# ¿Son o no son boxeadores?: Ratones *knockout*.

ILCE VALERIA ROMÁN FERNÁNDEZ
Y DIEGO ALEXIS JARA MARTÍNEZ

¿Has escuchado hablar de los ratones “knockout”? Contrario a lo que podría parecer, estos no precisamente enfrentan a sus oponentes en un ring.

Aunque su nombre proviene de la palabra en inglés “knockout”, traducida como noquear o dejar fuera de combate, estos ratones no utilizan guantes, más bien son utilizados como modelos experimentales para estudiar el papel de nuestros genes. Su función es simple: son ratones modificados en los que se "desactiva" o “noquea” un gen, lo que permite a los investigadores analizar los efectos de su ausencia, y así entender su función en el organismo.

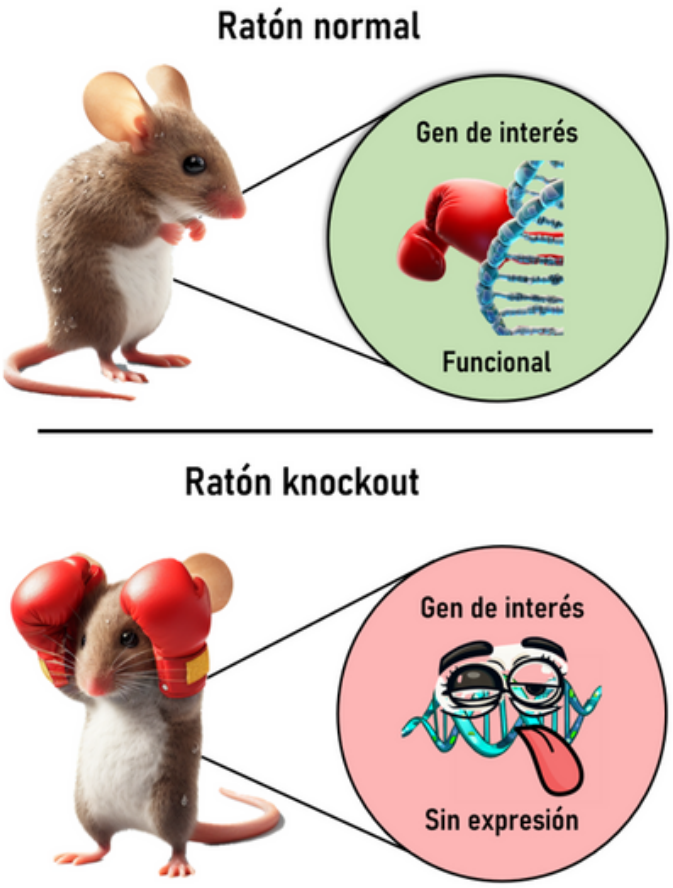
## El origen de los ratones knockout

Todo comenzó con el investigador Martin Evans, quien aisló y cultivó células madre embrionarias de ratón en la década de 1980. Posteriormente, en el año 1989, Mario Capecchi inicia su trabajo “Alterando el genoma mediante recombinación homóloga”, el cual va de la mano con la investigación de Oliver Smithies, quien publicó un trabajo sobre la introducción de modificaciones genéticas específicas en embriones de ratón en el 2001. Todos estos trabajos contribuyeron al desarrollo de la técnica de recombinación homóloga.

La recombinación homóloga es un método preciso y controlado para alterar el ADN de un organismo. Este proceso requiere dos secuencias de ADN que sean muy parecidas o idénticas, conocidas como secuencias homólogas. El primer paso es crear una versión modificada de un gen humano específico que se desee cambiar. Luego, buscar una región en el ADN del ratón que sea homóloga a este gen modificado. Al introducir el ADN modificado en esta región específica, se logra el cambio deseado en el genoma del ratón. Es como si estuviéramos modificando una página de un manual de instrucciones, de tal manera que, en lugar de construir una silla completa, las instrucciones nos lleven a ensamblar sólo las patas.

Avanzando en esta historia, en 2005 Mario Capecchi publica un segundo ensayo titulado “Selección de genes: análisis funcional del genoma en mamíferos para el siglo XXI”. En este trabajo describe la técnica llamada “gene targeting”, que permite realizar cambios en la secuencia de ADN de células madre y luego introducir estas células modificadas en embriones de ratón. Usando esta metodología, el investigador puede decidir que los genes modificados pierdan su función para siempre, hacer que se expresen durante una etapa específica la vida del ratón (como el periodo embrionario), o incluso lograr que se expresen solo en un tipo de célula, órgano o tejido.

Gracias a estos innovadores aportes, que permitieron a los investigadores explorar los efectos de la ausencia de un gen mediante el uso de ratones 'knockout', Capecchi, Evans y Smithies fueron galardonados con el Premio Nobel de Fisiología o Medicina en 2007. Este reconocimiento marcó el comienzo de una revolución en la investigación científica a nivel mundial, abriendo nuevas vías para el estudio profundo de nuestros genes y su impacto en la salud y la enfermedad.




**En un ratón normal, el gen de interés está activo y puede cumplir sus funciones. Por su parte, en un ratón knockout, este gen se desactiva o "noquea", lo que resulta en la pérdida de su función.**

## Los ratones knockout y sus contribuciones en la ciencia

Entre los hallazgos clave obtenidos mediante el uso de ratones knockout está el descubrimiento del gen supresor de tumores p53, y cómo sus mutaciones se relacionan con el desarrollo de distintos tipos de cáncer, incluidos los de pulmón, colorrectal, mama, ovario, páncreas y próstata. Igualmente, gracias a estos modelos de ratón, se identificaron de los genes BRCA1 y BRCA2, que impiden la aparición de tumores. Se descubrió que la pérdida de función de estos genes incrementa el riesgo de presentar cáncer de mama y ovario en mujeres.

En el campo de la inmunología, su utilización cambió completamente nuestras ideas previas sobre las interacciones entre los componentes del sistema inmunológico. Su aplicación ha contribuido a que aclaremos cada vez más las funciones de cada célula o molécula que participa en estos procesos.

Un primer aporte significativo se logró en 1990, cuando se identificó la función del MHC (Complejo Principal de Histocompatibilidad, por sus siglas en inglés). El MHC ayuda a que las células del sistema inmune, específicamente los linfocitos T, reconozcan fragmentos de bacterias o virus. Además, tan solo 2 años después, se describió la primera mutación en una molécula en linfocitos utilizando ratones knockout: la beta-2 microglobulina, que forma parte de un tipo de MHC esencial para reconocer y destruir células anormales o infectadas por virus. Este descubrimiento demostró que existen factores cruciales para el desarrollo y activación de linfocitos T, y que cambios importantes en las moléculas que los componen pueden alterar por completo su función.

De igual manera, su uso estableció la importancia del gen FAS, que es fundamental en procesos de muerte celular. Este gen participa en la eliminación de células dañadas y controla la respuesta de células del sistema inmunológico. Gracias a ello entendemos su relevancia en enfermedades autoinmunes, donde el sistema inmune ataca al propio cuerpo, y en el cáncer.

Hoy en día, estos ratones se utilizan para estudiar cómo el sistema inmune interactúa con una gran variedad de enfermedades humanas, incluyendo la diabetes, enfermedades del corazón, o la enfermedad de Alzheimer. También facilitan la identificación de nuevos blancos terapéuticos. En años recientes, se han utilizado para investigar los efectos de factores ambientales, como la contaminación y la dieta, sobre la expresión de genes durante el desarrollo embrionario. Un ejemplo es el estudio del gen AIF1 (Factor Inflamatorio 1 del Aloinjerto), que ha

demostrado cómo la contaminación atmosférica pueden afectar el desarrollo cerebral y los procesos para la obtención de energía para llevar a cabo funciones vitales, en crías de ratones expuestos, lo cual abre las puertas a nuevas áreas de investigación.

## El futuro de los ratones knockout

Aunque los ratones knockout parecen ser unos campeones invictos hasta el momento, es importante recordar que no todo lo que brilla es oro. Tradicionalmente, estos modelos se crean mediante la tecnología de recombinación homóloga. El desafío es que las células madre modificadas deben insertarse en embriones de ratón normales y luego implantarse en hembras para desarrollar crías con la mutación esperada. Sin embargo, no todas las crías nacen con el gen "noqueado". Este proceso es laborioso, costoso y limitado a genes específicos.

Una alternativa moderna para crearlos es el uso del sistema CRISPR-Cas9, también conocido como "tijeras genéticas". Identificado por primera vez en bacterias, el sistema CRISPR (Repeticiones Palindrómicas Cortas Agrupadas y Regularmente Espaciadas) utilizan una enzima, Cas9, junto con un fragmento de ARN para cortar el ADN en un lugar específico del genoma. Cuando el ADN se corta, los intentos naturales de reparación celular pueden introducir mutaciones que desactivan el gen, eliminando su función. Si nuestro ADN es como un libro de instrucciones con las características de un ser vivo, CRISPR-Cas9 sería un corrector automático para los errores en nuestro genoma. Además, el que no dependa de células madre lo hace un proceso más sencillo, preciso y económico que el método tradicional.

Es importante señalar que la creación de ratones knockout plantea cuestiones éticas en la investigación biomédica. Aunque las regulaciones varían según el país y la institución generalmente incluyen pautas éticas y protocolos de bienestar animal. En muchos países, la investigación con animales requiere la aprobación de comités de ética, que se basan en regulaciones nacionales e internacionales y evalúan la justificación científica de la investigación, así como el cuidado y el tratamiento de los animales.

Aunque los ratones knockout no están diseñados para pelear en un ring, sí logran llevarse la victoria como una de las herramientas esenciales para los científicos a nivel mundial, permitiéndoles eliminar la función de genes específicos, y, en consecuencia, comprender mejor su función.

## REFERENCIAS

1. Capecchi, M. Nat. Rev. Genet. 6(6): 507–512 (2005). DOI:10.1038/nrg1619
2. Cong, L., et al. Science. 339(6121): 819–823 (2013). DOI:10.1126/science.1231143
3. Evans, M., et al. Nature. 292(5819):154–156 (1981). DOI:10.1038/292154a0
4. Koller, B., et al. Science. 248(4960): 1227–1230 (1990). DOI: 10.1126/science.2112266
5. Smithies, O. Nat. Med. 7(10): 1083–1086 (2001). DOI: 10.1038/nm1001-1083

## LAS MENTES CREATIVAS

**Ilce Valeria Román Fernández**
Universidad de Guadalajara.
Guadalajara, México.

**Diego Alexis Jara Martínez**
Universidad de Guadalajara.
Guadalajara, México.
Contacto: diego.jara@alumnos.udg.mx