

CARACTERIZACIÓN DEL cDNA DE UN RNAm DE FLOEMA DE PLANTA QUE CODIFICA PARA UNA PROTEÍNA CON SEMEJANZA A UNA PROTEÍNA TUMORAL DE HUMANO

Pilar Figueroa Corona¹, Beatriz Xoconostle Cázares¹, Vianney Ortíz Luna², Rosana Pelayo², Roberto Ruiz Medrano¹

¹Departamento de Biotecnología y Bioingeniería y ²Departamento de Biomedicina, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Ave. IPN 2508, Col. San Pedro Zacatenco,

MÉXICO D.F. 07360, Fax: (52) 5747 7000 ext.4315, e-mail: rmedrano@mail.cinvestav.mx

Palabras clave: Floema, Proteína tumoral regulada traduccionalmente (TCTP).

Introducción. Existen diversas evidencias que sugieren que diversos procesos en plantas, tales como inducción de la floración, resistencia sistémica a patógenos y dominancia apical resultan de su comunicación por medio del tejido vascular, particularmente el floema¹. Por otra parte, hemos encontrado una gran variedad de RNAs mensajeros capaces de desplazarse larga distancia vía el floema^{2,3}. Consideramos que tales moléculas, junto con proteínas y fitohormonas, podrían tener un papel importante en dicha regulación. Uno de los RNAs descritos resultó presentar semejanza con el transcrito para una proteína que se acumula a elevados niveles en eritroleucemia^{3,4}. Es posible que la proteína vegetal esté involucrada en la regulación de la proliferación celular. Con el fin de determinar la función de esta proteína el cDNA correspondiente fue introducido en fibroblastos humanos, resultando en la inmortalización de las células transfectadas. Los resultados serán discutidos considerando como perspectiva el uso de plantas como modelo para el estudio del escape de células de la fase G1 a S en células terminalmente diferenciadas (y, por tanto, de la inducción de tumores) en mamíferos.

Metodología. Hemos reportado anteriormente la clonación de un cDNA de savia de calabaza (que hemos denominado CmTCTP) que presenta semejanza a un RNAm que codifica para una proteína inducida durante eritroleucemia en humanos, denominada TCTP⁴. Para determinar si la función de la proteína vegetal también se asocia a proliferación celular, el marco de lectura correspondiente fue clonado en el vector para expresión en mamíferos pCDNA y transfectado en células de fibroblastos humanos MRC5 utilizando fosfato de calcio. Los transfectantes fueron seleccionados cultivando en medio MEM al 10% de suero fetal de bovino con geneticina como agente selectivo. Posteriormente, las células fueron sometidas a un selector celular, previo tratamiento con yoduro de propidio. La transfección de las células fue determinada por medio de ensayos Southern y Northern, posterior a la extracción de DNA y RNA de fibroblastos control y transfectados.

Resultados y Discusión.

La transfección de fibroblastos humanos con CmTCTP resultó en una aceleración en el tiempo necesario para que éstos alcanzaran la confluencia (48 a 24 horas). Más interesante aún, después de 45 pases, los fibroblastos transfectados continúan proliferando a elevadas tasas, mientras que células control

senescieron, como era previsto, alrededor del pase 40. El análisis por FACS reveló que alrededor del 50% de las células se encuentran en fase S, comparado con 37% de células control.

Conclusiones. La posibilidad de expresar genes vegetales con homología a factores teóricamente involucrados en proliferación en animales en sistemas heterólogos podría contribuir a determinar su función en dicho sistema. Esto debido, sobre todo, a una menor semejanza con homólogos de especies estrechamente relacionadas que podría resultar en silenciamiento génico. Por otra parte, los resultados sugieren que RNAs mensajeros del floema, tal como CmTCTP, son capaces de regular el ciclo celular, posiblemente en células meristemáticas, y, asimismo, interactúan con una maquinaria sumamente conservada en especies filogenéticamente poco relacionadas para desencadenar procesos proliferativos. Como perspectivas de este trabajo proponemos la identificación de los componentes de dicha maquinaria, y, por otra parte, los genes inducidos tempranamente como resultado de la sobreexpresión de CmTCTP en fibroblastos, pues podrían ser utilizados como marcadores de proliferación anómala.

Agradecimientos. Agradecemos el apoyo financiero del CONACyT (proyecto J31699N de RRM).

Bibliografía.

1. Ruiz-Medrano R., Xoconostle-Cázares B., Lucas W.J. (2001). The phloem as a conduit for inter-organ communication. *Curr. Opin. Plant Biol.*4: 202-209.
2. Xoconostle-Cázares, B., Xiang, Y., Ruiz-Medrano, R., Wang, H.L., Monzer, J., Yoo, B.-C., McFarland, K. C., Franceschi, V. R., Lucas, W. J. (1999) Plant Paralog to viral Movement Protein that potentiates transport of mRNA into the phloem. *Science* 283: 94-98
3. Ruiz-Medrano, R., Xoconostle-Cázares, B., Lucas, W. J. (1999) Phloem Long-Distance Transport of *CmNACP-1* mRNA: Implications for Supracellular Regulation in Plants. *Development* 126: 1405-1419.
4. Gross, B., Gaestel, M., Bohm, H., Bielke, H. (1989). cDNA sequence coding for a translationally controlled human tumor protein. *Nucleic Acids Res.* 17: 8367.