

CARACTERITZACIO DE CLONS DE cDNA DE LLAVOR  
IMMADURA D'AMETLLER (*Prunus amygdalus*)

Jordi Garcia-Mas<sup>1</sup>, Michael Stöcker<sup>1</sup>, Marian Viruel<sup>2</sup>, Ramon Messeguer<sup>2</sup>, Pere Arús<sup>2</sup> i Pere Puigdomènech<sup>1</sup>. Unitat Mixta IRTA-CSIC: Departament de Genètica Molecular, Centre d'Investigació i Desenvolupament (CSIC) i <sup>2</sup>Departament de Genètica Vegetal, IRTA (Cabrils).

L'objectiu d'aquest treball és la identificació i caracterització de clons de cDNA de proteïnes de reserva abundants a la llavor immadura d'ametller. Partim del fet que quan es forma el cotiledó comencen a expressar-se els gens codificants de proteïnes de reserva.

Amb aquest propòsit vàrem construir un banc de cDNA en lambda-ZAP a partir de mRNA poliA<sup>+</sup> de llavor immadura de 4 mesos, quan el cotiledó està formant-se. Vàrem prendre uns 5000 clons independents i els hi produïrem una excissió "in vivo" per tenir-los clonats en plàsmid, éssent així més fàcilment manipulables. Vàrem aïllar 400 clons independents, els vàrem créixer en plaques de microtitulació, i després els vàrem glicerinar. Les rèpliques en filtres de nylon obtingudes de cada placa de microtiter vàren ser hibridades amb sonda de cDNA primera cadena obtinguda a partir de RNA total del mateix teixit que l'utilitzat per a la síntesi del banc de cDNA. Vàrem aïllar alguns dels clons que donaren una hibridació més forta, i el clon 3BH10, després de ser seqüenciat per 5', va resultar tenir homologia amb varies famílies de gens de proteïnes de reserva d'altres espècies de dicotiledònies, entre elles les  $\beta$ -globulines de cotó i les leguminoses de leguminoses.

Per tractar-se d'un clon amb un insert de 900pb, massa curt per encloure el marc de lectura sencer, s'utilitzà com a sonda per hibridar sobre el banc de cDNA, obtenint-se així un nombre elevat de clons positius, dels quals vàrem analitzar-ne dos, els clons 3BF1 i 1BC7. El primer conté un insert de 2.0 Kb amb un ORF que comença a 50pb de l'extrem 5' terminal, el qual estem seqüenciant actualment, i presenta una elevada homologia amb la  $\beta$ -globulina de cotó. El clon 1BC7, presenta homologia elevada amb les glicinines de soja, entre d'altres, i conté un insert de 1.3 Kb, el qual utilitzarem com a sonda per buscar un possible clon sencer.

Aquests clons, juntament amb altres clons que hem caracteritzat en un banc de cDNA d'arrel jove d'ametller (extensina,  $\alpha$ -tubulina i fosfoglicerat mutasa), s'utilitzaran en propers estudis com a marcadors del desenvolupament de la llavor de l'ametller, així com a sondes pel mapatge genètic de *Prunus*.