



6 de mayo del 2020

Informe del proyecto “Análisis del transporte de gránulos de RNA y traducción de proteínas in situ en ELA: ¿implicación de STAUFEN y TDP- 43?”.

El proyecto está basado en que, aunque los mecanismos moleculares que subyacen a la ELA aún se desconocen, una de las principales características de esta enfermedad es que existen alteraciones en el metabolismo del mRNA y un transporte axonal desregulado. Esto se ve evidenciado por el hecho de que mutaciones en proteínas de unión al RNA (RBP) como TDP- 43, FUS, ATAXINA- 2, TAF15, hnRNPA1, hnRNPA2/B1, MATRIN 3 y TIA1, se han visto asociadas con formas esporádicas y familiares de ELA. La hipótesis de este innovador proyecto es que los agregados de TDP- 43 secuestran a las RBP, principalmente a la proteína STAUFEN y no dejan que esta ejerza su función, de tal forma que los mRNAs no llegan a las conexiones sinápticas y no se pueden traducir, haciendo que no haya conexión entre la neurona y el músculo, lo que conlleva finalmente a la pérdida de la función muscular. Por ello, hemos estado trabajando en el primero objetivo del proyecto, en el cual queremos analizar los niveles de expresión y localización de STAUFEN 1 y 2 en muestras de médula espinal y corteza motora de pacientes con ELA esporádico vs muestras control. Durante estos meses hemos contactado con la Red de Biobancos en España y hemos conseguido muestras congeladas y fijadas de pacientes de ELA esporádico, ELA con mutación en TDP-43 y controles desde la Fundación CIEN y el Biobanc-Hospital Clínic-IDIBAPS. Todo ello, con las aprobaciones de los pertinentes Comités de Ética y respectivos *Material Transfer Agreement* (MTA). Por otro lado, también hemos conseguido cultivos de fibroblastos de pacientes de ELA esporádico y ELA con mutación en TDP-43 del Hospital 12 de Octubre, en colaboración con el Dr. Alberto García Redondo. Las muestras controles las he obtenido gracias a la colaboración con el Dr. Georg Auburger, Goethe University, Frankfurt am Main, Alemania. Para aumentar el número de muestras y por lo tanto la significancia de los futuros resultados, me puse en contacto con el Dr. Javier Riancho, del IDIVAL, con el que también he firmado un MTA para la cesión de fibroblastos y estamos a la espera de que nos manden las células.

Estos estudios se están complementando con muestras de ratones transgénicos de TDP- 43. En colaboración con el laboratorio de los Dres. Javier Fernández-Ruiz y Eva de Lago, hemos analizado los niveles de expresión de *Staufen 1* y *Staufen 2* en muestras de corteza motora y médula espinal de ratones transgénicos CAMKII-TDP-43 (ratones que sobreexpresan la proteína TDP-43 salvaje) y ratones transgénicos Prp-TDP-43^{A315T} (ratones que sobreexpresan la proteína TDP-43 con la mutación A315T). Nuestros resultados indican que, a nivel de médula espinal, los ratones Prp-TDP-43^{A315T} presentan una disminución significativa en los niveles de expresión de *Staufen 1* y *Staufen 2*, así como también en *Ataxina-2* y *Pabpc4*, mientras que estos cambios no se pueden apreciar en la médula de los ratones CAMKII-TDP-43. Estos mismos datos se están analizando a nivel de corteza motora e hipocampo. Por otro lado, durante estos primeros meses del proyecto, hemos estado preparando secciones en flotación de los



MINISTERIO
DE CIENCIA
E INNOVACIÓN



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS "ALBERTO SOLS", IIBM

cerebros y médulas de estos ratones para hacer los ensayos de inmunofluorescencia y determinar la localización de las proteínas Staufen 1 y Staufen 2.

En relación al objetivo 2, donde queremos analizar el transporte de gránulos de RNA y la traducción en motoneuronas, con ensayos utilizando el sistema MS2- MCP, ya he conseguido los plásmidos y han sido crecidos en el laboratorio.

En cuanto podamos regresar a nuestra labor de investigación en el laboratorio tras la pandemia del COVID-19, esperamos poder completar nuestros objetivos, ya que tenemos todas las muestras listas para empezar los análisis.

Un cordial saludo

Dra. Isabel Lastres Becker