



CONSELL SUPERIOR D'INVESTIGACIONS CIENTIFIQUES

Institut de Biologia Molecular de Barcelona

Departament de Genètica Molecular

**CARACTERITZACIÓ MOLECULAR I FUNCIONAL DE LA
PROTEÏNA QUINASA CK2 DE BLAT DE MORO (*Zea mays*)**

Marta Riera i Bonet

Barcelona, Juny 2002



Universitat Autònoma de Barcelona

Departament de Bioquímica i Biologia Molecular

Unitat de Ciències

**CARACTERITZACIÓ MOLECULAR I FUNCIONAL DE LA
PROTEÏNA QUINASA CK2 DE BLAT DE MORO (*Zea mays*)**

Memòria presentada per Marta Riera i Bonet per optar al grau
de Doctora en Bioquímica i Biologia Molecular per la Universitat Autònoma de Barcelona.

Aquest treball s'ha realitzat al Departament de Genètica Molecular del Institut de Biologia Molecular de Barcelona CID/CSIC, sota la direcció la Dra. Montserrat Pagès i Torrens i sota la tutoria del Dr. Emili Itarte i Fresquet.

Dra. Montserrat Pagès i Torrens.

Dr. Emili Itarte i Fresquet

Marta Riera i Bonet

ABREVIATURES

ABA	àcid abscísic
AD	domini activador
ATP	
BD	domini d'unió a DNA
CK2	proteïna quinasa CK2, caseïna quinasa 2
C-terminal	extrem carboxílic
EDTA	àcid etilendiamitetraacètic
GTP	
GFP	green fluorescent protein
GUS	β glucuronidasa
hnRNP	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein
IPTG	isopropil- β -D-tiogalacto-piranosid
LEA	Late Embryogenesis Abundant
mRNA	RNA missatger
NES	nuclear export signal
NLS	nuclear localization signal
NOS	nucleolar signal
N-terminal	extrem amino terminal
PAGE	polyacrylamide gel electrophoresis
pI	punt isoelèctric
rmCK2	recombinant maize CK2
rhCK2	recombinant human CK2
SD	dia curt, 8 h llum + 16 h fosc
SD -L	medi mínim sense leucina
SD -L-T	medi mínim sense leucina ni triptofan
SD -L-T-H-A	medi mínim sense leucina, triptofan, histidina i adenina
SD -T	medi mínim sense triptòfan
SDS	dodecil sulfat de sodi
TNT	traducció i transcripció <i>in vitro</i>
U	unitats
X-gal	5-bromo-4-cloro-3-indotil- β -D-galactopiranosid
YPD	yeast peptone dextrose

INDEX

INTRODUCCIÓ.....	1
1. Les proteïnes quinases.....	3
2. Les proteïnes quinases de plantes.....	6
3. La proteïna quinasa CK2.....	10
3.1 Introducció.....	10
3.2 Estructura molecular de la proteïna quinasa CK2.....	11
3.2.1 Les subunitats catalítiques CK2 α/α'	11
3.2.2 Les subunitats reguladores CK2 β	12
3.2.3 L'holoenzim CK2.....	14
3.3 Substrats i proteïnes que interaccionen amb la proteïna quinasa CK2.....	17
3.4 Funcionalitat de la proteïna quinasa CK2.....	18
3.5 Localització subcel.lular de la proteïna quinasa CK2.....	19
3.6 Estructura molecular de la proteïna quinasa CK2 de plantes.....	20
3.6.1 Les subunitats catalítiques CK2 α/α'	20
3.6.2 Les subunitats reguladores CK2 β	24
3.7 Funcionalitat de la proteïna quinasa CK2 en plantes.....	25
4. La proteïna Rab17 de blat de moro.....	29
4.1 Introducció.....	29
4.2 Característiques generals de la proteïna Rab17 de blat de moro.....	30
4.3 Estudis funcionals previs amb la proteïna Rab17 de blat de moro.....	31
OBJECTIUS.....	35
RESULTATS.....	39
<u>Capítol 1: Caracterització de la proteïna quinasa CK2 de blat de moro.....</u>	41
1.1 Resum en català del treball 1.....	43
Còpia del treball 1: <i>Maize protein kinase CK2: regulation and functionality of three beta subunits</i> . Marta Riera, Giovanna Peracchia, Eulalia de Nadal, Joaquin Ariño and Montserrat Pagès. <i>The Plant Journal</i> (2001) 25 (4) 365-374.....	45

Index

Resultats annexes al treball 1.....	57
1.2 Resum en català del treball 2.....	63
Còpia del treball 2: <i>Distinctive features of plant protein kinase CK2</i> . Marta Riera, Giovanna Peracchia, Montserrat Pagès. Mol. Cel. Biochem. (2001) 227:119-127.....	65
1.3 Caracterització bioquímica de l'holoenzim recombinant CK2 de blat de moro.....	75
1.4 Interacció entre els diferents dominis de CK2 β i les subunitats CK2 α i CK2 β	81

Capítol 2: Estudi de la regulació de la proteïna Rab17 per la proteïna quinasa CK2 de blat de moro..... 83

2.1 Interacció entre la proteïna Rab17 i la proteïna quinasa CK2.....	85
2.2 Fosforilació de la proteïna Rab17 per la proteïna quinasa CK2.....	87
2.3 Localització subcel·lular de la proteïna Rab17 i la proteïna quinasa CK2 en cèl·lules de ceba.....	91

Capítol 3: Aïllament de proteïnes que interaccionen amb la proteïna quinasa CK2 de blat de moro..... 101

3.1 Anàlisi/crivellatge de la llibreria de doble híbrid.....	103
3.2 Proteïnes que interaccionen amb la subunitat CK2 β -1 de blat de moro.....	106
3.3 Caracterització de 912h, un factor de transcripció del tipus GATA/dit de zinc.....	113
3.3.1 Característiques generals de 912h.....	113
3.3.2 Expressió del transcrit 912h.....	115
3.3.3 Fosforilació 912h per la proteïna quinasa CK2.....	117
3.3.4 Localització subcel·lular de la proteïna 912h.....	118

DISCUSSIÓ GENERAL..... 123

CONCLUSIONS..... 145

MATERIALS I MÈTODES ADDICIONALS.....	149
1. Sobreexpressió, purificació i caracterització bioquímica de l'holoenzim recombinant CK2 de blat de moro.....	149
2. Sistema del doble híbrid.....	150
3. Assaigs de fosforilació CK2.....	150
4. Extracció de proteïnes, western i immunoprecipitació.....	151
5. Transformació transient de ceba.....	151
BIBLIOGRAFÍA.....	155