

¿LOS NIVELES DE ATP EN EL CLOROPLASTO REGULAN EL PROCESAMIENTO DEL 3' UTR DE mRNAs A TRAVÉS DE LA FOSFORILACIÓN DE LA 24RNP Y LA 28RNP?

Vargas-Suárez M., King-Díaz B., Lotina-Hennsen B. y Loza-Tavera H[#].

Facultad de Química, Departamento de Bioquímica, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., 04510, México. Tel.: (55)-5622-5280. Fax: (55)-5622-5329. [#]e-mail: hlozat@servidor.unam.mx

La fosforilación de proteínas es un mecanismo que puede regular la expresión de genes en plastidios. Siendo la regulación post-transcripcional el principal nivel de regulación de la expresión de genes en cloroplastos, inicialmente decidimos determinar si, *in vitro*, existía una conexión entre el procesamiento del 3' UTR de pre-mRNAs de cloroplastos por un extracto de procesamiento (EP) y los niveles de ATP. Nuestros resultados mostraron que el EP aislado de plantas cultivadas en ciclos de luz/obscuridad (L/O) procesa el RNA a concentraciones bajas o inexistentes de ATP, mientras que a concentraciones altas no lo procesa. Este mismo efecto se observó utilizando un EP desfosforilado, el cual, en ausencia de ATP, degradó al RNA. Además, observamos que la reconstitución con la 24 y la 28RNP a un EP carente de estas proteínas, exige la fosforilación de las mismas para que el RNA pueda ser procesado. En conjunto, esta información permite proponer ahora que, en los cloroplastos, el metabolismo de los pre-mRNAs está regulado por los niveles de ATP, vía el estado de fosforilación de las proteínas encontradas en el EP. Soporte adicional para esta propuesta deriva del hecho que los niveles de ATP son bajos en los cloroplastos en condiciones de obscuridad y que extractos de cloroplastos obtenidos de plantas adaptadas a la obscuridad degradan el RNA. Además, la 29RNP de cloroplastos muestra un grado diferencial de fosforilación durante la biogénesis del cloroplasto dependiente de luz.

Para probar nuestra hipótesis el modelo que utilizaremos serán cloroplastos intactos aislados de plantas L/O, mantenidos en la obscuridad y posteriormente iluminados en presencia de diferentes concentraciones de inhibidores del transporte de electrones o de desacoplantes, para generar condiciones en las que el gradiente electroquímico de protones esté inhibido desde un 0 hasta un 100%. Se tomarán muestras de cada condición para determinar el contenido de ATP, el grado de fosforilación de las proteínas 24 y 28RNP y la actividad funcional del EP. La influencia de los niveles de ATP en el cloroplasto sobre el metabolismo del pre-mRNA también será establecida por medio de la adición de diferentes metabolitos que causan el consumo o la generación de ATP. Se espera que mientras más afectado esté el gradiente de protones, menores sean los niveles de ATP, de fosforilación de las RNPs y el RNA sea degradado; a mayor acoplamiento, los niveles más altos de ATP favorecerían una mayor fosforilación de la 24 y 28RNP y el procesamiento del RNA.

Baginsky S. and Gruissem W. 2002. *Nucleic Acids Res.* 30: 4527-4533.

Kleffmann T. *et al.* 2007. *Plant Physiol.* 143: 912-923.

Loza-Tavera H. *et al.* 2006. *Biochimie.* 88: 1217-1228.

Monde *et al.* 2000. *Biochimie.* 82: 573-582.