

Título: INHIBICIÓN DE LA PROTEÍNA QUINASA C-BETA MEDIANTE RNA ANTISENTIDO Y ESTUDIO DE SU FUNCIÓN EN LA ACTIVACIÓN DE CÉLULAS JURKAT

Nombre: Cerviño Gómez M^a del Carmen

Universidad: Universidad de Santiago de Compostela

Departamento: Bioquímica y biología molecular

Fecha de lectura: 11/06/2007

Programa de doctorado: Bioquímica y Biología Molecular

Dirección:

> **Director:** PRIMITIVO BARJA FRANCISCO

Tribunal:

> **presidente:** Manuel Freire Rama

> **secretario:** Sarandeses Dacosta Concepción Sofía

> **vocal:** JAVIER BRIONES MEIJIDE

> **vocal:** JOSEFA PREDESTINACIÓN GARCÍA RUIZ

> **vocal:** M ISABEL RODRIGUEZ MOLDES REY

Descriptores:

> CIENCIAS DE LA VIDA

El fichero de tesis no ha sido incorporado al sistema.

Localización: Biblioteca de la Facultad de Biología. Campus Universitario Sur. Universidad de Santiago de Compostela (Santiago de Compostela).

Resumen: La proteína quinasa C (PKC) es una familia de serina-treonina quinasas que participa, entre otros procesos, en la transducción de señales de activación en los linfocitos T. Esta familia consta de, al menos, diez isoformas, con expresión variable según el tipo celular. Con el objetivo de analizar la función específica de la PKC beta en el proceso de activación de linfocitos T, se inhibió su expresión mediante la tecnología antisentido, utilizando como modelo de estudio las células Jurkat (una línea leucémica de células T humanas). Utilizando esta técnica, consistente en la introducción en la célula de una secuencia de RNA complementaria a la del RNA mensajero que codifica la proteína objeto de estudio, inhibimos la expresión de esta enzima. Para obtener una inhibición permanente, se introdujo en las células Jurkat, mediante electroporación, un vector episomal (el plásmido pREP3), con un inserto correspondiente a un fragmento del gen que codifica la PKC beta en orientación antisentido. De forma paralela, en las células Jurkat se introdujo el vector pREP3 sin inserto, con el objetivo de obtener poblaciones que pudieran utilizarse como control. Con la finalidad de obtener poblaciones homogéneas en cuanto a su expresión de esta isoforma de PKC, las células se clonaron mediante dilución límite, seleccionándose a continuación aquéllas con menor expresión de PKC beta con respecto a los controles analizados. En estas células pudo demostrarse una inhibición selectiva de PKC beta entre el 40% y el 60% y la disminución en los niveles del RNA mensajero que la codifica.

La reducción en la expresión de PKC beta se relacionó en las células Jurkat con una alteración en la formación de agregados, más numerosos y formados por un mayor número de células con respecto a los controles, sin que se observaran diferencias con respecto a la viabilidad o proliferación celular en ausencia de estímulo. Tras el estímulo de las células con un