

6. CONCLUSIONES

«Science does not need more regional quotas, Centers of Excellence, vacation standards or 35h work weeks. It needs young minds willing to try new things, to put up with hard work, and to take risks. Science, the great adventure, needs adventurers»

Gottfried Schatz (2004)

6. CONCLUSIONES

De los resultados que se han mostrado en la presente memoria pueden extraerse las siguientes conclusiones generales:

- HERC1 interacciona, a través de su dominio HECT (aa 4496-4861), con la región carboxilo terminal (aa 406-531) de la isoforma M2 del enzima glucolítico piruvato quinasa.
- HERC1 forma un complejo con las cadenas pesada y ligera de la clatrina y la chaperona Hsp70.
- HERC1, a través de su dominio RLD1, estimula la disociación de nucleótidos de guanina del centro activo de la GTPasa ARF6.
- La actividad disociadora de nucleótidos presentada por HERC1 sobre ARF6 requiere de la presencia de fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato unido al dominio RLD1 de HERC1.
- La proteína HERC1 purificada de células de insecto contiene fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato unido en su dominio RLD1.
- El dominio RLD1 de HERC1 posee afinidad in vitro por varios fosfolípidos, siendo la mayor afinidad la observada con fosfatidilinositol-3-monofosfato.

- La proteína HERC1 no colocaliza significativamente con marcadores endosomales en células HeLa o NRK.
- La proteína HERC1 se halla en vesículas asociadas al aparato de Golgi pero no en las cisternas del mismo. Algunas de estas vesículas podrían ser las estaciones tardías del ERGIC donde se encuentra la proteína GM130.
- La proteína HERC1 se transloca a las protrusiones de actina generadas en la membrana de las células HeLa por activación de ARF6.
- Los niveles de la forma activa de ARF6 en HeLa no varían apreciablemente por transfección de GFP-HERC1.
- HERC1 se halla en las protrusiones de actina junto con fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato y el enzima fosfatidilinositol-4-fosfato 5-quinasa.
- La reducción de los niveles de HERC1 por RNAi en HeLa no tiene efectos distinguibles sobre la endocitosis o el transporte de proteínas hacia el plasmalema.
- Formas delecionadas de la proteína HERC1 que contienen el dominio RLD1 pero no los residuos 2959-4020 de HERC1 forman agregados proteicos ricos en ubiquitina dentro de las células.
- La sobreexpresión del dominio RLD2 de HERC1 induce la formación de filopodios en la membrana plasmática de células HeLa o HEK-293.

- La sobreexpresión del dominio RLD1 de HERC1 y, en menor medida, la del dominio RLD2 inhiben la internalización de EGF en células HeLa.
- La mutación tambaleante no afecta a la capacidad del dominio RLD1 de HERC1 de formar acumulaciones o de inhibir la endocitosis de EGF.