

**C-FOS: SOLO UN REGULADOR NUCLEAR DE LA DIFERENCIACIÓN Y PROLIFERACIÓN CELULAR
O TAMBIEN UN EFECTOR CITOPLASMICO?**

BEATRIZ L. CAPUTTO

CIQUIBIC, Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. bcaputto@dqf.fcq.unc.edu.ar

Si bien los procesos que regulan la expresión de genes que controlan el crecimiento celular se conocen relativamente bien, el conocimiento de cómo las células satisfacen su demanda de componentes de membrana requeridos para estos eventos de crecimiento y diferenciación morfológica es prácticamente nulo. Nosotros abordamos este tema estudiando la participación de la proteína c-Fos en este fenómeno.

La proteína c-Fos heterodimeriza con proteínas de la familia de *jun*, generando así los factores de transcripción AP-1 que regulan la expresión de genes blanco involucrados en eventos de división y diferenciación celular. Generalmente c-Fos no es un componente constitutivo de las células pero su expresión es rápida y transitoriamente inducida en respuesta a estímulos tales como factores de crecimiento, neurotransmisores, etc.

En 1995 obtuvimos las primeras evidencias que c-Fos, además de su actividad nuclear, regula metabolismos claves para la génesis de membranas, en el citoplasma celular: c-Fos se asocia a componentes del retículo endoplásmico (ER), sitio principal de síntesis de fosfolípidos, y activa la síntesis de los mismos en diversos tipos celulares. En células PC12 por ejemplo, la síntesis de fosfolípidos y el crecimiento neural muestran una estricta dependencia con la expresión de c-Fos.

La investigación en cáncer ha establecido claramente que el desarrollo tumoral es un proceso complejo y dinámico que progresivamente induce la transformación de células normales en sus derivados malignos. Sin embargo, hay un principio común a todas las células transformadas: el crecimiento exacerbado. Dado que los fosfolípidos son los constituyentes básicos de cualquier membrana biológica, su biosíntesis a gran escala es un requerimiento para que las células tumorales proliferen, ya que no puede haber duplicación o crecimiento celular sin la generación de nueva membrana. Utilizando estrategias que incluyen cultivos de líneas tumorales, desarrollo de tumores en ratones nude xeno-transplantados y estudios bioquímicos en tumores malignos humanos se mostrará que la activación de la síntesis de fosfolípidos también es mediada por c-Fos en células tumorales y que este fenómeno también es relevante para la progresión tumoral.

Los resultados indican una función dual para la proteína c-Fos: inicialmente participa en el disparo del programa genómico de diferenciación (células PC12) o proliferación celular (células tumorales). Pero, luego que las células han ingresado en dicho programa genómico, c-Fos, por un mecanismo no genómico, se asocia al ER y activa la síntesis de fosfolípidos para la génesis de nueva membrana necesaria para soportar el crecimiento y la proliferación celular.

**ACOPLAMIENTO ENTRE LA UNIÓN DEL AGONISTA Y LA APERTURA DEL CANAL EN
RECEPTORES PENTAMÉRICOS DE LA FAMILIA DE CANALES IÓNICOS ACTIVADOS POR
LIGANDOS**

C. BOUZAT[‡], F. GUMILAR[‡], G. SPITZMAUL[‡], H-L. WANG^{*}, D. RAYES[‡], S. B. HANSEN[‡], P. TAYLOR[‡] AND S. SINE^{*}

[‡]Instituto de Investigaciones Bioquímicas, UNS-CONICET, Bahía Blanca, Argentina ^{*}Receptor Biology Laboratory, Mayo Clinic College of Medicine, Rochester MN, USA, [‡]Department of Pharmacology, University of California, San Diego, CA, USA.

Proteínas pentaméricas que actúan como canales iónicos activados por ligandos (LGIC), tales como el re-

ceptor nicotínico (AChR), de serotonina 5HT₃, GABA y glicina, intervienen en transmisiones sinápticas rápidas

en el sistema nervioso. La función esencial de todos ellos es la de acoplar la unión del neurotransmisor, que ocurre en la zona extracelular, a la apertura del canal iónico. Una vez abierto el poro, los iones fluyen a través de él, alterando el potencial de membrana y desencadenando así la respuesta. A pesar de su importancia fisiológica, el mecanismo molecular de este proceso, denominado gatillado del canal, no ha sido dilucidado hasta el momento. Las estructuras atómicas del dominio extracelular unidor de agonistas y del poro han sido resueltas individualmente en años recientes. Sin embargo, la manera en que ambas estructuras se acoplan entre sí para formar una unidad funcional era un misterio hasta el momento. Con el fin de revelarlo, construimos en un primer paso un receptor quimérico, uniendo la proteína soluble unidora de ACh (AChBP), cuya estructura cristalográfica recientemente dilucidada presenta 10 hojas β , con la región transmembranal del receptor $5HT_{3A}$ (AChBP- $5HT_3$). Este receptor presenta alta expresión en células pero no es funcional, sugiriendo que la interfase entre ambos dominios no es compatible. Realizamos reemplazos sis-

temáticos de regiones de la AChBP por secuencias homólogas de $5HT_{3A}$ para identificar las regiones proteicas que intervienen en el acoplamiento funcional entre ambos dominios. Cuando las secuencias de 3 loops de la región extracelular (loops b1b2, cys y b8b9) se reemplazan por las correspondientes en $5HT_3$, el receptor quimérico es capaz de activarse por ACh, permitiendo la detección de corrientes y canales únicos. Estudios de ensayo de ligandos muestran una menor afinidad aparente, típica del estado activable, del receptor quimérico funcional respecto a la quimera original. Por el contrario, no se observan cambios de afinidad cuando se la evalúa sobre el dominio extracelular separado de la región transmembranal. Estos resultados revelan la existencia de una interacción alostérica bidireccional entre el sitio de unión del agonista y el poro. El modelado molecular del receptor funcional muestra que dichos loops interactúan entre sí y con el loop que separa los segmentos transmembranales M2-M3. Todos ellos formarían, por lo tanto, la red de estructuras requeridas para el gatillado del canal en receptores pentaméricos de la familia de LGIC.