

## ESTUDIO SOBRE EL PROMOTOR DEL GEN DE LA $\beta$ -CASEÍNA OVINA

**M.M. Marqués**

**C. Caelles\***

**A. Muñoz\***

**F. San Primitivo**

Dpto. Producción Animal I

Universidad de León

\*Instituto de Investigaciones Biomédicas

La regulación de la expresión de un gen puede tener lugar a múltiples niveles, modificando la tasa de transcripción, controlando el procesamiento o el transporte de los mRNAs así como su estabilidad o la de las proteínas que codifican, o produciendo modificaciones post-traduccionales. Sin duda, la regulación más importante, afecta a la velocidad del proceso de transcripción, consecuencia de una serie de complejas interacciones entre la región promotora del gen y los factores de transcripción que se unen a ella.

Los genes de las caseínas constituyen un ejemplo de grupo de genes cuya expresión se encuentra modulada a nivel transcripcional. Con objeto de iniciar la caracterización del promotor del gen de la  $\beta$ -caseína ovina, se aisló DNA a partir de semen de un semental mejorante de raza Churra. Mediante combinación de amplificaciones por PCR y digestiones con enzimas de restricción, se obtuvieron cuatro fragmentos de DNA que cubren 3.500 nucleótidos de la región promotora. Dichos fragmentos fueron clonados en el vector de expresión pBLCAT3, confirmando los clones positivos mediante mapas de restricción y secuenciación. Se empleó la línea celular HC11 de epitelio de mama de ratón, utilizando como medio de cultivo RPMI 1640, suplementado con

suero fetal bovino, insulina bovina, gentamicina y glutamina. Las células HC11 fueron trasfectadas con dos de las construcciones promotor-CAT (de 2,5 y 3,5 kb respectivamente), y con el plásmido pBABEpuro, mediante la técnica de formación de precipitados con fosfato cálcico. Tras la selección con puomicina, se obtuvieron células establemente trasfectadas. En ellas se analizó la inducción hormonal (prolactina, dexametasona, insulina) del promotor mediante ensayos de transactivación estudiando la expresión del gen CAT.

Los resultados obtenidos indican que los dos fragmentos probados del promotor son capaces de iniciar la transcripción del gen del CAT en respuesta al tratamiento con hormonas lactogénicas, y que, en consecuencia, son funcionalmente activos. Este es el primer paso de una serie de ensayos dirigidos a caracterizar el promotor del gen de la  $\beta$ -caseína ovina, identificando la región mínima funcionalmente activa, así como los sitios de unión de los principales factores reguladores. Posteriormente, podrá abordarse la búsqueda de mutaciones puntuales responsables de variaciones en los niveles de expresión, así como otros aspectos de la regulación de este importante gen.

Este estudio ha sido financiado por la C.I.C.y T. (Proyecto AGF93-0273).