

# MODIFICANT EL PRESENT PER ENTENDRE EL PASSAT: L'AMFIOX I LA TRANSICIÓ D'INVERTEBRATS A VERTEBRATS

Cristina Higes Castillo



*Fig.1 Alguns membres del grup de recerca Reg-Volution liderat pel Jordi Garcia-Fernàndez (a la dreta de la foto) a la Facultat de Biologia*

#### MEMBRES DEL GRUP

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

Aquest grup de recerca està liderat pel Dr. Jordi Garcia-Fernàndez, que és catedràtic de Genètica i Vicedegà de la Facultat de Biologia, a la vegada que dirigeix el Laboratori Amfiox/Evo-Devo (grup Reg-Volution) del Departament de Genètica de la Facultat. És un grup de recerca sobre l'Evo-Devo que centra la seva activitat en línies de recerca sobre la Biologia evolutiva del desenvolupament per via experimental a partir de l'amfiox (cefalocordat), i que destaca el paper clau dels gens del desenvolupament per comprendre l'evolució biològica.

Aquest equip científic estudia l'amfiox i els gens del desenvolupament (*Hox*, *ParaHox*, *BHLH*, factors neurotròfics i receptors, entre d'altres) per conèixer els fonaments de l'evolució morfològica en la transició d'invertebrats a vertebrats. Els treballs, que han generat diverses publicacions en revistes de màxim impacte científic, van dirigits a esbrinar els mecanismes de l'evolució morfològica mitjançant canvis en els programes del desenvolupament. El grup ha participat en l'anàlisi de gens amb seqüència homeòtica i tirosina-cinasa, en el marc del projecte internacional de seqüenciació sobre l'amfiox.

Juntament amb cinc publicacions a la revista internacional *Nature*, els seus resultats i anàlisis detallats es publiquen a diverses revistes científiques, com ara a *Genome Research*, *Molecular Biology and Evolution: BioEssays*, *International of Developmental Biology* i *Development Genes and Evolution*.

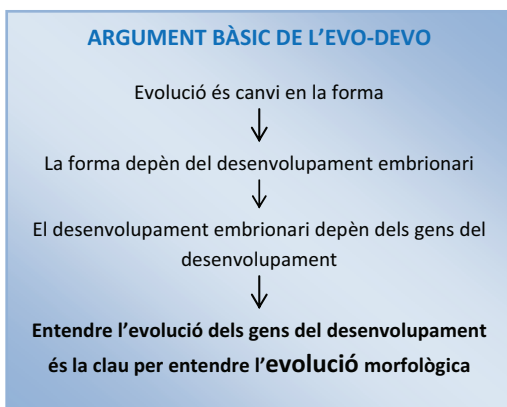
L'origen dels vertebrats ha estat un punt clau i de gran interès per a molts científics i per a la societat en general. És aquí on apareix l'amfiox, un fòssil vivent, amb el qual es treballa al laboratori per poder trobar respostes a aquests moments claus i transcendents de l'evolució. L'amfiox no només és morfològicament el representant viu de l'ancestre de tots els cordats, sinó que, com més endavant veurem, posseeix un genoma "preduplicatiu", és a dir, un model en versió simple del genoma de tots els vertebrats, incloent-hi l'humà. L'anàlisi del genoma de l'amfiox ha permès clarificar l'origen del nostre, alhora que ens ha ajudat a entendre millor l'origen i funcionament de famílies i xarxes gèniques importants per al desenvolupament embrionari i la fisiologia. Així doncs, gràcies als avenços tècnics en la reproducció i experimentació, tenim les bases per poder trobar i entendre els nostres orígens i el funcionament del nostre genoma.

L'Evolució del Desenvolupament està vivint una revolució amb l'acumulació de dades genòmiques disponibles, que permeten fer anàlisis comparats en una gran diversitat d'espècies. Tot això està facilitant l'estudi de qualsevol aspecte del genoma, no només des d'una visió monogènica, sinó des d'una visió més àmplia que inclou l'anàlisi de xarxes gèniques reguladores i processos interconnectats en moltes espècies diferents.

## Què és l'Evolució del Desenvolupament?

L'evolució del desenvolupament (Evo-Devo) és un camp de la Biologia que compara els processos de desenvolupament de diversos organismes amb la finalitat de determinar les seves relacions filogenètiques i com van evolucionar els diversos processos de desenvolupament. Tanmateix, busca identificar els mecanismes del desenvolupament que donen origen a canvis evolutius en els fenotips dels individus.

Entre altres coses s'estudia l'origen i l'evolució del desenvolupament embrionari, el paper de la plasticitat del desenvolupament en l'evolució i la base del desenvolupament de les homoplàxies, que són canvis evolutius paral·lels que fan que dos organismes presentin un mateix caràcter adquirit de manera independent, i les homologies, que són estructures morfològicament semblants, la semblança de les quals es deu al fet que deriven d'una estructura ancestral comuna (Hall, 2003).



L'interès principal d'aquest nou camp d'investigació és entendre com evolucionen les noves estructures i innovacions morfològiques dels organismes. D'aquesta manera definiríem l'evolució com el canvi durant els processos de desenvolupament (Fig.2).

**Fig.2 Argument bàsic en què es centra l'Evolució del Desenvolupament (Baguña i Garcia-Fernández, 2003)**

## Una mica d'història

El terme d'evolució del desenvolupament deriva de la relació entre evolució i desenvolupament; on l'evolució es refereix a qualsevol procés de formació, creixement o canvi, i per desenvolupament s'entenen tots aquells processos d'evolució natural des d'estadis primerencs simples (estadis embrionaris), fins a estadis més avançats i complexes, o a l'organisme complet, com va dir Webster al 1996. El que tenen en comú aquests dos termes és que es refereixen a processos que van del més simple al més complex, és a dir, d'embrions en el desenvolupament a taxons en evolució. Un anàlisi més exhaustiu ha permès definir aquests termes amb més precisió a l'actualitat, on per desenvolupament entenem la sèrie de canvis complexes i organitzats que van des de la fecundació (formació del zigot) fins a la mort de l'individu, i per evolució entenem el desenvolupament gradual d'organismes complexes a partir d'ancestres més simples al llarg del temps geològic.

### El lloc central del Desenvolupament

Les relacions entre el desenvolupament amb altres 3 grans processos en Biologia (herència, reproducció i evolució), venen esquematitzats en la Figura 3. La transmissió de la informació genètica (herència), d'una generació (G1; parental) a la següent (G2; filial), la realitza la reproducció; mentre que el desenvolupament és el procés que produeix fenotips similars als parentals sota el control de la informació genètica. Finalment, és durant el desenvolupament quan les variacions o mutacions genètiques produeixen variacions en la morfologia de l'embrió i de l'adult, sobre les quals la selecció natural actuarà donant lloc a l'adaptació i evolució dels diferents individus.

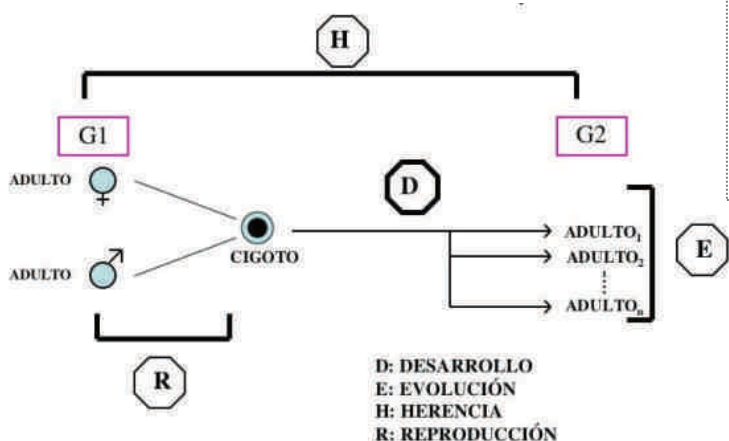


Fig.3 Representació de les relacions entre Desenvolupament (D), Evolució (E), Herència (H) i Reproducció (R) durant el pas d'una generació (G1) a la següent (G2), a una població d'individus d'una espècie. (Baguñà J., 2006)

D'aquest esquema abans representat se'n deriva un evident **flux causal**; la causalitat entre desenvolupament i evolució va en direcció Gen-Desenvolupament-Evolució, i no al revés. Mentre que l'anàlisi dels processos del desenvolupament pot ser molt útil per a entendre el procés evolutiu de canvi morfològic, del coneixement dels mecanismes evolutius no es pot arribar, necessàriament, a un millor coneixement del desenvolupament. Com a conseqüència, cal esperar que el coneixement adequat de l'evolució depengui, en primer lloc, del coneixement de la naturalesa de la informació genètica i de la seva transmissió i, en segon lloc,

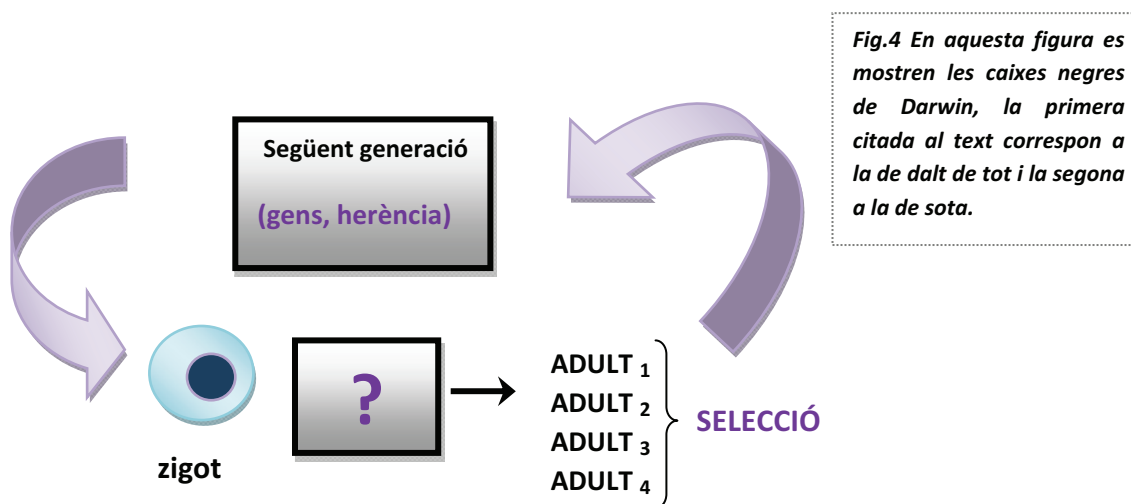
de com la variació genètica produeix canvis en els processos de desenvolupament generant variació fenotípica.

### La teoria darwiniana de l'evolució i les seves caixes negres

Charles Darwin publicà, al 1859, el llibre de "L'origen de les espècies", basat en les seves expedicions i viatges amb el *Beagle*, durant la dècada del 1830. Aquest llibre fou un dels primers fonaments de la teoria de la Biologia evolutiva, ja que en ell es va posar de manifest la teoria científica de què les poblacions evolucionen, durant el transcurs de les generacions, mitjançant un procés de **selecció natural**. Aquesta selecciona els organismes millor adaptats al medi on viuen, que tenen més probabilitats de sobreviure i més possibilitats de reproduir-se i deixar la seva herència a les generacions futures. L'acumulació d'aquests canvis durant generacions produiria fenòmens evolutius.

El llibre de "L'origen de les espècies" també va presentar evidències de que la diversitat de la vida va sorgir de la descendència comuna a través d'un patró ramificat d'evolució. Aquestes evidències foren contrastades per Darwin durant la seva expedició del viatge amb el *Beagle* i dels seus descobriments posteriors a través de la investigació i la experimentació. Per a Darwin, el desenvolupament embrionari era la millor prova a favor de la transformació, o canvis de forma, en evolució. Al llarg del temps, les homologies morfològiques eren prova de l'existència d'un ancestre comú, una guia molt bona per a una classificació més racional dels organismes.

En la teoria de "L'origen de les espècies" de Darwin, s'observen dues caixes negres (Fig.4). La primera d'elles, referida a com es passarien aquests trets seleccionats com a més avantatjats a les següents generacions, s'explicaria gràcies a la selecció natural i l'herència d'aquests gens que van passant de generació en generació. D'altra banda, Darwin no va poder explicar la segona caixa negra que s'observa, que fa referència als diferents organismes que es formen durant el procés de desenvolupament a partir d'un zigot, a priori, amb les mateixes característiques i trets seleccionats com a més avantatjats per la selecció natural. Una de les possibles raons era el desconeixement absolut que hi havia de les regles de l'herència i de com es produïa la variació morfològica.



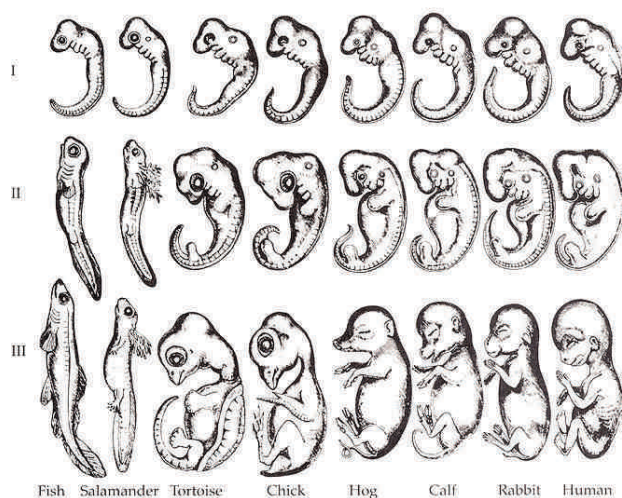
Al llarg del temps, i amb més coneixements sobre les lleis de l'herència, es va poder resoldre la pregunta de com es genera variació morfològica als individus adults. Com veurem més endavant, l'evolució del desenvolupament ha estat un dels punts claus per explicar aquests processos que Darwin, a la seva època, no va poder acabar d'interpretar.

Així doncs, amb Darwin publicant "L'origen de les espècies" al 1859, concretament dins d'aquest amb el seu escrit "*Community of embryonic structure reveals community of descent*", on es parla de com les diferents estructures embrionàries porten a diversos individus adults, sorgí per primera vegada el concepte d'evolució del desenvolupament, ja que va ser el primer en observar que hi havia alguna relació entre desenvolupament i evolució. Aquest concepte s'ha anat perfeccionant amb el temps, fins arribar al concepte d'Evo-Devo moderna, on sorgí el nom per primer cop en un congrés a Edimburg, al 1994, on es va parlar de l'Evo-Devo com una fusió entre l'evolució, el desenvolupament i la biologia molecular.

## Proves de l'evolució

Primer de tot, hem de parlar del desenvolupament embrionari, i un dels primers a parlar sobre l'embriologia fou Karl Ernst von Baer, al segle XIX. Va ser ell qui va proposar una teoria epigenetista del desenvolupament, segons la qual, l'ontogènesi (procés de desenvolupament d'un organisme) comença per un estat homogeni que va diferenciant-se successivament en parts heterogènies. És a dir, els caràcters generals del grup al qual pertany l'embrió apareixen en el desenvolupament abans que els caràcters específics, les relacions estructurals específiques es formen després de les genèriques. També, al 1828 va formular les seves famoses lleis empíriques del desenvolupament embrionari, on va demostrar que 1) les característiques generals d'un grup apareixen en els embrions abans que les específiques, 2) els embrions d'una determinada espècie, en comptes de passar a través dels estadis d'altres organismes, s'aparten en realitat cada vegada més d'ells, i 3) per tant, l'embrió d'un organisme superior mai s'assembla a l'adult d'un animal inferior sinó només al seu embrió.

Així doncs, va fundar l'embriologia comparada, en la qual s'observa com els embrions de diferents organismes divergeixen progressivament a partir d'estadis inicials relativament homogenis que es van diferenciant en funció de la classificació taxonòmica, des dels grans grups fins a l'espècie (Fig.5).



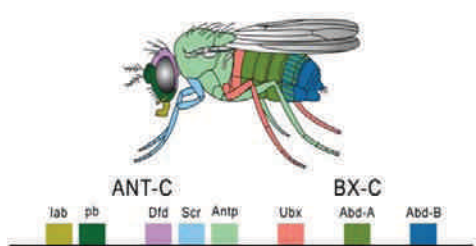
**Fig.5** En aquesta imatge es poden observar embrions de diferents organismes en diversos estadis de desenvolupament. Durant els primers estadis les formes dels embrions són més homogènies i després es van diferenciant més al llarg del procés de desenvolupament (Haeckel, 1874)



### Com es forma un organisme?

Per a entendre com es forma un organisme hem de veure-ho des d'una perspectiva de la genètica del desenvolupament, i anar fins als anys 70, on Edward B. Lewis va descriure la influència d'alguns gens en el desenvolupament embrionari. Lewis va fer estudis sobre mutacions que afectaven al desenvolupament de *Drosophila melanogaster* i, molt especialment, amb els anomenats mutants homeòtics. Aquests mutants presenten unes mutacions que transformen segments complets, amb els seus apèndixs, en estructures corresponents a un altre segment, generalment més anterior al llarg de l'eix anteroposterior. Així doncs, Lewis va demostrar que aquestes mutacions es produïen en gens contigus al llarg del cromosoma, que especificaven correlativament la morfologia al llarg de l'eix anteroposterior de *Drosophila* (Lewis, 1978).

També Edward B. Lewis, juntament amb Christiane Nüsslein-Volhard i Eric Wieschaus, va aconseguir identificar a *Drosophila* una sèrie de gens que determinen l'evolució dels diferents segments de l'animal. Aquests gens homeòtics identificats (gens implicats en la regulació del desenvolupament embrionari, que posseeixen una seqüència de DNA altament conservada anomenada *homeobox*, i que formen part de la família de gens homeòtics HOM/HOX) estan agrupats en dos complexos situats al cromosoma 3 de *Drosophila*: el complex *Antennapedia* (ANT-C) que regula el desenvolupament del cap i dels segments toràcics anteriors, i el complex *Bithorax* (BX-C) que regula els segments abdominals i toràcics posteriors (Nüsslein-Volhard C. i Wieschaus E., 1980).



**Fig.6 Disposició dels gens Hox a *Drosophila*, agrupats als dos complexos, ANT-C i BX-C.**  
(Font: <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Hoxgenesoffruitfly.jpg>)

El complex *Antennapedia* consta de 5 gens, mentre que *Bithorax* en consta de 3, i l'ordre en el qual estan disposats aquests gens *Hox* reflexa el seu ordre d'expressió en el cos de *Drosophila*: a l'extrem 3' de la cadena de DNA es troba el gen *Labial*, que s'expressa al cap, mentre que el gen situat més a la dreta, *Abdominal-B*, s'expressa al final de l'abdomen de la mosca. Així doncs, la seva disposició en el genoma manté una correlació amb la pauta d'expressió espacial i temporal de *Drosophila* (Fig. 6).

A partir d'aquí, aquest clúster o grup de gens *Hox* detectat primer a *Drosophila*, es va veure que també es trobava en diversos invertebrats i vertebrats, entre ells els humans. Als humans hi ha 39 gens *Hox*, que s'agrupen en 4 clústers designats amb una lletra cadascun i localitzats en cromosomes diferents: HOX A (al cromosoma 7), HOXB (cromosoma 17), HOXC (cromosoma 12) i HOXD (cromosoma 2). El patró d'expressió d'aquests gens *Hox* és espacial i temporalment col·lineal amb la seva posició dins del clúster; l'expressió d'aquests gens determinarà la identitat dels diferents segments del cos (Fig. 7).



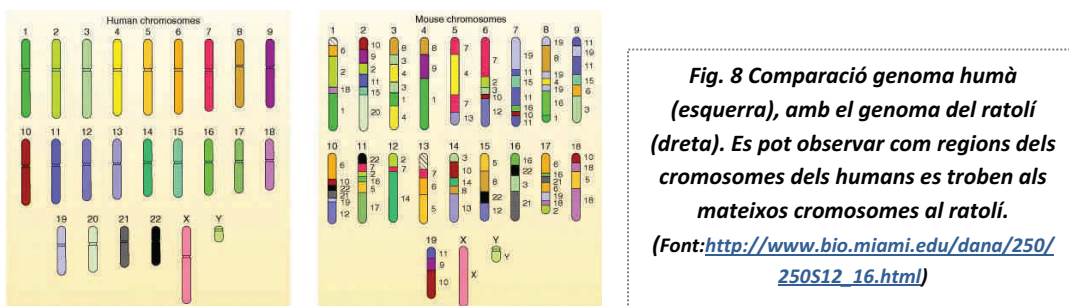
**Fig.7 Disposició dels gens Hox als humans.**  
(Font: [http://darwin200.christs.cam.ac.uk/pages/index.php?page\\_id=g8](http://darwin200.christs.cam.ac.uk/pages/index.php?page_id=g8))

### Genòmica comparada i la gran paradoxa

La genòmica comparada estudia les semblances i les diferències entre genomes de diferents organismes. Al segle XXI es va veure que els genomes de l'humà i del ratolí eren semblants i que compartien un mateix ordre de cromosomes. També es va veure que existia un grau elevat de conservació de seqüències codificadores entre els gens d'ambdues espècies, i es va veure que alguns segments de cromosomes conservaven les mateixes seqüències de gens (conservació sintènica) (Fig.8).

D'aquí sorgeix una gran paradoxa: com hi pot haver evolució si estem fets del mateix genoma? Tots tenim una "caixa d'eines conservada" (*the developmental-genetic toolkit*), que com el seu nom indica està altament conservada entre espècies, on estan tots aquells gens que controlen el desenvolupament d'un organisme. La gran majoria dels gens d'aquesta caixa d'eines són components de rutes de senyalització i codifiquen factors de transcripció, proteïnes d'adhesió cel·lular, receptors de membrana i morfògens secretats. La seva funció està altament correlacionada amb els seus patrons d'expressió espacio-temporal (Carroll *et al.*, 2005).

Diferències en l'expressió d'aquesta caixa afecten al pla corporal, al nombre, la identitat i la organització de les diferents parts del cos. Així doncs, diferències en l'expressió d'aquests gens en la regulació gènica, portarien a un patró de desenvolupament diferent entre organismes. L'Evo-Devo estudia tots aquests fenòmens que porten a canvis evolutius entre organismes, fixant-se en com les variacions en el nivell, patró o ritme de l'expressió gènica poden portar a la diversitat morfològica entre individus, i d'aquí com la selecció natural actuarà sobre ells.



**Fig. 8 Comparació genoma humà (esquerra), amb el genoma del ratolí (dreta). Es pot observar com regions dels cromosomes dels humans es troben als mateixos cromosomes al ratolí.**  
(Font:[http://www.bio.miami.edu/dana/250/250S12\\_16.html](http://www.bio.miami.edu/dana/250/250S12_16.html))

### Variacions subtils a nivell d'on, quan i quant actuen els gens del desenvolupament

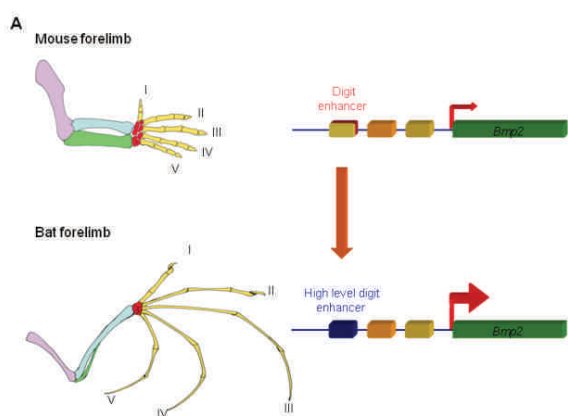
#### Exemple: Ratpenat

Els ratpenats, o quiròpters, tenen un tret morfològic molt característic i distintiu a la resta de mamífers, l'estructura de les seves extremitats anteriors. Actualment, hi ha bastant consens en què els ratpenats es van originar fa uns 50 milions d'anys, i que el seu avantpassat era un petit mamífer no volador, semblant als actuals rosegadors, amb les extremitats anteriors semblants a les dels ratolins actuals. L'ala dels ratpenats consisteix en una membrana de pell contínua i lleugera que recobreix uns ossos allargassats metacarpians dels dígits III, IV i V.

A partir de l'Evo-Devo s'ha plantejat la següent pregunta: podríem reproduir al laboratori els canvis que han permès l'adaptació al vol dels ratpenats? A partir d'aquí, s'ha de veure quins

són els mecanismes i gens responsables per al desenvolupament de les extremitats dels mamífers. L'allargament dels dígits i, en general, dels ossos llargs de les extremitats anteriors és degut a una major taxa de proliferació i diferenciació de cèl·lules del cartílag (condròcits), quan els condròcits deixen de proliferar i es diferencien en cèl·lules òssies madures, l'os ja no podrà seguir creixent.

Entre els diversos gens identificats en el procés de maduració dels condròcits, trobem *BMP* (*bone morphogenetic protein*). Les proteïnes BMP-2, BMP-4 i BMP-7, s'expressen moderadament durant el desenvolupament de les extremitats del ratolí, i s'ha demostrat que existeix una relació clara entre la quantitat d'aquestes proteïnes i el creixement dels dits. En estudiar els nivells d'expressió normal d'aquests gens BMP als ratpenats, es va veure que els nivells de BMP-2 incrementaven sobtadament a la zona de proliferació, quan els dits començaven a créixer de forma desproporcionada respecte als dels ratolins, però només a les extremitats anteriors, que acabaran formant les ales dels ratpenats (Fig.9).



**Fig.9 Expressió de BMP-2 a ratolí (imatge de dalt) i a ratpenat (imatge de sota). Al ratpenat existeix una regió reguladora que actua com a intensificadora (enhancer) augmentant l'expressió del gen (Sears et al., 2006)**

Així doncs, tornant a la pregunta abans esmentada, seria possible modificar genèticament ratolins al laboratori per aconseguir que tinguin extremitats anteriors més llargues, com els ratpenats? S'han realitzat experiments amb la regió reguladora del gen *Prx-1* (de la família de gens amb *homeobox*), aquest gen s'expressa en múltiples indrets durant el desenvolupament. Els ratolins creats al laboratori com a *knock-outs* per *Prx-1* (se'ls ha eliminat la funció d'aquest gen), presentaven, entre altres greus alteracions, unes extremitats molt reduïdes al néixer, per una manca d'elongació dels ossos llargs de les extremitats. En estudiar l'expressió de *Prx-1* durant el desenvolupament de les extremitats anteriors als ratpenats, es va veure que aquest gen s'expressava molt més i en un domini més ampli que al ratolí. D'aquesta manera hi havia d'haver alguna regió reguladora de *Prx-1* que actuava com a intensificador en el cas del ratpenat, fent que aquest gen s'expressés molt més durant la formació de les ales. I es va trobar una regió reguladora, la regió E, responsable de l'expressió d'aquest gen a les extremitats, que presentava un 65% de similitud entre ratolí (anomenada regió MusE) i ratpenat (anomenada BatE). Aquesta regió BatE fa que el gen *Prx-1* s'expressi molt més que la regió MusE de ratolí.

Llavors, a partir de l'Evo-Devo experimental, es va pensar que es podria reemplaçar aquest fragment regulador del ratolí, MusE, pel del ratpenat, BatE, i així veure quins efectes tindria pel ratolí aquesta substitució. Els resultats obtinguts van ser que els ratolins modificats presentaven les seves potes anteriors un 6% més llargues comparades amb les dels ratolins normals no modificats (Fig.10). Un percentatge elevat, si es té en compte que només comptem



amb la modificació d'un gen, i hem de recordar que el desenvolupament de qualsevol estructura no depèn només de gens individuals, si no de xarxes gèniques complexes que actuen coordinadament. Així doncs, probablement canvis en regions reguladores de gens del desenvolupament van ser claus per al desenvolupament de les extremitats anteriors dels ratpenats, aconseguint que aquests acabessin desenvolupant ales i així poder conquerir el medi aeri.

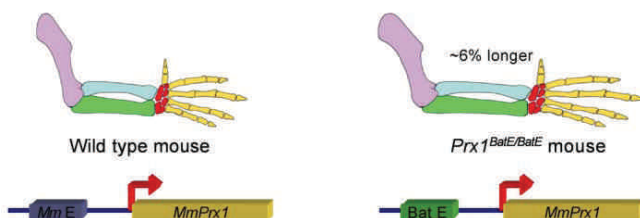


Fig.10 La imatge de l'esquerra correspon a les extremitats anteriors d'un ratolí control (wild type), amb la seva regió reguladora MusE; comparada amb les d'un ratolí transgènic amb la regió reguladora BatE de ratpenat (~6% d'elongació) (Cretkos et al., 2008)

## L'Amfiox: un fòssil vivent, clau en l'evolució dels vertebrats

L'amfiox és el representant més antic del fílum dels cordats; aquest fílum comprèn el subfílum dels urocordats (tunicats), cefalocordats (amfioxos) i vertebrats (Fig.11). Els amfioxos són els moderns supervivents d'un antic llinatge de cordats amb registre fòssil des del període càmbric. Mostren qualitats intermèdies entre invertebrats i vertebrats, i són el model biològic més estudiat per reconstruir el camí evolutiu entre aquests dos grups.

Fins a la segona meitat del segle XIX, l'anatomia i l'embriologia comparades no van reconèixer que l'amfiox compartia molts dels trets característics que defineixen els vertebrats: un tub nerviós en posició dorsal, musculatura segmentada, cua postanal i el notocordi, que és un tub d'origen mesodèrmic, ventral al tub nerviós, transitori durant el desenvolupament embrionari dels vertebrats i que a l'amfiox es manté també en l'etapa adulta (Fig. 12). Per altra banda, a l'amfiox li manquen la majoria d'estructures avançades i innovacions morfològiques que comparteixen tots els vertebrats: extremitats, cervell anterior desenvolupat, o òrgans sensorials parells. Així doncs, l'amfiox s'ha definit com l'organisme més semblant al que hauria estat l'ancestre dels vertebrats, la baula perduda de la transició invertebrats/vertebrats, un

fòssil vivent. A l'actualitat, existeixen 29 espècies d'amfiox a les costes de tot el planeta, però en recerca només se'n fan servir tres: *Branchiostoma floridae* (Estats Units), *B. lanceolatum* (Europa) i *B. belcheri* (Àsia).

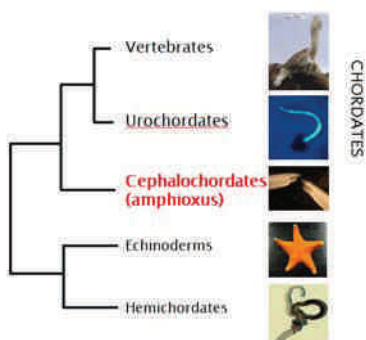


Fig. 11 Posició filogenètica dels Amfioxos, situats com a grup basal dels cordats

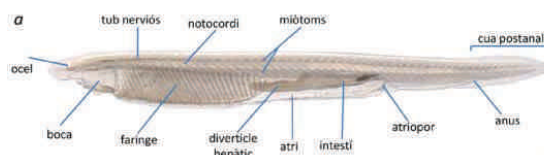


Fig. 12 El pla corporal de l'amfiox. Fotografia d'un juvenil de l'espècie *B. lanceolatum* amb les estructures i òrgans més destacats

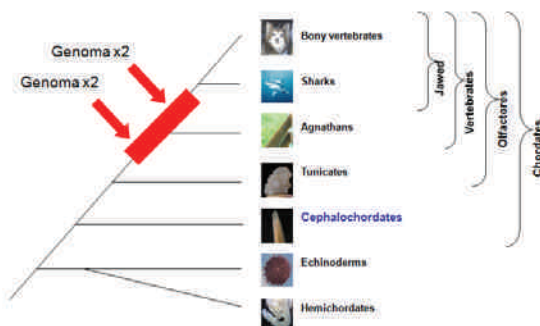
## Seqüenciació del genoma

L'estudi de la genètica molecular de l'amfiox s'inicia al 1992 amb la clonació de primer gen amb seqüència homeòtica, l'*AmphiHox3*. Aquest estudi analitza l'estructura genètica del genoma de l'amfiox de Florida (*B. floridae*), dotat de 19 cromosomes i 520 megabases, i revisa les dades genètiques en el context evolutiu dels cordats. La seqüenciació del genoma de l'amfiox, aporta una nova comprensió de l'evolució biològica dels tres grups de cordats (tunicats, amfiox i vertebrats), la transició d'invertebrats a vertebrats i l'origen del genoma humà (Putman *et al.*, 2008).

En els últims quinze anys s'han fet nombrosos treballs, utilitzant l'amfiox com a model, que han permès estudiar la base molecular comuna per identificar els mecanismes moleculars bàsics de com es desenvolupa un cordat i, alhora, per identificar els canvis genètics que poden haver estat la base de les innovacions morfològiques dels vertebrats, com les estructures cranials derivades de la cresta neural, el cervell anterior, les extremitats o les estructures esquelètiques (Benito-Gutiérrez, 2010).

## Hipòtesi 2R

La hipòtesi 2R o de doble duplicació del genoma ve a partir de la hipòtesi de Susumu Ohno, a l'any 1970, que va suggerir que la complexitat dels vertebrats podia ser deguda a la plasticitat gènica derivada de l'excés de còpies gèniques, que es van generar en l'origen dels vertebrats per fenòmens de duplicació del genoma. Segons aquesta hipòtesi, les grans famílies gèniques de vertebrats s'originen a partir de la doble duplicació completa d'un genoma ancestral. Durant aquest procés els gens han adquirit funcions que poden marcar les diferències morfològiques entre els organismes (Fig.13).



**Fig.13 Representació esquemàtica de la doble duplicació del genoma (2R), i també de com els cefalocordats (amfiox) són descendents dels primers cordats (Garcia-Fernàndez i Benito-Gutiérrez, 2009)**

Gràcies a la seqüenciació del genoma de l'amfiox al 2008, abans esmentada, es va poder constatar aquesta hipòtesi, ja que l'amfiox no només és el parent viu més semblant a l'ancestre dels vertebrats, sinó que el seu genoma és el model més semblant al genoma de l'ancestre dels vertebrats, que es va duplicar dues vegades en l'origen i les etapes inicials de la radiació dels vertebrats.

El seu genoma és clau per entendre l'evolució de gairebé qualsevol família gènica, xarxa de regulació gènica o element estructural o funcional del nostre genoma. Entre els seus 21900 gens codificants, l'amfiox posseeix

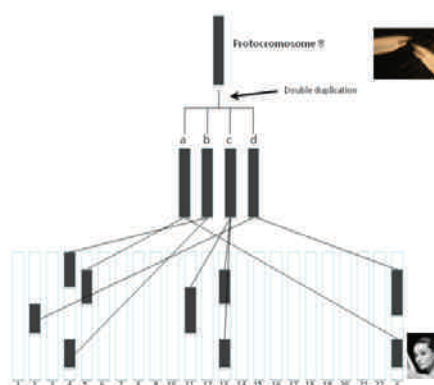
només un membre per a la majoria de famílies gèniques dels vertebrats, fent d'ell un excel·lent representant del genoma ancestral en els cordats. Després de les dues duplicacions genòmiques, aproximadament el 20-25% dels gens duplicats es va mantenir en el genoma dels vertebrats, el 75% dels gens restants es van perdre en el procés evolutiu. La majoria dels gens

de regulació complexa (regulació gènica i senyalització cel·lular) es mantenen avui en dia en els vertebrats.

### Sintènia conservada

L'anàlisi del genoma de l'amfiox va permetre identificar 17 grups de sintènia ancestrals (protocromosomes), que són grans segments de genoma que es conserven entre amfiox i humans. Aquests 17 grups es van duplicar dues vegades a l'origen dels vertebrats, i posteriors reordenaments cromosòmics van deixar el genoma humà tal i com el coneixem ara, amb restes d'aquests 4 blocs de 17 protocromosomes reordenats en els 23 parells de cromosomes del genoma humà (Fig. 14). L'ordre dels gens de l'amfiox, que és el més ancestral conegut fins ara, també es manté en els vertebrats. També s'han identificat 59 petites regions de genoma no codificants de funció desconeguda. L'amfiox i els humans, a més, compartim una àmplia fracció d'introns (85%), que són els fragments genètics no codificants que interrompen els gens (Holland *et al.*, 2008).

**Fig. 14 Un genoma format per 17 protocromosomes es va duplicar 2 vegades, i les còpies resultants (a,b,c,d) han acabat formant els 23 cromosomes actuals dels humans. Aquest esquema representa el destí del protocromosoma 8, que després de les duplicacions va anar a formar part dels cromosomes humans 2,4,5,11,13 i X. (García-Fernández i Benito-Gutiérrez, 2011).**



El genoma de l'amfiox ha permès constatar que gens que es pensava que eren exclusius d'invertebrats no ho són, o que gens presumptament invencions dels vertebrats tampoc no eren exclusius d'aquests (Takatori *et al.*, 2009). En gairebé tots els llinatges evolutius han tingut lloc pèrdues gèniques, amb una excepció remarcable: l'amfiox.

### Conclusions

A partir del reconeixement del genoma de l'amfiox com a prototípic dels vertebrats i del seu pla corporal primitiu, la recerca amb aquest animal no ha parat de créixer; cada cop s'han anat descobrint més coses i corroborant d'altres, gràcies a aquest. L'estudi de processos complexos es podrà traslladar a un marc més senzill gràcies al genoma "preduplicatiu" de l'amfiox, a la vegada molt similar al dels humans. Encara que també existeix algun inconvenient a l'hora de treballar i fer recerca amb un organisme viu tant petit i difícil de manipular com l'amfiox, si bé no és un model pels seus avantatges tècnics sinó per la seva posició clau en l'escala animal.

Amb l'amfiox podem modificar el present per entendre el passat, saber quins van ser els mecanismes genètics que van generar els vertebrats i, sobretot, ajudar a entendre els secrets del genoma, que han permès generar una immensa varietat d'éssers vius. Tots aquests són alguns dels reptes de l'Evo-Devo per estudiar en un futur no molt llunyà, amb l'ajuda d'aquest petit animal com és l'amfiox.

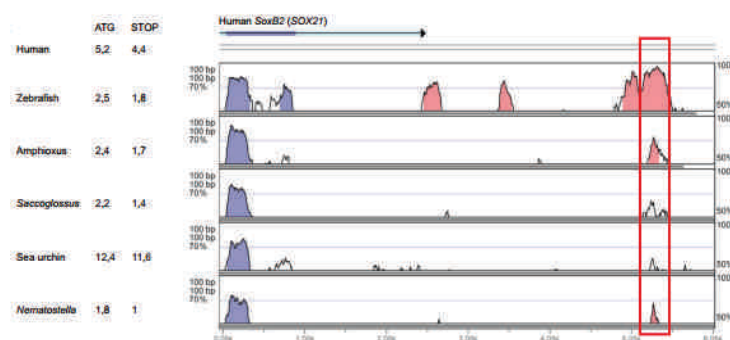
## Alguns estudis i descobriments del grup de recerca

### 1) Identificació del DNA regulador més antic fins ara

Alguns membres d'aquest equip de recerca han descobert, junt a altres grups investigadors, la regió reguladora del DNA més antiga identificada fins ara. Aquesta regió es tracta d'un petit fragment de DNA amb una seqüència no codificadora altament conservada (CNR), que ha estat identificada a la zona annexa als gens *soxB2*, i s'ha vist que està implicada en la regulació gènica. L'estudi s'ha dut a terme amb espècies molt allunyades filogenèticament: en vertebrats (en l'espècie humana i en peix zebra) i en invertebrats (cnidaris, equinodermes, cefalocordats i hemicordats), en les quals s'ha identificat aquesta seqüència reguladora ancestral.

Aquesta regió reguladora no codificadora identificada s'ha conservat en l'escala evolutiva des de fa més de 1000 milions d'anys, i manté l'activitat en el control de la neurogènesi al llarg de l'escala evolutiva dels metazous. La seqüència és un petit fragment de DNA amb una estructura espacial que facilita la unió dels factors de transcripció en un ordre concret, actuant com un regulador *cis* de l'expressió dels gens *soxB2*, que participen en el control del desenvolupament del sistema nerviós. A més, aquesta petita seqüència de DNA presenta una homologia excepcional i una funcionalitat altament conservada en genomes de vertebrats i invertebrats (Fig. 15).

Els resultats d'aquest treball apunten a un fenomen cada cop més rellevant en evolució: la cooptació de gens. Els gens es poden cooptar, és a dir, poden emprar-se per a noves funcions, i en alguns casos aquest fenomen ha pogut donar lloc a innovacions evolutives. Abans es creia que els organismes més complexos ho eren perquè tenien més gens, però no és així, són complexos perquè els mateixos gens s'han cooptat per adquirir noves funcions.

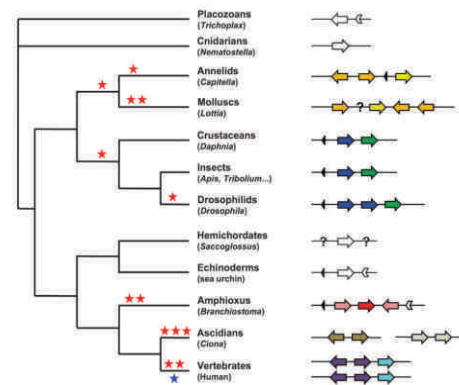


**Fig.15 VISTA plot del loci *soxB2/sox21*, en humans, zebrafish, amfiox, *Saccoglossus*, equinoïdeus i *Nematostella*. El rectangle vermell de la figura indica on es localitza la seqüència no codificadora conservada (CNR) a la zona annexa als gens *soxB2* (Royo JL. et al., 2011).**

**2) Gens junts al genoma: per amor o per inèrcia?**

Al genoma, els gens que codifiquen per proteïnes similars i que es regulen conjuntament, solen trobar-se a prop. Però també hi ha gens que no tenen aquesta particularitat i, tot i així, es mantenen junts al genoma. Per què es separen o es mantenen junts alguns gens lligats ancestralment al genoma, és una pregunta sobre la qual aquest grup de recerca ha trobat una nova resposta. El treball fet es basa en l'estudi del gen *Sosondowah* (*Sowah*), que és adjacent als gens *Iroquois*, un complex gènic implicat en la neurogènesi del sistema nerviós en la *Drosophila* i en vertebrats. Aquests gens *Iroquois* estan flanquejats per extenses zones del genoma molt pobres en gens i amb tendència a duplicar-se. Com a curiositat, el nom d'aquests gens ve de la Mitologia Iroquois (*Legend of the Morning Star*), que podem veure explicada a la Figura 16, on els protagonistes es troben "lligats", en certa manera, com aquests gens al genoma.

Segons els autors, per a la majoria de metazous estudiats, el gen *Sosondowah* estaria lligat als *Iroquois*, perquè *Sowah* conté, en els seus introns (regions no codificadores), una sèrie de regions reguladores clau per als gens *Iroquois*. En canvi, en els vertebrats el gen *Sowah* s'hauria "escapat" dels gens *Iroquois*, mitjançant mecanismes de retrotransposició, que és la síntesi de DNA a partir d'RNA gràcies a l'enzim transcriptasa inversa (Fig.17). El genoma humà conté moltes retroseqüències, segments que són el resultat de la transcripció inversa de l'RNA i la integració del nou DNA en nous punts del genoma.



**Fig. 17 Repetició dels clústers de gens Iroquois i la sintènia conservada en metazous. Els gens Iroquois estan representats per fletxes cap a la dreta. Mentre que els gens Sowah estan representats per fletxes negres cap a l'esquerra. (Irimia et al, 2008)**

Així doncs, aquest estudi mostra per primer cop com es poden separar els gens que eren pròxims des de fa milions d'anys en l'escala evolutiva, mitjançant mecanismes de retrotransposició (Maeso et al., 2012).

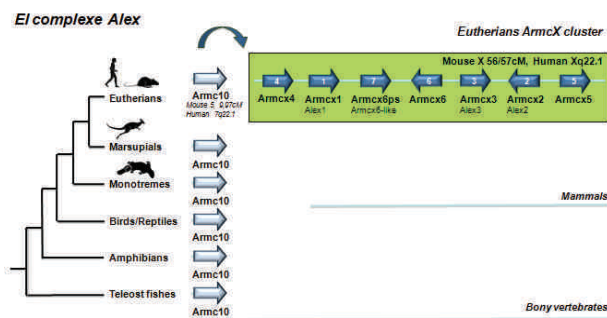


**Fig. 16 Legend of the Morning Star (Mitologia Iroquois)**  
*"Sosondowah, un caçador del regne dels Déus, es va enamorar de Gendenwitha, una noia mortal. Mentre Dawn Iroquois, amo i senyor del regne dels cels, dormia, Sosondowah va aprofitar per baixar al món dels mortals a buscar la noia. Però quan Dawn Iroquois va despertar i va veure que Sosondowah havia marxat, va castigar-lo transformant, amb els seus poders màgics, a Gendenwitha en Venus (the Morning Star), així Sosondowah la podria veure cada nit, però mai podria estar amb ella. Dawn Iroquois va aconseguir doncs que Sosondowah estigués sempre amb ell, al regne dels cels, per poder observar la seva estimada cada nit". ("The Red Indian Fairy Book", Olcott FJ, 1917)*



### 3) El complex Alex

El complex Alex forma part de la família de gens *Armcx*, grup de gens exclusiu dels mamífers més evolucionats, els euteris (que tenen fecundació i desenvolupament interns). Aquest clúster de gens *Armcx* va ser originat a partir de fenòmens de retrotransposició del gen autosòmic *Armc10*, present als altres grups de mamífers i vertebrats ossis, i després va patir una sèrie de duplicacions en tàndem originant tot el grup de gens *Armcx* present als euteris (Fig. 17).



**Fig. 17 Localització del complex Alex, dins del clúster de gens *Armcx*, present només a mamífers euteris, i originat a partir del gen ancestral comú *Armc10* (López-Doménech et al, 2012).**

L'origen d'aquest clúster de gens, a partir d'*Armc10*, en la transició entre mamífers primitius com els marsupials i la resta de mamífers placentaris, podria estar lligat a l'augment de complexitat al còrtex cerebral en el llinatge d'aquests mamífers més evolucionats. El cervell per funcionar correctament necessita una gran quantitat d'energia. Les neurones són les encarregades de distribuir i proporcionar aquesta energia, per tal que funcioni tota la maquinària cerebral. Aquest grup de proteïnes *Armcx*, es localitza a les

mitochondries i controlen el funcionament d'aquestes; regulen la localització que han de tenir les mitochondries en cada cèl·lula segons les necessitats energètiques que tingui. Una altra característica destacada d'aquest grup de proteïnes és que es troben tant a les mitochondries com al nucli cel·lular, però se'n desconeix la funció en aquest. Així doncs, aquest grup de gens *Armcx/Arm10* constitueix una nova família de proteïnes especialment vinculades a les mitochondries i al seu transport en neurones, i amb funcions de comunicació mitocondrial/nuclear.

### 4) Descobert un nou neurotransmissor

Alguns investigadors del grup de recerca també han col·laborat en el descobriment d'un nou neurotransmissor, l'àcid D-aspàrtic (D-Asp), que pot tenir potencialment un ús terapèutic en malalties neurològiques, com ara el Pàrkinson o l'esquizofrènia.

El D-aspàrtic és un aminoàcid que ja es va descobrir fa 40 anys, pel grup d'investigació d'Antimo D'Aniello, al cervell dels pops, de les sípies i dels calamars. Aquest no és tan diferent d'altres neurotransmissors clàssics del tipus dels aminoàcids, com ara la serina o el glutamat. L'equip d'investigadors ha treballat mirant l'activitat del D-Asp com a neurotransmissor en dues espècies animals ben distants, des del punt de vista evolutiu: la rata comuna (*Rattus norvegicus*) i el calamar (*Loligo vulgaris*). Els neurotransmissors són molècules que transporten el senyal químic al sistema nerviós. La transmissió sinàptica pot ser elèctrica o química, i té lloc mitjançant 20 tipus de neurotransmissors químics diferents, que poden ser del tipus aminoàcids (com L-glutamat), pèptids (dopamina), amines (adrenalina) o gasosos (òxid de nitrogen).

Aquest nou neurotransmissor té un paper important en les fases inicials de desenvolupament del sistema nerviós central en vertebrats i invertebrats; després del naixement la concentració del D-Asp cau a nivells mínims i es manté així durant l'edat adulta. A través de l'estudi realitzat, sembla que aquesta molècula està implicada en el procés d'aprenentatge i en la memòria de les rates, millorant la capacitat cognitiva dels animals en els diferents experiments realitzats. Així doncs, el D-Asp es situa com una possible diana terapèutica en el camp de les demències senils i les malalties neurològiques, un nou camp per descobrir en el futur (D'Aniello S. *Et al.*, 2011).

## Bibliografia

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 Resarch, 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.

## Més recerca internacional en l'àmbit de l'Evo-Devo

A la Universitat d'Oxford (UK), trobem un dels pioners en recerca sobre l'Evo-Devo, que és l'investigador i catedràtic **Peter Holland**, cap del Departament de Zoologia de la Universitat d'Oxford. Allà dirigeix un grup de recerca al laboratori, on el seu principal objectiu és estudiar el paper que juguen els gens, els embrions i l'evolució, entre ells. Un dels interessos particulars del grup és entendre la duplicació gènica i les pèrdues gèniques que hi ha hagut a la família de gens *homeobox*. D'aquesta manera han treballat amb gens *homeobox* de l'amfiox, per tal de constatar la hipòtesi sobre les duplicacions del genoma que van ocórrer en l'aparició i radiació dels vertebrats. També han trobat noves respostes sobre l'evolució del cap dels vertebrats, han descobert i donat nom al clúster de gens *ParaHox*, han donat una nova classificació més robusta dels gens *homeobox* de tots els animals, i han seguit l'evolució dels gens de classe ANTP, incloent els clústers de gens *Hox*, *ParaHox* i *NK*, que juguen un paper molt important en els patrons del pla corporal bilateral. Actualment, el grup de recerca estudia l'evolució dels gens *Hox*, *ParaHox* i *PRD* en insectes, mamífers i peixos. A partir de la seqüenciació del genoma i del transcriptoma, volen entendre com les duplicacions del genoma han afectat als genomes dels peixos, i també a partir de la seqüenciació del genoma volen veure l'evolució dels gens *homeobox* i del miRNA en mamífers.

Un altre dels gran pioners d'aquesta nova ciència de l'Evo-Devo, és el catedràtic **Sean B. Carroll**, professor de Biologia Molecular, Genètica i Genètica Clínica a la Universitat de Wisconsin-Madison (USA), i investigador del Howard Hughes Medical Institute (HHMI). És un reconegut biòleg evolucionista, i la seva recerca es centra en estudiar com han aparegut les noves formes morfològiques dels animals. Els seus estudis, d'una àmplia varietat d'espècies animals, han revelat com els canvis en els gens que controlen el desenvolupament donen forma a la diferent evolució de les diverses parts del cos i patrons corporals dels animals.

I per últim, un altre gran investigador és l'**Eric H. Davidson**, biòleg especialitzat en biologia del desenvolupament, al California Institute of Technology (Caltech). És molt conegut pels seus treballs pioners sobre el paper de la regulació dels gens en l'evolució, en l'especificació embrionària, i pel seu esforç en seqüenciar el genoma de l'eriçó de mar porpra (*Strongylocentrotus purpuratus*). El focus principal d'investigació, al seu laboratori, és la biologia de sistemes de les xarxes de regulació de gens (GRNs) que controlen el desenvolupament, així com l'evolució d'aquestes. La seva investigació es realitza en embrions d'eriçó de mar, que proporcionen força avantatges experimentals. També utilitzen models d'equinoderms experimentals addicionals, per fer comparacions de GRN, com per exemple l'estrella de mar *Patiria miniata* o l'eriçó *Eucidaris tribuloides*. Els embrions d'ambdós animals han demostrat ser uns subjectes tant bons, per estudiar temes de regulació gènica, com l'eriçó de mar. Al seu laboratori, treballen sempre sota un model integrat d'anàlisi experimental, en el qual els seus experiments estan dirigits a tots els nivells d'organització biològica; des de les interaccions de factors de transcripció de DNA que controlen l'expressió espacial i temporal de gens específics, fins a l'anàlisi a nivell de sistemes de xarxes de regulació gènica. S'ha posat en evidència que només des del nivell del sistema d'anàlisi de GRN es poden explicar els principals fenòmens de desenvolupament emergents, esdevenint el seu principal objectiu d'estudi.

## Alguns articles i projecte del grup

El grup de recerca Reg-Volution, liderat pel Dr. Jordi Garcia-Fernàndez, actualment treballa en un projecte sobre l'anàlisi de canvis en el genoma que poden haver estat implicats en la gènesi i augment de complexitat del sistema nerviós dels vertebrats. A partir de l'immensa acumulació de dades genòmiques disponibles per a espècies filogenèticament clau, i de la disponibilitat d'embrions i de tècniques de manipulació en una àmplia varietat de models, volen estudiar els següents punts: i) canvis en la regulació transcripcional de xarxes gèniques, ii) canvis en xarxes gèniques regulades per *splicing* alternatiu, i iii) creació de complexos gènics per duplicació en tàndem.

Alguns articles rellevants, publicats per diferents membres del grup, són els següents:

- Baguñà, 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 GARCIA-FERNÀNDEZ



*Jordi Garcia-Fernàndez és professor catedràtic de Genètica i Vicedegà de la Facultat de Biologia de la Universitat de Barcelona. Lidera el grup de recerca Reg-Volution al laboratori Amfiox/Evo-Devo del Departament de Genètica de la Facultat de Biologia.*

Universitat de Barcelona, 29 de maig del 2013.

**Cristina Higes: Per què vas estudiar Biologia? Què era el que més t'interessava quan estaves estudiant?**

**Jordi Garcia-Fernàndez:** És una bona pregunta. A mi sempre m'havien agradat les ciències, però quan estava fent secundària vaig llegir un llibre que es diu "Los niños del Brasil" de l'Ira Levin, que també van fer la pel·lícula. En aquest llibre el què feien era un trasplantament nuclear entre cèl·lules adultes de Hitler i zigots humans, bàsicament el què volien fer era clons com l'ovella Dolly però amb Hitler. És una novel·la policíaca i així, i jo vaig anar al meu professor de Biologia de Batxillerat i li vaig preguntar: això es pot fer? Això es pot fer? (rialles) Et parlo de fa molts anys eh? Jo penso que això em va acabar de decantar cap a la Biologia.

**CH: I després quan vas començar la carrera?**

**JGF:** Quan vaig començar la carrera sobretot volia fer Genètica molecular. En aquella època estaven començant a seqüenciar els primers gens, i jo volia clonar gens, volia treballar amb l'ADN, i l'evolució sempre m'ha agradat. Aleshores vaig tenir la oportunitat de començar una tesi doctoral, precisament en això, en clonar gens a un bitxo raro, en aquell cas el bitxo raro eren les planàries, llavors va ser quan em va interessar.

Després me'n vaig anar d'estància post-doctoral a Oxford. Me'n vaig anar de fet per motius personals perquè volia fer una estada post-doctoral a l'àrea d'Oxford, a Londres, i em vaig entrevistar amb un jove científic, que es diu Peter Holland, que em va parlar de l'amfiox, jo no en tenia ni idea gairebé de què era l'amfiox, i d'un projecte amb gens *Hox*, que era molt interessant perquè ja havia fet la tesi doctoral amb gens *Hox* o gens *homeobox*, i aleshores ens vam encapritxar l'un de l'altre i vaig començar a treballar amb l'amfiox allà. Després vaig tornar, vaig guanyar una plaça de professor a Barcelona, i per un cantó vaig continuar una mica la feina de la tesi doctoral amb gens *homeobox* en diferents platihelminths, i vaig introduir el grup d'amfiox, a poc a poc, amb els primers estudiants.

**CH: Per què vas decidir dedicar-te a la investigació?**

**JGF:** Sempre m'havia agradat la investigació. Jo vaig tenir molts dubtes, si fer Matemàtiques, Biologia, Medicina..sobretot vaig dubtar molt entre Medicina i Biologia, i vaig decidir Biologia enlloc de Medicina perquè el què jo volia era fer investigació.

**CH: Quins són els orígens del teu grup de recerca?**

**JGF:** El meu grup de recerca va començar precisament després de la meva estada post-doctoral a Oxford; vaig guanyar una plaça de professor de Genètica aquí, al 1995, era molt jove, i vaig començar el meu grupet d'investigació. Vaig tenir un alumne que era un estudiant de doctorat compartit amb el meu ex-jefe, i treballava amb planàries, però la meva primera estudiant de doctorat va ser una estudiant que la vaig tenir a classe de Genètica, i quan va acabar la carrera va quedar-se al grup, juntament amb un investigador post-doctoral que venia de Cambridge. És el món al revés, aquest noi va fer la carrera a Oxford, va fer el doctorat a Cambridge i després va venir al meu laboratori de post-doc.

**CH: Tens algun criteri per escollir els membres del teu grup?**

**JGF:** Que tinguin passió. Passió per la recerca, passió per la investigació i que estiguin una mica bojós per entendre l'evolució i que tinguin idees rares, però sobretot que tinguin passió, és el que més demano. L'expedient és necessari per aconseguir la beca, però també hi ha casos en els quals el propi grup d'investigació té diners per pagar, i he tingut la sort que en alguns casos he tingut diners per pagar, aleshores he triat la persona que més passió m'ha mostrat i que més m'ha convençut de que estava apassionat pel què investigava. Les persones que volen venir a treballar al grup, primer estan una temporada de prova, evidentment, i depenent de si hi ha *feeling*, si hi ha bona connexió a nivell científic, doncs aleshores pot ser que sí que continuï o pot ser que no, evidentment no tinc diners per pagar a tothom, però alguns casos, en aquest moment tinc dues persones que sí que els he ajudat jo amb els seus projectes d'investigació. No he triat els que tenen millor expedient, sinó els que m'han convençut més que estaven apassionats per la recerca que fem.

**CH: A part de la investigació també et dediques a la docència. Són compatibles les dues coses?**

**JGF:** A part de la docència i la investigació, ara també estic fent gestió, perquè ara sóc Vicedegà de la Facultat. Puc amb tot perquè tinc un bon equip d'investigació, o sigui, la clau és l'equip. Un científic sol no serveix de res si no té un bon equip al voltant, una mica com l'època del Barça, "un equip són més de 11", si no tens un bon equip no tires endavant, i jo he tingut la sort de tenir un bon equip.

A mi m'agrada molt donar classes, i penso que a més és molt bo per a un investigador estar en contacte amb la gent jove, transmetre el coneixement, pensa que alguna de les classes que dono són la meva recerca, per tant penso que és una situació fantàstica poder explicar als meus alumnes el què he fet. Això m'enriqueix a mi personalment i alhora també enriqueix a la recerca del grup.

**CH: Quin és el teu dia a dia?**

**JGF:** El meu dia a dia..Bé, ara m'he de mirar l'agenda perquè amb això del Vicedeganat tinc reunions, comitès, comissions..Aleshores, depenent una miqueta de com tingui l'agenda de gestió. El primer que faig és encendre l'ordinador, llegir els *e-mails* que tinc, col·laborem amb molta gent de molts llocs del món i sempre estic permanentment enganxat al mail. També llegint articles, preparant classes, discutint amb els membres del meu grup, escrivint articles, demanant diners, demanant diners...(rialles). Els meus dies són bastant irregulars, hi ha dies

que puc estar fins molt tard, dies que puc estar poca estona, no tinc un horari fix. A veure, acostumo arribar aquí a les 9-9:30h del matí, i acostumo a marxar depèn de la feina que tingui, és molt variable.

**CH: Reps suficient finançament per fer les investigacions? Es nota la crisi?**

**JGF:** Tothom dirà que no, que no rebem suficients diners per a la investigació. Jo en aquest cas sóc una mica privilegiat perquè sí que tinc diners per investigar, almenys fins l'any que ve, després ja no ho sé. En època de davallada s'havien de pujar els pressupostos d'investigació un 30%, la qual cosa vol dir que no em puc queixar, ara no em puc queixar, d'aquí un any i mig que és quan se m'acaben tots els diners potser, però ara no.

**CH: Tens experiència a l'estranger? Col·labores o tens relació amb altres investigadors de fora?**

**JGF:** Sí, tinc experiència a l'estranger. Vaig estar a la meua estada post-doctoral a Oxford, sóc professor mèrit del *Merton College* d'Oxford, faig estades de recerca curtes a diferents llocs, a França, a Anglaterra, a Estats Units...I sobretot el nostre grup es caracteritza perquè col·laborem amb moltíssima gent, col·laborem amb molts grups, i penso que la ciència ha d'anar així perquè un grup no pot fer-ho tot, no és expert en tot i, per tant, el millor que pot fer és col·laborar. Nosaltres col·laborem amb gent d'Espanya, de diferents llocs, de Sevilla, de Múrcia, de Madrid..I amb altres grups de fora, d'Anglaterra, de França, del Japó, de Canadà..

**CH: T'agradaria tornar a marxar fora?**

**JGF:** No, per qüestions personals no marxaria fora, almenys ara. La recerca no és la única cosa a la vida, des del meu punt de vista, la meua vida és molt més que la recerca. A part que hauria de ser una combinació en la qual els altres aspectes que no són ciència, els vitals, i la ciència, estiguessin prou balancejats.

**CH: A quin lloc recomanaries marxar fora a algú que li agradi l'Evo-Devo?**

**JGF:** Aquest tema en concret a Oxford, de fet tinc una persona que va estudiar aquí i ara està a Oxford, i un noi que està fent el treball final de grau també allà. Després l'altre lloc que és molt bo és Nova York, perquè és allà on està el Sean Carroll, que és el número 1 mundial en aquest camp de l'Evo-Devo, ha escrit diversos llibres sobre l'Evo-Devo, i depèn del què vulguis estudiar doncs a Hawaii també hi ha un grup molt bo, però jo recomanaria Oxford i Nova York.

**CH: Quines finalitats o aplicacions tenen les investigacions que fas amb el teu grup?**

**JGF:** Aquesta és la pregunta típica que feu tots els periodistes, i amb això de les finalitats sempre pensem en aplicacions directes a la societat, i la ciència no funciona així. La ciència funciona, des del meu punt de vista, de fer moltes coses per incrementar el coneixement, i moltes vegades sense voler-ho aquestes investigacions donaran lloc a avanços realment importants des del punt de vista pràctic. En el nostre cas, no directament però quasi directament, els meus col·laboradors han patentat un producte per l'esterilitat humana, que augmenta la fertilitat, després n'hi ha un altre per millorar la memòria de les persones grans. També una època vam estar treballant amb uns gens que es diuen *ParaHox*, i vam descobrir que estaven implicats o que funcionaven a les cèl·lules  $\alpha$  i  $\beta$  pancreàtiques, i que s'unien al gen de la insulina, treballant amb amfiox. Això es va quedar aturat perquè no vaig veure que tingués cap rellevància o benefici. Tot això és recerca bàsica pura, és a dir, a mi el què

m'interessa és la pregunta, saber com evolucionen les coses, com funcionen les coses, i els resultats aquests són col·laterals.

**CH: Creus que la societat està plenament conscienciada amb els temes que treballes? Hi ha suficient ressò als mitjans de comunicació?**

**JGF:** En absolut. Perquè els periodistes l'únic que pensen és en el titular i en l'aplicació directa. Per exemple, una investigació en factors neurotròfics, bàsica, un periodista la tradueix en un "possible nova molècula per curar l'Alzheimer" que, a veure, podria ser al cap de 20 anys, o "han descobert com es van formar les extremitats, en el cas dels vertebrats, i això pot tenir aplicacions de cara a la regeneració de les extremitats". És a dir, jo ho entenc el periodista busca allò que és més atractiu des del punt de vista del titular.

**CH: Quin consideres el major èxit del teu grup de recerca fins ara?**

**JGF:** Potser el major èxit va ser confirmar que els vertebrats procedim de dues duplicacions genòmiques, fa 500 milions d'anys, és a dir, que els vertebrats som poliploids, tenim molts més gens que els que tenia el nostre ancestre. Això es va rumorejar als anys 70, després ho van proposar a l'any 1994, i es va demostrar totalment a l'any 2008. I això és la línia de text que quedarà per sempre, que els vertebrats som poliploids, en la qual jo, una miqueta, he participat. També el descobriment de que hi ha un complex de gens, que es diuen *ParaHox* que estan involucrats en la diabetis, que també és bastant important.

**CH: Està ben remunerat el teu treball com a investigador?**

**JGF:** (rialles) Evidentment que no, algú t'ha dit que sí? Pensa que nosaltres els professors d'Universitat cobrem pràcticament el mateix si ens dediquem a donar classes només, que si donem classes i investiguem. Depèn molt de l'àrea de recerca on et moguis, però en el meu cas, el tipus de recerca que faig jo, que és recerca bàsica, les empreses no vindran a buscar-me per treballar, per fer col·laboracions. Si potser algun dia patento alguna cosa que funcioni potser sí, em faré ric, però no és el meu objectiu (rialles).

**CH: Creus que els teus esforços que has fet fins ara s'han vist recompensats?**

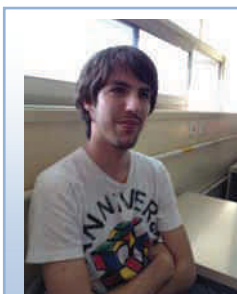
**JGF:** A nivell de la Universitat de Barcelona no, és a dir, la Universitat de Barcelona no dóna res perquè siguis més bon investigador o més dolent, no hi ha suport per part de la Universitat. Hi ha reconeixement per part de la Generalitat, d'organitzacions internacionals, però de la Universitat no. No et dóna més diners perquè investiguis, personal perquè investiguis, és una de les queixes que tenim els investigadors de la Universitat. Ara comencen a fer-nos una petita reducció a nivell d'hores de classe, els que investiguem més podem donar menys classes. Fora de la Universitat, els meus esforços s'han vist recompensats; tinc un parell de premis de la Generalitat, per exemple, que això em dóna orgull evidentment, vaig ser nominat una vegada al premi *Human Frontiers*, i l'orgull més gran és quan vas a un congrés i la gent sap qui ets, aquest és un dels meus reconeixements més grans que m'emporto.

**CH: T'agradaria donar algun missatge als lectors o estudiants que estiguin llegint aquest article i es vulguin dedicar al món de la investigació o de l'Evo-Devo?**

**JGF:** En general, qualsevol àrea d'investigació si realment els hi agrada que s'esforcin i, sobretot, que hi posin passió. Si no tenen passió per la investigació no els hi anirà bé, i si tenen passió és molt probable que els hi vagi bé. És el que els hi dic als meus alumnes i és el que et

dic a tu. Referent a l'Evo-Devo, és un camp que és nou i de fet la revista *Nature*, que és la millor del món, va dir que l'Evo-Devo era un dels deu reptes del segle XXI. És una ciència interdisciplinar, que barreja moltes coses, barreja l'evolució, el desenvolupament, la biologia molecular... S'estan publicant moltes coses en Evo-Devo, és a dir, s'estan descobrint coses bones, i s'estan publicant en revistes molt bones també. La relació entre l'evolució i el desenvolupament ja la va dir Darwin, el què passa és que l'Evo-Devo moderna que abarca la biologia molecular, es va fundar oficialment a l'any 1994, en un congrés que es va fer a Edimburg, on per primera vegada es va parlar de *Developmental Evolution* o Evo-Devo.

## ENTREVISTA A CARLOS HERRERA



*Carlos Herrera és llicenciat en Biotecnologia per la Universitat de Vic i es troba fent el Màster de Genètica i Genòmica, especialitat en Desenvolupament, a la Universitat de Barcelona. Actualment està fent les pràctiques del Màster al grup de recerca del Dr. Jordi Garcia-Fernàndez.*

Universitat de Barcelona, 29 de maig del 2013.

### **Cristina Higes Castillo: Per què vas decidir estudiar Biotecnologia?**

**Carlos Herrera:** Realment em vaig decidir per Biotecnologia perquè durant el Batxillerat tenia molt clar que volia fer Biologia, i estava convençudíssim de Biologia, però després al final se'm va quedar una mica petit. M'agradava molt Biologia i també m'agradava Física; encara que vaig fer el Batxillerat de Ciències de la Salut com a optativa vaig agafar Física, i la veritat és que m'encantava, però la vaig descartar perquè era massa dur. Després vaig fer la carrera de Biotecnologia que són 4 anys. La llicenciatura de Biotecnologia a la Universitat de Vic, era de 4 anys i no de 5 anys, perquè creien que estava ja preparada per al Pla Bolonya, després la van canviar sencera una altra vegada, però bé, a nosaltres ens van treure un any i ens van deixar quatre.

### **CHC: I quan vas acabar tenies clar què volies fer?**

**CH:** Doncs tenia clar que volia fer un Màster, i un Màster que m'orientés cap a la investigació. Això és una cosa que he tingut, des que vaig començar a estudiar Biotecnologia, bastant clar. Si em fiqués a treballar a una empresa, seria en l'àrea d'investigació i desenvolupament.

### **CHC: Com vas decidir estudiar Evo-Devo?**

**CH:** A l'estiu de 3r a 4t de carrera, vaig anar a fer pràctiques a un laboratori a la Universitat Pompeu Fabra, al Departament de Desenvolupament i em van agafar per fer pràctiques 2 mesos. El primer mes vaig estar fent coses d'enginyeria genètica, i el segon mes sí que va ser una mica més de desenvolupament i el poc què vaig veure em va encantar. I em va encantar moltíssim, em va fascinar.



**CHC: I després com vas arribar fins aquest grup de recerca?**

**CH:** Bé, primer li vaig preguntar al cap del laboratori on vaig estar fent les pràctiques si podia; o sigui, la meua idea original era quedar-me un any, no un any sabàtic però sí un any per reflexionar quin Màster fer, en què especialitzar-me; i llavors li vaig preguntar al cap del grup on vaig estar si tenia un forat per a mi al grup o què em recomanava fer, i em va dir que "no, que al final aquí et quedaràs aturat, i aquí és seguir, seguir, seguir, o sigui, ho podries fer si tinguessis molt bones notes", però no les tenia (rialles), llavors em va dir que si no estava segur del què volia, però m'agradava el desenvolupament, que agafés una Màster de poc temps teòric i molt temps pràctic i així, almenys, agafaria fluïdesa al laboratori. Després si no és el què m'agradava podia fer un altre Màster, tindria més camp d'acció, i em va recomanar aquest Màster de Genètica i Genòmica a la UB. M'ho va dir i de fet va ser l'únic Màster que vaig fer la sol·licitud després.

**CHC: T'han donat beques o ajuts per a estudiar el Màster?**

**CH:** Bé, tinc la beca de mobilitat, ja que jo no sóc de Catalunya, sóc de Navarra, llavors per la distància em donen la beca. En principi la beca de matrícula sí que te la dona l'Estat, no té uns barems de renda molt alts per a la beca de matrícula. Ja per mobilitat, material o aquestes coses, sí.

**CHC: Per què vas decidir dedicar-te a la recerca?**

**CH:** És una cosa que sempre m'ha cridat l'atenció. La veritat és que m'agrada, al final tu fas una sèrie d'experiments, et donen unes dades, tu has d'interpretar aquestes dades, tu has de construir una hipòtesi basant-te en aquestes dades, i després buscar maneres de comprovar si és correcta o si no és correcta, llavors això, no sé, sempre m'ha cridat l'atenció i és el que més m'agrada fer. M'agrada el Desenvolupament, i quan vam fer l'assignatura d'Evo-Devo al Màster doncs també em va encantar, el veure com tot el clúster *Hox* es va mantenint, com després de la doble duplicació genòmica es va subfuncionalitzant, com va tot...Em va encantar.

**CHC: T'agradaria marxar a estudiar fora?**

**CH:** Sí, agrada-me clar que m'agradaria. Però també és una mica, no és que sigui difícil és que és molt competitiu, o sigui, hi ha molta gent que vol marxar fora, de molts llocs, llavors al final necessites o tenir molt bona nota o tenir molt bones referències, una de dos. Per exemple, jo de la UVic bones referències tampoc és que pugui treure; d'aquí potser sí que podré treure més, clar depèn de si faig bé la feina al laboratori i si al Jordi li agrada, per suposat (rialles), però intento donar sempre el millor de mi, òbviament.

**CHC: Quin és el teu dia a dia? Tens un horari programat o et van sorgint cada dia coses diferents?**

**CH:** El meu dia a dia? Més aviat em van sorgint cada dia coses diferents, perquè pel que fa als horaris sóc una mica desastre. No tinc cap horari establert, això t'ho organitzes tu, al final tu tens uns experiments què fer i ets tu el que els està fent, llavors si els vas deixant de banda més trigaràs i menys coses podràs fer. El Màster s'ha de presentar al Setembre, sempre tens *deadlines* en investigació, en estudis o en tot, mai estaràs sense tenir cap pressió.

Jo estic vivint a Vic, no aquí a Barcelona, llavors he de pujar i baixar cada dia, i clar això implica pujar i baixar en cotxe, o pujar i baixar amb autobús. I jo em llevo per agafar l'autobús de les 10h, però si el perdo he d'agafar el de les 10:30h i ja vaig arribant més tard. Jo el que intento sempre és, tret que hagi de venir d'hora i matinar per fer alguna cosa en concret, venir cap a les 11h del matí al laboratori. I quan acabo, això és el que més depèn de tot, de quan acabes els experiments que t'has programat per al dia. El més tard que m'he quedat aquí és fins a les 6h del matí (rialles), fent *in situ* en peixos zebra.

**CHC: Professionalment, creus que valoren la teva feina i tenen en compte la teva opinió dins del grup? Et guien més al ser el més jove?**

**CH:** Ells em guien, per suposat, al final tenen molta més experiència que jo. Però també crec que la feina que faig òbviament la valoren, i també es fien de mi, ja que quan no estan ells al laboratori i jo sí doncs em deixen fer coses, i si no fiessin que ho faig bé doncs ja s'esperarien a fer-ho ells. Amb el grup jo estic encantadíssim, espero que ells amb mi també (rialles).

**CHC: Ha anat canviant molt la teva feina al laboratori des que vas començar?**

**CH:** Porto al laboratori des de Gener, al principi sí que preguntava tota l'estona, no sabia on estaven les coses o com fer-les. Ara sí que noto que, tot i que segueixo preguntant moltes coses perquè si no les he fet mai doncs òbviament no sé on són o com es fan, sóc una mica més autosuficient.

**CHC: Com veus o t'agradaria que fos el teu futur?**

**CH:** Doncs a veure, el meu futur ideal seria que pogués quedar-me aquí, i també, per posar futur ideal, doncs m'encantaria quedar-me aquí a fer el *PhD*. I també fer alguna mobilitat o alguna cosa a l'estranger, però enfocat a la investigació, i si pogués ser sobre l'Evo-Devo millor que millor.

**CHC: Donaries algun missatge als estudiants que es vulguin dedicar a la investigació?**

**CH:** La manera de saber si encaixaràs o t'agradarà la investigació és provar en algun grup. De fet tinc l'experiència d'un amic que també volia dedicar-se a la investigació com jo, ha fet el seu Màster i ha estat fent les seves pràctiques a un laboratori, i ara té claríssim que no, que no vol saber res de la investigació, que el què ell vol és ser comercial, perquè per a ell la investigació li treu massa temps a la seva vida. Al final realment per molt que ho separis, encara que te'n vagis a casa, moltes vegades et quedes pensant: em sortirà això? Ho hauré fet bé? Tot és un conjunt, si t'agrada el què fas, no es pot separar.