



Facultad de Ciencias Biológicas
Escuela de Ingeniería en Biotecnología

“Plasticidad sináptica induce cambios en la metilación y la unión de la proteína MeCP2 al promotor del gen para reelina, en hipocampo de ratas”.

Proyecto de tesis presentado como parte de los requisitos para optar al título de **Ingeniero en Biotecnología**.

Director de tesis: Dr. Pablo Muñoz Carvajal.

Departamento de Neurociencias, Facultad de Ciencias.
Centro Interdisciplinario de Neurociencia de Valparaíso.
Universidad de Valparaíso.

Co-director de tesis: Dr. Álvaro Ardiles Araya.

Centro Interdisciplinario de Neurociencia de Valparaíso.
Universidad de Valparaíso.

Oriana Marcela Ramírez Herrera.

Viña del Mar, Chile.

2014.

RESUMEN

Se ha considerado que la regulación génica a través de mecanismos epigenéticos tiene una importante función en la formación de plasticidad sináptica (PS) y memoria a largo plazo (MLP) (Levenson y Sweatt, 2005). La evidencia sugiere que el estado de metilación de algunos promotores de genes pasan por ciclos dinámicos (metilación/desmetilación) en la regulación de la transcripción, inducidos por actividad neuronal (Kangaspeska et al., 2008; Métivier et al., 2008). En neuronas, las metilaciones presentes en genes como el de reelina (RELN) son reconocidas por la proteína MeCP2, un miembro de la familia de proteínas de unión a sitios metil-CpGs, produciendo inhibición o activación de la transcripción, dependiendo de su interacción con factores co-represores o co-activadores respectivamente (Chahrour et al., 2008; Cohen et al., 2010).

Debido a lo anterior, este estudio tiene como objetivo evaluar si el gen de RELN está sujeto a cambios en su estado de metilación durante el curso temporal de la potenciación a largo plazo (LTP). Se espera obtener una disminución del estado de metilación en la región promotora del gen para RELN, en respuesta a la potenciación a largo plazo y con ello una disminución de la unión de la proteína MeCP2 a dicha región.

Para estudiar el estado de metilación de este gen, en rebanadas de hipocampo se establecerá una condición control y una tetanizada (LTP), en donde se modificará su ADN genómico con bisulfito, se evaluarán los cambios mediante la técnica de qPCR sensible a metilación, se determinará la unión de proteína MeCP2 a la región promotora del gen de RELN mediante la técnica de inmunoprecipitación de cromatina (ChIP), y por último, se cuantificará la expresión de RELN mediante la técnica de qRT-PCR.

Summary

Regulation of gene expression through epigenetic mechanisms has an important role in both the formation of synaptic plasticity (PS) and long-term memory (LTM). Evidence suggests that the methylation status of some genes goes through dynamic cycles (methylation / demethylation) in the regulation of transcription induced neuronal activity. In neurons, the presence of methylation in genes such as reelin (RELN), are recognized by the MeCP2 protein, a member of the family of methyl-CpG of binding proteins, resulting in the inhibition or activation of gene transcription by interacting either with co-repressors or co-activators.

Due to the above, this study aims to assess whether the RELN gene may undergo acute changes in their methylation status during different stages of long-term potentiation (LTP). It is expected to obtain a decrease in RELN methylation status, in response to long-term potentiation and thus a decrease MeCP2 binding to the promoter region.

An assessment of the genomic DNA changes by methyl-sensitive PCR, a bisulfite-based technique, will be used to study the methylation status of the RELN gene in both control and tetanized (LTP) hippocampal slices. Finally, we will use chromatin immunoprecipitation (ChIP), to test MeCP2 binding to the promoter region of the gene, and we will quantify expression of RELN by the technique of qRT-PCR.