

DOMINIO DE ANCLAJE DE PROTEÍNAS A LA PARED CELULAR

Ramón F. García de la Cruz, María Rosa Rodrigo, Concepción Domingo y Pablo Vera.
Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas de la Universidad Politécnica de Valencia, España. CIEP-
Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí .
Av. Dr Manuel Nava # 6, Zona Universitaria. C.P 78200. E-mail rgarcia@uaslp.mx

Palabras clave: pared celular, proteínas, anclaje

Introducción. Una característica común de las proteínas estructurales de la pared celular vegetal es la presencia de residuos de tirosina, a menudo presentes en regiones muy conservadas con secuencia tir-lis-tir. Los residuos de tirosina podrían interactuar con otros componentes de la pared mediante el establecimiento de enlaces difenilo, provocando con ello su insolubilización. En plantas sujetas al ataque por patógenos se han identificado en la pared celular productos derivados de la interacción de 2, 3 y 4 residuos de tirosinas (isoditirosina, pulcherocina y diisoditirosina, respectivamente). Se sugiere que el entrecruzamiento de componentes estructurales de la pared celular vegetal podrían estar involucrados en procesos morfológicos tales como el crecimiento de la pared y el desarrollo de tejidos, además de participar como mecanismos de defensa de la planta frente a situaciones de estrés (1).

Metodología. Para determinar el papel de residuos de tirosinas y cisteínas en el dominio de anclaje a la pared, se obtuvieron mediante mutagénesis dirigida construcciones de ésta región, en las que los aminoácidos descritos fueron sustituidos por fenilalanina y alanina respectivamente. Las secuencias obtenidas fueron amplificadas por PCR, utilizando como molde la secuencia de DNA que codifica para la proteína TLRP (Tyrosin Lysin Rich Protein) y que presenta en su extremo c-terminal el dominio de anclaje constituido por 35 restos de aminoácidos (2). Posteriormente las secuencias amplificadas fueron fusionadas al gen que codifica para una proteína soluble extracelular denominada PR1 (Pathogenesis-Related protein) (2). La regulación de la expresión de la construcción quimera (PR1-Dominio de anclaje), controlada bajo el promotor constitutivo 35S CaMV, fue expresada en plantas de *Arabidopsis thaliana*, vía *Agrobacterium tumefaciens*. Las plantas transformantes fueron seleccionadas y analizadas por western y northern blot.

Resultados y Discusión. Los resultados del análisis de un promedio de ocho plantas transgénicas, revelaron que la alteración en los residuos de tirosina en cualquiera de las posiciones analizadas, así como la modificación de los

residuos de cisteína en el dominio de anclaje, alteró la incorporación de la PR1 a la pared celular. La proteína PR1 soluble de 17 kDa fue detectada en el sobrenadante mediante el empleo de anticuerpos específicos anti-PR1, en contraste con la ausencia de esta especie en el sobrenadante cuando se analizaron las plantas transgénicas en las que el dominio de anclaje no fue modificado. Por otro lado, el análisis de los niveles de expresión del RNAm revelaron, como era predecible, un incremento en el peso del RNAm en todas las construcciones en relación con el control que no fue fusionado al dominio de anclaje (PR1).

Conclusiones. Los resultados indicaron que la incorporación de proteínas estructurales a la pared celular, es un proceso altamente específico en el que la conformación estructural que adopta la proteína, mediante la formación de enlaces disulfuro intracadena, desempeña un papel fundamental en la exposición de los residuos de tirosina que participan en el entrecruzamiento con componentes estructurales de la pared celular. Los resultados de este trabajo aportan información relacionada con las características estructurales que debe poseer el sustrato para su incorporación a la pared celular. Sin embargo, no se dispone de información sobre la naturaleza de los componentes de la pared que podrían estar actuando como aceptores, ni del mecanismo enzimático involucrado en el proceso.

Agradecimiento. Agradezco a la Subsecretaría de Educación Superior e Investigación Científica (219/99-1054), la concesión de la beca para la realización del proyecto en la Universidad Politécnica de Valencia, España.

Bibliografía

1. Jeffrey D. Brady and Stephen (1997). Formation of Di-isodityrosine and Loss of Isodityrosine in the Cell Walls of Tomato Cell-suspension Cultures Treated with Fungal Elicitors or H₂O₂. *Plant Physiol.* 115:87-92.
2. Concha Domingo, Asunción Saurí, Elena Mancilla, Vicente Conejero y Pablo Vera (1999). Identification of a novel peptide motif that mediates cross-linking of proteins to cell walls. *The Plant Journal.* 20(5):563-570.