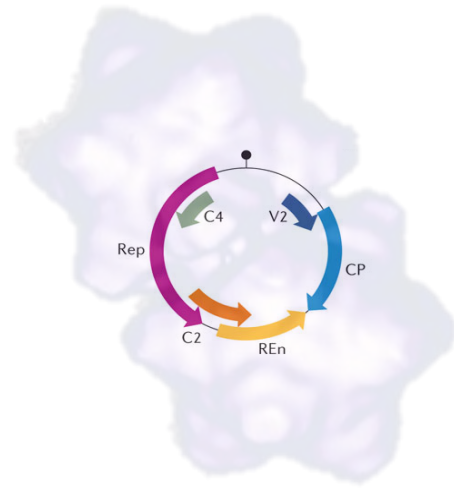


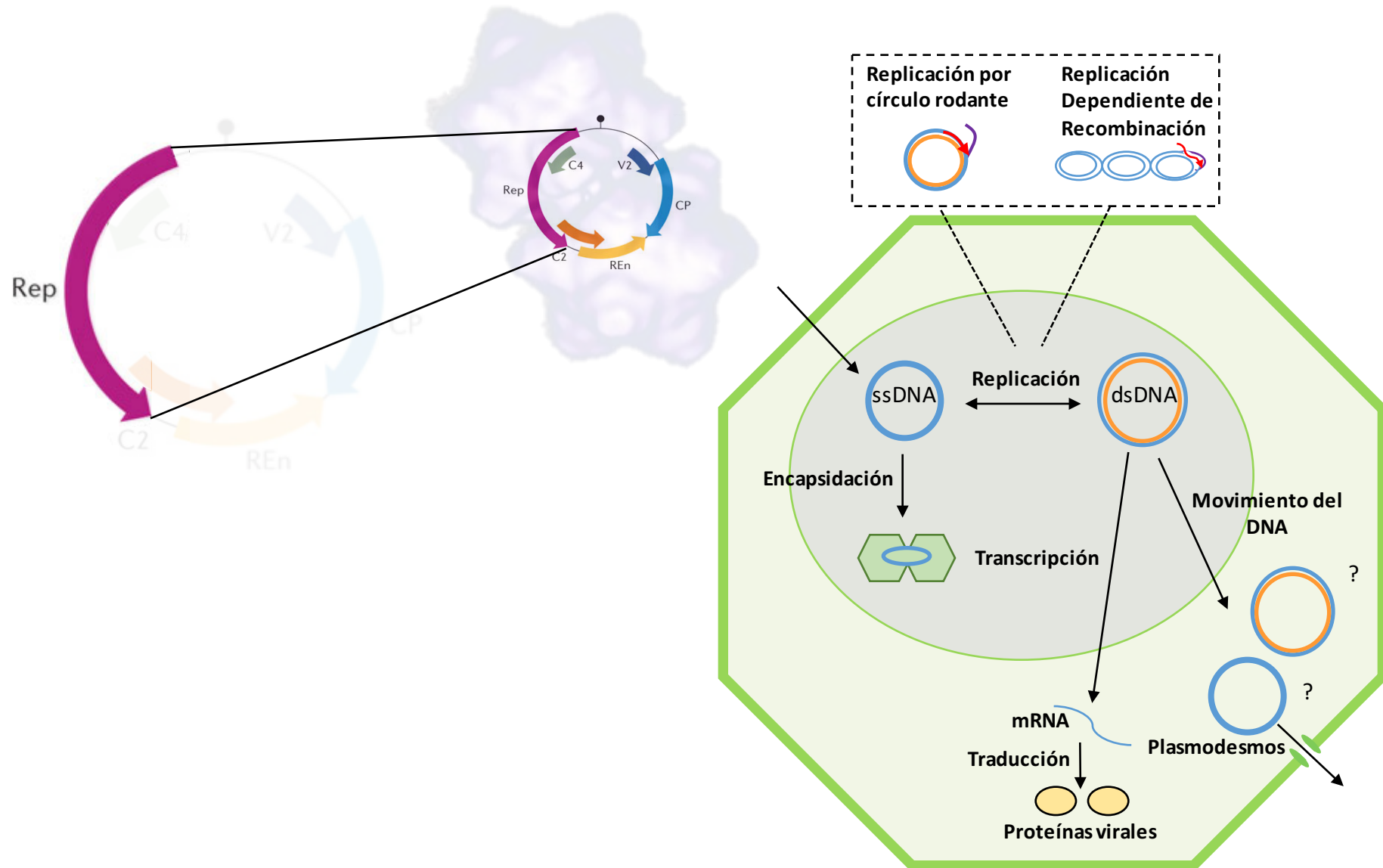
La proteína Rep de geminivirus reduce la sumoilación de PCNA

B. Sabarit, M. Arroyo-Mateos, M. A. Sánchez-Durán, E. R. Bejarano

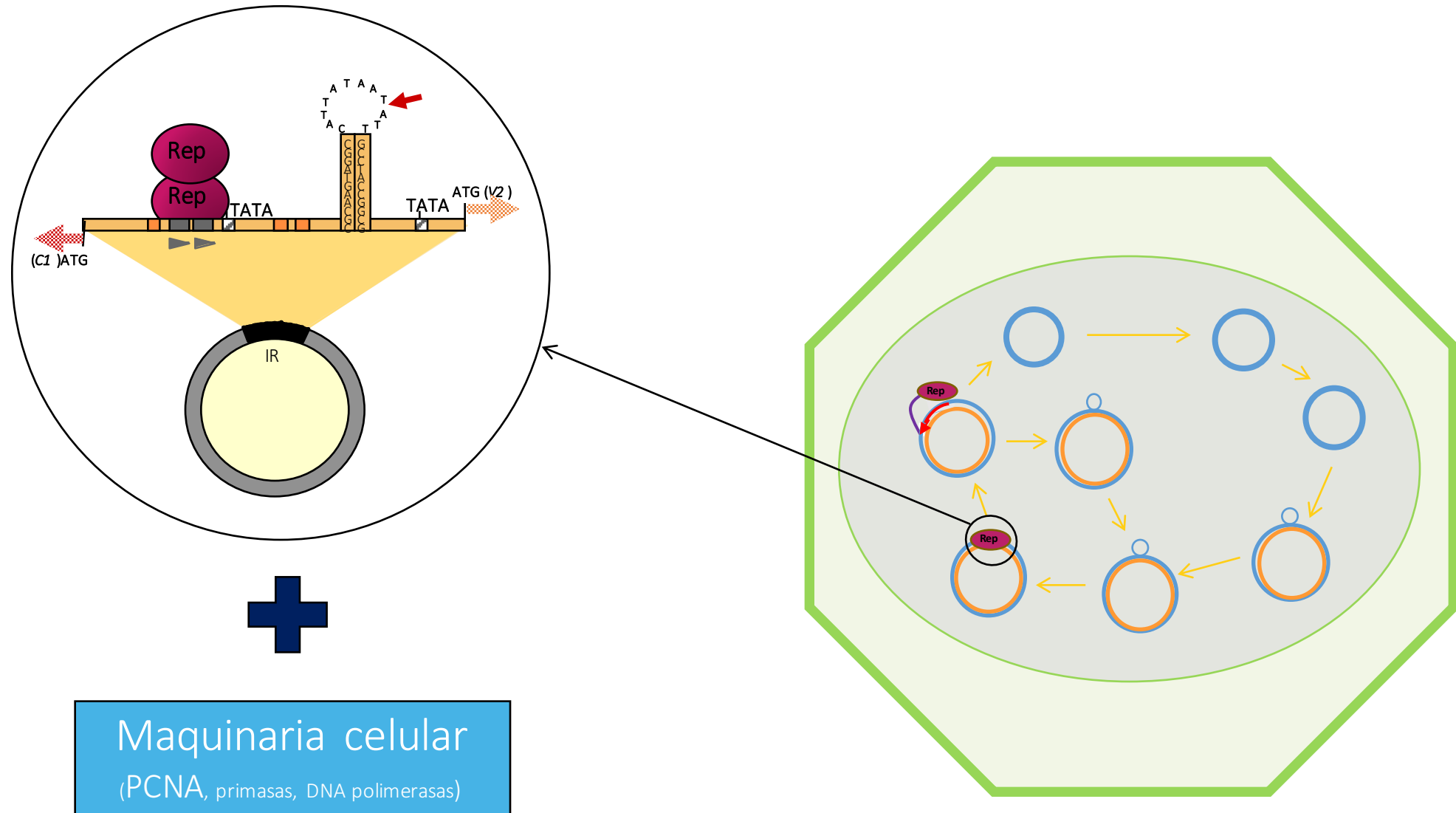
Geminivirus



Geminivirus



Rep: esencial en la replicación de los geminivirus



PCNA

Replicación del DNA

Fen1
DNA polimerasa δ
DNA polimerasa ϵ
DNA ligasa I
RFC

Reparación del DNA

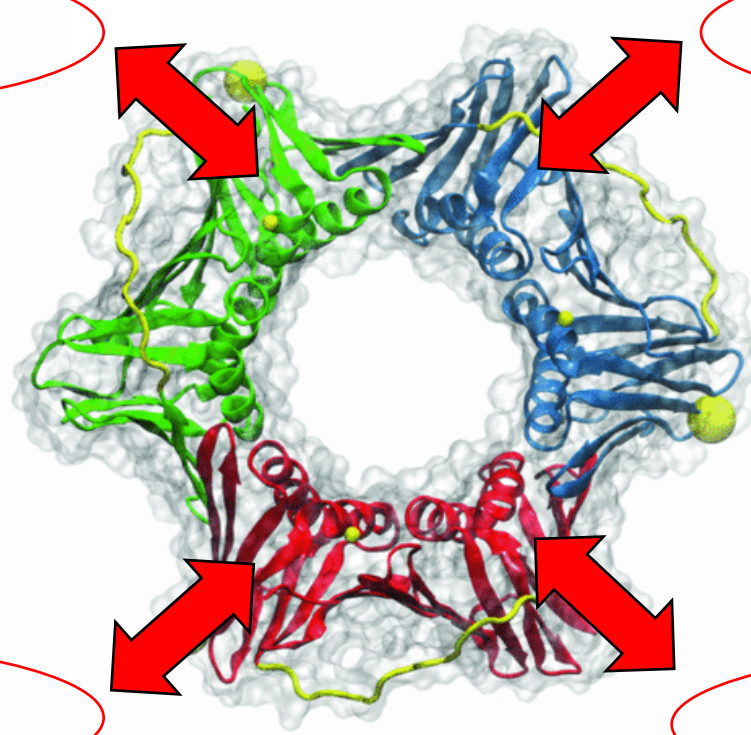
XPG
DNA polimerasas β , η , ι , κ , λ

Recombinación

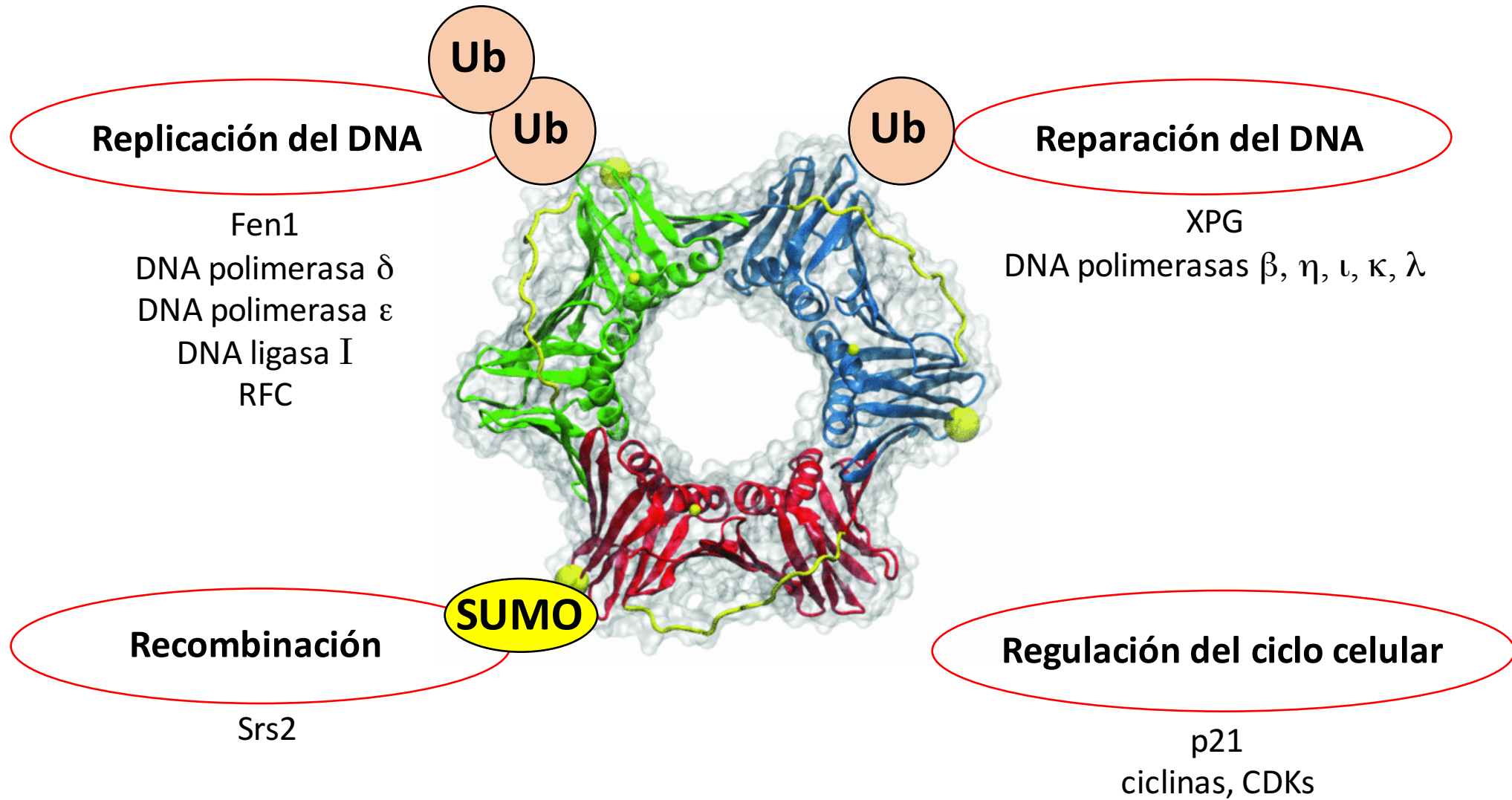
Srs2

Regulación del ciclo celular

p21
ciclinas, CDKs



PCNA: MODIFICACIONES POSTRADUCCIONALES

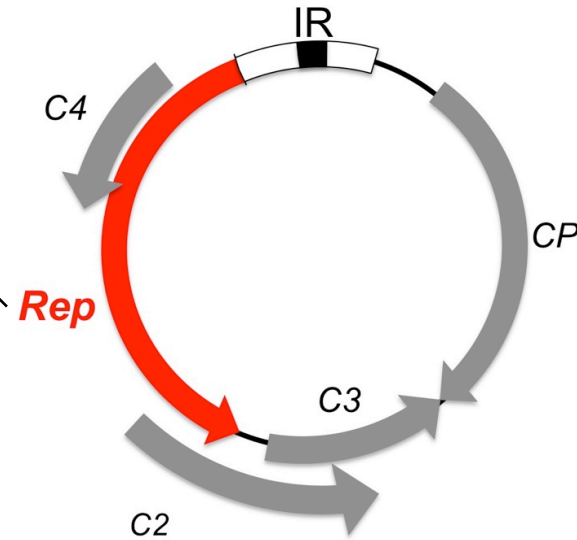


Rep interacciona con muchas proteínas de la planta

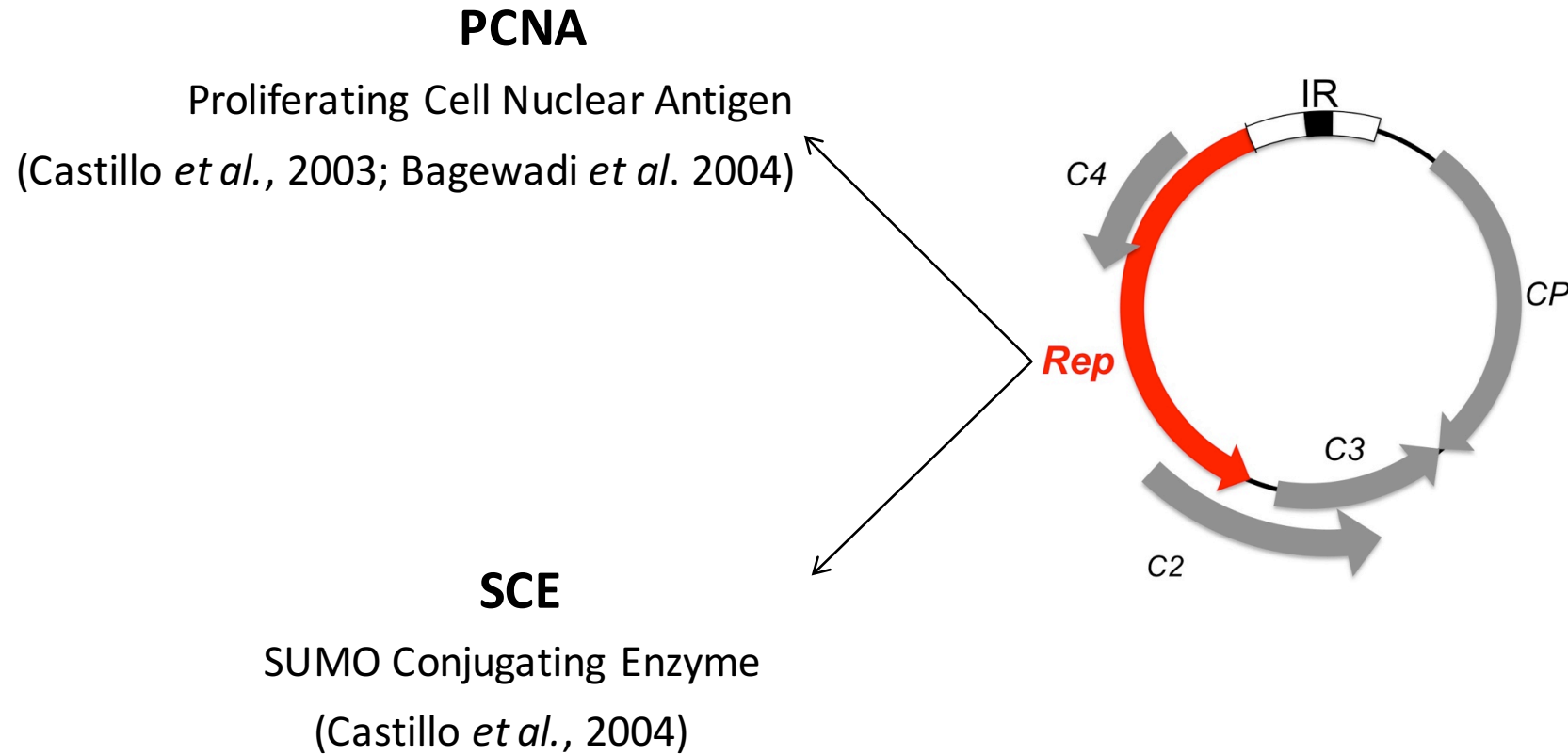
PCNA

Proliferating Cell Nuclear Antigen

(Castillo *et al.*, 2003; Bagewadi *et al.* 2004)



Rep interacciona con muchas proteínas de la planta

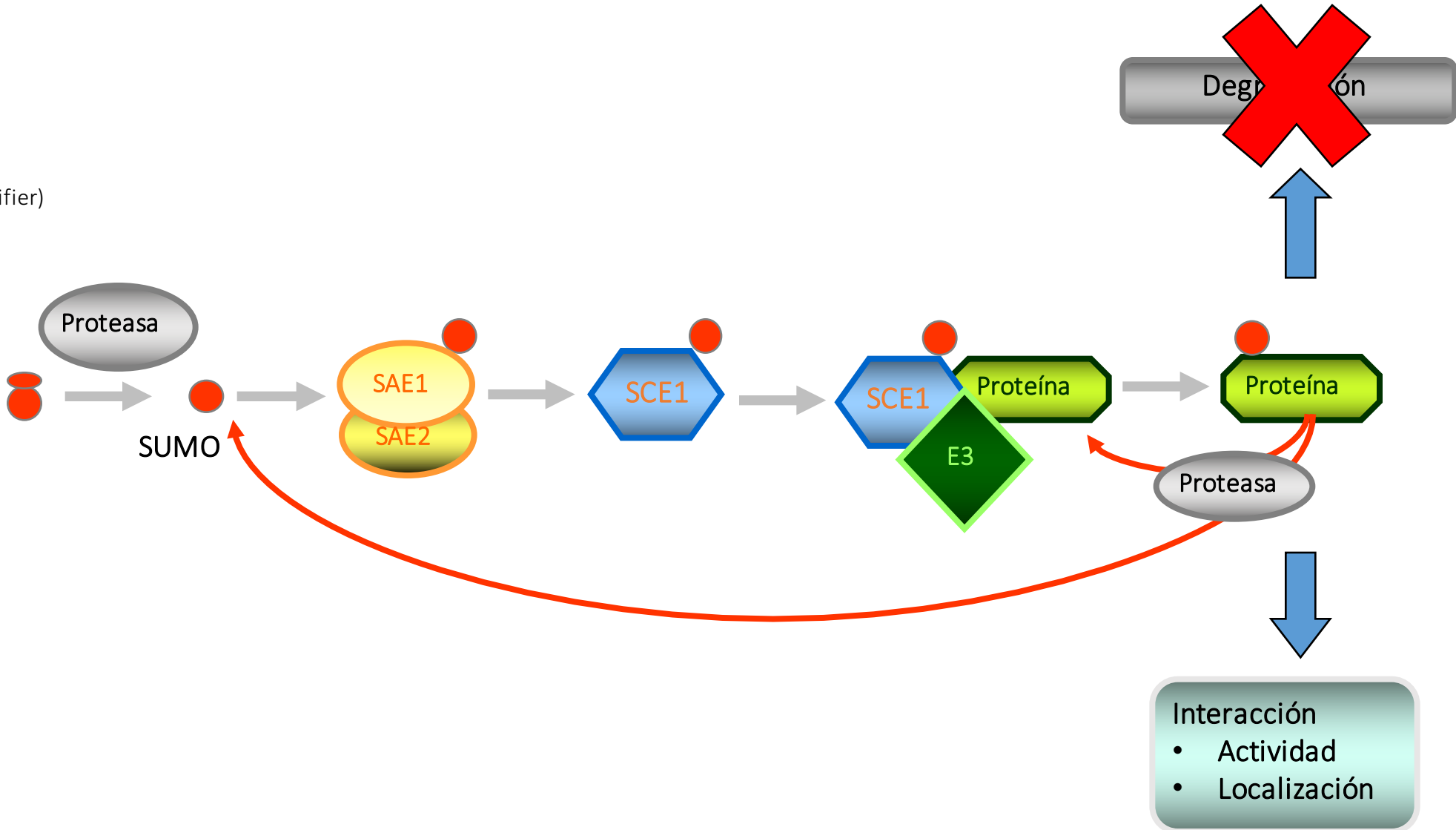


Sumoilación



SUMO

(small ubiquitin-like modifier)



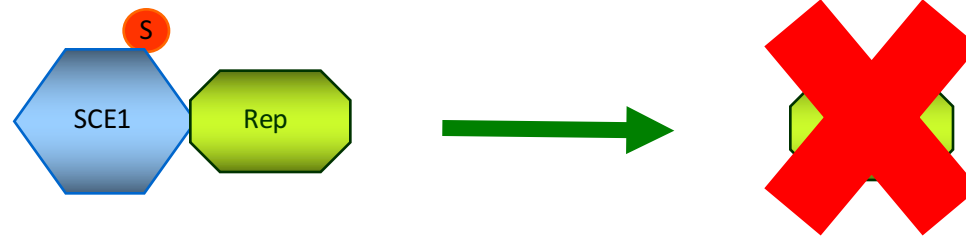
Trabajo previo

J Virol. 2011 Oct;85(19):9789-800. doi: 10.1128/JVI.02566-10. Epub 2011 Jul 20.

Interaction between geminivirus replication protein and the SUMO-conjugating enzyme is required for viral infection.

Sánchez-Durán MA¹, Dallas MB, Ascencio-Ibañez JT, Reyes MI, Arroyo-Mateos M, Ruiz-Albert J, Hanley-Bowdoin L, Bejarano ER.

¿Rep se sumoila?



Rep no se sumoila

Trabajo previo

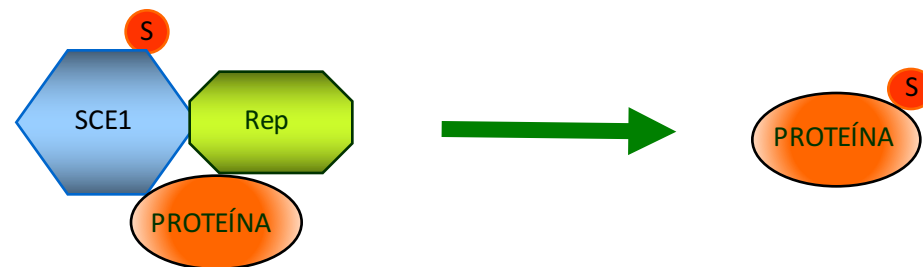
J Virol. 2011 Oct;85(19):9789-800. doi: 10.1128/JVI.02566-10. Epub 2011 Jul 20.

Interaction between geminivirus replication protein and the SUMO-conjugating enzyme is required for viral infection.

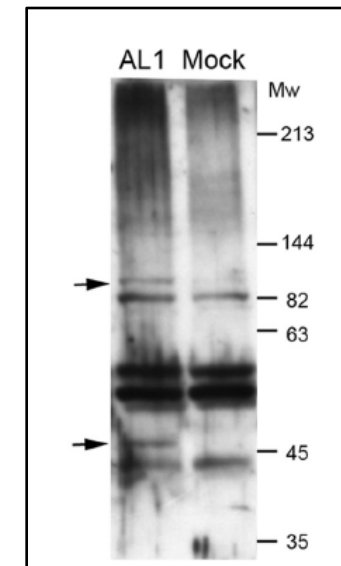
Sánchez-Durán MA¹, Dallas MB, Ascencio-Ibañez JT, Reyes MI, Arroyo-Mateos M, Ruiz-Albert J, Hanley-Bowdoin L, Bejarano ER.

¿Rep altera la sumoilación de las proteínas de la planta?

¿General o específicamente?



Rep altera la sumoilación de forma específica



Trabajo previo

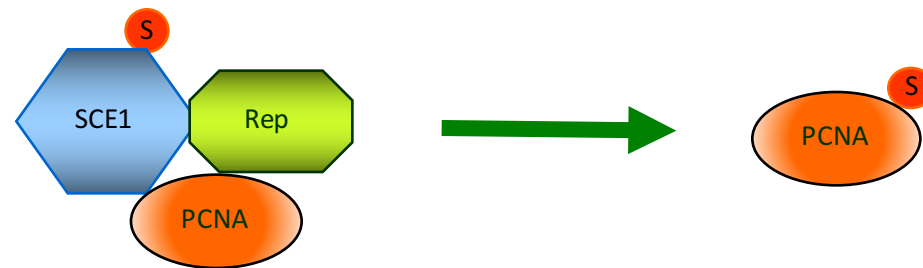
J Virol. 2011 Oct;85(19):9789-800. doi: 10.1128/JVI.02566-10. Epub 2011 Jul 20.

Interaction between geminivirus replication protein and the SUMO-conjugating enzyme is required for viral infection.

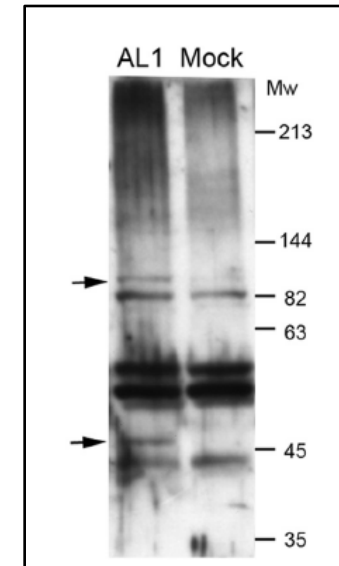
Sánchez-Durán MA¹, Dallas MB, Ascencio-Ibañez JT, Reyes MI, Arroyo-Mateos M, Ruiz-Albert J, Hanley-Bowdoin L, Bejarano ER.

¿Rep altera la sumoilación de las proteínas de la planta?

¿General o específicamente?

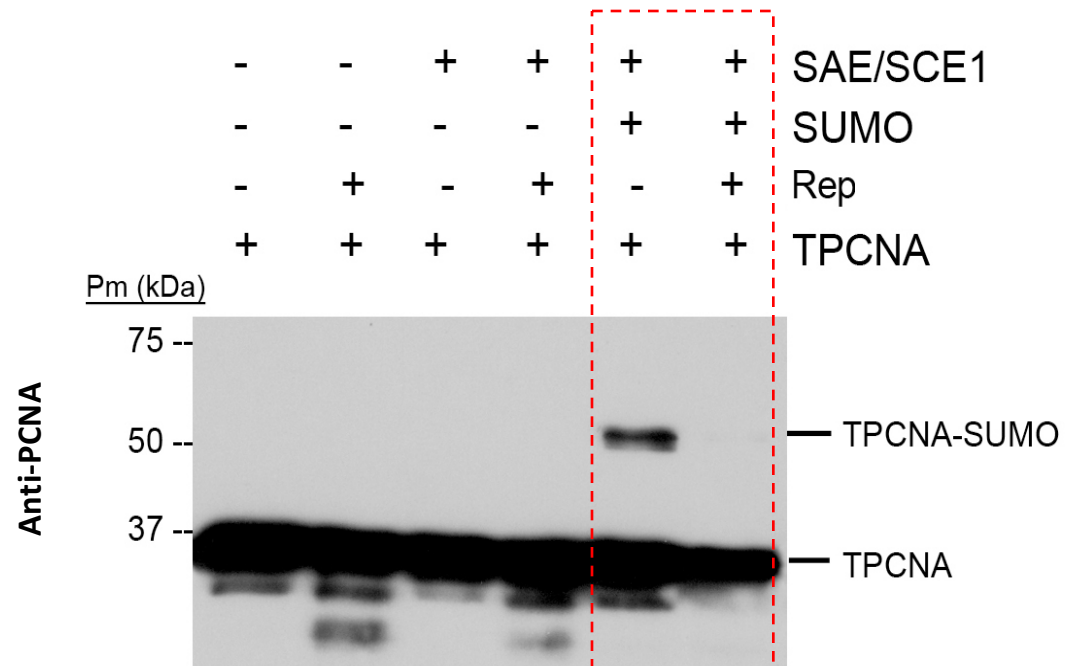


Rep altera la sumoilación de forma específica

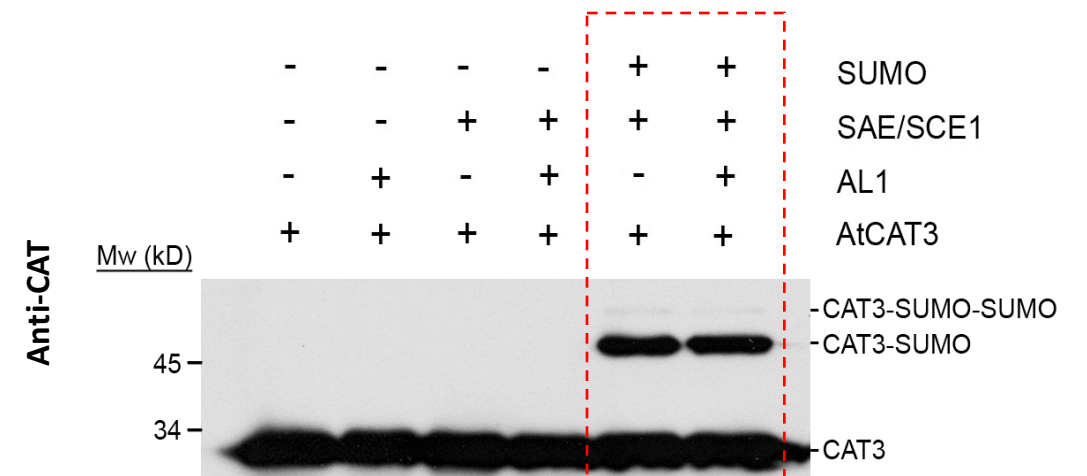


¿Afecta Rep a la sumoilación de PCNA?

Ensayos de sumoilación en *E. coli*

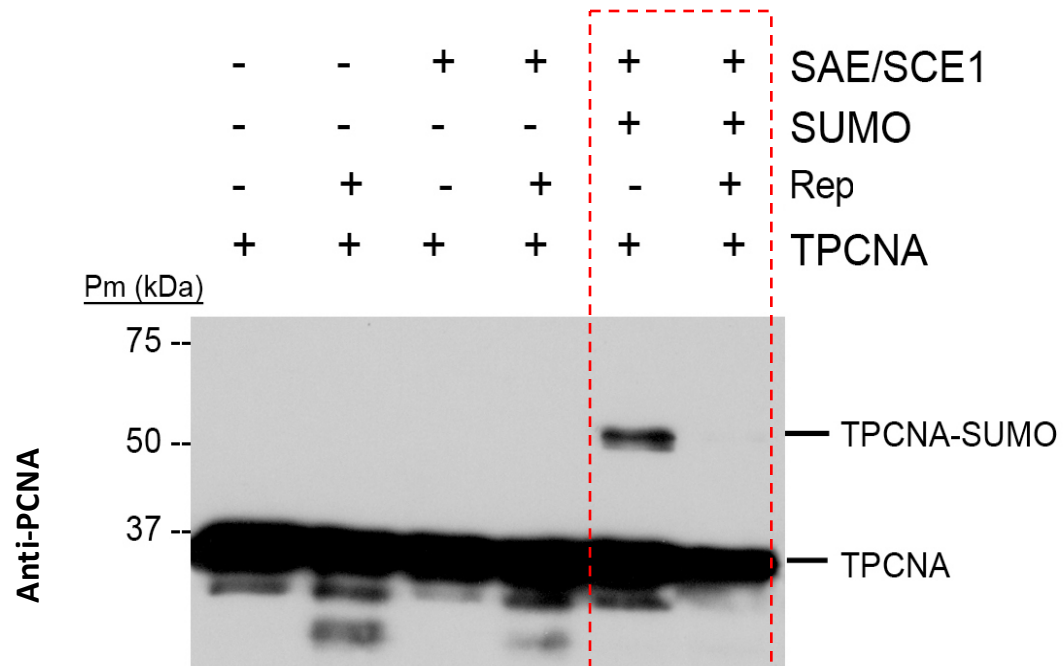


¿Es específica?



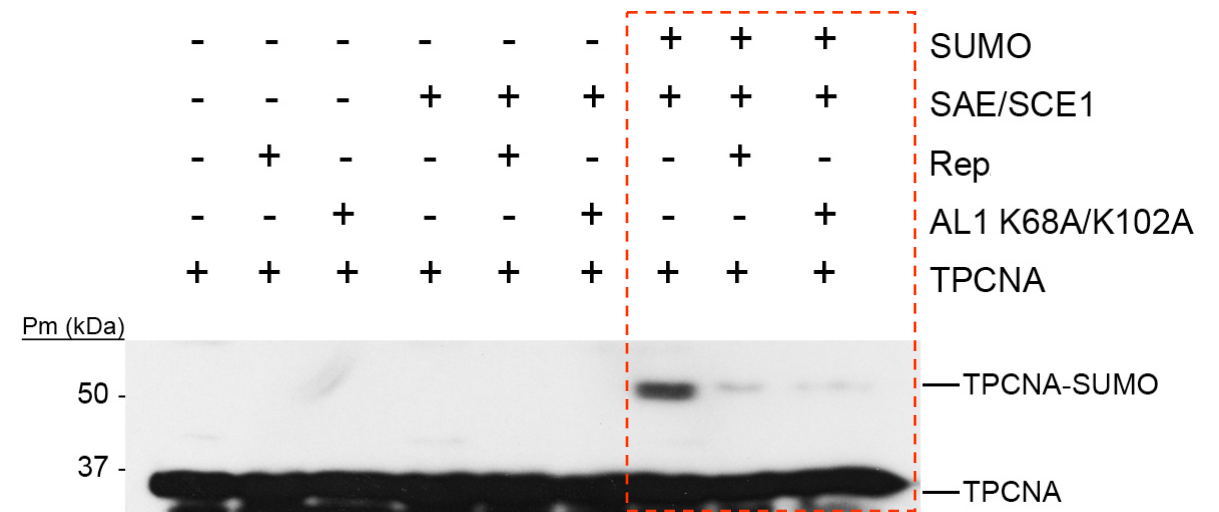
¿Afecta Rep a la sumoilación de PCNA?

Ensayos de sumoilación en *E. coli*



¿Esa interferencia se debe a la interacción de

Rep con SCE1?



¿Qué lisinas se sumoilan?

Selección de lisinas:

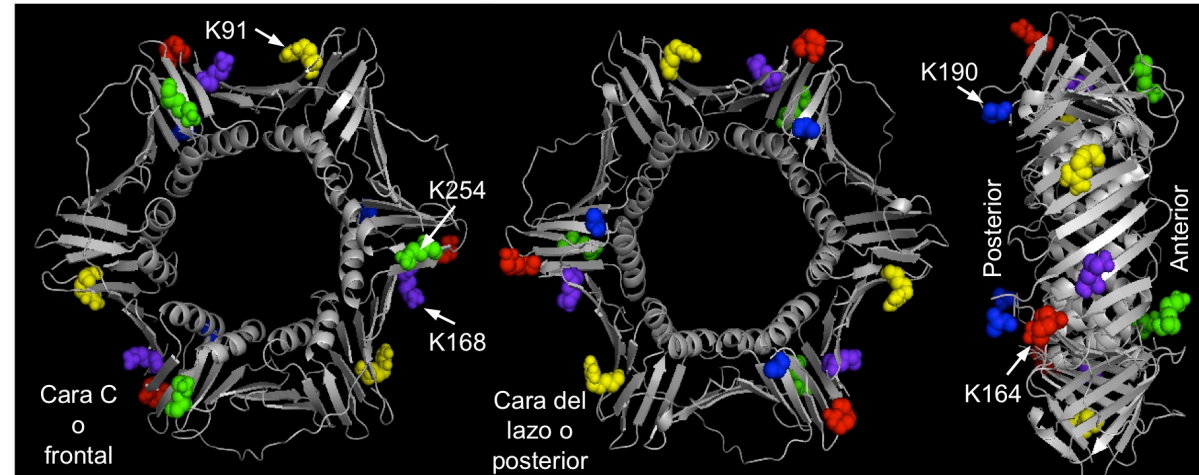
1. Conservación
2. Localización
3. Dominio de sumoilación

S1PCNA	MLELRVQGSLLKKVLES	IKDLVNDANFDCSA	TGFSLQAMDSSHVALVALLRSEGF	FEHY	60
StPCNA	MLELRVQGSLLKKVLES	IKDLVNDANFDCSA	TGFSLQAMDSSHVALVALLRSEGF	FEHY	60
AtPCNA2	MLELRVQGSLLKKVLEAV	KDLVNDANFDCST	TGFSLQAMDSSHVALV	SLLRSEGF	FEHY
ZmPCNA2	MLELRVQGSLLKKVLEA	IRELVTDANFDCSG	TGFSLQAMDSSHVALV	ALLRAEGF	FEHY
OsPCNA	MLELRVQGSLLKKVLEA	IRELVTDANFDCSG	TGFSLQAMDSSHVALV	ALLRSEGF	FEHY
HsPCNA	MFEARLVQGSILKKVLEA	KDLINAEAWI	ISSGVNLQSMDSHVSLV	QTLRSEGF	DTY
CePCNA	MFEAKLANAGLLKKIV	ESIKDLVTDAP	FDCSETAMSLOAMDSSHVALV	SLKLEVGLE	FTY
ScPCNA	MLEAKFEEASLFR	KRIIDGFKDCVQLVN	FQCKEDGIIAQA	VDDSRVLLVSL	EIGVFAH
					60
		*			
S1PCNA	RCDRNISMG	MNLTNMAKMLK	CAGNDDIITIKADD-	GS	DTVTFMFESPTQDKIADFEMKLM
StPCNA	RCDRNISMG	MNLTNMAKMLK	CAGNDDIITIKADD-	GS	DTVTFMFESPTQDKIADFEMKLM
AtPCNA2	RCDRNLSMG	MNLGNMSKMLK	CAGNDDIITIKADD-	GS	DTVTFMFESPTQDKIADFEMKLM
ZmPCNA2	RCDRNLSMG	MNLTNMAKMLR	CAGNDDIITIKADD-	GS	DTVTFMFESPQDKIADFEMKLM
OsPCNA	RCDRNLSMG	MNLTNMAKMLR	CAGNDDIITIKADD-	GS	DTVTFMFESPNQDKIADFEMKLM
HsPCNA	RCDRNLSMG	MNLTNMAKMLR	CAGNDDIITIKADD-	GS	DTVTFMFESPNQDKIADFEMKLM
CePCNA	RCDRTINL	GLSLANMSKALK	CANNDDTCMLKYEENEG	DSIIF	TFADPKRDKTQDVTVKMM
ScPCNA	RCDHPVT	EMDLTSLSKILR	CGNNTDTLTIADN-	TPDSI	ILLETKKDRIAEYSLKLM
					119
S1PCNA	DIDSEHLG	IPEAEYHAI	VRMPSAEFGRICKDLSS	IGD	TVVISVTKEGVKFS
StPCNA	DIDSEHLG	IPEAEYHAI	VRMPSAEFGRICKDLSS	IGD	TVVISVTKEGVKFS
AtPCNA2	DIDSEHLG	IPDAEYHS	IVRMPSGEFGRICKDLSS	IGD	TVVISVTKEGVKFS
ZmPCNA2	DIDSEHLG	IPDSEYQA	IVRMPSAEFMRICKDLSS	IGD	TVVISVTKEGVKFS
OsPCNA	DIDSEHLG	IPDSEYQA	IVRMPSAEFMRICKDLSS	IGD	TVIISVTKEGVKFS
HsPCNA	DLDVHQ	LGIPEQEYSCV	VKMPSEGFARICRDL	SHIGDA	VVISCADGKVFSA
CePCNA	DIDSEHLG	IPDQDYAVV	CMPAGEFQKTKDLST	FS	SLNITATKAGIVFTGKGDIGSSV
ScPCNA	DIDADFL	KIEELQYD	STLSLPSSEFSKIVR	DL	SQLSINIMITKETIKFVADGIGSGS
					179
S1PCNA	IVCRQNT	TVDKPEEATV	IEMNEPVSLTFALRYLNS	F	TKASPLSNVTIISLSSELPVVVEY
StPCNA	IVCRQNT	TVDKPEEATV	IEMNEPVSLTFALRYLNS	F	TKASPLSNVTIISLSSELPVVVEY
AtPCNA2	IVLRQNT	TVDKPEEATV	IEMNEPVSLTFALRYMNS	F	TKATPLSETVTIISLSSELPVVVEY
ZmPCNA2	IVCRQNT	TVDKPEEATV	IEMNEPVSLTFALRYMNS	F	TKASLSSEQVTIISLSSELPVVVEY
OsPCNA	IVCRQNT	TVDKPEEATV	IEMNEPVSLTFALRYMNS	F	TKASLSSEQVTIISLSSELPVVVEY
HsPCNA	IKLSQ	TSNVKDEEAVT	IEMNEPVSLTFALRYLNS	F	TKATPLSSTVILSMSADVPLVVEY
CePCNA	VTYSPSSN	TDETEAVT	LEVKDPVNVN	S	IKYMNQFTKATALS
ScPCNA	VIKPFVD	MEHPETIK	LEMDQPVDLTE	GAKYLLD	IIKGSLSLDRVGLRISSEAPALFQF
					239
S1PCNA	KIAEMGY	VRYYLAPKIEE	DEEETKP		264
StPCNA	KIAEMGY	VRYYLAPKIEE	DEEETKP		264
AtPCNA2	KVAEMGY	IRYYLAPKIEE	DEETKPE		264
ZmPCNA2	KIAEMGY	IRFYLAPKID	DEEMKP		263
OsPCNA	KIAEMGY	IRFYLAPKIEE	DEEMKS		263
HsPCNA	KIADM	GHLKYYLAPKIEE	DEEGS		261
CePCNA	PIEEN	GYLRFYLAPKID	DENMD		263
ScPCNA	DL-KSG	FLQFFLAPKF	NDEE		258

¿Qué lisinas se sumoilan?

Selección de lisinas:

1. Conservación
2. Localización
3. Dominio de sumoilación



¿Qué lisinas se sumoilan?

Selección de lisinas:

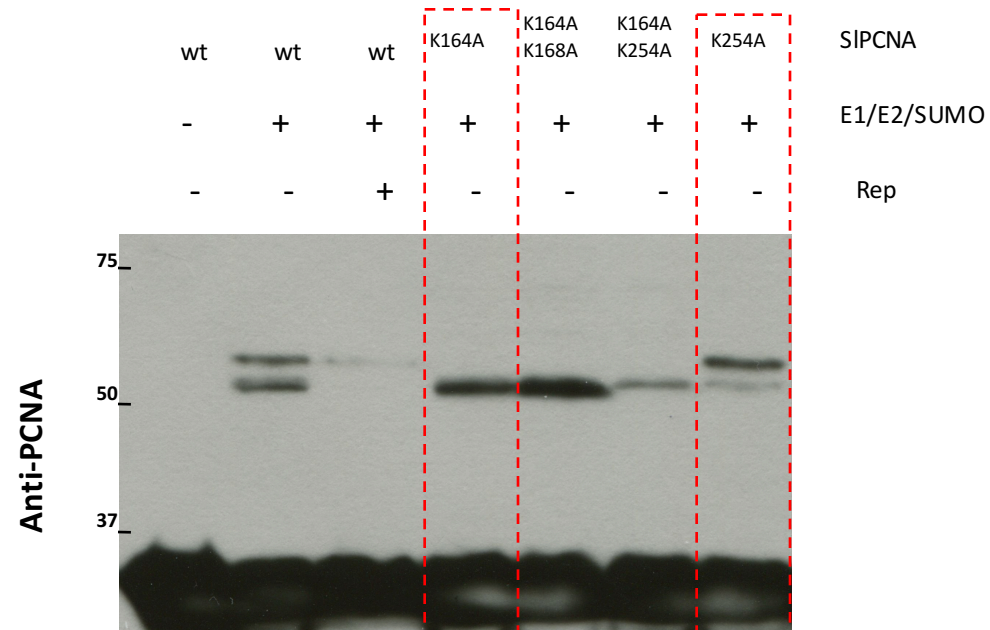
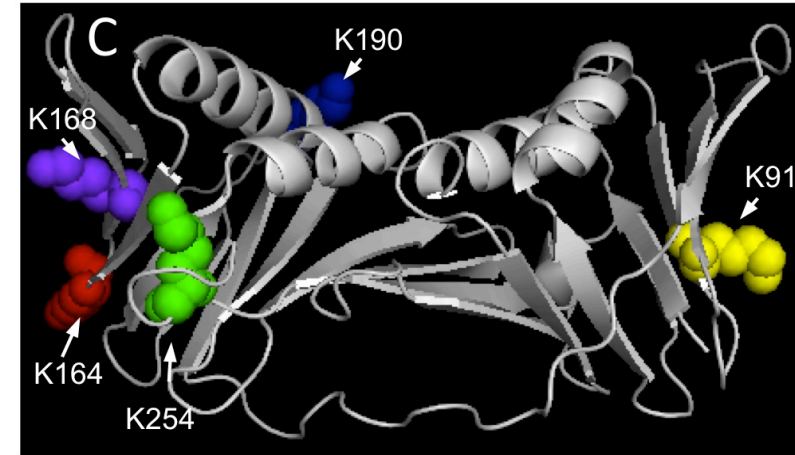
1. Conservación
2. Localización
3. Dominio de sumoilación

Position	Peptide	Score	Cutoff	Type
> AtPCNA1				
254	LAPKIEE	0,502	0,17	Type: Ψ-K-X-E
> AtPCNA2				
254	LAPKIEE	0,502	0,17	Type: Ψ-K-X-E
262	EDTKPE*	3,691	3,33	Type: Non-consensus
> SIPCNA				
254	LAPKIEE	0,502	0,17	Type: Ψ-K-X-E
> ZmPCNA1				
254	LAPKIED	0,697	0,17	Type: Ψ-K-X-E
262	EEMKP**	3,515	3,33	Type: Non-consensus
> OsPCNA				
254	LAPKIEE	0,502	0,17	Type: Ψ-K-X-E
262	EEMKS**	4,088	3,33	Type: Non-consensus
> CsPCNA				
254	LAPKIEE	0,502	0,17	Type: Ψ-K-X-E
296	SEMKSEE	1,664	0,17	Type: Ψ-K-X-E
341	KEPKIET	0,711	0,17	Type: Ψ-K-X-E
> CePCNA				
51	VSLKLEV	1,427	0,17	Type: Ψ-K-X-E
91	CMLKYEE	0,341	0,17	Type: Ψ-K-X-E
> HsPCNA				
254	LAPKIED	0,697	0,17	Type: Ψ-K-X-E
> ScPCNA				
5	LEAKFEE	0,242	0,17	Type: Ψ-K-X-E
127	DFLKIEE	0,81	0,17	Type: Ψ-K-X-E
196	TSIKLEM	2,569	0,17	Type: Ψ-K-X-E

¿Qué lisinas se sumoilan?

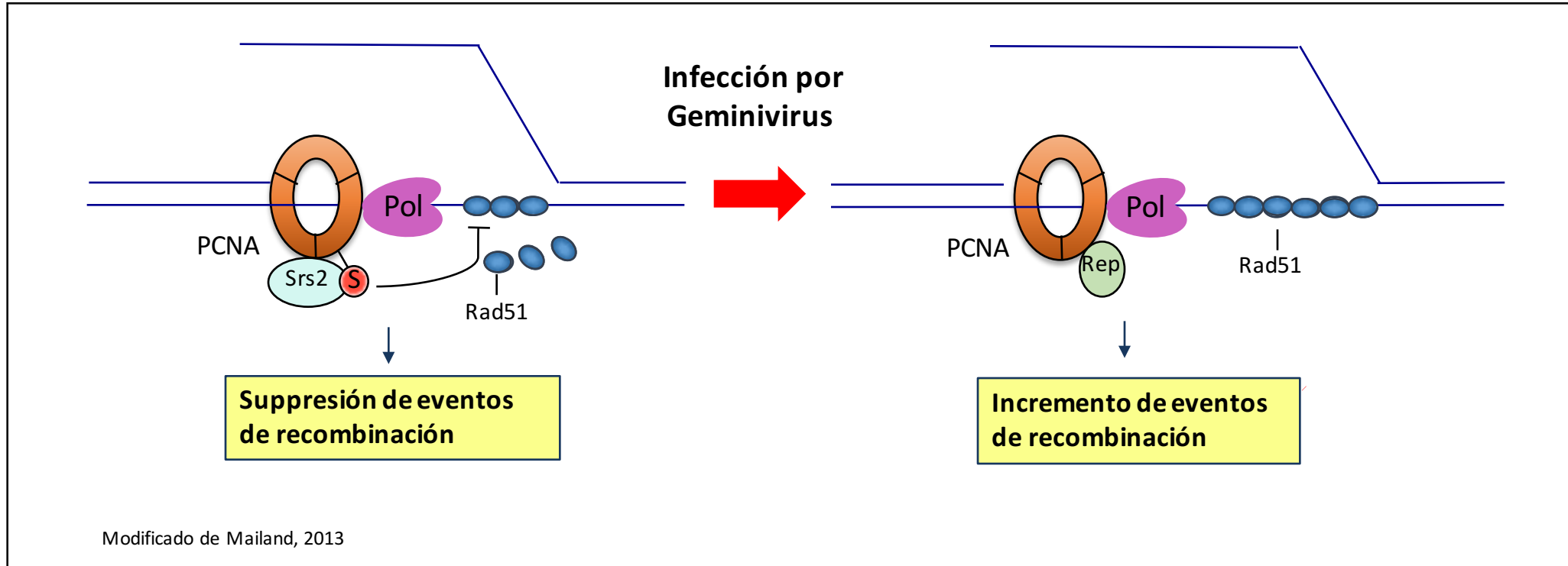
Selección de lisinas:

1. Conservación
2. Localización
3. Dominio de sumoilación



Las lisinas 164 y 254 se sumoilan

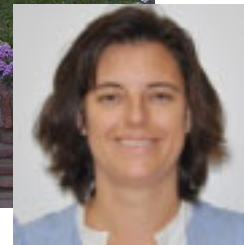
Interferencia de Rep en la sumoilación



Líneas futuras:

1. Detección de la interferencia *in planta*.
2. Búsqueda de más proteínas cuya sumoilación se vea alterada por Rep.

Agradecimientos



Harrold van den Burg



Francesca Maio



Linda Hanley-Bowdoin



José T. Ascencio Ibáñez