



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Ciencias Biológicas

Escuela Profesional de Genética y Biotecnología

Estudio preliminar de la interacción entre la proteína del síndrome de Werner, presente en la fracción citoplasmática de células HeLa, y la proteína ribosomal humana S3 recombinante mediante el ensayo *in vitro* de *pull-down*

TESIS

Para optar el Título Profesional de Bióloga Genetista
Biotecnóloga

AUTOR

Stfanny Wendy MEZA SOTO

ASESOR

Juan Manuel IGLESIAS PEDRAZ

Lima, Perú

2018

RESUMEN

El gen *WRN* codifica a la proteína del síndrome de Werner (WRN), una proteína multifuncional con actividad helicasa y exonucleasa. Datos previos indican que WRN está asociada a la maquinaria traduccional y relacionada con las vías metabólicas que regulan la síntesis de macromoléculas, la producción de energía y el balance de óxido-reducción (redox) implicados en la proliferación celular. La proteína ribosomal eucariota S3 (eRPS3) es un elemento importante de la subunidad ribosomal menor 40S que promueve el reconocimiento del codón de inicio y la interacción con el ácido ribonucleico mensajero (ARNm) para el desarrollo de la síntesis proteica. La asociación entre la proteína ribosomal humana S3 (hRPS3) y WRN ha sido descrita previamente mediante ensayos de co-inmunoprecipitación, inmunoprecipitación y *pull-down* usando extractos totales de células embrionarias de riñón. El objetivo de la presente tesis fue identificar la interacción entre WRN, presente en la fracción citoplasmática de células HeLa, y la hRPS3. Mediante el uso de la tecnología de ADN recombinante se sintetizó en *E. coli* la proteína hRPS3 fusionada a una cola de seis histidinas (hRPS3-6xHis). Esta proteína de fusión fue inmovilizada por cromatografía de afinidad en una resina de agarosa con iones níquel, y se usó conjuntamente con la fracción citoplasmática de células HeLa que contenía a WRN para llevar a cabo el ensayo de *pull-down*. El análisis por Western blot del *pull-down* evidenció la presencia de WRN en la resina que contenía a la proteína de fusión hRPS3-6xHis. Este resultado demuestra la interacción entre WRN presente en el citoplasma y la hRPS3 que es un elemento importante de la maquinaria de traducción.

Palabras clave: proteína del síndrome de Werner, proteína ribosomal humana S3, *pull-down*, síntesis proteica, cromatografía de afinidad.

ABSTRACT

The *WRN* gene encodes the Werner syndrome protein (WRN), a multifunctional protein with exonuclease and helicase activity. Previous data indicate that WRN is associated with the translational machinery and related to the metabolic pathways that regulate the synthesis of macromolecules, the production of energy and the oxidation-reduction (redox) balance involved in cell proliferation. The eukaryotic ribosomal protein S3 (hRPS3) is an important element of the small ribosomal subunit (40S) and participates in the recognition of the first codon of the messenger RNA (mRNA) for the development of protein synthesis. The association between the human ribosomal protein S3 (hRPS3) and WRN has been previously described by co-immunoprecipitation, immunoprecipitation and pull-down assays using total extracts of kidney embryonic cells. The aim of the present thesis was to identify the interaction between WRN, present in the cytoplasmic fraction of HeLa cells, with hRPS3. Through recombinant DNA technology, the hRPS3 protein fused to a six histidine tail (hRPS3-6xHis) was obtained. This fusion protein was immobilized by affinity chromatography on a nickel agarose resin, and was used in combination with the cytoplasmic fraction of HeLa cells containing the WRN to carry out the protein interaction assay (pull-down). The analysis of the pull-down assays by Western blot showed the presence of the WRN in the resin containing the fusion protein hRPS3-6xHis. This result demonstrates the interaction between the WRN present in the cytoplasm and the hRPS3 which is an important element of the translation machinery.

Key words: Werner syndrome protein, human ribosomal protein S3, pull-down, protein synthesis, affinity chromatography.