

28 DE FEBRERO DE 06

Se descubre una gran cantidad de microARNs

Mediante la utilización de una nueva técnica analítica llamada miRAGE, unos investigadores han descubierto 133 microARNs en lo que representa el análisis más grande de microARNs humanos realizado hasta la fecha. La nueva información aumenta la cantidad de microARNs que han sido verificados experimentalmente en casi un 50 por ciento y provee a los investigadores de herramientas nuevas para comprender la forma en la que se regulan los genes.

Los microARNs son pequeñas moléculas que regulan la expresión de genes. No producen proteínas, sino que controlan los ARNs que las hacen y por lo tanto son jugadores claves en muchos procesos fisiológicos y de desarrollo. Los investigadores dijeron que sus resultados sugieren que todavía se deben descubrir muchos más microARNs (miARNs) en otros tejidos del cuerpo. Tales descubrimientos probablemente estimulen el descubrimiento de pistas sobre la forma en la que los miARNs controlan la expresión génica y posiblemente clarifiquen las diferencias que existen en la regulación por miARN entre células normales y cancerosas.

"Los miARNs son un nuevo tipo de genes involucrados en el desarrollo de organismos y en una gran cantidad de enfermedades humanas, incluyendo el cáncer."

- Jordan Cummins

Los investigadores publicarán sus resultados en número del 7 de marzo de 2006, de la revista *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*. El artículo fue publicado en la edición avanzada en Internet de *PNAS* el 27 de febrero de 2006. Victor Velculescu, del Sidney Kimmel Comprehensive Cancer Center en Johns Hopkins, y el investigador del Instituto Médico Howard Hughes, Bert Vogelstein, en Johns Hopkins, fueron autores senior

del artículo. Jordan Cummins, quien trabaja con Velculescu y Vogelstein, fue el primer autor del artículo.

Los miARN, que fueron descubiertos hace un poco más de una década, se han convertido rápidamente en el foco de un considerable escrutinio científico. Sin embargo, los roles reguladores de los ARNs minúsculos han seguido siendo misteriosos porque los investigadores sólo han podido determinar la función de poco más de 200 miARNs conocidos. A diferencia de las moléculas más grandes de ARN mensajero (ARNm) que llevan información genética desde los genes hasta la maquinaria de producción de proteínas, los miARNs regulan la actividad génica al interferir con el mensaje genético que se encuentra en las moléculas de ARNm.

“Los miARNs son un nuevo tipo de genes involucrados en el desarrollo de organismos y en una gran cantidad de enfermedades humanas, incluyendo el cáncer”, dijo Cummins. “Esta nueva metodología nos ha permitido realizar el análisis más grande de miARNs humanos llevado a cabo hasta la fecha, al cuantificar miARNs conocidos y descubrir miARNs nuevos, y al aumentar la cantidad de miARNs conocidos en casi un cincuenta por ciento. El estudio muestra que las predicciones anteriores del límite superior de la cantidad total de miARNs humanos eran demasiado bajas”.

Según Velculescu, muchos científicos creían que las técnicas actuales que los investigadores están utilizando para descubrir los microARNs habían descubierto casi todos los miARNs existentes en la célula. Esas técnicas llevaron al descubrimiento de unos 321 genes para miARNs humanos. Dijo que, sin embargo, dos de las técnicas de búsqueda más usadas tienen desventajas que podían limitar el descubrimiento de nuevos miARNs. La técnica de clonar genes individuales para determinar si codificaban para miARNs era laboriosa y llevaba mucho tiempo. Y la metodología bioinformática de utilizar computadoras para explorar el genoma humano para predecir las secuencias que podrían codificar para miARNs requiere de la verificación experimental de esas predicciones, dijo.

Cummins, Velculescu, Vogelstein y sus colegas decidieron desarrollar y aplicar una nueva técnica de análisis en masa para buscar miARNs en células colorrectales. El cáncer colorrectal ha sido un foco central de la investigación de Velculescu y Vogelstein.

Llamaron a su técnica “análisis serial de miARN de expresión génica” o miRAGE (por sus siglas en inglés). Básicamente, involucra el aislamiento de miles de moléculas minúsculas de ARN de las células. Estas moléculas de ARN se transcriben inversamente en moléculas de ADN y luego éstas se

unen para formar cadenas mucho más grandes. Los investigadores pueden entonces secuenciar las moléculas de ADN más largas de una forma que es mucho más eficiente que si hubieran comenzado con secuencias de ADN más cortas derivadas de moléculas individuales de ARN.

Luego, los investigadores utilizaron algoritmos computacionales para analizar las secuencias de ADN para reconocer aquellas que tenían características de genes que codifican para miARNs. También aplicaron otros criterios para validar que los genes codificaban para miARNs. Por ejemplo, determinaron si los genes humanos candidatos se asemejaban a genes de miARN conocidos en otras especies; o si los miARNs que produjeron tenían características moleculares de miARNs funcionales. Tales características incluyen la habilidad de la molécula candidata de ARN de formar una “horquilla” que es reconocida por la enzima Dicer, molécula que corta las moléculas del microARN precursor en su forma madura y funcional.

“Utilizando estos criterios, encontramos un total de ciento sesenta y ocho microARNs posibles que no habían sido descritos”, dijo Velculescu. “Sin embargo, durante el curso del estudio, treinta y cinco de éstos fueron identificados independientemente como microARNs mediante la utilización de otras metodologías, lo que nos dejó con 133 microARNs nuevos. Los que se confirmaron con estas otras metodologías proporcionaron la confirmación muy agradable de que estábamos, efectivamente, identificando microARNs que estaban en las bases de datos pero que eran microARNs legítimos”, dijo. Además, Velculescu hizo notar que con la técnica miRAGE se identificaron 200 miARNs conocidos.

Usando una metodología distinta para validar los miARNs candidatos, los investigadores compararon la generación de miARNs maduros en células normales y células carentes de la enzima Dicer. Los investigadores encontraron una reducción significativa en los niveles de miARNs maduros en muchos de los candidatos en las células sin Dicer.

“Esto no sólo nos da otro nivel de validación, demostrando que éstos son microARNs legítimos, sino que también fortalece la idea de que Dicer es realmente crítica para la biogénesis de al menos alguna fracción de los microARNs conocidos y nuevos”, dijo Velculescu.

Además de los 133 miARNs nuevos, los investigadores también encontraron 112 miARNs con “forma de estrella” previamente desconocidos. Éstos consisten en hebras de miARN que son hebras complementarias de los miARNs funcionales de una sola hebra. Son inicialmente parte de la molécula de miARN de doble cadena antes de que es procesada por Dicer, y

generalmente son degradados por la célula. Hasta este momento, se habían encontrado pocas formas de estrella y el descubrimiento de tantas formas de estrellas nuevas es evidencia importante de su presencia en las células humanas, dijo Velculescu.

Según Cummins, el descubrimiento de una multitud de miARNs nuevos en tejidos colorrectales representa sólo el principio de una búsqueda más amplia en todo el cuerpo. “Dado que la expresión de microARN tiende a ser específica para cada tejido, un análisis minucioso de distintos tejidos humanos que utilice un método de alto rendimiento tal como el miRAGE ayudará a que obtengamos el compendio completo de microARNs humanos”, dijo.