



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y OCEANOGRÁFICAS

**Efecto del silenciamiento del gen de SpH-Catepsina L nuclear sobre la proliferación y viabilidad en células de cáncer Cérvico-uterino HeLa sincrónicas**

Seminario de Título presentado a la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas para optar al Título Profesional de Biólogo

Candidato: Sergio Bustamante Ibáñez  
Profesor Tutor: Dra. Violeta Morín Muñoz

Concepción, Enero del 2014

## Resumen

Las proteasas comprenden un gran conjunto de enzimas, capaces de catalizar la ruptura de enlaces peptídicos en las proteínas, proceso denominado proteólisis. La proteólisis ha sido objeto de estudio importante, ya que juega un papel fundamental dentro de la célula, como es en la progresión del ciclo celular, también está involucrada en procesos como la proliferación celular, diferenciación y migración celular, formación del hueso y reabsorción ósea. Las proteasas tradicionalmente se han dividido en cinco categorías: metaloproteasas, Cisteino Proteasas, serino proteasas, aspártico proteasas y treonina proteasas.

Dentro de las Cisteino Proteasas se encuentran las Catepsinas, que son un grupo heterogéneo de enzimas, las que participan en la degradación terminal de proteínas en el lisosoma. Existen 11 tipos de catepsinas, dentro de las cuales catepsina L es la más ampliamente distribuida en tejidos humanos. Catepsina L, además de su ubicación normal en el lisosoma, se le ha descrito una ubicación a nivel nuclear y de membrana plasmática en procesos fisiopatológicos como cáncer. A nivel nuclear catepsina L participa en el clivaje del factor de transcripción CDP/Cux, regulando la progresión de la fase S del ciclo celular. Mientras que en la membrana celular, se ha observado un aumento en la expresión de esta proteasa en células tumorales humanas en donde favorece procesos de invasión y metástasis. Junto con ello catepsina L es capaz de procesar proteolíticamente la histona H3 durante la diferenciación de células madre embrionarias en ratón.

En nuestro laboratorio se ha descrito una variante nuclear de catepsina L, denominada SPH-proteasa obtenida de erizo de mar. SPH-proteasa posee un tamaño de 60 kDa y una alta identidad de secuencia con catepsina L humana. Esta proteasa participa en la remodelación del pronúcleo masculino post-fecundación. Junto con ello, esta proteasa presenta una ubicación a nivel nuclear durante la fase S y en el huso mitótico durante la mitosis del primer ciclo celular. En líneas celulares de cáncer humano, ensayos con anticuerpos dirigidos contra la SpH proteasa L de erizo de mar permitieron determinar la presencia de una proteasa homóloga a SpH-proteasa, la cual presenta un tamaño molecular de 60 kDa, idéntico al descrito en erizo de mar. Esta proteasa nuclear tipo catepsina L ha sido encontrada en células de cáncer cérvico-uterino (HeLa) y células de cáncer colon-rectal (Caco-2) en humanos pero no se sabe con certeza el rol que juega SpH proteasa en el ciclo celular. En base a lo previamente descrito, el objetivo de la presente investigación será determinar el efecto del silenciamiento del gen de la variante de catepsina L nuclear sobre la proliferación y viabilidad celular de células HeLa. Para lograr este objetivo se propone silenciar el gen de SpH-proteasa mediante ARN de interferencia siRNA, y determinar el efecto que este silenciamiento ejerce sobre la expresión de este gen. Previamente en nuestro laboratorio se han diseñado siRNA dirigidos contra spH proteasa y catepsina L