



# UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR



## **Efecto de catepsina L nuclear en la proliferación celular y expresión de catepsina D en células de adenocarcinoma colorrectal Colo320.**



Felipe Alejandro Paredes Vallejos

Profesor Guía y Patrocinante Dra. Violeta Morín M.

Laboratorio de proteasas y cáncer

Departamento de Bioquímica

y Biología Molecular

Facultad de Ciencias Biológicas

## RESUMEN

Catepsina L ha sido documentada por diversos estudios como una proteasa promotora de la progresión cancerígena, siendo reconocido principalmente su papel degradativo en eventos de migración y metástasis al ser secretada al medio extracelular. Mientras que, su localización nuclear ha sido vinculada como un efecto promotor en la progresión del ciclo celular, a través de la activación del factor de transcripción CDP/Cux1. Las formas proteicas nucleares de estos estudios sugieren que las variantes de catepsina L encargadas de promover esta patología, pueden ser diferentes en tamaño molecular dependiendo del tejido afectado y del tipo celular. Nosotros estudiamos las isoformas de catepsina L que se encuentran a nivel nuclear, y ligamos su participación en la proliferación celular en células de cáncer colorrectal a través de la inhibición de su actividad. Además, evaluamos el efecto de la actividad de catepsina L en la expresión de la proteasa pro apoptótica catepsina D. Para este propósito, la línea celular de adenocarcinoma colorrectal Colo320 fue cultivada en presencia de un inhibidor específico para catepsina L durante 18 horas. Analizamos en primer lugar la localización celular de catepsina L, empleando ensayos de inmunofluorescencia e inmunodetección por western blotting, en conjunto con la detección de marcadores nucleares y citoplasmáticos. Para determinar los efectos producidos por la inhibición de esta proteína en el ciclo celular, ensayos de proliferación celular y de detección mediante western blotting se emplearon para vincular la actividad de las formas nucleares detectadas en el clivaje de CDP/Cux1, efectos que se confirmaron mediante un marcador de proliferación celular. En paralelo, para analizar los cambios en la expresión de catepsina D, análisis mediante western blotting y RT-PCR fueron llevados a cabo. Nuestros resultados muestran que las isoformas de catepsina L presentes a nivel nuclear son de 60 y 35 kDa, y su actividad proteolítica se vincula directamente con el clivaje de CDP/Cux1 y subsecuente contribución en la proliferación celular. Mientras que su actividad al parecer no genera cambios en los niveles de expresión de catepsina D.