

Bases moleculares de la desmetilación de DNA en *Arabidopsis thaliana*

Parrilla-Doblas, Jara¹, Ponferrada-Marín, María Isabel¹; Roldán-Arjona, Teresa¹; Ariza Rafael R.¹

¹Departamento de Genética, Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC)/Hospital Universitario Reina Sofía/Universidad de Córdoba, 14071 Córdoba, España

La metilación de la citosina (5-meC) es una modificación epigenética estable pero reversible que inhibe la expresión génica y que desempeña un papel fundamental durante el desarrollo de animales y plantas, así como en el control de la impronta genética, la compensación génica del cromosoma X, o la defensa frente a virus y elementos transponibles. Los patrones de metilación del DNA son el resultado dinámico de procesos de metilación y desmetilación, pero estos últimos todavía no se conocen con detalle. En plantas hay pruebas genéticas y bioquímicas de la existencia de una familia de DNA glicosilasas que inician la desmetilación del DNA a través de la escisión de la 5-meC por un mecanismo análogo a la escisión por reparación de bases (BER). La proteína ROS1 de *Arabidopsis thaliana* constituye un miembro representativo de esta familia de 5-meC DNA glicosilasas, cuyos miembros presentan una región central con secuencia similar a proteínas de la superfamilia HhH-GPD. Mediante alineamiento con proteínas de estructura conocida, hemos generado un modelo tridimensional del dominio catalítico de ROS1, constituido por dos segmentos no contiguos separados por una secuencia no conservada. Hemos usado este modelo para predecir la localización de aminoácidos implicados en el reconocimiento de la base apareada con la 5-meC y que participan en el mecanismo catalítico. A partir de esta predicción hemos generado distintas versiones mutantes de ROS1 y analizado su actividad enzimática así como su capacidad de unión a diferentes sustratos de DNA. Hemos encontrado que los residuos R903 y M905 son esenciales para la escisión de la 5-meC de la doble hélice, probablemente porque establecen interacciones específicas con la G situada en la cadena complementaria. Además, nuestros datos revelan que el residuo Q607, que ya habíamos identificado como “base flipper”, desempeña un papel fundamental en el control del deslizamiento de la proteína sobre el DNA. En base a estos resultados, hemos propuesto un modelo para explicar cómo localiza ROS1 a su base diana en el genoma y cataliza su escisión.