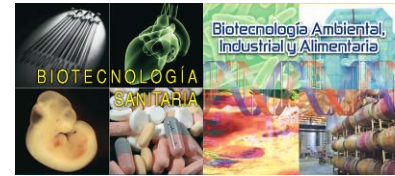


Charla



## La regulación del Spindle Assembly Checkpoint en *Schizosaccharomyces pombe*

Ana Belén Iglesias Romero<sup>1</sup>, Nacho Flor Parra<sup>1</sup>, Yakov Zhurinsky<sup>1</sup> y Rafael R. Daga<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Centro Andaluz de Biología del Desarrollo, Universidad Pablo de Olavide/CSIC, Carretera de Utrera Km1, 41013 Sevilla, España.

**Palabras clave:** respuesta a estrés; SAC; bub1

### RESUMEN

**Motivación:** Durante la mitosis, el huso mitótico formado por microtúbulos y moléculas asociadas, se encarga de la correcta segregación de los cromosomas. La pérdida o ganancia de cromosomas durante la mitosis puede promover cambios genéticos que predispongan al cáncer<sup>1</sup>. Las células eucariotas tienen mecanismos que proporcionan a la célula un tiempo extra cuando existen problemas para capturar los cromosomas de forma adecuada. Este mecanismo, conservado de levaduras a humanos, se denomina *Checkpoint* del huso mitótico o *Spindle Assembly Checkpoint* (SAC)<sup>2</sup>.

Una observación inicial mostró que las rutas de estrés son esenciales para el funcionamiento del *Checkpoint* del huso. Consistente con esta observación se comprobó que *Bub1*, una quinasa esencial para el funcionamiento del SAC, presenta 5 sitios consenso de fosforilación por las MAPKs.

En este proyecto se estudió la relevancia funcional de los sitios de fosforilación por MAPK de *Bub1* en la levadura *S. pombe*.

**Métodos:** Para estudiar la regulación del SAC, se usó el análisis genético y microscópico de la división celular en mutantes defectivos de este sistema de control en mitosis<sup>3</sup>. Técnicas como la transformación y la clonación también fueron utilizadas<sup>4</sup>.

**Resultados:** Hemos demostrado que el SAC está regulado por la ruta de estrés de la MAPK *pmk1* en *S. pombe*. La inactivación de la ruta MAPK a través de la delección de *pmk1*, hace que las células sean sensibles a una droga que induce despolimerización en los microtúbulos del *spindle*, indicativo de defectos en el SAC. Mediante análisis genético, encontramos que este mecanismo es dependiente de *bub1*, un regulador central del SAC<sup>5</sup>.

Además, se ha estudiado la división celular en un mutante de *Bub1* en el que se han eliminado 5 sitios putativos de fosforilación por MAPKs observándose, que dicho mutante es incapaz de llevar a cabo una segregación cromosómica correcta.

**Conclusiones:** Se ha determinado que la ruta de la MAPK *pmk1* se requiere para la supervivencia de *S. pombe* en condiciones en las que se compromete la función del huso mitótico así como la importancia de los sitios de fosforilación consenso de MAPK presentes en la quinasa *Bub1*. Nuestro estudio revela una conexión entre las rutas de MAPKs y el correcto funcionamiento del SAC<sup>6</sup>.

La pérdida total o parcial de esta regulación da lugar a eventos de aneuploidía. Este estudio puede ser relevante para entender cómo las células eucariotas evitan la aneuploidía, una de las características más comunes en tumores y que suelen modificar la progresión tumoral hacia diferentes estados de malignidad<sup>7</sup>.

### BIBLIOGRAFIA

1. Ricke R.M, H. van Ree and M van Deursen J. (2008). Whole chromosome instability and cancer: a complex relationship. Trends in Genetics Vol.24, 457-466.
2. Musacchio, A. and Salmon E. (2007). The spindle assembly checkpoint in space and time. Nature Reviews. Molecular Cell Biology. Vol. 8, 379-393.
3. Nurse, P. (2010). Manual de laboratorio "Fission Yeast Handbook".
4. Bähler, J., et al. (1998). Heterologous modules for efficient and versatile PCR-based gene targeting in *Schizosaccharomyces pombe*. Yeast 14, 943-951.
5. Sánchez-Mir, A., et al. (2012). Biological Significance of Nuclear Localization of Mitogen-activated Protein Kinase Pmk1 in Fission Yeast. The journal of biological chemistry. Vol. 287, No. 31, 6038-26051.
6. Yamaguchi, S., Decottignies, A. and Nurse, P. (2003). Function of Cdc2p-dependent Bub1p phosphorylation and Bub1p kinase activity in the mitotic and meiotic spindle checkpoint. The EMBO Journal Vol. 22 No. 5 1075-1087.
7. Hollan A.J. and Cleveland D.W. (2009). Boveri revisited: Chromosomal instability, aneuploidy and tumorigenesis. Nature Reviews Vol. 10, 478-487.