

14 DE NOVIEMBRE DE 03

## Técnica aceleraría la identificación de nuevos genes de enfermedades

Unos investigadores han utilizado luz ultravioleta para “soldar” una proteína reguladora clave a sus ARNs dianas, creando así una nueva herramienta que se puede utilizar para identificar nuevas proteínas involucradas en una variedad de enfermedades humanas.

Mediante la utilización de esta técnica, los investigadores han identificado un conjunto de moléculas de ARN que son reguladas por la proteína de unión al ARN llamada Nova, que había sido asociado con una enfermedad neurodegenerativa autoinmune. Los investigadores creen que su técnica podría ayudar a encontrar los ARNs dianas de otras proteínas involucradas en enfermedades neurológicas, incluyendo la forma más frecuente de retraso mental, el Síndrome X Frágil.

[Robert B. Darnell](#), investigador del Instituto Médico Howard Hughes, en la Universidad de Rockefeller, condujo al equipo de investigación que publicó sus resultados en el número del 14 de noviembre de 2003, de la revista *Science*.

---

"Estamos descubriendo que Nova es un factor extremadamente importante quizá el factor que es responsable de la maduración por corte y empalme neuronal para algunas dianas."

- Robert B. Darnell

---

Darnell y sus colegas han estado investigando la función de Nova, una proteína de unión al ARN que regula la maduración por corte y empalme alternativa. En la maduración por corte y empalme alternativa, el ARN mensajero, que contiene el molde para originar una proteína a partir de los genes de la célula, se procesa de manera tal que puede producir muchas proteínas levemente diferentes. Además de su función en la maduración por corte y empalme alternativa, la proteína Nova es de gran interés, dijo Darnell, porque es un blanco de ataque del sistema inmune en la enfermedad

neurodegenerativa llamada ataxia mioclónica opsoclónica paraneoplástica, que causa la pérdida progresiva del control motor.

“Trabajos previos realizados en nuestro laboratorio habían revelado la forma en la que Nova se une al ARN, y habíamos identificado un par de ARNs dianas específicos en el cerebro”, dijo Darnell. “Estos estudios nos llevaron a descubrir que Nova era el primer factor de maduración por corte y empalme en mamíferos que estaba restringido a un tejido particular. Entonces quisimos saber cuál es el conjunto completo de ARNs a los que Nova se une y regula en el cerebro”.

Según Darnell, Nova es sólo una de las proteínas de una lista de proteínas de unión al ARN, cada vez mayor, que están siendo asociadas a enfermedades humanas. De este modo, una técnica que pueda ayudar a identificar los múltiples ARNs dianas que son regulados por una proteína de unión al ARN podría ayudar a comprender la causa de muchas enfermedades humanas.

Para facilitar la identificación de las dianas de las proteínas, los científicos adaptaron una técnica ya utilizada en el laboratorio para identificar las dianas de las proteínas de unión al ARN. Esta técnica involucraba la irradiación de las moléculas con luz ultravioleta, lo que causa una reacción de entrecruzamiento que une químicamente la proteína a su ARN diana. La unión es tan firme que las moléculas se pueden aislar e identificar juntas.

Darnell y sus colegas hicieron algunas mejoras que resultaron en el desarrollo de su técnica de “entrecruzamiento e inmunoprecipitación” (CLIP, por sus siglas en inglés). Los investigadores comenzaron irradiando cerebros intactos de ratón con luz UV, intentando soldar las proteínas de unión al ARN con sus ARNs dianas en el tejido vivo. Luego de exigentes técnicas de purificación y procedimientos analíticos, los investigadores pudieron identificar algunos “marcadores” de CLIP Nova 340 -indicadores de que Nova se encuentra unida al ARN, que identifican al ARN diana y revelan dónde se une la proteína Nova-. Los investigadores verificaron que los marcadores representaban ARNs dianas de Nova funcionales al comparar la maduración por corte y empalme de ratones de tipo salvaje con la de ratones knock-out que carecían de Nova.

Los asombrosos cambios en la maduración por corte y empalme de los ratones knock-out, dijo Darnell, generó una prueba de que Nova es el regulador central de la maduración por corte y empalme de todo un grupo de moléculas de ARN que se encuentran en el cerebro. “Estamos descubriendo que Nova es un factor extremadamente importante -quizá *el* factor- que es responsable de la maduración por corte y empalme neuronal para algunas dianas”, dijo.

Sus estudios generaron otra observación importante: Nova no actúa aleatoriamente. “Si se considera a estos blancos de ataque como un grupo, tienen una enorme coherencia biológica”, dijo Darnell. “Casi el setenta por

ciento de los ARNs dianas tienen algo que ver con la sinapsis neuronal”. Las sinapsis son las uniones entre las neuronas. Un tercio de los ARNs dianas de Nova que están relacionados con las sinapsis codifica para proteínas involucradas en la inhibición de la función neuronal. La regulación de la inhibición neuronal desempeña una función clave en el equilibrio que normalmente controla la función del sistema nervioso así como en trastornos neurológicos tales como la epilepsia, dijo Darnell.

“Estos resultados sugieren que Nova ha evolucionado para regular un grupo de ARNs que tienen una función coordinada”, dijo. “De este modo, si se incrementa o disminuye la función de Nova, se regulará de forma coordinada a un grupo de ARNs en masa”.

El éxito del método CLIP para identificar dianas de Nova, dijo Darnell, sugiere que tendrá un amplio uso en el descubrimiento de dianas de otras proteínas de unión al ARN, como las involucradas en enfermedades tales como el retraso mental X Frágil. “El estudio de la proteína del Síndrome X Frágil se ha estancado, porque el saber que es una proteína de unión al ARN no nos dice realmente lo que está haciendo”, dijo Darnell. “El problema ha sido identificar el grupo de ARNs que regula. Nosotros y otros hemos realizado un cierto progreso al utilizar otras técnicas, pero CLIP debería ayudar a solucionar este problema”.

CLIP también ha revelado que Nova podría desempeñar una función anteriormente insospechada, además de regular la maduración por corte y empalme alternativa. “Encontramos una gran cantidad de casos en los que los marcadores CLIP no están cerca de los sitios de maduración por corte y empalme alternativos, sino que se encuentran al principio o al final del ARN”, dijo Darnell. “Esto sugiere que podría existir un cierto proceso biológico completamente nuevo que no sospechábamos”. Esta nueva forma de regulación podría ocurrir a medida que se traduce la información del ARN a proteína por medio de la maquinaria de producción de proteínas de la célula, dijo Darnell.