

PREMIO NOBEL DE FISIOLÓGÍA O MEDICINA 2024 AL DESCUBRIMIENTO DE LOS MICROARN Y SU PAPEL EN LA REGULACIÓN GÉNICA POSTRANSCRIPCIONAL

PABLO J. AZURMENDI¹, ISABEL A. LÜTHY²

¹Servicio de Nefrología Experimental y Bioquímica Molecular, Instituto de Investigaciones Médicas Alfredo Lanari, Facultad de Medicina, UBA, IDIM UBA-CONICET, Buenos Aires, Argentina, ²Instituto de Biología y Medicina Experimental - CONICET, Buenos Aires, Argentina

E-mail: azurmendi.pablo@lanari.uba.ar, i.luthy@ibyme.org.ar

El Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2024 fue otorgado conjuntamente a Victor Ambros y Gary Ruvkun por el descubrimiento de los microARN (miARN) y su rol en la regulación génica post-transcripcional.

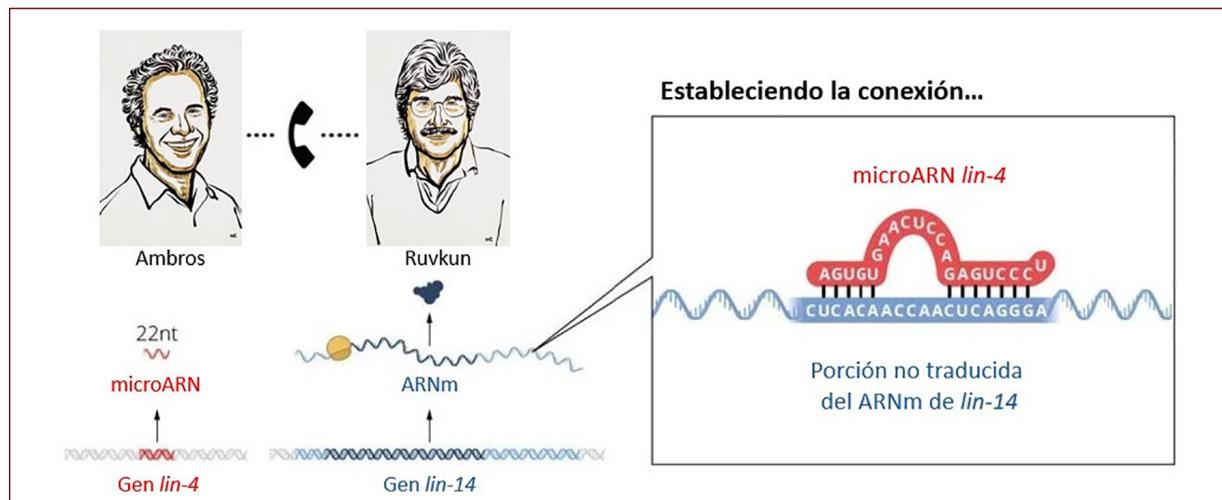
Haciendo un poco de historia¹, ambos laureados investigaron en el laboratorio del Dr. H. Robert Horvitz acerca de la regulación génica en el gusano *Caenorhabditis elegans*. Comenzaron una larga investigación acerca de la proteína lin-14, cuyos mutantes tenían serios defectos en el desarrollo del nematodo. A fines de los años 80 consiguieron identificar la secuencia nucleotídica de la región genómica que codificaba dicha proteína. Durante ese periodo, ambos obtuvieron posiciones académicas, Ambros en la Universidad de Harvard y Ruvkun en el *Massachusetts General Hospital* y la Facultad de Medicina de Harvard. En el año 1989, Ruvkun y sus colaboradores demostraron que lin-14 es una proteína nuclear cuya expresión se manifiesta en un momento específico del desarrollo y se encontraron mutantes tanto para esta proteína como de otra, lin-4. Luego demostraron que mutantes que poseían deleciones en la región no traducida 3'UTR (del inglés *3'untranslated region*) mostraban ganancia de función de lin-14, ocasionando que la proteína siguiera detectándose fuera del momento del desarrollo en que debía encontrarse en los gusanos salvajes. Dado que la alteración de los elementos 3'UTR no tenía consecuencias en la secuencia de la proteína, Ruvkun postuló un mecanismo post-transcripcional que actuaba sobre otros procesos como la estabilidad del

ARN mensajero (ARNm), su salida del núcleo, o la traducción.

Contrastando con los numerosos mutantes de lin-14 identificados, el lin-4 mostró un solo mutante. Por su parte y hacia el año 1991, en el laboratorio de Ambros clonaron dicho gen luego de utilizar los complicados y laboriosos métodos que se necesitaban en esa época, mostrando poseer una corta secuencia sugiriendo que el gen lin-4 podía ser un ARN no codificante. En 1991, el laboratorio consiguió aislar dos transcritos cortos de 61 y 22 nucleótidos de largo. Habiendo deducido independientemente la secuencia de lin-4 (laboratorio de Ambros) y de lin-14 (laboratorio de Ruvkun), en la noche del 11 de junio de 1992, Ambros y Ruvkun intercambiaron los datos de las secuencias de ambos genes. Notaron la conspicua complementariedad parcial entre el ARN no codificante lin-4 y múltiples elementos en la región 3'UTR de lin-14. Reconocieron la importancia fundamental de esta observación y publicaron dos trabajos fundamentales en *Cell*^{2,3} (Fig. 1).

Luego de este descubrimiento de lin-4, el primer miARN, pasaron 7 años hasta la identificación del segundo miARN, let-7. Este hallazgo llegó cuando en el laboratorio de Ruvkun se encontró que el gen let-7 estaba evolucionariamente conservado en una gran cantidad de especies, comenzando una etapa de hallazgos de nuevos miRNA en humanos y otras especies. En la actualidad *miRBase*, una base de datos para genes de miARN, comprende más de 38 000 precursores y 48 860 secuencias de miARN maduros en 271 organismos⁴.

Figura 1 | Ambros descubrió que el gen *lin-4* codificaba un ARN diminuto, microARN, y no una proteína. Ruvkun clonó el gen *lin-14* y los dos científicos se dieron cuenta de que la secuencia del microARN *lin-4* coincidía con una secuencia complementaria en el ARNm del gen *lin-14*



Adaptado de www.nobelprize.com ©The Nobel Committee for Physiology or Medicine. Ill. Niklas Elmehed ©Nobel Prize Outreach and Ill. Mattias Karlén

Los miARN son ARN pequeños y no codificantes que median la supresión génica postranscripcional por reconocimiento de secuencias específicas. Una sola especie de miARN puede dirigirse a múltiples ARN mensajeros (ARNm) que compartan esa secuencia en particular regulando diversas funciones celulares importantes.

Los miARNs están codificados dentro del genoma, usualmente agrupados en fragmentos de 0.1-50 kB. El 50% de los genes codificantes de miARN de mamíferos se ubican en los espacios intergénicos, los cuales se expresan de forma autónoma y poseen sus propios elementos potenciadores y promotores. La mayoría de estos genes son transcritos como los genes codificantes de proteínas y es probable que su expresión génica esté controlada por la expresión de factores de transcripción específicos y modificaciones postraduccionales de la cromatina. Los genes miARNs suelen compartir patrones de expresión, reflejando transcripción policistronica, una característica con importancia funcional para el destino celular. El resto de los miARNs se localizan dentro de intrones (40%) o de los exones (10%) de genes. Se ha demostrado que algunos miARNs intrónicos pueden coexpresarse con sus genes huésped, mientras otros pueden impedir su transcripción. Por otro lado, los genes de miARN insertos dentro de los exones siguen

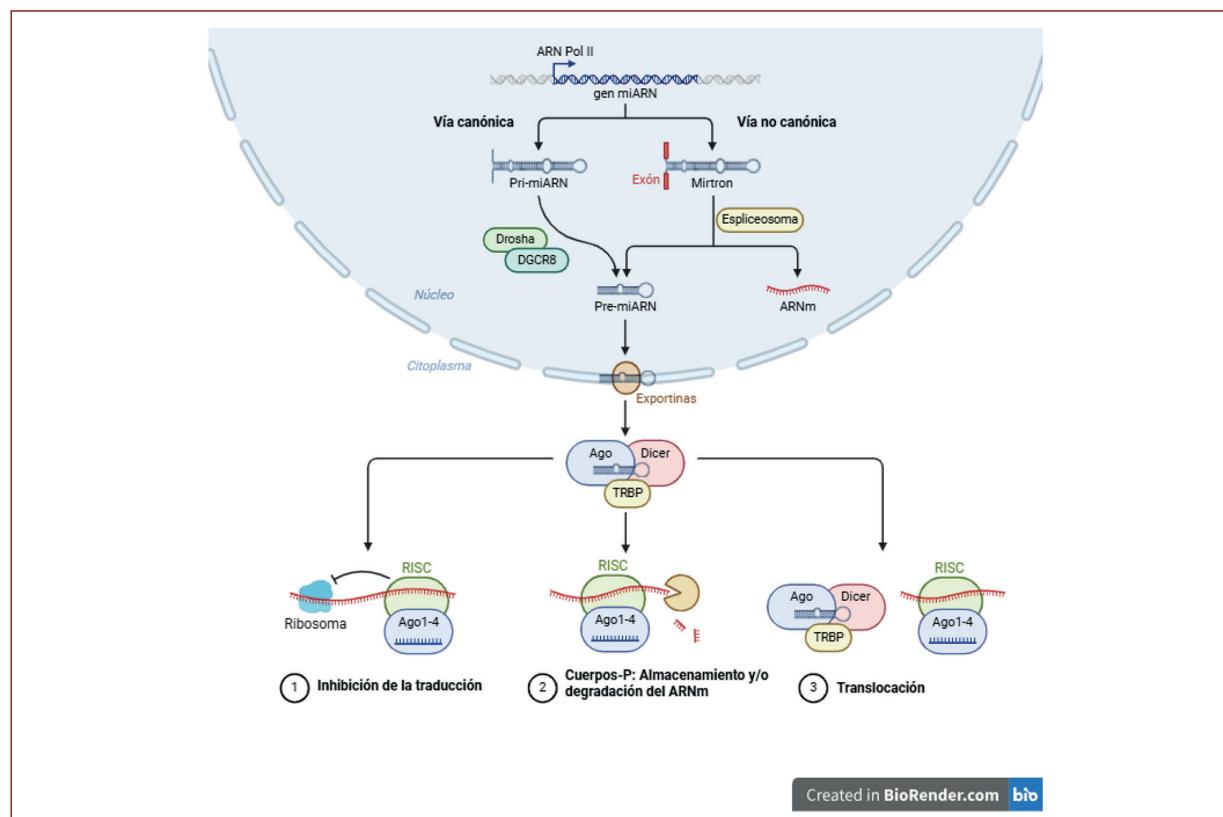
los patrones de transcripción de su(s) gen(es) huésped(es) si están codificados en la misma dirección del gen codificante. En consecuencia, los miARNs localizados dentro de los intrones o exones pueden contribuir al control de las redes a las que pertenece el gen huésped⁵.

Independientemente de la ubicación genómica, la generación de miARNs maduros implica el procesamiento de los transcritos primarios de miARNs (pri-miARNs) en el núcleo, un proceso altamente conservado. Los pri-miARNs se presentan como secuencias específicas con estructuras particulares que son reconocidas por el complejo microprocesador nuclear. Este complejo está compuesto por varias proteínas que reconocen y clivan una porción del pri-miARN para generar un grupo de precursores de miARNs (pre-miARNs) de 60-70 nucleótidos de largo, los cuales son exportados al citoplasma por Exportina 5. Una vez en el citoplasma, el pre-miARN es procesado por el complejo de carga RISC (RLC) en forma de dímeros de miARNs, los cuales son procesados por proteínas de la familia Argonauta (Ago) para dar los miARNs monocatenarios maduros de ~21 nucleótidos de largo. El proceso de generación de miARNs descrito se considera actualmente como la **vía canónica** y constituye la biosíntesis de la mayoría de los miARNs en mamíferos⁵ (Fig. 2).

Existen otras vías de generación de miARNs diferentes a la vía canónica. De acuerdo con el modo de incorporación al complejo de silenciamiento inducido por ARN (RISC) se han identificado varias **vías no canónicas** como la generación de mirtrones. La vía mirtron esta conservada desde las moscas hasta los mamíferos. En ella, los pre-miARNs se forman por empalme y desramado en horquillas directo desde los moldes de ARNm, o utilizando fragmentos derivados de ARNs diferentes de los ARNm como los nucleolares y de transferencia. Por último, se ha descubierto una nueva vía dependiente de Drosha pero independiente de Dicer para la generación de miARN. Esta vía se basa en la acción de Ago2 para la escisión pre-miARN⁵ (Fig. 2).

Una vez generados, los miARNs pueden ejercer su acción de alterar el perfil de expresión de ARNm. Los procesos más importantes son la formación de los complejos de silenciamiento, el direccionamiento y procesamiento de los ARN blancos⁵. Una vez generados, los miARNs se convierten en una parte integral del complejo efector RISC que incorpora una hebra de miARN con sus ARNm blanco, formando el complejo de silenciamiento. El grado de complementariedad entre el miARN y ARNm blanco define el mecanismo y el grado de silenciamiento. Una complementariedad perfecta desencadena la destrucción de los ARNm, un mecanismo raramente empleado en animales ya que sus miARNs generalmente muestran una complementariedad

Figura 2. Esquema general de la biosíntesis y mecanismo de acción de los miARN. La vía canónica produce los transcritos primarios (pri-miARN) a partir de genes de miARN codificados en regiones exónicas, intrónicas o intergénicas, seguido del procesamiento del complejo Drosha/DGCR8 para formar los precursores (pre-miARN). Las horquillas intrónicas de pre-miARN de la vía no canónica mirtron se forman mediante el empalme, la desramificación y el recorte de intrones cortos sin la acción de Drosha. Los pre-miARN generados por las vías canónicas y no canónicas se exportan desde el núcleo a través de Exportina 5, seguido de la escisión por Dicer dentro del complejo de carga, el desenrollado del dúplex miARN/miARN* a través de Argonauta (Ago) y la carga dependiente de TRBP en el complejo de silenciamiento inducido por ARN (RISC). La unión de los ARNm blanco a los miARN en RISC es seguida por la inhibición de la traducción y/o degradación del ARNm dentro de los cuerpos-P en el citosol



Adaptado de Ref. 4

dad parcial (Fig. 2). Las bases iniciales de la secuencia de miARN, conocidas como la “semilla”, definen la especificidad a los ARNm blanco, que deben aparearse perfectamente, tanto que mutaciones en dicha región pueden desencadenar genotipos patológicos. Por lo general, la unión de múltiples miARNs, ya sea del mismo o de diferentes miARNs, aumentará el nivel y la eficacia de la represión del ARNm. En definitiva, la unión miARN/ARNm blanco resulta en su desestabilización y degradación, así como la represión de la traducción (revisado en⁶). La degradación del ARNm ocurre en focos citoplasmáticos discretos conocidos como cuerpos de procesamiento (cuerpos-P) y gránulos relacionados al estrés. Estos gránulos participan en el silenciamiento de los ARNm blanco inducida por miARN mediante la represión de la transcripción dependiente de miARN así como de la traducción. Además, se ha demostrado que los miARNs interfieren con la actividad de los ribosomas, induciendo la caída de su actividad o facilitando la proteólisis de los polipéptidos nacientes (revisado en⁶). Estos múltiples mecanismos coexisten y pueden ocurrir en paralelo, por lo que cada tipo de célula puede aprovechar un mecanismo de silenciamiento distinto o una combinación de mecanismos de silenciamiento adaptados a sus propios requisitos biológicos. Otra consideración importante en la apreciación del silenciamiento génico mediado por miARN es que cada uno puede tener cientos de ARNm blancos, por lo tanto, tiene la capacidad de regular simultáneamente varios genes en una o varias vías biológicas determinadas. La elucidación del espectro de la regulación de miARN/

ARNm en cada célula dentro de sus diferentes compartimentos a varios niveles de actividad dependerá del análisis de la regulación de miARN/ARNm⁵ (Fig. 2).

Los miARNs no solo se encuentran dentro de las células, sino que pueden ser liberados a la circulación, encontrándose miARNs en prácticamente todos los fluidos biológicos y han sido propuestos como biomarcadores para diagnóstico y/o monitoreo de diversas enfermedades como cáncer, diabetes, esclerosis múltiple, hígado graso, preeclampsia, neurodegenerativas, etc.

Además, estos miARNs pueden transportarse en vesículas extracelulares que participan en el contacto directo entre las moléculas de la superficie de las células receptoras, en la endocitosis de vesículas y su fusión con la membrana de las células⁷.

Gracias al descubrimiento de Ambros y Ruvkun, y de numerosos colegas que contribuyeron a estos hallazgos, se reveló una nueva dimensión de regulación génica. Mientras que algunas proteínas en el núcleo regulan la transcripción del ARN y el *splicing*, los miARNs controlan la traducción y degradación de ARNm en el citoplasma. Esta capa de regulación génica post-transcripcional inesperada posee una importancia crítica en el desarrollo animal y en tipos celulares adultos y es esencial para la compleja vida multicelular⁴. Para finalizar señalamos que no fue la competencia sino la colaboración entre dos laboratorios lo que llevó al hallazgo de uno de los mecanismos fundamentales de la regulación génica. Y otro mensaje importante de este Premio Nobel es que los estudios básicos en un gusano llevaron a hallazgos de enorme importancia para la salud humana.

Bibliografía

1. The Nobel Assembly at Karolinska Institutet. The Nobel prize in physiology or medicine 2024: For the discovery of microRNA and its role in post-transcriptional gene regulation. 2024. En: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2024/advanced-information/Scientific>; consultado octubre 2024.
2. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993; 75: 843-54.
3. Wightman B, Ha I, Ruvkun G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans*. *Cell* 1993; 75: 855-62.
4. The University of Manchester. miRBase: The microRNA database. 2024. En: <https://www.mirbase.org/>; consultado octubre 2024.
5. O'Carroll D, Schaefer A. General principals of miRNA biogenesis and regulation in the brain. *Neuropsychopharmacology* 2013; 38: 39-54.
6. Fabian MR, Sonenberg N, Filipowicz W. Regulation of mRNA translation and stability by microRNAs. *Annu Rev Biochem* 2010; 79: 351-79.
7. Rosenberg ML, Oddo EM, Azurmendi PJ. Misiva de una célula a otra: vesículas extracelulares. *Medicina (B Aires)* 2024; 84: 544-7.