

04 DE NOVIEMBRE DE 2005

Técnica ofrece nueva perspectiva del dinámico paisaje biológico

Una nueva técnica para analizar la red de interacciones genéticas promete cambiar la forma en la que los investigadores estudian el dinámico paisaje de la célula. La tecnología, que se llama perfil de mini arreglo epistático (E-MAP, por sus siglas en inglés), ya se ha utilizado para asignar nuevas funciones a genes conocidos, para descubrir las funciones de proteínas que no habían sido caracterizadas antes y para definir la forma en la que interactúan las vías bioquímicas y las proteínas.

El E-MAP permitirá una nueva comprensión de la forma en la que los genes y las proteínas funcionan en la célula, dijo Jonathan S. Weissman, investigador del Instituto Médico Howard Hughes (HHMI) en la Universidad de California, en San Francisco (UCSF) y líder del equipo que desarrolló la técnica. Por ejemplo, los E-MAPs de las interacciones genéticas humanas podrían permitir que los investigadores optimicen tratamientos con drogas en base a los antecedentes genéticos de los pacientes. También podría ser posible utilizar el E-MAP para desarrollar combinaciones eficaces de drogas antivirales que ataquen proteínas producidas por genes que interactúan. Tal estrategia ayudaría a evitar que estos genes actúen juntos para compensar el ataque a sólo una proteína, dijo Weissman.

"Proporciona una forma menos condicionada por una hipótesis y más objetiva de estudiar la estructura de los sistemas biológicos."

— **Jonathan S. Weissman**

Los investigadores, conducidos por Weissman, Maya Schuldiner, estudiante postdoctoral de su laboratorio, y Nevan Krogan, en la Universidad de Toronto, describieron estudios iniciales de E-MAP en levadura en el número del 4 de noviembre de 2005, de la revista *Cell*. Weissman y sus colegas de UCSF realizaron los estudios en colaboración con investigadores de la Universidad de Toronto.

Técnicas anteriores para analizar interacciones epistáticas -forma en la que la actividad de un gen afecta la de otro- involucraban la alteración de genes individuales y el análisis de su impacto en el crecimiento en combinación con

el resto de los genes del genoma de levadura. “El método de uno a uno ha sido una forma extremadamente poderosa para estudiar sistemas biológicos”, dijo Weissman. “Pero quisimos realizar tales análisis de una forma sistemática y utilizar la nueva generación de tecnologías de alto rendimiento para explorar cuantitativamente y al mismo tiempo una gran cantidad de interacciones genéticas de tipo epistáticas”.

La técnica E-MAP consiste en “reducir” selectivamente la actividad de una multiplicidad de pares de genes y en comparar los efectos de esos cambios con los que resultan cuando cada gen se reduce individualmente. La actividad de muchos genes podría reducirse al eliminarlos por completo, pero para el subconjunto de genes que son esenciales para el crecimiento de la levadura -cuya delección completa podría matar a la célula- los investigadores inventaron una técnica de alto rendimiento para manipular la vida media del ARN mensajero (ARNm). Dado que el ARNm es un intermediario genético que actúa durante la conversión de un gen en proteína, la reducción de su vida media, al mutar el mensaje del ARNm, disminuye la cantidad de proteína que la célula puede producir. El grupo llamó a esta metodología “disminución de la cantidad por perturbación del ARNm” (DAmP, por sus siglas en inglés).

“La técnica DAmP nos ofreció una forma de disminuir la cantidad del ARN mensajero de un gen diana mientras que mantenía su regulación natural”, dijo Weissman. “La mayor parte de los ARNms de levadura tienen una vida media de aproximadamente diez minutos, pero nuestras alteraciones los desestabilizaron de modo tal que tuvieron una vida media de sólo un par de minutos. Por lo tanto, producen entre cinco y diez veces menos proteínas”, dijo.

Al desarrollar el E-MAP, los investigadores se enfrentaron a un obstáculo significativo: Incluso los relativamente modestos 6.000 genes de la levadura generaban casi 20 millones de pares de genes posibles que deberían ser estudiados. Para reducir el número de interacciones posibles, adoptaron una estrategia llamada agrupación por cercanía, que restringe el análisis a genes que tienen funciones relacionadas y que también se agrupan en un lugar de la célula. En el artículo de *Cell*, aplicaron la técnica E-MAP a un “mini arreglo” de 442 genes de levadura que definen una vía biológica llamada vía secretora temprana. Esta vía que está dividida en compartimientos e interconectada sintetiza y regula lípidos y proteínas secretadas en levaduras.

Weissman y sus colegas también necesitaban una forma de cuantificar los efectos epistáticos de genes mutantes que interactúan en la viabilidad de las células. Dado que las levaduras forman colonias redondas cuando crecen en placas de cultivo, pudieron medir el tamaño de la colonia de células mutantes de una forma automatizada y utilizar la medición para calcular los índices de crecimiento. Para determinar los efectos epistáticos, compararon el índice de crecimiento de cada célula con mutaciones en dos genes con el índice de crecimiento de las células mutantes que tenían mutaciones en sólo uno de esos genes.

“El análisis de estas interacciones epistáticas nos dio una perspectiva única y coherente sobre la función y la estructura de esta red en levaduras”, explicó Weissman. “Y también resultó ser una gran forma de encontrar nuevas funciones genéticas o de comprender la forma en la que funcionaban los genes conocidos y los procesos en los que probablemente estaban involucrados. Pero además de eso, pudimos identificar grupos de genes que estaban actuando de una manera coherente, para producir complejos de proteínas. Y entonces en un nivel más global, pudimos ver cómo los distintos procesos interactuaban entre sí”.

“En genética clásica, en cambio, se comienza con un proceso en el que se está interesado -por ejemplo, la secreción- y se buscan todos los genes que afectan la secreción. Es una metodología productiva, pero es un proceso muy orientado”, dijo. “Se podría encontrar un gen dado que esté involucrado en la secreción, pero no nos dice sobre los muchos otros procesos en los que podría estar involucrado”.

En cambio, con la metodología E-MAP, los investigadores comienzan con el gen y se preguntan sobre todos los procesos que afecta. “Proporciona una forma menos condicionada por una hipótesis y más objetiva de estudiar la estructura de los sistemas biológicos”, dijo Weissman.

En estudios futuros, Weissman y sus colegas planean desarrollar mediciones cuantitativas mejores de los efectos de las interacciones epistáticas y ampliar su técnica a otros organismos, en última instancia a los seres humanos.

Además de ofrecer pistas básicas importantes sobre las funciones de proteínas y de genes, los E-MAPs también contribuirán a comprender los procesos evolutivos. “En teoría evolutiva, la estructura de las interacciones epistáticas de genes es crítica”, dijo. “Para entender la forma en la que distintas variaciones, o alelos, de un gen afectan la evolución de un organismo, se tiene que comprender como está afectado cada gen por el contexto genético en el cual funciona”.

Yendo más allá de lo teórico, los E-MAPs también podrían tener aplicaciones clínicas. “En el campo de los estudios farmacogenómicos, los médicos intentan adaptar terapias de drogas a las características genéticas de un individuo”, dijo Weissman. “Esencialmente están formulándose las mismas preguntas acerca de las interacciones epistáticas que pueden contestar las E-MAPs. Si inhiben una proteína -en este caso con una droga en lugar de anular el ARNm- desean saber cómo otros genes interactúan con esa inhibición”.

Conocer las interacciones en las que participa un gen diana también podría permitir que los médicos predigan la variabilidad de los efectos de una droga en distintas personas. La comprensión de tales interacciones también podría dar a los investigadores farmacéuticos pistas sobre la magnitud de los posibles efectos secundarios de las drogas que se encuentran en desarrollo.

El desarrollo de una combinación de terapias con drogas, por ejemplo para cáncer o virus, también podría beneficiarse con la metodología E-MAP. “En

tales casos, los médicos desean saber si -si las drogas que inhiben cada una de las dos proteínas retrasan un cáncer o un virus- las dos proteínas interactúan epistáticamente, de modo tal que la inhibición de ambas produzca un efecto mucho mayor que la suma de las dos”, dijo.