

Detecta moléculas de ARN de doble cadena (largas) y las corta en pequeños fragmentos de 19-21 nucleótidos de longitud (el tamaño depende de la especie ya sea humanos, moscas, gusanos, etc.). Así se originan los siARNs. Estos ARN pequeños se unen en el citoplasma celular con un grupo de proteínas denominado RISC que será el verdadero escáner de ARN mensajeros citoplasmáticos. De esta manera RISC, unido al ARN pequeño, rastrea todos los ARN mensajeros maduros buscando secuencias iguales al siARN. Si encuentran una secuencia que comparte TODAS las letras con el ARN pequeño, entonces, una nueva proteína que forma parte del grupo RISC entra en acción. Conocida como AGO2 (Argonauta 2) ésta será la encargada de “guillotinar” al ARN mensajero, iniciando así su destrucción. En la medida que el complejo vaya encontrando muchas moléculas del mismo ARN mensajero, comenzará a disminuir su cantidad total en el citoplasma, en consecuencia los ribosomas tendrán menos ARN para traducir y, finalmente, habrá menos proteína sintetizada a partir de ese mensajero.

Por su parte, los miARNs fueron descritos como endógenos, es decir, formaban parte de manera natural de la célula, su origen era interno. Pero no provenían de largas moléculas de ARN de doble cadena, en cambio, sus precursores eran distintos tipos de ARN (muchas veces ARN mensajero inmaduro) que tenían secuencias complementarias internas y cercanas conformando un loop para generar un pequeño fragmento de doble cadena.

¿Qué es loop? ¿Qué era complementaria?

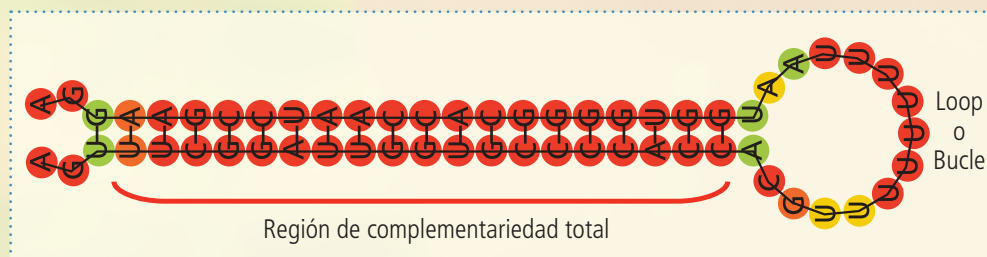
Recordemos qué quiere decir que una secuencia sea complementaria. Sabemos que la molécula de ADN está formada por dos hebras complementarias entre sí, esto quería decir que una A siempre estaba apareada con una T, y lo mismo ocurría con la C y una G. Entonces, CCC es una secuencia complementaria de GGG o CGTA es complementaria de GCAT, o ATTTGGC de TAAACCG. Recordemos, también, los intrones: son las regiones internas de un gen que van a ser eliminadas durante el procesamiento del ARN. Muchos miARNs se encuentran alojados en intrones. Veamos ahora la secuencia parcial del transcripto de un intron de un gen cualquiera pero, antes, tengamos en cuenta que en el ARN la T es reemplazada por una U que sigue siendo complementaria de una A:

AGU**UUCGGAUUGGUGCCCCACCA**CGUUUUUUUUUAUGGUGGGGGCACCAUCCGAAGGA

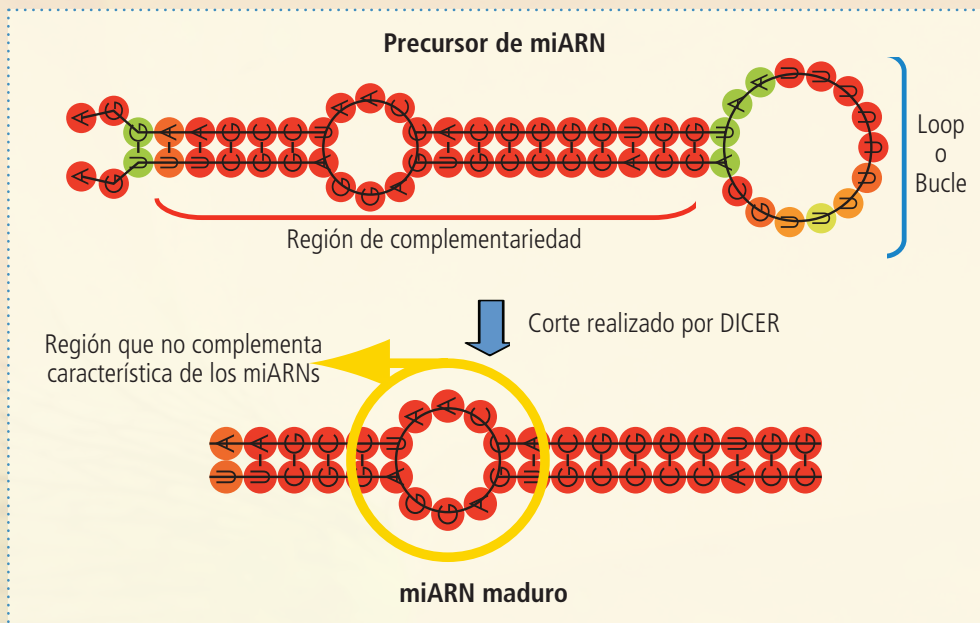
En rojo he marcado secuencias complementarias.

¿Cuál es la secuencia complementaria de **UUCGGAUUGGUGCCCCACCAU**?

Es **AAGCCUAACACGGGGUGGU**. Que no es lo mismo que **AUGGUGGGG-CACCAUCCGAAA**. ¿Entonces? No he puesto este ejemplo para confundir. Miremos qué pasa si la región pintada en azul formara un bucle o loop (un simple giro como una U):



De esta manera las dos regiones mostradas en rojo en la secuencia se vuelven complementarias y se unen formando una pequeña estructura de doble cadena. Así se originan la mayoría de los miARNs y esta estructura forma lo que se conoce como precursor de miARN. Si existiera una secuencia como ésta, ubicada en el intron de un gen, entonces podría ser reconocida por una proteína llamada Drosha luego de que el intron sea recortado durante el *splicing*. Drosha, a su vez, recortara el ARN a ambos lados del precursor dejando la estructura de doble cadena con el bucle de manera similar a esta figura. Luego este precursor será exportado hacia el citoplasma donde DICER lo utilizará como si fuera un siARN cortando y dejando sólo la región de doble cadena, la cual también se unirá al complejo RISC. Sin embargo, a diferencia de los siARNs los miARNs no son utilizados para “guillotinar” el mensajero que tiene su misma secuencia. Junto a RISC escanean los ARN mensajeros maduros en el citoplasma, pero cuando encuentran una secuencia similar se quedan unidos al ARN impidiendo que el ribosoma lo traduzca. Si bien no rompen directamente al mensajero, al impedir que se sinteticen nuevas proteínas a partir de él logran, con el paso del tiempo, que disminuya la cantidad de esa proteína en la célula. ¿Por qué? La razón es simple. En la célula se produce un constante mantenimiento de las proteínas. Para impedir que actúen defectuosamente son degradadas (desarmadas) constantemente y sintetizadas de nuevo. Los miARNs impiden que una proteína siga sintetizándose. Como este ciclo de mantenimiento sigue ocurriendo la proteína es degradada sin que se forme nuevamente. Conclusión: baja la cantidad total de esa proteína.



¿Cómo diferencia la maquinaria celular entre un siARN y miARN para saber si debe cortar el ARN mensajero o simplemente impedir su traducción?

La realidad es que todos los miARNs tienen un par de letras en el medio de la región marcada en rojo que no son complementarias entre sí, formando una alteración en la doble hebra. Esta alteración es suficiente para que AGO2 no corte el ARN mensajero, aunque se quedará pegado a él impidiendo el paso del ribosoma y su correcta actividad.

Entonces, digamos que los siARNs son ARN de doble cadena 100% complementarios entre sí y su función es cortar el ARN mensajero que posee una secuencia idéntica. Mientras que los miARNs, además de poseer un origen diferente, tienen algunas letras que no complementan alterando la estructura de doble cadena. A pesar de sus pequeñas diferencias en el modo de actuar, ambos realizan la misma función: silenciar la expresión de genes.

Ambos mecanismos forman parte de la vía que conocemos como **PTGS**, igual que en el ejemplo del castillo, ya que generan un silenciamiento de genes post-transcripcional, en el citoplasma de la célula sin afectar la actividad original del gen.

La función biológica de los siARN y los miARNs se ha convertido en un verdadero desafío para los biólogos moleculares, ya que está íntimamente relacionada con procesos vitales del desarrollo de un organismo y la aparición de muchas enfermedades.

En los últimos dos años se han descubierto una enorme cantidad de siARNs de origen interno a la célula o, como nosotros solemos decirles, endógenos. Este descubrimiento ha sido extraordinariamente novedoso ya que se creía que sólo provenían de virus y otros patógenos.

¿Cómo se originan y qué función cumplen estos siARNs endógenos? ¿Funcionan de la misma manera que los que describimos anteriormente?

Estamos caminando sobre la fina línea que separa el conocimiento recientemente adquirido y lo desconocido, lo cual aumenta considerablemente el interés (al menos a mi entender). El origen comienza a develarse y parte de su función también.

Nuestro genoma, al igual que muchos otros, está poblado de “parásitos genómicos” que son secuencias que cada tanto se mueven de un lugar a otro ayudadas por unas proteínas muy especiales.

¿Por qué son parásitos?

Bueno, porque cuando “saltan” por el genoma muchas veces caen en el medio de genes, y al interrumpir la secuencia del gen lo “mutan”, el gen deja de ser funcional y, así, aparecen un montón de enfermedades. Pero la sabia naturaleza ha encontrado una forma de impedir que salten libremente por el genoma. Y es allí donde vuelve a aparecer la vía de interferencia por ARN y los ARN pequeños. La misma vía que silencia genes es capaz de silenciar a los parásitos saltadores. ¿Cómo lo hace?

Estas secuencias “transponibles” (que se mueven de un lugar a otro) tienen dos particularidades interesantes. En primer lugar, para poder moverse por el genoma (transponerse) muchas de ellas necesitan convertirse en ARN, es decir ser transcriptas. Otras sólo necesitan ser reconocidas por el componente molecular que se encarga de movilizarlas, para lo cual necesitan estar ubicadas en regiones accesibles, visibles. En segundo lugar, generalmente, estas secuencias se transcriben a partir de las dos hebras de ADN en los dos sentidos (ver Esquema pág. anterior). Los genes comunes siempre

se transcriben a partir de una sola hebra que es la que se utiliza como molde para sintetizar una molécula de ARN complementaria.

¿Qué se nos ocurre que puede pasar cuando algo se transcribe a partir de las dos hebras?

En primer lugar, vamos a tener dos moléculas de ARN diferentes, una formada a partir de cada hebra, pero, además, ambas van a ser complementarias entre sí (de la misma manera que ocurre con el ADN) permitiendo que se unan para conformar un ARN de doble cadena. Esto ya es conocido (¿recuerdas DICER?). Ese ARN doble cadena va a ser cortado en pedazos más pequeños dando origen a siARNs endógenos (formados en el interior de la célula), los cuales a su vez, van a unirse a un grupo de proteínas conocido como RITS y juntos, escanearán los nuevos ARN nacientes buscando secuencias iguales. Por lo tanto, cuando la región que los originó sea transcrita nuevamente, estos siARNs (junto a RITS) descubrirán su presencia y como una alarma recién encendida “llamarán” con urgencia a los bomberos celulares, quienes en lugar de apagar un incendio se ocuparán de apagar la transcripción de esas secuencias mediante el reclutamiento de un dispositivo molecular capaz de aumentar la compactación del ADN, enrollándolo más y ocultándolo, tanto de la maquinaria transcripcional como de aquellas proteínas capaces de movilizarlos por el genoma. Simplemente lo apagarán. El resultado final será una inmovilización de las secuencias saltarinas mediante un cambio en la estructura de la cromatina que esconderá al ADN en medio de una gran masa compacta.

Pero la sorpresa es que estas secuencias saltarinas, o parásitos genómicos, inundan nuestro genoma, están por todos lados. Incluso adentro de los genes, en los intrones. Por lo tanto, a medida que la maquinaria celular regula el funcionamiento de estas secuencias apagándolas, es capaz de apagar de manera simultánea un gen ubicado en cercanías. Y esto ocurre todo el tiempo. Los siARNs endógenos regulan la actividad de los genes.

Este mecanismo de silenciamiento estaba representado en la analogía de los hijos del Rey. Por un lado los pequeños destruían las copias de las recetas que encontraban, pero al mismo tiempo, otro grupo buscaba en la mismísima biblioteca las recetas originales y, cuando las encontraban, lo que hacían era literalmente esconderlas cerrando los casilleros que contenían los libros con dichas recetas y pintando esos casilleros con colores que indicaban que estaban cerrados. De esa manera impedían que el ayudante de cocina volviera a utilizarlos prontamente. De la misma forma que en este ejemplo, la vía molecular capaz de silenciar secuencias a nivel genómico es llamada **TGS** y se refiere al silenciamiento transcripcional de genes que, ahora sí afecta la actividad original del gen involucrado, apagando su transcripción. El poder del silencio.

.....