



IKER  
GAZTE  
NAZIOARTEKO  
IKERKETA EUSKARAZ

# I. IKERGAZTE

NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2015eko maiatzaren 13, 14 eta 15  
Durango, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:  
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)

## ZIENTZIA ZEHATZAK ETA NATUR ZIENTZIAK

### BAK proteinaren mekanismo proapoptotikoa aztertzen

*O. Landeta, A. Landajuela,  
H. Flores-Romero, I. Bustillo-  
Zabalbeitia, M. García-Porras,  
J. G. Valero, O. Terrones,  
A. J. García-Sáez eta G. Basañez*

350-355 or.

<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.i.47>

ANTOLATZAILEA:



BABESLEAK:



LAGUNTZAILEAK:



## BAK proteinaren mekanismo proapoptotikoa aztertzen

**Landeta O<sup>1</sup>, Landajuela A<sup>1</sup>, Flores-Romero H<sup>1</sup>, Bustillo-Zabalbeitia I<sup>1</sup>, García-Porras M<sup>1</sup>, Valero JG<sup>1</sup>, Terrones O<sup>1</sup>, García-Sáez AJ<sup>2,3</sup>, Basañez G.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Biofisikako Unitatea (Centro Mixto Consejo Superior de Investigaciones Científicas–Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea, <sup>2</sup> German Cancer Research Center, BioQuant, <sup>3</sup> Max-Planck Institute for Intelligent Systems, Heisenbergstr. 3, 70569 Stuttgart, Germany.*

*Kontakturako e-posta: gorka\_basanez@ehu.eus*

### **Laburpena**

Apoptosian, proapoptotikoa den BCL2 familiako BAK proteinak mitokondrioko kanpo mintzean (MKM) c-zitokromoaren eta apoptosi-eragileak diren faktoreen (adib. Smac/DIABLO, AIF...) askapenaren erantzule diren poroak eratzen dituela jakina da. Hala ere, BAKen poro apoptotikoaren ezaugarriak eta izaera zeintzuk diren aztertzeke daude. Lan honetan, BAKek c-zitokromoa askatzeaz gain, alofikoianina (104kDa) ere askatzeko adineko poro handiak eratzen dituela ikusi dugu. Gainera, guztiz proteikoak diren kanaletan gertatzen ez den bezala, BAKen poroak tamaina egonkorra eta egitura finkorik ez duela aztertu genuen. Hortaz, BAKek eratzen duen proteinekiko iragazkorra den poroaren tamaina dinamikoa da, izaera proteolipidikoarekin bat eginez.

Hitz gakoak: Apoptosia, BCL2 familiako proteinak, lamela bakarreko besikula erraldoiak, mikroskopia konfokala

### **Abstract**

*Current models in apoptosis consider that BCL2 proapoptotic protein BAK forms pores at the mitochondrial outer membrane (MOM) responsible for the release of cytochrome c and other larger apoptotic factors (i.e. Smac/DIABLO, AIF...). However, the properties and nature of BAK apoptotic pore remains enigmatic. Here, we directly visualized that BAK can form membrane pores large enough to release not only cytochrome c, but also allophycocyanine (104 kDa). We found that the size of BAK pores is not constant and without any fixed structure, as typically observed in purely proteinaceous channels, demonstrating that BAK forms a protein-permeable pore of dynamic size, in agreement with its proteolipidic nature.*

*Keywords: Apoptosis, BCL2 family proteins, giant unilamellar vesicles, confocal microscopy*

### **1. Sarrera eta motibazioa.**

Apoptosia zelulen garapen fisiologiko arrunta eta homeostasi prozesu desberdinak aurrera eramateko berebiziko jardunbidea izateaz gain, defentsa estrategia bezala ere erabiliko da kaltetutako, infektatutako eta mutatatutako zelulak ezabatzeko (Miura 2011). Ondorioz, akastun prozesu apoptotikoak giza gaixotasun anitzekin erlazionatuta daude, esaterako: gutxieneko apoptosiak minbizia eta gaixotasun immunologikoekin dauka zerikusia; gehiegizko apoptosiak, ordea, kalte neurologiko edota endekapenezko gaixotasun neurologikoak ekar ditzake (Adams and Cory 2007, Strasser et al. 2011). Guzti honek azken hamarkadetako apoptosiaren etengabeko ikerkuntza guztiz ulergarria bilakatzea ekartzen du.

Apoptosiaren “bidezidor intrintsekoa” edota mitokondrioaren bidezidorrean segidako zelula-barneko gertakari ezberdinek mitokondrioaren kanpo-mintzaren (MKM) iragazkortasuna (MKMI) eragiten dute. MKMI prozesua itzulezina izanik, erregulazio maila oso altu baten pean ematen da, honen arduradun nagusienak BCL2 familiako proteinak direlarik. BCL2 familiako proteinek betetzen duten funtzioaren eta BCL2 homologia (BH) domeinu kopuruaren arabera, hiru taldeetan sailka daitezke: (1) “Domeinu anitzeko proteina antiapoptotiko edo BCL2-moduko proteinak” aurkitzen ditugu, lau BH domeinuak aurkezten dituzte eta MKMI inhibitzeko gaitasuna daukate (adib. BCL2, BCLxL, MCL1...); (2) “Domeinu anitzeko proteina proapoptotikoak edo BAX-moduko proteinak” MKMI-eragile zuzenak izango dira (adib. BAX eta BAK); eta azkenik, “BH3-domeinu bakarreko proteinak” aurkitzen ditugu. Hauek BH3 domeinu bakarra aurkezten dute eta BAX-moduko proteinak aktiba ditzakete MKMI eraginez (adib. BID, BIM, PUMA...).

BAX eta BAK proteinak mitokondrioaren kanpo-mintzaren iragazkortasuna sustatu eta ondorioz, apoptosi-eragileak diren faktoreen (c-zitokromo, Smac/Diablo, AIF...) askapena eragiteko erabakiorrak dira. MKMI prozesua BCL2 familiako azpitalde ezberdinen arteko batuketa patroia desberdinen elkarrekintzen bidez estuki erregulatuta dago. Prozesu hau ematen duten BCL2 familiako proteinen ekintza-mekanismoaren inguruko hainbat aspektu sakonki definituak izan dira, nahiz eta oraindik beste hainbat prozesuk eztabaidagarriak izaten jarraitzen duten gaur egun. Aurretik aipatu den bezala, BCLxL eta MCL1 kide antiapoptotikoek BAX/BAK-en iragazkortze funtzioa inhibituz gaitasuna daukate; BH3-domeinu bakarreko proteinek, ordea, permeabilizazioa aktibatzen dute BAX/BAK proteinei zuzenki batuz edo proteina antiapoptotikoak inhibituz. BCL2 familiako proteinen arteko interakzioak, gainera, zitosolean edo mintzaren giroan gerta daitezke, azkenengoan, lipidoek ere eginkizun garrantzitsua bete ahalko dutelarik. Behin BAX/BAK aktibatuta, proteina hauen egiturek aldaketa konformazional nabarmenak jasaten dituzte. Honez gain, mintzaren permeabilizazio prozesua burutu ahal izateko oligomero handiak era ditzaketela pentsatzen da. Azkenik aipatu beharrekoa da BAX/BAK-ek era dezaketen poroaren izaera azaltzeko hainbat modelo izan direla proposatuak.

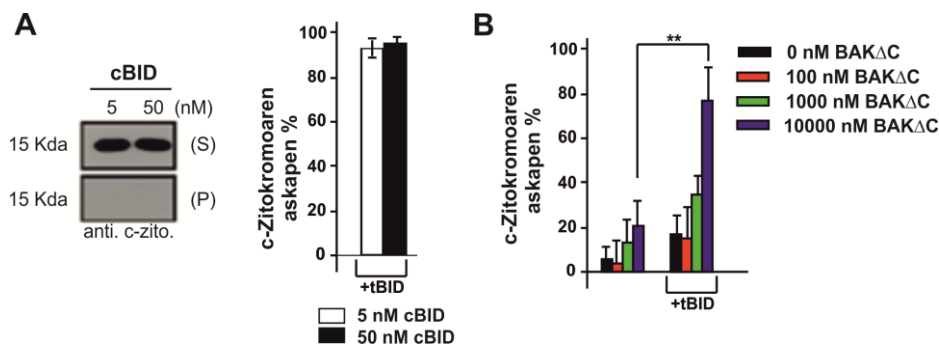
## 2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak.

Gaur egun, BAX eta BAK MKMI-eragileak direla ongi finkatuta dagoen arren, hauek mintzean eratuko dituzten zuloen izaerak oso eztabaidatua den gai bat izaten jarraitzen du. BAX-moduko proteinek zuzenean MKM-aren iragazkortasuna eragiteko ahalmena dutela proposatu zen (Basanez et al. 1999, Basanez et al. 2002, Bleicken et al. 2010, Kuwana et al. 2002, Martinez-Caballero et al. 2009, Roucou et al. 2002, Saito et al. 2000, Terrones et al. 2004). BAX eta BAK-ek eragiten duten MKMI-aren mekanismo zehatza eta poroaren izaerak polemikoa izaten jarraitzen du. BAX/BAK poroa azaltzeko euren artean kontrajarriak dauden bi eredu proposatu dira: (1) "Upa-ohol" egitura aurkezten duten kanal proteikoak, eta (2) poro proteolipidikoa. Azkenengo urteetan, beste talde batzuek, gureak barne, BAX-ek proteina-lipidodun izaerako poro toroidal bat eratzen dutelaren ebidentzia ugari bildu dituzte (Basanez et al. 1999, Basanez et al. 2002, Epanand et al. 2003, Garcia-Saez et al. 2005, Garcia-Saez et al. 2006, Qian et al. 2008, Terrones et al. 2004). Guzti hau jakinda ere, BAX-moduko proteina hauen ekintza-mekanismo molekularrean berebiziko garrantzia duten hainbat aspektu ezberdin argitzeke geratzen dira, adibidez, BAX/BAK-ek poroa erregulatzen duten parametroak zeintzuk diren eta BAX/BAK-ek poroaren izaera zein den. Lan honen helburu nagusia berreraikitako sistema minimalisten erabilpenean oinarrituz, BAK proteinaren aktibazio funtzionalaren eta honek sortzen duen poro eraketaren azpian datzan mekanismo molekularra azaltzea da.

## 3. Ikerketaren muina

BAK-en iragazkortze funtzioa aztertzeko, lehendabizi mitokondrioetatik c-zitokromoaren askapena aztertu zen. Helburu honekin, alde batetik, sagu embrioi-tako fibroblastoetatik (1. irudia A) mitokondrioak bakartu ziren, eta bestetik, arratoiaren gibeletakoak (1. irudia B). Bi mitokondrio hauen arteko desberdintasun nabarmena BAK kantitatea da, arratoiaren gibeletik bakartutako mitokondrioek ez baitute BAK proteinarik. Ezaugarri hau kontuan hartuz, jatorrizko tipoko BAK proteina eta lan honetan erabiliko dugun C-muturreko 21 aminoazidorik gabeko BAK aldaeraren aktibitatea paraleloan saiatu genituen. BAK $\Delta$ C eta cBID-en kontzentrazio ezberdinak 30 minutuz 30°C-tara inkubatu ziren bi motatako mitokondrioekin. Ondoren, gainjalkina (askatutako c-zitokromo) eta jalkina (mitokondrioak) zentrifugazio bidez banatu ziren. Azkenik, c-zitokromoaren askapen portzentajea c-zitokromoaren aurkako antigorputza erabiliz, western plapaketa (sagu embrioiaren fibroblasto-tako mitokondrioen saioa) eta ELISA (arratoiaren gibeletako mitokondrioen saioa) bidezko prozedurak jarraituz kalkulatu zen. Bi kasuetan, cBID-ek jatorrizko tipoko BAK eta BAK $\Delta$ C aldaeraren iragazkortze funtzioa aktibatuta ditzakeela ikusten da (Landeta et al. 2011).

1. irudia. cBIDek aktibatzen duen BAKek c-zitokromoaren askapena eragiten du bakartutako mitokondrioetan.



Zelula mailan, BCL2 proteinen ekintza-mekanismoaren inguruko informazioa lortzeko dituen zailtasunak kontuan hartuta, lan honetan konposaketa definitu eta sinplifikatu bateko berreraikitako *in vitro* mintz-ereduen sistemak erabili genituen, lamela bakarrek besikula handiak (LUV, ingelesetik *Large Unilamellar Vesicles*) eta erraldoiak (GUV, ingelesetik *Gigant Unilamellar Vesicles*) alegia. Sistema hauen osagaiak lipido puruz eratutako mintz-ereduak edo liposomak dira. Hortaz, mintzaren ezaugarriak eta lipido konposaketan aldaketak era kontrolatu batean egitea ahalbideratzen digu.

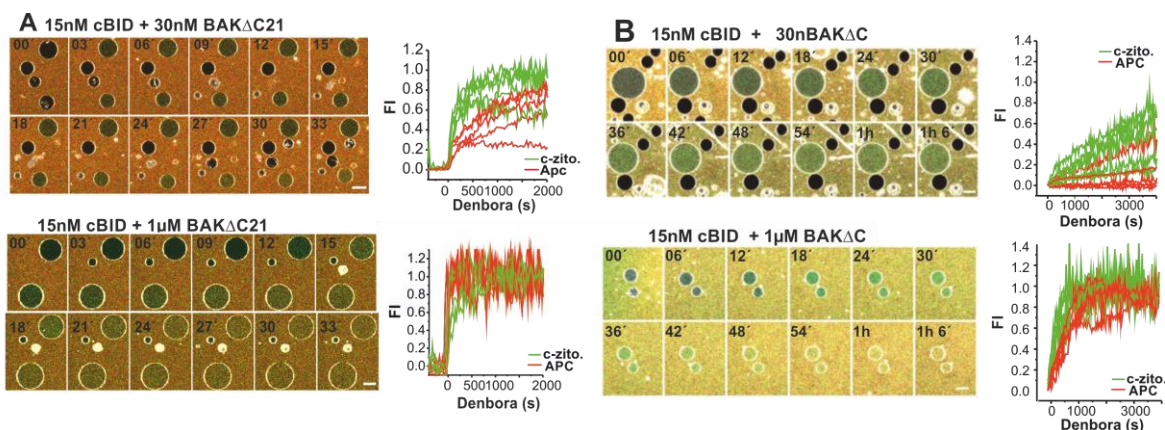
cBIDek aktibatutako BAKek eragiten dituen poroen tamaina zehatza sakonago aztertzeke ondorengo GUVen iragazkortze saioaren metodologia aukeratu zen. Metodo hau bakarkako GUVetan fluoreszenteak diren zunda desberdinen barneraketa zinetiken azterketan datza, mikroskopia konfokala erabiliz. Lan honetan, tamaina ezberdineko bi zunda erabili ziren: 12kDa-etako Alexa 488-rekin markatutako c-zitokromo (c-zito.) eta 104kDa-takoa eta intrintsekoki fluoerezentea den alofikoizianina (APC) proteina. Horrez gain, mintz eredu gisa, rodamina zunda fluoerezentearekin markatutako %80 fosfatidilkolina eta %20 kardiolipina duten lipido konposaketako GUVak erabili ziren.

Aurretik deskribatutako lanetan oinarrituz, GUVen iragazkortze saioak bi hurbiltze metodo erabiliz gauzatu ziren (Bleicken et al. 2013a, Bleicken et al. 2013b, Fuertes et al. 2010). Alde batetik, “Oreka aurreko poroak edo hasierako poroak aztertzeke zinetikak”, hauetan, BAK/cBID eta aipatutako bi zunda fluoerezenteak batera inkubatu ziren GUVekin, jarraian irudiak erregistratzeko. Honela, modu honetara aztertzen diren zinetikak eratu berri diren poroen eraketa deskribatuko dute. Bestalde, “Orekako poroak aztertzeke zinetikak”, metodologia honetan, Alexa-555 askea eta BCL-2 familiako proteinak GUVekin bi orduz inkubatu ziren, ondoren, c-zito. eta APC gehitu eta irudiak erregistratzeko.

Oreka aurreko zinetikak behatuz (2. irudia A), bi zunden barneraketaren patroia BAKen kontzentrazioaren arabera dela ikusten da. BAK proteinaren kontzentrazioa handituz azkarragoak eta barneraketa portzentaje handiagoak jazotzen dira, desberdintasun nabarmenenak APC zundaren barneraketan gertatzen direlarik. Ondoren, oreka egoerako zinetikak aztertu ziren (2. irudia B). Kasu honetan, c-zito. eta APC zunden barneraketan ezberdintasun handiak daudela ikusi daiteke. BAK kontzentrazio baxuetan GUVetara batez ere c-zitokromo sartzen den bitartean, BAK kontzentrazio altuetan, bi zundak osoki barneratzen dira. Datu hauetatik cBIDek aktibatutako BAKek azken honen kontzentrazioarekiko menpekoak diren tamaina aldakorrek poroak eragiten dituela ondorioztatu dezakegu (Bleicken et al. 2013a).

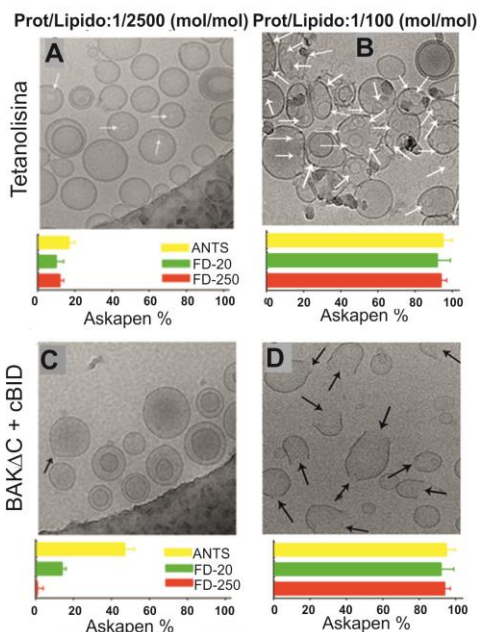
Bukatzeke, LUVetan tamaina ezberdineko solutuak (ANTS, 0.4kDa; FD-20, 20kDa; FD-250, 250kDa) enkapsulatuz, kolesterolaren menpeko kanale proteiko baten eragilea den tetanolisina eta BAK/cBID proteinen iragazkortze funtzioak alderatu ziren proteina/lipido ratio ezberdinetara.

**2. irudia. Aktibatutako BAKen kontzentrazioak berak eraturako poroaren tamaina eta egonkortasuna erregulatzen ditu.**



Tetanolisinaren kasuan (3. irudia A, B) solutuen askapen totala handituz doa proteina/lipido ratioa handitzen doan heinean, tamaina desberdineko solutuen askatzean desberdintasunik jazo gabe. Beraz tetanolisinak erazten dituen kanaleen kopurua handituz doala pentsa daiteke. BAK/cBIDen kasuan (3. irudia C, D), berriz, lipido/proteina ratio txikien kasuan soilik zunda txikiena askatzen da: liposoma hauetan kurbadura handiko egiturak ikusi daitezkeen arren, ez da pororik behatzen. Proteina/lipido ratioa handitzen denean tamaina handiagoko zundak askatzen doaz, tamaina handiagoko poro ikusgarrien azaltzea dela eta. Azkenik, tetanolisinak eraztun itxurako kanale bat erazten duela argi ikusten da, BAK/cBIDen kasuan poroen ertzetan inolako egitura definiturik ikusten ez den bitartean. Hortaz, orain arteko datu guzti hauek kontuan hartuz, BAKek egituralki dinamikoak diren poro proteolipidikoak erazten dituela ondorioztatu daiteke (Landeta et al. 2011).

**3. irudia. Tetanolisinak sortzen duen upa-ohol egituraren eta aktibatutako BAKek erazten duen poro proteolipidikoaren arteko desberdintasunak.**



**4. Ondorioak**

BCL2 familiako proteinak apoptosiaren erregulatzaile nagusiak dira, mitokondrioaren kanpo mintzaren (MKM) iragazkortasuna erregula baitezakete poro apoptotiko baten eraketa edo inhibizioa eraginez, modu honetan, apoptosi-eragileak diren hainbat faktoreen mitokondriotik zitosoloserako askapena erregulatu ahalko dute. Azkeneko hamarkadetan, BCL-2 familiako proteinen ekintza-mekanismoaren eta egituraren ezagueran berebiziko aurrerakuntzak eman dira.

Lan honetan, BAK proteinaren apoptosian zeharreko oinarritzko ezaugarri fisiologikoak aztertu ziren proteina birkonbinatuetan eta konposaketa zehatzeko mintz-ereduetan oinarritzen den berreraikitako *in vitro* sistemak erabiliz. Sistema minimalista hauek eta bakartutako mitokondrioak direla medio, BH3-domeinu bakarreko cBID proteina BAK proteina proapoptotikoa zuzenean eta potentzia handiz aktibatu dezakeela ikusi da. Aurkikuntza honek berriki cBID BAKen zuzenezko aktibatzaile bezala deskribatzen duten beste talde batzuen ikerketekin egiten du bat. Beraz, proapoptotikoa den BAK proteinaren oinarritzko ezaugarri fisiologikoak arrakastaz berreraiki ziren mintz-eredu sistema minimalistak erabiliz.

BAK en poro apoptotikoaren izaeraren ezagutzan sakondu da fluoreszentsiazko mikroskopio aurreratua eta banakako GUVen azterketako metodologiak konbinatuz. Zinetiken analisia burutuz, BAKek proteinekiko iragazkorak diren poroak eratzen dituela ikusi da: kanal proteikoekin alderatuz, BAKen poroek ez dute tamaina finkorik, denborarekiko eta proteina kontzentrazioarekiko menpekoa den bilakaera bat jasanez. Emaiza sorta honek, metodologia berdintsuarekin aztertutako BAX  $\alpha 5$  peptidoak eratzen duen poro dinamikoaren ebidentzia sostengatzen du (Fuertes et al. 2010). Honez gain, BAKekin tratatutako mintz-ereduak Crio-EM mikroskopioa bidez aztertuz lortu diren behaketa gehigarriek BAKek eratzen duen poroaren izaera proteolipidikoa dela bermatzen dute. Ondorioz, cBIDek aktibatutako BAKek proteinekiko iragazkorak diren poro proteolipidikoa eratzen ditu; hauek mintzaren kurbadurarekiko menpekoak dira, eta BAKen kontzentrazioaren funtziopeko tamaina aldakorrek izango dituzte.

## 5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Etorkizunerako eta ikerketa lan honekin jarraitzeko asmoz, BAK proteina poro eraketan duen topologia aztertzea interesgarria izango litzateke, honetan apoptosiarekin erlazioaturiko lipido ezberdinek izan dezaketen eraginean sakonduz. Proteina honen topologia zehatza eta poro eraketa erregulatzen duten faktoreak ezagutzeak diana terapeutiko berriak proposatu ahal izateko aukera irekiko luke.

## 6. Erreferentziak

- Adams, J. M. and Cory, S. (2007), The Bcl-2 apoptotic switch in cancer development and therapy, *Oncogene*, 26(9): 1324-1337.
- Basanez, G., Nechushtan, A., Drozhinin, O., Chanturiya, A., Choe, E., Tutt, S., Wood, K. A., Hsu, Y., Zimmerberg, J. and Youle, R. J. (1999), Bax, but not Bcl-xL, decreases the lifetime of planar phospholipid bilayer membranes at subnanomolar concentrations, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96(10): 5492-5497.
- Basanez, G., Sharpe, J. C., Galanis, J., Brandt, T. B., Hardwick, J. M. and Zimmerberg, J. (2002), Bax-type apoptotic proteins porate pure lipid bilayers through a mechanism sensitive to intrinsic monolayer curvature, *J Biol Chem*, 277(51): 49360-49365.
- Bleicken, S., Classen, M., Padmavathi, P. V., Ishikawa, T., Zeth, K., Steinhoff, H. J. and Bordignon, E. (2010), Molecular details of Bax activation, oligomerization, and membrane insertion, *J Biol Chem*, 285(9): 6636-6647.
- Bleicken, S., Landeta, O., Landajuena, A., Basanez, G. and Garcia-Saez, A. J. (2013a), Proapoptotic Bax and Bak proteins form stable protein-permeable pores of tunable size, *J Biol Chem*, 288(46): 33241-33252.
- Bleicken, S., Wagner, C. and García-Sáez, Ana J. (2013b), Mechanistic Differences in the Membrane Activity of Bax and Bcl-xL Correlate with Their Opposing Roles in Apoptosis, *Biophysical Journal*, 104(2): 421-431.
- Epand, R. F., Martinou, J. C., Montessuit, S. and Epand, R. M. (2003), Transbilayer lipid diffusion promoted by Bax: implications for apoptosis, *Biochemistry*, 42(49): 14576-14582.
- Fuertes, G., Garcia-Saez, A. J., Esteban-Martin, S., Gimenez, D., Sanchez-Munoz, O. L., Schwill, P. and Salgado, J. (2010), Pores formed by Bax $\alpha 5$  relax to a smaller size and keep at equilibrium, *Biophys J*, 99(9): 2917-2925.

- Garcia-Saez, A. J., Coraiola, M., Dalla Serra, M., Mingarro, I., Menestrina, G. and Salgado, J. (2005), Peptides derived from apoptotic Bax and Bid reproduce the poration activity of the parent full-length proteins, *Biophys J*, 88(6): 3976-3990.
- Garcia-Saez, A. J., Coraiola, M., Serra, M. D., Mingarro, I., Muller, P. and Salgado, J. (2006), Peptides corresponding to helices 5 and 6 of Bax can independently form large lipid pores, *FEBS J*, 273(5): 971-981.
- Kuwana, T., Mackey, M. R., Perkins, G., Ellisman, M. H., Latterich, M., Schneider, R., Green, D. R. and Newmeyer, D. D. (2002), Bid, Bax, and lipids cooperate to form supramolecular openings in the outer mitochondrial membrane, *Cell*, 111(3): 331-342.
- Landeta, O., Landajuela, A., Gil, D., Taneva, S., Di Primo, C., Sot, B., Valle, M., Frolov, V. A. and Basanez, G. (2011), Reconstitution of proapoptotic BAK function in liposomes reveals a dual role for mitochondrial lipids in the BAK-driven membrane permeabilization process, *J Biol Chem*, 286(10): 8213-8230.
- Martinez-Caballero, S., Dejean, L. M., Kinnally, M. S., Oh, K. J., Mannella, C. A. and Kinnally, K. W. (2009), Assembly of the mitochondrial apoptosis-induced channel, MAC, *J Biol Chem*, 284(18): 12235-12245.
- Miura, M. (2011), Active participation of cell death in development and organismal homeostasis, *Dev Growth Differ*, 53(2): 125-136.
- Qian, S., Wang, W., Yang, L. and Huang, H. W. (2008), Structure of transmembrane pore induced by Bax-derived peptide: evidence for lipidic pores, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105(45): 17379-17383.
- Roucou, X., Rostovtseva, T., Montessuit, S., Martinou, J. C. and Antonsson, B. (2002), Bid induces cytochrome c-impermeable Bax channels in liposomes, *Biochem J*, 363(Pt 3): 547-552.
- Saito, M., Korsmeyer, S. J. and Schlesinger, P. H. (2000), BAX-dependent transport of cytochrome c reconstituted in pure liposomes, *Nat Cell Biol*, 2(8): 553-555.
- Strasser, A., Cory, S. and Adams, J. M. (2011), Deciphering the rules of programmed cell death to improve therapy of cancer and other diseases, *EMBO J*, 30(18): 3667-3683.
- Terrones, O., Antonsson, B., Yamaguchi, H., Wang, H. G., Liu, J., Lee, R. M., Herrmann, A. and Basanez, G. (2004), Lipidic pore formation by the concerted action of proapoptotic BAX and tBID, *J Biol Chem*, 279(29): 30081-30091.

## 7. Eskerrak eta oharrak

Ikerketa hau hurrengo proiektuetatik finantziatua izan da: Eusko Jaurlaritza, IT838-13 eta EHU, EHU-1374. Honez gain, lan honen atal bat Heidelberg-eko German Cancer Research Center-reko Bioquant eraikinean eta Ana García-Saez-ek gidatzen duen laborategian eginiko egonaldiaren ondorioz lortutako emaitzez osatua dago. Artikulu honetan agertzen diren emaitzak Landeta *et al.* 2011 eta Bleicken *et al.* 2013 erreferentziadun artikuluetatik eratorriak dira. Bukatzeko, Olatz Landeta CSICeko JaePre-Doc doktoregutzarako beka-kontratu baten hartzailea izan zen, eta Biofisika Fundazioaren diru-laguntza bat ere jaso zuen.