

# SEBBM DIVULGACIÓN

## ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



### miR96: primer microRNA asociado a una patología monogénica de herencia mendeliana

**Miguel Ángel Moreno Pelayo**

Unidad de Genética Molecular del Hospital Ramón y Cajal, Madrid

#### **Biografía**    **Resumen**

Miguel Ángel Moreno Pelayo (Cádiz, 1968) es Ldo. en CC. Biológicas (1992) por la UCM. Realizó su tesis de licenciatura en el campo de la embriología y su tesis doctoral en Inmunogenética en el Dpto. de Inmunología del Hospital 12 de Octubre. En 1999, comenzó su etapa postdoctoral en genética humana en el campo de las sorderas hereditarias en el laboratorio del Dr. Richardson (Univ. de Sussex, UK) trabajando en la generación de modelos animales (ratones transgénicos). Desde 2003 es investigador estabilizado I3SNS en la Unidad de Genética Molecular del Hospital Ramón y Cajal, donde dirige la línea de investigación, "Hipoacusias autosómicas de herencia dominante: epidemiología genética, análisis funcionales y generación de modelos murinos". Entre sus principales logros cabe destacar la identificación de dos nuevos genes asociados a sordera autosómica dominante: *CCDC50* asociado a la sordera *DFNA44*; y el primer microRNA (*miR96*), asociado a un trastorno monogénico de herencia Mendeliana, la sordera *DFNA50*. Prof. Asociado del Dpto. de Bioinformática de la Universidad Carlos III de Madrid, desde el año 2008 forma parte del panel de expertos de la Comisión Técnica de Evaluación del Instituto de Salud Carlos III.

*Desde su descubrimiento en los años 90, un nuevo tipo de moléculas reguladoras, los microRNAs, han alcanzado un gran protagonismo al estar implicadas en un amplio rango de patologías, que se caracterizan por exhibir un patrón de expresión génica desregulado, y en el que se encuadran algunos tipos de cáncer. Ahora hemos demostrado por primera vez su asociación a una patología monogénica de herencia Mendeliana, la hipoacusia DFNA50.*

#### **Summary**

*Since their discovering in the nineties, a novel type of regulatory molecules, the microRNAs, have gained special prominence because their implication in a wide range of pathologies, which are characterized by a dysregulated gene expression pattern, including some types of cancer. Now, we have demonstrated for the first time their association with a Mendelian monogenic disorder, the DFNA50 hearing loss.*

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

[http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos\\_10/acercate-a-nuestros-cientificos\\_107](http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107)

Desde hace una década las miradas se han centrado en los denominados microRNAs (miRNAs), como un nuevo paradigma en el campo de la regulación de la expresión génica. Dichas moléculas son RNAs no codificantes de pequeño tamaño que modulan la expresión de centenares de genes implicados en una gran variedad de procesos biológicos (1). Los miRNAs sufren un procesamiento secuencial por RNAsas III a partir de un mensajero primario (pri-miRNA) para generar una molécula precursora de unos 70 pb (pre-miRNA) con estructura de tallo-lazo (Fig. 1a), que es exportada al citoplasma donde es procesada en una segunda etapa para obtener la secuencia madura funcional de unas 20 a 25 pb. El miRNA funciona como un adaptador que permite al complejo inductor de silenciamiento (miRISC) reconocer un mRNA en particular y bloquear su traducción. La secuencia determinante de la especificidad en la interacción entre el miRNA y sus dianas recibe el nombre de región seed. Esta región abarca siete bases, desde la posición 2 a la 8, en el extremo 5' de la secuencia madura. Las secuencias diana que reconocen los miRNAs se caracterizan por presentar una perfecta complementariedad con la región seed y suelen situarse en la región 3'UT de los mRNAs (2). Los mecanismos de represión postranscripcional mediados por miRNAs incluyen la inhibición directa del inicio de la traducción, la degradación de los péptidos nacientes o la separación prematura de los ribosomas y el mRNA. Parece ser que la intensidad de la regulación va a depender del número de dianas presentes en el mRNA (3). En cuanto a los mecanismos de patogénesis identificados podemos citar la desregulación cuantitativa de un miRNA, como el observado en algunos tipos de cáncer, y la presencia de mutaciones en la región 3'UT de un mRNA que pueden afectar a dianas de microRNAs provocando su desaparición o la aparición de nuevas dianas que llevaría a una regulación inapropiada del gen en cuestión. Sin embargo, hasta el momento no se habían encontrado variaciones en la secuencia madura de un miRNA que estuvieran directamente implicadas en el desarrollo de alguna enfermedad. Ésta era la situación

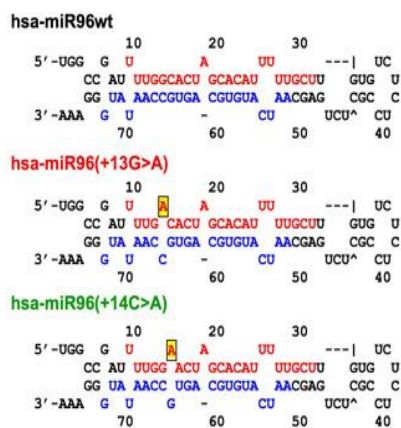
SEBBM  
SEBBM

Sociedad Española  
de Bioquímica y  
Biología Molecular

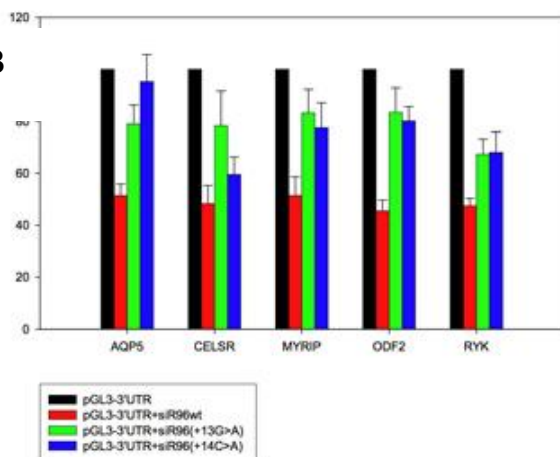
existente cuando nuestro grupo consiguió mapear en la región 7q32 un nuevo loci de sordera, denominado DFNA50, tras estudiar una familia que presentaba una hipoacusia progresiva de manifestación postlocutiva (aparece después de haber adquirido el lenguaje) y de herencia autosómica dominante. Una vez excluidos más de una decena de genes candidatos, la suerte hizo que a finales del 2007 un clúster de microRNAs, denominado miR96-182-183 fuera anotado en nuestro intervalo crítico. En ratón los miembros de este grupo de miRNAs se expresaban en células ciliadas y neuronas sensoriales tanto del vestíbulo como de la cóclea y estaban evolutivamente muy conservados, ya que además de en ratón (4) se han localizado en células sensoriales del ojo, epitelio olfativo, neuromastomas y oídos en el pez cebra (5). Dichas características convertían a miR96-182-183 en excelentes candidatos para la sordera DFNA50. La secuenciación de este clúster nos permitió identificar en miR96; un cambio en heterocigosis (G>A) en la secuencia madura del micro RNA que modificaba la tercera base de la región seed (Fig.1A).

nuestra colección y conseguimos identificar otra mutación en heterocigosis, C>A, que también se localizaba en la región seed (Fig. 1A) y afectaba a la base contigua a la mutada en la primera familia (6). Ambas mutaciones segregaban con la sordera en las respectivas familias y no estaban presentes en población control. ¡¡¡Eureka!!! Habíamos identificado la causa de la sordera DFNA50 en un nuevo tipo de gen, un microRNA, y lo que era más fascinante, era el primero implicado en una patología monogénica de herencia Mendeliana. Nuestros hallazgos obtuvieron el respaldo definitivo, cuando el grupo dirigido por la Prof. Steel (Sanger Center, Hinxton, UK) identificó en un modelo de ratón denominado *diminuyendo*, una tercera mutación puntual en heterocigosis en el gen miR96 murino, que también afectaba a la región seed en una base distinta a las mutadas en humano (7). Dicho ratón mostraba una sordera progresiva asociada a la degeneración de las células ciliadas. Alcanzado este punto, era evidente que la simple modificación de una base en la región seed en miR96 era suficiente para causar sordera en humano y ratón. Los experimentos posteriores evidenciaron que las mutaciones identificadas en ambas familias impedían el correcto procesamiento de miR96, había una disminución muy significativa de moléculas maduras mutadas, aunque todavía se podían detectar por Northern blot. Sobre esta base diseñamos ensayos de luciferasa que pusieron de manifiesto que las moléculas de miR96 mutantes eran menos eficientes a la hora de silenciar las dianas de miR96 ensayadas (Fig. 1b), y silenciaban de manera más eficiente nuevos genes, que presentaban dianas complementarias a las regiones seed mutadas. Lo mismo ocurría en el caso del ratón *diminuyendo*. De hecho, nuestra hipótesis actual es que las diferencias fenotípicas existentes (edad de manifestación y perfil auditivo) entre las dos familias con sordera DFNA50 podría deberse a un repertorio diferente de dianas desreguladas, cuyo desciframiento arrojará luz sobre los procesos biológicos que se ven afectados, y ayudará al diseño de terapias específicas dirigidas a paliar el deterioro progresivo de la audición en los individuos portadores de estas mutaciones.

A



B



**Figura 1. A) Estructura tallo-lazo del pre-miR96. B) Ensayo de luciferasa sobre genes diana de miR96.**

Obviamente, quisimos ver si ésta u otras mutaciones en miR96 podían explicar la sordera en otras familias de

## Referencias

- 1.- Nilsen TW. (2007) Mechanisms of microRNA-mediated gene regulation in animal cells. *Trends Genet.* 23: 243-9.
- 2.- Bartel, DP. (2009) MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell* 136: 215-33.
- 3.- Kloosterman WP, Plasterk RH. (2006) The diverse functions of microRNAs in animal development and disease. *Dev Cell.* 11: 441-50.
- 4.- Weston MD, y cols. (2006) MicroRNA gene expression in the mouse inner ear. *Brain Res.* 1111: 95-104.
- 5.- Wienholds E, y cols. (2005) MicroRNA expression in zebrafish embryonic development. *Science.* 309: 310-1.
- 6.- Mencía A, y cols. (2009) Mutations in the seed region of human miR-96 are responsible for nonsyndromic progressive hearing loss. *Nat Genet.* 41:609-13.
- 7.- Lewis MA, y cols. (2009) An ENU-induced mutation of miR-96 associated with progressive hearing loss in mice. *Nat Genet.* 41: 614-8.