

## Los pequeños de ARN: el poder del silencio

\* Por Mariano Alló

Volvemos a sumergirnos en nuestra máquina del tiempo virtual para regresar a aquél espléndido castillo medieval napolitano del que tanto hemos hablado ya. Observaremos Nápoles en un período de tiempo muy especial, las festividades navideñas.

En vísperas de Navidad, y desde los primeros días de diciembre, el castillo se llenaba de invitados y distinguidos huéspedes que pasarían las fiestas en medio de lujuriosos festejos e interminables banquetes.

La actividad de la cocina se volvía caótica en esas fechas, se servían dos desayunos, un almuerzo con una enorme variedad de platos, una especie de merienda a media tarde y, finalmente, una cena voluminosa daba cierre a la actividad culinaria del día.

Para poder organizar mejor la labor de la cocina, Antonio Rubén Nuñez (ARN),

### **¿lo recordamos? Era el ayudante de cocina de Ruperto.**

Todas las noches organizaba en la biblioteca los platos que se iban a preparar al día siguiente. Con la ayuda del bibliotecario y el resto del personal, transcribían las celosas recetas que habían sido guardadas tan cuidadosamente, encriptadas en enigmáticos códigos para que ningún otro cheff de la época pudiera estar a la altura de los manjares que allí se preparaban. Pero ARN no sólo debía transcribir las recetas, además debía eliminar todos esos fragmentos “basura” que no servían y que formaban parte del misterioso código. Finalmente, dejaba todas las copias de las recetas en una caja cerrada ubicada bajo un enorme ventanal que daba a la fuente principal del castillo.

El rey tenía siete hijos pequeños: Gianluca de siete, Tommaso y Sebastiano de nueve (mellizos), Paolo de diez, Giovanna y Sabrina de doce (gemelas) y el mayor de todos, Tiberio de trece años de edad. Los hijos del rey eran más conocidos como los pequeños de ARN, ya que pasaban gran parte de su día haciéndole compañía al ayudante de cocina (ARN) que era como un tío para ellos y lo agobiaban con preguntas de todo tipo. Pero, sobre todo, estaban muy interesados en conocer los códigos secretos que utilizaban para almacenar, transcribir y copiar las recetas. Eran niños y para ellos descubrir secretos, develar misterios o descifrar códigos eran de las actividades más emocionantes que pudieran hacer.

De una inteligencia muy particular, los pequeños de ARN, se las habían ingeniado para conocer algunas de las recetas que, usualmente, formaban parte de los banquetes reales. Pero, fundamentalmente, habían logrado hacerse de las copias de un centenar de platos que ellos detestaban.

Aprovechando su conocimiento del castillo, durante la noche, se levantaban y se dirigían, secretamente, hacia la biblioteca donde se preparaban para realizar una tarea fantástica. En primer lugar se dividían las recetas de los platos no “deseados” en dos grupos. Cada grupo tenía, a su vez, una tarea diferente. A uno de los grupos ellos lo llamaban **PTGS** (estaba formado por Paolo, Tommaso, Giovanna y Sebastiano). Este grupo buscaba la caja que contenía las recetas transcritas por ARN ese mismo día y se dedicaban a buscar coincidencias entre estas recetas y los fragmentos que ellos poseían de los platos “no deseados” con el fin de detectar la posible presencia de alguno de ellos en el menú del día siguiente. Llamaremos a los fragmentos de recetas que ellos habían obtenido como “siARN”, una simplificación de “fragmentos a silenciar gracias a la información dada por **ARN**”. Como no sabían leer el lenguaje en el cual los libros estaban escritos, simplemente, buscaban equivalencias en las letras y, cuando finalmente encontraban la copia de una receta que contaba en su interior con un fragmento idéntico o muy parecido al que ellos tenían, procedían entonces a recortar y destruir la copia impidiendo que al día siguiente se utilizara para formar un plato.

Deberíamos recordar que las recetas estaban escritas en sus libros originales mediante textos ininterrumpidos, sin espacios ni separaciones. Existía un código que señalaba el inicio de una receta y su fin, y cuáles eran las regiones que debían ser removidas para su correcta utilización. Tomaremos, nuevamente, el inicio de la receta de Pato Sazonado con Hierbas, en este caso la transcripción en papel hecha por Antonio Rubén Nuñez, el bibliotecario y sus ayudantes.

HOJASDELAURELBATATASENCUBITOSCEBOLLASENTIRITAS**NUEVARECETAPATOS**

AZONADOCONHIERBASAGUAPORHERVIRDOSPATOSPREPARADOSCIRUELA**SMUYSECAS**

Los hijos del Rey odiaban este plato y gracias a su estrecha relación con ARN habían conseguido un fragmento de 21 letras (siARN) que sabían correspondía a la receta de ese plato repugnante. La intensa tarea que ellos realizaban era buscar esas 21 letras en las diferentes copias transcritas de recetas que se iban a utilizar el día siguiente. Cuando encontraban una alta coincidencia, destrozaban la copia hecha por Antonio recortándola en más fragmentos de 21 letras aumentando la cantidad de fragmentos “siARNs” que poseían sobre este plato, aumentando así la probabilidad de encontrar esa receta en una futura búsqueda. Veamos un ejemplo.

Copia de receta hecha por ARN:

HOJASDELAURELBATATASENCUBITOSCEBOLLASENTIRITAS**NUEVARECETAPATOS**

AZONADOCONHIERBASAGUAPORHERVIRDOSP**ATOSP**PREPARADOSCIRUELA**SMUYSECAS**

Fragmento de siARN: **ATOSP**PREPARADOSCIRUELA

Así ellos detectaban la secuencia correcta, en este caso “**ATOSP**PREPARADOSCIRUELA”.

**Pero mientras tanto ¿qué hacía el otro grupo?**

Ellos hacían un trabajo similar pero, sobre los libros originales; es decir, abrían estante por estante y recorrían, lentamente, libro a libro buscando coincidencias. Cuando las encontraban e identificaban una receta no deseada procedían a cerrar el cajón que contenía el libro con llave y pintarlo de rojo de manera tal que quedara explícito que estaba cerrado evitando, así, que pudieran volver a utilizarlo en un futuro inmediato.

Recordemos, nuevamente, que cada uno de los casilleros que albergaba libros en la biblioteca era pintado con colores de acuerdo a un código que facilitaba la búsqueda de recetas. Este grupo también tenía un nombre, entre ellos lo llamaban TGS (porque estaba formado por Tiberio, Gianluca y Sabrina).

A través de esta compleja tarea, los hijos del rey se divertían todas las noches y, además, se aseguraban un rico menú todos los días. Lentamente, y con esta trabajosa labor las recetas indeseadas eran silenciadas noche a noche.

En las células de nuestro cuerpo, pero también en las células de una mosca o cualquier otro animal, existen unos “siARN” que realizan una tarea similar silenciando o apagando la actividad de diversos genes.

Antes de adentrarnos más en la versión molecular de este proceso hagamos un poco de historia.

A finales de la década del 80 en el DNA Plant Technology de Oakland (Estados Unidos) el biólogo molecular y genetista de plantas Rich Jorgensen lideraba una investigación sobre la pigmentación de petunias. En realidad, lo que su grupo estaba intentando realizar eran petunias más coloridas por medio de modificaciones genéticas. Para ello habían introducido en la planta (en sus semillas, en realidad) copias extras de un gen involucrado en la producción de pigmentos de antocianina con la intención de que aumentara la actividad de este gen (como simple resultado de tener más copias) y, en consecuencia, de la pigmentación de las flores. Aquí, es donde aparecen los destellos de lo más hermoso que tiene la ciencia (en mi opinión): lo inesperado, la sorpresa. En contra de las predicciones las nuevas petunias no poseían flores de un violeta más intenso, sino que, muy por el contrario, en su mayoría tendían a ser blancas, sin pigmentación. Petunias albinas; ¡increíbles! COSUPRESIÓN fue el nombre que le pusieron a este nuevo fenómeno.



*Rich Jorgensen. Fue el primero en encontrar el fenómeno de interferencia por ARN trabajando con Petunias a principios de la década del 90.*

Jorgensen primero pensó que habían cometido algún error en la manipulación genética del gen que había introducido, pero al cabo de un tiempo y, tras una inspección profunda, comprendieron que no se trataba de ningún error, el gen estaba intacto, tanto la versión original de la planta como la introducida por ellos. Al analizar varias generaciones de cruzamientos recíprocos entre estas plantas, ellos veían que, en algunos casos, la coloración reaparecía, lo cual indicaba que el efecto que estaban observando no ocurría a nivel de ADN (en el capítulo 6 hemos hablado acerca de la irreversibilidad de una mutación en un gen, estos cambios son permanentes y, por lo tanto, no debería volver a generar pigmentación) sino que la producción de las antocianinas estaba siendo interrumpida en otro paso.

De acuerdo a lo que ya conocemos del camino que recorre la información genética desde un gen hasta la producción de la proteína por él codificada, sabemos que existen varios puntos en los cuales este proceso podría ser obstaculizado. Principalmente estos son:

1. Transcripción
2. Procesamiento y maduración del ARN
3. Exportación del núcleo al citoplasma
4. Traducción del ARN en proteínas

Hasta este punto, los investigadores desconocían en cuál de los cuatro niveles mencionados actuaba la cosupresión. En 1990 Jorgensen publicó sus resultados dando a cono-



cer a toda la comunidad científica, por primera vez, este mecanismo de silenciamiento de genes. Posteriormente, muchos otros laboratorios publicaron resultados similares. Más aún, Su Guo, en la Universidad de Cornell (Estados Unidos) trabajando con el conocido gusanito *C. elegans* encontró que, introduciendo copias de ARN, lograba silenciar de manera eficiente genes que tuvieran la misma secuencia. El mecanismo seguía siendo un misterio.

Pero para descifrar este enigma, los investigadores tuvieron que esperar ocho años más. Así fue que Andrew Fire en el *Carnegie Institution* de Washington en Baltimore y Craig Mello de la *University of Massachusetts Medical School* en Cambridge (ambos en Estados Unidos) allanaron el camino en 1998. Su descubrimiento fue publicado en la prestigiosa revista *Nature*, y allí describían un proceso a través del cual introducían pequeñas moléculas de ARN de doble cadena de 21 letras (nucleótidos) con la misma secuencia del gen que querían silenciar y observaban una notable disminución en la actividad de dicho gen. Sabemos que la molécula de ADN es, en realidad, una doble hélice formada por dos cadenas que están unidas por complementariedad de sus letras (RECORDEMOS: C con G y A con T), sin embargo, las moléculas de ARN conocidas hasta aquel momento eran, mayoritariamente, de cadena simple, a excepción de algunos virus que poseían ARN de doble cadena como material hereditario. Fue un hallazgo sorprendente. A partir de ese momento se han publicado centenares de trabajos científicos describiendo el funcionamiento de este nuevo mundo de la Biología Molecular: el mundo de los ARN pequeños.



a  
.....  
b



*a. Petunias. Jorgensen agregó copias extras de un gen involucrado en la pigmentación de la planta.*

*b. Resultado inesperado. Para su sorpresa y la de muchos más; las petunias portadoras de las copias extras del gen fueron albinas! No sólo no consiguieron aumentar su pigmentación sino que por el contrario la eliminaron. Había "gato encerrado".*

Esta novedosa disciplina ha dado por tierra con los viejos paradigmas de la Biología Molecular. El ARN tiene muchos otros papeles y funciones extras a ser un mensajero o formar parte de la maquinaria molecular que lleva adelante la síntesis proteica. El descubrimiento realizado por Mello y Fire, fue algo así como divisar la punta de un iceberg, pero, por debajo de la superficie, una montaña de hielo aún aguardaba por ser encontrada.

Por este descubrimiento, ambos investigadores fueron galardonados con el Premio Nobel de Medicina en el 2006, pero toda rosa tiene su espina e injustamente el pionero de toda esta historia, Jorgensen, no fue tenido en cuenta en semejante distinción.