

UNIVERSIDAD DE CONCEPCION



TITULO:

PARTICIPACIÓN DE $G\alpha_q$ EN EL DESARROLLO EMBRIONARIO TEMPRANO
DE *XENOPUS LAEVIS*



Tesis de Doctorado presentada a la Escuela de Graduados de la Universidad de
Concepción como parte de los requisitos para optar al grado de Doctor en
Ciencias Biológicas, área Biología Celular y Molecular

Por

Ximena de Luján Soto Rodríguez

Director de Tesis: Dr. Juan Olate Aravena

2006

RESUMEN

El desarrollo embrionario es un proceso complejo que involucra diferentes vías de señalización y una de éstas es la vía de señalización *Wnt/Frizzled* (W-F). En *Xenopus laevis* la vía de señalización W-F determina el eje dorso-ventral del embrión, regulando la generación de gradientes de proteínas que definen la región dorsal del embrión. Recientemente, se han realizados valiosos aportes que han permitido clasificar la vía de señalización *Wnt-Frizzled* en tres cascadas diferentes: *Wnt/β-catenina*, *Wnt/PCP* y *Wnt/Ca²⁺*. Las tres vías participan regulada y coordinadamente durante el desarrollo embrionario. La vía de señalización no canónica *Wnt-Calcio* (*Wnt-Ca²⁺*) está implicada en la especificación de la cara ventral de los embriones, la cual actuaría antagonizando la vía de señalización canónica.

Considerando que los receptores *Frizzled* forman parte de los receptores acoplados a proteínas G y que la activación de la cascada del fosfatidilinositol (PI) regula la expresión de genes específicos que determinan el mesodermo dorsal, creemos interesante explorar la participación de proteínas G en este proceso. Basado en lo anterior se hipotetizó que *Gαq* participa en el desarrollo del mesodermo durante la embriogénesis temprana de *Xenopus laevis*.

Para dar respuesta a esta hipótesis se estudió el efecto de la sobreexpresión de *xlGαq-wt* en el desarrollo embrionario de *Xenopus laevis*. Los resultados muestran que la sobreexpresión de *xlGαq-wt* causa un fenotipo similar al descrito para la sobreexpresión del receptor de serotonina 5HT1c (receptor que

se acopla a la familia de $G\alpha q$), y similar al obtenido por la sobreexpresión de Wnt-5A y Rfz-2, afectando notoriamente el desarrollo del mesodermo dorsal y produciendo un acortamiento del eje antero-posterior (A-P). Concordantemente, la sobreexpresión de $xlG\alpha q$ -wt inhibió la expresión de los marcadores de mesodermo dorsal *goosecoide* y *chordin* y los marcadores neurales *otx2*, *xbf1* y *en2*. Adicionalmente, la activación de la $xlG\alpha q$ endógena, mediante la expresión y posterior activación del receptor muscarínico M1 muestra un fenotipo similar al causado por la sobreexpresión de $xlG\alpha q$ -wt donde también se observó un fenotipo ventralizado.

Por otro lado, se analizó el efecto de la depleción funcional de $xlG\alpha q$ mediante el uso de oligos morfolino. Los resultados mostraron que probablemente existe un efecto posteriorizante en el desarrollo embrionario de *Xenopus laevis*, lo cual fue confirmado por el uso de la mutante dominante negativa $G\alpha qN^{246}M^{248}\rightarrow AA$.

Finalmente los estudios de co-expresión de Wnt8 y M1R/ligando mostraron que $xlG\alpha q$ está antagonizando la vía de señalización Wnt canónica, (activada por sobreexpresión de Wnt8), río arriba de β -catenina.

Todos estos datos apoyan fuertemente la hipótesis que $xlG\alpha q$ está participando en el desarrollo embrionario de *Xenopus laevis* regulando el plano A-P (antero-posterior) y D-V (dorso-ventral) del embrión.