

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN



**MECANISMOS EPIGENÉTICOS INVOLUCRADOS EN LA
REGULACIÓN TRANSCRIPCIONAL DEL GEN RUNX2: Rol de las
modificaciones covalentes de las histonas H3 y H4 en el promotor P1.**

Tesis doctoral presentada a la Escuela de Graduados de la Universidad de Concepción
como parte de los requisitos para optar al grado de Doctor en Ciencias Biológicas

Por

Berta Cristina Henríquez Cabezas

2009

RESUMEN

El factor de transcripción Runx2 es esencial para el desarrollo óseo y la diferenciación osteoblástica, ya que controla directamente la expresión de diversos genes relacionados con este fenotipo, sirviendo como un regulador maestro de la esquelotogénesis. Runx2 presenta dos isoformas cuya expresión es regulada a través de dos promotores distintos. La isoforma Runx2-II/p57 es controlada por el promotor P1 y es la isoforma predominante en células óseas. Cuando células pluripotenciales mesenquimales son incubadas con morfógenos como BMP-2 hay un compromiso de éstas con el lineaje osteoblástico exhibiendo un aumento de la expresión de Runx2-II/p57 y de los genes regulados por esta isoforma. Esta elevada expresión de Runx2 es acompañada por un remodelamiento cromatínico en la región promotora P1, proceso que es independiente de la actividad remodeladora de cromatina de complejos del tipo SWI/SNF. Por ello se ha propuesto que esta remodelación cromatínica podría estar siendo mediada por otros mecanismos epigenéticos como las modificaciones covalentes de las histonas. De este modo resulta relevante evaluar los mecanismos moleculares involucrados en el control de expresión del gen Runx2-II/p57, específicamente, la participación de modificaciones covalentes de las histonas H3 y H4 en la actividad transcripcional del promotor P1 del gen Runx2, así como también de factores de transcripción y coactivadores asociados a este proceso.

En esta tesis hemos demostrado que un patrón específico de modificaciones post-traduccionales en las histonas H3 y H4 se encuentra presente en la región promotora proximal P1 y que este patrón, está asociado a la actividad transcripcional del gen Runx2 en células osteoblásticas. Estas marcas epigenéticas incluyen un aumento en la acetilación de la histona H3 en el residuo de lisina 9 (H3K9) y en la trimetilación en H3K4. En contraste, en células que no expresan el gen Runx2 encontramos mono, di y trimetilación de H3K9, monometilación de H3K4, trimetilación de H3K27, así como también aumento de la acetilación de la histona H4, específicamente en el residuo de lisina 12 (K12) y dimetilación simétrica de H4R3. Esto también fue observado en células primarias diferenciadas *ex vivo* y en la línea celular mesenquimal pluripotencial C3H10T1/2 estimulada con BMP-2. En estas últimas, nuestros resultados sugieren la presencia de “dominios bivalentes” en el promotor P1 en estados tempranos de diferenciación.

Junto a lo anterior en esta tesis analizamos la participación del factor de transcripción C/EBP β en la actividad transcripcional del gen Runx2, determinando que C/EBP β es capaz de regular la transcripción del promotor P1, principalmente, a través de un sitio de interacción presente en la región -161/-148. Esto fue observado tanto para la isoforma LAP* como LAP, mientras que la isoforma LIP, se comportó como dominante negativo de la actividad transcripcional mediada por las otras dos isoformas. Del mismo modo, al analizar la participación del coactivador p300, determinamos que este contribuye de manera positiva a la regulación transcripcional del promotor P1.

En resumen, nuestros resultados nos permiten postular que la transcripción y el remodelamiento cromatínico del promotor P1 del gen Runx2 durante la diferenciación osteoblástica, están regulados por mecanismos epigenéticos asociados a modificaciones covalentes de histonas H3 y H4. Este proceso podría estar siendo mediado por el factor de transcripción C/EBP β y por la proteína con actividad acetiltransferasa de histonas p300.

