

Póster

Búsqueda de reguladores de ciclo celular en *Schizosaccharomyces pombe*



Ángela Rubio, Antonio J. Pérez Pulido y Sergio Moreno

Instituto de Biología Funcional y Genómica (IBFG), CSIC / Universidad de Salamanca.

C/ Zacarías González nº 2. 37007 Salamanca

Palabras clave: ciclo celular; mitosis; *wee1*; *cdc2*

RESUMEN

En el presente trabajo se llevó a cabo un escrutinio genético de sinteticidad letal con el objetivo de encontrar nuevos reguladores de ciclo celular que coordinasen crecimiento y división en el organismo modelo *Schizosaccharomyces pombe*. Para ello se realizaron cruces entre una colección de mutantes nulos viables y el mutante termosensible *wee1.50*, un mutante que a 36°C da lugar a un fenotipo *wee*, caracterizadas por una fase G2 de mitosis más corta, entrando en ella con menor tamaño que la cepa silvestre. Al comparar el crecimiento de estos dobles mutantes con la cepa silvestre se asignó una puntuación a cada doble mutante. De esta forma, se identificaron mutantes que presentaban muerte celular (sintéticos letales), otros con un fenotipo enfermo o *sick* y otros que suprimían el fenotipo de *wee1.50* a 36°C. Mediante el análisis de las anotaciones GO (Gene Ontology) se clasificaron a todos los mutantes en diferentes categorías funcionales y se realizó un estudio combinado de morfología y citología, dinámica de ciclo celular y sensibilidad a distintos fármacos.

Wee1 es una proteína quinasa que inhibe la entrada en mitosis por fosforilación de Cdc2 en un residuo tirosina localizado en el sitio de unión del ATP. Cdc2 es la proteína quinasa que junto con la ciclina Cdc13, induce la entrada en mitosis mediante la fosforilación de sus sustratos mitóticos.

Uno de los objetivos de este trabajo ha sido la caracterización de tres mutantes cuya función es desconocida o poco estudiada en *S. pombe*: *dml1Δ* y *pi040Δ*, son mutantes sintéticos letales con *wee1.50*, y *zds1Δ* suprime el fenotipo de células pequeñas de *wee1.50*. Además, también se va continuar el estudio de Rnc1, que es una proteína de unión a ARN cuya función es estabilizar mensajeros de proteínas de la ruta de las MAP quinatas, una importante ruta de señalización intracelular. El mutante *rnc1Δ* también pertenece al grupo de los sintéticos letales con *wee1.50*.

Los primeros pasos del proyecto han consistido en rehacer estos mutantes mediante transformaciones, cruzarlos para obtener los dobles mutantes con *wee1.50*, comprobar el fenotipo del doble mutante y caracterizar el fenotipo de los mutantes sencillos. Para caracterizar el fenotipo de los mutantes se emplean técnicas que nos permiten determinar el contenido en ADN (citometría de flujo), la morfología celular (tinciones con DAPI y calcoflúor) y ensayos de viabilidad con diluciones en gotas en diferentes condiciones de medios y temperaturas. El objetivo final es encontrar cuál es su función y dentro de qué ruta bioquímica participa, así como estudiar si son importantes para la regulación del ciclo celular y, por tanto, susceptibles de estudios más avanzados como dianas terapéuticas en cáncer.

BIBLIOGRAFIA

- Kozarova A, Hudson JW, Vaccratsis PO. The dual-specificity phosphatase hYVH1 (DUSP12) is a novel modulator of cellular DNA content. *Cell Cycle*. 2011 May 15; 10(10): 1669-78.
- Sugiura R, Kita A, Shimizu Y, Shuntoh H, Sio SO, Kuno T. Feedback regulation of MAPK signalling by an RNA-binding protein. *Nature*. 2003 Aug 21; 424(6951): 961-5.
- Rossio V, Yoshida S. Spatial regulation of Cdc55-PP2A by Zds1/Zds2 controls mitotic entry and mitotic exit in budding yeast. *J Cell Biol*. 2011 May 2; 193(3): 445-54.