

# LA EPITRANSCRIPTÓMICA, UNA CAPA REGULADORA CODIFICADA QUÍMICAMENTE

Sandra Blanco

Centro de Investigación del Cáncer (CIC), Instituto de Biología Molecular y Celular del Cáncer, CSIC - Universidad de Salamanca

<https://doi.org/10.18567/sebbmrev.226.202509.dc5>



**D**urante décadas, el dogma central de la biología planteado por Francis Crick en 1958, nos ayudó a entender las reglas de la expresión génica: el ADN se transcribe a ARN, y éste se traduce a proteínas. Esta secuencia de procesos biológicos establecía una vía unidireccional y sencilla de cómo se descodifica el código genético. Sin embargo, tras años de investigación en biología molecular, ahora sabemos que la realidad es mucho más compleja, y aunque todavía desconocemos las reglas completas del código, sabemos que cada paso de este

flujo de información está sujeto a varios niveles de regulación. Por ejemplo, el ADN y la expresión génica en general están regulados por modificaciones químicas que decoran el ADN, como la metilación del ADN, mecanismos que son estudiados por la epigenética. La función, estabilidad y localización subcelular de las proteínas también están reguladas por gran número de modificaciones posttraduccionales, como la fosforilación o la metilación, entre otras muchas modificaciones químicas. Asimismo, el propio ARN sufre modificaciones químicas. En este

contexto ha emergido un nuevo campo de investigación revolucionario: la epitranscriptómica, que estudia las modificaciones químicas del ARN y cómo influyen en su función, expresión, estructura y localización subcelular, sin alterar su secuencia de nucleótidos.

## Las modificaciones del ARN: más allá de la transcripción

El descubrimiento de las modificaciones del ARN se remonta a la década de 1950, cuando se detectaron nucleótidos modificados en ARN ribosomales (ARNr) y de transferencia (ARNt). No sorprendentemente, ya que estos tipos de ARN son los que albergan mayor número de modificaciones. Posteriormente estas modificaciones han sido detectadas en ARN mensajeros (ARNm) y en otros tipos de ARN no codificante, como microARNs (miARNs) y ARN largos no codificantes (ARNlnc), aunque en estos últimos las modificaciones son menos prevalentes.

No obstante, no fue hasta 2011 cuando se comenzó a reconocer el impacto funcional de estas modificaciones gracias al avance tecnológico de las técnicas de secuenciación masiva y de biología molecular. Las investigaciones del Profesor Chuan He, en la Universidad de Chicago (EE.UU.), descubrieron que la actividad funcional del gen *Fat mass and obesity-associated protein (FTO*, por sus siglas en inglés), cuyas mutaciones y variaciones genéticas se habían asociado a varias enfermedades humanas neurológicas y metabólicas, consistía en desmetilar ARNs metilados en la posición N6 de la adenosina (m<sup>6</sup>A). Un año después, el Profesor Samie R. Jaffrey, de Weill Cornell Medicine, y el Profesor Gideon Rechavi, de la Escuela de Medicina Sackler de la Universidad de Tel Aviv, desarrollaron una técnica de secuenciación que permitió mapear de manera global, con resolución de

nucleótido, la modificación m<sup>6</sup>A en ARNm de humanos y ratones. Estos descubrimientos revelaron que los ARNm humanos estaban metilados en adenina-6, y que esta modificación era reversible y, por tanto, regulada por proteínas específicas, cuya función era esencial para el funcionamiento del organismo y su alteración podría causar enfermedades. Este hallazgo marcó el nacimiento de la epitranscriptómica como disciplina, que fue acuñada como tal en 2015.

m<sup>6</sup>A no es la única modificación que decora el ARN. Existen más de **170 modificaciones** químicas diferentes en el ARN. Muchas de ellas están muy conservadas entre diferentes organismos, pero otras son específicas de especie y del tipo de ARN. Aunque todavía no existen métodos que nos permiten mapear de forma precisa y con resolución a nivel de nucleótido todas ellas, ni conocemos la

función biológica de la gran mayoría, en los últimos 14 años hemos avanzado en el conocimiento del impacto funcional y patológico de algunas de ellas. Algunas de las modificaciones más estudiadas son 6-metiladenosina, 5-metilcitosina (m<sup>5</sup>C), pseudouridina (Ψ) y metilación 2'O de la ribosa (Nm) (Figura 1).

- **6-metiladesina (m<sup>6</sup>A)**. Es la modificación más abundante en ARNm en mamíferos, aunque también se encuentra en ARNt y ARNr. Su formación está mediada por la metiltransferasa 3 (METTL3, por sus siglas en inglés), y es reversible mediante las demetilasas FTO y AlkB homolog 5 (ALKBH5). Su función ha sido principalmente estudiada en ARNm, en el que está vinculada a regulación de la estabilidad y la traducción de los ARNm modificados. Estas marcas no están distribuidas al azar, sino que aparecen en

contextos específicos: regiones no traducidas del ARNm (UTR, por sus siglas en inglés: región no traducida), exones codificantes, y en algunos casos, en la caperuza del extremo 5'. Además, pueden cambiar dinámicamente según el estado celular o fisiológico, lo que las convierte en una herramienta fina de regulación postranscripcional.

- **5-metilcitosina (m<sup>5</sup>C)**: se trata de la metilación de la citosina en posición 5. Se trata de una modificación muy abundante del transcriptoma de mamíferos, especialmente en ARNt y ARNr, aunque también se ha detectado en ARNm. En ARNt, m<sup>5</sup>C contribuye a mantener una conformación adecuada para el reconocimiento del codón por parte del anticodón, y también protege al ARNt frente a la degradación por endonucleasas. En los ARNr, esta modificación

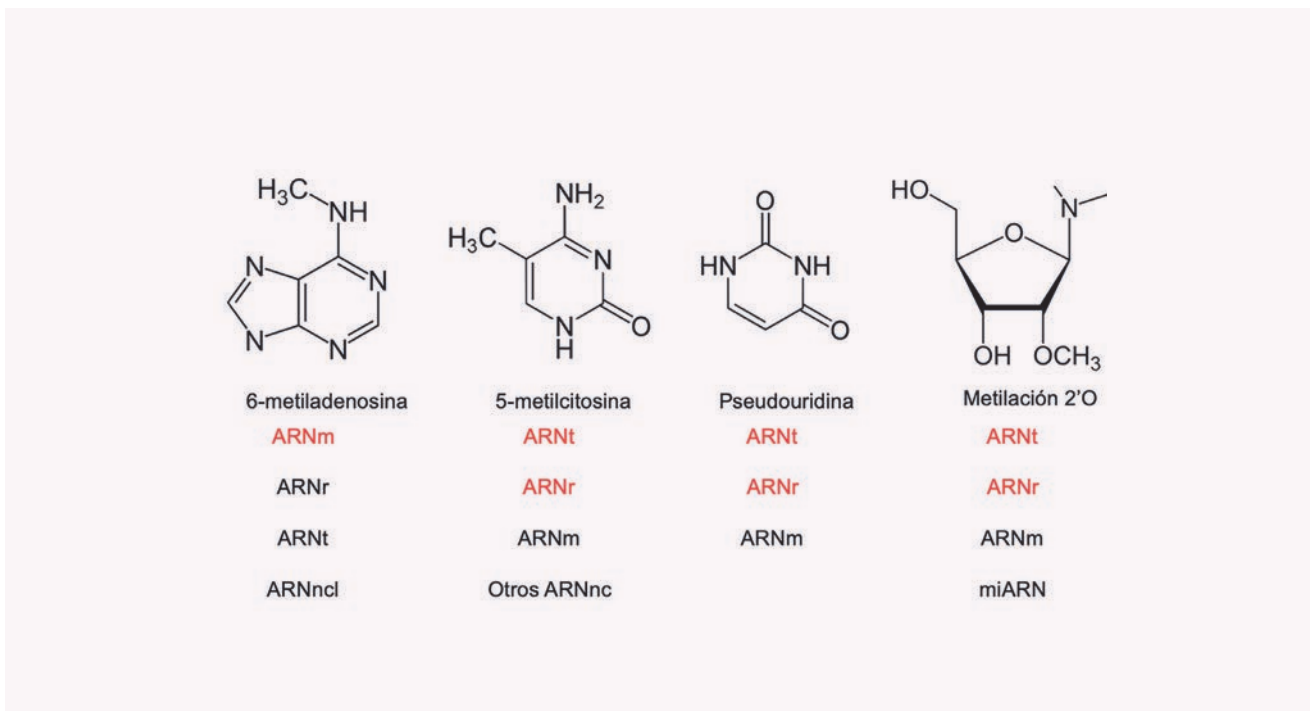


Figura 1

Estructuras químicas de algunas modificaciones de ARN. ARNm: ARN mensajero; ARNt: ARN de transferencia; ARNr: ARN ribosómico; ARNlnc: ARN largo no codificante; ARNnc: ARN no codificante; miARN: microARN. El color rojo indica el tipo de ARN con modificaciones preferentes.

está implicada en la biogénesis ribosomal y puede influir en la precisión y eficiencia de la traducción. Su metilación en mamíferos está mediada por enzimas de la familia *NOP2/Sun domain family* (NSUN1-7) y por DNA methyltransferase-2 (DNMT2). En los ARNm, esta modificación es dinámica y reversible, gracias a la acción de enzimas demetiladoras de la familia 'Ten-eleven translocation' (TET, por sus siglas en inglés). Su función en ARNm se ha asociado con la actividad en el transporte del núcleo al citoplasma del ARNm, la estabilidad del transcrito y su eficiencia de traducción. Curiosamente, ciertos patrones de metilación en m<sup>5</sup>C también parecen estar regulados en respuesta a condiciones de estrés celular o procesos de diferenciación.

- **Pseudouridina (Ψ):** es una modificación muy abundante en el transcriptoma eucariótico y la primera que se descubrió en ARN. Es frecuente en ARNt y ARNr, y más recientemente también se ha detectado en ARNm, aunque en menor proporción. La pseudouridina es un isómero de la uridina, lo que confiere mayor rigidez estructural. Esta modificación no es reversible, y su incorporación está mediada por la pseudouridil sintasa Diskerina que, a su vez, es guiada por ARN cortos hacia su secuencia diana, o enzimas de la familia Pseudouridine synthase (PUS, por sus siglas en inglés) que no necesitan guía de ARN. En ARNt y ARNr, la pseudouridina desempeña funciones clave en la estabilidad estructural y la eficiencia de la traducción. Recientemente, esta modificación ha adquirido especial relevancia en el diseño de vacunas de ARN, como las vacunas frente a la COVID-19, donde la sustitución de uridinas

por pseudouridinas ha permitido mejorar la estabilidad del ARNm sintético y reducir la activación del sistema inmune innato, favoreciendo una traducción más eficiente y sostenida.

- **Metilación 2'O de ribosa (Nm):** esta modificación consiste en la metilación del oxígeno 2 de la ribosa de un nucleótido. Es una modificación frecuente en ARNr y ARNt, pero también se ha identificado en ARNm. En ARNm se localiza principalmente en la región 5' UTR y en la caperuza del extremo 5'. Su catálisis está mediada por la metil-metilasa Fibrilarina, que está guiada a sus secuencias diana por ARNs cortos. Nm contribuye en la estabilización de la estructura tridimensional del ARN y su resistencia a la degradación por nucleasas, la eficiencia de traducción, la maduración del ARNm y la evasión del sistema inmune, especialmente en el contexto de infecciones virales o terapias con ARN sintéticos.

### El nodo epitranscriptómico: enzimas escritoras, borradoras y proteínas lectoras

La regulación epitranscriptómica se basa en un trío funcional, compartido con la red epigenética:

- **Enzimas escritoras:** como el complejo metilasa de adenina-6 formado por METTL3 que es la unidad catalítica, y varios reguladores como Methyltransferase 14 (METTL14), WT1 Associated Protein (WTAP), Vir like m6A methyltransferase associated (VIRMA), RNA binding motif protein 15 (RBM15), zinc finger CCCH domain-containing protein 13 (ZC3H13).
- **Borradoras:** como las enzimas dedicadas a demetilar o eliminar el grupo metilo de las adeninas metiladas en posición 6 como FTO o ALKBH5.
- **Lectoras:** son proteínas que reconocen los nucleósidos

modificados como las proteínas de la familia YTH Domain Family (YTHDF1-3), que interpretan las modificaciones para ejecutar funciones celulares (Figura 2).

Este sistema recuerda al que ocurre en la epigenética del ADN y demuestra que el ARN también tiene su propio «código» regulador, análogo a un código epigenético. No obstante, hay varias diferencias. Por ejemplo, algunas de las modificaciones de ARN son complejas y se deben a una reacción en cadena de varias enzimas escritoras, como por ejemplo mcm<sup>5</sup>s<sup>2</sup>U o 5-metoxicarbonilmetil-2-tiouridina, una modificación común en ARNt. Además, todavía no se han encontrado enzimas borradoras para la mayoría de las modificaciones de ARN, y se sospecha que algunas de ellas no son reversibles. Tampoco se han encontrado proteínas lectoras para la mayoría de las modificaciones de ARN.

### Regulación epitranscriptómica con impacto a nivel celular

Las consecuencias funcionales de estas modificaciones son muy amplias (Figura 2). Pueden:

- aumentar o reducir la estabilidad de la estructura tridimensional del ARN,
- aumentar o reducir la estabilidad del ARN, determinando su vida media,
- modular la eficiencia de traducción, alterando la cantidad de proteína sintetizada,
- modular la eficiencia de transcripción, alterando la cantidad de ARNm transcrito,
- afectar la localización subcelular del ARN,
- regular el *splicing* alternativo, modificando qué isoformas de proteína se expresan.

Estas funciones son relevantes para el funcionamiento normal de una célula, así como en el desarrollo embrionario, en procesos de respuesta celular al estrés o a

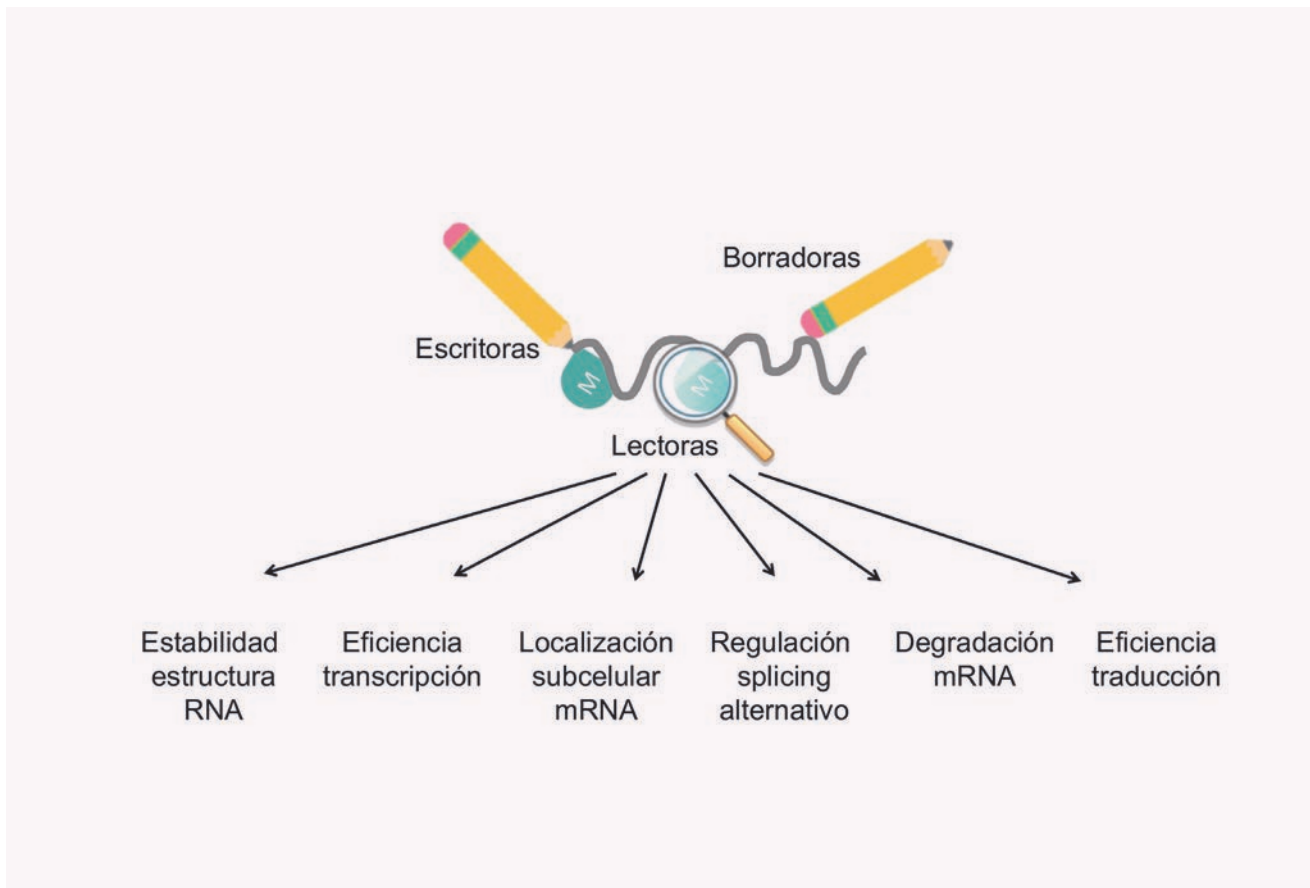


Figura 2 El sistema epitranscriptómico de enzimas escritoras, borradoras y proteínas lectoras, y sus implicaciones funcionales.

otros estímulos, en la diferenciación celular, en la proliferación y el crecimiento celular.

### Impacto del epitranscriptoma en enfermedades

El papel del epitranscriptoma en el desarrollo de procesos patológicos es particularmente evidente en enfermedades neurológicas y cáncer. Por ejemplo, sabemos que alteraciones en la expresión o en la actividad catalítica de las proteínas escritoras, borradores y lectoras puede llevar a un desequilibrio en la cantidad de modificaciones encontradas en el ARN. Consecuentemente este desbalance, puede alterar procesos de estabilidad del ARNm, síntesis de proteína, *splicing* alternativo entre otros procesos en genes o transcritos específicos,

lo que puede favorecer o desfavorecer la proliferación celular descontrolada, la evasión a la muerte celular programada, la evasión del sistema inmune o la supervivencia y resistencia a terapias. Por ejemplo, en ciertos tipos de leucemia y otros tumores sólidos, una expresión incrementada de la metilasa METTL3, comparado con las células normales, promueve un aumento de la acción de esta metilasa, incrementando la metilación m6A específicamente en los transcritos que codifican para oncogenes. Este incremento de metilación en estos oncogenes induce un aumento de su traducción, dando lugar a una ventaja para las células tumorales. Estas observaciones han abierto nuevas posibilidades terapéuticas. En concreto, se están empezando a

desarrollar fármacos específicos que bloquean la acción de estas enzimas modificadoras del ARN que son más activas en las células tumorales.

### El epitranscriptoma: un código postranscripcional de la regulación génica

Una de las grandes barreras en el avance de este campo ha sido las técnicas que se utilizan para poder identificar estas modificaciones en el ARN. Las modificaciones del ARN no cambian la secuencia, por lo que no son visibles en métodos tradicionales de secuenciación. No fue hasta mediados de la década de 2010, gracias a tecnologías tales como la meRIP-seq (donde se realiza la inmunoprecipitación de ARN modificados con anticuerpos que

reconocen la metilación m<sup>6</sup>A) y, más recientemente, la secuenciación directa por nanoporos, cuando ha sido posible identificar y mapear estas modificaciones a nivel de nucleótido.

Con estos avances tecnológicos se ha podido comprobar que los patrones epitranscriptómicos son diferentes entre tejidos, condiciones o tipos celulares. Los datos sugieren que el epitranscriptoma es dinámico y confiere plasticidad e identidad celular. Este nuevo paradigma del ARN, cuyo código epitranscriptómico supone una capa de información clave del código genético, se contrapone a su concepción inicial como simple mensajero del ADN, y ahora lo ha convertido en un actor principal en la regulación génica. La epitranscriptómica permite dar una respuesta celular rápida, plástica y reversible, sin que haya mutaciones o alteraciones en la arquitectura del ADN.

## Aplicaciones biomédicas y biotecnológicas

Actualmente, la epitranscriptómica es una herramienta aplicada en biomedicina y en biotecnología. En biomedicina, sus aplicaciones se extienden desde el desarrollo de terapias que se centran en inhibir o bloquear las enzimas escritoras y borradoras implicadas en la aparición de cáncer, hasta el diseño de ARN terapéuticos modificados estables y eficaces. Ejemplos recientes de estas dos aplicaciones son la puesta a punto de inhibidores farmacológicos que ya están en ensayos clínicos para la enzima METTL3, o las vacunas de ARNm desarrolladas frente a la COVID-19 que incorporaron modificaciones como la pseudouridina para mejorar su estabilidad y reducir la respuesta inmune adversa. En el campo de la biotecnología, el control epitranscriptómico podría ser clave para la producción de proteínas recombinantes en bacterias, la

optimización de la tasa de traducción en determinadas células, o la reprogramación celular.

En conclusión, la epitranscriptómica se encuentra aún en una fase relativamente joven, pero su crecimiento es vertiginoso. El descubrimiento de que la modificación m<sup>6</sup>A es abundante en ARNm en mamíferos y reversible solamente fue el inicio. Desde entonces, el desarrollo de tecnologías de secuenciación y edición de ARN en la última década han abierto una nueva frontera del conocimiento. Hoy, se considera que el ARN no solo porta información genética, sino también información reguladora codificada químicamente.

Estamos ante una revolución comparable a la epigenética del ADN, pero con la ventaja de que los cambios en el ARN son más rápidos y reversibles, lo que los convierte en herramientas ideales para terapias temporales, personalizadas y de alta precisión.

### Para leer más

Blanco S, Bandiera R, Popis M, Hussain S, Lombard P, Aleksic J, Sajini A, Tanna H, Cortes-Garrido R, Gkatza N, Dietmann S, Frye M. Stem cell function and stress response are controlled by protein synthesis. *Nature* 534 (2016) 335-340. <https://doi.org/10.1038/nature18282>

Dominissini D, Moshitch-Moshkovitz S, Schwartz S, Salmon-Divon M, Ungar L, Osenberg S, Cesarkas K, Jacob-Hirsch J, Amariglio N, Kupiec M, Sorek R, Rechavi G. Topology of the human and mouse m6A RNA methylomes revealed by m6A-seq. *Nature* 485 (2012) 201-206. <https://doi.org/10.1038/nature11112>

Jia G, Fu Y, Zhao X, Dai Q, Zheng G, Yang Y, Yi C, Lindahl T, Pan T, Yang YG, He C. N6-methyladenosine in nuclear RNA is a major substrate of the obesity-associated FTO. *Nature Chemical Biology* 7 (2011) 885-887. DOI: 10.1038/nchembio.687

Meyer KD, Saletore Y, Zumbo P, Elemento O, Mason CE, Jaffrey SR. Comprehensive analysis of mRNA methylation reveals enrichment in 3' UTRs and near stop codons. *Cell* 149 (2012) 1635-1646. DOI: 10.1016/j.cell.2012.05.003

Nombela P, Miguel-Lopez B, Blanco S. The role of m(6)A, m(5)C and Psi RNA modifications in cancer: Novel therapeutic opportunities. *Molecular Cancer* 20 (2021) 18. <https://doi.org/10.1186/s12943-020-01263-w>