

Póster

El papel de la proteína TRP Alm1 en el mantenimiento de la integridad genómica



Paola Gallardo, Silvia Salas-Pino, Rafael R. Daga (1,*)

(1) Departamento de Biología Molecular e Ingeniería Bioquímica. Centro Andaluz de Biología del Desarrollo.-Universidad Pablo de Olavide / CSIC. Carretera de Utrera Km1 41013 Sevilla (Spain)

Palabras clave: TPR, integridad genómica, SUMOilación

RESUMEN

Motivación:

La envuelta nuclear es la barrera física que separa el núcleo y el citoplasma en las células eucariotas. Ésta se encuentra atravesada por los complejos del poro nuclear (NPCs). Uno de sus dominios fundamentales es la cesta del poro nuclear, formada por proteínas denominadas TPR (Translocated Promoter Region), que se han asociado a diversas funciones. El objetivo de este proyecto es el estudio de los mecanismos de mantenimiento de la integridad del genoma mediado por SUMOilación, utilizando como organismo modelo *Schizosaccharomyces pombe*, y como proteína de estudio Alm1.

Métodos:

Análisis del anclaje dinámico de la SUMO-proteasa Ulp1 a la envuelta nuclear. Se utilizarán técnicas de cultivo celular y microscopía de fluorescencia in vivo.

Caracterización de los fenotipos asociados a la localización defectuosa de Ulp1 debidos a la ausencia de alm1, empleando técnicas de cultivo celular, análisis de sensibilidad a diferentes compuestos y microscopía de fluorescencia.

Complementación de los fenotipos defectuosos de alm1Δ mediante la restauración de los niveles de Ulp1 a la envuelta nuclear, mediante sobre-expresión controlada de Ulp1 y restauración de la localización de Ulp1 mediante un sistema basados en los epítotos GBP-GFP.

Análisis bioquímico del patrón de SUMOilación global en un fondo alm1Δ y comparación cuantitativa de los niveles celulares de Ulp1 en un fondo silvestre y en ausencia de alm1, mediante Western Blot

Resultados:

Los resultados obtenidos hasta el momento evidencian que la dinámica de localización de Ulp1 depende del estadio del ciclo celular, localizando Ulp1 en la envuelta nuclear en interfase y en el nucleoplasma en mitosis. También hemos observado que la ausencia de Ulp1 no es indispensable para la viabilidad celular, pero tiene un papel muy importante en la correcta segregación cromosómica y en la organización nuclear. Además, se ha observado que el anclaje artificial de Ulp1 a la envuelta nuclear aumenta la viabilidad de alm1Δ a alta temperatura, pero su crecimiento empeora a baja temperatura.

Conclusiones:

En conjunto, los datos obtenidos sugieren que la liberación de Ulp1 al nucleoplasma es importante para prevenir las segregaciones asimétricas. Dada la coincidencia de fenotipos que se observan en ausencia de Alm1 y mutantes de SUMOilación, Alm1 podría participar en la localización dependiente de ciclo celular de Ulp1, regulando su anclaje al NPC y contribuyendo al mantenimiento del equilibrio SUMOilación/deSUMOilación.

BIBLIOGRAFIA

- Cubeñas-Potts C, Goeres JD, Matunis MJ. (2013) Mol Biol Cell. 24(22):3483-95.
Müller S, Ledl A, Schmidt D. (2004) Oncogene. 23(11):1998-2008.
Nacerddine K, Lehembre F, Bhaumik M, Artus J, Cohen-Tannoudji M, Babinet C, Pandolfi PP, Dejean A. (2005) Dev Cell. 9(6):769-79.
Nagai S, Davoodi N, Gasser SM. (2011) Cell Res. 21(3):474-85.
Niepel M, Molloy KR, Williams R, Farr JC, Meinema AC, Vecchiotti N, Cristea IM, Chait BT, Rout MP, Strambio-De-Castillia C. (2013) Mol Biol Cell. 24(24):3920-38.