

MODIFICANDO EL PRESENTE PARA ENTENDER EL PASADO: EL ANFIOXO Y LA TRANSICIÓN DE INVERTEBRADOS A VERTEBRADOS

Cristina Higes Castillo



Fig.1 Algunos miembros del grupo de investigación Reg-Volution liderado por Jordi García-Fernández (a la derecha de la foto) en la Facultad de Biología

MIEMBROS DEL GRUPO

Jordi García-Fernández
Enrique Navas
Bea Albuixech
Roser Febrero
Demián Burguera
Carlos Herrera
Ariadna Rosell
Anna Farré

Este grupo de investigación está liderado por el Dr. Jordi García-Fernández, que es catedrático de Genética y Vicedecano de la Facultad de Biología, y a la vez dirige el Laboratorio Anfioxo/Evo-Devo (grupo Reg-Volution) del Departamento de Genética de la Facultad. Es un grupo de investigación sobre la Evo-Devo que centra su actividad en líneas de investigación sobre la Biología evolutiva del desarrollo por vía experimental a partir del anfioxo (cefalocordado), y que destaca el papel clave de los genes del desarrollo para comprender la evolución biológica.

Este equipo científico estudia el anfioxo y los genes del desarrollo (*Hox*, *ParaHox*, *BHLH*, factores neurotróficos y receptores, entre otros) para conocer los fundamentos de la evolución morfológica en la transición de invertebrados a vertebrados. Los trabajos, que han generado diversas publicaciones en revistas de máximo impacto científico, van dirigidos a desentrañar los mecanismos de la evolución morfológica mediante cambios en los programas del desarrollo. El grupo ha participado en el análisis de genes con secuencia homeótica y tirosinasa, en el marco del proyecto internacional de secuenciación sobre el anfioxo

Junto con cinco publicaciones en la revista internacional *Nature*, sus resultados y análisis detallados se publican en varias revistas científicas, como *Genome Research*, *Molecular Biology and Evolution: BioEssays*, *International of Developmental Biology* y *Development Genes and Evolution*.

El origen de los vertebrados ha sido un punto clave y de gran interés para muchos científicos y para la sociedad en general. Es aquí donde aparece el anfioxo, un fósil viviente, con el que se trabaja en el laboratorio para poder encontrar respuestas a estos momentos claves y trascendentales de la evolución. El anfioxo no sólo es morfológicamente el representante vivo del ancestro de todos los cordados, sino que, como más adelante veremos, posee un genoma "preduplicativo", es decir, un modelo en versión simple del genoma de todos los vertebrados, incluyendo el humano. El análisis del genoma del anfioxo ha permitido clarificar el origen del nuestro, a la vez que nos ha ayudado a entender mejor el origen y funcionamiento de familias y redes génicas importantes para el desarrollo embrionario y la fisiología. Así pues, gracias a los avances técnicos en la reproducción y experimentación, tenemos las bases para poder encontrar y entender nuestros orígenes y el funcionamiento de nuestro genoma.

La evolución del desarrollo está viviendo una revolución con la acumulación de datos genómicos disponibles, que permiten hacer análisis comparados en una gran diversidad de especies. Todo esto está facilitando el estudio de cualquier aspecto del genoma, no sólo desde una visión monogénica, sino desde una visión más amplia que incluye el análisis de redes génicas reguladoras y procesos interconectados en muchas especies diferentes.

¿Qué es la Evolución del Desarrollo?

La evolución del desarrollo (Evo-Devo) es un campo de la Biología que compara los procesos de desarrollo de diversos organismos con el fin de determinar sus relaciones filogenéticas y cómo evolucionaron los diversos procesos de desarrollo. Además, busca identificar los mecanismos del desarrollo que dan origen a cambios evolutivos en los fenotipos de los individuos.

Entre otras cosas se estudia el origen y la evolución del desarrollo embrionario, el papel de la plasticidad del desarrollo en la evolución y la base del desarrollo de las homoplasias, que son cambios evolutivos paralelos que hacen que dos organismos presenten un mismo carácter adquirido de manera independiente, y las homologías, que son estructuras morfológicamente semejantes, la semejanza de las cuales se debe a que derivan de una estructura ancestral común (Hall, 2003).



El interés principal de este nuevo campo de investigación es entender cómo evolucionan las nuevas estructuras e innovaciones morfológicas de los organismos. De esta manera la evolución se definiría como el cambio durante los procesos de desarrollo (Fig.2).

Fig.2 Argumento básico en que se centra la Evolución del Desarrollo (Baguña y García-Fernández, 2003)

Un poco de historia

El término de evolución del desarrollo deriva de la relación entre evolución y desarrollo, donde la evolución se refiere a cualquier proceso de formación, crecimiento o cambio, y por desarrollo se entienden todos aquellos procesos de evolución natural desde estadios tempranos simples (estadios embrionarios), hasta estadios más avanzados y complejos, o al organismo completo (Webster, 1996). Lo que tienen en común estos dos términos es que se refieren a procesos que van de lo más simple a lo más complejo, es decir, de embriones en el desarrollo a taxones en evolución. Un análisis más exhaustivo ha permitido definir estos términos con más precisión en la actualidad, donde por desarrollo entendemos la serie de cambios complejos y organizados que van desde la fecundación (formación del cigoto) hasta la muerte del individuo, y por evolución entendemos el desarrollo gradual de organismos complejos a partir de ancestros más simples a lo largo del tiempo geológico.

El lugar central del Desarrollo

Las relaciones entre el desarrollo con otros 3 grandes procesos en Biología (herencia, reproducción y evolución), vienen esquematizadas en la Figura 3. La transmisión de la información genética (herencia), de una generación (G1; parental) a la siguiente (G2; filial), la realiza la reproducción, mientras que el desarrollo es el proceso que genera fenotipos similares a los parentales bajo el control de la información genética. Finalmente, es durante el desarrollo cuando las variaciones o mutaciones genéticas producen variaciones en la morfología del embrión y del adulto, sobre las que la selección natural actuará dando lugar a la adaptación y evolución de los diferentes individuos.

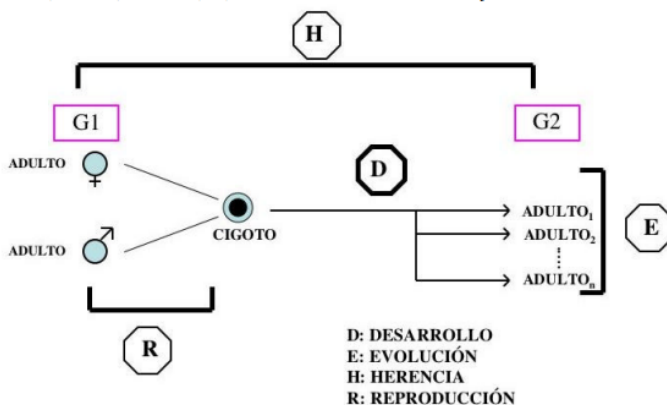


Fig.3 Representación de las relaciones entre Desarrollo (D), Evolución (E), Herencia (H) y Reproducción (R) durante el paso de una generación (G1) a la siguiente (G2), en una población de individuos de una especie. (Baguñà J., 2006)

De este esquema anteriormente representado se deriva un evidente **flujo causal**; la causalidad entre desarrollo y evolución en dirección Gen-Desarrollo-Evolución, y no al revés. Mientras que el análisis de los procesos del desarrollo puede ser muy útil para entender el proceso evolutivo de cambio morfológico, del conocimiento de los mecanismos evolutivos no se puede llegar, necesariamente, a un mejor conocimiento del desarrollo. Como consecuencia, cabe esperar que el conocimiento adecuado de la evolución dependa, en primer lugar, del conocimiento de la naturaleza de la información genética y de su transmisión y, en segundo

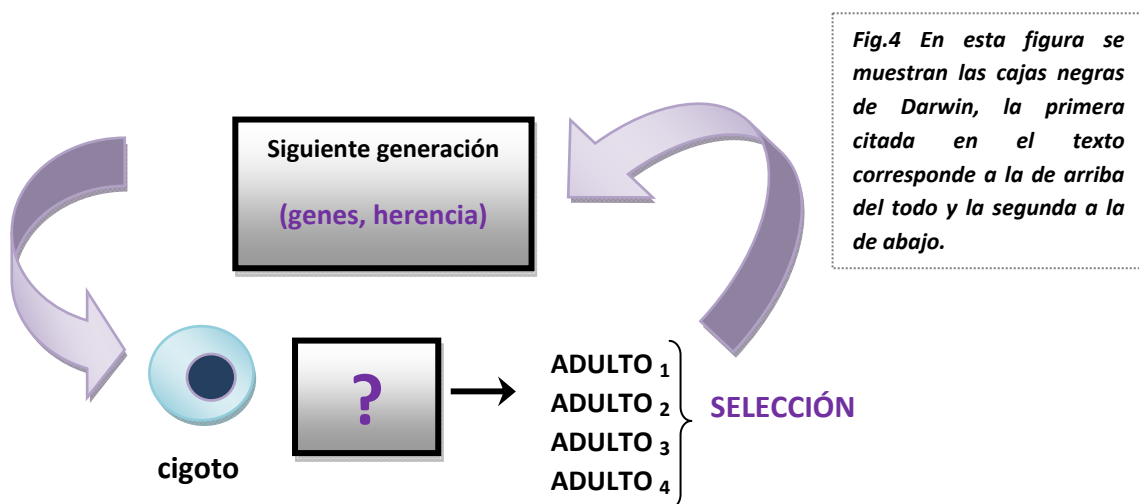
lugar, de cómo la variación genética produce cambios en los procesos de desarrollo generando variación fenotípica.

La teoría darwiniana de la evolución y sus cajas negras

Charles Darwin publicó, en el 1859, el libro de "El origen de las especies", basado en sus expediciones y viajes con el *Beagle*, durante la década del 1830. Este libro fue uno de los primeros fundamentos de la teoría de la Biología evolutiva, ya que en él se puso de manifiesto la teoría científica de que las poblaciones evolucionan, durante el transcurso de las generaciones, mediante un proceso de **selección natural**. Esta selecciona los organismos mejor adaptados al medio donde viven, que tienen más probabilidades de sobrevivir y más posibilidades de reproducirse y dejar su herencia a las generaciones futuras. La acumulación de estos cambios durante generaciones produciría fenómenos evolutivos.

El libro de "El origen de las especies" también presentó evidencias de que la diversidad de la vida surgió de la descendencia común a través de un patrón ramificado de evolución. Estas evidencias fueron contrastadas por Darwin durante su expedición del viaje con el *Beagle* y de sus descubrimientos posteriores a través de la investigación y la experimentación. Para Darwin, el desarrollo embrionario era la mejor prueba a favor de la transformación, o cambios de forma, en evolución. A lo largo del tiempo, las homologías morfológicas eran prueba de la existencia de un ancestro común, una guía muy buena para una clasificación más racional de los organismos.

En la teoría de "El origen de las especies" de Darwin, se observan dos cajas negras (Fig.4). La primera de ellas, hace referencia a cómo se pasarían estos rasgos seleccionados como más ventajosos en las siguientes generaciones, se explicaría gracias a la selección natural y la herencia de estos genes que van pasando de generación en generación. No obstante, Darwin no pudo explicar la segunda caja negra que se observa, que hace referencia a los diferentes organismos que se forman durante el proceso de desarrollo a partir de un cigoto, a priori, con las mismas características y rasgos seleccionados como más ventajosos para la selección natural. Una de las posibles razones era el desconocimiento absoluto que había de las reglas de la herencia y de cómo se producía la variación morfológica.



A lo largo del tiempo, y con más conocimientos sobre las leyes de la herencia, se pudo responder a la pregunta de cómo se genera variación morfológica en los individuos adultos. Como veremos más adelante, la evolución del desarrollo ha sido uno de los puntos claves para explicar estos procesos que Darwin, en su época, no pudo acabar de interpretar.

De esta manera, con Darwin publicando "El origen de las especies" en el 1859, concretamente dentro de éste con su escrito "*Community of embryonic structure reveals community of descent*", donde se habla de cómo las diferentes estructuras embrionarias llevan a diferentes individuos adultos, surgió por primera vez el concepto de evolución del desarrollo, ya que Darwin fue el primero en observar que había alguna relación entre desarrollo y evolución. Este concepto se ha ido perfeccionando con el tiempo, hasta llegar al concepto de Evo-Devo moderna, donde surgió el nombre por primera vez en un congreso en Edimburgo, en el 1994, y ya se habló de la Evo-Devo como una fusión entre la evolución, el desarrollo y la biología molecular.

Pruebas de la evolución

En primer lugar, tenemos que hablar del desarrollo embrionario, y uno de los primeros en hablar sobre la embriología fue Karl Ernst von Baer, en el siglo XIX. Fue él quien propuso una teoría epigenetista del desarrollo, según la cual, la ontogénesis (proceso de desarrollo de un organismo) comienza por un estado homogéneo que diferenciándose sucesivamente en partes heterogéneas. Es decir, los caracteres generales del grupo al que pertenece el embrión aparecen en el desarrollo antes que los caracteres específicos, las relaciones estructurales específicas se forman después de las genéricas. También, en el 1828 formuló sus famosas leyes empíricas del desarrollo embrionario, donde demostró que 1) las características generales de un grupo aparecen en los embriones antes de que las específicas, 2) los embriones de una determinada especie, en vez de pasar a través de los estadios de otros organismos, se apartan en realidad cada vez más de ellos, y 3) por lo tanto, el embrión de un organismo superior nunca se parece al adulto de un animal inferior sino sólo a su embrión.

Así fundó la embriología comparada, en la que se observa como los embriones de diferentes organismos divergen progresivamente a partir de estadios iniciales relativamente homogéneos

que se van diferenciando en función de la clasificación taxonómica, desde los grandes grupos hasta la especie (Fig.5).



Fig.5 En esta imagen se pueden observar embriones de distintos organismos en diferentes estados de desarrollo. Durante los primeros estadios las formas de los embriones son más homogéneas y después se van diferenciando más a lo largo del proceso de desarrollo (Haeckel, 1874)

¿Cómo se forma un organismo?

Para entender cómo se forma un organismo hay que verlo desde una perspectiva de la genética del desarrollo, e ir hasta los años 70, donde Edward B. Lewis describió la influencia de algunos genes en el desarrollo embrionario. Lewis hizo estudios sobre mutaciones que afectaban al desarrollo de *Drosophila melanogaster* y, en particular, con los llamados mutantes homeóticos. Estos mutantes presentan unas mutaciones que transforman segmentos completos, con sus apéndices, en estructuras correspondientes a otro segmento, generalmente más anterior a lo largo del eje anteroposterior. Así pues, Lewis demostró que estas mutaciones se producían en genes contiguos a lo largo del cromosoma, que especificaban correlativamente la morfología a lo largo del eje anteroposterior de *Drosophila* (Lewis, 1978).

También Edward B. Lewis, junto con Christiane Nüsslein-Volhard y Eric Wieschaus, logró identificar en *Drosophila* una serie de genes que determinan la evolución de los distintos segmentos del animal. Estos genes homeóticos identificados (genes implicados en la regulación del desarrollo embrionario, que poseen una secuencia de DNA altamente conservada llamada *homeobox*, y que forman parte de la familia de genes homeóticos HOM/HOX) están agrupados en dos complejos situados en el cromosoma 3 de *Drosophila*: el complejo *Antennapedia* (ANT-C) que regula el desarrollo de la cabeza y de los segmentos torácicos anteriores, y el complejo *Bithorax* (BX-C) que regula los segmentos abdominales y torácicos posteriores (Nüsslein-Volhard C. y Wieschaus E., 1980). El complejo *Antennapedia*

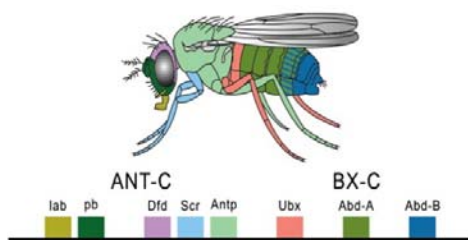


Fig.6 Disposición de los genes Hox en *Drosophila*, agrupados en los dos complejos ANT-C y BX-C.

(Fuente:<http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Hoxgenesoffruitfly.jpg>)

consta de 5 genes, mientras que *Bithorax* consta de 3, y el orden en el que están dispuestos estos genes *Hox* refleja su orden de expresión en el cuerpo de *Drosophila*: en el extremo 3' de la cadena de DNA se encuentra el gen *Labial*, que se expresa en la cabeza, mientras que el gen situado más a la derecha, *Abdominal-B*, se expresa al final del abdomen de la mosca. De esta manera, su disposición en el genoma mantiene una correlación con la pauta de expresión espacial y temporal de *Drosophila* (Fig. 6).

A partir de aquí, este clúster o grupo de genes *Hox* detectado primero en *Drosophila*, se vio que también se encontraba en varios invertebrados y vertebrados, entre ellos los humanos. En los humanos hay 39 genes *Hox*, que se agrupan en 4 clústers designados con una letra cada uno y localizados en diferentes cromosomas: HOXA (en el cromosoma 7), HOXB (cromosoma 17), HOXC (cromosoma 12) y HOXD (cromosoma 2). El patrón de expresión de estos genes *Hox* es espacial y temporalmente colineal con su posición dentro del clúster; la expresión de estos genes determinará la identidad de los distintos segmentos del cuerpo (Fig. 7).

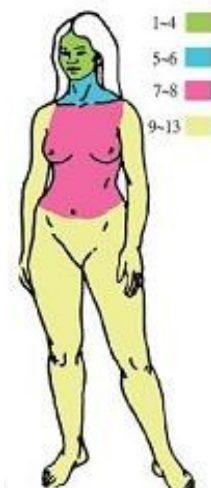


Fig.7 Disposición de los genes Hox en humanos.
(Fuente:http://darwin200.christs.cam.ac.uk/pages/index.php?page_id=g8)

Genómica comparada y la gran paradoja

La genómica comparada estudia las semejanzas y diferencias entre genomas de diferentes organismos. En el siglo XXI se vio que los genomas del humano y del ratón eran similares, compartiendo un mismo orden de cromosomas. También se vio que existía un alto grado de conservación de secuencias codificadoras entre los genes de ambas especies, y se vio que algunos segmentos de cromosomas conservaban las mismas secuencias de genes (conservación sinténica) (Fig.8).

De aquí surge una gran paradoja: ¿Cómo puede haber evolución si estamos hechos del mismo genoma? Todos tenemos una "caja de herramientas conservada" (the *developmental-genetic toolkit*), que como su nombre indica está altamente conservada entre especies, donde están todos aquellos genes que controlan el desarrollo de un organismo. La gran mayoría de los genes de esta caja de herramientas son componentes de rutas de señalización y codifican factores de transcripción, proteínas de adhesión celular, receptores de membrana y morfógenos secretados. Su función está altamente correlacionada con sus patrones de expresión espacio-temporal (Carroll *et al.*, 2005).

Diferencias en la expresión de esta caja afectan al plano corporal, al número, la identidad y la organización de las diferentes partes del cuerpo. Por lo tanto, diferencias en la expresión de estos genes en la regulación génica, llevarían a un patrón de desarrollo diferente entre organismos. La Evo-Devo estudia todos estos fenómenos que llevan a cambios evolutivos entre organismos, fijándose en cómo las variaciones en el nivel, patrón o ritmo de la expresión génica pueden llevar a la diversidad morfológica entre individuos, y de aquí cómo la selección natural actuará sobre ellos.

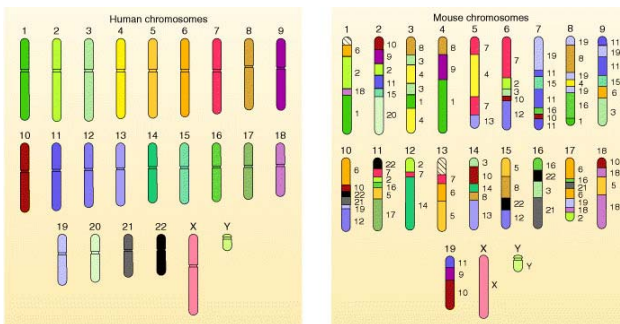


Fig. 8 Comparación del genoma humano (izquierda), con el genoma del ratón (derecha). Se puede observar como regiones de los cromosomas de los humanos se encuentran en los mismos cromosomas en el ratón.

(Fuente: http://www.bio.miami.edu/dana/250/250S12_16.html)

Variaciones sutiles a nivel de dónde, cuándo y cuánto actúan los genes del desarrollo

Ejemplo: Murciélago

Los murciélagos, o quirópteros, tienen un rasgo morfológico muy característico y distintivo al resto de mamíferos, la estructura de sus extremidades anteriores. Actualmente, hay bastante consenso en que los murciélagos se originaron hace unos 50 millones de años, y que su antepasado era un pequeño mamífero no volador, similar a los actuales roedores, con las extremidades anteriores parecidas a las de los ratones actuales. El ala de los murciélagos consiste en una membrana de piel continua y ligera que recubre unos huesos alargados metacarpianos de los dígitos III, IV y V.

A partir de la Evo-Devo se ha planteado la siguiente pregunta: ¿podríamos reproducir en el laboratorio los cambios que han permitido la adaptación al vuelo de los murciélagos? A partir de aquí, hay que ver cuáles son los mecanismos y genes responsables para el desarrollo de las extremidades de los mamíferos. El alargamiento de los dígitos y, en general, de los huesos largos de las extremidades anteriores es debido a una mayor tasa de proliferación y diferenciación de células del cartílago (condrocitos), cuando los condrocitos dejan de proliferar y se diferencian en células óseas maduras el hueso ya no podrá seguir creciendo.

Entre los diversos genes identificados en el proceso de maduración de los condrocitos, encontramos *BMP* (*bone morphogenetic protein*). Las proteínas BMP-2, BMP-4 y BMP-7, se expresan moderadamente durante el desarrollo de las extremidades del ratón, y se ha demostrado que existe una relación clara entre la cantidad de estas proteínas y el crecimiento de los dedos. Al estudiar los niveles de expresión normal de estos genes BMP en los murciélagos, se vio que los niveles de BMP-2 incrementaban repentinamente en la zona de proliferación, cuando los dedos empezaban a crecer de forma desproporcionada respecto a los

de los ratones, pero sólo en las extremidades anteriores, que acabarán formando las alas de los murciélagos (Fig.9).

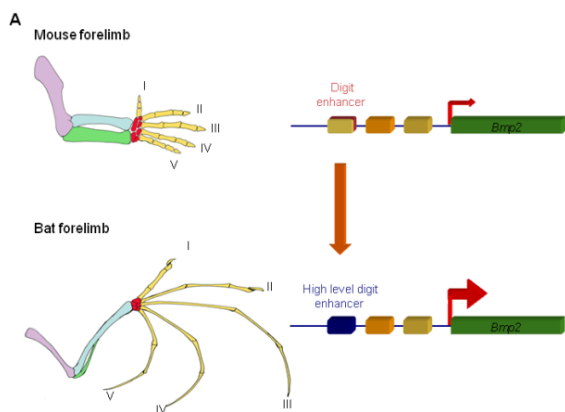


Fig.9 Expresión de BMP-2 en ratón (imagen de arriba) y en murciélago (imagen de abajo). En el murciélago existe una región reguladora que actúa como intensificadora (enhancer) aumentando la expresión del gen. (Sears et al., 2006)

De esta manera, volviendo a la pregunta anteriormente formulada: ¿sería posible modificar genéticamente ratones en el laboratorio para conseguir que tengan extremidades anteriores más largas, como los murciélagos? Se han realizado experimentos con la región reguladora del gen *Prx-1* (de la familia de genes con *homeobox*), este gen se expresa en múltiples lugares durante el desarrollo. Los ratones creados en el laboratorio como *knock-outs* para *Prx-1* (se les ha eliminado la función de este gen), presentaban, entre otras graves alteraciones, unas extremidades muy reducidas al nacer, por una falta de elongación de los huesos largos de las extremidades. Al estudiar la expresión de *Prx-1* durante el desarrollo de las extremidades anteriores en los murciélagos, se vio que este gen se expresaba mucho más y en un dominio más amplio que en el ratón. Así pues, tenía que haber alguna región reguladora de *Prx-1* que actuaba como intensificador en el caso del murciélago, haciendo que este gen se expresara mucho más durante la formación de las alas. Y se encontró una región reguladora, la región E, responsable de la expresión de este gen en las extremidades, que presentaba un 65% de similitud entre ratón (llamada región MusE) y murciélago (llamada BatE). Esta región BatE hace que el gen *Prx-1* se exprese mucho más que la región MusE de ratón.

Entonces, a partir de la Evo-Devo experimental, se pensó que se podría reemplazar este fragmento regulador del ratón, MusE, por el del murciélago, BatE, y así ver qué efectos tendría para el ratón esta sustitución. Los resultados obtenidos fueron que los ratones modificados

presentaban sus patas anteriores un 6% más largas comparadas con las de los ratones normales no modificados (Fig.10). Un porcentaje elevado, si se tiene en cuenta que sólo contamos con la modificación de un gen, y debemos recordar que el desarrollo de cualquier estructura no depende sólo de genes individuales, si no de redes génicas complejas que actúan coordinadamente. Así pues, probablemente cambios en regiones reguladoras de genes del desarrollo fueron claves para el desarrollo de las extremidades anteriores de los murciélagos, consiguiendo que estos acabaran desarrollando alas y así poder conquistar el medio aéreo.

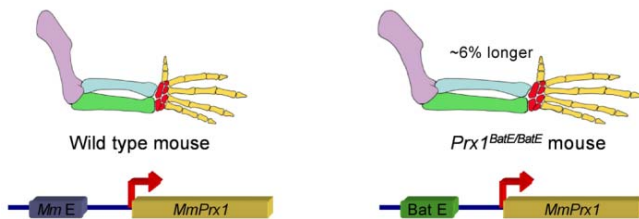


Fig.10 La imagen de la izquierda corresponde a las extremidades anteriores de un ratón control (wild type), con su región reguladora MusE; comparada con las de un ratón transgénico con la región BatE de murciélago (~6% de elongación) (Cretekos et al., 2008)

El Anfioxo: un fósil vivo, clave en la evolución de los vertebrados

El anfioxo es el representante más antiguo del filum de los cordados; este filum comprende el subfilum de los urocordados (tunicados), cefalocordados (anfioxos) y vertebrados (Fig.11). Los anfioxos son los modernos supervivientes de un antiguo linaje de cordados, con registro fósil desde el período cámbrico. Muestran cualidades intermedias entre invertebrados y vertebrados, y son el modelo biológico más estudiado para reconstruir el camino evolutivo entre estos dos grupos.

Hasta la segunda mitad del siglo XIX, la anatomía y la embriología comparadas no reconocieron que el anfioxo compartía muchos de los rasgos característicos que definen a los vertebrados: un tubo nervioso en posición dorsal, musculatura segmentada, cola postanal y el notocordio, que es un tubo de origen mesodérmico, ventral al tubo nervioso, transitorio durante el desarrollo embrionario de los vertebrados y que en el anfioxo se mantiene también en la etapa adulta (Fig. 12). Por otra parte, al anfioxo le faltan la mayoría de estructuras avanzadas e innovaciones morfológicas que comparten todos los vertebrados: extremidades, cerebro anterior desarrollado, u órganos sensoriales pares. Así pues, el anfioxo se ha definido como el organismo más parecido al que habría sido el ancestro de los vertebrados, el eslabón perdido de la transición invertebrados/vertebrados, un fósil vivo. En la actualidad, existen 29

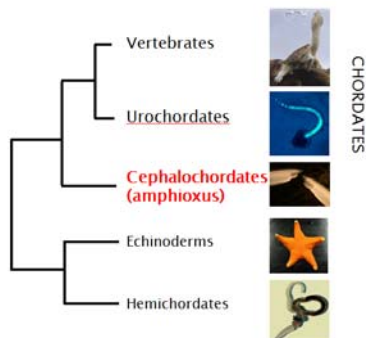


Fig. 11 Posición filogenética de los anfioxos, situados como grupo basal de los cordados

especies de anfioxo en las costas de todo el planeta, pero en investigación sólo se utilizan tres: *Branchiostoma floridae* (Estados Unidos), *B. lanceolatum* (Europa) y *B. belcheri* (Asia).

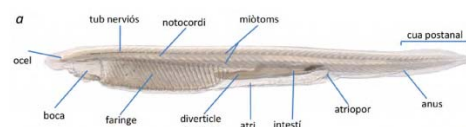


Fig. 12 El plano corporal del anfioxo. Fotografía de un juvenil de la especie *B. lanceolatum* con las estructuras y órganos más destacados

Secuenciación del genoma

El estudio de la genética molecular del anfibio se inicia en el 1992 con la clonación de primer gen con secuencia homeótica, el *AmphiHox3*. Este estudio analiza la estructura genética del genoma del anfibio de Florida (*B. floridae*), dotado de 19 cromosomas y 520 megabases, y revisa los datos genéticos en el contexto evolutivo de los cordados. La secuenciación del genoma del anfibio aporta una nueva comprensión de la evolución biológica de los tres grupos de cordados (tunicados, anfibios y vertebrados), la transición de invertebrados a vertebrados y del origen del genoma humano (Putman *et al.*, 2008).

En los últimos quince años se han realizado numerosos trabajos, utilizando el anfibio como modelo, que han permitido estudiar la base molecular común para identificar los mecanismos moleculares básicos de cómo se desarrolla un cordado y, al mismo tiempo, para identificar los cambios genéticos que pueden haber sido la base de las innovaciones morfológicas de los vertebrados, como las estructuras craneales derivadas de la cresta neural, el cerebro anterior, las extremidades o las estructuras esqueléticas (Benito-Gutiérrez, 2010).

Hipótesis 2R

La hipótesis 2R o de doble duplicación del genoma viene a partir de la hipótesis de Susumu Ohno, en el año 1970, que sugirió que la complejidad de los vertebrados podía ser debida a la plasticidad génica derivada del exceso de copias génicas, que se generaron en el origen de los vertebrados por fenómenos de duplicación del genoma. Según esta hipótesis, las grandes familias génicas de vertebrados se originan a partir de la doble duplicación completa de un genoma ancestral. Durante este proceso los genes han adquirido funciones que pueden marcar las diferencias morfológicas entre los organismos (Fig.13).

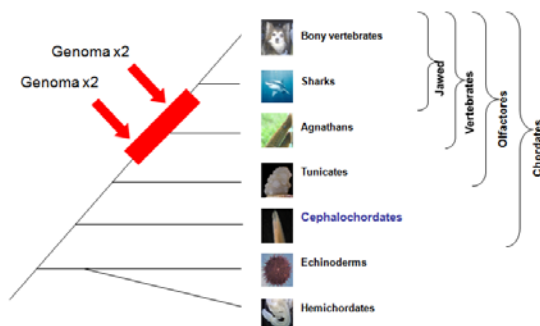


Fig.13 Representación esquemática de la doble duplicación del genoma (2R), y también de cómo los cefalocordados (anfibios) son descendientes de los primeros cordados (García-Fernández y Benito-Gutiérrez, 2009)

Gracias a la secuenciación del genoma del anfibio en el 2008, anteriormente mencionada, se pudo constatar esta hipótesis, ya que el anfibio no sólo es el pariente vivo más parecido al ancestro de los vertebrados, sino que su genoma es el modelo más parecido al genoma del ancestro de los vertebrados, que se duplicó dos veces en el origen y las etapas iniciales de la radiación de los vertebrados. Su genoma es clave para entender la evolución de casi cualquier familia génica, red de regulación génica o elemento estructural o funcional de nuestro genoma. Entre sus 21.900 genes codificantes, el anfibio posee sólo un

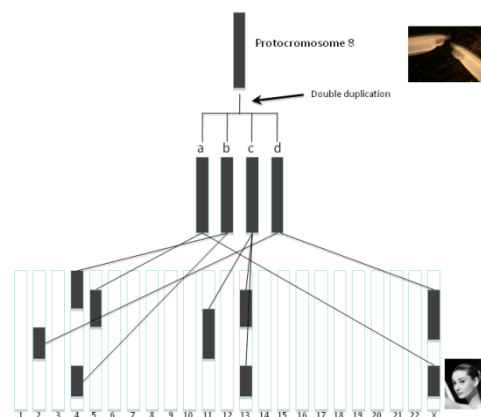
miembro para la mayoría de familias génicas de los vertebrados, haciendo de él un excelente representante del genoma ancestral en los cordados. Después de las dos duplicaciones genómicas, aproximadamente el 20-25% de los genes duplicados se mantuvo en el genoma de los vertebrados, el 75% de los genes restantes se perdieron en el proceso evolutivo. La

mayoría de los genes de regulación compleja (regulación génica y señalización celular) se mantienen hoy en día en los vertebrados.

Sintenia conservada

El análisis del genoma del anfibio permitió identificar 17 grupos de sintenia ancestrales (protocromosomas), que son grandes segmentos de genoma que se conservan entre anfibios y humanos. Estos 17 grupos se duplicaron dos veces en el origen de los vertebrados, y posteriores reordenamientos cromosómicos dejaron el genoma humano tal y como lo conocemos ahora, con restos de estos 4 bloques de 17 protocromosomas reordenados en los 23 pares de cromosomas del genoma humano (Fig. 14). El orden de los genes del anfibio, que es el más ancestral conocido hasta ahora, también se mantiene en los vertebrados. También se han identificado 59 pequeñas regiones de genoma no codificantes de función desconocida. El anfibio y los humanos, además, compartimos una amplia fracción de intrones (85%), que son los fragmentos genéticos no codificantes que interrumpen los genes (Holland *et al.*, 2008).

Fig. 14 Un genoma formado por 17 protocromosomas se duplicó 2 veces, y las copias resultantes (a, b, c, d) han acabado formando los 23 cromosomas actuales de los humanos. Este esquema representa el destino del protocromosoma 8, que después de las duplicaciones fue a formar parte de los cromosomas humanos 2,4,5,11,13 y X. (García-Fernández y Benito-Gutiérrez, 2011).



El genoma del anfibio ha permitido confirmar que genes que se pensaba que eran exclusivos de invertebrados no lo son, o que genes presuntamente invenciones de los vertebrados tampoco eran exclusivos de estos (Takatori *et al.*, 2009). En casi todos los linajes evolutivos han tenido lugar pérdidas génicas, con una excepción remarcable: el anfibio.

Conclusiones

A partir del reconocimiento del genoma del anfibio como prototípico de los vertebrados y de su plano corporal primitivo, la investigación con este animal no ha parado de crecer; cada vez se han ido descubriendo más cosas y corroborando otras, gracias a éste. El estudio de procesos complejos se podrá trasladar a un marco más sencillo gracias al genoma "preduplicativo" del anfibio, a la vez muy similar al de los humanos. Aunque también existe algún inconveniente a la hora de trabajar y hacer investigación con un organismo vivo tan pequeño y difícil de manipular como el anfibio, si bien no es un modelo por sus ventajas técnicas sino por su posición clave en la escala animal. Con el anfibio podemos modificar el presente para entender el pasado, saber cuáles fueron los mecanismos genéticos que generaron los vertebrados y, sobretodo, ayudar a entender los secretos del genoma, que han generado una inmensa variedad de seres vivos. Todos estos son algunos de los retos de la Evo-Devo para estudiar en un futuro no muy lejano, con la ayuda de este pequeño animal como es el anfibio.

Algunos estudios y descubrimientos del grupo de investigación

1) Identificación del ADN regulador más antiguo hasta ahora

Algunos miembros de este equipo de investigación han descubierto, junto a otros grupos investigadores, la región reguladora del ADN más antigua identificada hasta ahora. Esta región se trata de un pequeño fragmento de ADN con una secuencia no codificadora altamente conservada (CNR), que ha sido identificada en la zona anexa a los genes *soxB2*, y se ha visto que está implicada en la regulación génica. El estudio se ha llevado a cabo con especies muy alejadas filogenéticamente: en vertebrados (en la especie humana y en pez cebra) y en invertebrados (cnidarios, equinodermos, cefalocordados y hemicordados), en las que se ha identificado esta secuencia reguladora ancestral.

Esta región reguladora no codificadora identificada se ha conservado en la escala evolutiva desde hace más de 1000 millones de años, y mantiene la actividad en el control de la neurogénesis a lo largo de la escala evolutiva de los metazoos. La secuencia es un pequeño fragmento de ADN con una estructura espacial que facilita la unión de los factores de transcripción en un orden concreto, actuando como un regulador cis de la expresión de los genes *soxB2*, que participan en el control del desarrollo del sistema nervioso. Además, esta pequeña secuencia de ADN presenta una homología excepcional y una funcionalidad altamente conservada en genomas de vertebrados e invertebrados (Fig. 15).

Los resultados de este trabajo apuntan a un fenómeno cada vez más relevante en evolución: la coopción de genes. Los genes se pueden cooptar, es decir, pueden emplearse para nuevas funciones, y en algunos casos este fenómeno ha podido dar lugar a innovaciones evolutivas. Antes se creía que los organismos más complejos lo eran porque tenían más genes, pero no es así, son complejos porque los mismos genes se han cooptado para adquirir nuevas funciones.

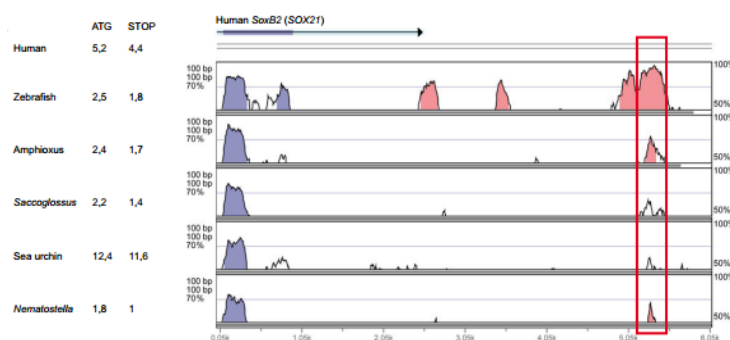


Fig.15 VISTA plot del loci *soxB2/sox21*, en humanos, zebrafish, anfioxo, *Saccoglossus*, equinoideos y *Nematostella*. El rectángulo rojo de la figura indica donde se localiza la secuencia no codificadora conservada (CNR) en la zona anexa a los genes *soxB2* (Royo JL. et al., 2011).

2) Genes juntos en el genoma: ¿por amor o por inercia?

El genoma, los genes que codifican para proteínas similares y que se regulan conjuntamente, suelen encontrarse cerca. Pero también hay genes que no tienen esta particularidad y, aun así, se mantienen juntos en el genoma. Por qué se separan o se mantienen juntos algunos genes ligados ancestralmente en el genoma, es una pregunta sobre la que este grupo de investigación ha encontrado una nueva respuesta. El trabajo hecho se basa en el estudio del gen *Sosondowah* (*Sowah*), que es adyacente a los genes *Iroquois*, un complejo génico implicado en la neurogénesis del sistema nervioso en *Drosophila* y en vertebrados. Estos genes *Iroquois* están flanqueados por extensas zonas del genoma muy pobres en genes y con tendencia a duplicarse. Como curiosidad, el nombre de estos genes proviene de la Mitología Iroquois (*Legend of the Morning Star*), que podemos ver explicada en la Figura 16, donde los protagonistas se encuentran "ligados", en cierto modo, como estos genes en el genoma.

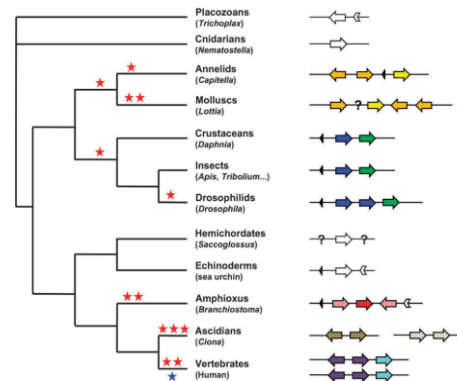


Fig. 17 Repetición de los clústers de genes Iroquois y la sintenia conservada en metazoos. Los genes Iroquois están representados por flechas hacia la derecha. Mientras que los genes Sowah están representados por flechas negras hacia la izquierda. (Irimia et al, 2008)

Según los autores, para la mayoría de metazoos estudiados, el gen *Sosondowah* estaría ligado a los *Iroquois*, porque *Sowah* contiene, en sus intrones (regiones no codificadoras), una serie de regiones reguladoras clave para los genes *Iroquois*. En cambio, en los vertebrados el gen *Sowah* habría "escapado" de los genes *Iroquois*, mediante mecanismos de retrotransposición, que es la síntesis de ADN a partir de ARN gracias a la enzima transcriptasa inversa (Fig.17). El genoma humano contiene muchas retrosecuencias, segmentos que son el resultado de la transcripción inversa del ARN y la integración del nuevo ADN en nuevos puntos del genoma.

Así pues, este estudio muestra por primera vez cómo se pueden separar los genes que eran cercanos desde hace millones de años en la escala evolutiva, mediante mecanismos de retrotransposición (Maeso et al., 2012).



Fig. 16 Legend of the Morning Star (Mitología Iroquois)
 “*Sosondowah, un cazador del reino de los Dioses, se enamoró de Gendenwitha, una chica mortal. Mientras Dawn Iroquois, amo y señor del reino de los cielos, dormía, Sosondowah aprovechó para bajar al mundo de los mortales para buscar a la chica. Pero cuando Dawn Iroquois se despertó y vio que Sosondowah había marchado, lo castigó transformando, con sus poderes mágicos, a Gendenwitha en Venus (the Morning Star), así Sosondowah la podría ver cada noche pero nunca podría estar con ella. Así Dawn Iroquois consiguió que Sosondowah estuviera siempre con él, en el reino de los cielos, para poder observar a su amada cada noche.*” (“*The Red Indian Fairy Book*”, Olcott FJ, 1917)

3) El complejo Alex

El complejo Alex forma parte de la familia de genes *Armcx*, grupo de genes exclusivo de los mamíferos más evolucionados, los euterios (que tienen fecundación y desarrollo internos). Este clúster de genes *Armcx* fue originado a partir de fenómenos de retrotransposición del gen autosómico *Armc10*, presente en los otros grupos de mamíferos y vertebrados óseos, y luego sufrió una serie de duplicaciones en tándem originando todo el grupo de genes *Armcx* presente en los euterios (Fig. 17).

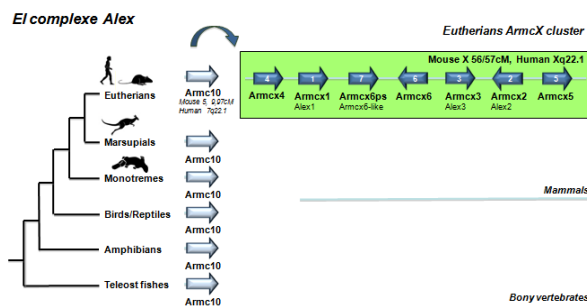


Fig. 17 Localización del complejo Alex, dentro del clúster de genes *Armcx*, presente sólo en mamíferos euterios, y originado a partir del gen ancestral común *Armc10* (López-Doménech et al, 2012).

El origen de este clúster de genes, a partir de *Armc10*, en la transición entre mamíferos primitivos como los marsupiales y el resto de mamíferos placentarios, podría estar ligado al aumento de complejidad en el córtex cerebral en el linaje de estos mamíferos más evolucionados. El cerebro para funcionar correctamente necesita una gran cantidad de energía. Las neuronas son las encargadas de distribuir y proporcionar esta energía, para que funcione toda la maquinaria cerebral. Este grupo de proteínas *Armcx*, se localiza en las mitocondrias y controlan el funcionamiento de éstas; regulan la localización que deben tener las mitocondrias en cada célula según las necesidades energéticas que tenga. Otra característica destacada de este grupo de proteínas es que se encuentran tanto en las mitocondrias como en el núcleo celular, pero se desconoce la función en el mismo. Así pues, este grupo de genes *Armcx/Armc10* constituye una nueva familia de proteínas especialmente vinculadas a las mitocondrias y su transporte en neuronas, y con funciones de comunicación mitocondrial/nuclear.

4) Descubierta un nuevo neurotransmisor

Algunos investigadores del grupo de investigación también han colaborado en el descubrimiento de un nuevo neurotransmisor, el ácido D-aspártico (D-Asp), que puede tener potencialmente un uso terapéutico en enfermedades neurológicas, como el Parkinson o la esquizofrenia.

El D-aspártico es un aminoácido que ya se descubrió hace 40 años, por el grupo de investigación de Antimo D'Aniello, en el cerebro de los pulpos, de las sepias y de los calamares. Éste no es tan diferente de otros neurotransmisores clásicos del tipo de los aminoácidos, como la serina o el glutamato. El equipo de investigadores ha trabajado mirando la actividad del D-Asp como neurotransmisor en dos especies animales muy distantes, desde el punto de vista evolutivo: la rata común (*Rattus norvegicus*) y el calamar (*Loligo vulgaris*). Los neurotransmisores son moléculas que transportan la señal química al sistema nervioso. La transmisión sináptica puede ser eléctrica o química, y tiene lugar mediante 20 tipos de

neurotransmisores químicos diferentes, que pueden ser del tipo aminoácidos (como L-glutamato), péptidos (dopamina), aminas (adrenalina) o gaseosos (óxido de nitrógeno).

Este nuevo neurotransmisor tiene un papel importante en las fases iniciales de desarrollo del sistema nervioso central en vertebrados e invertebrados; después del nacimiento la concentración del D-Asp cae a niveles mínimos y se mantiene así durante la edad adulta. A través del estudio realizado, parece que esta molécula está implicada en el proceso de aprendizaje y en la memoria de las ratas, mejorando la capacidad cognitiva de los animales en los diferentes experimentos realizados. Así pues, el D-Asp se sitúa como una posible diana terapéutica en el campo de las demencias seniles y las enfermedades neurológicas, un nuevo campo para descubrir en el futuro (D'Aniello S. *et al.*, 2011).

Bibliografía

Baguñà, J., Garcia-Fernàndez, J (eds.) (2003). *Evolution & Development*. Int. J. Dev. Biol (Special Issue) 47: 465-713.

Baguñà, J. (2006). *Evolución y biología del desarrollo: relaciones históricas e influencia recíproca (si la hubo) en la docencia e investigación de ambas en España*. Revista de la Sociedad Española de Biología Evolutiva. Vol. 1:7

Benito-Gutiérrez, E. (2010). *Amphioxus as a model for mechanisms in vertebrate development*. A:Encyclopedia of Life Sciences. Chichester: John Wiley & Sons Ltd.

Carroll, S. B.; Grenier, J. K.; Weatherbee, S. D. (2005). *From DNA to Diversity. Molecular Genetics and the Evolution of Animal Design*. Malden: Blackwell Science.

Cretekos CJ, *et al.* (2008). *Regulatory divergence modifies limb length between mammals*. Genes Dev. 2008 Jan 15;22(2):141-51.doi: 10.1101/gad.1620408.

D'Aniello S, *et al.* (2011). *D-Aspartic acid is a novel endogenous neurotransmitter*. FASEB J. 25(3):1014-27, 2011.

Darwin, C. (1859). *On the origin of the species*. Londres: John Murray

Garcia-Fernàndez, J.; Benito-Gutiérrez, E.(2009). *It's a long way from amphioxus: descendants of the earliest chordate*. BioEssays, 31: 665-675.

Garcia-Fernàndez, J.; Benito-Gutiérrez, E. (2011). *El petit amfiox: el miratge de l'origen dels vertebrats*. Organismes model en Biologia. Treballs de la Societat Catalana de Biologia. Ed. Societat Catalana de Biologia. 62, pp 131-139; 2011, Barcelona, ESP CL.

Haeckel, E. (1874). *Anthropogenie, oder Entwicklungsgeschichte des Menschen*, Leipzig: Engelmann.

- Hall, B. (2003). *Evo-Devo: evolutionary developmental mechanisms*. Int. J. Dev. Biol. 47: 491-495
- Holland, L. Z. et al. (2008). *The amphioxus genome illuminates vertebrate origins and cephalochordate biology*. Genome Research, 18: 1100-1111.
- Irimia M, Maeso I, Garcia-Fernández J. (2008). *Convergent evolution of clustering of Iroquois homeobox genes across metazoans*. Mol Biol Evol. 2008 Aug;25(8):1521-5. doi: 10.1093/molbev/msn109. Epub 2008 May 9.
- Lewis, E. B. (1978). *A gene complex controlling segmentation in Drosophila*. Nature, 276: 565-570.
- López-Doménech G, et al. (2012). *The Eutherian Armcx genes regulate mitochondrial trafficking in neurons and interact with Miro and Trak2*. Nat Commun. 2012 May 8;3:814. doi: 10.1038/ncomms1829.
- Maeso I, et al. (2012). *An ancient genomic regulatory block conserved across bilaterians and its dismantling in tetrapods by retrogenereplacement*. Genome Res. 2012 Apr; 22 (4):642-55. doi: 10.1101/gr.132233. Epub 2012 Jan 10.
- Nüsslein-Volhard, C. i Wieschaus, E. (1980). *Mutations affecting segment number and polarity in Drosophila*. Nature 287: 795-801
- Ohno, S. (1970). *Evolution by gene duplication*. Londres: Allen & Unwin; Nova York: Springer-Verlag.
- Olcott, F.J. (1917). *The Red Indian Fairy Book*. Boston: Houghton Mifflin. Page 59
- Putman, I. et al. (2008) *The amphioxus genome and the evolution of the chordate karyotype*. Nature, 453: 1064-1071.
- Royo JL, et al. (2011). *Transphyletic conservation of developmental regulatory state in animal evolution*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011 Aug 23;108(34):14186-91. doi: 10.1073/pnas.1109037108. Epub 2011 Aug 15.
- Sears KE, Behringer RR, Rasweiler JJ 4th, Niswander LA. (2006). *Development of bat flight: morphologic and molecular evolution of bat wing digits*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Apr 25;103(17):6581-6. Epub 2006 Apr 17.
- Takatori N., et al. (2009). *Comprehensive survey and classification of homeobox genes in the genome of amphioxus, Branchiostoma floridae*. Dev. Genes Evol., 218: 579-590
- Webster's Encyclopedic Unabridged Dictionary of the English Language* (1996). Gramercy Books, New York.

Más investigación internacional en el ámbito de la Evo-Devo

En la Universidad de Oxford (UK), encontramos uno de los pioneros en investigación sobre la Evo-Devo, el investigador y catedrático **Peter Holland**, jefe del Departamento de Zoología de la Universidad de Oxford. Allí dirige un grupo de investigación en el laboratorio, donde su principal objetivo es estudiar el papel que juegan los genes, los embriones y la evolución, entre ellos. Uno de los intereses particulares del grupo es entender la duplicación génica y las pérdidas génicas que ha habido en la familia de genes *homeobox*. De esta manera han trabajado con genes *homeobox* del anfioxo, para poder constatar la hipótesis sobre las duplicaciones del genoma que ocurrieron en la aparición y radiación de los vertebrados. También han encontrado nuevas respuestas sobre la evolución de la cabeza de los vertebrados, han descubierto y dado nombre al clúster de genes *ParaHox*, han dado una nueva clasificación más robusta de los genes *homeobox* de todos los animales, y han seguido la evolución de los genes de clase ANTP, incluyendo los clústers de genes *Hox*, *ParaHox* y *NK*, que juegan un papel muy importante en los patrones del plano corporal bilateral. Actualmente, el grupo de investigación estudia la evolución de los genes *Hox*, *ParaHox* y *PRD* en insectos, mamíferos y peces. A partir de la secuenciación del genoma y del transcriptoma, quieren entender cómo las duplicaciones del genoma han afectado a los genomas de los peces, y también a partir de la secuenciación del genoma quieren ver la evolución de los genes *homeobox* y del miRNA en mamíferos.

Otro de los gran pioneros de esta nueva ciencia de la Evo-Devo, es el catedrático **Sean B. Carroll**, profesor de Biología Molecular, Genética y Genética Clínica en la Universidad de Wisconsin-Madison (USA), e investigador del Howard Hughes Medical Institute (HHMI). Es un reconocido biólogo evolucionista, y su investigación se centra en estudiar cómo han aparecido las nuevas formas morfológicas de los animales. Sus estudios, de una amplia variedad de especies animales, han revelado como los cambios en los genes que controlan el desarrollo dan forma a la diferente evolución de las diversas partes del cuerpo y patrones corporales de los animales.

Y por último, otro gran investigador es **Eric H. Davidson**, biólogo especializado en biología del desarrollo, en el California Institute of Technology (Caltech). Es muy conocido por sus trabajos pioneros sobre el papel de la regulación de los genes en la evolución, en la especificación embrionaria, y por su esfuerzo en secuenciar el genoma del erizo de mar púrpura (*Strongylocentrotus purpuratus*). El foco principal de investigación, en su laboratorio, es la biología de sistemas de las redes de regulación de genes (GRNs) que controlan el desarrollo, así como la evolución de éstas. Su investigación se realiza en embriones de erizo de mar, que proporcionan muchas ventajas experimentales. También utilizan modelos de equinodermos experimentales adicionales, para hacer comparaciones de GRN, como por ejemplo la estrella de mar *Patiria miniata* o el erizo *Eucidaris tribuloides*. Los embriones de ambos animales han demostrado ser unos sujetos tan buenos, para estudiar temas de regulación génica, como el erizo de mar. En su laboratorio, trabajan siempre bajo un modelo integrado de análisis experimental, en el que sus experimentos están dirigidos a todos los niveles de organización biológica, desde las interacciones de factores de transcripción de ADN que controlan la expresión espacial y temporal de genes específicos, hasta el análisis a nivel de sistemas de

redes de regulación génica. Se ha puesto en evidencia que sólo desde el nivel del sistema de análisis de GRN se pueden explicar los principales fenómenos de desarrollo emergentes, convirtiéndose en su principal objetivo de estudio.

Algunos artículos y proyectos del grupo

El grupo de investigación Reg-Volution, liderado por el Dr. Jordi García-Fernández, actualmente trabaja en un proyecto sobre el análisis de cambios en el genoma que pueden haber estado implicados en la génesis y aumento de complejidad del sistema nervioso de los vertebrados. A partir de la inmensa acumulación de datos genómicos disponibles para especies filogenéticamente clave, y de la disponibilidad de embriones y de técnicas de manipulación en una amplia variedad de modelos, quieren estudiar los siguientes puntos: i) cambios en la regulación transcripcional de redes génicas, ii) cambios en redes génicas reguladas por *splicing* alternativo, y iii) creación de complejos génicos por duplicación en tándem.

Algunos artículos relevantes, publicados por distintos miembros del grupo, son los siguientes:

- Baguña, J*. & Garcia-Fernàndez, J*.(2003). *Evo-Devo: the long and winding road*. Int. J. Dev. Biol. 4; 705-713.
- Brooke, N. M., Garcia-Fernàndez, J. & Holland, P. W. H* (1998). *The ParaHox gene cluster is an evolutionary sister of the Hox gene cluster*. Nature 392, 920-922.
- Garcia-Fernàndez, J. & Holland, P. W. H.* (1994). *Archetypal organization of the amphioxus Hox gene cluster*. Nature 370; 563-566.
- Garcia-Fernàndez J*, Jiménez-Delgado S, Pascual-Anaya J, Maeso I, Irimia M, Minguillón C , Benito-Gutiérrez E, Gardenyes J, Bertrand S., D'Aniello S. (2009). *From the American to the European amphioxus: towards Experimental Evo-Devo at the origin of Chordates*. Int J Dev Biol 53(8-10): 2021-7.
- Irimia M*, Rukov JL, , Roy SW, Vinther J, Garcia-Fernàndez J*. (2009). *Quantitative regulation of alternative splicing in development and evolution*. BioEssays;31(1):40-5.
- Irimia M, Royo JL, Burguera D, Maeso I, Gómez-Skarmeta JL, Garcia-Fernandez J. (2012). *Comparative genomics of Hedgehog loci in chordates and the origin of Shh regulatory novelties*. Nature Sci Rep. 2:433.
- Pascual-Anaya J, Albuixech-Crespo B, Somorjai I, Carmona R, Oisi Y, Álvarez S, Kuratani S, Muñoz-Chápuli R, Garcia-Fernandez J. (2013). *The evolutionary origins of chordate hematopoiesis and vertebrate endothelia*. Dev Biol, 15;375(2):182-92.

ENTREVISTA AL DR. JORDI GARCÍA-FERNÁNDEZ



Jordi García-Fernández es profesor catedrático de Genética y Vicedecano de la Facultad de Biología de la Universidad de Barcelona. Lidera el grupo de investigación Reg-Volution en el laboratorio Anfioxo/Evo-Devo del Departamento de Genética de la Facultad de Biología.

Universitat de Barcelona, 29 de mayo del 2013.

Cristina Higes: ¿Por qué estudiaste Biología? ¿Qué era lo que más te interesaba cuando estabas estudiando?

Jordi García-Fernández: Es una buena pregunta. A mí siempre me habían gustado las ciencias, pero cuando estaba haciendo secundaria leí un libro que se llama "Los niños del Brasil" de la Ira Levin, que también hicieron la película. En este libro lo que hacían era un trasplante nuclear entre células adultas de Hitler y cigotos humanos, básicamente lo que querían hacer era clones como la oveja Dolly pero con Hitler. Es una novela policíaca y así, y yo fui a mi profesor de Biología de Bachillerato y le pregunté: ¿Esto se puede hacer? ¿esto se puede hacer? (Risas) Te hablo de hace muchos años eh? Yo pienso que eso me terminó de decantar hacia la Biología.

CH: ¿Y después cuándo empezaste la carrera?

JGF: Cuando empecé la carrera sobretodo quería hacer Genética molecular. En aquella época estaban empezando a secuenciar los primeros genes, y yo quería clonar genes, quería trabajar con el ADN, y la evolución siempre me ha gustado. Entonces tuve la oportunidad de comenzar una tesis doctoral, precisamente en eso, en clonar genes a un bicho raro, en aquel caso el bicho raro eran las planarias, entonces fue cuando me interesó.

Después me fui de estancia post-doctoral a Oxford. De hecho me fui por motivos personales porque quería hacer una estancia post-doctoral en el área de Oxford, en Londres, y me entrevisté con un joven científico, llamado Peter Holland, que me habló del anfioxo, yo no tenía casi ni idea de lo que era el anfioxo, y de un proyecto con genes *Hox*, que era muy interesante porque ya había hecho la tesis doctoral con genes *Hox* o genes *homeobox*, y entonces nos encaprichamos el uno del otro y empecé a trabajar con el anfioxo allí. Después volví, gané una plaza de profesor en Barcelona, y por un lado continué un poco el trabajo de la tesis doctoral con genes *homeobox* en diferentes platelmintos, e introduje el grupo de anfioxo, poco a poco, con los primeros estudiantes.

CH: ¿Por qué decidiste dedicarte a la investigación?

JGF: Siempre me había gustado la investigación. Yo tuve muchas dudas, si hacer Matemáticas, Biología, Medicina...Sobre todo dudé mucho entre Medicina y Biología, y decidí Biología en lugar de Medicina porque lo que yo quería era hacer investigación.

CH: ¿Cuáles son los orígenes de tu grupo de investigación?

JGF: Mi grupo de investigación comenzó, precisamente, después de mi estancia post-doctoral en Oxford; gané una plaza de profesor de Genética aquí, en 1995, era muy joven, y empecé mi grupito de investigación. Tuve un alumno que era un estudiante de doctorado compartido con mi ex-jefe, y trabajaba con planarias, pero mi primera estudiante de doctorado fue una estudiante que la tuve en clase de Genética, y cuando terminó la carrera decidió quedarse en el grupo, junto con un investigador post-doctoral que venía de Cambridge. Es el mundo al revés, este chico hizo la carrera en Oxford, hizo el doctorado en Cambridge y luego vino a mi laboratorio de post-doc.

CH: ¿Tienes algún criterio para escoger a los miembros de tu grupo?

JGF: Que tengan pasión. Pasión por la investigación y que estén un poco locos por entender la evolución y que tengan ideas raras, pero sobretodo que tengan pasión, es lo que más pido. El expediente es necesario para conseguir la beca, pero también hay casos en los que el propio grupo de investigación tiene dinero para pagar, y he tenido la suerte de que en algunos casos he tenido dinero para pagar, entonces he elegido la persona que más pasión me ha demostrado y que más me ha convencido de que estaba apasionado por lo que investigaba. Las personas que quieren venir a trabajar al grupo, primero están una temporada de prueba, evidentemente, y dependiendo de si hay *feeling*, si hay buena conexión a nivel científico, pues entonces puede que sí que continúe o puede que no, evidentemente no tengo dinero para pagar a todos, pero algunos casos, en este momento tengo dos personas que sí que los he ayudado yo con sus proyectos de investigación. No he elegido los que tienen mejor expediente, sino los que me han convencido más que estaban apasionados por la investigación que hacemos.

CH: A parte de la investigación también te dedicas a la docencia. ¿Son compatibles las dos cosas?

JGF: Aparte de la docencia y la investigación, ahora también estoy haciendo gestión, porque ahora soy Vicedecano de la Facultad. Puedo con todo porque tengo un buen equipo de investigación, o sea, la clave es el equipo. Un científico solo no sirve de nada si no tiene un buen equipo alrededor, un poco como la época del Barça, "un equipo son más de 11", si no tienes un buen equipo no sales adelante, y yo he tenido la suerte de tener un buen equipo. A mí me gusta mucho dar clases, y pienso que además es muy bueno para un investigador estar en contacto con la gente joven, transmitir el conocimiento, piensa que alguna de las clases que doy son mis propias investigaciones, por lo tanto pienso que es una situación fantástica poder explicar a mis alumnos lo que he hecho. Esto me enriquece a mí personalmente y a la vez también enriquece a la investigación del grupo.

CH: ¿Cuál es tu día a día?

JGF: Mi día a día... Bueno, ahora tengo que mirar la agenda porque con lo del Vicedecanato tengo reuniones, comités, comisiones... Entonces, dependiendo un poco de cómo tenga la agenda de gestión. Lo primero que hago es encender el ordenador, leer los *e-mails* que tengo, colaboramos con mucha gente de muchos lugares del mundo y siempre estoy permanentemente enganchado al mail. También leyendo artículos, preparando clases, discutiendo con los miembros de mi grupo, escribiendo artículos, pidiendo dinero, pidiendo

dinero...(risas). Mis días son bastante irregulares, hay días que puedo estar hasta muy tarde, días que puedo estar poco tiempo, no tengo un horario fijo. A ver, suelo llegar aquí a las 9:30h de la mañana, y suelo marchar depende del trabajo que tenga, es muy variable.

CH: ¿Recibes suficiente financiación para hacer las investigaciones? ¿Se nota la crisis?

JGF: Todos dirán que no, que no recibimos suficiente dinero para la investigación. Yo en este caso soy un poco privilegiado porque sí que tengo dinero para investigar, al menos hasta el año que viene, después ya no lo sé. En época de descenso debían subir los presupuestos de investigación un 30%, lo cual quiere decir que no me puedo quejar, ahora no me puedo quejar, dentro de un año y medio que es cuando se me acaban todo el dinero tal vez, pero ahora no.

CH: ¿Tienes experiencia en el extranjero? ¿Colaboras o tienes relación con otros investigadores de fuera?

JGF: Sí, tengo experiencia en el extranjero. Estuve en mi estancia post-doctoral en Oxford, soy profesor mérito del *Merton College* de Oxford, hago estancias de investigación cortas en diferentes lugares, en Francia, en Inglaterra, en Estados Unidos...Y sobre todo nuestro grupo se caracteriza porque colaboramos con muchísima gente, colaboramos con muchos grupos, y pienso que la ciencia debe ir así porque un grupo no puede hacerlo todo, no es experto en todo y, por tanto, lo mejor que puede hacer es colaborar. Nosotros colaboramos con gente de España, de diferentes lugares, de Sevilla, de Murcia, de Madrid...Y con otros grupos de fuera, de Inglaterra, de Francia, de Japón, de Canadá...

CH: ¿Te gustaría volver a marchar fuera?

JGF: No, por cuestiones personales no me marcharía fuera, al menos ahora. La investigación no es la única cosa en la vida, desde mi punto de vista, mi vida es mucho más que la investigación. Aparte de que debería ser una combinación en la que los otros aspectos que no son ciencia, los vitales, y la ciencia, estuvieran suficientemente balanceados.

CH: ¿En qué lugar recomendarías marchar fuera a alguien que le gusta la Evo-Devo?

JGF: Este tema en concreto en Oxford, de hecho tengo una persona que estudió aquí y ahora está en Oxford, y un chico que está haciendo el trabajo final de grado también allí. Luego el otro lugar que es muy bueno es Nueva York, porque es allí donde está Sean Carroll, que es el número 1 mundial en este campo de la Evo-Devo, ha escrito varios libros sobre la Evo-Devo, y depende de lo que quieras estudiar pues en Hawái también hay un grupo muy bueno, pero yo recomendaría Oxford y Nueva York.

CH: ¿Qué finalidades o aplicaciones tienen las investigaciones que haces con tu grupo?

JGF: Esta es la pregunta típica que hacéis todos los periodistas, y con lo de las finalidades siempre pensamos en aplicaciones directas a la sociedad, y la ciencia no funciona así. La ciencia funciona, desde mi punto de vista, de hacer muchas cosas para incrementar el conocimiento, y muchas veces sin quererlo estas investigaciones darán lugar a avances realmente importantes desde el punto de vista práctico. En nuestro caso, no directamente pero casi directamente, mis colaboradores han patentado un producto para la esterilidad humana, que aumenta la fertilidad, después hay otro para mejorar la memoria de las personas mayores. También una época estuvimos trabajando con unos genes que se llaman *ParaHox*, y

descubrimos que estaban implicados o que funcionaban en las células α y β pancreáticas, y que se unían al gen de la insulina, trabajando con anfióxo. Esto se quedó parado porque no vi que tuviera ninguna relevancia o beneficio. Todo esto es investigación básica pura, es decir, a mí lo que me interesa es la pregunta, saber cómo evolucionan las cosas, cómo funcionan las cosas, y los resultados estos son colaterales.

CH: ¿Crees que la sociedad está plenamente concienciada con los temas que trabajas? ¿Hay suficiente eco en los medios de comunicación?

JGF: En absoluto. Porque los periodistas lo único que piensan es en el titular y en la aplicación directa. Por ejemplo, una investigación en factores neurotróficos, básica, un periodista la traduce en un "posible nueva molécula para curar el Alzheimer" que, a ver, podría ser dentro de 20 años, o "han descubierto cómo se formaron las extremidades, en el caso de los vertebrados, y esto puede tener aplicaciones de cara a la regeneración de las extremidades". Es decir, yo lo entiendo el periodista busca lo que es más atrayente desde el punto de vista del titular.

CH: ¿Cuál consideras el mayor éxito de tu grupo de investigación hasta ahora?

JGF: Quizás el mayor éxito fue confirmar que los vertebrados procedemos de dos duplicaciones genómicas, hace 500 millones de años, es decir, que los vertebrados somos poliploides, tenemos muchos más genes que los que tenía nuestro ancestro. Esto se rumoreó en los años 70, después lo propusieron en 1994, y se demostró totalmente en el año 2008. Y esto es la línea de texto que quedará para siempre, que los vertebrados somos poliploides, en la que yo, un poquito, he participado. También el descubrimiento de que hay un complejo de genes, que se llaman *ParaHox* que están involucrados en la diabetes, que también es bastante importante.

CH: ¿Está bien remunerado tu trabajo como investigador?

JGF: (risas) Evidentemente que no, alguien te ha dicho que sí? Piensa que nosotros los profesores de Universidad cobramos prácticamente lo mismo si nos dedicamos a dar clases solamente, que si damos clases e investigamos. Depende mucho del área de investigación donde te muevas, pero en mi caso, el tipo de investigación que hago yo, que es investigación básica, las empresas no vendrán a buscarme para trabajar, para hacer colaboraciones. Si acaso algún día patento algo que funcione a lo mejor sí, me haré rico, pero no es mi objetivo (risas).

CH: ¿Crees que los esfuerzos que has hecho hasta ahora se han visto recompensados?

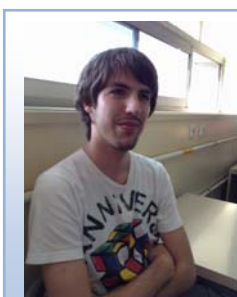
JGF: A nivel de la Universidad de Barcelona no, es decir, la Universidad de Barcelona no da nada porque seas mejor investigador, no hay apoyo por parte de la Universidad. Hay reconocimiento por parte de la Generalitat, de organizaciones internacionales, pero de la Universidad no. No te da más dinero para que investigues, personal para que investigues, es una de las quejas que tenemos los investigadores de la Universidad. Ahora empiezan a hacernos una pequeña reducción a nivel de horas de clase, los que investigamos más podemos dar menos clases. Fuera de la Universidad, mis esfuerzos se han visto recompensados; tengo un par de premios de la Generalitat, por ejemplo, que eso me da orgullo evidentemente, fui nominado una vez al premio *Human Frontiers*, y el orgullo más grande es cuando vas a un

congreso y la gente sabe quién eres, este es uno de mis reconocimientos más grandes que me llevo.

CH: ¿Te gustaría dar algún mensaje a los lectores o estudiantes que estén leyendo este artículo y se quieran dedicar al mundo de la investigación o de la Evo-Devo?

JGF: En general, cualquier área de investigación si realmente les gusta que se esfuercen y, sobre todo, que pongan pasión. Si no tienen pasión por la investigación no les irá bien, y si tienen pasión es muy probable que les vaya bien. Es lo que les digo a mis alumnos y es lo que te digo a ti. Referente a la Evo-Devo, es un campo que es nuevo y de hecho la revista *Nature*, que es la mejor del mundo, dijo que la Evo-Devo era uno de los diez retos del siglo XXI. Es una ciencia interdisciplinar, que mezcla muchas cosas, mezcla la evolución, el desarrollo, la biología molecular...Se están publicando muchas cosas en Evo-Devo, es decir, se están descubriendo cosas buenas, y se están publicando en revistas muy buenas también. La relación entre la evolución y el desarrollo ya la dijo Darwin, lo que pasa es que la Evo-Devo moderna que abarca la biología molecular, se fundó oficialmente en el año 1994, en un congreso que se hizo en Edimburgo, donde por primera vez se habló de *Developmental Evolution* o Evo-Devo.

ENTREVISTA A CARLOS HERRERA



Carlos Herrera es licenciado en Biotecnología por la Universidad de Vic, y se encuentra haciendo el Máster de Genética y Genómica, especialidad en Desarrollo, en la Universitat de Barcelona. Actualmente está haciendo las prácticas del Máster en el grupo de investigación del Dr. Jordi García-Fernández

Universitat de Barcelona, 29 de mayo del 2013.

Cristina Higes Castillo: ¿Por qué decidiste estudiar Biotecnología?

Carlos Herrera: Realmente me metí en Biotecnología porque durante Bachiller tenía muy claro que quería hacer Biología, y estaba convencidísimo de Biología, pero luego al final se me quedó un poco pequeño. Me gustaba mucho Biología y también me gustaba Física, aunque hice el Bachiller de Ciencias de la Salud como optativa cogí Física y la verdad es que me encantaba, pero la descarté porque era demasiado duro. Después hice la carrera de Biotecnología que son 4 años. La licenciatura de Biotecnología en la Universidad de Vic, era de 4 años y no de 5 años, porque creían que estaba ya preparada para el Plan Bolonia, después la cambiaron entera otra vez, pero bueno, a nosotros nos quitaron un año y nos dejaron cuatro.

CHC: ¿Y cuando acabaste tenías claro qué querías hacer?

CH: Pues tenía claro que quería hacer un Máster, y un Máster que me orientase hacia la investigación. Eso es algo que he tenido, desde que empecé a estudiar Biotecnología, bastante claro. Si me metiese a trabajar en una empresa sería en investigación y desarrollo.

CHC: ¿Cómo decidiste estudiar Evo-Devo?

CH: En verano de 3º a 4º de carrera, fui a hacer prácticas a un laboratorio en la Universidad Pompeu Fabra, en el Departamento de Desarrollo y me cogieron para hacer prácticas 2 meses. Donde el primer mes estuve haciendo cosas de ingeniería genética todo el rato, y el segundo mes sí que fue algo más de desarrollo y lo poco que vi me encantó. Y me encantó pero muchísimo, me fascinó.

CHC: ¿Y después cómo llegaste hasta este grupo de investigación?

CH: Bueno primero le pregunté al jefe del laboratorio donde estuve en las prácticas si podía, o sea, mi idea original era quedarme un año, no un año sabático pero sí un año para reflexionar que Máster hacer en qué especializarme, y entonces le pregunté al jefe del grupo donde estuve si tenía un hueco para mí o qué me recomendaba hacer y me dijo que “no, que al final aquí te vas a quedar parado, y aquí es seguir, seguir, seguir, o sea, lo podrías hacer si tuvieses muy buenas notas”, pero no las tenía (risas), entonces me dijo que si no estaba seguro de lo quería pero me gustaba el desarrollo coge un Máster de poco tiempo teórico y mucho tiempo práctico y así, al menos, cojeras soltura en el laboratorio, luego si no es lo que te gusta puedes hacer otro Máster, tendrás más campo de acción, y me recomendó este Máster de Genética y Genómica en la UB. Me lo dijo y yo de hecho fue el único Máster que eché la solicitud luego.

CHC: ¿Te han dado becas o ayudas para estudiar el Máster?

CH: Bueno tengo la beca de movilidad; yo no soy de Cataluña, soy de Navarra, entonces por la distancia me dan la beca. En principio la beca de matrícula esa sí que te la da el Estado, no tiene unos baremos de renta muy altos para la beca de matrícula. Ya para movilidad, material o estas cosas, sí.

CHC: ¿Por qué decidiste dedicarte a la investigación?

CH: Siempre es algo que me ha llamado la atención. La verdad es que me gusta, al final tú haces una serie de experimentos, te dan unos datos, tú tienes que interpretar estos datos, tú tienes que construir una hipótesis basándote en estos datos, y luego buscar maneras de comprobar si es correcta o si no es correcta, entonces esto, no sé, siempre me ha llamado la atención y es lo que más me gusta hacer. Me gusta el Desarrollo, y cuando hicimos la asignatura de Evo-Devo en el Máster pues también me encantó; el ver cómo todo el clúster *Hox* se va manteniendo, cómo después de la doble duplicación genómica se va subfuncionalizando, cómo va todo, me encantó.

CHC: ¿Te gustaría marchar a estudiar fuera?

CH: Sí, gustarme claro que me gustaría. Pero también es un poco, no es que sea difícil es que es muy competitivo, o sea, hay mucha gente que se quiere ir fuera, de muchos sitios, entonces al final necesitas o tener muy buena nota o tener muy buenas referencias, una de dos. Por ejemplo de la UVic yo buenas referencias tampoco es que pueda sacar, de aquí igual sí que voy a poder sacar más, claro depende de si hago bien el trabajo en el laboratorio y a Jordi le gusto desde luego (risas), pero intento dar siempre lo mejor de mí, obviamente.

CHC: ¿Cuál es tu día a día? ¿Tienes un horario programado o te van surgiendo cada día cosas diferentes?

CH: ¿Mi día a día? Más bien me van surgiendo cada día cosas diferentes porque en cuanto a los horarios soy un poco desastre. No tengo ningún horario establecido, esto te lo organizas tú, al final tú tienes unos experimentos que hacer y eres tú el que los está haciendo, entonces si los vas dejando de lado más vas a tardar y menos cosas vas a poder hacer. El Máster hay que presentarlo en Septiembre, siempre tienes *deadlines* en investigación o en estudios o en todo, nunca vas a estar sin tener ninguna presión.

Yo estoy viviendo en Vic, no aquí en Barcelona, entonces tengo que subir y bajar cada día, y claro eso implica subir y bajar en coche, o subir y bajar en autobús. Y yo me levanto para coger el autobús de las 10h, pero si lo pierdo tengo que coger el de las 10:30 y ya voy llegando más tarde. Yo lo que intento siempre es, a no ser que tenga que venir temprano y madrugar para hacer algo en concreto, venir hacia las 11h al laboratorio. Y cuándo acabo, eso es lo que más depende de todo, de cuándo acabas los experimentos que te has programado para el día. Lo más tarde que me he quedado aquí es hasta las 6h de la mañana (risas), haciendo *in situs* en peces zebra.

CHC: ¿Profesionalmente, en el grupo que estás ahora, crees que valoran tu trabajo y tienen en cuenta tu opinión dentro del grupo? ¿Te guían más al ser el más joven?

CH: Ellos me guían, desde luego, al final tienen mucha más experiencia que yo. Pero yo creo que también el trabajo que hago obviamente lo valoran, y también se fían de mí, cuando no están ellos y yo estoy pues me dejan hacer cosas, si no se fían de que lo hago bien pues ya se esperarían a hacerlo ellos. Con el grupo yo estoy encantadísimo, espero que ellos conmigo también (risas).

CHC: ¿Ha ido cambiando mucho tu trabajo de laboratorio desde que empezaste?

CH: Llevo en el laboratorio desde Enero, al principio preguntaba todo el rato, no sabía dónde estaban las cosas o cómo hacerlas, ahora sí que noto que, aunque sigo preguntando muchas cosas porque si no las he hecho nunca pues obviamente no sé dónde están, pero sí que me noto un poco más autosuficiente.

CHC: ¿Cómo ves o te gustaría que fuese tu futuro?

CH: Pues hombre, mi futuro ideal sería que pudiese quedarme aquí y también, por poner futuro ideal, pues me encantaría quedarme a hacer aquí el *PhD*. Y también hacer alguna movilidad o algo en el extranjero, pero enfocado a la investigación, y si pudiese ser sobre la Evo-Devo mejor que mejor.

CHC: ¿Mandarías algún mensaje a los estudiantes que se quieran dedicar a la investigación?

CH: La manera de saber si vas a encajar es probar en algún grupo. De hecho tengo la experiencia de un amigo que también quería dedicarse a la investigación como yo, ha hecho su Máster y ha estado haciendo sus prácticas en un laboratorio, y ahora tiene clarísimo que no, que no quiere saber nada de la investigación, que lo que él quiere es ser en plan comercial, porque para él la investigación le quita demasiado tiempo a su vida. Al final realmente por

mucho que lo separes, aunque te vayas a casa, muchas veces te quedas pensando: me saldrá esto? Lo habré hecho bien? Todo es un conjunto, si te gusta lo que haces, no se puede separar.