

Modelo matemático para la predicción de la región cis-reguladora del gen *hLRRK2*

Dionicio Aguirre^a, Azucena González Horta^a, Brenda González Hernández^a, Omar González Amézcuab^b y Dvorak Montiel Condado^{a*}.

^aLaboratorio de Ciencias Genómicas, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL, Pedro de Alba S/N, San Nicolás de los Garza, N. L., México.

^bFCFM, UANL, Pedro de Alba S/N, San Nicolás de los Garza, N. L., México.

*dvorak.montielcn@uanl.edu.mx

Palabras clave: Factor de transcripción, cis-regulación, *hLRRK2*, bioinformática.

Introducción

El producto del gen *LRRK2* es una proteína relacionada con varias funciones dentro del humano; se le ha implicado con respuesta inmune, diferenciación celular e incluso con la aparición de la enfermedad de Parkinson (EP); debido a algunas mutaciones en este gen. Adicionalmente, esta proteína presenta una expresión variable en diferentes tejidos sin que hasta el momento hayan sido dilucidados los mecanismos regulatorios de ésta expresión tejido-específico.¹

El primer punto de control para la expresión es la transcripción, en la cual una hebra de ARN mensajero es sintetizada a partir de un molde de ADN mediante la maquinaria específica, cuyo actor principal es una polimerasa de ARN dependiente de ADN (RNAPol-II). La transcripción inicia en el momento en el que la RNAPol-II reconoce una secuencia específica (núcleo promotor) en el extremo 5' del gen que activa, y es auxiliada, reclutada o bloqueada por la presencia o ausencia de otras proteínas llamadas factores de transcripción (TFs), que a su vez reconocen otras secuencias específicas dentro del genoma. El conjunto de estos elementos conforman el "promotor" y puede ser localizado e identificado por una serie de características comunes, como proporción de G-C, modificaciones en la estructura química del ADN, secuencia y contexto. Estas características pueden ser validadas mediante programas bioinformáticos usando modelos matemáticos. Los elementos que se encuentran cerca del núcleo promotor pueden determinar 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.²

Afortunadamente, dichos experimentos pueden simularse en un entorno matemático, utilizando modelos capaces de evaluar los cambios de cada uno de los componentes del sistema mediante un conjunto de ecuaciones que definan su comportamiento. Así pues, podemos predecir cómo se expresará el gen *LRRK2* ante determinadas condiciones (sobreexpresión o silenciamiento de TFs, medición de la expresión en diferentes tejidos, etc) conociendo únicamente la secuencia de la región promotora.^{3,4}

Parte experimental

Se tomaron los 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 Solovyev⁵ y por Knudsen⁶. 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.

Se generó una base de datos con los factores de transcripción asociados a los sitios de unión predichos y se les discriminó por los tejidos que los expresan usando la base de datos ENCODE.⁷ Ésta base de datos es una herramienta indispensable para la primera determinación del comportamiento del promotor y la expresión de *hLRRK2* en función de los factores de transcripción asociados.

Discusión y resultados

Se encontró que la región promotora del gen *LRRK2* muy probablemente está localizada en la posición 40,618,771 del cromosoma 12, alrededor de 40 pares de bases río arriba del sitio +1 (putativo) del gen.

Se identificaron 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. El comportamiento del promotor se evaluó en el modelo para los tejidos H1ESC (células madre embrionarias humanas) y A562 (tejido pulmonar) en los que se reportan nulas y altas concentraciones de la proteína *LRRK2*, respectivamente.

Se encontró una correlación lineal respecto a la presencia de la proteína *LRRK2* con el factor de transcripción E2F1, un factor relacionado al ciclo celular y supresión de tumores. Además, se ha reportado que el producto del gen estudiado aquí, junto con PARP1 puedan inducir apoptosis⁸. Aunado a esto, se ha reportado que algunas mutantes de *LRRK2* relacionadas con EP, aumentan su actividad kinasa y podrían estar ligadas a la apoptosis mediada por mitocondria, la cual está estrechamente ligada a los factores BCL, de los cuales BCL11A tiene actividad reguladora sobre *LRRK2*.⁹ En vista de ésta evidencia y reportes del aumento de la actividad kinasa de *LRRK2* en células neuronales apoptóticas, se puede determinar que una función de esta proteína está posiblemente relacionada con la regulación mitocondrial durante la división celular.^{10,11}

Conclusiones

Las evidencias obtenidas con el modelo sugieren que la represión directa de la expresión del gen *LRRK2* no está regulada por factores de transcripción, por lo que será necesario ahondar en los mecanismos epigenéticos que actúan en esa región del gen.

La probable función de *LRRK2* es la de ser regulador de la homeostasis celular e inductor de la apoptosis mediada por mitocondria cuando su actividad está aumentada.

Referencias

1. Ray S, Liu M, *Future Medical Chemistry* **2012** September, 4(13):1701-1713
2. Carey LB, van Djik D, Sloot PMA, Kaandorp JA, Segal E. *PLoS Biology*. **2013** April 11(4): e1001528
3. Ay A, Armosi DN. *Crit Rev Biochem Mol Biol* **2011** 46(2):137-151
4. Irie T, Park SJ, Yamashita R, Seki M, Yada T, Sugano S, Nakai K, Suzuki Y. *Nucleic Acids Research* **2011** June 39(11): e75
5. Solovyev VV, Shahmuradov IA, Salamov AA. *Methods of Molecular Biology* **2010** 674:57-83
6. Knudsen S. *Bioinformatics* **1999** 15:356-361
7. The ENCODE Project Consortium. *Nature* **2012** September. 489uu(7414): 57-74
8. Kumari A, Iwasaki T, Pyndiah S, Cassimere EK, Palani CD, Sakamuro D. *Cell Death and Differentiation* **2015** February. 22(2):311-322
9. Gao Y, Wu H, He D, Hu X, Li Y. *Biomedical Reports* **2013** Jan-Feb 1(1):47-52
10. Daniëls V, Vancrawnenbroeck R, Law BMH, Greggio E, Lobbstaël E, Gao F, De Maeyer M, Cookson MR, Harvey K, Veerle Baekelandt V, Taymans J. *Journal of Neurochemistry* **2011** January, 116(2):304-315
11. Iaccarino C, Crosio C, Vitale C, Sanna G, Carri MT, Barone P. *Human Molecular Genetics* **2007** June. 16(11):1319-1326