

2012 Noviembre, 3(2): 1-2

Regulación transcripcional de GPAT2 murina. Comparación con la isoforma humana.

Autores: María Belén García-Fabiani, Magalí Pellon-Maison, Elizabeth R. Cattaneo, Mauro A. Montanaro and María R. Gonzalez-Baró

Lugar de Trabajo: Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata (INIBIOLP), Facultad de Ciencias Médicas, UNLP

E-mail de contacto: mbgarciafabiani@yahoo.com.ar

Introducción

La síntesis *de novo* de glicerolípidos comienza con la acilación del glicerol-3 fosfato, reacción limitante y catalizada por la glicerol-3-fosfato aciltransferasa (GPAT). De las 4 isoformas descritas para mamíferos, GPAT2 es una enzima mitocondrial de similar estructura y localización celular que GPAT1, pero, a diferencia de ésta, no está regulada por el ayuno y re-ingesta de glúcidos en hígado de modelos murinos y su distribución tisular es diferente. Gpat1 se expresa mayoritariamente en tejidos asociados a una alta actividad sintética y metabólica de triglicéridos, como el tejido adiposo y el hepático. Gpat 2, en cambio, está altamente expresada en células espermáticas testiculares en condiciones fisiológicas (estudiado en rata y ratón) y en algunas células tumorales humanas.

Basados en datos *in silico* y debido a la particular distribución tisular de esta enzima, hemos planteado una posible regulación epigenética de la isoforma humana, mecanismo regulatorio que también decidimos estudiar en la isoforma de ratón.

Objetivos

Estudiar la posible regulación transcripcional de Gpat2 de ratón asociada a hormonas relacionadas con la función reproductiva. Determinar en líneas celulares humanas y de ratón que no expresan esta enzima si la hipometilación de DNA, como mecanismo epigenético, aumenta su expresión.

Materiales y Métodos

Se clonó una región de 6.7 kb corriente arriba del inicio de la transcripción de Gpat2 de ratón y a partir de ésta, se construyeron fragmentos de 3.3 kb de la región distal y de 3.4 kb y 1.3 kb de la región proximal al sitio de inicio de la transcripción. Estos se insertaron en el vector reportero de luciferasa pGL3 Basic Vector para luego transfectar transitoriamente distintas líneas celulares con el objetivo de evaluar el efecto de diversas hormonas en su actividad promotora.

Para los experimentos de epigenética, analizamos el efecto del agregado de un inhibidor de la metilación a tres líneas celulares humanas y dos líneas de ratón que no expresan este gen. Los cambios en la expresión del mismo fueron medidos por PCR en tiempo real.

Resultados

De las construcciones del promotor de Gpat2 murino ensayadas sólo la de 3.4 kpb proximal presentó actividad transcripcional en condiciones basales. Al evaluar el efecto de diversas hormonas (testosterona, dihidrotestosterona, estradiol, FSH, corticosterona, ácido retinoico) sobre la actividad transcripcional de dicha construcción del promotor de Gpat2 de ratón, sólo detectamos aumentos significativos en presencia de ácido retinoico en sus dos formas: 9-cis y todo trans, que correlaciona con la importancia de los retinoides para la función testicular.

Pudimos observar por PCR en tiempo real un aumento significativo en la expresión del mRNA de GPAT2 sólo en las líneas celulares humanas que normalmente no expresan este gen (MCF7, HEK293, HeLa) tratadas con el inhibidor de la metilación 5'aza-desoxicidina (DAC). Sin embargo, una línea celular humana que expresa GPAT2 normalmente (MDA-MB-231), así como las líneas celulares de ratón que normalmente no expresan Gpat2 (RAW 264.7 y TM4) no incrementaron la expresión de su mRNA en presencia de DAC.

Conclusión

El ácido retonoico es un regulador positivo de la expresión de Gpat2 de ratón, aunque no descartamos que el resto de las hormonas evaluadas puedan ejercer algún efecto regulador en

2012 Noviembre, 3(2): 1-2

las células donde GPAT2 ejerce su rol fisiológico mediado por las células de Sertoli. Experimentos con ratones *in vivo* y con las hormonas mencionadas nos permitirán profundizar el estudio de la regulación de la expresión de esta enzima en testículo.

El estado de metilación del promotor de GPAT2 es un mecanismo epigenético que regula la expresión de esta enzima en líneas celulares humanas, que está ausente en las líneas de ratón estudiadas. Nuestros resultados sugieren que para que el mRNA de GPAT2 se exprese el promotor debe estar hipometilado. Esta regulación podría explicar el singular patrón de expresión “a todo o nada” registrado *in silico* en varios tejidos de linaje humano.