

A las corazonadas hay que darles una oportunidad: microARNs en *Tetrahymena thermophila*

FRANCISCO AMARO, DAVID GONZÁLEZ Y JUAN-CARLOS GUTIÉRREZ

Dpto. Genética, Fisiología y Microbiología. Facultad de Biología. Universidad Complutense (UCM). 28040. Madrid.

✉ juancar@bio.ucm.es

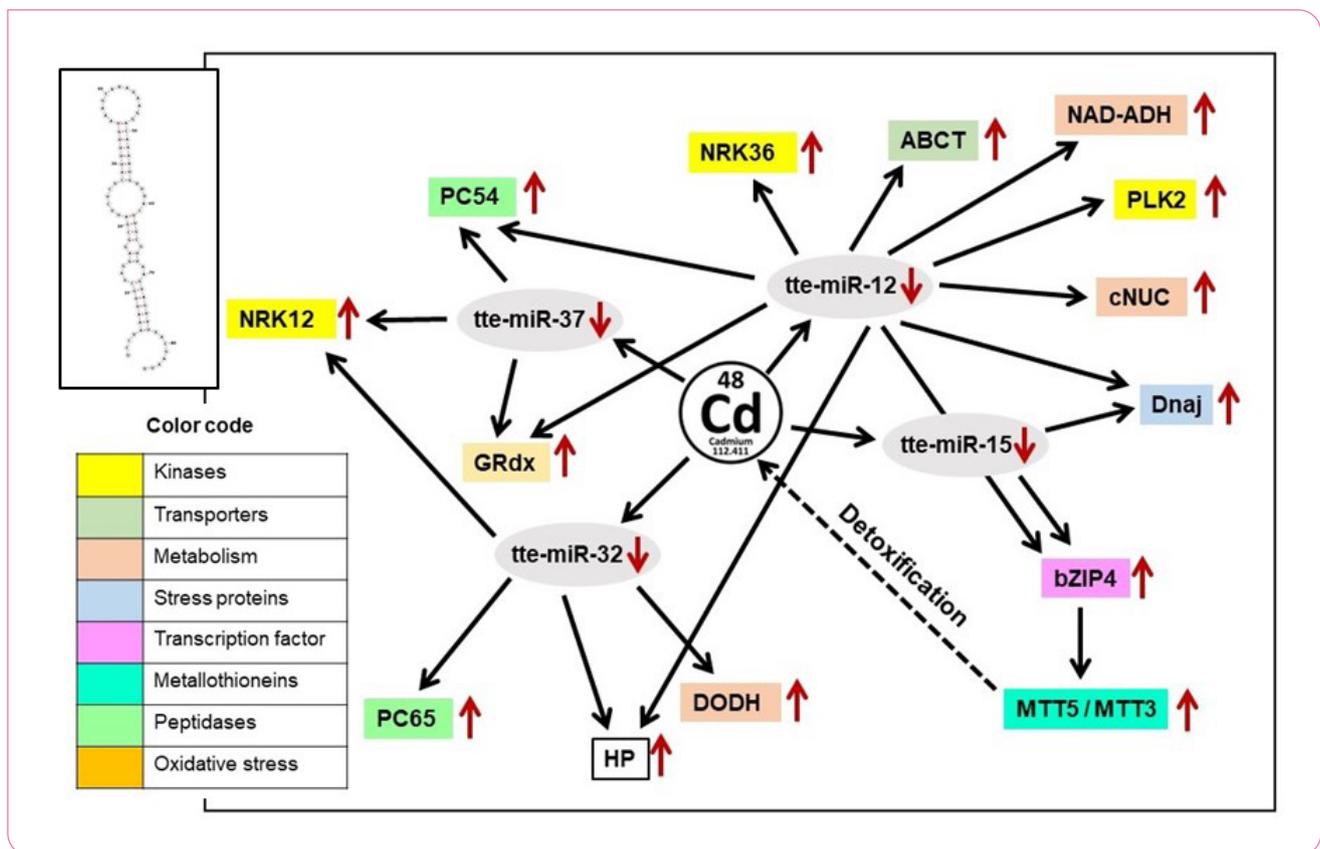


Figura 1. Resumen gráfico de los resultados de validación por qRT-PCR de algunos tte-miARNs y sus dianas. En la parte superior izquierda se muestra la estructura 2D del pre-tte-miR-1.

En los años 2011 al 2015 participé, como uno de los dos representantes españoles, en la acción COST BM1102 (Ciliates as model systems to study genome evolution, mechanisms of non-Mendelian inheritance, and their roles in environmental adaptation) en la que participaron 35 países.

En una de las reuniones, que se celebró en Sevilla, presenté (con dos diapositivas) lo que estábamos realizando en nuestro grupo junto con lo que nos proponíamos investigar en un futuro. Y en este punto hablé sobre la posibilidad de buscar microARNs, como un mecanismo epige-

nético regulador postranscripcional bajo el estrés por metales en el ciliado *Tetrahymena thermophila*. Tras la presentación una colega francesa, de cuyo nombre no quiero acordarme, me espetó con firme convicción que los microARNs como reguladores postranscripcionales no existían en *Tetra-*

hymena. Le respondí que ante la ausencia de datos sería positivo investigarlo, y como indicó J.E. Traver y colaboradores (2012) en un manuscrito sobre la historia evolutiva de los microARNs: "la ausencia de evidencia no implica evidencia de su ausencia" (frase originalmente atribuida al astrofísico Carl Sagan).

Teniendo en cuenta que *T. thermophila*, como otros ciliados, es el microorganismo eucariota que presenta un genoma con el mayor número de genes ortólogos con el ser humano (incluyendo algunos relacionados con enfermedades humanas) comparado con el modelo *Saccharomyces cerevisiae* (Eisen *et al.*, 2006), y que en el ser humano existen cientos de microARNs implicados tanto en procesos de desarrollo como en la respuesta a diferentes estrés y enfermedades, surgió la corazonada (o la hipótesis) de su posible existencia en este microorganismo. Hace dos años, tuvimos la posibilidad de dilucidarla descubriendo, por primera vez en este microorganismo, microARNs implicados en la regulación postranscripcional de genes ligados a la respuesta estrés frente a la toxicidad por cadmio (Cd).

El trabajo se ha publicado en la revista *Microbiological Research* (2024), del cual destacamos los siguientes puntos:

1. Un total de 40 microARNs fueron aislados de muestras derivadas de cultivos tratados con Cd (1 o 24h) junto con un cultivo control. Un 75% de ellos fueron específicos de cada tipo de cultivo, y solo un 2,5% eran comunes a los tres tipos de cultivos. El análisis de más de 3.000 microARNs depositados en el banco miRBase han mostrado que estas moléculas presentan características únicas. Y para asegurarse de que lo que estudias son realmente microARNs, se han de cumplir algunas de estas características.

2. Los tte-miRNAs, como los hemos denominado, satisfacen todas las características estándar de los microARNs de animales, tales como a) su longitud promedio es de 23 nucleótidos, como los de los metazoos. b) la composición de sus secuencias muestra valores del UA% > CG%. c) la localización preferente de los residuos de uracilo está en el extremo 5´ de la región denominada "semilla" (principal región de apareamiento con el ARNm o molécula-diana). d) una misma diana (ARNm) puede ser regulada por muchos diferentes tte-miRNAs, y viceversa un único tte-miRNA puede regular la expresión de múltiples ARNm. e) entre los tte-miRNAs hay tres tipos de IsoMiRs (isoformas de microARNs), que han sido previamente descritos en otros organismos, más dos nuevas clases no descritas hasta ahora. f) todos los pre-tte-miRNAs (secuencias precursoras de los tte-miRNAs) presentan una estructura secundaria de horquilla (típica de los microARNs). g) los genes que contienen los pre-tte-miRNAs presentan muchos intrones, y un cierto porcentaje de estas secuencias precursoras se localizan en intrones (5´, 3´-mirtrones). h) el patrón de apareamiento entre la región "semilla" de los tte-miRNAs y la diana (3´ UTR-ARNm) es el lugar 7mer-m8, como ocurre en otros organismos.
3. Un análisis por RT-PCR cuantitativa validó los tte-miRNAs aislados bajo el estrés por Cd, y se satisfizo la relación inversa: represión (down-regulation) de un particular tte-miRNA y sobre-expresión (up-regulation) de su diana (ARNm) correspondiente. Muchos de las dianas (ARNm) predichas asociadas con estos tte-miRNAs son consistentes con el escenario de la respuesta celular frente al estrés

por Cd. De especial interés para nosotros ha sido la diana bZIP4 (factor de transcripción (FT) del tipo cremallera de leucina). bZIP4 está involucrado en la regulación de la expresión de 3 genes codificantes de metalotioneinas (MTT5, MTT3 y MTT2/4) en *T. thermophila* (De Francisco *et al.*, 2018), y es una diana para tres tte-miRNAs (tte-miR-12, -15 y -40). El hecho de que bZIP1 aparezca como una diana solo para tte-miR-40, en muestras tratadas con Cd (1h), ratifica que este FT está implicado en la expresión del gen MTT1, una metalotioneina preferentemente inducida por Cd, corroborando así el modelo que propusimos en De Francisco *et al.* (2018).

Creemos que esta publicación podría ser un elemento precursor de un más extenso análisis de los microARNs de *T. thermophila*, actuando como un mecanismo epigenético de regulación postranscripcional bajo estrés abiótico o biótico.

