



CONGRESO
XXIX

de la SOCIEDAD
ESPAÑOLA de BIOQUÍMICA
y BIOLOGÍA MOLECULAR
Elche, del 7 al 10 de septiembre 2006

IV Jornadas "La Empresa Puedes Ser Tú"
Elche, del 10 al 11 de septiembre 2006



T14-32 ESTUDIO Y CARACTERIZACIÓN DEL PROMOTOR PROXIMAL DEL GEN ALK1, RECEPTOR TIPO I DE TGF-BETA ESPECÍFICO DE CÉLULA ENDOTELIAL

EM Garrido¹, A Fernández-L¹, C Vary², FJ Blanco¹, LM Botella¹, C Bernabéu¹

¹Centro de Investigaciones Biológicas. CSIC. Madrid. Spain
²Maine Medical Center Research Institute. Maine. USA. E-mail: evagarrido@cib.csic.es

ALK1 es un receptor tipo I de TGF- β expresado en células endoteliales. Mutaciones en este gen dan lugar a la Telangiectasia Hemorrágica Hereditaria tipo 2. Los síntomas clínicos se producen por haploinsuficiencia en los niveles de expresión de ALK1, llevando a una actividad kinasa insuficiente para la correcta señalización. Las vías terapéuticas posibles irían encaminadas, por un lado, a conseguir un aumento en su actividad kinasa y, por otro, a estimular la transcripción del gen para compensar la falta de señalización. En este sentido es necesario el estudio de su regulación transcripcional, desconocida hasta el momento. Disponemos de una construcción que contiene el promotor proximal de ALK1, por delante del inicio de transcripción, incluyendo el exon 1. El análisis *in silico* de secuencias susceptibles de reconocimiento por factores de transcripción reveló numerosos posibles sitios de unión al factor de transcripción basal Sp1. La región proximal del promotor es muy rica en G/Cs y carece de TATA box y CAAT box. Dado que en los promotores sin TATA box la transcripción depende de Sp1, estudiamos su papel sobre dicho promotor en células Schneider-2 que no expresan Sp1. En ausencia de Sp1, no se detecta actividad transcripcional de ALK1, medida por actividad luciferasa de la construcción pgl2-pALK1. La cotransfección del vector de expresión pPAC-Sp1 y el vector de expresión del promotor produce un aumento de su actividad de hasta 15 veces. Podemos concluir que la transcripción basal de ALK1 depende de Sp1. El análisis *in silico* revela también secuencias consenso para el factor HIF-1 α y para las Smads. Estudios de estimulación con ambos factores se están realizando con el fin de analizar su posible influencia y diseñar posibles terapias génicas.

T14-33 PROTEÍNAS GacA Y GacS: CONSERVACIÓN DE DOMINIOS FUNCIONALES E INTERACCIÓN MOLECULAR

R. D. Maldonado Caro

División de Genética, Universidad de Alicante, Sant Vicent del Raspeig, España. E-mail: rmaldonado@ua.es

GacA y GacS son proteínas que forman parte de un sistema de dos componentes, formado por un sensor quinasa y un regulador de respuesta. GacS es una proteína de membrana que al recibir alguna señal desconocida, fosforila GacA, que responde activando genes. Los mutantes de GacS/GacA suelen presentar deficiencias en la patogénesis vegetal o en biocontrol, por lo que nos parece interesante estudiar su función desde el punto de vista molecular. Parecen estar implicadas en la síntesis de productos extracelulares. GacS pertenece a una clase de sensores quinasa de histidina no-ortodoxas, con contiene dominios transmisor de fosforilos, receptor y de fosfotransferencia de histidinas (Hpt). Una búsqueda de homólogos reveló u proteínas con los dominios Hpt, transmisor y receptor marcadamente conservados, especialmente ciertos residuos, supuestamente implicados en los procesos de fosforilación y transmisión de la señal. Esto contrasta con la baja homología de otras regiones: la zona periplásmica no se encuentra muy conservada, sugiriendo que GacS responde a diferentes señales ambientales en diferentes especies. GacA también dispone de homólogos, con dos dominios conservados: el receptor y el HTH de unión al ADN. La presencia de estas proteínas en diferentes de bacterias de interés, y la homología de sus dominios, nos ha llevado a estudiar la capacidad de interacción de dominios mediante el sistema del doble híbrido de levaduras. Hemos iniciado con GacA y GacS de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000: su genoma está secuenciado y forma un modelo de patogenicidad con *Arabidopsis thaliana*, una planta modelo cuyo genoma también está secuenciado. Se presentan datos preliminares y discusión sobre su significado. [Generalitat Valenciana GV05/162]

T14-34 AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE MUTACIONES MODIFICADORAS DEL FENOTIPO DE LOS MUTANTES AGO1 DE ARABIDOPSIS THALIANA

V. Aguilera, J.L. Micol, M.R. Ponce

División de Genética e Instituto de Bioingeniería, Universidad Miguel Hernández, Campus de Elche, 03202 Elche, Alicante. E-mail: vaguilera@umh.es

Hemos cruzado estirpes portadoras de mutaciones no alélicas en genes de la maquinaria de los microARN y algunas de sus dianas, encontrando en todos los casos sinergia fenotípica en la progenie F₂. Esta observación sugiere que la mutagénesis de estos mutantes podría servir para identificar nuevos genes cuyos productos sean microARN, formen parte de la maquinaria que los produce y procesa, o sean sus dianas. Con este fin, estamos llevando a cabo una búsqueda de modificadores del fenotipo del mutante *ago1-52*. Hemos tratado con metanosulfonato de etilo 67.500 semillas *ago1-52/ago1-52*, portadoras de un alelo recesivo, débil, viable y relativamente fértil del gen *ARGONAUTE1*, que codifica un componente de la maquinaria de silenciamiento génico postranscripcional mediada por microARN. Hasta ahora, hemos sometido a escrutinio 3.890 plantas M₂, encontrando 370 presuntos dobles mutantes, que hemos asignado a varias clases fenotípicas, en las que el fenotipo asociado a *ago1-52* se acentúa o debilita. Estamos estudiando estos presuntos dobles mutantes, determinando la penetrancia y expresividad de su fenotipo, caracterizándolos morfológicamente y retrocruzándolos por su ancestro silvestre, antes de someterlos a análisis de complementación y de ligamiento.

T14-35 REGULACIÓN DE LA HISTIDINA KINASA NBL5 POR SIPA, UN NUEVO TIPO DE PROTEÍNAS CONSERVADAS EN CIANOBACTERIAS

P. Salinas, J. Espinosa, R. Cantos, A. Contreras

Fisiología, Genética y Microbiología, Universidad de Alicante, San Vicente del Raspeig, España. E-mail: paloma.salinas@ua.es

Uno de los mecanismos de adaptación a cambios ambientales más estudiados en cianobacterias es el proceso de clorosis o bleaching, que implica la degradación de los complejos antena del aparato fotosintético como respuesta a diferentes tipos de señales ambientales. La histidina quinasa Nbl5 (Non-bleaching Sensor) de *Synechococcus* sp. PCC 7942, denominada DspA ó Hik33 en el caso de *Synechocystis* sp. PCC 6803, juega un papel fundamental en la regulación del proceso de clorosis en estos organismos como respuesta a situaciones de exceso de luz y carencia de nutrientes como nitrógeno, azufre o fósforo. A pesar de la demostrada importancia de este sensor en la aclimatación de las cianobacterias a cambios ambientales y de ser la histidina quinasa más conservada en este grupo de organismos, no se conocen las señales que detecta esta proteína ni las posibles interacciones con otras proteínas reguladoras pertenecientes a la misma ruta de transducción de señales.

En el curso de estudios destinados a identificar componentes de la presumiblemente compleja ruta de transducción de señales en la que participa Nbl5 en *Synechococcus* PCC 7942, identificamos, por su habilidad de interactuar con el módulo transmisor de Nbl5, la proteína SipA (Nbl5 interacting protein A). Esta proteína de 78 amino ácidos interactúa específicamente con el dominio quinasa de Nbl5. La conservación de los genes sipA en todos los genomas disponibles de cianobacterias añade credibilidad a su interacción funcional con Nbl5 y sugiere un importante papel en la aclimatación del aparato fotosintético a situaciones de estrés. La expresión de sipA en distintos fondos genéticos y condiciones ambientales, así como el comportamiento de los mutantes nulos sipA se presentan y discuten en esta comunicación.