

18 DE JULIO DE 2003

Nueva metodología para lograr knock-outs genéticos devela el "plan maestro" del esqueleto

Unos investigadores del Instituto Médico Howard Hughes están comenzando a comprender el modo en el que se forma el patrón general del esqueleto de los mamíferos durante el desarrollo. En una laboriosa serie de experimentos, los investigadores anularon conjuntos enteros de dos familias de genes que se pensaba tenían una función central en el establecimiento del patrón del esqueleto en el embrión de mamíferos.

Sus resultados sobre familias de genes "parálogos", conocidas como *Hox10* y *Hox11*, establecen que estos genes tienen funciones importantes en la forma en la cual se realiza la construcción de las costillas, de la columna vertebral y de los huesos de las extremidades. Los genes parálogos son conjuntos de genes que tienen funciones redundantes. Surgieron durante la evolución mediante duplicación génica.

"En definitiva, tenemos que determinar en sentido molecular lo que significa hacer una costilla o no hacerla."

— Mario R. Capecchi

Los estudios realizados sobre *Hox10* y *Hox11* fueron publicados en el número del 18 de julio de 2003, de la revista *Science* por el investigador del HHMI Mario R. Capecchi y su colega Deneen M. Wellik, ambos en la Universidad de Utah.

Según Capecchi, los resultados también deberían hacer que otros científicos que estudian el desarrollo de mamíferos analicen los efectos de la anulación de varios miembros de las familias de genes *Hox*. La anulación de varios genes le permitirá a los científicos desentrañar la función de los genes redundantes para discernir mejor las funciones reales en el desarrollo de miembros específicos de las familias de genes *Hox*.

Se ha sabido por mucho tiempo que los 13 conjuntos de genes *Hox*, cada uno con varios miembros, son "reguladores transcripcionales" que controlan la multiplicidad de genes involucrados en el desarrollo embrionario. Sin

embargo, dijo Capecchi, los experimentos en los que se anularon distintos tipos de genes *Hox* proporcionaron poca información sobre las funciones de los genes *Hox* individuales.

“Era confuso”, dijo Capecchi, al referirse a los resultados de los knock-outs genéticos de *Hox10* y de *Hox11* realizados previamente. “Cuando los genes individuales fueron anulados, los animales resultantes tenían una costilla o una vértebra extra, o carecían de una de las dos. Y a veces una estructura se transformaba para asemejarse a la otra o sólo resultaba en una deformidad. Incluso si se inactivaba a cinco de los seis genes, se obtenían efectos muy pequeños. De este modo, a pesar de que era evidente que estos genes funcionaban en la región de las costillas y de la columna vertebral, no era claro lo que hacían”.

Por lo tanto, Wellik y Capecchi intentaron realizar la difícil tarea de anular todos los genes parálogos o alelos *Hox10* u *Hox11*. Los experimentos eran particularmente difíciles porque la eliminación de los genes afectaba profundamente el desarrollo embrionario y la supervivencia de los ratones. Otra complicación era que muchos de los animales sobrevivientes eran estériles. Pero cuando los científicos pudieron producir ratones knock-out carentes de conjuntos enteros de genes pero que sobrevivían al nacimiento, los efectos sobre el desarrollo resultaron dramáticos.

“Cuando eliminamos todos los genes *Hox10*, obtuvimos animales que producían costillas que se extendían desde la región torácica normal hasta la cola”, dijo. “Lo que es interesante es que éste es el plan corporal de la mayoría de los peces así como de los primeros tetrápodos, tales como los dinosaurios. Sin embargo, este plan resultaba en un cuerpo inflexible, así que los mamíferos básicamente adaptaron los genes *Hox* para librarse de algunas de esas costillas y para aumentar la flexibilidad y la velocidad”.

Cuando los investigadores anularon los genes *Hox11*, las vértebras más bajas, o sacras, de los animales asumieron la identidad de las vértebras lumbares (las que se encuentran entre las vértebras sacras y las torácicas que sostienen las costillas) y ninguna vértebra sacra se desarrolló en el animal.

Los investigadores también encontraron que la anulación de los genes *Hox10* u *Hox11* afectaba la longitud de huesos específicos de las extremidades, demostrando que esos genes tienen una función en la morfogénesis de las extremidades.

“Todos estos resultados indican que estos genes controlan la morfogénesis global de estructuras esqueléticas, a diferencia de la formación de estructuras costilla por costilla, por ejemplo”, dijo Capecchi. “Esta comprensión también sugiere una vía evolutiva por la cual los vertebrados podrían haber desarrollado distintos patrones para distintas especies a lo largo de la evolución”.

Un desafío importante para los investigadores que estudian el control genético del desarrollo será detectar el lugar donde la panoplia de genes *Hox* se expresa en el embrión en crecimiento, dijo Capecchi. “Hemos demostrado

que los patrones de expresión de estos genes son bastante dinámicos”, dijo. “De este modo, cuando los investigadores estudian la expresión de genes *Hox* específicos en un tejido determinado, puede ser que no los vean porque los genes sólo se expresan durante ciertos períodos del desarrollo”. Varios estudios de animales knock-out, tales como los que se han realizado con *Hox10* y en *Hox11*, también podrían proporcionar claves importantes sobre la forma en la que los genes se afectan mutuamente, dijo.

Experimentos futuros de los investigadores, así como también los de colegas que estudian otros genes *Hox*, podrían involucrar la anulación de todos los genes de los conjuntos individuales de genes *Hox* parálogos y servirían para intentar discernir las funciones de esos conjuntos de genes a partir de la observación de las alteraciones en el desarrollo del plan corporal.

“Sin embargo, pienso que la naturaleza no será tan amable con nosotros”, dijo Capecchi. “Sospecho que a veces el desarrollo de una estructura en particular involucrará el uso de miembros de una familia paróloga completamente diferente. De este modo, nuestros knock-outs pueden tener que ser mucho más amplios de lo que ahora pensamos”.

Otro desafío importante, dijo, será la determinación de los genes que regulan a los genes *Hox* para controlar el desarrollo. “En definitiva, tenemos que determinar en sentido molecular lo que significa hacer una costilla o no hacerla”, dijo Capecchi. Al menos, dijo, la investigación hasta el momento ha proporcionado descubrimientos importantes.

“Incluso entre mamíferos, hay formas corporales muy diferentes, como las de jirafas, monos, seres humanos y ratones. Y lo que aprendemos de investigaciones como la nuestra es que se pueden generar todos estos distintos planes corporales utilizando reglas relativamente simples y el mismo conjunto de genes, pero sólo modulándolos de forma diferente”.