

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN



**“ANÁLISIS DEL MECANISMO DE REMODELAMIENTO
NUCLEOSOMAL ASOCIADO CON LA EXPRESIÓN
TEMPORAL DE GENES DE HISTONAS ALFA DURANTE LA
EMBRIOGÉNESIS TEMPRANA DEL ERIZO DE MAR
Tetrapygus niger”**

TESIS DOCTORAL PRESENTADA A LA ESCUELA DE GRADUADOS
DE LA UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
COMO REQUISITO PARA OPTAR AL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

POR

RICARDO F. A. MEDINA DÍAZ

Tutor: Dr. Martín A. Montecino

RESUMEN

La regulación transcripcional en eucariontes ocurre en el contexto de la cromatina y está fuertemente influenciada por las barreras impuestas por la estructura nucleosomal. Entonces, una pregunta fundamental en biología es saber ¿cómo el genoma eucariótico es manipulado en el ambiente cromatínico?. *In vivo*, existe una asociación directa entre la remodelación de la estructura de la cromatina y la expresión regulada de genes eucarióticos. En la presente Tesis Doctoral se estudiaron los cambios que sufre la estructura cromatínica y las interacciones de factores de transcripción como consecuencia de la expresión de los genes de histonas tempranas en erizo de mar. Este modelo presenta grandes ventajas ya que en él es posible el estudio de los mecanismos involucrados en la regulación temporal de la expresión génica durante el desarrollo embrionario. En este sistema, luego de la fecundación, se expresan secuencialmente a distintos tiempos del desarrollo embrionario los genes de las histonas CS, histonas tempranas e histonas tardías. Durante este trabajo se clonó y secuenció el gen de la histona temprana H3 del erizo de mar *Tetrapygus niger* y se determinó su patrón de expresión, el cual se inicia al estado de 16 células, alcanza un máximo al estado de 128 células y luego declina al estado de larva Pluteus. Se encontró además un sitio hipersensible a DNasa I localizado en la posición -90 de la región promotora de este gen, el cual sólo se detectó cuando se observaron los máximos niveles del mRNA de la

histona temprana H3. Se identificó el elemento regulador TnH3CCAAT (nt -94/-77), que incluye al sitio hipersensible a DNasa I, como el responsable de unir un complejo proteico presente al estado de 128 células y cuyo componente de unión al DNA es el factor de transcripción homeodominio CDP/cut. Se estableció un protocolo de purificación de complejos remodeladores de cromatina que pudieran tener un rol en la activación transcripcional temporal. Además, se identificó un complejo de características bioquímicas similares que incluye a CDP/cut como componente de unión al DNA, en un estado del desarrollo embrionario en el cual no se observa expresión del gen de la histona temprana H3 de *T. niger*. En base a estos resultados se postula un modelo que pretende explicar este cambio en el patrón de expresión de este gen en términos de complejos proteicos que contienen a CDP/cut como componente de unión al DNA y de estructura cromatínica durante el desarrollo embrionario de erizo de mar.

Se estudió también el posible rol del remodelamiento de la estructura de la cromatina espermática inmediatamente después de producida la fecundación. Este proceso requiere un remodelamiento de la estructura de la cromatina espermática y el reemplazo de las proteínas histónicas espermáticas por histonas CS de origen materno. En este período tan particular del desarrollo embrionario es necesaria una fuerte decondensación del pronúcleo masculino altamente compactado, con el fin de reestablecer la diploidía del genoma del embrión. En el presente trabajo también se describe por primera vez la

presencia de una actividad remodeladora de cromatina dependiente de energía en citoplasma, pero no en núcleo, de óvulos sin fecundar. Esta actividad remodeladora de cromatina contendría como componente catalítico una subunidad relacionada a ISWI. No se detectaron proteínas relacionadas a SWI2/SNF2 tanto en citoplasma como en núcleo de óvulos sin fecundar. Estos resultados nos llevan a postular un modelo en el cual se incluye a esta actividad remodeladora de cromatina, conjuntamente con otras actividades enzimáticas y que explicarían el fenómeno de decondensación del pronúcleo masculino posfecundación.

