



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ciencias Biológicas -Programa de Magíster en Bioquímica y
Bioinformática

Función de hC/EBP β en la regulación transcripcional del gen de albúmina humano.

Tesis para optar al grado de Magíster en Bioquímica y Bioinformática

NICOLE ANDREA VALENZUELA RIFFO
CONCEPCIÓN-CHILE
2014

Profesor Guía: Dr. José Gutiérrez Contreras
Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad de Concepción

RESUMEN

La transcripción génica es un proceso en el que se ven involucradas una gran cantidad de complejos moleculares que tienen como objetivo generar una copia exacta de ARN a partir de una secuencia de ADN codificante. Uno de los elementos fundamentales que participan de este suceso son los factores de transcripción, agentes de origen proteico cuya denominación deriva de su acción moduladora de este proceso y que son capaces de reclutar y/o asociarse con cofactores, otros factores de transcripción, complejo RNA polimerasa y complejos modificadores de cromatina. Esta última asociación cobra gran importancia en la etapa previa al inicio de la transcripción, donde es necesario modificar la cromatina desde un estado inactivo o compacto a un estado activo o relajado. Esto con la finalidad de que la maquinaria transcripcional tenga acceso a la región regulatoria del gen; hoy se sabe que los factores de transcripción tienen la capacidad de reclutar a estos modificadores de cromatina, actuando como un componente esencial en la regulación transcripcional.

Un factor de transcripción que posee esta capacidad es CCAAT/enhancer-binding protein beta (C/EBP β), el cual se encuentra involucrado en un gran número de procesos biológicos. Existe en humano como 3 isoformas provenientes de un gen sin intrones y un mismo ARNm (hC/EBP β 1, hC/EBP β 2 y hC/EBP β 3). Se ha descrito que este factor puede actuar como activador o inhibidor transcripcional, dependiendo de la isoforma participante y de la presencia de modificaciones post-traduccionales en ellas.

Un estudio de nuestro laboratorio reveló la existencia de una interacción física entre las isoformas de hC/EBP β y complejos ACF/CHRAC, pertenecientes a la subfamilia de complejos remodeladores de cromatina ATP-dependientes ISWI, además de sugerir una conexión funcional entre ambos factores apuntando a una regulación de la actividad transcripcional sobre genes regulados por el factor de transcripción.

Con estos antecedentes y con el objetivo de establecer un rol funcional a esta interacción, se determinó estudiar el gen de albúmina humano, ya que estudios independientes han mostrado regulación por C/EBP β y además presencia física de

SNF2H, subunidad ATPasa de los complejos de la subfamilia ISWI, en su promotor. Con esto nos planteamos como hipótesis que las isoformas de hC/EBP β y el complejo remodelador de la subfamilia ISWI juegan un rol regulatorio conjunto en la transcripción del gen de albúmina humano, y para comenzar a dilucidar los mecanismos por los cuales ocurriría esto planteamos como objetivo de esta tesis el determinar la función regulatoria de SNF2H y de las isoformas de C/EBP β en la expresión del gen de albúmina humano.

Ensayos de qRT-PCR en células HepG2 transfectadas de forma temporal con vectores que codifican para las isoformas de hC/EBP β y para hSNF2H, mostraron que hC/EBP β 1 y hC/EBP β 2 presentaron un efecto activador, mientras que hC/EBP β 3 y SNF2H un efecto represor sobre la expresión de albúmina.

Con el objeto de analizar la participación de estas proteínas en la regulación de la expresión del gen de albúmina en un contexto celular se buscó una condición de cultivo que tuviera un impacto significativo sobre la expresión de albúmina. Para esto se utilizó DMSO, insulina y el factor de crecimiento TGF β 1, siendo este último el que tuvo un mayor impacto sobre la expresión de este gen, con un efecto represor. Al analizar la presencia de las proteínas en el núcleo se observó reducción de SNF2H en el tratamiento con TGF β 1 y concomitantemente reducción de la presencia física de esta proteína en el promotor del gen de albúmina, al igual que de C/EBP β .

Para profundizar en el efecto generado por los factores sobre el gen de albúmina se probó el efecto de reducir los niveles de SNF2H y C/EBP β sobre la expresión de este gen, mediante el uso de siRNA. Se probaron diferentes concentraciones de siRNA y del reactivo de transfección, no observándose diferencia en la expresión de las proteínas en el núcleo, por lo que no fue posible realizar análisis posteriores en base a estos tratamientos.

Finalmente, nuestros estudios sugieren que existe una relación funcional de C/EBP β y SNF2H en la regulación del gen de albúmina, aunque se requieren más estudios para confirmar la existencia de una relación entre el factor de transcripción y el complejo remodelador en la regulación de este gen.