Universidad de Chile

Facultad de Ciencias

CARACTERIZACION DE LA VIABILIDAD, LA ACTIVIDAD GTPASICA Y LA POLIMERIZACION DE LAS MUTANTES EcFtsZ E83Q, R85Q Y G67P.

Tesis Entregada a la Universidad de Chile En cumplimiento parcial de los requisitos Para optar al grado de Magister en Ciencias con mención en Biología

Por

Jae Yen Shin Abril, 2003

Director de Tesis: Dr. Octavio Monasterio. Co-director de Tesis: Dra. Rosalba Lagos.

Tesis con restricción de acceso en línea, según petición de su autor.

RESUMEN . 1

RESUMEN

La FtsZ polimeriza para formar el anillo Z alrededor del perímetro transversal en el centro de la célula cuando la bacteria E. coli inicia la formación del septo. En este proceso participan varias proteínas Fts para formar el divisoma y FtsZ es la que se encuentra en mayor concentración. Una vez formado el anillo Z no se sabe cómo este induce la división celular. La polimerización de la FtsZ ha sido caracterizada in vitro y se sabe que induce su actividad GTPásica y forma protofilamentos por interacciones longitudinales que dan origen a láminas y túbulos a través de interacciones laterales. Estas características también son propias de la tubulina, proteína que presenta similitud estructural con la FtsZ, por esto, ambas proteínas se consideran homólogas. Se desconoce cuales son los polímeros funcionales dentro de la célula y que tipo de interacciones están involucradas. De allí que un buen modelo para entender las interacciones en los polímeros de la FtsZ son los microtúbulos. Una comparación estructural entre la tubulina y la FtsZ mostró que la hélice H3 de la FtsZ, donde se destaca la presencia de aminoácidos cargados, y el "loop" formado entre la hebra beta S3 y la hélice H3, rica en glicinas, estarían involucrados en las interacciones laterales. Con el fin de demostrar la importancia de las interacciones laterales de la FtsZ en la formación de los polímeros funcionales en la división celular de E. coli se construyeron mutantes puntuales de la EcFtsZ: E83Q y R85Q en la hélice H3 y G67P en el "loop" S3-H3. Los resultados mostraron que la viabilidad se redujo en las células que expresan solo las EcFtsZ mutantes con respecto al tipo silvestre en el siguiente orden: tipo silvestre > E83Q > G67P > R85Q. La caracterización in vitro de estas mutantes mostró que su polimerización decreció en el mismo orden que la viabilidad y que la actividad GTPásica decreció de manera diferente, de acuerdo al siguiente orden: tipo silvestre > G67P > E83Q > R85Q. Estos resultados muestran que hay una relación directa entre la polimerización y la viabilidad y que la velocidad de hidrólisis de GTP no está relacionada en forma directa con la viabilidad. Se concluye que en la polimerización de EcFtsZ y por ende en la división celular de *E. coli* son necesarias las interacciones intermoleculares de EcFtsZ mediadas por la hélice H3 y el "loop" S3-H3.

Shin, Jae Yen

2