

## Caracterización molecular del gen *HvSs3* que codifica una nueva Sacarosa Sintasa en cebada: comparación con *HvSs1* y *HvSs2*

Cristina Barrero, Sara Hernando-Amado, Pablo González-Melendi, Pilar Carbonero

*Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (UPM-INIA), Universidad Politécnica de Madrid, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Campus de Montegancedo, 28223-Pozuelo de Alarcón Madrid, España.*

En plantas superiores, la sacarosa sintetizada en tejidos fotosintéticos es transportada hasta los órganos sumidero, donde la enzima Sacarosa Sintasa (SUS) cataliza la reacción reversible Sacarosa+UDP $\leftrightarrow$ UDP-Glucosa+Fructosa. Esta enzima está implicada en la síntesis de polisacáridos (almidón, celulosa, fructanos), y en la vía del adenilato en la respiración [1]. En muchas especies vegetales, SUS está codificada por una familia multigénica de seis miembros, como es el caso de *Arabidopsis thaliana*, *Oryza sativa* y *Lotus japonicus* [2,3,4]. En *Arabidopsis* y arroz, estos seis genes tienen un patrón de expresión distinto y parcialmente solapante. Un análisis sistemático de los mutantes de pérdida de función para cada una de las isoformas SUS en *Arabidopsis*, no demuestra ningún papel específico para ninguna de éstas, sugiriendo una alta redundancia funcional dentro de esta familia génica [5]. En cebada, dos genes *HvSs1* y *HvSs2* (que codifican SS1 y SS2, respectivamente), mapeados en los cromosomas 7H y 2H, han sido previamente caracterizados [6,7]. Ambos mRNAs se detectan mediante Northern-blot en endospermo, siendo *HvSs2* pero no *HvSs1* específico de semilla. Estudios de inmunolocalización [8] demuestran la presencia de SS1 en forma de homotetrámeros en raíces y en las células acompañantes del floema en hoja, y la presencia de las cinco combinaciones posibles en semilla [(SS1)<sub>4</sub>; (SS1)<sub>3</sub>SS2; (SS1)<sub>2</sub>(SS2)<sub>2</sub>; SS1(SS2)<sub>3</sub>; (SS2)<sub>4</sub>]. SS1 podría desempeñar un papel relevante en el suministro de nutrientes al endospermo, al localizarse en semilla en regiones de la chalaza, nucela y tejido vascular de la base del endospermo. En este trabajo se caracteriza una nueva SUS codificada por *HvSs3* en cebada. Se ha construido un dendrograma que muestra las relaciones filogenéticas entre las distintas SUS de cereales, incluyendo las seis SUS anotadas de *Brachypodium distachion* y las seis SUS de arroz. También se ha analizado el patrón de expresión en distintos tejidos y en diferentes momentos durante el desarrollo y la germinación mediante RT-qPCR. Por último, se ha estudiado la respuesta a diferentes factores abióticos (anaerobiosis, deshidratación y frío) y distintos azúcares. Mediante microscopía confocal se ha obtenido su localización subcelular fusionando los ORFs de los genes *HvSs1*, *HvSs2* y *HvSs3* a la proteína verde fluorescente (GFP).

[1] Koch. (2004) *Current Opinion in Plant Biology* **7**: 235-246

[2] Barrat et al. (2001) *Plant Physiology* **127**: 655-664

[3] Harada et al. (2005) *Annals of Botany* **96**: 683-692

[4] Horst et al. (2007) *Plant Physiology* **144**: 806-820

[5] Bieniawska et al. (2007) *Plant Journal* **49**: 810-828

[6] Sánchez de la Hoz et al. (1992) *FEBS Letters* **310**: 46-50

[7] Martínez de Ilarduya et al. (1993) *FEBS Letters* **320**: 177-181

[8] Guerin et al. (1997) *Plant Physiology* **114**: 55-62

**Agradecimientos.** Este trabajo está financiado por el MEC (proyecto BFU2006-07258). Cristina Barrero está financiada con un contrato Juan de la Cierva-UPM y Sara Hernando con una Beca de Formación de Profesorado Universitario (F.P.U).