

AMPLIFICACIÓ DE SEQÜÈNCIES "POU-BOX" A PLANÀRIA.

A.M. MUÑOZ-MÁRMOL, J.GARCIA-FERNÁNDEZ, J. BAGUÑA & E. SALÓ.

Dept. de Genètica, Fac. de Biologia, Diagonal, 645. 08028, Barcelona.

La formació del patró durant el desenvolupament ve determinada per l'activació seqüencial d'una xarxa de gens reguladors. Aquests gens dirigeixen la transformació d'informació genètica en estructures morfològiques mitjançant el control de l'expressió espacial i temporal de gens efectors, els quals, per la seva banda, determinen especificitats de tipus cel·lular.

Les proteïnes de molts d'aquests gens reguladors comparteixen dominis estructurals comuns, molt conservats al llarg de tota l'escala filogenètica, que els hi confereixen la capacitat d'unió al DNA. Un d'aquests dominis és el domini homeòtic (1), el qual adopta una conformació d'hèlix-volta-hèlix amb capacitat d'unió específica al DNA.

El domini homeòtic es troba amb freqüència associat amb altres dominis conservats, com el "LIM repeat", o els dominis Paired i POU. Els dominis POU-específic i POU-homeòtic tenen 81 i 60 aminoàcids respectivament, i estan separats per 14 a 26 aminoàcids variables, rebent tot el conjunt el nom de domini POU (2). Tant el subdomini POU-específic com el POU-homeòtic semblen ser necessaris per la unió a seqüències específiques de DNA amb alta afinitat. Molts gens amb POU-box han estat correlacionats amb diversos fenòmens de proliferació cel·lular i la majoria s'expressen durant el desenvolupament al sistema nerviós, encara que alguns també són expressats en teixits específics no neuronals i/o en organismes adults.

Planària és un organisme que es caracteritza per tenir una extrema plasticitat morfològica, essent capaç de créixer i decreixer segons la freqüència d'ingestió d'aliments i de regenerar organismes complets a partir de petits fragments de l'inicial. Aquesta gran plasticitat ve donada per la presència d'una població de cèl·lules indiferenciades i totipotents anomenades neoblasts, presents àdhuc en organismes adults, que mantenen una proliferació, determinació i diferenciació cel·lular continua, la qual s'incrementa durant la regeneració traumàtica (3).

La identificació de gens amb "homeobox" a planària (4-5) ha permès l'aproximació molecular a l'estudi de la plasticitat morfològica d'aquest organisme.

Mitjançant la tècnica de PCR utilitzant com a "primers" barreges d'oligonucleòtids degenerats basats en les regions més conservades dels dominis POU-específic i POU-homeòtic (6-7), hem detectat al genoma de planària dos nous gens que codifiquen per dominis POU, Dtp-2 i Dtp-3 (*Dugesia* (G) *tigrina* POU-box). L'anàlisi de la seva seqüència parcial mostra la conservació en posició de la majoria dels aminoàcids "consensus" d'ambdós subdominis i permet agrupar els gens Dtp-2 i Dtp-3 dins les classes POU III i POU IV respectivament.

L'estudi de l'expressió d'aquests gens en organismes intactes i regenerants, mitjançant "Northern-blots", hibridacions "in situ" i immunohistoquímica, ens permetrà confirmar el seu possible paper regulador durant la formació del patró de l'organisme i establir, donada la baixa posició filogenètica de les planàries, l'evolució d'aquest domini.

Referències:

- (1) Affolter, M.; Schier, A. & Gehring, W.J. *Current Opinion in Cell Biology* 2, 485-495 (1990).
- (2) Rosenfeld, M.G. *Genes & Development* 5, 897-907 (1991).
- (3) Baguña, J. & Romero, R. *Hydrobiology* 84, 181-194 (1981).
- (4) Garcia-Fernández, J.; Baguña, J. & Saló, E. *Proc.Natl.Acad.Sci.* 8, 7338-7342 (1991).
- (5) Miralles, A.; Muñoz, A.M.; Garcia-Fernández, J.; Baguña, J. & Saló, E. *S.C.B.* 9, 215-224 (1991).
- (6) Billin, A.N.; Cockerill, K.A.; Poole, S.J. *Mechanisms of Development* 34, 75-84 (1991).
- (7) Bürglin, T.R.; Finney, M.; Coulson, A. & Ruvkun, G. *Nature* 341, 239-243 (1989).