



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE MAGÍSTER EN BIOQUÍMICA Y BIOINFORMÁTICA

**Evaluación funcional de regiones no-codificantes  
conservadas predichas como *enhancers* en el intrón 5 del  
gen *RUNX1***



Profesor Guía: Soraya Gutiérrez Gallegos  
Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Universidad de Concepción

Tesis para ser presentada a la Dirección de Postgrado de la Universidad de  
Concepción

BORIS EDUARDO REBOLLEDO JARAMILLO  
CONCEPCIÓN-CHILE  
2010

## Resumen

El gen *RUNXI* codifica para un factor de transcripción que regula el desarrollo del sistema hematopoyético. Fue inicialmente descrito por su participación en t(8;21), una de las translocaciones cromosomales más frecuentes en leucemia mieloide aguda. Los quiebres cromosomales que generan t(8;21) se agrupan en el intrón 5 del gen *RUNXI*, el cual presenta características estructurales de la cromatina comúnmente asociadas a la presencia de elementos reguladores activos de la transcripción: un sitio hipersensible a DNasa I, sitios de corte para Topoisomerasa II e histonas acetiladas, incluyendo la marca epigenética H3K9/14Ac, la cual se ha asociado a *enhancers* funcionales.

Muchos genes, principalmente aquellos involucrados en el desarrollo, requieren elementos genómicos distantes en *cis* (*enhancers*, *silencers*, *insulators*) que permitan controlar espacio-temporalmente su transcripción. Actualmente, la aproximación más eficaz y más usada para predecir este tipo de elementos reguladores es un análisis de genómica comparada.

Tomando en cuenta las características estructurales de la cromatina que presenta el intrón 5 del gen *RUNXI*, en nuestro laboratorio se buscaron secuencias no-codificantes conservadas (CNS) dentro del intrón, para predecir la posición de potenciales elementos reguladores. A partir del alineamiento del gen *RUNXI* humano, con sus ortólogos de ratón y rata, se identificaron nueve regiones conservadas, de las cuales sobresalieron la región CNS-K, debido a su asociación con la marca epigenética H3K9/14Ac relacionada a *enhancers* funcionales y la región CNS-L, debido a su alta conservación evolutiva a nivel de vertebrados.

En este trabajo se evaluó la funcionalidad de las regiones CNS-K y CNS-L como elementos reguladores de la transcripción tanto en células en cultivo, como *in vivo*, mediante transgénesis en *X. tropicalis*. Los resultados en células en cultivo mostraron que las regiones tienen actividad regulatoria independiente de posición y distancia respecto al promotor asociado, cumpliendo con los dos requerimientos que definen a los *enhancers* y *silencers*. Además se observó que estas regiones tienen un comportamiento dependiente del contexto celular y región promotora. La evaluación funcional *in vivo* mostró que las regiones son funcionales en el contexto de un organismo completo, confirmando su rol como elementos reguladores.

En conclusión, se definieron dos elementos reguladores de la transcripción funcionales en el intrón 5 del gen *RUNXI*, lo cual coincide con la evidencia experimental que muestra que la estructura de la cromatina de este intrón se encuentra en una conformación que favorece la interacción entre factores de transcripción y el ADN.