

Els modificadors més menuts: microARNs i el control de la metamorfosi dels insectes

Premi SCB Nit al Jove Investigador

Jesús Lozano Fernández

La fascinació de l'ésser humà per capir com una eruga es transforma en una papallona prové de temps remots. La metamorfosi, que és com es defineix aquest procés de canvi radical, ha esdevingut clau en la història evolutiva dels insectes. En els saltamartins o les paneroles trobem una metamorfosi progressiva, on el canvi de forma entre individus juvenils i adults no és bruscat. Per contra, els insectes holometàbols, com les mosques o els escarabats, pateixen una transformació morfològica sobtada de larva a individu adult. L'estudi de les bases moleculars de la metamorfosi s'erigeix com una eina indispensable per entendre aquesta transició evolutiva que ha generat la major part de la biodiversitat.

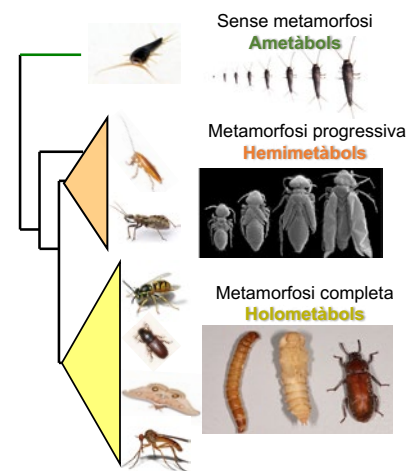
El canvi com a motor de l'evolució biològica

¿Les espècies són iguals al llarg de la seva història o tenen la possibilitat de canvi i d'esdevenir-ne de noves? Actualment sabem que l'acumulació de petites mutacions genètiques al llarg del temps permet que es formin noves espècies diferents de les predecessores. Així doncs, la possibilitat de variar i canviar sembla ser un motor central en l'evolució. Els fenòmens de canvi a nivell biològic, però, no només estan lligats a l'aparició de noves espècies; en una escala de temps menor trobem com els canvis a nivell morfològic durant el mateix cicle vital d'un organisme poden resultar una estratègia d'èxit. Els organismes que més han perfeccionat la modificació morfològica han estat aquells que realitzen la metamorfosi, que és un procés pel qual un organisme divideix el seu cicle de vida en estadis morfològics molt diferenciats entre fases juvenils i adultes; aquest procés és present en amfibis, meduses o insectes. En aquests darrers, trobem alguns dels animals que realitzen les transformacions més espectaculars, talment com si visquessin dues vides.

Es calcula que més del 50% d'espècies del nostre planeta són insectes. Una de les claus d'aquest èxit ha estat la possibilitat de dividir el cicle de vida gràcies a la metamorfosi, amb la qual s'aconsegueix reduir la competició pels recursos amb aquells de la mateixa espècie. Els primers insectes van aparèixer fa més de 400 milions d'anys (Lozano-Fernandez *et al.*, 2016). Aquests primers insectes ja creixien a través de mudes successives, tal com ho continuen fent actualment tots els insectes, però no feien cap canvi morfològic significatiu entre individus juvenils i adults. S'han trobat fòssils d'aquests insectes primitius i encara avui dia tenim representants d'aquests grups sense metamorfosi, com poden ser els peixets d'argent (Figura 1). La innovació que va representar l'aparició d'ales en alguns insectes ancestrals està estretament lligada a l'origen de la metamorfosi. Aquests llinatges començaren a endarrerir el desenvolupament de les ales fins a estadis adults, amb una divisió marcada del cicle de vida entre fases juvenils i adultes. Aquest tipus de metamorfosi progressiva, anomenada hemimetàbola, la trobem avui dia en libèl·lules, grills o paneroles (Figura 1). Un tipus de metamorfosi sobtada, en què la major part de teixits es reconstitueixen de nou en l'adult, es troba en els insectes amb metamorfosi completa o holometàbola, pròpia de mosques, papallones o escarabats (Figura 1); tots els insectes amb aquest tipus de metamorfosi comparteixen un ancestre comú descendent d'insectes amb metamorfosi hemimetàbola. Avui en dia, conèixer de quina manera són capaços de sincronitzar aquest procés propi del seu desenvolupament encara constitueix un gran repte científic.

Les bases del canvi

Fa més de seixanta anys es van començar a pensar els ciments que donarien la resposta a com es produeix la metamorfosi. Gràcies als treballs de Sir Vincent Brian Wigglesworth es va establir que les bases de la metamorfosi rau en a nivell endocrí, és a dir, en les hormones. Les encarregades del desenvolupament dels insectes



↑ Figura 1. Esquema de les relacions de parentesc entre insectes. S'hi aprecien tres grans grups d'insectes, dividits entre insectes sense metamorfosi (ametàbols), metamorfosi simple (hemimetàbols) i metamorfosi completa (holometàbols). A la dreta, el cicle de vida postembrionària d'un organisme representant de cada un dels tres grans grups d'insectes.

son dues hormones: la primera és l'ecdisona o hormona de la muda, anomenada així perquè s'expressa just abans que aquesta es produeixi; la segona és l'hormona juvenil, que s'expressa durant tota la fase juvenil i desapareix just abans de produir-se la metamorfosi a adult (Figura 2). Establertes les bases hormonals, i un cop entrats en l'era de la genètica, el següent pas va ser establir les vies moleculars de senyalització d'aquestes hormones. Així es va començar a reconstruir tota una xarxa de connectors, començant pels receptors hormonals, i continuant amb una cadena de factors en què un s'encadenava rere l'altre. Es va descobrir l'important paper dels factors de transcripció, que són proteïnes encarregades d'activar altres gens i que actuen a mode d'interruptor. Un d'aquests interruptors universals ha estat *Krüppel homolog 1*, el qual es troba sota la cascada de senyals de l'hormona juvenil i s'expressa durant totes les fases juvenils, a excepció de la darrera, just el moment

Els modificadors més menuts: microARNs i el control de la metamorfosi dels insectes

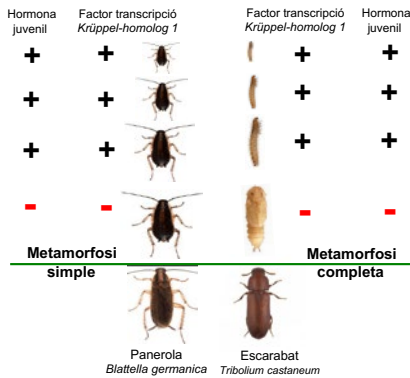


Figura 2. Esquema d'expressió de l'hormona juvenil i el factor de transcripció *Krüppel homolog 1* durant el cicle de vida d'insectes hemimetàbols i holometàbols. S'indica amb el símbol de suma (+) la presència d'aquests factors, i amb el símbol negatiu en vermell (-), l'absència. El factor de transcripció és dependent de la presència d'hormona juvenil, i els patrons d'expressió són conservats entre insectes amb diferents tipus de metamorfosis.

en què comença la metamorfosi (Figura 2). Estudis al nostre laboratori realitzats sobre la panerola *Blattella germanica*, un tipus d'insecte amb metamorfosi simple hemimetàbola, confirmen que l'expressió d'aquest factor de transcripció és essencial per al manteniment de l'estatus juvenil. Per demostrar-ho vam fer desaparèixer prematurament l'expressió de *Krüppel homolog 1* mitjançant tècniques d'enginyeria molecular, tot provocant una metamorfosi precoç, és a dir, que l'individu esdevingués adult abans del previst (Lozano & Bellés, 2011). També hem pogut demostrar que aquesta funció és conservada en tots els insectes metamòrfics. La sobtada baixada d'expressió d'aquest factor de transcripció en l'última fase juvenil resulta molt significativa, i no s'ajusta al ritme de desaparició de l'hormona juvenil ni d'altres factors de transcripció. Aquesta evidència ens va dur a la hipòtesi que alguna cosa estava ajudant a la seva desaparició total.

Lleugers canvis amb gran repercussió

Ja fa vint anys, gràcies al treball pioner del doctor Victor Ambros i col·laboradors, es va descobrir la presència d'uns reguladors molt petits, anomenats microARNs, en uns cucs nematodes (Lee *et al.*, 1993). Aquesta troballa no va suposar cap gran repercussió en la comunitat científica fins que l'any 2001 va revifar la rellevància d'aquest estudi en comprovar-se que, lluny de ser una rara excepció d'aquests cucs, era un sistema de regulació general de tots els animals. Els microARNs són unes molècules d'ARN curtes que s'uneixen a altres molècules tot impeding que la maquinària de síntesi de proteïnes actuï. Actualment coneixem que el cuc nematode disposa de més de 240 tipus diferents d'aquesta molècula mentre que els humans en tenim més de 1.100 i molts d'aquests són compartits entre ambdós organismes.

Experiments previs realitzats al nostre laboratori amb la panerola *Blattella germanica* van demostrar que els microARNs són imprescindibles per dur a terme la metamorfosi. La manera de demostrar aquest fet va ser bloquejar l'expressió d'un dels enzims més importants encarregats de generar els microARNs, l'enzim Dicer-1, d'aquesta manera es va aconseguir reduir els nivells d'aquestes molècules. La manca de microARNs provocava que l'individu mudés a nous estadis juvenils en comptes de realitzar la muda metamòrfica a adult. Vam treballar amb la hipòtesi que algun d'aquests microARNs es podia unir al factor de transcripció *Krüppel homolog 1*, ajudant a inactivar-lo del tot just abans d'iniciar la metamorfosi. Vam predir quins microARNs podien unir-se a aquest gen i posteriorment vam testar experimentalment aquesta interacció. Vam descobrir com un sol microARN, anomenat miR-2, és capaç de controlar tot el procés modulant l'expressió d'un factor clau en la metamorfosi com és *Krüppel homolog 1* (Figura 3). Reduint els nivells de miR-2 vam provocar que l'expressió del factor de transcripció no dava-

llés durant els últims estadis juvenils, i fins i tot vam arribar en alguns casos a suprimir la metamorfosi, uns resultats concordants als obtinguts després d'eliminar l'enzim encarregat de generar microARNs, Dicer-1. Administrant específicament molècules de miR-2 als individus deficientes de l'enzim Dicer-1 vam poder restablir la metamorfosi, ja que era la manca d'aquest miARN el responsable de l'increment de *Krüppel homolog 1*, i, per tant, de la inhibició de la metamorfosi (Lozano *et al.*, 2015). La majoria d'estudis previs mostren com aquests reguladors solen tenir funcions poc rellevants i moltes vegades redundants; l'absència d'un miARN és compensada per l'acció d'un altre. En canvi, miR-2, resulta un regulador de reguladors, i actua sobre *Krüppel homolog 1* fent-lo davallar en el moment adequat a mode d'escombra que recull les restes, possibilitant així l'espectacular canvi morfològic que representa la metamorfosi dels insectes. Aquesta molècula resulta vital tot regulant un pas clau, i demostra que els canvis subtils poden tenir grans repercussions.

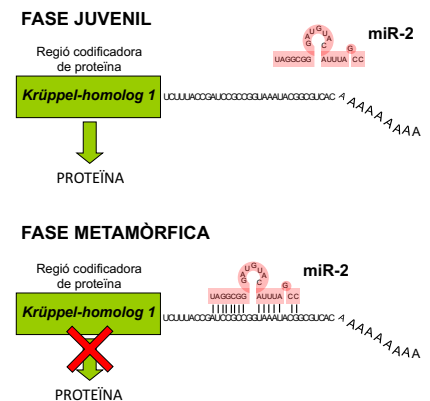
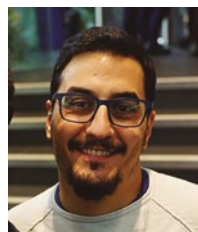


Figura 3. Esquema que mostra l'efecte de miR-2 sobre *Krüppel homolog 1* durant la fase metamòrfica (última fase juvenil). L'acció d'aquest microARN sobre el factor de transcripció provoca el segrest de la molècula i n'impedeix la codificació a proteïna, i, per tant, inactiva la seva funció.

Els modificadors més menuts: microARNs i el control de la metamorfosi dels insectes

Bibliografia

- LEE, R. [et al.] (1993). «The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*». *Cell* 75.5: 843–854.
- LOZANO, J.; BELLES, X. (2011). «Conserved repressive function of Krüppel homolog 1 on insect metamorphosis in hemimetabolous and holometabolous species». *Sci. Rep.* 1: 163.
- LOZANO-FERNANDEZ, J. [et al.] (2016). «A molecular palaeobiological exploration of arthropod terrestrialization». *Phil. Trans. R. Soc. B.* 371.1699: 20150133.
- LOZANO, J. [et al.] (2015). «MiR-2 family regulates insect metamorphosis by controlling the juvenile hormone signaling pathway». *PNAS* 112.12, 3740–3745.
- WIGGLESWORTH, V. B. (1954). *The physiology of insect metamorphosis*. Cambridge University Press.



Jesús Lozano Fernández (Granollers, 1985) és llicenciat en Ciències Biològiques per la Universitat Autònoma de Barcelona (2008) i va completar la seva etapa doctoral a l'Institut de Biologia Evolutiva (IBE), doctorant-se en Biodiversitat a la Universitat de Barcelona (UB) el 2014. Des del 2019 és investigador Beatriu de Pinós

a l'IBE, després d'haver fet recerca postdoctoral a la Universitat de Bristol i a la UB. Va ser guardonat l'any 2017 amb el premi de la Societat Catalana de Biologia al Jove Investigador. Els seus camps d'interès són la filogènia d'artròpodes i l'estudi de grans transicions evolutives en la història dels animals.