



Universidad de Concepción  
Dirección de Postgrado  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Programa de Magister en Bioquímica y Bioinformática

**Expresión esquelética y regulación transcripcional de los  
genes de colágenos fibrilares de los grupos A y B en  
*Xenopus tropicalis*.**

**Tesis para optar al grado de Magister en Bioquímica y Bioinformática**

**DAVID NICOLAS MUÑOZ MAULÉN  
CONCEPCIÓN-CHILE  
2015**

Profesor guía: Dr. Sylvain Marcellini Liotaud  
Departamento de Biología Celular y Molecular  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Universidad de Concepción

## RESUMEN

El origen de los vertebrados se define por la evolución del esqueleto mineralizado. Este evento involucró la expansión, y el reclutamiento de genes de colágenos fibrilares en el programa osteogénico. En vertebrados, la mayoría de los miembros de esta familia conforman los clados A y B, cuya expresión y regulación han sido estudiadas principalmente en ratón. Dado que el uso de organismos no-mamíferos es clave para resolver la evolución de esta familia, nos basamos en datos de RNA-Pet, RNA-seq y ChIP-seq disponibles en nuestro laboratorio, para dilucidar la arquitectura regulatoria de los genes de colágeno fibrilares en osteoblastos del anfibio *Xenopus tropicalis*.

Analizamos la expresión esquelética de 9 genes de colágenos fibrilares de los clados A y B, y por hibridación *in situ* (HIS) en larvas de *Xenopus*. Encontramos una fuerte expresión en mesénquima osteogénico, y en osteoblastos para *col1 $\alpha$ 1* y *col1 $\alpha$ 2*. El gen *col2 $\alpha$ 1* se expresa fuertemente en condrocitos proliferativos, y de manera más tenue en osteoblastos como ha sido reportado en peces. En dientes, *col1 $\alpha$ 1*, *col1 $\alpha$ 2*, y *col3 $\alpha$ 1* se expresan en odontoblastos. Detectamos 156 posibles módulos cis-regulatorios (MCR) osteoblásticos enriquecidos en H3K4me1, y H3K27ac ubicados en la cercanía de genes de colágenos fibrilares. Después de un análisis de componentes principales (ACP), seleccionamos 8 MCR putativos asociados a *col1 $\alpha$ 1*, *col1 $\alpha$ 2* y *col2 $\alpha$ 1*. Dichas regiones fueron amplificadas y clonadas río arriba de su promotor endógeno, y del reportero GFP-nuclear en un novedoso vector de expresión multifuncional. La cuantificación de los niveles de GFP en osteoblastos de *Xenopus* transfectados, nos permitió validar funcionalmente tres MCR de *col1 $\alpha$ 1*.

La comparación de nuestros resultados con la literatura revela que en anfibios y mamíferos, *col1 $\alpha$ 1* está controlado, por lo menos, por un MCR proximal, y un MCR distal. Considerando que una de las principales funciones del hueso es resistir fuerzas mecánicas, proponemos que la necesidad de producir altos niveles de proteínas estructurales requiere que *col1 $\alpha$ 1* esté activado por múltiples MCR potentes, explicando así la conservación evolutiva de la arquitectura regulatoria de este gen.