

Proteína fluorescente verde: una nueva forma
de detectar *in vivo* la actividad
del factor de transcripción p53.

Tesina de la alumna

ROMINA VALERIA CAMPAGNO

Este trabajo ha sido presentado como requisito para la obtención del título de

LICENCIADA EN GENÉTICA

Carrera: Licenciatura en Genética

Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales.
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires.

Pergamino,de.....de.....

Proteína fluorescente verde: una nueva forma
de detectar *in vivo* la actividad
del factor de transcripción p53.

Tesina de la alumna

ROMINA VALERIA CAMPAGNO

Aprobada por el Tribunal Evaluador de Tesina

.....
Dra. Paola Ferrero
Director.

Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales,
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Paola Ferrero por haberme guiado en la realización de este trabajo. La entrega y dedicación incondicional en post de la formación profesional, han sido motivo de inspiración.

A la Dra. Adriana Andrés, actual directora de la Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales (ECANA), y coordinadora de la carrera de Licenciatura en Genética, durante el período de mi cursada.

Al Dr. Rolando Rivera Pomar, director del Centro Regional de Estudios Genómicos (CREG). Por haberme aceptado como tesista en su laboratorio.

Al departamento de Biología Celular y Molecular del Southwestern Medical Center, USA., por habernos cedido las líneas transgénicas de *Drosophila melanogaster* con las que se llevó a cabo este proyecto.

Al licenciado Gustavo Bulus por el asesoramiento estadístico y al Dr. Carlos Valverde por facilitarnos el programa informático para el análisis de los resultados.

A mis compañeros de laboratorio, y en especial a Gonzalo Corujo, por el apoyo y la camaradería diaria. Hicieron de mi estadía en el CREG un grato recuerdo.

A mis maestros. Cada uno de ellos, a su manera, influyó en lo que soy hoy como persona y profesional.

Y principalmente a mi familia, que siempre está a mi lado. Sin su apoyo, no habría podido conseguir este logro.

¡Gracias!

Aclaración a los jurados:

En función de la compaginación de la versión impresa de la tesina, carátulas e índice se encuentran en la presente versión digital, separados del archivo principal. El motivo radica en la numeración de páginas, dado que las primeras hojas no deben estar numeradas y todo el resto sí.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
1. Apoptosis.....	1
<i>1.1 Apoptosis, una forma de muerte celular.....</i>	<i>1</i>
<i>1.2 Vías moleculares en mamíferos</i>	<i>2</i>
<i>1.3 Conservación evolutiva.....</i>	<i>4</i>
2. El factor de transcripción p53.....	5
<i>2.1 Estructura.</i>	<i>5</i>
<i>2.2 Activación y Regulación.....</i>	<i>7</i>
<i>2.3 Una proteína, varias respuestas celulares.....</i>	<i>8</i>
<i>2.4 Apoptosis mediada por p53 en mamíferos.....</i>	<i>9</i>
<i>2.5 Conservación evolutiva de p53.....</i>	<i>10</i>
3. <u>Drosophila melanogaster</u> como modelo de estudio.....	11
<i>3.1 Ciclo de vida</i>	<i>11</i>
<i>3.2 Importancia como organismo modelo.....</i>	<i>14</i>
<i>3.3 La apoptosis en <u>Drosophila melanogaster</u>.....</i>	<i>14</i>
4. Proteína fluorescente verde: una herramienta de la biología molecular.....	16
<i>4.1 Sistema reportero y microscopía confocal.....</i>	<i>18</i>
5. Hipótesis de trabajo y objetivos.....	20
MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
1. Colecta de larvas de tercer estadio.....	21
2. Verificación de la presencia de la construcción transgénica.....	21
3. Irradiación y disección de discos imaginales.....	23
4. Adquisición de imágenes y análisis de los resultados.....	23
RESULTADOS.....	25
1. Verificación de la presencia y activación del sistema reportero.....	25

2. Evaluación de la dependencia de la respuesta a la activación de p53.....	28
3. Prueba de activación del sistema reportero a dosis bajas de radiación.....	30
4. Permanencia de activación del sistema reportero en el tiempo.....	32
DISCUSIÓN.....	34
CONCLUSIONES.....	39
BIBLIOGRAFÍA.....	40
RESUMEN O SUMARIO.....	45
ANEXOS.....	47
I. Genotipos de las líneas de <i>Drosophila melanogaster</i>	47
II. Preparación del medio de cultivo para <i>Drosophila melanogaster</i>	47
III. Protocolo para la extracción de ADN total a partir de moscas enteras.....	47
IV. Preparación del gel de agarosa 1%.....	48
V. Soluciones para la fijación y el montaje.....	48
VI. Parámetros establecidos para la toma de imágenes de microscopía confocal.....	49