

Título del Trabajo:

Identificación de factores asociados al mRNA mutante de ATXN7: evidencia de la toxicidad mediada por RNA en la ataxia espinocerebelosa tipo 7

Título del Trabajo en Inglés:

Identification of Factors Associated with Mutant ATXN7 mRNA: Evidence of RNA-Mediated Toxicity in Spinocerebellar Ataxia Type 7

Nombre: RODOLFO DANIEL

Apellidos: AVILA AVILES

ORCID:

País de Residencia: MEXICO

Área de Investigación: BÁSICA

Institución a la que Pertenece: CINVESTAV

Área de Adscripción: Departamento de Genética y Biología Molecular

Correo Electrónico: rodolfo.avila@cinvestav.mx

Datos de los(as) coautores(as) del Trabajo

Oscar Hernández Hernández, José Manuel Hernández Hernández

Laboratorio de Medicina Genómica, INR LGII, MEXICO, heroscar@gmail.com,

Genética y Biología Molecular, CINVESTAV, MEXICO, jose.hernandezh@cinvestav.mx,

Palabras en Español:

ATXN7, SCA7, mARN

Palabras en Inglés:

ATXN7, SCA7, mRNA

Título del Trabajo:

Identificación de factores asociados al mRNA mutante de ATXN7: evidencia de la toxicidad mediada por RNA en la ataxia espinocerebelosa tipo 7

Título del Trabajo en Inglés:

Identification of Factors Associated with Mutant ATXN7 mRNA: Evidence of RNA-Mediated Toxicity in Spinocerebellar Ataxia Type 7

Área de Investigación:

Departamento de Genética y Biología Molecular

Introducción:

La ataxia espinocerebelosa tipo 7 (SCA7) es una enfermedad neurodegenerativa causada por la expansión de repeticiones CAG en el gen de la ataxina-7 (ATXN7), lo que resulta en agregados proteicos y disfunción celular. La ataxina-7, codificada por ATXN7, es clave en un complejo de remodelación de la cromatina. Aunque el papel de la ataxina-7 mutante en la patogénesis de SCA7 está claro, otros mecanismos fisiopatológicos no se han explorado. La evidencia sugiere que los mRNA con repeticiones CAG expansivas pueden ser tóxicos, formando agregados nucleares y secuestrando RNAs y proteínas, como en otras enfermedades de poliglutaminas.

Objetivo:

Determinar el papel de la agregación del mRNA de Ataxina 7 en un modelo de ataxia espinocerebelosa de tipo 7.

Metodología:

En este trabajo se utilizó la línea celular MIO-M1 SCA7, que expresa el mRNA-ATXN7 con expansiones de 10 y 64 repetidos CAG (10R y 64R). Para investigar los complejos asociados con el mRNA de ATXN7, se emplearon oligonucleótidos antisentido biotinilados dirigidos al mRNA de ATXN7, permitiendo la purificación de los complejos mRNA-proteína y un análisis proteómico basado en LC/MS-MS. Se observaron cambios en el empalme alternativo del exón 10 de SLC17A7, que codifica a VGLUT1, mediante PCR de punto final. Los efectos en la estructura y función de VGLUT1 tras la pérdida del exón 10 se evaluaron mediante simulaciones de dinámica molecular. Para determinar un posible aumento en la excitotoxicidad mediada por glutamato, se cuantificaron los niveles de glutamato extracelular e intracelular. Se realizó un análisis de RNA-seq para investigar los cambios en la expresión génica global inducidos por la expresión del mRNA-ATXN7 y se sobreexpresó SYT1 para determinar el efecto sobre la liberación de glutamato y su cuantificación.

Resultados:

Para investigar los complejos moleculares asociados con el mRNA de ATXN7, utilizamos oligonucleótidos antisentido. El análisis LC/MS-MS identificó 155 proteínas asociadas diferencialmente. La validación reveló que hnRNPA2B1 se secuestra dentro de los agregados de mRNA-ATXN7-SCA7. Nuestro estudio mostró cambios en el empalme alternativo del exón 10 de SLC17A7 regulado por HNRNPA2B1, que codifica el transportador de glutamato VGLUT1. La sobreexpresión de mRNA de ATXN7 redujo la inclusión del exón 10, resultando en más SLC17A7 de

longitud completa. Simulaciones de dinámica molecular mostraron una disminución en la afinidad entre VGLUT1 y el glutamato. Para evaluar la excitotoxicidad se cuantificaron los niveles de glutamato extracelular e intracelular, encontrando niveles reducidos y aumentados respectivamente. El RNA-seq reveló cambios en la expresión de genes en la vía de liberación vesicular mediada por el complejo SNARE, con una reducción en la expresión de SYT1. La sobreexpresión de SYT1 restableció la liberación de glutamato.

Conclusiones:

Este estudio muestra que el mRNA mutante de ATXN7 en SCA7 no solo forma agregados tóxicos, sino que también secuestra proteínas como hnRNPA2B1, alterando el empalme de SLC17A7. Esto afecta el transporte vesicular de glutamato, mediado por VGLUT1 y el complejo SNARE, alterando sus niveles y exacerbando la excitotoxicidad.