



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ciencias Biológicas - Programa de Magíster en Bioquímica y
Bioinformática

Participación de Ric-8A en la formación de la Cresta Neural durante el desarrollo embrionario de *Xenopus*

JAIME RODRIGO FUENTEALBA CACERES
CONCEPCIÓN-CHILE
2012

Profesor Guía: Marcela Torrejón Quezada
Profesor Co-tutor: Juan Olate Aravena
Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular,
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad de Concepción

Resumen

La cresta neural es una población celular embrionaria transitoria, inducida en los bordes laterales de la placa neural y que migra extensamente a diversas partes del embrión, donde se diferencia en una amplia variedad de células, incluyendo la mayor parte del esqueleto cráneo-facial y del sistema nervioso periférico. Se ha determinado mediante la técnica de hibridación *in situ* que en embriones de *Xenopus tropicalis* la proteína Ric-8A se expresa en células de la cresta neural. En otras especies, Ric-8 ha sido caracterizado como un factor intercambiador de nucleótidos de guanina (GEF) para subunidades $G\alpha$ de proteínas G heterotriméricas, y en consecuencia, un activador de las vías de señalización de dichas proteínas. Con el objeto de estudiar la función de Ric-8A en la inducción y migración de las células de la cresta neural, en este trabajo de tesis se llevaron a cabo ensayos de pérdida de función mediante la microinyección de un morfolino contra Ric-8A a embriones de *Xenopus*. Por medio de estos ensayos se demostró que el silenciamiento de Ric-8A provoca una expresión alterada de los marcadores Twist y Slug, lo que indica la importancia de dicha proteína en la formación de la cresta neural. Esto último fue corroborado *in vivo* a través de ensayos de trasplantes y por medio del análisis de la formación de cartílago cráneo-facial que deriva de crestas neurales.

Por otro lado, mediante ensayos de explantes se determinó que la pérdida de función de Ric-8A provoca una alteración del comportamiento celular migratorio, viéndose afectada no sólo la dispersión celular, sino que también la migración direccionada hacia una fuente del péptido Sdf1, un agente quimiotáctico para las células de la cresta neural. Además, durante la migración celular tanto en un contexto *in vivo* como *in vitro*, Ric-8A se localiza en la membrana plasmática, lo que concuerda con su probable función activadora de proteína G heterotrimérica. Por otra parte, el análisis de la inmunoreactividad de fosfopaxilina permitió determinar que el silenciamiento de Ric-8A provoca una severa disminución de la formación de adhesiones focales, explicándose la reducida dispersión celular observada en células explantadas desde embriones morfantos. Finalmente, el

análisis de la expresión de las subunidades G α s, G α 13, G α q y G α i2 sugiere que al menos las tres primeras son necesarias para la migración de las células de la cresta neural, lo que permite inferir que su previa activación mediada por Ric-8A, podría ser requerida durante el proceso.

Por último, la importancia de este estudio radica en la demostración que Ric-8A es fundamental durante distintos pasos de la formación de la cresta neural; lo que constituye un nuevo rol para esta proteína durante la embriogénesis.

