

Localización e identificación del promotor del gen *hLRRK2*

Dionicio Aguirre^a, Tiffany Palacios^a, Azucena González^a, Brenda González^a, Omar Amezcua^b, Dvorak Montiel^{a*}

^aLaboratorio de Ciencias Genómicas, FCB-UANL, Av. Universidad s/n, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México.

^bFCFM-UANL, Av. Universidad s/n, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México.

*dvorak.montielcn@uanl.edu.mx

Palabras clave: Bioinformática, hLRRK2, cis-regulación.

Introducción

El gen *LRRK2* es un gen involucrado en un número de funciones en el organismo y se le ha relacionado con respuesta inmune, diferenciación celular y más aún, algunas mutaciones en este gen se han relacionado directamente con la aparición de Enfermedad de Parkinson. Sin embargo, su función en relación a esta enfermedad y los mecanismos regulatorios del gen aún no han sido dilucidados.

La transcripción en el sentido biológico es la iniciación de la expresión genética en la cual una hebra de ARNm se sintetiza a partir de un molde de ADN mediante la maquinaria de transcripción, cuyo elemento principal es una polimerasa de ARN dependiente de ADN (RNAPolIII). La transcripción se inicia en el momento en el que la RNAPolIII reconoce una secuencia específica (*core promoter* o núcleo promotor) en el genoma (elemento) en el extremo 5' del gen que transcribe, y es auxiliada, reclutada o bloqueada por la presencia o ausencia de otras proteínas llamadas factores de transcripción (TFs), que a su vez reconocen otros elementos específicos en el genoma. El conjunto de estos elementos es llamado promotor y puede ser determinado por una serie de características comunes en los promotores, como proporción de G-C, modificaciones en la estructura química del ADN, secuencia y contexto. Estas características pueden ser validadas mediante programas computacionales usando modelos matemáticos. Los elementos que se encuentran cerca del núcleo promotor determinarán cómo, cuándo y con qué intensidad el gen se expresará. Éste contexto presenta más dificultades para su comprobación experimental, puesto que los métodos con los que se cuenta actualmente no permiten probar la expresión o inhibición de tantos factores de transcripción como para representar un entorno real sin causar un modelo insostenible.

Sin embargo, dichos experimentos también pueden simularse en un entorno matemático, utilizando modelos capaces de evaluar los cambios de cada uno de los componentes del sistema mediante un set de ecuaciones que definan el comportamiento del mismo. Así pues, podemos predecir cómo se expresará el gen *LRRK2* ante determinadas condiciones (sobreexpresión o noqueo de factores de transcripción, diferentes tejidos, etc) conociendo únicamente la secuencia de la región promotora.

Parte experimental

Se tomaron las pares de bases comprendidas entre las posiciones 40,617,235 y 40,619,187, del cromosoma 12 humano, anotado en la base de datos UCSC Genome Browser. y se analizaron mediante el método descrito por Solovveyev (2010) y por Knudsen (1999). La región determinada como promotor fue analizada usando la base de datos TRANSFAC 7.0 para la predicción de sitios de unión de TFs usando el sistema de

matrices ordenadas MATCH.

Una vez obtenida la lista de TFs predichos, se les agrupó por expresión en tejidos o líneas celulares con mayor información de ensayos de expresión y factores de transcripción para su uso en proteómica y ensayos de expresión y se realizó un mapa de interacciones comparando los promotores ya reportados de los factores de transcripción en cuestión y su relación con *LRRK2*

Resultados y discusión

Se encontró que la región promotora del gen *LRRK2* se halla alrededor de la posición 40,618,771 alrededor de 40 pares de bases río arriba del sitio +1 (simulado) del gen.

Se predijeron sitios de unión para 38 factores de transcripción, relacionados con metabolismo, división celular y diferenciación de tejidos de mesodermo y endodermo lo que concuerda con los resultados reportados en ENCODE.

Sin embargo, la única correlación directa entre factor de transcripción y expresión de *LRRK2* es el TF E2F1, asociado con ciclo celular y cáncer, que se expresa únicamente en tejidos donde hay expresión de *LRRK2*, no obstante, este gen no ha sido reportado experimentalmente como un factor crucial en la expresión de *LRRK2*, y apenas hay evidencias experimentales de su asociación con el promotor del gen en cuestión.

Por otro lado, la región promotora tiene altos índices de acetilación en las histonas H3 que la circundan, así que la expresión podría verse afectada por una combinación de otros factores de transcripción de entre los estudiados con los patrones de modificación de histonas.

Conclusiones

Se logró determinar la posición del promotor del gen *LRRK2* usando un modelo matemático y se definió el comportamiento e interacción que podrían tener los factores de transcripción que regulan la expresión del gen. Sin embargo, para determinar el verdadero comportamiento del gen se requieren simulaciones que incluyan factores como modificación de histonas, interacciones proteína-proteína, regulación post traduccional y regulación post transcripcional, y finalmente, hacer comprobación experimental de los datos obtenidos mediante experimentos computacionales.

Referencias

Artículos:

1. Anwar F, Baker SM, Jabid T, Hasan MM, Shoyahib M, Khan H, Walshe R. *BMC Bioinformatics* **2008** 9:414
2. Irie T, Park SJ, Yamashita R, Seki M, Yada T, Sugano S, Nakai K, Suzuki Y. *Nuc. Ac. Res.*, **2011** 39(11): e75
3. Shandilya J, Roberts SG, *Biochi. et Biophys. Acta*, **2012** 1819(5): 391-400
4. The ENCODE Project Consortium, *PLoS Biology*. **2011** 9(4): e1001046