

DETECCIO, AILLAMENT I CARACTERITZACIO DE PRODUCTES GENICS HOMOLEGS ALS DE TIROSINA-KINASES A PLANARIA.

F BURGAYA, J GARCIA-FERNANDEZ, M RIUTORT, J BAGUÑA & E SALO. Dpt de Genètica, Fac Biologia; Diagonal, 645. 08028 Barcelona.

La gran diversitat d'organitzacions que admeten els éssers vius sembla regulada per un programa coordinat de mecanismes i senyals altament conservats. D'entre ells, els receptors de membrana amb activitat citoplasmàtica tipus tirosina-kinasa semblen actuar en processos diversos, com ara proliferació i diferenciació cel·lulars.

L'activitat tirosina-kinasa sembla associada a l'adquisició de multi-cel·lularitat (1, 2) malgrat recentment ha estat detectada també en llevats (3); productes gènics homòlegs a tirosina-kinases han estat detectats a *Hydra* (2) i a plantes (4). Hi ha evidències d'activitat tirosina-kinasa en esponges (2) i procariotes (4), no forçosament homòloga. Hom distingeix avui diferents sub-famílies de tirosina-kinases (1, 5) que (als sistemes aparentment més primitius) poden respondre a enzims ancorats a la membrana per l'*N-terminus*. Aquests enzims actuarien com a transductors de receptors de membrana als quals estarien acoblats; així s'esdevé en el cas de reconeixement d'antígens pels limfòcits (6). D'altres sistemes presenten enzim i receptor com a dominis d'una mateixa molècula que reconeix un lligand extern i transmet el corresponent senyal a l'interior de la cèl·lula, com s'esdevé per als receptors de factors de creixement.

La prèvia detecció d'immuno-reactivitat EGF-like en preparacions histològiques de planària, així com l'activitat mitogènica que provoquen EGF i FGF, ens ha empès a buscar possibles productes gènics codificant per a receptors amb catalisi tirosina-kinasa acoblada. Seguint l'estratègia del Dr. R. Steele per a *Hydra* (2), hem intentat amplificar per PCR -a partir de cDNA procedent d'extractes d'RNA polyA⁺ pertanyent a individus intactes- el fragment més conservat del domini catalític mitjançant nucleòtids degenerats específics.

Aquest sistema ens ha permès l'isolament -a la planària *Dugesia (G) tigrina*- d'una seqüència codificant per a 67 aminoàcids, molt homòloga amb la seqüència *consensus* coberta pels esmentats oligonucleòtids i que representa part dels sub-dominis VI-VII-VIII-IX del domini catalític. El marcatge per *random primed* i posterior utilització com a sonda d'aquesta seqüència en llibreries amplificades de cDNA, ens ha permès isolat un producte gènic incomplet (K2) que hem seqüenciat a hores d'ara i representa la meitat C-terminal d'un mRNA. La seqüència nucleotídica ofereix una pauta oberta d'on hem deduït una seqüència de 286 aminoàcids abastant tot el domini catalític i la cua C-terminal del producte. La comparació de les posicions clau ens indica homologia amb tirosina-kinases i no pas amb serina-treonina kinases; les sub-famílies més properes semblen les dels oncogens *src* i *abl/arg* (1, 4); això fa suposar que no es tracti d'un receptor sino d'un enzim citoplasmàtic ancorat a la membrana, però cal conèixer la seqüència N-terminal per saber-ho.

L'estudi en curs de l'expressió del gen corresponent ens ha permès veure, en *Northern blots*, que codifica un producte gènic de poc més de dues kilobases que s'expressa en animals intactes i al llarg de tota la regeneració. Està també en curs la localització de l'expressió en l'espai mitjançant hibridació *in situ*. La comparació exhaustiva d'aquest producte amb els detectats en diferents models ens permetrà establir una anàlisi evolutiva de les tirosina-kinases respecte dels triblàstics més primitius.

Referències:

- (1) HANKS, S K i cols; *Science*, **241**; 42-52 (1988).
- (2) BOSCH, T C G i cols; *Mol Cell Biol*, **9** (10); 4141-4151 (1989).
- (3) HUNTER, T; *Curr Op Cell Biol*, **1**; 1168-1181 (1989).
- (4) HANKS, S K; *Curr Op Str Biology*, **1**; 369-383 (1991).
- (5) ULLRICH, A & SCHLESSINGER, J; *Cell*, **61**; 203-212 (1990).
- (6) VEILLETTE, A & DAVIDSON, D; *Trends in Genetics*, **8** (2); 61-66 (1992).