

CARACTERIZAÇÃO DAS PROTEÍNAS DE INTERAÇÃO DO DOMÍNIO DE QUINASE DE S6K1 EM CÉLULAS HUMANAS

Alice M. M. Springer (IC), Lidia B. de Freitas (IC), Isadora C. B. Pavan (PG), Adriana F. P. Leme (PQ), Fernando M. Simabuco (PQ).

Resumo

A via de transdução de sinal da proteína mTOR tem sido associada ao controle do balanço energético do organismo, funcionando ora como um sensor da quantidade de nutrientes disponível ora como um sinalizador para o gasto ou armazenamento dessa energia. Diversos estudos mostram que S6K1 está envolvida com a resistência das células à insulina, inibindo com isso a sinalização intracelular da insulina. As proteínas S6Ks são conhecidas como as principais proteínas efetoras da via de mTOR. Além disso, os genes que codificam S6K1 e S6K2 encontram-se comumente ampliados em diversos tipos de câncer. O presente projeto de pesquisa visou caracterizar as proteínas de interação do domínio de quinase de S6K1. Para tanto, realizamos imunoprecipitação do domínio de quinase de S6K1 e analisamos por espectrometria de massas as proteínas de interação co-imunoprecipitadas. Possíveis novos alvos ou proteínas reguladoras de S6Ks foram identificadas e permitirão um melhor entendimento da via de sinalização da mTOR/S6K.

Palavras Chave: S6K, mTOR, metabolismo.

Introdução

A via de transdução de sinal da proteína mTOR tem sido associada ao controle do balanço energético do organismo, funcionando ora como um sensor da quantidade de nutrientes disponível ora como um sinalizador para o gasto ou armazenamento dessa energia. Diversos estudos mostram que S6K1 está envolvida com a resistência das células à insulina, já que é capaz de fosforilar e inativar um dos componentes essenciais da transdução de sinal desse hormônio, a proteína IRS1, inibindo com isso a sinalização intracelular da insulina. Além disso, estudos mostram que a via mTOR/S6K1 está envolvida em alguns tipos de câncer associados à obesidade. Por fim, um dos efeitos conhecidos de mTOR no cérebro, mais especificamente no núcleo arqueado no hipotálamo, é induzir a inibição do apetite e, conseqüentemente, a ingestão alimentar.

Resultados e Discussão

Foi realizada a imunoprecipitação da isoforma p70-S6K1, domínio de quinase e controle (GFP), fusionados ao peptídeo FLAG. As amostras foram analisadas em espectrômetro de massas, obtendo-se como resultado uma série de proteínas que interagem com a proteína analisada.

Após a imunoprecipitação, a validação das proteínas que interagem com p70-S6K1, domínio de quinase e controle (GFP) foi realizada por Western Blotting, usando anticorpos específicos para algumas das proteínas encontradas. Obteve-

se resultados positivos durante o processo, indicando que o experimento anterior foi realizado com êxito e, também, que tais proteínas estavam realmente presentes nas amostras (extrato e eluído) preparadas para realização da imunoprecipitação.

Dentre as proteínas encontradas, destacam-se NCL (nucleolin), MEP50 (methylosome protein 50), PRMT5 (protein arginine N-methyltransferase 5) e PPM1B (protein phosphatase 1B), as quais, interagiram com o domínio de quinase de S6K1.

Conclusões

Novas proteínas de interação foram encontradas para o domínio de quinase de S6K1 e podem estar relacionadas com a função dessa proteína no controle do metabolismo. Outros estudos, no entanto, se mostram necessários nessa área, para que se possa, de fato, entender a relação das proteínas de interação com aquelas estudadas no presente projeto de pesquisa.

Agradecimentos

Este projeto recebeu apoio da Fundação De Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ).

¹ Magnuson B, *et al.* Biochem J;441(1):1-21. 2012

² Tavares MR, *et al.* Life Sci. 2015 Jun 15;131:1-10. doi: 10.1016/j.lfs.2015.03.001. Epub 2015 Mar 26. Review..

³ Ben-Hur V, *et al.* S6K1 alternative splicing modulates its oncogenic activity and regulates mTORC1. Cell Rep. 2013 Jan 31; 3(1):103-15