

Titulo del Trabajo:

Identificación de modificaciones postraduccionales en la histona H3 en un modelo celular glial de ataxia espinocerebelosa tipo 7

Titulo del Trabajo en Inglés:

Identification of post-translational modifications in histone H3 in a glial cell model of spinocerebellar ataxia type 7

Nombre: JAIME ILICH

Apellidos: HERNANDEZ MENDEZ

ORCID:

País de Residencia: MEXICO

Área de Investigación: BÁSICA

Institución a la que Pertenece: UAM CUAJIMALPA

Área de Adscripción: ESTUDIANTE

Correo Electrónico: heroscar@gmail.com

Datos de los(as) coautores(as) del Trabajo

Rocío Suárez Sánchez, Oscar Hernández Hernández

Medicina Genómica, Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra, MEXICO, suarezmrocio@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5269-7124>

Medicina Genómica, Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra, MEXICO, oherandez@inr.gob.mx, <https://orcid.org/0000-0001-6388-2459>

Palabras en Español:

SCA7, Glia de Müller, Epigenética, Modificaciones postraduccionales, Histona H3

Palabras en Inglés:

SCA7, Müller Glia, Epigenetics, Post-translational Modifications, Histone H3

Título del Trabajo:

Identificación de modificaciones postraduccionales en la histona H3 en un modelo celular glial de ataxia espinocerebelosa tipo 7

Título del Trabajo en Inglés:

Identification of post-translational modifications in histone H3 in a glial cell model of spinocerebellar ataxia type 7

Área de Investigación:

ESTUDIANTE

Introducción:

La ataxia espinocerebelosa tipo 7 (SCA7) es una enfermedad hereditaria caracterizada por ataxia cerebelosa y ceguera progresivas. SCA7 es causada por la expansión del trinucleótido CAG en el gen ATXN7 lo cual genera un tracto de poliglutaminas (polyQ) en la proteína ataxina-7. La ataxina-7 forma parte del complejo SAGA, un coactivador transcripcional remodelador de cromatina. La ataxina-7 mutante secuestra miembros del complejo SAGA y promueve la pérdida de la regulación epigenética, apoptosis, expresión de marcadores inflamatorios y neurodegeneración, pero poco se sabe acerca de los cambios epigenéticos en la glia Müller, un componente fundamental para la función y homeostasis de la retina.

Objetivo:

Estudiar las modificaciones postraduccionales (PTMs) de la histona H3 en un modelo celular glial de ataxia espinocerebelosa tipo 7.

Metodología:

Se utilizó el modelo celular de SCA7 inducible por doxiciplina MIO-M1-64Q (mutante) y MIO-M1-10Q (control) basado en glia de Müller humana. Se confirmó la expresión de ataxina 7 mediante ensayos de RT-PCR, inmunofluorescencia y western blot. Posteriormente, se analizaron los niveles totales de la histona H3, así como de 21 PTMs en extractos enriquecidos de histonas de células MIO-M1-64Q y MIO-M1-10Q. Para ello, se usó un kit de ELISA multiplex (ab185810) que incluye metilaciones, acetilaciones y fosforilaciones en H3. Finalmente, mediante ensayos de inmunoprecipitación de la cromatina (ChIP), se evaluó el enriquecimiento de la marca H3K9me3 en los promotores de genes inflamatorios como IL-1B e IL-6. Como control, se analizó el enriquecimiento de H3K9me3 en los promotores de los genes MyoD y GAPDH. Todos los ensayos se realizaron por triplicado, los datos se analizaron por el método de fold enrichment, y la significancia estadística fue determinada usando un análisis de t-student.

Resultados:

Los resultados de RT-PCR, inmunofluorescencia y western blot confirmaron la expresión de ataxina-7 mutante en la clona MIO-M1-64Q, así como la formación de los agregados de proteína típicos de SCA7. Los ensayos de ELISA demostraron que los niveles totales de histona H3 son iguales entre las células mutante y control. Interesantemente, identificamos 8 marcas epigenéticas alteradas, incluyendo 5 metilaciones, 2 acetilaciones y 1 fosforilación en la histona H3 en las células MIO-M1-64Q. De estas

PTMs, seleccionamos la marca de represión H3K9me3 para realizar ensayos de CHIP. En estos ensayos encontramos un enriquecimiento diferencial de H3K9me3 en los promotores de los genes IL-1B e IL-6 entre las clonas MIO-M1-10Q y MIO-M1-64Q. Interesantemente, observamos una disminución estadísticamente significativa en la presencia de la marca H3K9me3 en ambos genes en las células MIO-M1-64Q con respecto a la clona MIO-M1-10Q.

Conclusiones:

La ataxina-7 mutante altera los niveles de PTMs de la histona H3. La marca represiva H3K9me3 está menos enriquecida en los promotores de los genes IL-1B e IL6 en las células MIO-M1-64Q. Estos hallazgos sugieren que en la glia de Müller existen mecanismos epigenéticos que contribuyen a la neurodegeneración y toxicidad descrita en SCA7.