

B-DEBATE

International Center
for Scientific Debate
BARCELONA



Sinopsi

CODING AND NON-CODING FUNCTIONS OF THE GENOME

BARCELONA CONFERENCE ON
EPIGENETICS AND CANCER

October, 29th and 30th, 2015

COSMOCAIXA. C/ ISAAC NEWTON, 26. BARCELONA

www.bdebate.org

B-DEBATE IS AN INITIATIVE OF:



WITH THE COLLABORATION OF:



WITH THE SUPPORT OF:



ADN I EPIGENÈTICA

UN GENOMA PER A CONTROLAR-LOS A TOTS

La informació genètica s'emmagatzema en l'ADN, com un aparent llibre d'instruccions. Però no és senzill de llegir. En general, les mateixes lletres apareixen en llibres tan diferents com una cèl·lula de la pell, una del fetge, una altra del cor. Què distingeix llavors les històries que expliquen? L'epigenètica, l'íntima relació i regulació de les lletres amb els seus lectors.

L'epigenètica es defineix com qualsevol variació biològica heretable que sorgeix independentment de la seqüència d'ADN. A grans trets engloba tres blocs: les modificacions de les histones (proteïnes que enrotllen el genoma de forma més o menys compacta); la metilació de l'ADN (petita marca afegida a una de les seves lletres que condiciona la seva lectura), i els anomenats àcid ribonucleic (ARNs) no codificants: tots aquells ARNs que no serveixen per fabricar proteïnes i que procedeixen de l'anomenat genoma fosc o ADN escombraries, el 98% de la seqüència genètica fins fa res menyspreada amb equivocada anticipació.

Tots aquests mecanismes permeten que a partir d'una sola cèl·lula apareguin neurones, ossos i limfòcits. I la seva importància fa que errades en la maquinària propiciïn tumors o fins i tot casos d'autisme. En ser heretables, si es produeixen canvis en les cèl·lules sexuals alguns d'ells poden passar als descendents.

Per discutir part dels nous avenços, alguns dels millors experts internacionals es van reunir a B·Debate, una iniciativa de Biocat i de l'Obra Social "la Caixa" per promoure el debat científic.

CONCLUSIONS:

- Només el 2% del genoma són gens. El restant 98% es coneixia com ADN escombraries o fosc. Menyspreadar aquest 98% era un error, ja que gran part funciona regulant com es comporta aquest altre 2%
- L'ADN fosc és una de les claus de l'epigenètica, els canvis heretables que no depenen de la seqüència d'ADN, i que actua regulant l'activitat dels gens
- L'epigenètica permet que es formin cèl·lules i òrgans diferents a partir d'un mateix ADN. Alteracions epigenètiques s'han relacionat amb malalties tan dispars com el càncer o l'autisme, i s'investiguen possibles teràpies per revertir-les

- L'epigenètica pot ser modificada per l'ambient, i alguns d'aquests canvis sembla que poden heretar-se pels descendents

L'EPIGENÈTICA: EL GENOMA FOSC I MÉS ENLLÀ

"Fins fa poc hi havia una visió dogmàtica que establia una relació molt simple: un gen igual a una proteïna", comenta Luciano Di Croce, professor ICREA, cap de grup al Centre de Regulació Genòmica de Barcelona i líder científic del B·Debate. "Això feia molt fàcil la investigació, perquè ens podíem centrar únicament en el 2% del genoma que contenen els gens i rebutjar el restant 98%. Però estàvem equivocats ", assegura.

Tot i que feia temps que se sospitava l'error, l'any 2012 un gran consorci internacional va posar cap per avall el dogma. El [projecte Encode](#) (Enciclopèdia d'Elements de l'ADN) va establir que [almenys el 80% de l'ADN té alguna funció biològica](#). Encara que no quedava clar què s'entenia per funció, alguna cosa sí que resultava evident: la immensa majoria del genoma estava actiu.

Gran part d'aquesta activitat tenia a veure amb la transcripció de l'ADN. En general, les instruccions del genoma tenen a veure amb la fabricació de proteïnes: les lletres de l'ADN, en llegir-se, serveixen de motlle perquè es formi ARN, i aquest fa de nou motlle (com unes nines russes) perquè es construeixin les proteïnes, els maons de la cèl·lula. Aquesta part només suposa el 2% del llibre: són els gens. Gairebé tota la resta de l'ADN també es llegeix en forma d'ARN, encara que aquest no doni lloc a proteïnes: són els anomenats ARN no codificants. I ara se sap que gran part d'ells permeten regular l'expressió (la lectura) dels gens.

Aquesta és una de les potes de l'epigenètica, definida com el conjunt de canvis heretables que no depenen estrictament de la seqüència d'ADN, i que actua bàsicament controlant com treballen els gens, encenent-los i apagant-los. Però hi ha almenys unes altres dues potes, i tenen a veure amb les histones, les proteïnes sobre les quals s'enrotlla el genoma, i amb la metilació de l'ADN, petites marques sobre algunes de les seves lletres.

El genoma no s'ha de considerar com un llibre lineal, sinó com un desplegable en tres dimensions. Per poder llegir les seves parts (o per a encriptar-les, que a vegades és tan

important com desxifrar-les), la maquinària de la cèl·lula ha de poder arribar a elles, i això depèn de com estigui desplegat. Modificant les histones (afegint o traient marques químiques) es farà més lax o constret. Metilant algunes de les lletres C (les citosines) generalment es compactarà per evitar ser llegit.

Això permet que, tot i que els seus gens siguin exactament els mateixos, una neurona sigui una neurona i un hepatòcit un hepatòcit.

LES HISTONES: MÉS QUE UN COLLARET DE PERLES

Pot semblar senzill, però tota una orquestra s'ha de coordinar perquè els nostres dos braços apareguin on apareixen, a banda i banda sota el coll, o perquè tinguem dues cames simètriques. I que tot això succeeixi a partir d'una sola cèl·lula després de la unió de l'òvul i l'espermatozoide.

D'aquesta orquestra formen part les histones, un grup de diferents proteïnes sobre les quals s'enrotlla l'ADN i que en enrotllar-la va deixant un aspecte de grumolls, com de collaret de perles. Segons com es moguin per l'ADN i com ho compactin al seu voltant, les histones permeten que uns gens s'expressin i altres no. Ho faran de forma diferent segons cada cèl·lula i segons el seu moment vital: és una regulació en temps i espai.

Un dels seus papers més reconeguts està en la regulació dels gens *Hox*, gens situats en fila en el genoma i que marquen la distribució dels òrgans i les extremitats. (Alteracions en els gens *Hox* poden fer que les mosques neixin amb [potes en lloc d'antenes](#)). Per a regular-los, existeixen fonamentalment dos complexos de proteïnes, els anomenats Polycomb i Trithórax. Els dos afegeixen marques (grups metil) a aminoàcids de la histona H3. Polycomb a l'aminoàcid 27, Trithórax al 4. El resultat? El primer reprimeix, el segon activa. Mentre dura el concert, els òrgans i les extremitats van madurant conforme a un pla en algun lloc establert.

Si alguna cosa és tan important durant el creixement, és d'esperar que alguna cosa dolenta passi si deixa de funcionar. Així ho va explicar Ali Shilatifard, professor de Bioquímica i Genètica Molecular a la Northwestern University de Chicago. Translocacions (canvis de lloc en els cromosomes) que afecten els gens MLL (equivalents al

complex trithórax) són responsables de leucèmies d'especial mal pronòstic en nens. I alteracions en el complex Polycomb semblen estar [darrere d'alguns gliomes](#), tumors cerebrals particularment agressius. Per això Shilatifard creu que Polycomb és un clar "candidat per poder tractar aquests tumors".

Totes aquestes marques són diferents en cada tipus cel·lular. Per això és important conèixer el seu funcionament. Per exemple, ja és possible generar cèl·lules pluripotents (que poden donar lloc a molts altres tipus de cèl·lules) a partir de cèl·lules madures i estables, com les de la pell. Són les anomenades cèl·lules iPS, la gran esperança de la medicina regenerativa i per les que el japonès Yamanaka va rebre el premi Nobel el 2012. Però certes barreres epigenètiques en part degudes a les histones impedeixen que siguin totipotents, que siguin completament plàstiques i donin lloc a qualsevol teixit, com succeeix amb la primera cèl·lula, el zigot.

Això és el que estudia Maria Elena Torres-Padilla, cap de grup a l'Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et cellulaire d'Estrasburg. La seva definició de totipotència: "La capacitat d'una cèl·lula per donar lloc a un organisme complet per ella mateixa". Aquesta capacitat es perd pràcticament quan el zigot s'ha dividit un parell de vegades, però el seu grup [ha aconseguit obtenir](#) cèl·lules molt similars simplement amb la modificació d'un gen de les cèl·lules embrionàries posteriors. Encara no saben si són realment totipotents, encara que s'assemblin, però la mateixa Torres-Padilla es va preguntar si es podien generar al laboratori. "La resposta és sí", assegura.

No tot són marques sobre les histones: també importen les histones en si. Hi ha més de trenta tipus diferents, amb diferents propietats. Per exemple, l'anomenada macroH2A. Com va mostrar Marcus Buschbeck, cap de grup a l'Institut de Recerca contra la Leucèmia, suposa només l'1 o el 2% de les histones, però estabilitza l'epigenoma sencer, perquè en la seva absència es desorganitza completament. O la H2AZ, estudiada per Sandra B. Hake, de la Universitat de Munic, i que participa en processos tan dispars i relacionats com la regulació dels gens, la reparació de l'ADN, l'envelliment i en alguns tumors.

[L'epigenètica es relaciona amb la genètica, i amb la pròpia epigenètica](#). Danny Reinberg, del Howard Hughes Medical Institute a Nova York i un dels majors experts del món en el camp, va mostrar com hi ha ARN no codificants que [activen l'expressió](#) dels gens perquè inhibeixen el complex Polycomb. I com mutacions (genètiques) en proteïnes que es

dirigeixen a zones metilades de l'ADN (epigenètica) provoquen greus trastorns neurològics i fins i tot autisme en nenes, com succeeix en la síndrome de Rett.

GENOMA FOSC I METILACIÓ, LES POTES DE L'EPIGENÈTICA

"Més del 80% de l'ADN es transcriu (es llegeix) a ARN no codificant", assegura Tony Kouzarides, professor de Biologia del Càncer a la Universitat de Cambridge. "I pràcticament la meitat d'aquest ADN són retrovirus inserits en el genoma en algun moment de l'evolució", afegeix Simon J. Elsässer, de l'Institut Karolinska a Estocolm.

Part d'aquests ARNs (els anomenats microARNs) poden unir-se a altres que sí que codifiquen per a proteïnes. En fer-ho, la unió es destrueix, cosa que serveix per regular la quantitat de cada proteïna en la cèl·lula. Però aquesta part també es complica. Altres ARN més llargs poden funcionar de formes diferents. Com va mostrar Ramin Shiekhattar, director del Programa d'Epigenètica a la Universitat de Miami, poden unir-se al mateix ADN, per exemple a zones que funcionen com a interruptors de l'expressió. Un exemple: existeix un ARN capaç d'encendre l'interruptor del gen *Snai1*, un [gen clau](#) en el desenvolupament de diversos tipus de tumors. *Snai1* no es pot eliminar completament, perquè les cèl·lules sanes també necessiten una mica d'ell. Per això, "la presència d'aquest ARN ofereix la possibilitat de frenar *Snai1* únicament en les cèl·lules tumorals, perquè pràcticament només apareix en elles", assegura Shiekhattar.

L'altra pota de l'epigenètica és la metilació de l'ADN, la unió d'un grup químic a certes citosines –una de les quatre lletres– de l'ADN. En general, aquesta unió implica un tancament del genoma: impedeix la seva lectura, i alteracions en aquestes marques semblen estar darrere de malalties com el càncer, l'esquizofrènia o fins i tot l'Alzheimer. Al contrari de la genètica, l'epigenètica és més plàstica, menys rígida. La metilació pot ser reversible, anar i venir. Aquests trànsits són els que estudia François Fuks, director del laboratori d'Epigenètica del Càncer a la Universitat de Brussel·les. En ells són molt importants unes proteïnes conegudes com a TET, claus en el procés de retirada de la metilació, i sembla clar que la seva alteració està darrere d'alguns tumors com certs casos de leucèmies i melanomes.

Per impedir la lectura, la metilació utilitza unes proteïnes que se li uneixen i bloquegen qualsevol tipus d'entrada. Són el que Cristina Cardoso, professora de Biologia Cel·lular i Epigenètica en la Universitat de Darmstadt, a Alemanya, diu "les guardianes de l'epigenoma". La seva importància és tal que una simple mutació en un dels seus gens, el de la proteïna MeCP2, causa una malaltia devastadora en nenes: és l'anomenada síndrome de Rett, que cursa amb problemes respiratoris, neurològics (amb alteracions en els moviments i convulsions) i de la conducta, amb trets típics de l'autisme.

Epigenètica: l'herència de Lamarck?

Les teories de Darwin afirmen que l'evolució succeeix per mutacions en l'ADN que passen a la descendència, mutacions que són conseqüència de l'atzar en què poc (o gens) importa l'ambient. El seu contemporani i desprestigiats Lamarck [sostenia una cosa diferent](#): si una girafa estirava el seu coll per arribar a les copes dels arbres, aquest allargament podria passar als seus fills. L'epigenètica obre la porta a donar-li una mica de raó a Lamarck.

Els ratolins *agouti* tenen normalment un pèl groc. Però si mengen una dieta rica en grups metil alteren la metilació del seu ADN i poden passar a ser de color marró. Només amb això, els fills també poden néixer marrons. En una zona d'Holanda va tenir lloc una gran fam durant la II Guerra Mundial. Sembla que a conseqüència d'això, els fills d'aquelles mares holandeses van ser més baixos del que és habitual, i també els néts. Una cosa ambiental, no estrictament genètica, havia estat heretada. De forma semblant [certa tendència a la diabetis](#) per la dieta dels avis pot arribar als seus néts.

Aquests mecanismes són possibles, però encara no se sap fins a quin punt i per quina raó tenen lloc. Gran part de les marques epigenètiques es perden quan es forma el zigot: es fa una mena de *reset*, en allò que es coneix com la barrera de Weissmann. Però algunes poden romandre. "Certes marques de metilació no es perden, algunes histones que es creia que eren substituïdes en els espermatozoides sembla que es conserven, i ARNs no codificants que es troben en l'òvul poden transmetre's i funcionar en els primers moments de la vida", comenta Di Croce. "No sabem fins a quin punt, però sí, pot existir una herència epigenètica".