

# REVISTA TÓPICOS

---

## ANÁLISE IN SÍLICO DE POLIMORFISMOS DO GENE EP300

DOI: 10.5281/zenodo.10407032

*Giovanna Scarso Morelli<sup>1</sup>*

*Tereza Raquel Xavier Viana<sup>2</sup>*

*Regiane Priscila Ratti<sup>3</sup>*

*Larissa Teodoro Rabi<sup>4</sup>*

### RESUMO

O gene *EP300* codifica a proteína p300 que desempenha papel essencial na regulação da expressão genica e na modulação de processos fundamentais para sobrevivência celular. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi identificar as principais alterações morfofuncionais e de estabilidade proteica de p300 decorrentes da presença de polimorfismos no gene *EP300*. A análise *in silico* utiliza métodos de bioinformática para examinar dados genômicos, identificar padrões e prever interações moleculares. A análise das consequências proteicas pode fornecer *insights* sobre possíveis associações com desenvolvimento de doenças ou condições específicas, contribuindo para abordagem individualizada e diagnóstico precoce. A abordagem *in silico* permite a triagem eficiente de polimorfismos relevantes, acelerando a descoberta e facilitando os experimentos laboratoriais subsequentes. A compreensão dos impactos das alterações em

**REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672**

# REVISTA TÓPICOS

---

p300 são relevantes para a pesquisa biomédica, fornecendo informações valiosas para o desenvolvimento de terapias direcionadas e estratégicas de tratamento personalizado em condições associadas a disfunções de gene.

**Palavras-chave:** Análise in sílico. Gene EP300. P300. Bioinformática.

## INTRODUÇÃO

A Histona Acetiltransferase (GAYTHER, et al., 2000) (*EP300*) também conhecida como p300, regula a transcrição por meio do remodelamento da cromatina, desempenhando um papel crucial nos processos de proliferação e diferenciação celular (YAO, et al., 1998). Mutações somáticas em *EP300* foram identificadas em diversos tipos de câncer, sugerindo seu potencial como gene supressor de tumor (TSG) (GAYTHER, et al., 2000). Em particular, foram relatadas mutações em carcinoma gástrico, carcinoma colorretal, câncer de mama e bexiga, principalmente envolvendo alterações de sentido framshit (CUTAIT, GARICOCHEA & COTTI, 2001).

O gene *EP300*, localizado no braço curto do cromossomo 22, codifica a proteína p300, uma coativadora de transcrição multifuncional (RIVADENEIRA-DUEÑAS & VACA-SALAZAR, 2021). Essa proteína desempenha um papel crucial na regulação de expressão genica, influenciando processos celulares fundamentais, como a modulação do ciclo celular, diferenciação celular e apoptose (YAO, et al., 1998). Além disso, mutações em *EP300* foram associadas a condições médicas, incluindo a síndrome de Rubstein-Taybi, destacando sua relevância clínica (RIVADENEIRA-DUEÑAS & VACA-SALAZAR, 2021). No entanto, há evidências contraditórias, sugerindo que a p300 pode também atuar como

# REVISTA TÓPICOS

---

um regulador na progressão do câncer, estando implicado na tumorigênese (MIRANDA, et al., 2012).

A literatura demonstra associação entre a superexpressão da p300 ao carcinoma hepatocelular, indicando uma correlação com características agressivas e prognóstico desfavorável. Além disso, a p300 demonstrou ser um potencial biomarcador para prever a recorrência do câncer de próstata, estando associada a alterações no tamanho e forma dos núcleos das células epiteliais (MACHADO, CARVALHO & SILVA, 2009). A elevada expressão da p300 no câncer de mama também foi correlacionada com a recorrência do tumor e prognóstico desfavorável (TIEZZI, et al., 2008). Apesar de relatos disseminados, o valor prognóstico da p300 em diversos subtipos de câncer humano permanece controverso, destacando a necessidade contínua de pesquisa para esclarecer seu papel multifacetado em contextos biológicos.

Dessa forma, o objetivo desse estudo foi compreender como alterações morfofuncionais proteicas decorrentes da presença de polimorfismos impactam na estabilidade, estrutura e/ou função da proteína, bem como, elucidar sua importância para o diagnóstico precoce e a escolha terapêutica individualizada.

## **METODOLOGIA**

Trata-se de um estudo *in silico* com aplicações de metodologias para análise da alteração morfofuncional e estabilidade proteica decorrente da presença de polimorfismos no gene *EP300*. Informações sobre o

# REVISTA TÓPICOS

---

polimorfismo coletado no banco de dados de polimorfismos (dbSNP) do *National Institutes of Health* (NIH) e sua respectiva sequência FASTA da proteína p300 foi coletada no Uniprot Consortium (UniProt) sob código de identificação: Q09472.

A presença de polimorfismos genéticos pode resultar em alterações de aminoácidos na estrutura proteica, sendo assim, essas alterações podem promover impactos estruturais, funcionais ou de estabilidade. O PredictSNP1.0 contém oito ferramentas de análise: PolyPhen-1 e PolyPhen-2 que são ferramentas capazes de avaliar os impactos na estrutura e função proteica por métodos empíricos de análise e também por comparação de propriedades físicas das moléculas. PhdSNP para análise de estrutura e sequência proteica que utiliza metodologia *Support Vector Machine* (SVM); nsSNPAnalyzer que utiliza *Random Forest* com alinhamento de sequência e estrutura 3D para avaliar impactos fenotípicos; SIFT realiza a estimativa dos efeitos da substituição de aminoácidos na função proteica baseada em homologia e nas características químicas dos aminoácidos; SNAP que avalia alterações na estrutura secundária da proteína, bem como, compara a acessibilidade do solvente em caso de alteração de aminoácido por metodologia *Neural Network*; PANTHER avalia a função proteica e MAPP que avalia as variações físico-químicas da proteína.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram encontrados 46.060 SNPs cadastrados no dbSNP, destes 4 (quatro) eram missenses com  $MAF > 0.1$ . Após a exclusão de repetições um polimorfismo do gene *EP300* se destacou, o rs20551 com troca de uma

# REVISTA TÓPICOS

---

isoleucina (I) na posição 199 para uma valina (V). Entretanto, após análise no pacote PredictSNP1.0 observou-se que a alteração I199V foi considerada neutra por todas as ferramentas utilizadas indicando ausência de alterações estruturais ou funcionais. De forma complementar, observou-se diminuição da estabilidade proteica sugerindo modificações na durabilidade das interações com a proteína p300.

A proteína p300 pode exercer efeitos de supressão tumoral decorrentes das funções de outros supressores de tumor, como p53, RB1, BRCA1 ou por meio da indução de genes responsivos ao fator de crescimento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) (LHEUREUX, et al., 2018), sugerindo que essa proteína atue apenas em cascatas de sinalização e/ou exerça papel modulador nesse contexto. Em resposta ao dano do DNA, p300 aumenta a ativação transcricional dependente de p53 de genes necessários para interromper o ciclo celular e reparar o DNA (PAO et al., 2000).

Além disso, a p300 promove acúmulo nuclear e auxilia no aumento da estabilidade de p53 em resposta ao estresse genotóxico. Curiosamente, em condições sem estresse e durante a recuperação de danos no DNA, acredita-se que a p300 assegura a degradação de p53 para a retomada do ciclo celular após o reparo do DNA (PAO et al., 2000).

Estudos demonstraram por meio de sequenciamento de nova geração (NGS - do inglês, *Next Generation Sequence*) abundância de mutações genéticas somáticas com frequências de até 30% em EP300 associadas a diversos tipos de tumores humanos. Ainda, embora estudos anteriores sinalizem deleções genéticas brutas ou parciais, apenas uma fração relativamente

# REVISTA TÓPICOS

---

pequena de todas as modificações genéticas de EP300 conhecidas e associadas ao desenvolvimento tumoral são dessa natureza. A maioria das alterações são, de fato, polimorfismos pontuais missense que podem alterar a composição dos aminoácidos na estrutura de p300 e ocorrem maior frequência nos domínios KAT, sugerindo uma pressão seletiva em cânceres para alteração dessa atividade.

A literatura também demonstra que tumores primários de origens variadas revelaram alterações nos níveis de proteína p300 (DEBES et al., 2003). Além disso, já foi reportado que o aumento da expressão de p300 se correlaciona com a baixa sobrevida e fenótipos agressivos em carcinoma de células escamosas de mama, hepatocelular, esofágico e cutâneo (CHEN et al., 2014).

## CONCLUSÃO/CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de nossos achados não demonstrarem modificações significativas na estrutura ou função da p300 decorrentes da presença do polimorfismo rs20551, sabe-se que devido a sua função de modulação de expressão gênica e participação em diversas cascatas de sinalização intracelular, esta é uma proteína que deve ser considerada para estudos *in vivo*, especialmente, em pacientes com câncer.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADZHUBEI, I. A. et al. **A method and server for predicting damaging missense mutations.** *Nature Methods*, v. 7, n. 4, p. 248-9, apr. 2010.

**REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672**

# REVISTA TÓPICOS

---

BANNISTER, A. J.; KOUZARIDES, T. **The CBP co-activator is a histone acetyltransferase.** *Nature*, v. 384, p. 641–643, 1996.

BAO, L.; ZHOU, M.; CUI, Y. **nsSNPAnalyzer: identifying disease-associated nonsynonymous single nucleotide polymorphisms.** *Nucleic Acids Research*, v. 33, n. Web Server issue, p. W480-2, 1 jul. 2005.

BENDL, J. et al. **PredictSNP1.0: robust and accurate consensus classifier for prediction of disease-related mutations.** *PLoS Computational Biology*, v. 10, n. 1, e1003440, jan. 2014.

BROMBERG, Y.; ROST, B. **SNAP: predict effect of non-synonymous polymorphisms on function.** *Nucleic Acids Research*, v. 35, n. 11, p. 3823-35, 2007.

BRUNHAM, L. R. et al. **Accurate prediction of the functional significance of single nucleotide polymorphisms and mutations in the ABCA1 gene.** *PLoS Genetics*, v. 1, n. 6, e83, dec. 2005.

CAPRIOTTI, E.; CALABRESE, R.; CASADIO, R. **Predicting the insurgence of human genetic diseases associated to single point protein mutations with support vector machines and evolutionary information.** *Bioinformatics*, v. 22, n. 22, p. 2729-34, 15 nov. 2006.

CHEN, M. K. et al. **A superexpressão de p300 se correlaciona com mau prognóstico em pacientes com carcinoma cutâneo de células escamosas.** *British Journal of Dermatology*, v. 172, p. 111–119, 2014.

**REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672**

# REVISTA TÓPICOS

---

CUTAIT, R.; GARICOCHEA, B.; COTTI, G. C. de C. **Diagnóstico e manejo do câncer gástrico familiar.** *Revista Do Colégio Brasileiro De Cirurgiões*, v. 28, n. 4, p. 288–292, 2001.

DEBES, J. D. et al. **p300 na proliferação e progressão do câncer de próstata.** *Cancer Research*, v. 63, p. 7638–7640, 2003.

GAYTHER, S. A. et al. **Mutações truncando a acetilase EP300 em cânceres humanos.** *Nature Genetics*, v. 24, p. 300–303, 2000. DOI: [10.1038/73536](https://doi.org/10.1038/73536).

GROSSMAN, S. R. **p300/CBP/p53 interaction and regulation of the p53 response.** *European Journal of Biochemistry*, v. 268, n. 10, p. 2773–2778, 2001.

KAWASAKI, H. et al. **Distinct roles of the co-activators p300 and CBP in retinoic-acid-induced F9-cell differentiation.** *Nature*, v. 393, p. 284–289, 1998.

LHEUREUX, S. et al. **Um ensaio clínico e molecular de fase II de ENMD-2076 oral em carcinoma ovariano de células claras (OCCC): um estudo do consórcio Princess Margaret Phase II.** *Clinical Cancer Research*, v. 24, p. 6168–6174, 2018.

LI, M. et al. **Alta expressão do coativador transcricional p300 correlaciona-se com características agressivas e mau prognóstico do carcinoma hepatocelular.** *Journal of Translational Medicine*, v. 9, p. 5, 2011.

**REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672**



# REVISTA TÓPICOS

---

MACHADO, C. S. S.; CARVALHO, A. C. O. e S.; GUERRA E, P. L.

**Caracterização da normalidade do P300 em adultos jovens.** Revista da Sociedade Brasileira de Fonoaudiologia, v. 14, n. 1, p. 83-90, 2009. DOI: [10.1590/S1516-80342009000100014](https://doi.org/10.1590/S1516-80342009000100014).

MIRANDA, E. C. de et al. **Correlação do potencial evocado P300 com aspectos cognitivos e depressivos do envelhecimento.** Brazilian Journal of Otorhinolaryngology, v. 78, n. 5, p. 83-89, 2012. DOI: [10.5935/1808-8694.20120013](https://doi.org/10.5935/1808-8694.20120013).

NG, P. C.; HENIKOFF, S. **SIFT: Predicting amino acid changes that affect protein function.** *Nucleic Acids Research*, v. 31, n. 13, p. 3812-4, 1 jul. 2003.

OGRYZKO, V. V. et al. **The transcriptional coactivators p300 and CBP are histone acetyltransferases.** *Cell*, v. 87, p. 953–959, 1996.

PAO, G. M. et al. **CBP/p300 interact with and function as transcriptional coactivators of BRCA1.** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 97, n. 3, p. 1020–1025, 2000.

RAMENSKY, V.; BORK, P.; SUNYAEV, S. **Human non-synonymous SNPs: server and survey.** *Nucleic Acids Research*, v. 30, n. 17, p. 3894-900, 2002.

RIVADENEIRA-DUEÑAS, J.; VACA-SALAZAR, C. **Síndrome de Rubinstein Taybi: características fenotípicas, reporte de caso.** Revista

**REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672**

# REVISTA TÓPICOS

---

Ecuatoriana de Pediatría, v. 22, n. 2, Artículo 11, p. 1-7, 2021. DOI: [10.52011/0030](https://doi.org/10.52011/0030).

SHERRY, S. T. et al. **dbSNP: the NCBI database of genetic variation.** *Nucleic Acids Research*, v. 29, n. 1, p. 308–311, 2001.

STONE, E. A.; SIDOW, A. **Physicochemical constraint violation by missense substitutions mediates impairment of protein function and disease severity.** *Genome Research*, v. 15, n. 7, p. 978-86, jul. 2005.

THE UNIPROT CONSORTIUM. **UniProt: the Universal Protein Knowledgebase in 2023.** *Nucleic Acids Research*, v. 51, n. D1, p. D523–D531, 6 jan. 2023.

TIEZZI, D. G. et al. **Impacto prognóstico da recorrência local em pacientes com câncer inicial de mama submetidas a tratamento conservador.** *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, v. 35, n. 5, p. 284-291, 2008. DOI: [10.1590/S0100-69912008000500003](https://doi.org/10.1590/S0100-69912008000500003).

XIAO, X. S. et al. **Alta expressão de p300 em câncer de mama humano correlaciona-se com recorrência do tumor e prevê prognóstico adverso.** *Chinese Journal of Cancer Research*, v. 23, p. 201–207, 2011.

YAO, T. P. et al. **Gene dosage-dependent embryonic development and proliferation defects in mice lacking the transcriptional integrator p300.** *Cell*, v. 93, p. 361–372, 1998.

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

# REVISTA TÓPICOS

---

<sup>1</sup> Departamento de Biomedicina, Centro Universitário Nossa Senhora do Patrocínio (CEUNSP), Itu, SP, Brasil. E-mail: [giovannasmh@gmail.com](mailto:giovannasmh@gmail.com)

<sup>2</sup> Departamento de Biomedicina, Centro Universitário Nossa Senhora do Patrocínio (CEUNSP), Itu, SP, Brasil. E-mail: [espacotr@gmail.com](mailto:espacotr@gmail.com)

<sup>3</sup> Departamento de Biomedicina, Centro Universitário Nossa Senhora do Patrocínio (CEUNSP), Itu, SP, Brasil. Doutora em Biotecnologia. E-mail: [regiane.sartori@ceunsp.edu.br](mailto:regiane.sartori@ceunsp.edu.br)

<sup>4</sup> Departamento de Biomedicina, Centro Universitário Nossa Senhora do Patrocínio (CEUNSP), Itu, SP, Brasil. Mestre em Ciências. E-mail: [larissa.rabi@ceunsp.edu.br](mailto:larissa.rabi@ceunsp.edu.br)