

Más allá de la transcripción: En búsqueda de mecanismos de regulación post-transcripcional mediados por p53 durante la UPR

Larghero I. 1, Ehrlich R. 1,2, Portela M.M. 3,4, Perelmuter K. 5, Fernández-Calero T. 6,7, Chalar C. 1, Fåhraeus R. 8,9,10, Durán R. 3, Bollati-Fogolín M. 5, Marín M. 1, López I. 1,5

1 Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

2 Institut Pasteur de Montevideo

3 Unidad de Bioquímica y Proteómica Analíticas, Institut Pasteur de Montevideo, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

4 Facultad de Ciencias, Universidad de la República

5 Unidad de Biología Celular, Institut Pasteur de Montevideo

6 Unidad de Bioinformática, Institut Pasteur de Montevideo

7 Departamento de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Católica del Uruguay, Montevideo

8 INSERM UMR 1131 Institut Saint-Louis, Université Paris Cité, París, Francia

9 RECAMO, Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno, República Checa

10 Department of Medical Biosciences, Umeå University, Umeå, Suecia

La proteína supresora de tumores p53 es un nodo de control de la homeostasis celular que regula procesos vitales como el ciclo celular, la apoptosis y el metabolismo, entre varios otros. Si bien su faceta más conocida es la de factor de transcripción, estudios más recientes sugieren que p53 también coordina mecanismos de regulación post-transcripcional en diferentes contextos celulares. Entre ellos se encuentra la respuesta a proteínas desplegadas (UPR, “Unfolded Protein Response”), una vía adaptativa inducida en condiciones fisiológicas frente a alteraciones de la proteostasis dentro del retículo endoplásmico (RE) y alterada en enfermedades como la diabetes, enfermedades neurodegenerativas y cáncer. En este marco, p53 inhibe la traducción de algunos ARN mensajeros (ARNm) mediante mecanismos moleculares aún desconocidos. Nuestro grupo busca identificar blancos moleculares y procesos controlados por p53 de forma post-transcripcional durante la UPR y explorar los mecanismos involucrados. En este trabajo estudiamos de forma comparativa la variación del transcriptoma y del proteoma de células H1299 derivadas de carcinoma de pulmón de células no pequeñas humanas, en presencia y ausencia de p53 en condiciones de estrés en el RE inducido por tapsigargina. El transcriptoma se analizó usando microarreglos de ADN y el estudio proteómico cuantitativo sin marcado (“label-free”) se realizó mediante aproximación “shotgun” y usando las intensidades extraídas del cromatograma iónico (XIC, “Extracted-Ion Chromatogram”). En línea con el conocimiento previo sobre la UPR, nuestros resultados muestran que la respuesta al estrés en el RE está caracterizada por la inhibición de la expresión de un gran número de genes, evidenciado tanto a nivel de ARN como de proteínas. Sin embargo, estudios de ontología realizados con los datos proteómicos sugieren que algunas de las respuestas típicamente asociadas a la UPR son reforzadas por p53, como son la inhibición de la replicación y el ciclo celular, mientras que otras son detectadas exclusivamente en presencia de p53. Entre estas últimas se destacan la alteración del ensamblado y procesamiento de complejos ribonucleoproteicos como la maquinaria de “splicing” y el ribosoma. En conjunto, estos datos permiten comenzar a definir la firma de p53 durante la UPR. Por otro lado, y apuntando a la

descripción de mecanismos de regulación post-transcripcional, resultados preliminares indican que la disminución de la expresión de algunas proteínas en presencia de p53 en condiciones de estrés, no se condice con los niveles de expresión de sus ARNm, lo que insinúa un desacople entre ambos niveles. Una mirada más fina de esas proteínas “desacopladas” indica que los 5’UTRs de algunos de sus ARNm comparten un motivo de secuencia que no está presente en los ARNm de las proteínas “acopladas”. Es tentador pensar que este motivo funcione como plataforma molecular de regulación, por lo que nos proponemos estudiar las posibles implicancias de esta observación.

Palabras clave: p53, UPR, transcriptoma, proteoma, regulación post-transcripcional.