

MUTACIONES EN EL GEN *MYOC* ASOCIADAS CON GLAUCOMA INHIBEN EL PROCESAMIENTO ENDOPROTEOLÍTICO DE MIOCILINA.

Aroca-Aguilar, J.D.¹, Sánchez-Sánchez, F.¹, Ghosh S.², Martínez-Redondo, F.¹, Coca-Prados, M.² y Escribano, J.¹

¹ Área de Genética, Facultad de Medicina Universidad Castilla-La Mancha / Centro Regional de Investigaciones Biomédicas, Albacete; ² Department of Ophthalmology and Visual Science, Yale University School of Medicine, New Haven, CT, USA.

El gen *MYOC* codifica una glicoproteína extracelular denominada miocilina. Se expresa en distintos órganos humanos incluido el ojo. Determinadas mutaciones de este gen originan glaucoma, una neuropatía óptica producida por apoptosis de las células ganglionares de la retina. Esta enfermedad es una de las principales causas de ceguera en el mundo. Con la finalidad de elucidar la enigmática función de este gen hemos analizado la expresión y secreción de miocilina en dos líneas celulares modelo, 293-T y COS-1, así como en líneas celulares procedentes de tejidos oculares humanos: 26HCMsv y 59HIsv derivadas de músculo ciliar e iris, respectivamente. Las células fueron transfectadas transitoriamente con una construcción de cDNA correspondiente a miocilina silvestre que contiene el epítipo myc y una cola de histidinas en su extremo 3'. Mediante Western Blot se comprobó que todas las líneas celulares secretaron dos formas principales de miocilina con tamaños moleculares aparentes de 55 y 35 kDa, correspondientes a la proteína completa y a un fragmento C-terminal que contiene un dominio similar a olfactomedina, respectivamente. El análisis mediante espectrometría de masas y secuenciación N-terminal del fragmento de 35 kDa, demostró que miocilina es procesada endoproteolíticamente entre los aminoácidos Arg²²⁶ e Ile²²⁷. El análisis mediante Western Blot de humor acuoso y otros tejidos oculares humanos y bovinos mostró que el fragmento de 35 kDa también se produce de forma fisiológica. Con la finalidad de estudiar el efecto de cuatro mutaciones de *MYOC* asociadas con glaucoma (E323K, Q368X, P370L y D380A) sobre el procesamiento proteolítico de la proteína, éstas fueron expresadas en las líneas celulares mencionadas anteriormente. El análisis de las proteínas mutantes producidas mostró una inhibición del procesamiento proteolítico respecto a la forma silvestre. El análisis de la relación genotipo-fenotipo reveló que la mutación responsable del fenotipo clínico más grave (P370L), caracterizada por un inicio juvenil de la enfermedad, presión intraocular extremadamente elevada y resistencia al tratamiento farmacológico, provoca una mayor inhibición del procesamiento. Los resultados de este estudio ofrecen nuevas vías para entender tanto la función biológica de miocilina como la patogénesis del glaucoma debido a mutaciones en el gen *MYOC*.