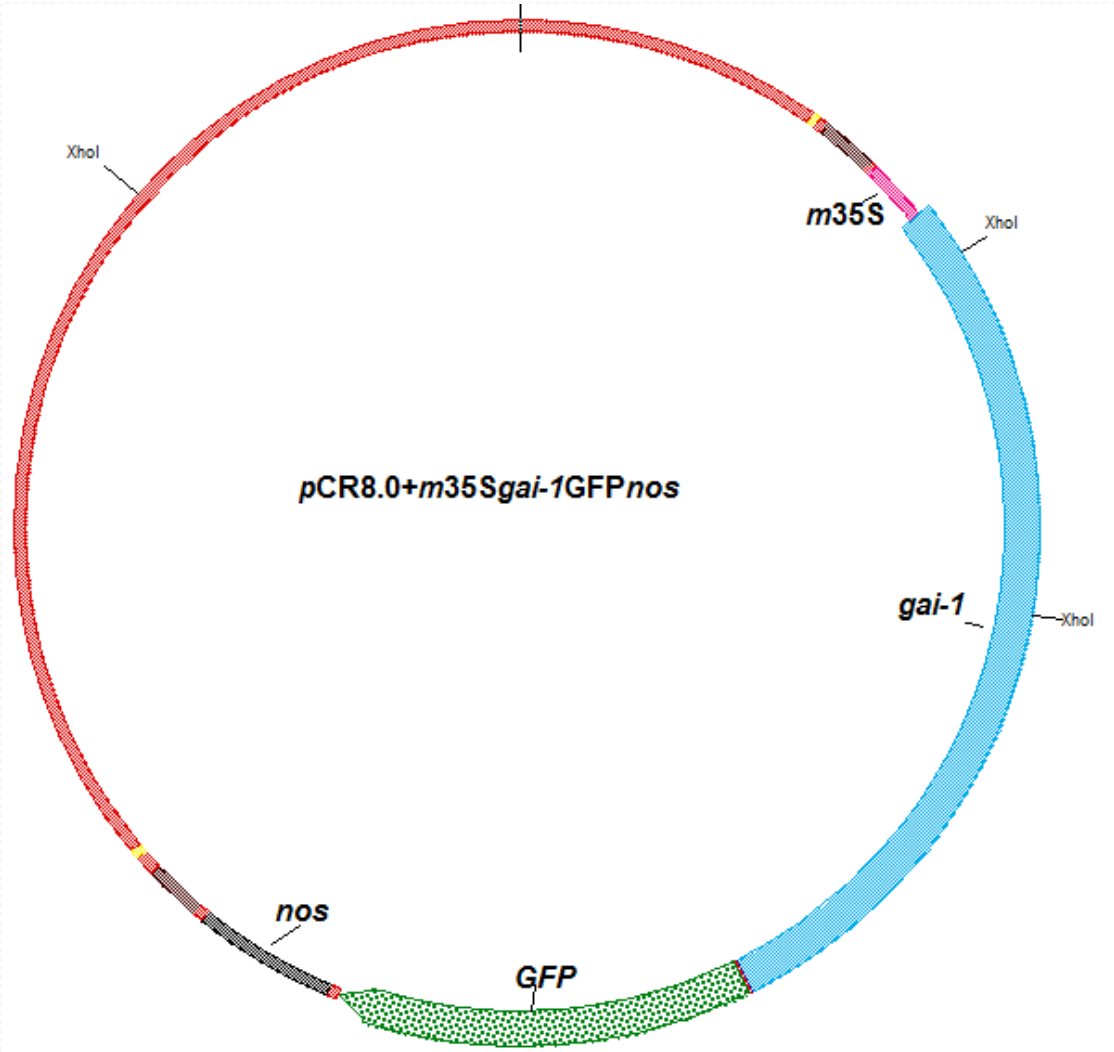
### Construcción del *enhancer trap*

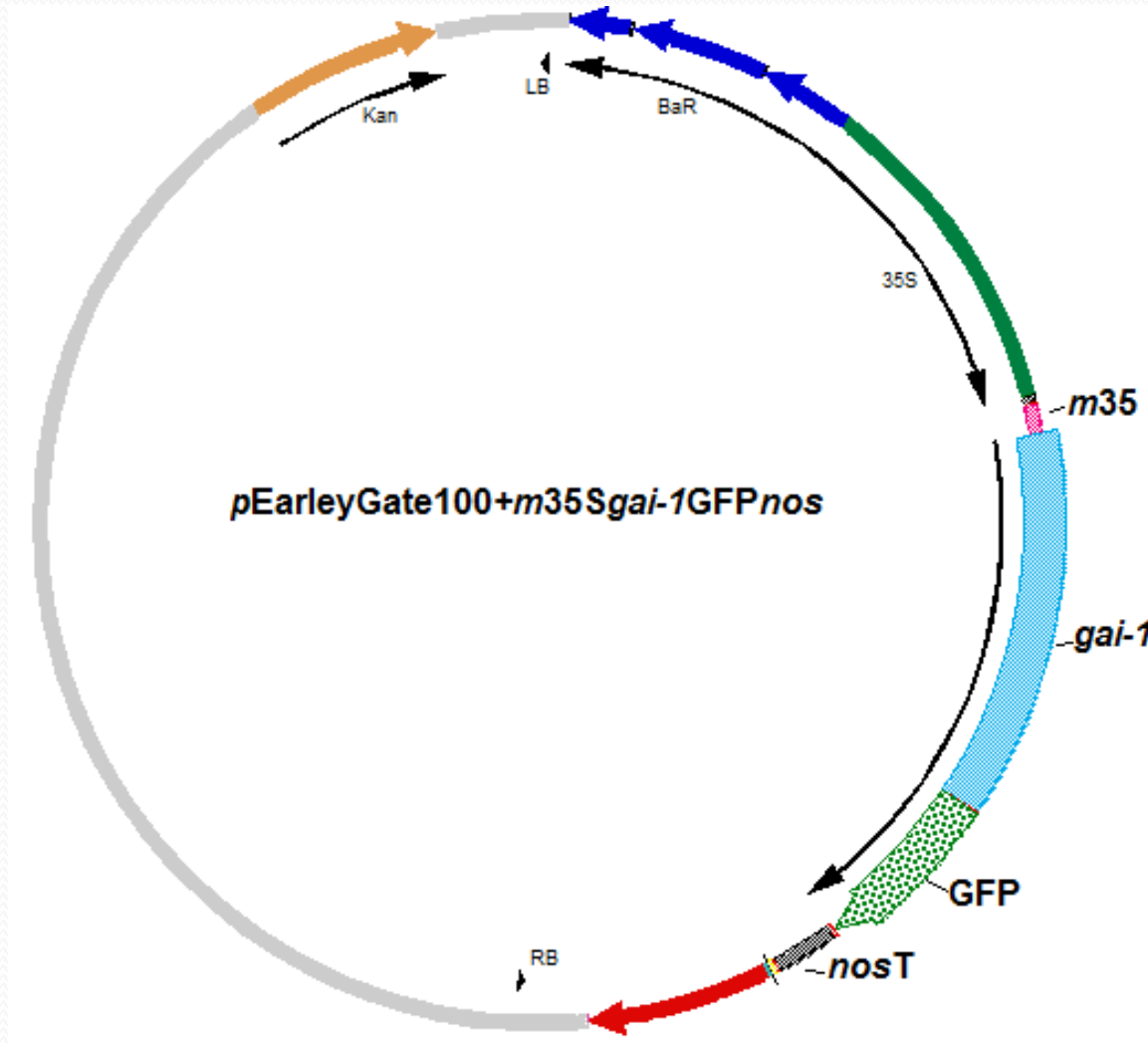




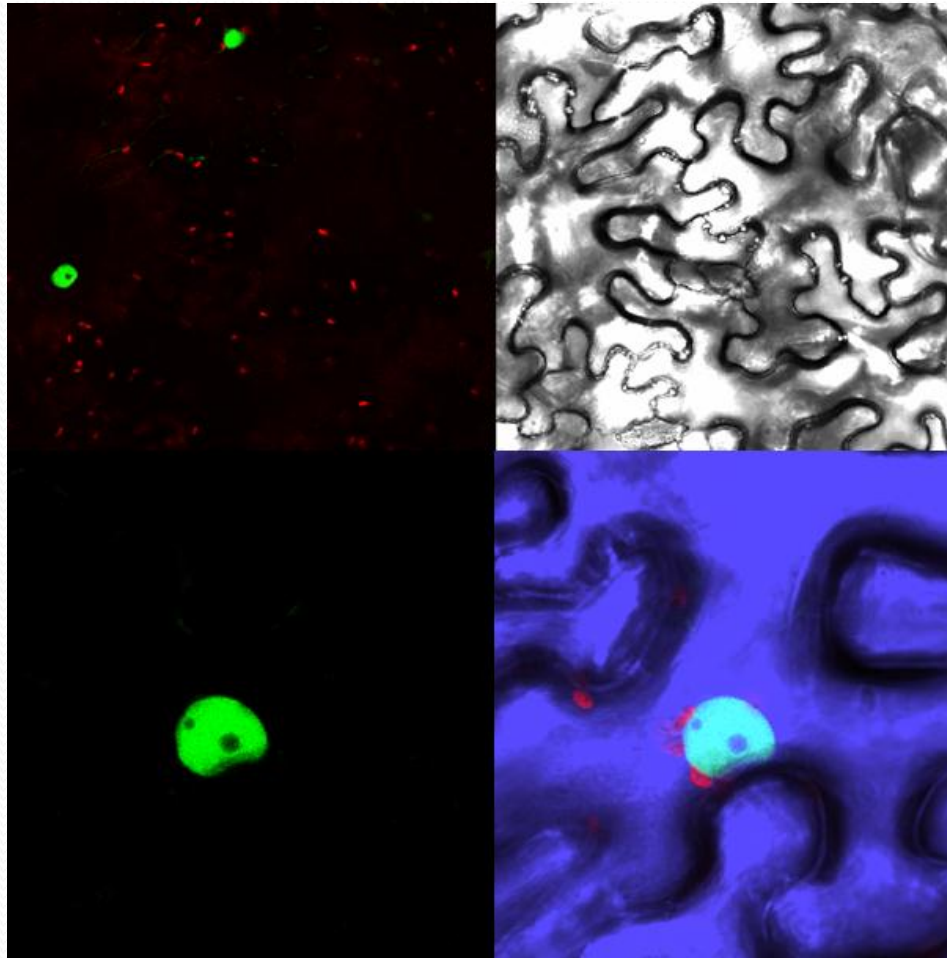
# PCR solapante



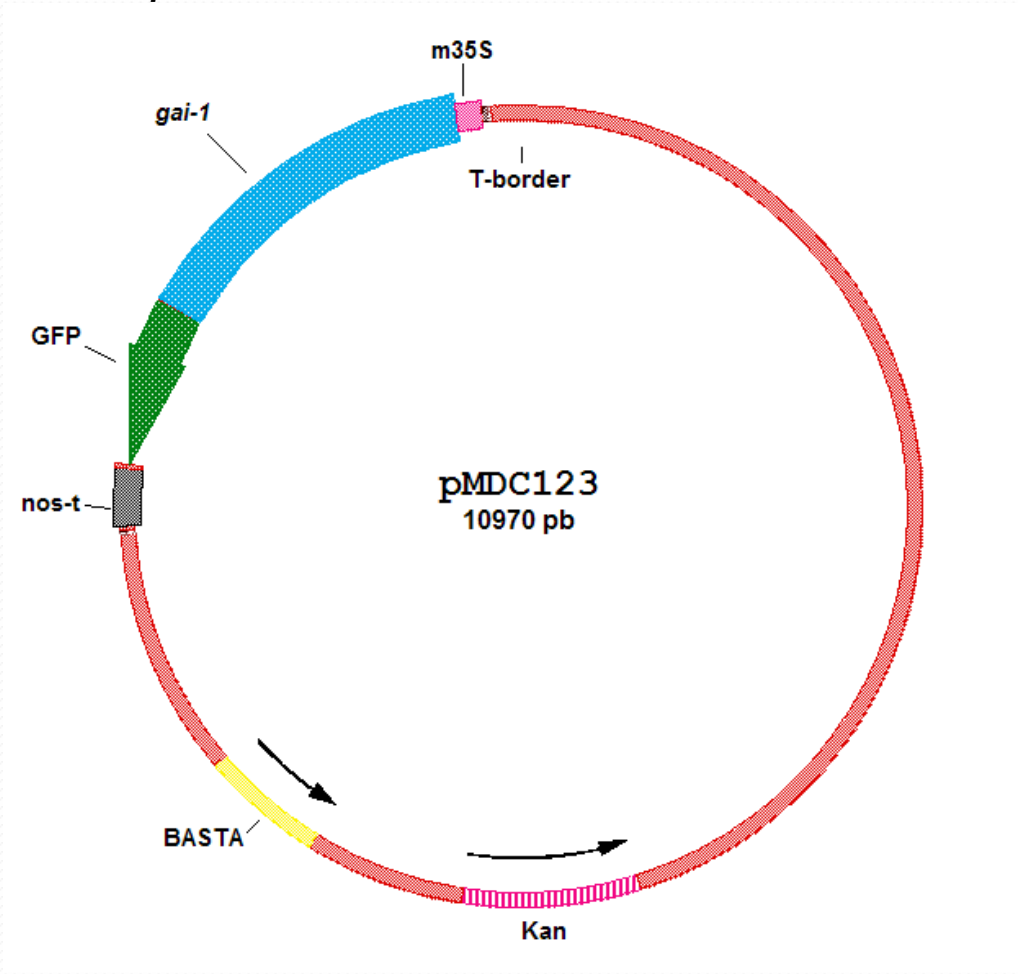


Expresión transitoria en hojas de *Nicotiana benthamiana*

## Expresión transitoria en hojas de *Nicotiana benthamiana*



# Expresión en *Arabidopsis thaliana*



# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

*Transformación via Agrobacterium*



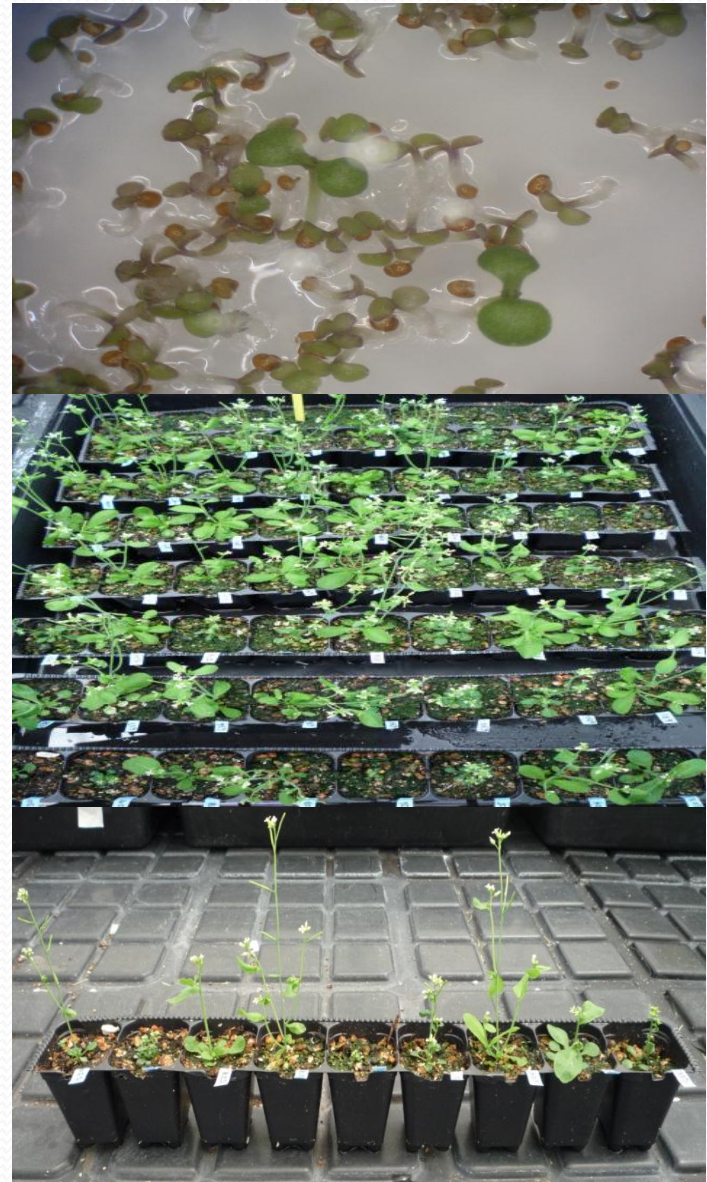
*Arabidopsis thaliana* ecotipo Landsberg erecta



Selección por BASTA



**T1:737 plantas**



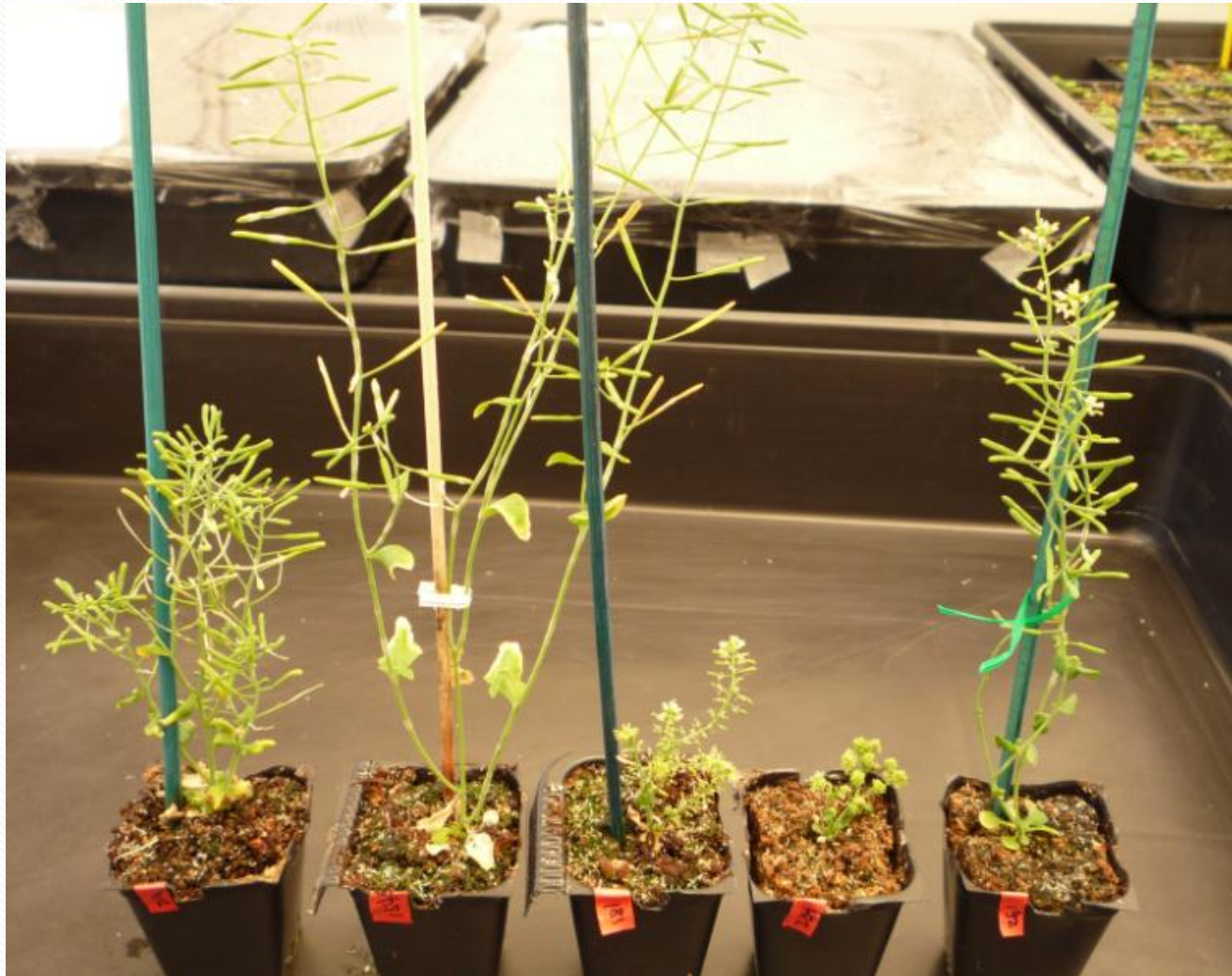


## REGISTRO DE CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS

Total T1: 737 Plantas

Fenotipos similares a *gai-1*: 236 (32%)

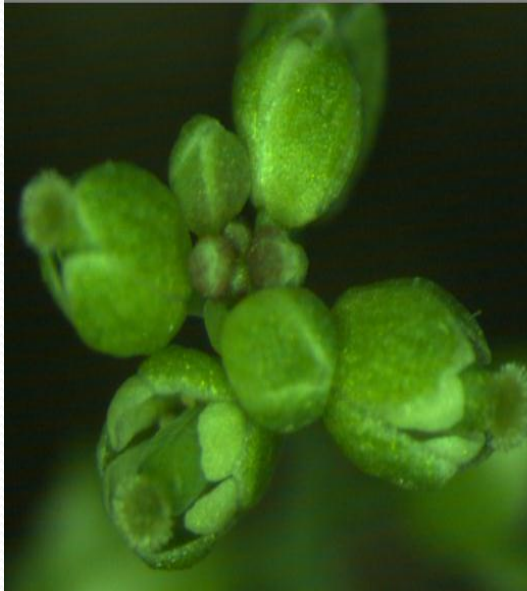
## REGISTRO DE CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS



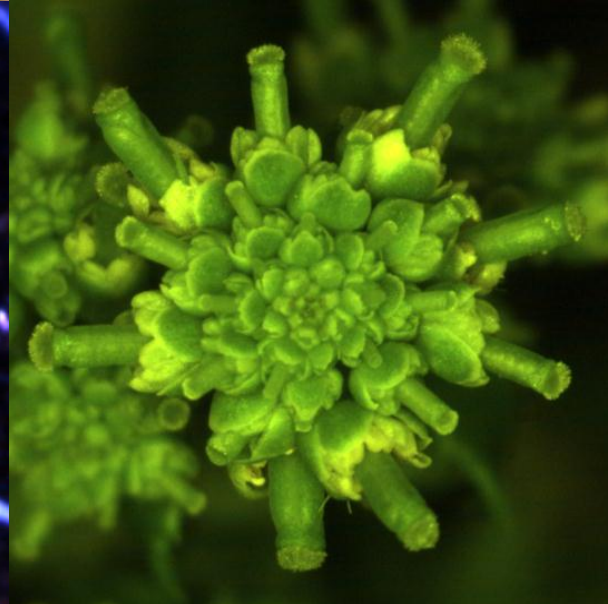
## REGISTRO DE CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS



## REGISTRO DE CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS



## REGISTRO DE CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS



## REGISTRO DE CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS



## REGISTRO DE CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS

Total T1: 737 Plantas

Plantas con fenotipos similares a *gai-1*: 236 (32%)




*gai-1*

Fenotipo	Total
Hojas muy pigmentadas	122
Enanismo	200
Hojas de la roseta pequeñas	127
Silicuas ligeramente torcidas	94
Flores con pistilos atrofiados, y sépalos, pétalos y estamen poco desarrollados	26
Tamaño de silicuas reducido	103
Acumulación de botones florales	57

## Agrupamiento jerárquico

BioDiversity Pro - [C:\Users\Juan Camilo Alvarez\Desktop\Enhancer trap screening\Dendograma gai-1 Enhancer trap screening.bdp] - [Data]

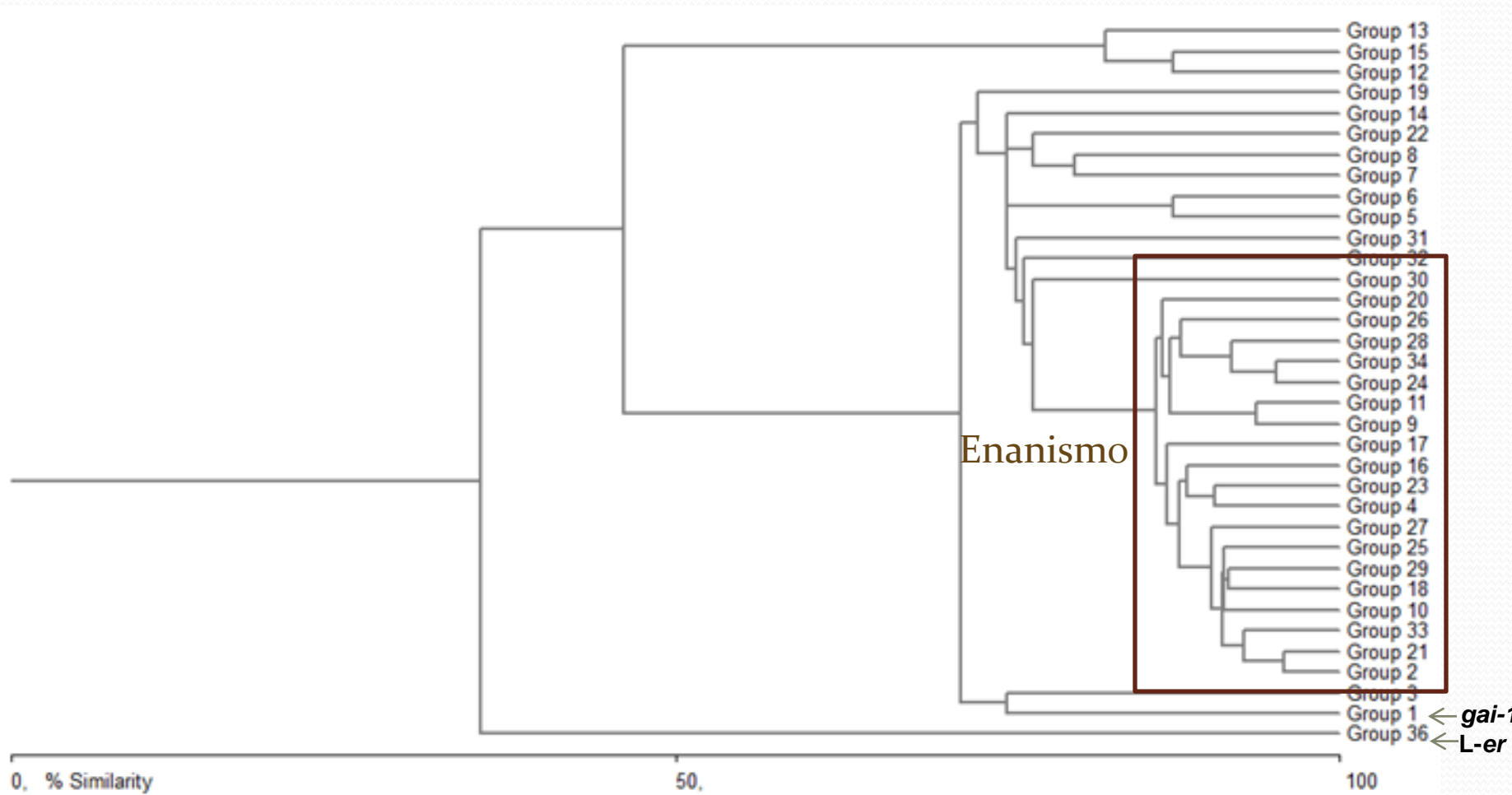
File Edit Alpha Beta Multivariate Comparisons Tools View Window Help



	Names	A	B	A	B	C	D	E
Use		<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Names		L-er	gai-1	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4	Group 5
1	Dark Green Leaves	1	2		2	2	2	
2	Dwarfism	1	3	3	3	3	3	
3	Small Rosette Leaves	1	4		4		4	
4	Slightly Twisted Silique	1	5		5		5	
5	Stunted pistils, undeveloped sepals, petals and	1	6		6		6	
6	Increased Elongation	1	7					
9	Reduced Siliques	1	8		8			
10	Accumulation of Floral Buds	1	9		9		9	

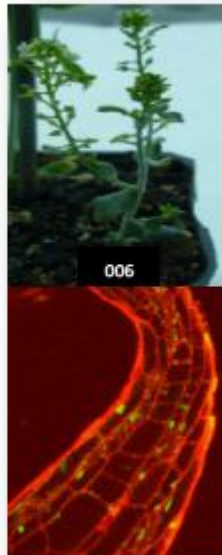
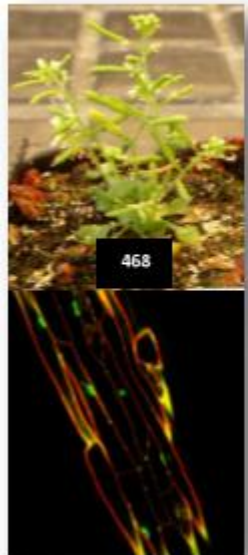
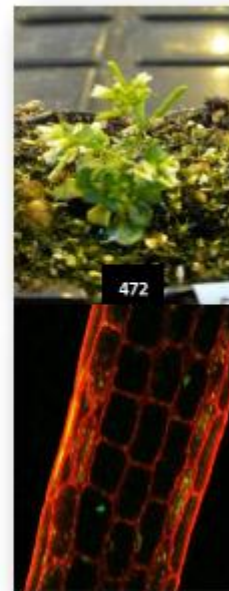
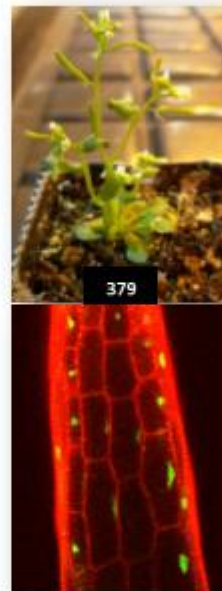
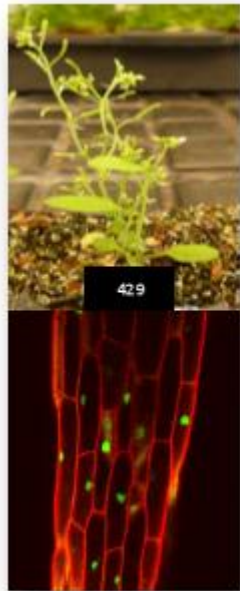


# Agrupamiento jerárquico



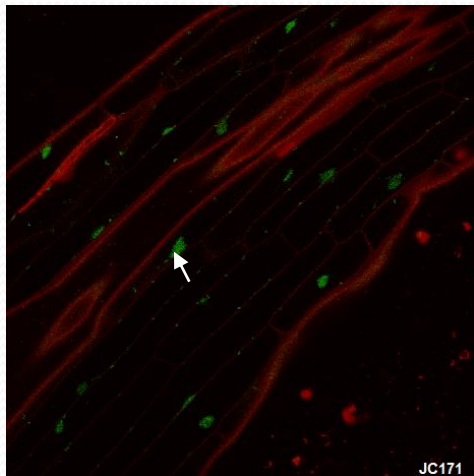
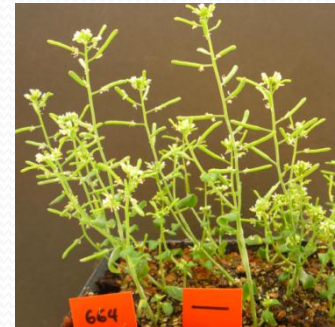
BioDiversityPro

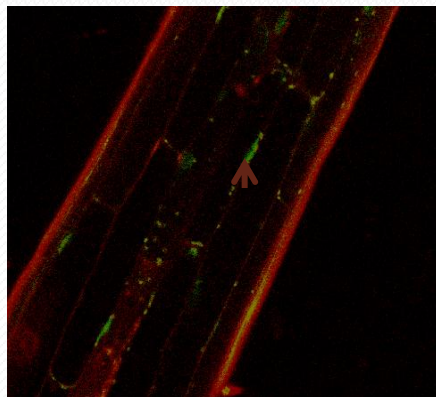
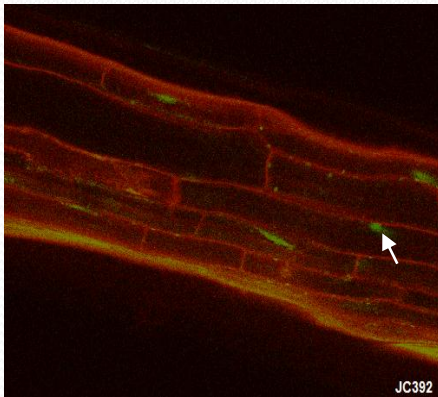
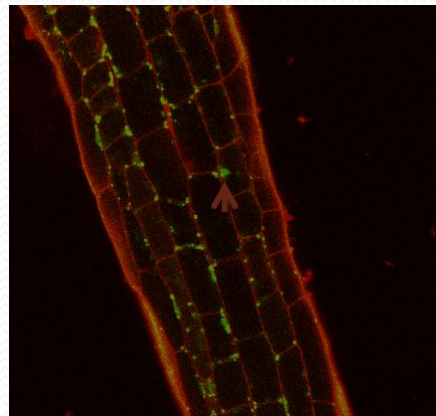
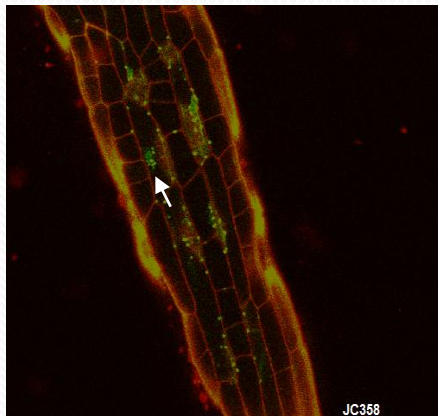
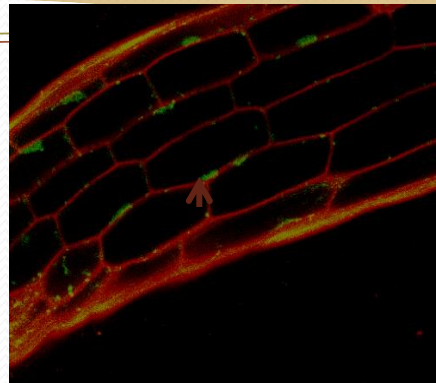
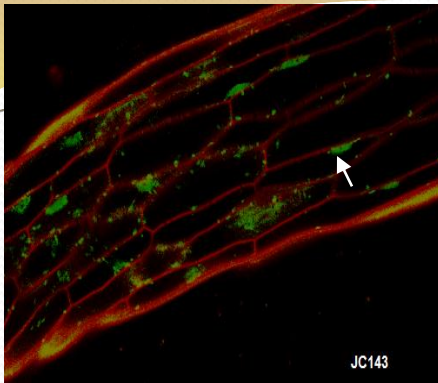
Expresión *gai-1*:GFP





Expresión *gai-1::GFP*





Expresión *gai-1*:GFP

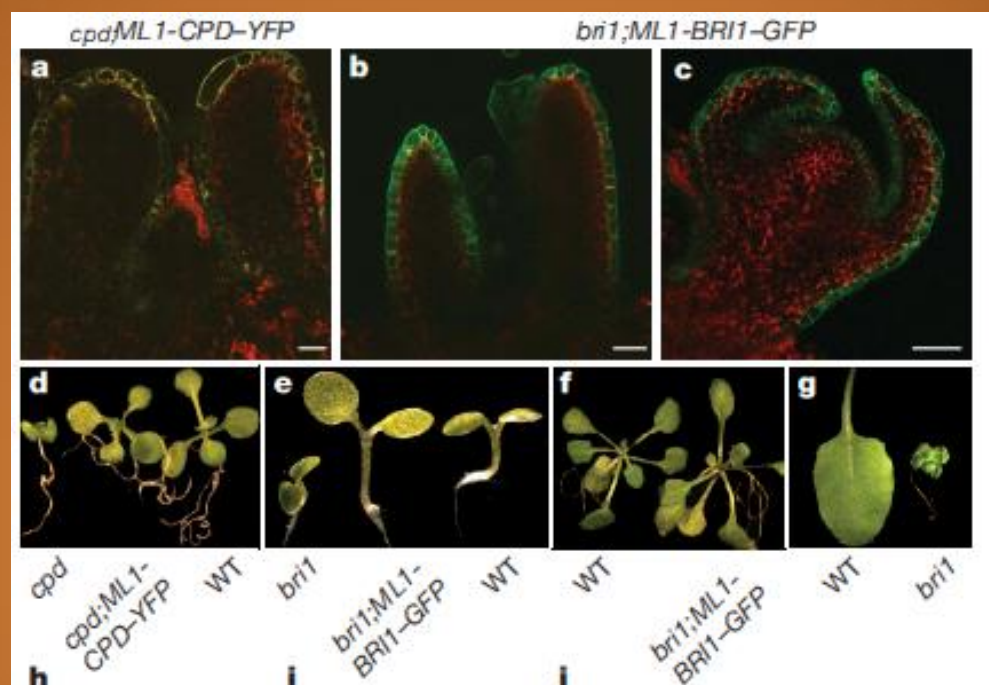
## Resumen de expresión

Total Líneas	Fenotipo	Número de líneas	Líneas analizadas	GFP	Patrón de expresión
737	Similar a <i>gai-1</i>	220	94 (Enanas)	54	Epidermis (18 líneas)
					Epidermis y otros tejidos 17 (líneas)
	Normal	517	10	-	

LETTERS

# The epidermis both drives and restricts plant shoot growth

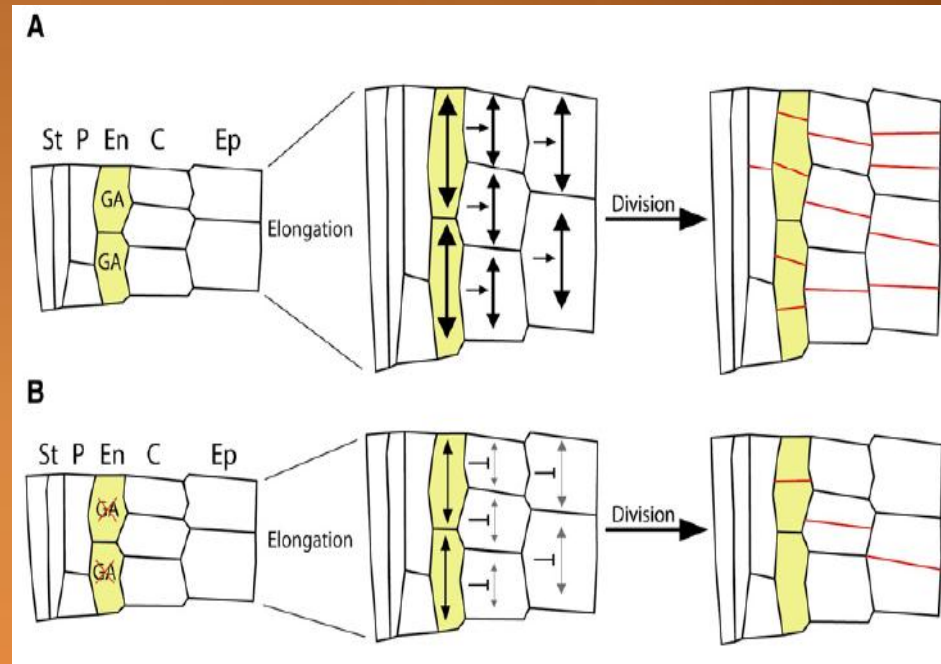
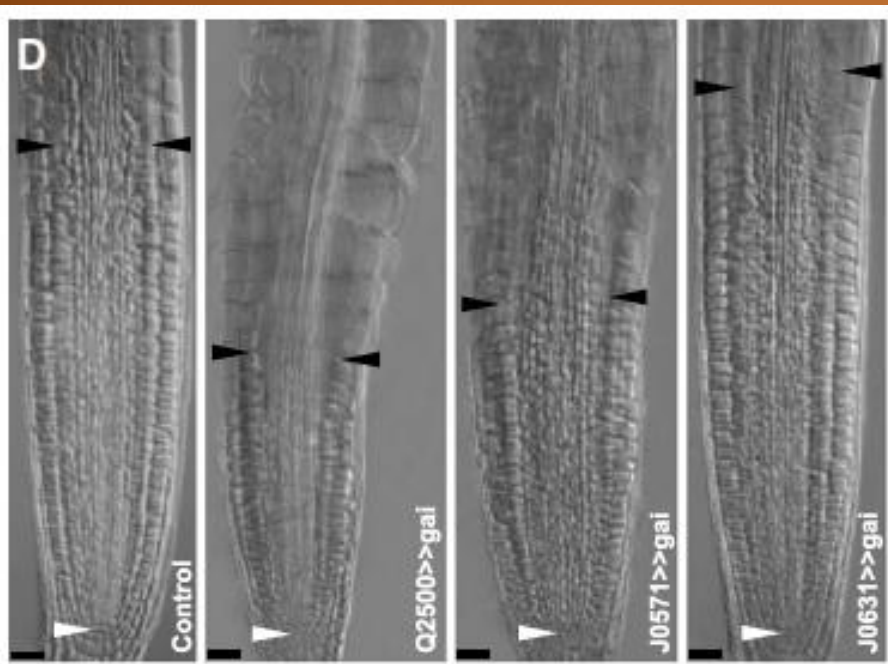
Sigal Savaldi-Goldstein<sup>1</sup>, Charles Peto<sup>3</sup> & Joanne Chory<sup>1,2</sup>



Current Biology 19, 1194–1199, July 28, 2009 ©2009 Elsevier Ltd All rights reserved DOI 10.1016/j.cub.2009.06.023

# Gibberellin Signaling in the Endodermis Controls *Arabidopsis* Root Meristem Size

Susana Ubeda-Tomás,<sup>1,9,\*</sup> Fernán Federici,<sup>2,9</sup> Ilda Casimiro,<sup>3</sup>  
Gerrit T.S. Beemster,<sup>4,5,6</sup> Rishikesh Bhalerao,<sup>7</sup>  
Ranjan Swarup,<sup>1</sup> Peter Doerner,<sup>8</sup> Jim Haseloff,<sup>2</sup>  
and Malcolm J. Bennett<sup>1,\*</sup>



Expresión de GAI::*gai-1*GFP en fondos:

Mutante quintuple DELLA

*gai-t6*

*ga-1* , *gai-t6*, *rga-2*





## CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en este trabajo se puede concluir que el uso de metodologías tales como el *enhancer trap* sirve como herramienta útil para analizar la expresión de las proteínas DELLA en determinados contextos celulares lo cual permitirá en futuras investigaciones establecer los mecanismos por los cuales las giberelinas regulan determinados procesos en las plantas.



**GRACIAS**