

Accepted Manuscript / Manuscrito aceptado

Regulación transcripcional de la expresión de la NAD quinasa de *Giardia duodenalis*: una aproximación *in silico*

Doi: <https://doi.org/10.15446/abc.v29n3.96554>

To appear in / Para aparecer en: Acta Biológica Colombiana

Received Date / Fecha de recibido: 21st July 2021 / 21 de julio de 2021

Revised Date / Fecha de revisado: 07th March 2024 / 07 de marzo de 2024

Accepted Date / Fecha de aceptado: 19th July 2023 / 19 de julio de 2024

Please cite this article as / Cite así: Ostos-Peña D. M., Hernández-Ramírez M. H. . (2024).

Regulación transcripcional de la expresión de la NAD quinasa de *Giardia duodenalis*: una aproximación *in silico*. *Acta Biol Colomb.*, 29(3), XX-XX. <https://doi.org/10.15446/abc.v29n3.96554>

This is a PDF file of an unedited manuscript accepted for publication. As a service to our readers, we are providing this early version of the manuscript. The manuscript will undergo copyediting, typesetting, and review of the resulting proof before it is published in its final form. Please note that during the production process errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

Este es un archivo PDF de un manuscrito sin editar que ha sido aceptado para su publicación. Como servicio a nuestros lectores, ponemos a su disposición esta versión preliminar del manuscrito. Este manuscrito se someterá a corrección de estilo, composición tipográfica y revisión de la prueba resultante antes de ser publicado en su forma definitiva. Tenga en cuenta que durante el proceso de producción pueden descubrirse errores que podrían afectar al contenido, y que se aplican todas las exenciones de responsabilidad legales que se aplican a la revista.

Acta Biol Colomb (2024); **29(3)**: pag–pag

Doi: <https://doi.org/10.15446/abc.v29n3.96554>

Available online at: <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol>



Copyright © 2024 Author(s) retain the copyright of this article. This article is published under the terms of the [Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/) international (CC BY-NC-SA 4.0)

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN / RESEARCH ARTICLE

REGULACIÓN TRANSCRIPCIONAL DE LA EXPRESIÓN DE LA NAD

QUINASA DE *Giardia duodenalis*: UNA APROXIMACIÓN *in silico*

Transcriptional Regulation of *Giardia duodenalis* NAD Kinase Expression: an *In Silico* Approach

Título corto: Regulación transcripcional de *glnadk*: una aproximación *in silico*

Derly Melissa OSTOS-PEÑA^{1*}, María Helena RAMÍREZ-HERNÁNDEZ¹

¹: Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Dirección, Bogotá, Colombia,
dmostosp@unal.edu.co, mhramirezh@unal.edu.co

^a ORCID: 0009-0009-5811-8435, 0000-0002-4174-727X

* *For correspondence:* dmostosp@unal.edu.co

Recibido: 21 de julio de 2021. **Revisado:** 07 de marzo de 2024. **Aceptado:** 19 de julio de 2024

Editor asociado: Rosa Angélica Plata Rueda

Citation/ citar este artículo como: Ostos-Peña D. M., Hernández-Ramírez M. H. . (2024). Regulación transcripcional de la expresión de la nad quinasa de *Giardia duodenalis*: una aproximación *in silico*. *Acta Biol Colomb.*, 29(3), XX-XX. <https://doi.org/10.15446/abc.v29n3.96554>

RESUMEN

Giardia duodenalis es un protozooario parásito de gran importancia en salud pública, ya que causa la enfermedad gastrointestinal más prevalente del mundo, la giardiasis. El tratamiento farmacológico para esta parasitosis consiste en la administración de nitroimidazoles y benzimidazoles, sin embargo, se han detectado resistencia al tratamiento y múltiples efectos secundarios. Por tal razón, en estudios anteriores se postuló a la NAD quinasa de *G. duodenalis* (*glnadk*), como posible blanco farmacológico. En este trabajo, se realizó una aproximación bioinformática de los mecanismos de regulación transcripcional de este gen. Para la regulación en *cis*, se partió de la búsqueda de elementos conservados en otros genes del parásito y, mediante el uso de los servidores MEME y Tomtom, se buscaron nuevos motivos y sitios de unión a factores de transcripción. Para la identificación de elementos reguladores *trans* con sitio de unión al promotor de *glnadk*, se empleó el servidor PROMO y, para la identificación de genes candidato a factor de transcripción en el genoma de *G. duodenalis*, alineamientos múltiples de secuencia. Se identificaron elementos reguladores en *cis* conservados, y nuevos motivos de unión a proteínas reguladoras en el promotor de *glnadk*. Adicionalmente, se identificaron posibles factores de transcripción que podrían participar en la regulación de *glnadk*, y se postularon genes candidato que codificarían para estos elementos reguladores.

Palabras clave: expresión génica, metabolismo energético, reguladores transcripcionales.

ABSTRACT

Giardia duodenalis is a protozoan parasite of great public health importance, since it causes the most prevalent gastrointestinal disease in the world, giardiasis. Pharmacological treatment for this parasitosis consists of the administration of nitroimidazoles and benzimidazoles, however, resistance to treatment and multiple side effects have been detected. For this reason, in previous studies, *G. duodenalis* NAD kinase (*glnadk*) was postulated as a possible drug target. In this work, a bioinformatic approach to the transcriptional regulation mechanisms of this gene was carried out. For the *cis* regulation, we started from the search for conserved elements in other genes of the parasite and, through the use of the MEME and Tomtom servers, new motifs and binding sites for transcription factors were explored. For the scanning of *trans* regulatory elements with binding site to the *glnadk* promoter, the PROMO server was used, and, for the identification of candidate genes for a transcription factor in the *G. duodenalis* genome, multiple sequence alignments. Conserved *cis* regulatory elements and new regulatory protein binding motifs in the *glnadk* promoter were identified. Additionally, possible transcription factors that could participate in the regulation of *glnadk* were identified, and candidate genes that would code for these regulatory elements were postulated.

Keywords: energy metabolism, gene expression, transcriptional regulatory elements.

INTRODUCCIÓN

Giardia Künstler, 1882, es un protozooario parásito, flagelado con distribución global, que infecta el intestino delgado de humanos y mamíferos, y es causante de la giardiasis, una de las enfermedades gastrointestinales más prevalentes a nivel mundial. Esta enfermedad se presenta principalmente en población expuesta a condiciones higiénico sanitarias desfavorables, con mayor repercusión en niños menores de cinco años, donde se asocia con desnutrición, retraso cognitivo y mortalidad (Ortega-Pierres et al., 2018; Gutiérrez and Bartelt, 2024); también, se relaciona con complicaciones crónicas como enfermedades oculares, artritis, y síndrome de intestino irritable (Fink and Singer, 2017; Mahdavi et al., 2022).

La primera línea de tratamiento para esta parasitosis consiste en la administración de nitroimidazoles (metronidazol) y benzimidazoles (albendazol), sin embargo, se ha documentado resistencia a estos tratamientos e incremento en enfermedad refractaria (Ansell et al., 2015; Mørch and Hanevik, 2020). Por lo tanto, en la búsqueda de alternativas para el tratamiento de esta enfermedad, se muestra promisorio el estudio de la regulación de las vías metabólicas y las enzimas involucradas en el metabolismo energético del parásito. De esta manera, se hace interesante ahondar en el metabolismo del dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD) y su forma fosforilada (NADP), ya que son moléculas fundamentales y necesarias para la homeostasis celular. El NAD está presente en su mayoría en estado oxidado y participa en reacciones catabólicas, mientras que el NADP predomina en su forma reducida (NADPH), actuando como cofactores enzimáticos. La principal función del NADP parece ser el mantenimiento de equivalentes reductores, mientras que el NADPH es esencial para

proteger las células, regenerando los sistemas de defensa ante el estrés oxidativo como el glutatión, tioredoxina y peroxiredoxinas; sin embargo, los metabolitos de la vía del NAD están implicados en otras funciones como modificaciones postraduccionales, cambios epigenéticos y regulación de la estabilidad del ARN (Chini et al., 2021). A modo de sustrato, el NAD es empleado por las enzimas CD38, PARPs y sirtuinas, participando en diferentes procesos celulares como la reparación de ADN, la regulación de la expresión génica y la señalización celular (Iqbal and Nakagawa, 2024).

Los niveles de las formas fosforiladas de esta molécula son regulados por una única enzima, la NAD quinasa (NADK), que cataliza la reacción de fosforilación, sintetizando NADP/NADPH a partir de NAD/NADH (Oka et al., 2023). Por esta razón, la NADK se constituye como un factor clave para la supervivencia celular, y la regulación de su expresión se torna imprescindible en la biología de los organismos. A pesar de su relevancia, el estudio de las NADK ha sido limitado en los organismos protozoarios, en comparación con sus ortólogos en organismos superiores.

En concordancia con lo anterior, y teniendo en cuenta su importancia, nuestro grupo de investigación ha sido pionero en el estudio de proteínas involucradas en el metabolismo del NAD en organismos protozoarios; concretamente, se identificó la NADK de *G. duodenalis* (*glnadk*), una enzima citoplasmática de 61,3 kDa., sin embargo, la regulación de la expresión de esta proteína se mantiene como una incógnita (Jutinico Shubach et al., 2019). Algunos estudios realizados en eucariotas superiores han revelado diferentes mecanismos de

regulación de la expresión de la NADK, a continuación, se mencionan algunos ejemplos: 1) a nivel transcripcional, en algunas plantas (*Arabidopsis thaliana*, Heynh. y *Oryza sativa* L.) la *nadk* se regula por la presencia de elementos *cis* en respuesta a estrés térmico, hídrico, oxidativo y biótico (Li et al., 2014; Wang et al., 2020). 2) A nivel postranscripcional en ratón (*Mus musculus*, Linnaeus, 1758) la *nadk* se regula por *splicing* alternativo (Goldstein et al., 2016) y, 3) a nivel postraduccional se han evidenciado dos mecanismos principales de regulación, fosforilación por quinasas dependientes de calmodulina (CaMK) o la interacción con Ca²⁺/calmodulina (Oka et al., 2023), por lo cual, se podría evaluar si *glnadk* presenta algún tipo de regulación semejante.

Por otro lado, *G. duodenalis* se considera un modelo para el entendimiento de la evolución de los procesos biológicos en eucariotas superiores, debido a su metabolismo basal y divergencia temprana en este linaje (Adam, 2021). A pesar de esto, los mecanismos de regulación de la expresión génica aún presentan muchos vacíos.

A nivel genético, *G. duodenalis* se caracteriza por tener un genoma compacto, pocos intrones, regiones intergénicas cortas (menores de 25 nucleótidos) y regiones no codificantes (UTR) 5' y 3' de corta longitud (Adam, 2021). Hasta el momento, pocos factores de transcripción se han identificado experimentalmente, y estos se encuentran asociados en su mayoría al proceso de enquistación del parásito. Asimismo, se han identificado ARN de interferencia y micro ARN relacionados con procesos de variación antigénica (Adam, 2021).

Debido a la ausencia de información acerca de la regulación de la expresión de *glnadk*, en este trabajo se realizó una aproximación, mediante el uso de herramientas bioinformáticas, al estudio de su regulación a nivel transcripcional, teniendo como referencia los mecanismos descritos en otros organismos eucariotas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Identificación de elementos *cis* en el promotor de *glnadk*:

Para la búsqueda de elementos *cis* se tomó como región promotora 100 pb corriente arriba del gen *glnadk* (GI50803_17316), mediante la herramienta *Sequence view* de NCBI. La secuencia se comparó con promotores previamente identificados en *G. duodenalis*, alfa 2 tubulina (AF331826), glutamato deshidrogenasa (JF918450.1), proteínas de la pared del quiste uno y dos (U09330 y U28965.2), histona cuatro (AF139876.1) y proteína de unión a inmunoglobulina BiP (GL50803_17121). Adicionalmente, se predijo mediante el programa PlantCare (*cis-acting regulatory element*), potenciales elementos regulatorios y su función.

Identificación de elementos *cis* en secuencias promotoras de NAD quinasas:

Se realizó la búsqueda de elementos *cis* en 500 pb y 100 pb corriente arriba del sitio de inicio de la traducción de NAD quinasas de organismos **eucariotas**; en los reinos **plantae** (Atnadk2 NM_001198128.1, Atnadk1 NM_202618.3, Atnadk3 NM_106506.3, Osnadk1 XM_015765511.1 y Osnadk2 XM_015761493.2); **fungi** (Bdnadk XP_006680432.1, Pgnadk XM_003319365.2, Scnadk (YEF1) NP_010873.1, Scnadhk (POS5) NP_015136.1 y Spunadk XM_016752809.1); **animalia** (Hsnadk1 XP_006710902.1, Mmnadk1 NP_619612.2, Mmnadk2 NM_001085410.2, Cenadk1 NM_067683.4 y Cenadk2

NM_064164.7), y **protozoa** (Ehnadk XP_657388.1, Lbnadk XP_001561981.2, Pfnadk XP_001352005.1, Tcnadk XM_808961.1, *glnadk* XP_001710188.1).

Adicionalmente, se realizó la búsqueda en el dominio **archaea** (Fpnadk FERP_0897, Msnadk WP_083804764, Mjnadk WP_064496665.1, Ganadk WP_048095669.1 y Mvnadk WP_048120851) y **bacteria** (Mtnadk NP_216211.1, Ypnadk WP_002210719.1, Pbnadk WP_031376292.1, Vhnadk WP_005447653.1 y Kanadk WP_015370252.1). Para la búsqueda anterior, se utilizó el algoritmo MotifSampler del servidor MEME (Multiple Em for Motif Elicitation) (Bailey et al., 2015) teniendo en cuenta los siguientes parámetros, ancho mínimo: cuatro, sitios mínimos: tres y cadena: positiva.

Identificación de elementos en *trans* para la regulación del gen *glnadk*:

Se utilizó la región promotora de *glnadk* para la consulta de sitios de unión de factores de transcripción a través del programa PROMO v3.0 (TRANSFAC v. 8.3), y se tuvieron en cuenta los factores que presentaron puntaje de disimilitud de 0,000. Asimismo, los motivos para el promotor de *glnadk* descubiertos por el servidor MEME, se utilizaron en el servidor TomTom para la búsqueda de elementos regulatorios *cis* y *trans* en las bases de datos JOLMA 2013, Uniprobe y JASPAR 2018 (Bailey et al., 2015).

Búsqueda de factores de transcripción putativos en el genoma de *Giardia duodenalis*:

Se buscó cada factor de transcripción con probable sitio de unión en *glnadk*, predicho por el programa PROMO, en el genoma de *G. duodenalis*. En primer lugar, se realizó un alineamiento múltiple de secuencia entre los factores de transcripción de interés identificados en otros organismos y disponibles en la base de datos UNIPROTKB (Uniprot Consortium,

2021), utilizando el algoritmo de alineamiento progresivo del programa *CLC Sequence Viewer* v. 8.0 (QIAGEN, Aarhus, Denmark). Posteriormente, se utilizó la secuencia consenso para la consulta en el genoma de *Giardia duodenalis* (taxid:5741), utilizando el servidor Blastp Suite de NCBI y el servidor GiardiaDB, y se tuvieron en cuenta las secuencias que presentaran un *Expected value* < 1,0.

Para el refinamiento de la exploración, se buscaron genes putativos a los factores de transcripción de interés en las agrupaciones animalia, plantae, fungi y protista del dominio eucariota y se generaron nuevas secuencias consenso para la búsqueda en el genoma de *G. duodenalis*. Para todos los genes candidatos, se realizó análisis de motivos o dominios estructurales con los servidores ScanProsite (Sigrist et al., 2012) y Conserved Domains de NCBI (Wang et al., 2023).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

REGULACIÓN TRANSCRIPCIONAL

El promotor de *glnadk* presenta elementos *cis* propios de *G. duodenalis*

La exploración de la regulación transcripcional partió de la búsqueda de regiones promotoras y elementos *cis*. Para iniciar, se definió como posible secuencia promotora 100 pb corriente arriba del codón de inicio de la traducción de *glnadk*, ya que se ha encontrado que una región menor a 60 pb es suficiente para expresar la mayoría de genes en este organismo (Adam, 2021; Kim et al., 2022). Un ejemplo de ello, es el promotor de la alfa dos tubulina, el cual que presenta actividad transcripcional incluso con sólo 25 pb corriente arriba (Elmendorf et al., 2001).

Al comparar la región promotora definida para *glnadk* con promotores previamente caracterizados, como los de los genes de glutamato deshidrogenasa (*gdh*) (Yee and Nash, 2006), alfa-dos-tubulina (*α 2-Tubulin*) (Elmendorf et al., 2001), proteína de la pared del quiste uno y dos (*cwp1* y *cwp2*), e histona cuatro (*h4*) (Yee et al., 2007); se encontraron elementos previamente descritos para estas secuencias (Fig. 1). Entre estos, se destacan una región rica en adeninas alrededor del sitio de inicio de la transcripción con secuencia consenso A(A/T)TTAAAAATG, que ha sido sugerida como elemento iniciador o *Inr* y una caja palindrómica CAAAT/ATTTG denominada g-CAB (*Giardia* CAT Box) la cual se ha identificado en diferentes regiones corriente arriba de varios genes como componente específico de los promotores de *G. duodenalis* (Parra-Marín et al., 2020).

La mayoría de los sitios de inicio de la transcripción en este parásito se sitúan dentro de la región rica en adeninas, la cual se encuentra próxima al codón de inicio de la traducción del gen (Parra-Marín et al., 2020). Este aspecto es crucial en la regulación de *G. duodenalis*, debido a que, además de presentar regiones promotoras cortas, presenta UTR 5' cortos, por lo que se ha sugerido una ausencia de escaneo de los ribosomas hacia AUG al iniciar la traducción (Plata-Guzmán et al., 2023). Sin embargo, se ha encontrado que un mRNA con *cap* de un solo nucleótido es aparentemente suficiente para reclutar ribosomas e iniciar la traducción (Li and Wang, 2004). De hecho, se ha determinado de manera experimental que el incremento de la longitud de los UTR 5' a 14 nucleótidos reduce severamente la traducción. Lo anterior, ha sugerido que los UTR 5' tienen un papel mínimo en el inicio de la traducción en *Giardia*. Esta característica se ha observado en algunas secuencias de otros

organismos parasitarios como *Trichomonas vaginalis* Donn , 1836 y *Entamoeba histolytica*, Schaudinn, 1903, donde se presentan UTR 5' de longitud entre cinco a 20 pb corriente arriba del codón inicio (Gomez et al., 2010; Adedoja et al., 2020). Por otro lado, sólo ha sido identificada una única señal de poliadenilación que difiere de la caracterizada para organismos superiores como mamíferos (Bilodeau et al., 2022).

En comparación con eucariotas superiores que presentan una región iniciadora rica en C/T, los promotores de *G. duodenalis* se caracterizan por la prevalencia de adeninas (Haberle and Stark, 2018; Parra-Marín et al., 2020). Adicionalmente, g-CAB, que se considera la secuencia análoga a la caja TATA, se localiza en su mayoría hacia la posición -30 a -40, similar a la localización del elemento regulatorio “-35” de los promotores de procariotas (Haugen et al., 2008; Parra-Marín et al., 2020). La distancia entre la región rica en adeninas y el elemento g-CAB puede diferir entre genes. Esto se observa en el promotor de *glnadk* y *h4*, en la que estos dos elementos se encuentran muy cercanos, por lo que sería de gran interés evaluar la distancia entre estos dos elementos en los mecanismos de regulación transcripcional de *G. duodenalis* (Fig. 2).

Otra diferencia entre los promotores de eucariotas superiores y *G. duodenalis*, es la presencia de los nucleótidos G y C en el elemento g-CAB, los cuales no se observan en la caja TATA de eucariotas superiores (Fig. 2). Este punto es crucial, ya que los elementos de las regiones promotoras de *G. duodenalis* son únicos y podrían ser un punto de divergencia entre los elementos de regulación de organismos procariotas y eucariotas.

Por otro parte, se realizó la búsqueda de elementos de respuesta a estrés en el promotor de *glnadk*, debido a que se ha identificado esta condición asociada a la NAD quinasa en plantas (Li et al., 2018). Estos elementos, denominados en *G. duodenalis* como *Giardia stress response element* (GSRE), son análogos a los elementos *unfolded protein response* (UPR) de eucariotas superiores, tienen la secuencia consenso TnACGTnA, son palindrómicos y pueden formar una estructura de horquilla que influencia el acceso de los factores de transcripción (Spycher et al., 2013; Ortega-Pierres et al., 2018). En el promotor de *glnadk*, en la posición -55, se encontró la secuencia palindrómica de este elemento (AnACGTnT) (Fig. 1). Su ubicación coincide con los elementos ya estudiados en otros genes, que en su mayoría se encuentran dentro de las 60 pb corriente arriba del codón de inicio del gen. Este es el caso del gen *BiP*, que codifica para una chaperona Hsp 70 y que se sobreexpresa en respuesta a estrés reductivo (DTT). En este gen, el elemento GSRE se sitúa en la posición -42 (Fig. 1) (Spycher et al., 2013). Cabe anotar que existe poca evidencia de la regulación transcripcional en condiciones de estrés en *G. duodenalis* y sólo ha sido determinada esta secuencia como elemento de respuesta a estrés (Ansell et al., 2016).

Con el fin de identificar otros posibles elementos regulatorios en *cis* se utilizó el programa PlantCare de acceso libre (Lescot, 2002). Mediante este servidor se halló nuevamente la caja CAAAT (g-CAB) y se predijeron nuevos elementos, entre los que se destacan las repeticiones ricas en TC que se asocian a respuesta a estrés en plantas (Tabla 1), lo cual puede relacionarse con las características de eucariota basal de este organismo.

Las NAD quinasas en los tres dominios de la vida no presentan elementos de regulación *cis* comunes:

Una vez analizado el promotor de *glnadk*, se evaluó si existía algún elemento conservado entre los promotores de NADK de diferentes organismos. Esto debido a que existe muy poca información de la regulación transcripcional de este gen, a excepción de las NAD quinasas de plantas, donde se han podido determinar elementos *cis* y su función, principalmente relacionada a respuesta a estrés (Li et al., 2018; Wang et al., 2020).

Para lo anterior, se tomaron 100 y 500 pb corriente arriba del sitio de inicio de la traducción de NAD quinasas de organismos de los tres dominios bacteria, archaea y eucariota. Estas regiones promotoras se analizaron mediante el servidor MEME, el cual busca motivos conservados entre las secuencias de interés. Al realizar esta búsqueda, se encontraron algunos motivos compartidos por el promotor *glnadk*, dos en la región -500 pb y cuatro en la región -100 pb (Tabla 2). De estos elementos, se destacan el motivo GGHBRRAGG que se presenta en las *nadk* de todos dominios evaluados, principalmente en arqueas, bacterias y plantas y; la región rica en adeninas, que en *Giardia* podría corresponder al sitio de inicio de la transcripción. Se resalta que algunos motivos predichos por el servidor MEME se presentan en sólo un dominio, como es el caso del segundo motivo localizado entre la región -100 pb (TATGGGGAT), el cual es altamente conservado entre las NAD quinasas de bacterias y, el sexto motivo (GTGGTTGCG) en archaeas (Tabla 2a).

En lo que respecta a la región -500 pb, se predicen dos motivos (RRGGGAGGAG y GYRCGRGCMC) que se encuentran en eucariotas y archaeas pero no en bacterias (Tabla

2b). Es necesario aclarar que ninguno de los motivos predichos es conservado para todos los promotores de *nadk* evaluados, ni presentan una localización conservada, lo que podría dar cuenta de las diferencias en los mecanismos de regulación transcripcional de este gen en todos los organismos.

Cuatro factores de transcripción podrían regular la expresión de *glnadk*:

A partir de la región promotora propuesta, se predijeron mediante la herramienta PROMO v.3.0, 15 factores de transcripción (FT) con sitio de unión para el gen *glnadk* (Tabla suplementaria 1). La mayoría de los sitios de reconocimiento se encuentran entre las posiciones -30 a -50, lo cual es común en los sitios de unión a factores de transcripción de *G. duodenalis* y, algunos pocos hacia la posición -80 (Fig. 3a). Por otro lado, sus funciones están involucradas en procesos de diferenciación, proliferación y desarrollo celular, y respuesta a estrés (Fig. 3b).

Los factores de transcripción predichos presentan dominios de unión de dedos de zinc, como es el caso de Zic2 (Barratt and Arkell, 2018); cremallera de leucina en CEBP α (Jin et al., 2010) y, hélice vuelta hélice en Msx-1 (Genetics Home Reference, 2019), STAT5A (Owen and Farrar, 2017), entre otros, siendo esta última estructura la más abundante para los factores con sitio de unión en *glnadk* (>50 %) (Fig. 3C). Igualmente, esta estructura predomina en los factores de transcripción identificados para *G. duodenalis*, gARID, Pax, GLP1, SREBP, Myb2, E2F1 y MBF (Wang et al., 2007; Huang et al., 2008; Wang et al., 2010; Su et al., 2011; Huang et al., 2021). Esta característica es relevante, ya que se ha encontrado proteínas

con este plegamiento que interactúan con DNA, RNA y otras proteínas en todos los dominios de la vida (Aravind et al., 2005).

Entre los FT predichos, cuatro toman gran interés. El primero, **C/EPB α** , regula la expresión del gen de la sirtuina humana *sirt1*, una de las proteínas que participa en el metabolismo del NAD, sin embargo, este factor no ha sido identificado en *G. duodenalis* (Jin et al., 2010). El segundo y tercero, pertenecen a dos factores de transcripción de la familia **Pax** (Pax4a y Pax6) pero, no corresponden con los identificados en el parásito (Pax1 y Pax2) (Su et al., 2011; Chuang et al., 2012; Paixão-Côrtes et al., 2015). Finalmente, se destaca a **Myb2**, un factor de transcripción de dominio hélice vuelta hélice, identificado experimentalmente en *G. duodenalis* (Kim et al., 2022).

Myb2 está involucrado en el proceso de enquistación del parásito dado que modula la expresión de la proteína de la pared del quiste uno (*cwp1*) (Kim et al., 2022). Adicionalmente, la secuencia consenso de reconocimiento de Myb2, C(T/A)AC(A/T)(G/C), ya evaluada para otros genes como *cwp1-3* y *g6pi-b*, corresponde a la predicha en *glnadk* (Einarsson and Svärd, 2015). Por otra parte, esta proteína reguladora se ha relacionado con la progresión del ciclo celular y modulación de la expresión del gen de la *nadk* en respuesta a estrés en *Triticum aestivum* L. (*Tanadk 1D*), *Oryza sativa* (*Osnadk* uno-cuatro) y *Arabidopsis thaliana* (*Atnadk3*) (Wang et al., 2016), por lo cual se considera promisorio para la regulación de la transcripción del mismo gen en *G. duodenalis*, (*glnadk*).

Con el fin de ampliar la búsqueda de los factores de transcripción con probable sitio de unión a *glnadk*, se utilizaron los elementos *cis* conservados entre esta y otras NAD quinazas, predichos por el servidor MEME, como entrada en el servidor TomTom, el cual permite

comparar estos motivos con otros ya estudiados e identificados en organismos eucariotas y reporta posibles factores de transcripción. Los resultados obtenidos se observan en la tabla (Tabla suplementaria 2). De los factores de transcripción predichos por este servidor se resaltan nuevamente a Pax y Cdx1 que también fueron igualmente predichos por el servidor PROMO.

Se obtuvieron secuencias candidato para factores de transcripción en el genoma de *G. duodenalis* que regularían a *glnadk*:

En *G. duodenalis* se han identificado pocos factores de transcripción, probablemente por las dificultades prácticas de su estudio a nivel experimental y el mantenimiento de cultivo celular y ciclos de vida (Jex et al., 2020). Asimismo, la divergencia y especialización de los factores de transcripción, secundaria a la pérdida o transferencia horizontal de genes, hace que sea una tarea difícil en protistas poco estudiados como *Giardia*. (Xu et al., 2020). Se considera que un reducido grupo de FT se ve compensado en otros niveles de regulación como modificaciones de la cromatina bien desarrolladas y sistemas de regulación postranscripcional (Jex et al., 2020).

Con el fin de evaluar la existencia de los factores de transcripción predichos para *glnadk* por el servidor PROMO en el genoma de *G. duodenalis*, se realizó una búsqueda en la base de datos Giardia DB y en artículos primarios. De los 14 FT predichos, sólo Myb2 había sido

identificado y anotado experimentalmente en *G. duodenalis*, Por esta razón, se realizaron análisis de secuencia múltiple para la identificación de los demás genes candidatos mediante la herramienta BLASTp.

En una primera aproximación, se utilizaron proteínas identificadas experimentalmente y disponibles en la base de datos Swiss-Prot de UNIPROT y posteriormente se realizó la búsqueda con la secuencia consenso en las bases de datos NCBI y GiardiaDB (Tabla suplementaria 3). Mediante esta búsqueda se obtuvieron las siguientes secuencias candidato, para HELIOS (GL50803_17003), C/EBP α (GL50803_94525), Pax6 (GL50803_32686) y para Myb2 (GL50803_8722, GL50803_5347, GL50803_5938). Debido a que las secuencias de entrada para esta búsqueda provenían en su mayoría de organismos filogenéticamente distantes a *G. duodenalis*, se realizó una segunda búsqueda para los anteriores factores de transcripción, utilizando como entrada secuencias de diferentes organismos de todos los dominios, incluyendo proteínas putativas de la base de datos TrEMBL. Por medio de esta búsqueda se obtuvieron nuevos candidatos para C/EBP α (GL50803_112112), Pax6 (GL50803_17386 y GL50803_137754) y Myb2 (GL50803_5248). Posterior a su identificación, se evaluaron los motivos estructurales, encontrando que sólo los candidatos para HELIOS, Pax6 y Myb2 presentaban los dominios de unión a ADN esperados (Tablas suplementarias 3 y 4).

Hasta el momento no hay evidencia experimental de regulación de NAD quinasa por los factores de transcripción HELIOS y Pax6, por lo que su análisis sería provechoso.

CONCLUSIONES

Existe muy poca información acerca de la regulación de las NAD quinasas a nivel transcripcional; además, los mecanismos de regulación a este nivel en *Giardia* no están muy bien esclarecidos. Por esto, la identificación de elementos conservados en el promotor del gen de *glnadk*, así como la predicción de nuevos motivos de unión y factores de transcripción obtenidos en este trabajo, aportan nuevas luces en el conocimiento de la biología del parásito y en la regulación de la expresión de esta proteína, constituyendo un punto de partida para la evaluación experimental de los sistemas de regulación basales de las NAD quinasas.

PARTICIPACIÓN DE AUTORES

DMOP y MHRH, concepción de la idea y formulación de la metodología; DMOP, búsqueda y análisis bioinformático; DMOP y MHRH, discusión de resultados, DMOP escritura del manuscrito y revisión de las observaciones al manuscrito. Supervisión MHRH. Todos los autores leyeron y aprobaron la versión final del manuscrito.

AGRADECIMIENTOS

A la beca jóvenes investigadores e innovadores de Colciencias a través de la convocatoria 812 de 2018.

CONFLICTO DE INTERESES

Las autoras declaran que no presentan ningún conflicto de interés.

REFERENCIAS

- Adam, R. D. (2021). *Giardia duodenalis*: Biology and Pathogenesis. *Clinical Microbiology Reviews*, 34(4). <https://doi.org/10.1128/CMR.00024-19>
- Adedija, A. N., McMahan, T., Neal, J. P., Hamal Dhakal, S., Jois, S., Romo, D., Hull, K. and Garlapati, S. (2020). Translation initiation factors GleIF4E2 and GleIF4A can

- interact directly with the components of the pre-initiation complex to facilitate translation initiation in *Giardia lamblia*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 236, 111258. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2020.111258>
- Ansell, B. R. E., McConville, M. J., Baker, L., Korhonen, P. K., Emery, S. J., Svärd, S. G., Gasser, R. B. and Jex, A. R. (2016). Divergent Transcriptional Responses to Physiological and Xenobiotic Stress in *Giardia duodenalis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(10), 6034–6045. <https://doi.org/10.1128/aac.00977-16>
- Ansell, B. R. E., McConville, M. J., Ma'ayeh, S. Y., Dagley, M. J., Gasser, R. B., Svärd, S. G. and Jex, A. R. (2015). Drug resistance in *Giardia duodenalis*. In *Biotechnology Advances*, 33(6). <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.04.009>
- Aravind, L., Anantharaman, V., Balaji, S., Babu, M., and Iyer, L. (2005). The many faces of the helix-turn-helix domain: Transcription regulation and beyond. *FEMS Microbiology Reviews*, 29(2), 231–262. <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2004.12.008>
- Bailey, T. L., Johnson, J., Grant, C. E. and Noble, W. S. (2015). The MEME Suite. *Nucleic Acids Research*, 43(1), 39–49. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv416>
- Barratt, K. S. and Arkell, R. M. (2018). ZIC2 in holoprosencephaly. In *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1046, 269–299. https://doi.org/10.1007/978-981-10-7311-3_14

- Bilodeau, D. Y., Sheridan, R. M., Balan, B., Jex, A. R. and Rissland, O. S. (2022). Precise gene models using long-read sequencing reveal a unique poly(A) signal in *Giardia lamblia*. *RNA*, 28(5), 668–682. <https://doi.org/10.1261/rna.078793.121>
- Chini, C. C. S., Zeidler, J. D., Kashyap, S., Warner, G. and Chini, E. N. (2021). Evolving concepts in NAD⁺ metabolism. *Cell Metabolism*, 33(6), 1076–1087. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.04.003>
- Chuang, S.-F., Su, L.-H., Cho, C.-C., Pan, Y.-J. and Sun, C.-H. (2012). Functional Redundancy of Two Pax-Like Proteins in Transcriptional Activation of Cyst Wall Protein Genes in *Giardia lamblia*. *PLoS ONE*, 7(2), e30614. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030614>
- Jutinico Shubach, L. M., Contreras Rodríguez, L. E., García Castañeda, J. E. and Ramírez Hernández, M. H. (2019). Functional identification and subcellular localization of NAD kinase in the protozoan parasite *Giardia intestinalis*. *Revista Colombiana de Química*, 48(1), 16–25. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v48n1.75273>
- Einarsson, E. and Svärd, S. G. (2015). Encystation of *Giardia intestinalis*—a Journey from the Duodenum to the Colon. *Current Tropical Medicine Reports*, 2(3), 101–109. <https://doi.org/10.1007/s40475-015-0048-9>
- Elmendorf, H. G., Singer, S. M., Pierce, J., Cowan, J., and Nash, T. E. (2001). Initiator and upstream elements in the α 2-tubulin promoter of *Giardia lamblia*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 113(1), 157–169. [https://doi.org/10.1016/S0166-6851\(01\)00211-0](https://doi.org/10.1016/S0166-6851(01)00211-0)

Fink, M. Y. and Singer, S. M. (2017). The Intersection of Immune Responses, Microbiota, and Pathogenesis in Giardiasis. *Trends in Parasitology*, 33(11), 901–913.

<https://doi.org/10.1016/j.pt.2017.08.001>

Goldstein, O., Meyer, K., Greenshpan, Y., Bujanover, N., Feigin, M., Ner-Gaon, H., Shay, T. and Gazit, R. (2016). Mapping Whole-Transcriptome Splicing in Mouse Hematopoietic Stem Cells. *Stem Cell Reports*, 8(1), 163–176.

<https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2016.12.002>

Gomez, C., Ramirez, M. E., Calixto-Galvez, M., Medel, O. and Rodríguez, M. A. (2010). Regulation of Gene Expression in Protozoa Parasites. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2010(1), 1–24. <https://doi.org/10.1155/2010/726045>

Gutiérrez, L. and Bartelt, L. (2024). Current Understanding of *Giardia lamblia* and Pathogenesis of Stunting and Cognitive Deficits in Children from Low- and Middle-Income Countries. *Current Tropical Medicine Reports*, 11(1), 28–39.

<https://doi.org/10.1007/s40475-024-00314-2>

Haberle, V. and Stark, A. (2018). Eukaryotic core promoters and the functional basis of transcription initiation. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 19(10), 621–637.

<https://doi.org/10.1038/s41580-018-0028-8>

- Haugen, S. P., Ross, W. and Gourse, R. L. (2008). Advances in bacterial promoter recognition and its control by factors that do not bind DNA. *Nature Reviews Microbiology*, 6(7), 507–519. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1912>
- Huang, S.-W., Lin, Z.-Q., Tung, S.-Y., Su, L.-H., Ho, C.-C., Lee, G. A., and Sun, C.-H. (2021). A Novel Multiprotein Bridging Factor 1-Like Protein Induces Cyst Wall Protein Gene Expression and Cyst Differentiation in *Giardia lamblia*. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(3), 1370. <https://doi.org/10.3390/ijms22031370>
- Huang, Y. C., Su, L. H., Lee, G. a., Chiu, P. W., Cho, C. C., Wu, J. Y., and Sun, C. H. (2008). Regulation of cyst wall protein promoters by Myb2 in *Giardia lamblia*. *Journal of Biological Chemistry*, 283(45), 31021–31029. <https://doi.org/10.1074/jbc.M805023200>
- Iqbal, T. and Nakagawa, T. (2024). The therapeutic perspective of NAD⁺ precursors in age-related diseases. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 702, 149590. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2024.149590>
- Jex, A. R., Svärd, S., Hagen, K. D., Starcevich, H., Emery-Corbin, S. J., Balan, B., Nosala, C. and Dawson, S. C. (2020). Recent advances in functional research in *Giardia intestinalis*. *Advances in Parasitology*, 107, 97–137. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2019.12.002>
- Jin, Q., Zhang, F., Yan, T., Liu, Z., Wang, C., Ge, X., and Zhai, Q. (2010). C/EBP alpha regulates SIRT1 expression during adipogenesis. *Cell Research*, 20(4), 470–479. <https://doi.org/10.1038/cr.2010.24>

- Kim, J., Park, E.-A., Shin, M. Y. and Park, S.-J. (2022). Identification of target genes regulated by encystation-induced transcription factor Myb2 using knockout mutagenesis in *Giardia lamblia*. *Parasites & Vectors*, 15(1), 360.
<https://doi.org/10.1186/s13071-022-05489-z>
- Lescot, M., Déhais P., Thijs, G., Marchal K., Moreau, Y., Van de Peer, Y., Rouzé P. and Rombauts S. (2002). PlantCARE, a database of plant cis-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences. *Nucleic Acids Research*, 30(1)<https://doi.org/10.1093/nar/30.1.325>
- Li, B.-B., Wang, X., Tai, L., Ma, T.-T., Shalmani, A., Liu, W.-T., Li, W.-Q. and Chen, K.-M. (2018). NAD Kinases: Metabolic Targets Controlling Redox Co-enzymes and Reducing Power Partitioning in Plant Stress and Development. *Frontiers in Plant Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00379>
- Li, L. and Wang, C. C. (2004). Capped mRNA with a Single Nucleotide Leader Is Optimally Translated in a Primitive Eukaryote, *Giardia lamblia*. *Journal of Biological Chemistry*, 279(15), 14656–14664.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M309879200>
- Li, W. Y., Wang, X., Li, R., Li, W. Q. and Chen, K. M. (2014). Genome-wide analysis of the NADK gene family in plants. *PLoS ONE*, 9(6).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101051>
- Mahdavi, J., Motavallihaghi, S. and Ghasemikhah, R. (2022). Evaluation of clinical and paraclinical findings in patients with reactive arthritis caused by giardiasis: A

systematic review. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 57, 152094.

<https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2022.152094>

Mørch, K. and Hanevik, K. (2020). Giardiasis treatment: an update with a focus on refractory disease. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 33(5), 355–364.

<https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000668>

Oka, S., Titus, A. S., Zablocki, D. and Sadoshima, J. (2023). Molecular properties and regulation of NAD⁺ kinase (NADK). *Redox Biology*, 59, 102561.

<https://doi.org/10.1016/j.redox.2022.102561>

Ortega-Pierres, M. G., Jex, A. R., Ansell, B. R. E. and Svärd, S. G. (2018). Recent advances in the genomic and molecular biology of *Giardia*. *Acta Tropica*, 184, 67–

72. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.09.004>

Owen, D. L., and Farrar, M. A. (2017). STAT5 and CD4⁺ T Cell Immunity.

F1000Research, 6, 32. <https://doi.org/10.12688/f1000research.9838.1>

Paixão-Côrtes, V. R., Salzano, F. M. and Bortolini, M. C. (2015). Origins and evolvability of the PAX family. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 44, 64–74.

<https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.08.014>

Parra-Marín, O., López-Pacheco, K., Hernández, R. and López-Villaseñor, I. (2020). The highly diverse TATA box-binding proteins among protists: A review. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 239, 111312.

<https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2020.111312>

- Plata-Guzmán, L., Arroyo, R., León-Sicairos, N., Canizález-Román, A., López-Moreno, H., Chávez-Ontiveros, J., Garzón-Tiznado, J. A. and León-Sicairos, C. (2023). Stem–Loop Structures in Iron-Regulated mRNAs of *Giardia duodenalis*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(4), 3556.
<https://doi.org/10.3390/ijerph20043556>
- Sigrist, C. J. A., de Castro, E., Cerutti, L., Cuche, B. A., Hulo, N., Bridge, A., Bougueleret, L. and Xenarios, I. (2012). New and continuing developments at PROSITE. *Nucleic Acids Research*, 41(1), 344–347. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1067>
- Spycher, C., Herman, E. K., Morf, L., Qi, W., Rehrauer, H., Aquino Fournier, C., Dacks, J. B. and Hehl, A. B. (2013). An ER-directed transcriptional response to unfolded protein stress in the absence of conserved sensor-transducer proteins in *Giardia lamblia*. *Molecular Microbiology*, 88(4), 754–771.
<https://doi.org/10.1111/mmi.12218>
- Su, L.-H., Pan, Y.-J., Huang, Y.-C., Cho, C.-C., Chen, C.-W., Huang, S.-W., Chuang, S.-F. and Sun, C.-H. (2011). A Novel E2F-like Protein Involved in Transcriptional Activation of Cyst Wall Protein Genes in *Giardia lamblia*. *Journal of Biological Chemistry*, 286(39), 34101–34120. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.280206>
- Uniprot Consortium. (2021). UniProt: the universal protein knowledgebase in 2021. *Nucleic Acids Research*, 49(1), 480–489. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1100>
- Wang, C.-H., Su, L.-H., and Sun, C.-H. (2007). A Novel ARID/Bright-like Protein Involved in Transcriptional Activation of Cyst Wall Protein 1 Gene in *Giardia*

lamblia. *Journal of Biological Chemistry*, 282(12), 8905–8914.

<https://doi.org/10.1074/jbc.M611170200>

Wang, J., Chitsaz, F., Derbyshire, M. K., Gonzales, N. R., Gwadz, M., Lu, S., Marchler, G. H., Song, J. S., Thanki, N., Yamashita, R. A., Yang, M., Zhang, D., Zheng, C., Lanczycki, C. J. and, Marchler-Bauer, A. (2023). The conserved domain database in 2023. *Nucleic Acids Research*, 51(1), 384–388.

<https://doi.org/10.1093/nar/gkac1096>

Wang, X., Li, B.-B., Ma, T.-T., Sun, L.-Y., Tai, L., Hu, C.-H., Liu, W.-T., Li, W.-Q. and Chen, K.-M. (2020). The NAD kinase OsNADK1 affects the intracellular redox balance and enhances the tolerance of rice to drought. *BMC Plant Biology*, 20(1),

11. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-2234-8>

Wang, X., Li, W.-Y., Zhang, M.-M., Gao, Y.-T., Liu, W.-T., Li, W.-Q., Muhammad, I. and Chen, K.-M. (2016). Identification and Functional Analysis of the NADK Gene Family in Wheat. *Plant Molecular Biology Reporter*, 34(1), 118–135.

<https://doi.org/10.1007/s11105-015-0904-8>

Wang, Y.-T., Pan, Y.-J., Cho, C.-C., Lin, B.-C., Su, L.-H., Huang, Y.-C., and Sun, C.-H. (2010). A Novel Pax-like Protein Involved in Transcriptional Activation of Cyst Wall Protein Genes in *Giardia lamblia*. *Journal of Biological Chemistry*, 285(42),

32213–32226. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.156620>

Xu, F., Jiménez-González, A., Einarsson, E., Ástvaldsson, Á., Peirasmaki, D., Eckmann, L., Andersson, J. O., Svärd, S. G. and Jerlström-Hultqvist, J. (2020). The compact genome of *Giardia muris* reveals important steps in the evolution of intestinal

protozoan parasites. *Microbial Genomics*, 6(8).

<https://doi.org/10.1099/mgen.0.000402>

Yee, J., and Nash, T. E. (2006). Transient transfection and expression of firefly luciferase in *Giardia lamblia*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(12), 5615–5619. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.12.5615>

Yee, J., Tang, A., Lau, W. L., Ritter, H., Delpont, D., Page, M., Adam, R. D., Müller, M., and Wu, G. (2007). Core histone genes of *Giardia intestinalis*: Genomic organization, promoter structure, and expression. *BMC Molecular Biology*, 8, 1–15. <https://doi.org/10.1186/1471-2199-8-26>

TABLAS Y FIGURAS.

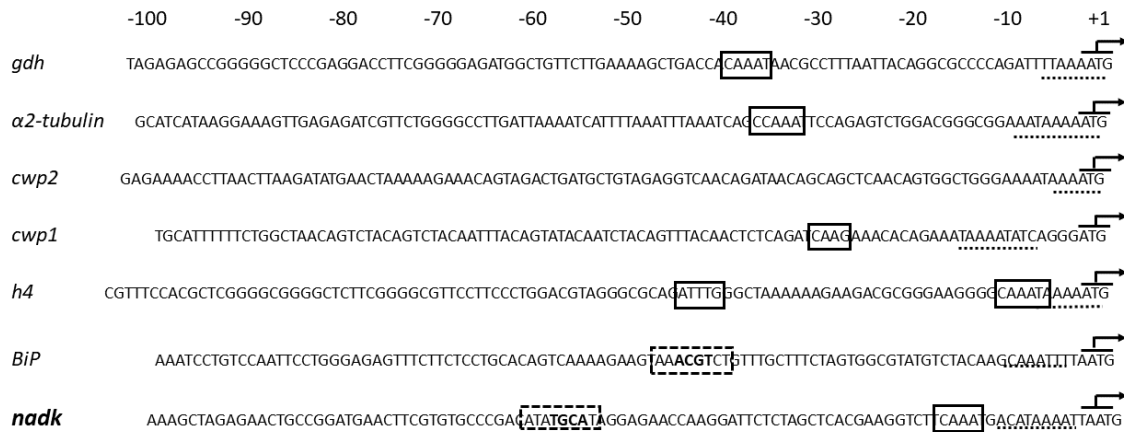


Figura 1. Comparación de la estructura de algunos promotores de *G. duodenalis* y el promotor *glnadk*. Los números arriba indican la posición de los nucleótidos relativa al codón de inicio de la traducción (subrayado con flecha), la secuencia rica en adeninas se encuentra punteada, los elementos g-CAB se indican en cuadros y los elementos GSRE en cuadros punteados.

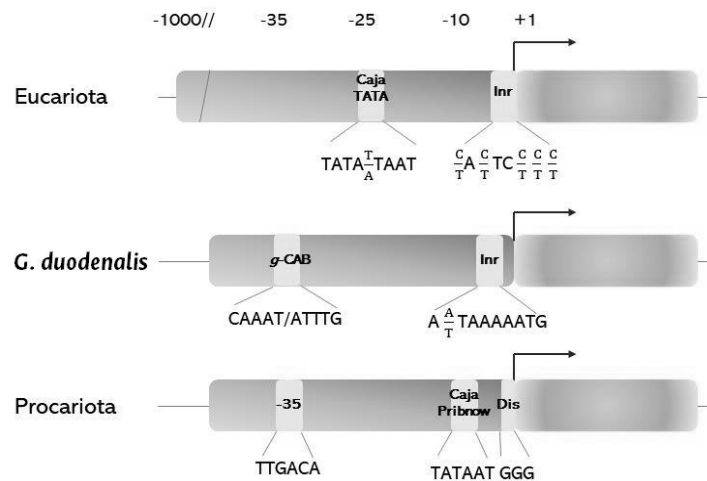


Figura 2. Comparación de elementos consenso en los promotores de organismos eucariotas, procariotas y *G. duodenalis*. Los números indican la posición de los nucleótidos relativa al sitio de inicio de la traducción (subrayado con flecha) En gris oscuro se observa la región promotora y en gris claro los elementos regulatorios.

Análisis de elementos <i>cis</i> en el promotor de <i>glnadk</i>					
Elemento	Cadena	Secuencia	Posición	Organismo	Función
CAAT-box	+	CAAAT	-12	<i>Pisum sativum</i>	Elemento común en <i>cis</i> de regiones promotoras y potenciadoras
MYC	-	CATTTG	-12	<i>Arabidopsis thaliana</i>	-
Repeticiones ricas TC	+	ATTCTCTAA C	-31	<i>Nicotiana tabacum</i>	Elemento común en <i>cis</i> involucrado en la defensa y respuesta ante estrés.
Sin nombre_4	-	CTCC	-49	<i>Petroselinum hortense</i>	-

Tabla 1. Análisis de elementos *cis* en el promotor de *glnadk*. Se muestran los elementos *cis* predichos por el programa PlantCare, sobre la región promotora de *glnadk*.

(GLCHR03:1384605...1384705)

a.

Ehnadk, 2. Lbnadk, 3. Pfnadk, 4. Tcnadk*, 5. *glnadk*; **ARCHAEA**: 1. Fpnadk, 2. Msnadk, 3. Mjnadk, 4. Ganadk, 5. Mvnadk; **BACTERIA** 1. Mtnadk, 2. Ypnadk, 3. Pbnadk, 4. Vhnadk, 5. Kanadk.

*Proteínas putativas. El número en los cuadros gris o negro indican la posición del motivo, se resalta en cuadro negro los resultados para *glnadk*. El E-value equivale a la relación de los motivos entre las secuencias evaluadas.

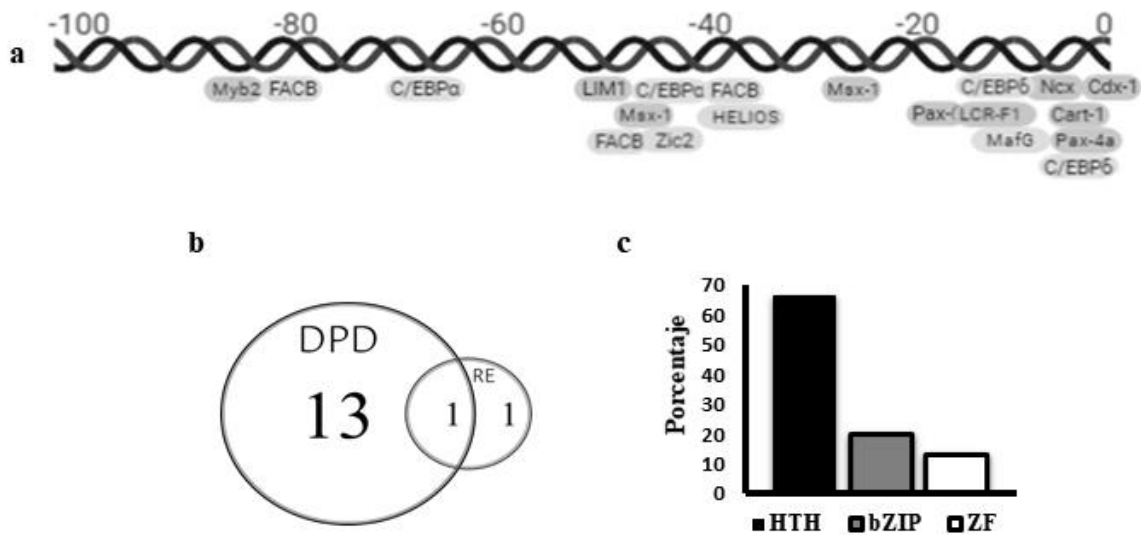


Figura 3. Factores de transcripción con sitio de unión en el promotor de *glnadk*. a) Localización de los FT predichos por el servidor PROMO v3.0 en el promotor de *glnadk* 5'-3' (Tabla suplementaria 1). b) Función de los FT, **DPD**: Diferenciación, proliferación y desarrollo, **RE**: Respuesta a estrés. c) Motivos estructurales de los factores de transcripción **HTH**: Hélice vuelta hélice, **bZIP**: Cremallera de Leucina, **ZF**: Dedos de Zinc.