

P13

La dinámica de los estados de fosforilación de las vías HOG y de las feromonas en levadura

Stefania Vaga¹, Robbie Loewith², Yves Barral³, Frank Van Drogen³, Björn Hegemann³, Edda Klipp³, Ruedi Aebersold¹

¹ Institute of Molecular Systems Biology, ETH, Zürich, Switzerland; ² Department of Molecular Biology, University of Geneva, Geneva, Switzerland; ³ Institute of Biochemistry, ETH, Zürich, Switzerland; ⁴ Humboldt-Universität, Berlin, Germany

vaga@imsb.biol.ethz.ch

Las células reciben una variedad de estímulos ambientales que desencadenan distintas respuestas celulares mediante la activación de vías de señalización específicas. Éstas se componen principalmente de proteínas que, de forma secuencial, cambian su estado de fosforilación, transmitiendo e integrando así la información precisa. Aunque la mayoría de vías de señalización han sido ampliamente estudiadas, el conocimiento sobre la interacción (o *crosstalk*) entre dos o más vías aún es muy limitado. Este proyecto tiene como principal objetivo estudiar la interferencia entre vías de señalización en la levadura, y más concretamente, se centra en el estudio de estados de fosforilación producidos por la aplicación de dos estímulos externos: el estrés hiperosmótico y el factor α .

Para lograr tal objetivo, se diseñó un experimento de evolución temporal con la cepa MATa Cdc28 de levadura. Estas células se caracterizan porque su ciclo celular puede ser detenido antes de proceder a la estimulación celular con 0,4 M NaCl ó 1 M de factor α . Una vez estimuladas las células, se cuantificaron los cambios en el estado de fosforilación de las proteínas celulares producidos durante los primeros 45 minutos después de la aplicación del estímulo, mediante espectrometría de masas (*label-free*).

La dinámica de los estados de fosforilación detectados concuerda con datos descritos con anterioridad en la literatura. Además, a partir de los resultados obtenidos se puede observar que las vías de respuesta al factor α y de respuesta a la hiperosmolaridad están influyendo en la respuesta de la otra. A modo de ejemplo, Ptp2, una fosfatasa fosfo-tirosina, parece regular la fosforilación de Hog1 durante la estimulación del factor α . De hecho, demostramos que la inhibición de Fus3 impide la activación de Ptp2 y la desfosforilación de Hog1.

Varios componentes de ambas vías muestran dinámicas que siguen la misma pauta de ppHog1 (en forma de pico) o de ppFus3 (llegando gradualmente a un *plateau*). En particular, la dinámica de ppSte20, un componente común de las dos vías, varía en función del estímulo aplicado.

Los siguientes pasos en este proyecto se centrarán en la co-estimulación de ambas vías. Los datos semi-cuantitativos que se recojan se utilizan para generar un modelo matemático que describa y prediga la dinámica de los estados de fosforilación de las proteínas involucradas en la interacción entre estas dos vías.