

Título: “CFP: Una nueva forma de detectar in vitro la actividad del factor de transcripción p53.”

Alumno/a: CAMPAGNO, Romina

Director/a: FERRERO, Paola

Fecha de defensa: 28/12/2011

RESUMEN

La apoptosis o “muerte celular programada” ocurre naturalmente durante el desarrollo y resulta ser un mecanismo eficaz para mantener la homeostasis frente a daños o condiciones estresantes. La maquinaria apoptótica está conservada a través de las especies y *Drosophila melanogaster* presenta homólogos de los miembros más representativos, cumpliendo cada uno de ellos, funciones similares a las de mamíferos. Por esta razón entre otras, la mosca de la fruta se ha vuelto una herramienta de gran utilidad para el desarrollo de diversos estudios. Uno de los principales intermediarios de la apoptosis es la proteína supresora de tumores, p53, que actúa principalmente como factor de transcripción. Esta proteína se activa principalmente ante situaciones de estrés que dañan el ADN y comprometen la estabilidad genómica. El homólogo de p53, presente en *Drosophila melanogaster* regula la transcripción de genes blanco, como la familia multigénica RHG, reaper (*rpr*), head involution defective (*hid*) y *grim*. Sus productos proteicos son traducidos de forma independiente para regular la actividad de las caspasas, proteasas específicas que ejecutan el programa de muerte celular. El presente trabajo estudia y optimiza una nueva forma de detectar la actividad de p53 ante radiaciones ionizantes. Trabajamos sobre discos imaginales (órganos larvales, que darán origen a las estructuras del adulto) de *Drosophila melanogaster*. Éstos últimos son particularmente útiles porque presentan poca apoptosis fisiológica, característica que los convierte en sistemas ideales de evaluación efectiva de la muerte inducida por tratamientos de estrés. Se utilizó un sistema reportero que consta del gen que codifica para la proteína fluorescente verde, unido a una porción del promotor del gen reaper, el cual tiene un elemento de respuesta a p53. Cuando p53 se expresa en respuesta a irradiación gamma, se observa incremento de la fluorescencia verde. El sistema reportero sólo ha sido estudiado en embriones. El grupo de trabajo corroboró su funcionamiento en el estadio larval. Los objetivos se enmarcaron en evaluar la respuesta tras el tratamiento con dosis bajas y altas de radiación ionizante y determinar la permanencia de activación en el tiempo. Los resultados obtenidos nos permitieron concluir que la activación se produce cuando irradiamos las muestras con dosis altas de radiación (40G), y la señal se mantuvo hasta 6 horas después de la exposición al estrés. La misma, es específica para la activación de p53. Así, este sistema constituye una alternativa para evaluar la actividad de p53 in vivo, a los métodos tradicionales de baja

eficiencia como la inmunohistoquímica. Esperamos que el presente trabajo estimule el uso de construcciones genéticas de estas características y fomente el desarrollo de nuevas herramientas para la detección de la actividad proteica.