

## 09 Relación de la transición A→G en la posición -21 del intrón 10 del gen NCF-2 con la expresión de la proteína p67-phox

Idalid Ruiz<sup>1</sup>, Pablo Patiño<sup>2</sup>

### PALABRAS CLAVE

NADPH OXIDASA  
P67-PHOX  
FAGOCITOSIS  
ENFERMEDAD GRANULOMATOSA

### INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

El sistema NADPH oxidasa de las células fagocíticas es esencial para la producción de metabolitos reactivos de oxígeno que tienen acción microbicida importante. La proteína p67-phox, codificada por el gen NCF-2, tiene un papel importante en este sistema (1). Previamente nuestro grupo reportó algunos cambios nucleotídicos en regiones no codificadoras del gen NCF-2. Uno de estos corresponde a la transición de una adenina (A) por una guanina (G) en el intrón 10, 21 nucleótidos antes del inicio del exón 11, sitio importante para la eliminación de este intrón y unión de los exones 10 y 11 durante el procesamiento del ARNm.

En este proyecto se pretende determinar si existe alguna modificación en la expresión de p67-phox inducida por la transición A→G en la posición -21 del intrón 10 en el gen NCF-2.

### METODOLOGÍA

Para el estudio se tomarán 3 grupos de individuos. Uno que tiene en ambos alelos adenina (A/A) en la posición -21, otro homocigótico para guanina (G/G) y uno heterocigótico (A/G). A partir de sangre periférica se separarán células mononucleares de las cuales se obtendrán las proteínas totales que se cuantificarán por BCA. Luego se realizará una electroforesis en poliacrilamida con 30 µg, 20 µg, 10 µg de proteína se hará transferencia a una membrana de PVDF. Se proce-

derá a la inmunodetección (Western Blot) con un anticuerpo específico para la p67-phox; la interacción antígeno anticuerpo se revelará por medio de un segundo anticuerpo marcado con peroxidasa y la reacción se evidenciará por medio de quimioluminiscencia con la cual se obtendrá un patrón de bandas.

### RESULTADOS ESPERADOS Y DISCUSIÓN

En cada uno de los extremos de un intrón existe una secuencia consenso denominada sitios aceptores y donantes para el corte y empalme de exones. Además, existe una región altamente conservada, entre la posición -18 y -35 de los intrones, necesaria para la formación de un lazo, la cual posee al menos una adenina; cualquier mutación en esta secuencia afecta el proceso de maduración normal del transcrito de RNA (1,2). En algunos individuos con el cambio nucleotídico en mención se observaron 2 especies de RNA mensajero, uno que incluía el exón 11 y otro con pérdida de él. Se propone que esta Adenina en la posición -21 es importante para el procesamiento del RNA al interactuar con el extremo 5' del intrón 10 que queda libre después de que éste es cortado del exón precedente (1,3). Así pues se espera que los individuos que son A/A expresen mayor cantidad de proteína que los A/G y G/G y que estos últimos sean los que expresen menor cantidad lo cual se determinará por una menor intensidad de la banda correspondiente de la p67-phox.

### BIBLIOGRAFÍA

1. PATIÑO PJ, RAE J, ERICKSON R, DING J, GARCIA DE OLARTE D, CURNUTTE JT. Molecular characterization of autosomal recessive chronic granulomatous disease caused by a defect of the Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate (Reduced Form) Oxidase component p67-phox, *Blood* 1999; 94: 2.505-2.514.
2. LEWIN B. The apparatus for nuclear splicing. En: *Genes V*. New York: Oxford University; 1994: 911-940.
3. TANUGI-CHOLLEY LC, ISSARTEL JP, LUNARDI J, FREYCON F, VIGNAIS PV. A mutation located at 5' splice junction sequence of intrón 3 in the p67-phox mRNA in a patient with chronic granulomatous disease. *Blood* 1995; 85: 242-249.

.....  
Grupo de Inmunodeficiencias Primarias, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia.

<sup>1</sup> Estudiante de Biología, Universidad de Antioquia.

<sup>2</sup> Profesor, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia.  
idalid18@eudoraimail.com