

RESUMEN TESIS

Estructura y función del complejo PeBoW como modelo en el desarrollo de posibles herramientas terapéuticas

La biogénesis ribosomal es uno de los procesos más complejos, esenciales y costosos energéticamente de la célula eucariota. La formación de las subunidades ribosomales en levaduras comienza en el nucléolo con la transcripción del ARNr. En este proceso se requiere la participación de más de doscientos factores de ensamblaje y ARNs pequeños nucleolares (snoARNs) que no formarán parte del ribosoma maduro aunque son necesarios para un apropiado procesamiento del ARNr y organización estructural de las subunidades ribosomales. Los estudios estructurales de los estadios de maduración de la subunidad 60S han permitido la identificación de algunas interacciones funcionales entre los distintos factores de ensamblaje. Entre ellos se encuentran las proteínas Nop7, Erb1 e Ytm1 que forman un heterotrímero discreto denominado subcomplejo Nop7 en levaduras, o complejo PeBoW en mamíferos, compuesto por los ortólogos Pes1, Bop1 y WDR12, respectivamente. Este complejo puede detectarse de forma aislada de las partículas prerribosomales. La formación de este heterotrímero es esencial para el ensamblaje de la subunidad 60S ya que garantizan la correcta maduración del extremo 5' del ARNr 5,8S facilitando así su asociación con el ARNr 25S, aunque se desconoce en detalle el papel exacto en la biogénesis ribosomal. En este trabajo se ha realizado un análisis de las interacciones entre los componentes del PeBoW así como una aproximación a la resolución estructural del complejo en solución. Usando una combinación de técnicas biofísicas, nuestros resultados indican que la conformación estructural que adopta el complejo PeBoW en el nucleoplasma es diferente a la descrita en el contexto prerribosomal. Además, se han identificado posibles funciones que podría estar ejerciendo el complejo PeBoW o bien las distintas proteínas del complejo de forma aislada fuera del prerribosoma.

Asimismo se conoce que la biogénesis ribosomal es un mecanismo altamente regulado y estrechamente relacionado con crecimiento y proliferación celular. La imperiosa necesidad de síntesis de ribosomas y proteínas que tiene una célula tumoral convierte a este proceso es un punto débil de la misma. Por esta razón, hay un gran interés para estudiar la biogénesis ribosomal como diana terapéutica contra el cáncer. Se ha observado que la paralización de esta vía es capaz de promover la activación no genotóxica del supresor tumoral p53, a diferencia de los efectos indeseados que provocan las terapias convencionales contra el cáncer. Como primer paso hacia el desarrollo de herramientas inhibitoras de la biogénesis del ribosoma, hemos utilizado la información cristalográfica que poseíamos del complejo de *Chaetomium*

thermophilum entre los factores de ensamblaje Erb1 e Ytm1 para realizar una selección guiada por la estructura de péptidos de interferencia. Los péptidos de interferencia han sido analizados *in vitro* para determinar su capacidad de interacción utilizando técnicas biofísicas. Asimismo, se han generado péptidos de interferencia con la secuencia humana de Erb1/Ytm1 para evaluar sus efectos en cultivo de células de cáncer de colon HCT-116. Nuestros resultados indican que el estrés ribosómico se puede inducir en diferentes etapas del proceso de maduración al dirigirse a las interacciones proteína-proteína, elevándolas como una alternativa al uso de inhibidores de la ARN pol I.