

11 DE OCTUBRE DE 02

Aprendiendo cómo las células detienen el antisentido

Investigadores del Instituto Médico Howard Hughes han descubierto diferencias importantes entre dos mecanismos que las células utilizan para responder al ARN mensajero defectuoso.

Los científicos dicen que el estudio de las diferencias inherentes de los dos mecanismos, la degradación de ARNm mediada por el antisentido (NMD, por sus siglas en inglés) y la maduración por corte y empalme alterada por el antisentido (NAS, por sus siglas en inglés), puede mejorar la comprensión de cómo las células se protegen de errores en la expresión génica que pueden ser catastróficos.

En un artículo publicado en el número del 11 de octubre de 2002, de la revista *Science*, el investigador del HHMI [Harry C. Dietz](#) y sus colegas en la Facultad de Medicina de la Universidad Johns Hopkins presentan evidencias de que la NMD y la NAS son mecanismos celulares distintivos. Las teorías anteriores sostenían que la NAS era poco más que una consecuencia secundaria de la degradación del ARN mensajero defectuoso (ARNm) por la NMD.

El ARNm antisentido contiene errores que producen una señal de detención prematura cuando la maquinaria productora de proteínas de la célula intenta leer la información genética. Cualquier proteína resultante sería truncada y funcionalmente inútil o incluso dañina. Se sabe que la NMD degrada el ARNm antisentido antes de que produzca proteínas anormales, pero la NAS parece madurar por corte y empalme al ARNm nuevo dentro del núcleo para suprimir la señal de detención aberrante.

El rompecabezas, dijo Dietz, es que la célula parece saber cuando se ha creado el ARNm antisentido incluso antes de que salga del núcleo para entrar en el citoplasma, que contiene los ribosomas, que son las fábricas productoras de proteínas de la célula.

Por muchos años se ha sostenido que el decaimiento del ARNm antisentido en células mamíferas ocurre en la fracción nuclear de dichas células, dijo Dietz. Eso era confuso porque el único mecanismo para interpretar el potencial de codificación de un ARNm sería el ribosoma traductor del

citoplasma. Por eso ha habido mucha controversia en cuanto a si existe una entidad funcional equivalente a la vigilancia nuclear del antisentido, que desafiaría a todos los principios con respecto a cómo la célula interpreta la calidad del ARNm.

Se habían propuesto varias teorías para explicar el enigma, dijo Dietz, pero no lo explicaban satisfactoriamente. Esas posibilidades eran aceptadas ampliamente, dijo. Parecía haber un dedicado esfuerzo para preservar lo que sabíamos o lo que pensábamos que sabíamos sobre cómo funciona el núcleo.

En sus estudios, Dietz y sus colegas exploraron cómo se podría poner en evidencia a los componentes de la maquinaria de vigilancia del ARNm del núcleo. Específicamente, los científicos intentaron determinar si la NAS dependía de dos proteínas, llamadas reguladores de los transcritos antisentido 1 y 2 (rent1 y rent2), que son parte de la maquinaria de vigilancia del ARNm antisentido de la célula.

Trabajando con cultivos de células humanas, los científicos utilizaron un método llamado interferencia de ARN (ARNi) para eliminar selectivamente la función de rent1 o de rent2 para ver si la pérdida de alguna de las proteínas tenía algún efecto en la NMD o la NAS. La interferencia de ARN implica la inserción en células de ARN de doble cadena que corresponde a un ARNm diana. Mediante un proceso que aún no se comprende completamente, el ARN de doble cadena interfiere con el blanco al causar su degradación. De este modo, los científicos fueron capaces de suprimir la acción de rent1 o de rent2, usando interferencia de ARN para eliminar el ARNm que codifica para las dos proteínas.

Lo que encontramos fue extraordinario, dijo Dietz. Encontramos que si inhibíamos la expresión de rent1 con ARNi, inhibíamos a NMD de acuerdo a lo esperado, así como también a NAS. De este modo, se documentó que la maquinaria de vigilancia del antisentido está implicada en la maduración por corte y empalme alterada del ARN antisentido, evento que sólo tiene lugar en el núcleo. Pero cuando inhibimos la expresión de rent2, observamos que la maduración por corte y empalme mediada por el antisentido alterada no estaba afectada a pesar de lograr una inhibición comparable con la inhibición que causa la NMD. Esto nos dice que la NAS no es simplemente una consecuencia secundaria de la NMD.

En estudios adicionales, Dietz y sus colegas insertaron dos formas mutantes de rent1 en células en las cuales ya habían bloqueado a rent1 normal, usando ARNi. Usando esta técnica, que llamaron interferencia de ARN alelo específica, el equipo de Dietz encontró que una mutante inhibía la NMD y la NAS, pero otra sólo inhibía la NMD.

Esto demostró que la NMD y la NAS son funciones genéticamente separables de rent1, dijo Dietz. Constituye la prueba de que NMD y NAS utilizan parte de la misma maquinaria, pero que no son funcionalmente idénticas.

Finalmente, los investigadores estudiaron si *rent1* podía realmente entrar al núcleo, lo que ofrecería la posibilidad de que el ARN antisentido sea detectado por la maquinaria de vigilancia cuando acaba de ser transcrito.

Tratamos a las células con un inhibidor específico del complejo de exportación de proteínas principal, que saca a las proteínas del núcleo, dijo Dietz. Pensamos que si envenenábamos la vía de exportación, entonces podríamos revelar cualquier vida nuclear de *rent1*. Y fue eso exactamente lo que vimos, dijo.

Según la investigadora del HHMI, [Melissa J. Moore](#), el artículo de Dietz y sus colegas publicado en *Science* y un artículo publicado recientemente en *Molecular Cell* sobre NMD y NAS de Miles Wilkinson, del Centro del Cáncer M. D. Anderson de la Universidad de Texas ayudan a comprender la relación entre los dos procesos. Moore, quien se encuentra en la Universidad Brandeis, escribió en la sección *Perspectives* de la revista *Science* que los dos artículos comienzan a desentrañar este misterio, demostrando que la NMD y un tipo de NAS ... son procesos funcionalmente distintos que dependen de grupos de proteínas distintos pero superpuestos.

Moore también acentuó la importancia de la técnica de interferencia de ARN alelo específica usada por Dietz en la cual los científicos insertaron formas mutantes de una proteína en una célula en la cual la proteína de tipo salvaje había sido inhibida por interferencia de ARN. Pienso que la interferencia de ARN alelo específica va a ser muy útil para otros investigadores que estudien una amplia gama de áreas, dijo Moore en una entrevista. Por ejemplo, se podría estudiar la maduración por corte y empalme del ARNm alternativa anulando selectivamente una forma y no la otra.

Según Dietz, los últimos descubrimientos sobre las funciones de *rent1* y *rent2* en la NMD y la NAS representan el principio de un largo camino de investigación. Entre las preguntas principales que quedan por contestar, dijo, se encuentra cómo influye la maquinaria de vigilancia en el procesamiento del llamado pre ARNm ARN recientemente transcrito antes de que haya sido reordenado mediante la maduración por corte y empalme en un ARNm con una secuencia de codificación contigua que se puede identificar por la presencia de un codón de terminación prematuro. Además, dijo Dietz, el descubrimiento podría llevar a comprender mejor si y cómo la maquinaria de vigilancia afecta a los ARNs que no están destinados a ser las bases de las proteínas. Pienso que lo que encontremos será novedoso e interesante, dijo.