

Construcción y evaluación de un promotor eucariótico que controla la expresión de genes heterólogos en condiciones de hipoxia

Luis Daniel Terrazas Armendáriz^a, Itza Eloisa Luna Cruz^a, María Cristina Rodríguez Padilla^a, Juan Manuel Alcocer González^{a*}.

^aLaboratorio de Inmunología y Virología, departamento de Inmunología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, 66450, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México.
danielterrazas307@hotmail.com

Palabras clave: factor inducible por hipoxia, elementos de respuesta a hipoxia, pHRE-Luc.

Introducción

La hipoxia es una característica común en los tumores sólidos, contribuyendo local y sistémicamente a la progresión tumoral, además de la falta de respuesta a la radioterapia y quimioterapia. El factor de transcripción: factor inducible por hipoxia (HIF-1) es el mayor regulador de la adaptación del tumor a la hipoxia, induciendo la expresión de muchos genes que permiten a las células sobrevivir en estas condiciones^{1,2}. La presencia de regiones hipóxicas en neoplasias malignas es uno de los factores predictivos más importantes. Paradójicamente la hipoxia también es un blanco terapéutico atractivo ya que se produce hipoxia severa solo en el tejido del tumor sólido³. Muchos genes sensibles a hipoxia son regulados el sistema elementos de respuesta a hipoxia/factor inducible por hipoxia (HRE/HIF1), los HRE se localizan dentro de regiones potenciadoras de estos promotores. El sistema de regulación (HRE/HIF1) es común en todas las células de mamíferos y tejidos humanos, este sistema se puede utilizar para lograr la expresión selectiva de genes terapéuticos en condiciones de hipoxia⁴. Cuando (HREs) derivados de diferentes genes se colocan en plásmidos y sistemas de vectores virales, confieren inducibilidad hipóxica sobre los promotores heterólogos en varios tipos de células por lo que la hipoxia puede ser explotada para el tratamiento de cáncer selectivo⁵.

Parte experimental

se creó y caracterizó el vector hipóxico pHRE-Luc, se comprobó su funcionalidad en la línea celular B16F10 mediante la medición de la expresión génica del gen reportero luciferasa en condiciones de hipoxia y normoxia bajo la influencia de 6 copias de los (HRE).

Resultados y discusión

En condiciones de hipoxia, el vector pHRE-Luc fue estadísticamente más eficiente que en normoxia para inducir la expresión génica, el RNA de interferencia dirigido contra HIF redujo significativamente la expresión del gen reportero en condiciones de hipoxia (Tabla 1).

Conclusión

Las secuencias en tándem llamadas elementos de respuesta a hipoxia regulan la expresión del gen reportero adyacente en condiciones de hipoxia y la activación del promotor en respuesta a condición de hipoxia es determinada por la proteína HIF. Este vehículo proporciona las bases para plantear un sistema sitio dirigido a las regiones hipóxicas de los tumores para terapia génica específica del cáncer.

Tabla 1. Cuantificación de la expresión de luciferasa en unidades relativas de luz (URL) del plásmido HRE-Luc en condiciones de Normoxia e hipoxia en células B16F10.

Normoxia	Hipoxia	Hipoxia+ RNA de interferencia (HIF)
379,851 URL	1,878,666 URL	55,939 URL

Referencias

- ¹Arvelo F y Cotte C. Invest. Clín. 2009. V.50, 4, pp529-546.
- ²Monti E, Gariboldi MB. Curr Mol Pharmacol. 2011. V.4, 16, pp62-77.
- ³Baumann RP, Penketh PG, Seow HA, Shyam K, Sartorelli AC. Radiat Res. 2008. V.170, 5, pp651-660.
- ⁴Greco O, Marples B, Dachs GU, Williams KJ, Patterson AV, Scott SD. Gene Ther. 2002. V.9, 20, pp1403-1411.
- ⁵J-Y Lee, Y-S Lee, J-M Kim, KL Kim, J-S Lee, H-S Jang, I-S Shin, W Suh, E-S Jeon, J Byun, D-K Kim. Gene Ther. 2006. 13, pp857-868.