

ANÀLISI GENÈTICA I MOLECULAR DEL PAPER DEL GEN trunk EN ELS MECANISMES DE TRANSDUCCIÓ DE SENYAL EN EL DESENVOLUPAMENT DE Drosophila melanogaster

Marc Furriols i Jordi Casanova

Departament de Biologia Molecular i Cel·lular. CID. CSIC.
Barcelona.

Introducció

El desenvolupament embrionari de Drosophila està regulat per uns determinants citoplasmàtics sota el control del genoma matern. Els productes d'aquests gens, dipositats per la mare a l'oòcit durant l'oogènesi, organitzen el patró bàsic de l'organisme mitjançant l'activació diferencial del genoma zigòtic. Tres conjunts de gens materns determinen el patró embrionari en el seu eix antero-posterior; dos d'ells especifiquen el desenvolupament de les regions anterior i posterior. Un tercer sistema, el denominat sistema terminal, s'encarrega del desenvolupament de les estructures més extremes en els dos pols de l'embrió (Nüsslein-Volhard et al, 1987).

El sistema terminal: un mecanisme de transducció de senyal a través del receptor torso

Fins a l'actualitat s'han descrit diversos gens que pertanyen al sistema terminal. Un element clau en aquest sistema és el producte del gen torso (Schübach i Wieschaus, 1985; Klinger et al, 1988). La proteïna codificada per aquest gen és un receptor de membrana amb activitat tirosina quinasa (Sprenger et al, 1989; Sprenger et al, 1993) que es troba uniformement distribuïda per tota la superfície de l'embrió però que només s'activa als pols. Aquesta activació localitzada del receptor depèn del producte d'altres gens materns del sistema terminal, un del quals podria ser un lligand extracel·lular generat durant l'oogènesi i alliberat a l'espai perivitellí (Casanova i Struhl, 1989).

Actualment hi ha evidències (Sprenger i Nüsslein-Volhard 1992; Casanova i Struhl, 1993) que la senyal que activa torso als extrems de l'embrió és generada als pols i difon lliurement des d'allí per l'espai perivitellí. El receptor torso no només transduiria la senyal del sistema terminal sinó que a més n'asseguraria la seva correcta localització atrapant el lligand que difon.

Activació del receptor torso: paper del producte del gen trunk

Dels gens necessaris per a l'activació del receptor torso, torso-like és l'únic que es necessita a les cèl·lules foliculars somàtiques. A més, per estudis d'anàlisi clonal s'ha vist que la seva expressió només es necessària en subpoblacions de cèl·lules foliculars localitzades als pols de l'oòcit (Stevens et al,1990). Aquest gen podria jugar un paper clau en la generació de la senyal localitzada d'activació de torso. Però de moment, es desconeix quin és el mecanisme implicat.

Un altre dels gens materns necessaris per l'activació de torso és el gen trunk, que ha estat clonat recentment (Casanova et al, resultats no publicats). L'objectiu d'aquest treball és conèixer, mitjançant tècniques genètiques i moleculars, quin és el paper del gen trunk en l'activació del receptor torso.

Estructura de la proteïna trunk

La proteïna codificada pel gen trunk no presenta una homologia clara amb cap de les proteïnes descrites fins ara. De totes maneres, presenta alguns motius que suggereixen que la proteïna trunk podria ser processada per proteolisi. L'existència d'aquests motius ens permet especular amb la idea de que la proteïna trunk podria ser el lligand de torso, secretat a l'espai perivitellí (ja que presenta un pèptid senyal) en forma de pro-ligand (inactiu) i processat (per proteolisi) de manera localitzada als pols des d'on difondria lliurement la forma activa. El sistema terminal empraria els mecanismes bàsics que aprofiten altres sistemes per generar respostes molt localitzades, per exemple, el sistema de coagulació sanguini o el sistema dorso-ventral en el desenvolupament de Drosophila. Aquests sistemes es basen en xarxes molt complexes i molt ben regulades de proteolisi entre diferents proteases extracel·lulars (Hecht i Anderson,1992).

Caracterització dels al·lels mutants de trunk

Hem caracteritzat els set al·lels mutants que s'han generat del gen trunk (Schüpback and Wieschaus 1986) basant-nos en el seu fenotip cuticular. L'anàlisi de les cutícules dels embrions de mares homozigòtiques per cada un dels al·lels mutants ens ha permès veure que existeixen quatre mutants de fenotip extrem i dos mutants de fenotip intermig. Els mutants de fenotip extrem perden totes les estructures terminals, com és també el cas dels mutants de falta de funció del gen torso. Per tant, aquests quatre mutants de trunk poden ser considerats com amorfs (sense funció

o nuls). Per contra, alguna de les estructures terminals apareixen en els mutants de fenotip intermig, essent més freqüents l'aparició d'estructures menys terminals. Aquests mutants s'anomenen hipomorfs; la proteïna codificada per aquests mutants seria funcional i seria capaç de proporcionar certa activitat, però no suficient pel desenvolupament de totes les estructures terminals de l'embrió. Aquestes observacions reforcen la constatació de que existeix un gradient en l'activitat de torso (Casanova i Struhl 1989). Les estructures més terminals de l'embrió requereixen una activitat màxima del receptor torso que s'aconseguiria amb més quantitat del lligand.

Per a identificar quines són les zones més importants de la proteïna trunk per a la seva funció i per a entendre millor el comportament dels mutants com a nuls o hipomorfs hem començat a seqüenciar cada un dels mutants generats per EMS. De moment hem pogut caracteritzar dos mutants nuls. En tots dos casos hem pogut detectar canvis en els motius que identifiquen la possible zona de clivellament de la proteïna i, per tant, suggereixen que la impossibilitat de processar la proteïna mutant la faria inactiva. Pel que fa als mutants hipomorfs hem pogut detectar en un cas que la presència del missatger és molt reduïda, el que fa pensar que la baixa quantitat de proteïna seria la causa del fenotip mutant. En l'altre cas hem detectat una modificació en el pèptid senyal que podria suggerir que en aquest cas seria una ineficax secreció de la proteïna la responsable de la minva de funció.

Així doncs, l'anàlisi fenotípica i molecular dels mutants del gen trunk ens han permés començar definir les zones funcionalment importants de la proteïna i recolzar el model en el qual el producte processat del gen trunk seria responsable de l'activació del receptor torso.

Bibliografia :

- Casanova i Struhl. (1989). *Genes and development*, 3, 2025-2038.
- Casanova i Struhl. (1993). *Nature*, 362, 152-155.
- Hecht i Anderson. (1992). *Trends in cell biology*, 2, 197-202.
- Klinger et al. (1988). *Nature*, 335, 275-277.
- Nüsslein-Volhard et al. (1987). *Science*, 238, 1675-1681.
- Schüpbach i Wieschaus. (1986). *Roux's Arch. Dev. Biol.*, 195, 302-317.
- Sprenger et al. (1989). *Nature*, 338, 478-483.
- Sprenger i Nüsslein-Volhard. (1992). *Cell*, 71, 987-1001.
- Sprenger et al. (1993). *Mol. cell. Biol.*, 13, 1163-1172.
- Stevens et al. (1990). *Nature*, 346, 660-663.