

20 SEP 2011

**PREMIO NÓBEL DE MEDICINA Y FISIOLÓGÍA 2007**

**GENERACIÓN DE RATONES MODIFICADOS GENÉTICAMENTE**



En forma simplificada podemos describir a un organismo como un conjunto de células con una compleja organización espacial y temporal. A su vez cada célula contiene un vasto número de moléculas que intervienen en una intrincada red de reacciones químicas que a su vez posibilita la reproducción y mantenimiento celular. Las proteínas, codificadas por genes, son pilares fundamentales en esta organización ya que catalizan reacciones químicas, son soportes estructurales, y factores de señalamiento para diversas funciones fisiológicas. El genoma humano descifrado en los últimos años, ha revelado la existencia de alrededor 25.000 genes, los cuales codifican aproximadamente el mismo número de proteínas. El estudio y conocimiento del papel de una proteína particular dentro de la intrincada red de reacciones metabólicas puede develarse por medio de alteraciones génicas (mutaciones) que impidan la expresión de un gen particular y por lo tanto generen la ausencia o función de la proteína codificada. Con el advenimiento de técnicas moleculares para el análisis del ADN, a mediados de la década de los 70, fue posible alterar el funcionamiento de genes específicos en bacterias y eucariotas inferiores; sin embargo no existía la posibilidad de generar organismos eucariotas superiores con una mutación específica.

La tecnología que permitió generar ratones con mutaciones en genes específicos (knock-out mouse), fue el motivo del otorgamiento del Premio Nóbel de Medicina y Fisiología en el año 2007 compartido por tres científicos: los Drs Mario R. Capecchi; Martin J. Evans y Oliver Smithies. A partir de este hallazgo, en

el año 1989, la metodología ha revolucionado distintas áreas de la biología y la medicina. Tendiendo en cuenta que el genoma del ratón se ha descifrado en el año 2002, y que 99% de los genes humanos poseen un gen homólogo en ratón, la generación de ratones con enfermedades genéticas similares a las que se conocen en humanos, ha sido de enorme utilidad para conocer los detalles de la patología, y la investigación de posibles terapias. Así por ejemplo se han realizado importantes investigaciones sobre desarrollo y progresión del cáncer, enfermedad de Parkinson y Alzheimer, obesidad, diabetes y ceguera. La generación de ratones modificados genéticamente también ha sido clave para obtener nuevos conocimientos sobre comportamiento en ansiedad, alcoholismo, agresividad y adicción a drogas. Desde el año 1989 se han generado en distintos centros de investigación del mundo, alrededor de 800 ratones como modelos de distintas enfermedades genéticas humanas.

Dos importantes metodologías confluyeron para la obtención de animales modificados genéticamente: la mutación de genes a elección en células en cultivo mediante recombinación homóloga y la generación de animales quiméricos mediante el aislamiento, cultivo e introducción de células madres en embriones.

Modificación génica de células somáticas en cultivo mediante recombinación homóloga. La modificación génica de células eucariotas en cultivo por adición de DNA foráneo se llevó a cabo por vez primera en 1977, por R. Axel. Sin embargo la introducción de genes en los cromosomas de células en cultivo se

Carlos Enrique Argaraña. Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Químicas, Ciquibic-UNC. Dpto. Química Biológica - Haya de la Torre esq. Medina Allende Ciudad Universitaria - Córdoba 5000, - Argentina. Teléfono: 351 4334168. E-mail: carga@dqbfq.unc.unc.edu.ar

realizaba en forma azarosa y no en una posición cromosomal específica.

El proceso de recombinación entre genes homólogos fue descrito en bacterias hace más de 50 años (J. Lederberg, Premio Nobel 1958). En la década de los 70 se establece que un mecanismo similar operaba en eucariotas para mediar el intercambio de información genética entre cromosomas homólogos durante la meiosis.

En el año 1982, la investigación llevada a cabo por Capecchi, demuestra la existencia de un proceso de recombinación homóloga en células somáticas. En forma paralela, Smithies también estudia procesos de recombinación homóloga y en 1985 desarrolla un método para modificar células en cultivo mediante recombinación homóloga. Este hallazgo permitió posteriormente utilizar este proceso fisiológico para introducir en células en cultivo, un gen mutado "in vitro" homólogo a alguno presente en el genoma de estas células, de forma tal que al recombinar, el gen "normal" es desplazado por el gen defectuoso, generando células con ausencia de la proteína codificada por el gen en cuestión.

Células madres y la generación de organismos quiméricos.

Las células madre, o células troncales, (stem cells) son un tipo especial de células indiferenciadas que tienen la capacidad de dividirse indefinidamente sin perder sus propiedades y llegar a producir células especializadas. La mayoría de las células de un individuo adulto (en organismos eucariotas superiores) no suelen multiplicarse, salvo para mantenimiento de algunos tejidos como la sangre y la piel. Sin embargo, en prácticamente todos los tejidos existe una pequeña población de células, aunque habitualmente no se dividen, en condiciones particulares pueden proliferar y regenerar ese tejido. Se ha observado que estas células tienen capacidad de reproducirse y generar un número limitado de otros tejidos, y reciben el nombre de células madre de adultos.

En el desarrollo embrionario, el cigoto formado tras la fecundación de un óvulo por un espermatozoide es una célula capaz de generar un nuevo individuo completo. Se trata, pues, de una célula totipotente: capaz de producir un individuo completo con todos sus tejidos.

En los primeros eventos del desarrollo embrionario, la célula original se divide en varias células más. Cada una de estas

células, si es separada del resto, es capaz de producir un individuo completo. Son también células totipotentes. Posteriormente se forma el blastocito, el cual está formado por una "capa externa", que forma la placenta y las envolturas embrionarias y una "masa celular" interna que formará todos los tejidos del cuerpo humano. Las células de un blastocito ya no son totipotentes, puesto que una sola de estas células ya no es capaz de generar un individuo completo. Las células de la masa celular interna del blastocito son células pluripotentes, tienen capacidad de originar cualquier tipo de tejido y son las células madre embrionarias. La estandarización de métodos para cultivar y crecer en el laboratorio estas células madres embrionarias de ratón, fue un avance crucial en la generación de organismos quiméricos. Cuando las células madres embrionarias son inyectadas en embriones de ratón en un estado suficientemente temprano, éstas forman parte del desarrollo de todos los tejidos del ratón, incluso de los tejidos germinales. De esta forma fue posible generar ratones "quiméricos", un ratón en el cual coexisten células de diferente origen.

El nacimiento de una nueva era en la genética: el ratón "knock-out". En el año 1989 se describe por primera vez la utilización del proceso de recombinación homóloga en células madres para generar un ratón modificado genéticamente. Este proceso consiste de varios pasos: cultivar células madres embrionarias de ratón, mutagenizar "in vitro" un gen determinado; reemplazar un gen normal por el gen mutado en las células madre recombinación homóloga, y posteriormente introducir estas células en un embrión en estadio de blastocito. Si bien este proceso genera un individuo con células modificadas y células no modificadas, la posterior cruce de individuos cuya células germinales han sido modificadas producirá una progenie donde los individuos poseen todas las células modificadas.

Como se comentó previamente el hallazgo ha revolucionado la investigación biológica, una prueba de ello es que a partir del año 2003 se ha iniciado un proyecto internacional (KOMP: Knock-Out Mouse Project) a fin de generar una colección de ratones que contenga cada uno de los genes de esta especie mutados. Esta colección estará disponible para la comunidad científica mundial y sin dudas permitirá acelerar la investigación y obtención de conocimiento acerca del papel y funcionamiento de genes



TRABAJOS ORIGINALES

aun no estudiados.

Mario R. Capecchi, nacido en 1937 in Italia, nacionalizado en Estados Unidos, Dr. en Biofísica en 1967, Harvard University, Cambridge, MA, USA. Actualmente es Investigador del Howard Hughes Medical Institute y Profesor de Genética Humana y Biología en la Universidad de Utah, Salt Lake City, UT, USA.

Sir Martin J. Evans, nacido en 1941 en Gran

Bretaña, ciudadano Británico, Dr. en Anatomía y Embriología en 1969, University College, London, UK. Actualmente es Director de la Escuela de Biociencias y Profesor de Genética de Mamíferos, Cardiff University, UK.

Oliver Smithies, nacido en 1925 en Gran Bretaña, nacionalizado en Estados Unidos, Doctor en Bioquímica en 1951, Oxford University, UK. Actualmente es Profesor de Patología, University de North Carolina en Chapel Hill, NC, USA.