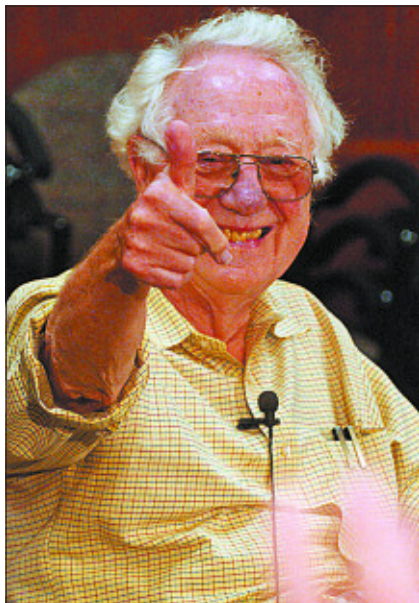


FUTURO



Los tres galardonados con el Premio Nobel de Medicina o Fisiología: Martin Evans, Oliver Smithies y Mario R. Capecchi (de izquierda a derecha). / REUTERS / EFE

PREMIO NOBEL DE FISIOLÓGÍA O MEDICINA

Estirpes de ratones noqueados para descifrar sus genes

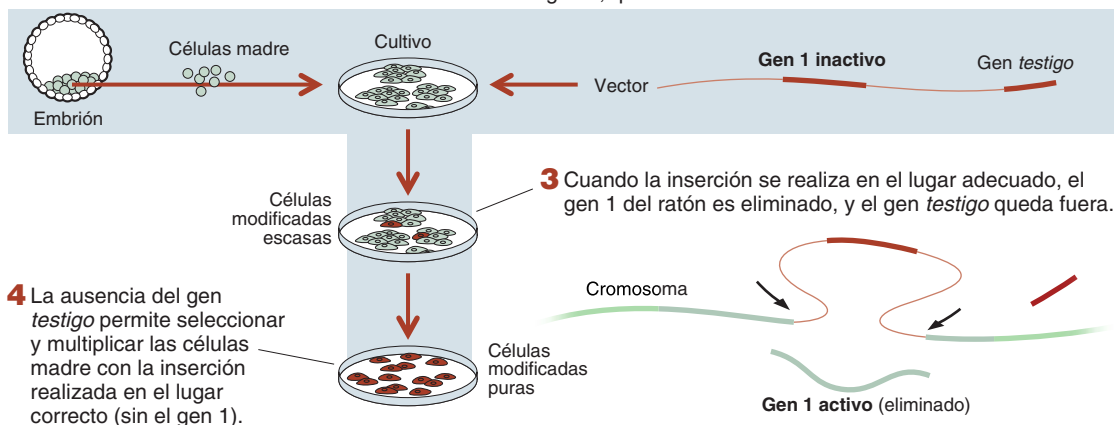
Los hallazgos de Mario R. Capecchi, Martin J. Evans y Oliver Smithies se han convertido en métodos habituales de laboratorio

Ratones 'knockout' a partir de células madre

La técnica consigue crear ratones en los que se suprime un determinado gen (llamados ratones *knockout*), lo que permite estudiar la función del mismo y el efecto de su ausencia en el desarrollo del animal.

1 Se extraen y cultivan las células madre de un embrión normal de ratón

2 Se construye un vector de ADN, que tiene una secuencia que permitirá que se inserte en el cromosoma del ratón en el lugar del gen 1, que se desea eliminar.



4 La ausencia del gen *testigo* permite seleccionar y multiplicar las células madre con la inserción realizada en el lugar correcto (sin el gen 1).

5 Se inserta una célula modificada en el embrión de un ratón normal

6 El ratón resultante es un mosaico de células normales y modificadas

7 Parte de la descendencia del ratón mosaico será normal, pero parte tendrá todas sus células modificadas



Fuente: Fundación Nobel.

H. L. / EL PAÍS

gen concreto que se quiere modificar o suprimir.

Capecchi y Smithies investigaron la posibilidad de modificar un gen concreto en células de mamífero cultivadas *in vitro*. Para ello, aprovecharon una propiedad inherente de las células denomina-

Evans fue pionero en conocer las propiedades de las células madre

da recombinación homóloga. Esta desempeña un papel fundamental en la evolución de las especies, pues origina la variabilidad genética que resulta de combinar la información de cada una de nuestras parejas de cromosomas al entrecruzar fragmentos del ADN

del cromosoma heredado de la madre y del heredado del padre.

La idea de Capecchi y Smithies consistía en preparar *in vitro* un fragmento de cromosoma en cuya posición central se encuentra la versión del gen que querían que reemplazara a la normal. Cuando introdujeron estos fragmentos de ADN en el interior de células de mamífero en cultivo vieron que era posible seleccionar aquellas células en las que, gracias al proceso de recombinación homóloga, el fragmento de ADN exógeno se había insertado en su sitio homólogo del genoma del ratón, reemplazando así a la secuencia endógena.

Simultáneamente, los trabajos de Evans se centraron en cómo conseguir estirpes de ratones mutantes a partir de embriones en los que introducía células modificadas genéticamente (por inserción de una secuencia exógena de

ADN en una posición desconocida de sus cromosomas). La clave de los trabajos de Evans radicó en el uso de células madre embrionarias. De hecho, él fue uno de los pioneros en conocer las propiedades de estas células y en establecer las condiciones para su cultivo *in vitro* de manera indefinida. Estas células pueden originar todos los tejidos del cuerpo, y Evans comprobó que si los órganos sexuales del ratón resultante se formaban a partir de las células madre modificadas genéticamente, la mutación se propagaba a la siguiente generación, estableciéndose así una nueva estirpe de ratón mutante.

La combinación de los hallazgos de Evans y de los de Capecchi y Smithies hizo posible la publicación, en 1989, de los primeros ratones en los que un determinado gen había sido sustituido por una versión *nula* del mismo. Se trataba de los primeros ratones *knockout*.

Desde entonces, esta técnica se ha implantado en la práctica totalidad de los centros de investigación biomédica de todo el mundo que, a su vez, han tenido que adaptarse para albergar el cada vez mayor número de líneas de ratones *knockout* generadas.

En la actualidad, se dispone de versiones de ratones *knockout* de unos 10.000 genes, de las que unas 500 constituyen modelos animales de enfermedades humanas. Además, varios consorcios internacionales persiguen generar líneas de ratones *knockout* de los genes restantes y hacer que todas estén disponibles para la comunidad científica.

En cuanto a la utilidad de esta técnica para la investigación bio-

En la actualidad, se dispone de versiones de ratones 'knockout' de unos 10.000 genes

médica, ya se han mencionado los modelos animales que resultan de *noquear* los genes responsables de enfermedades hereditarias monogénicas como la fibrosis quística, muchas formas de hemofilia, la talasemia o la gran mayoría de las metabolopatías congénitas.

Sin embargo, esta técnica también ha servido para comprender el mecanismo patogénico de muchas enfermedades más complejas como el cáncer, la hipertensión, las enfermedades inflamatorias y autoinmunes y las neurodegenerativas, pues permite verificar o descartar el posible rol patogénico de un determinado gen. Así, por ejemplo, el ratón *knockout* de un gen que se sospecha que es un supresor de tumores tendría que mostrar una mayor susceptibilidad a desarrollar cáncer. En el caso de las enfermedades neurodegenerativas por priones como la de las vacas locas, se vio que el prión anómalo inoculado no transmitía la enfermedad a los ratones *knockout* carentes de la proteína del prión endógena, demostrando así que el prión infeccioso requiere la presencia de la proteína priónica normal a la que le transmite la capacidad patogénica. Además, la técnica ha experimentado mejoras sucesivas que permiten *noquear* un gen sólo en determinados tejidos o sólo a partir de una determinada edad, lo que ha multiplicado su potencial en investigación, tanto básica como aplicada.

José Lucas es investigador científico del CSIC en el Centro de Biología Molecular Severo Ochoa. <http://www.cbm.uam.es/lineas/joselucas.htm>