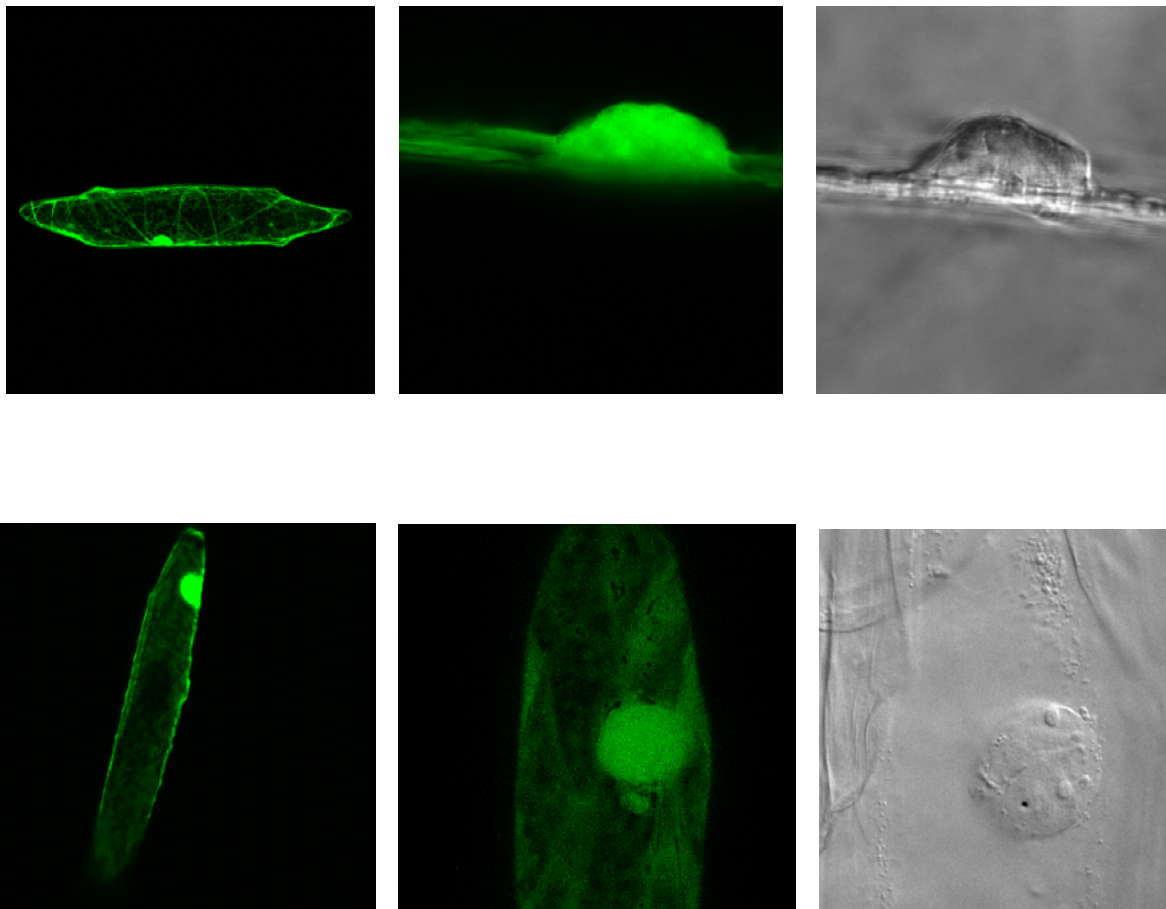


Finalment es van transformar cèl.lules amb la construcció doble mutada m3-Rab17 (Figura 20). En aquest cas es detecta marcatge a nucli i sembla que també a nucleol tot i que l'acumulació a nucleol no és tant clara com en el cas mRab17 sinó que hi ha una distribució uniforme de la proteïna per tot el nucli, inclòs el nucleol. Aquest resultat indica que tot i que la localització a nucleol sembla deguda a la mutació en el consens de fosforilació CK2, la mutació al lloc NLS podria estar afectant a l'acumulació de la proteïna a nucleol.



**Figura 20: Imatges obtingudes amb el microscopi confocal de cèl.lules de ceba transformades amb la construcció m3Rab17-GFP** Esquerra: vista general de les cèl.lules transformades (amplificació 20x). Detall del nucli (amplificació 60x), al centre imatge de fluorescència i a la dreta imatge de transmissió (Nomarsky).

## **Resultats**

---

Els resultats obtinguts indicaven que la localització subcel.lular de Rab17 està regulada per la fosforilació per la proteïna quinasa CK2. Les subunitats catalítiques CK2 $\alpha$  contenen una senyal de localització nuclear (NLS) i en blat de moro s'ha demostrat que aquesta NLS és la responsable de la localització a nucli de la CK2 $\alpha$  (Peracchia et al., 1999). Les subunitats reguladores CK2 $\beta$  tot i que no contenen seqüències NLS, s'han descrit tant en nucli com a citoplasma. L'entrada de les subunitats CK2 $\beta$  al nucli es creu que pot ser a través de l'interacció amb les subunitats CK2 $\alpha$  o bé per interacció amb altres proteïnes (Faust and Montenarh, 2000).

Per estudiar la distribució cel.lular de la proteïna quinasa CK2 de blat de moro en primer lloc es va clonar el cDNA de la subunitat CK2 $\alpha$ -2 en pauta amb la proteïna GFP i es va realitzar transformació transient de ceba. A la figura 21 s'observa la distribució totalment nuclear i predominantment nucleolar de CK2 $\alpha$ -2, mentre que el marcatge citoplasmàtic és molt minoritari. Al repetir els experiments amb les altres subunitats catalítiques, es va demostrar que totes presentaven el mateix patró de distribució cel.lular, amb un marcatge predominantment nucleolar (Figura 21)

En canvi, els resultats obtinguts amb la subunitat reguladora CK2 $\beta$ 3-GFP mostren una localització molt més ubiqüa, ja que està present a nucli i a citoplasma de les cèl.lules transformades. No obstant, no s'observa una acumulació significativa de les subunitats CK2 $\beta$  al nucleol (Figura 22).

Degut a que la proteïna Rab17 s'expressa en presència d'àcid abscísic, tots aquests experiments, tant amb les diferents construccions amb Rab17 com amb les subunitats CK2 es van realitzar també amb cèl.lules incubades amb 100  $\mu$ M ABA . No es va observar cap canvi respecte als resultats descrits.