



“Estudio proteómico de factores moleculares que coordinan la reprogramación génica estacional del pez *Cyprinus carpio*.”

TESIS ENTREGADA A LA
UNIVERSIDAD ANDRÉS BELLO
PARA OPTAR AL GRADO DE
DOCTOR EN BIOCENCIAS MOLECULARES

Mauricio Reyes Castro

2010

DIRECTOR DE TESIS: DR. MARCO ALVAREZ

Resumen

El pez *Cyprinus carpio* es un ectotermo euritermal que habita los ríos de la zona central y sur de Chile. En este escenario, se ve enfrentado a las variaciones físicas del medio ambiente propias de un clima con las estaciones claramente diferenciadas. El fenómeno de plasticidad fenotípica concomitante a las variaciones estacionales se conoce como aclimatización, el cual se ve reflejado a nivel fisiológico, celular y molecular. En la carpa, el cambio más notable se observa en el reordenamiento ultraestructural que sufre el nucléolo, el cual durante la estación veraniega presenta sus componentes integrados (con una alta actividad transcripcional), mientras que en invierno sus componentes se observan segregados (representativo de una baja tasa transcripcional). Nuestra hipótesis de trabajo sostiene que la homeostasis que caracteriza la adaptación estacional de la carpa, implica cambios en el repertorio de proteínas nucleares y en él se representan los factores moleculares centrales para la coordinación de la reprogramación génica estacional de *C. carpio*. Este estudio, permitió demostrar los cambios que sufre el proteoma nuclear de la carpa concomitante a la adaptación estacional, observándose que aproximadamente un 10% de las proteínas presentes en ambas estaciones son reguladas. Adicionalmente, hemos identificado cinco proteínas, dos no mostraron variación estacional y tres se sobre expresaron durante el invierno. Las identidades de estas proteínas nos sugieren la participación de diversos mecanismos regulatorios de la expresión génica en el proceso de aclimatización. La subunidad Rpb7 es necesaria para el inicio de transcripción y Spt4 participa de la elongación de la transcripción, Pur β se ha descrito como represor de ciertos genes en células musculares, mientras que CENP-A y Actina1 muestran funciones asociadas la estructura de la cromatina. Paralelamente, hemos evidenciado que la histona variante H2A.Z presenta una regulación estacional durante el proceso adaptativo. En particular, esta variante de histona se encuentra enriquecida en los genes ribosomales de la carpa (principalmente en verano), y su relación a través de ensayo de reChIp con marcadores epigenéticos de activación (AcK12H4) y represión (DimetK27H3), nos sugiere su participación en la modulación de la actividad transcripcional de los genes ribosomales durante el fenómeno de aclimatización. Las funciones descritas para estas proteínas, nos sugieren que la regulación de la expresión génica se llevaría a cabo a través de factores

transcripcionales específicos y de la modulación de la estructura de la cromatina. Esto nos indica la concertación de diversos procesos nucleares, los cuales sustentarían la reprogramación génica cíclica como una de las respuestas compensatorias centrales frente a los cambios medioambientales al que debe hacer frente el pez *C. carpio*.

Abstract

The ectotherm eurithermal fish *Cyprinus carpio* lives in the rivers of the central and south areas of Chile. It faces clearly differentiated seasons and it is subjected to selective pressure imposed by environmental fluctuations. The carp adaptive response to this phenomenon is a complex mechanism that involves physiological, cellular and molecular adjustments. The phenotypic plasticity of the carp concomitant to seasonal variations is known as acclimatization. This process involves profound nucleolar adjustments and remarkable changes in RNA synthesis, which affects ribosomal biosynthesis. The hypothesis proposes that the homeostasis which characterizes the seasonal adaptation of the *C. carpio* in winter and summer, involves changes in the repertory of nuclear proteins and those changes include the central molecular factors for coordinating the seasonal gene reprogramming in *C. carpio*. This study has demonstrated the changes experienced by the nuclear proteome concomitant upon seasonal acclimatization. It has been observed that 10% of the proteins present in both seasons are regulated. In addition, this work identified five proteins; two without seasonal changes and three were overexpressed during the winter. The identities of these proteins suggest the involvement of various mechanisms of gene expression in the process of acclimatization. Rpb7 is required for the initiation of transcription; Pur β has been described as a repressor of certain genes in muscle cells, while CENP-A and Actina1-A shows the functions associated to the chromatin's structure. Parallel to this, it was shown that H2A.Z presents a seasonal regulation during the adaptive process. This histone variant was demonstrated to be associated with ribosomal genes, mainly in summer. Also, its relationship, tested by reChIp, with activation (AcK12H4) and repression (DimetK27H3) epigenetic markers suggests its involvement in the modulation of ribosomal genes transcription during seasonal acclimatization. The functions of these proteins suggest that gene expression regulation would be carrying out through specific transcriptional factors and changes in chromatin structure. This indicates the diverse nuclear processes coordination, which support the cyclical gene reprogramming as a compensatory response to changes in the physical environment that affects fish *C. carpio*.