



La luz y el splicing alternativo en plantas

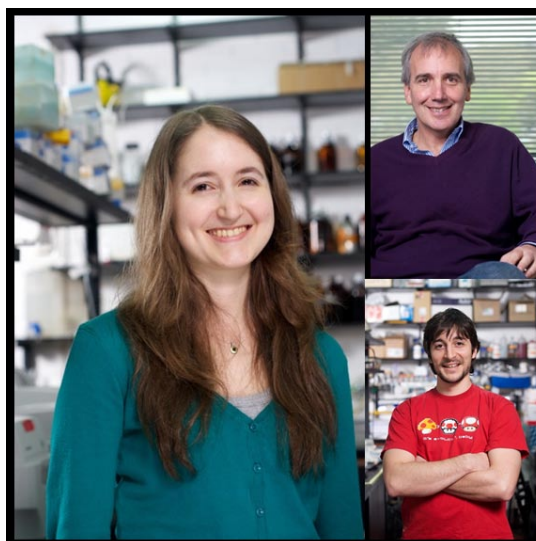
Resumen

El siguiente artículo resume los principales experimentos y hallazgos de un trabajo publicado recientemente en la revista *Science* por un grupo de científicos argentinos liderados por Alberto Kornblihtt (Figura 1). El objetivo principal del trabajo consistió en tratar de entender cómo el proceso de *splicing* alternativo se regula en plantas. Para llevar a cabo estos experimentos se utilizó una planta que sirve como modelo en investigación en biología molecular llamada *Arabidopsis thaliana*. Lo que se encontró es que si las plantas son expuestas a la luz, el *splicing* alternativo es diferente al de plantas que permanecen en oscuridad. Por otro lado, en experimentos realizados con drogas que inhiben la fotosíntesis se descubrió que la fotosíntesis y el cloroplasto son necesarios para que las plantas reaccionen ante la luz, y cambien sus patrones de *splicing* alternativo. Por último, se encontró que tiene que haber una señal que viaja de hojas a raíces que permite que en las raíces cambie el *splicing* alternativo por acción de la luz.

por Micaela Godoy Herz

Micaela Godoy Herz es Licenciada en Ciencias Biológicas y docente del Departamento de Fisiología y Biología Molecular (FCEyN, UBA). Actualmente se encuentra realizando el Doctorado en Ciencias Biológicas bajo la dirección de Alberto Kornblihtt en el LFBM-IFIBYNE-CONICET. Le interesa estudiar, en general, cómo se regula la expresión de los genes de las plantas, y en particular, cómo cambia la estructura de la cromatina en plantas expuestas a la luz y a la oscuridad.

Figura 1: Micaela Godoy Herz (izquierda), Alberto Kornblihtt (derecha, arriba) y Ezequiel Petrillo (derecha, abajo). Ellos son algunos de los autores que publicaron el trabajo en *Science*, junto con colaboradores de otras partes del mundo. Ezequiel Petrillo es el primer autor del trabajo. Alberto Kornblihtt lideró a todo el equipo de investigación. Micaela Godoy Herz es segunda autora del trabajo, y responsable de este artículo. Fotos: Oliver Kornblihtt y Diego Spivacow.



El splicing alternativo

Todas las células vivas guardan su información hereditaria en forma de moléculas de ácido desoxirribonucleico (ADN). En el caso de los organismos eucariotas esta información se encuentra almacenada en el interior de su núcleo. Los genes contienen (entre otras cosas) la información para producir las proteínas de la célula. La información que se encuentra contenida en la molécula de ADN es copiada a una molécula más pequeña de ácido ribonucleico (ARN) por un proceso llamado transcripción.

El ARN actúa como una molécula intermediaria. Esta molécula de ARN sale del núcleo hacia el citoplasma de la célula, y es allí donde es leída por una máquina de la célula, el ribosoma, para fabricar las proteínas, a partir de moléculas más pequeñas que actúan como ladrillos, los aminoácidos. Es decir, el ADN contiene las instrucciones para hacer proteínas. Estas instrucciones están también presentes en la molécula de ARN, y a partir de ella, la célula tiene toda la información necesaria para construir sus proteínas. Se dice que la molécula de ARN actúa como un mensajero porque dirige la síntesis de proteínas según la información almacenada en el ADN de la célula.

No todas las moléculas de ARN tienen como destino final la traducción para hacer proteínas. Este es solo uno de los recorridos posibles. Algunas moléculas de ARN pueden cumplir otras funciones. Se los llama ARN no codificantes (en contraposición a los ARN codificantes, que son los que contienen la información para hacer las proteínas).

En el caso de los ARN codificantes, el proceso que acabamos de relatar es, en última instancia, una transferencia de información: desde la molécula de ADN en el núcleo, pasando por la molécula intermediaria de ARN, hasta la fabricación de las proteínas. Existen diversas etapas intermedias que ocurren durante esta transferencia de información. Una de ellas es la maduración de la molécula de ARN. Cuando se fabrica a partir de un molde de ADN, el ARN es una molécula inmadura o primaria (Figura 2). Esta molécula recibe el nombre de transcrito primario. La maduración consiste en el agregado de algunas moléculas a los extremos del ARN, por un lado, y al *splicing* (o corte y empalme), por otro. A uno de los extremos se le agrega un nucleótido modificado, llamado CAP. Al otro extremo se le agrega una repetición de adeninas, que se conoce con el nombre de cola de poliA. Luego de estos procesos se obtiene una molécula de ARN maduro.

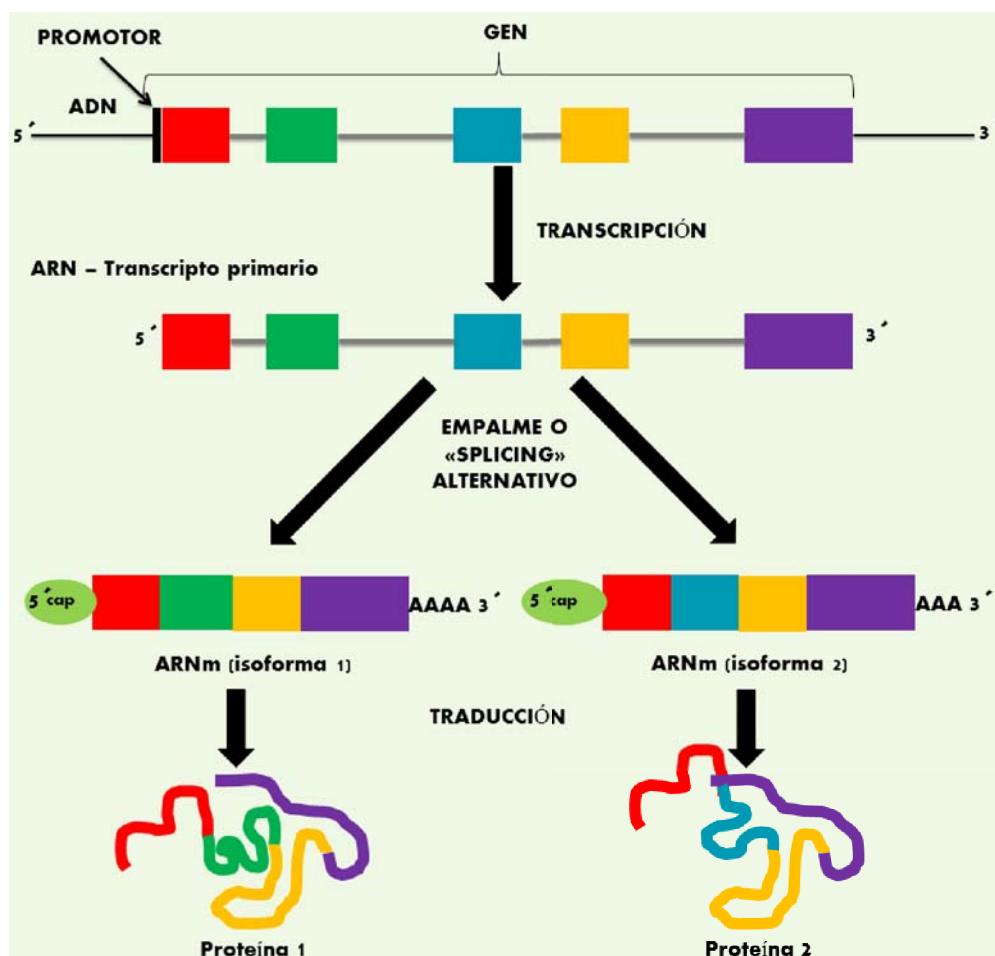


Figura 2: A partir de un gen (se muestra solo la cadena 5'>3'), compuesto por exones (en colores) e intrones (en gris) se obtiene, por el proceso de transcripción, una molécula de ARN llamada transcrito primario. La maduración del transcrito primario consiste en tres procesos: el agregado de un nucleótido modificado al extremo 5' de la molécula (llamado CAP), el agregado de la cola de poliA al extremo 3' del ARN y el corte y empalme, o *splicing*, que consiste en quitar los intrones y empalmar los exones. Los exones forman parte de la molécula de ARN maduro. Como vemos en la figura, a partir de una molécula de ARN primario podemos obtener más de una combinación de ARN maduro: la isoforma 1 cuenta con los exones rojo, verde, amarillo y violeta mientras que la isoforma 2 está formada por los exones rojo, azul, amarillo y violeta. Esto se llama *splicing* alternativo. Luego, por el proceso de traducción, que ocurre en el citoplasma, cada una de las isoformas servirá de molde para que la maquinaria traduccional fabrique proteínas diferentes.

El *splicing* es el proceso por el cual cierta parte de la molécula de ARN es cortada y vuelta a empalmar, eliminando en este proceso algunas regiones. Las porciones de la molécula de ARN primario que están presentes en la molécula de ARN madura se llaman exones. Las porciones que son eliminadas en el proceso de *splicing* se llaman intrones. Luego de que el *splicing* ocurra, la molécula de ARN madura estará compuesta por exones. Durante este proceso puede ocurrir que la nueva molécula se corte y empalme de diferentes maneras. Esto dará lugar a diferentes variantes de ARN maduro. Entonces lo que permite el *splicing* alternativo es obtener diferentes moléculas de ARN maduro a partir de un mismo gen.

Estos procesos de maduración del ARN que acabamos de describir son propios de células eucariotas; en procariontes, la regulación de la expresión genética es diferente.

El *splicing* alternativo ocurre en diversos organismos, desde moscas, pasando por humanos y plantas. En este artículo nos vamos a referir a una nueva regulación del *splicing* alternativo estudiada en plantas.

La luz y las plantas

Este trabajo de investigación sobre *splicing* alternativo y plantas comenzó hace algunos años. El objetivo principal era tratar de entender cómo se regula este proceso. Para ello se utilizó una especie que sirve como modelo en investigación en biología molecular llamada *Arabidopsis thaliana*, que es un yuyo, pariente lejano de la mostaza (Figura 3).

Lo que se encontró es que si las plantas son expuestas a la luz, el *splicing* alternativo es diferente al de las que permanecen en oscuridad. Esto quiere decir que la proporción de las variantes de *splicing* alternativo (las diferentes moléculas de ARN maduro que se obtiene a partir de un mismo gen) es diferente en luz y en oscuridad. Entonces, la luz regula este proceso. Pero, ¿cómo hacen las plantas para sentir la luz? Cuentan con moléculas especializadas en el sentido de luz: los fotorreceptores. Una herramienta de trabajo en biología molecular de plantas que es muy útil para abordar estas preguntas es usar mutantes. Se pueden generar en el laboratorio plantas que tienen anulado un gen en particular. En este caso, se usaron organismos que tienen anulados los genes que tienen la información para fabricar los fotorreceptores: a esta planta se la llama mutante de fotorreceptores. Es idéntica a una planta salvaje, salvo por esta pequeña diferencia. Entonces, si el experimento de la luz y la oscuridad se hacía sobre mutantes para los fotorreceptores, el efecto de la luz sobre el *splicing* alternativo no cambiaba. Esto quiere decir que las plantas están *viendo* la luz, pero de otra manera.



Figura 3: *Arabidopsis thaliana*, la estrella del trabajo. Esta planta se usa como organismo modelo para la investigación en biología molecular de plantas y eucariotas.
Foto: Krzysztof Ziarek. CC BY-SA 3.0 via Wikimedia Commons - https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Arabidopsis_thal_kz1.jpg#/media/File:Arabidopsis_thal_kz1.jpg

La fotosíntesis (una vieja amiga)

La fotosíntesis es el proceso por el cual las plantas –y algunos otros organismos– producen glucosa a partir de compuestos inorgánicos (dióxido de carbono y agua) y la energía de la luz solar. Las plantas cuentan con una organela especializada en hacer fotosíntesis, el cloroplasto, que se encuentra dentro de los tejidos verdes. El cloroplasto puede captar la energía de la luz solar y utilizarla para fijar carbono y producir azúcar, que luego será exportada a otras partes no fotosintéticas.

Lo que se encontró en este trabajo es que si el experimento de la luz y la oscuridad se hacía con plantas tratadas con drogas que inhiben el proceso de fotosíntesis, los cambios en *splicing* producidos por luz ya no se observaban. Esto quiere decir que la proporción de las diferentes moléculas de ARN maduro que se obtiene a partir de un mismo gen es la misma en luz y en oscuridad: la planta se comporta como si no estuviera viendo la luz. Entonces, la fotosíntesis y el cloroplasto son necesarios para que reaccionen ante la luz, y cambie su *splicing* alternativo.

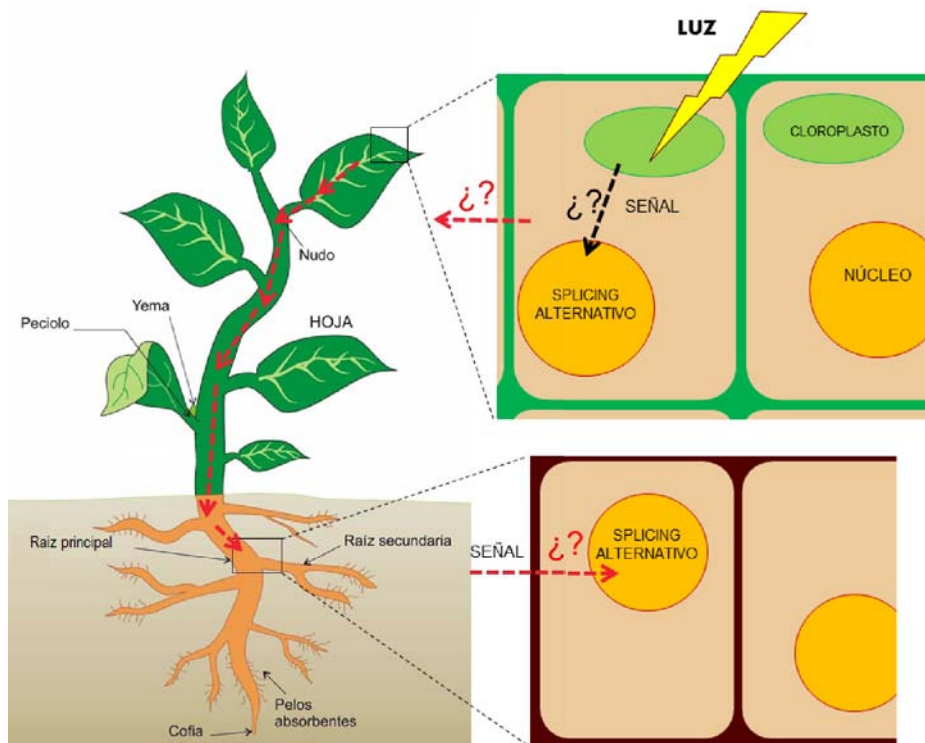


Figura 4: El modelo de trabajo. La luz es recibida por las hojas de la planta. El cloroplasto, que se encuentra en el citosol, envía una señal al núcleo y le informa sobre la presencia de la luz. Esto produce cambios en el *splicing* alternativo en el núcleo. Además, otra señal es capaz de viajar de hojas a raíces y es necesaria para que en las raíces cambie el *splicing* alternativo por acción de la luz. Por el momento, la naturaleza de las dos señales (podría ser la misma o no) es algo que permanece desconocido.

El *splicing* alternativo ocurre en el núcleo de las células de la plantas. Por lo tanto, estos experimentos muestran que el cloroplasto, que se encuentra en el citosol, es capaz de mandar alguna señal al núcleo para informarle sobre la presencia de luz. Qué señal es y cómo es su viaje por la célula es algo que hasta el momento todavía es desconocido.

Un viaje por hojas y raíces

Como vimos de los experimentos realizados hasta el momento podemos sacar las siguientes conclusiones: la primera es que la luz regula el *splicing* alternativo en plantas. La segunda es que para que esto ocurra es necesario que el cloroplasto pueda hacer fotosíntesis.

El cloroplasto se encuentra en los tejidos verdes de la plantas (Figura 4). ¿Qué ocurre entonces con las células de las raíces de las plantas (que no tienen cloroplastos)? ¿Cambia el *splicing* alternativo en las raíces también?

Para poder responder a esta pregunta se hizo el siguiente experimento: las plantas fueron expuestas a la luz o a la oscuridad y luego de ello se las cortó en dos: por un lado se obtuvieron las raíces, y por el otro, las hojas. En cada tejido se estudiaron los cambios en *splicing* alternativo. Lo que se encontró es que las hojas respondían a los cambios de luz a oscuridad (recordemos que los cloroplastos que hacen fotosíntesis se encuentran en las hojas) y las raíces también. Sin embargo, si el corte de la planta se hacía antes de exponerlas a la luz, entonces las hojas respondían a los cambios en el *splicing* alternativo, pero las raíces no. Esto quiere decir que para que en las raíces se produzcan los cambios en *splicing* alternativo estas tienen que estar comunicadas con la parte de verde de la planta. Si la comunicación se

interrumpe, las raíces no se enteran de que la planta está viendo la luz. Por lo tanto, tiene que haber una señal que viaja de hojas a raíces y que es necesaria para que en las raíces cambie el *splicing* alternativo por acción de la luz.

La investigación continúa

Como ocurre con todo trabajo científico, durante la búsqueda por responder algunas preguntas siempre aparecen interrogantes nuevos. En este caso, algunos de los aspectos que permanecen oscuros son los siguientes: ¿cómo es la señal que viaja de los cloroplastos hacia el núcleo de la célula cuando la planta está en presencia de luz y que informa que debe cambiar el *splicing* alternativo? Y en el caso de las hojas y las raíces, ¿cuál es la naturaleza de la señal (puede ser la misma o no) que viaja desde la parte verde hacia las raíces de la planta? Todos estos interrogantes aguardan respuesta.

Bibliografía recomendada

Alberts, B., Johnson A., Lewis J., Raff, M., Roberts, K. & Walter P. (2004). *Biología molecular de la célula*. Cuarta edición. Ediciones Omega: Barcelona.

Petrillo, E., Godoy Herz, M. A., Fuchs A., Reifer D., Fuller, J., Yanovsky, M. J., Simpson, C., Brown, J. W. S., Barta, A., Kalyna, M. & Kornblihtt, A. R. (2014). A chloroplast retrograde signal regulates nuclear alternative splicing. *Science* 344, 427-430.

Petrillo, E., Godoy Herz, M. A., Barta, A., Kalyna, M. & Kornblihtt A.R. (2014). Let there be light: regulation of gene expression in plants. *RNA Biol.* 11, 1215-1220.

Weigel D., Glazebrook J. (2002). *Arabidopsis: a laboratory manual*. CSHL Press.