

Charla

El papel de emerina, proteína que forma parte de la arquitectura nuclear, en la Distrofia Muscular de Emery Dreifuss en el modelo animal *Caenorhabditis elegans*.



M^a Manuela Valverde García y Peter Askjaer

Centro Andaluz de Biología del desarrollo (CABD), CSIC/JA/Universidad
Pablo de Olavide, 41013 Seville, Spain

Palabras clave: Emerina, envoltura nuclear, laminopatía, Emery-Dreifuss, transgénesis.

RESUMEN:

Antecedentes

El proyecto parte del hecho de que mutaciones en emerina, una proteína de la envoltura nuclear, son causantes de la distrofia muscular de Emery-Dreifuss [1,2]. Usando el modelo *Caenorhabditis elegans*, nuestro grupo ha demostrado que animales que no expresan emerina son hipersensibles a l herbicida Aldicarb [3]. Este fenotipo sugiere que emerina tiene un papel importante en la señalización entre las neuronas y los músculos. Además, hemos observado que emerina es importante para el anclaje de cromatina en la envoltura nuclear y la regulación de expresión génica. El objetivo principal de este proyecto es verificar si la hipersensibilidad a Aldicarb está causado por la delección de emerina y no por otras mutaciones en el fondo genético. El segundo objetivo es determinar si el efecto de Aldicarb sobre emerina tiene lugar en las neuronas y/o en los músculos. Esta información nos permitiría realizar, en el futuro numerosos estudios acerca de la enfermedad.

Métodos

- Generación de nuevas estirpes mediante cruces entre el mutante de emerina y estirpes que expresan proteínas fluorescentes fusionadas a emerina. Selección positiva de los genotipos mediante PCR y microscopía de fluorescencia de alta resolución.
- Generación de plásmidos por clonación para transgénesis por microinyección en las gónadas de *C. elegans*.
- Ensayos de funcionalidad de las proteínas fluorescentes fusionadas a emerina mediante rescate de letalidad embrionaria y rescate de hipersensibilidad a Aldicarb. Silenciamiento del gen *lem-2* causa letalidad en ausencia de emerina, y comprobamos si las proteínas fusionadas pueden sustituir a la emerina endógeno. En los ensayos con Aldicarb analizamos la resistencia al parálisis provocado por la droga.

Resultados

Hoy día como resultados tenemos las estirpes, planteadas al comienzo del mismo. Con ellas hemos realizado los ensayos de hipersensibilidad a Aldicarb, de donde podemos determinar que las estirpes con el alelo de emerina fusionado a GFP y mCherry son capaces de rescatar el fenotipo del mutante de emerina.

Hemos realizado además, algunos ensayos de rescate de letalidad embrionaria cuyos resultados de rescate del fenotipo son similares. Además como verificación tenemos en curso la realización de los ensayos con la droga Levamisole, que nos permite distinguir entre efectos en las neuronas y los músculos.

En cuanto a la generación de nuevos plásmidos por clonación para la realización de transgénesis, se consiguió uno de los planteados, de modo que esperamos conseguir transgénicos en los próximos meses.

Conclusiones

Concluimos que el defecto en la señalización entre las neuronas y los músculos con alta probabilidad está causado por la mutación en emerina.

Bibliografía

- [1] Katherine H. Schreiber and Brian K. Kennedy “When Lamins Go Bad: Nuclear Structure and Disease” Cell . 2013 March 14; 152(6): 1365–1375. doi:10.1016/j.cell.2013.02.015.
- [2] Silvia Bione, Elena Maestrini, Stefano Rivella, Mita Mancini, Stefano Regis, Giovanni Romeo and Daniela Toniolo. “Identification of a novel X-linked gene responsible for Emery-Dreifuss muscular dystrophy” Nature 1994.
- [3] Cristina González-Aguilera, Kohta Ikegami, Cristina Ayuso, Alberto de Luis, María Íñiguez, Juan Cabello, Jason D Lieb and Peter Askjaer “Genome-wide analysis links emerina to neuromuscular junction activity in *Caenorhabditis elegans*” Genome Biology 2014,15:R2.