

Tu tiempo de ser Biólogo Molecular en Primera Persona

* Por Mariano Alló y Paola Bertucci

Hemos recorrido juntos un largo camino... viajamos al pasado muchas veces y también lo hemos hecho hacia el futuro. Ahora estamos, verdaderamente, cerca de llegar al final de este libro. Serán cada uno de ustedes los encargados de escribir las últimas páginas... Por unos días deberán ponerse en la piel de un investigador, de un biólogo molecular, se enfrentarán a problemas reales, se harán preguntas, elaborarán hipótesis y las pondrán a prueba. Finalmente discutirán con sus compañeros, a esta hora colegas, sobre las implicancias de sus respectivos trabajos. Defenderán su hipótesis y aprenderán de las de los demás al igual que un investigador lo hace en un congreso. Esperamos puedan disfrutarlo.

El capítulo, en realidad, va a estar dividido en varias actividades diferentes.

En primer lugar, el curso se dividirá en varios grupos para que, cada uno, pueda localizarse en la resolución de una situación problemática expuesta.

El esquema de trabajo de cada grupo será el siguiente:

- 1) Deberán elegir un gen de la lista que se adjunta en el apéndice ("Lista de Genes") de este capítulo. Una vez elegido el gen tendrán que bajar y analizar la secuencia del mismo (podrán bajarla desde la página del INET www.inet.edu.ar) utilizando un procesador de texto. Separando la secuencia en codones (de a tres letras desde la primera) y, utilizando, la tabla del código genético (adjunta también en el apéndice) deberán traducir todo el gen a su secuencia de aminoácidos. Hecho esto, buscarán los sitios de terminación o "STOP" en dicha secuencia.
- 2) Los miembros del grupo investigarán en internet sobre el gen elegido y elaborarán un informe con toda la información que hayan podido adquirir. Él mismo debe especificarse la función del gen en humanos (al menos la que, actualmente, se cree que tiene), la localización (en qué cromosoma está), el número de aminoácidos de la proteína (que podrán sacar de los datos de la secuencia hasta la aparición del primer sitio de terminación o STOP).
- 3) La hora de sumarte al club de los mutantes ha llegado. Cada grupo deberá modificar la secuencia del gen (mutarlo, cambiar sus letras, agregar o quitar algunas según las indicaciones) de manera que se alterará su constitución aminoacídica (la secuencia de aminoácidos) lo que, probablemente, alterará la estructura y función de la proteína.

Grupo A. Deberán cambiar una o dos letras consecutivas al inicio del gen de manera que, una vez que éste sea traducido, aparezca un codón de terminación entre los 5 y 10 primeros aminoácidos.

Grupo B. Deberán cambiar una o dos letras consecutivas al final del gen de manera que, una vez que éste sea traducido, aparezca un codón de terminación entre los 5 y 10 aminoácidos anteriores al codón de terminación original.

Grupo C. Deberán ingresar una secuencia de nucleótidos (letras), elegida por los alumnos, de manera que se duplique la cantidad de aminoácidos antes del codón de terminación. La secuencia de aminoácidos agregada debe ser elegida de manera que no sea la repetición de la primera mitad.

4) Análisis de los mutantes.

Grupo A. La aparición de un codón de terminación prematuro, dentro de los primeros 10 aminoácidos, generará la pérdida de función de esa proteína. El gen se transcribirá normalmente, pero, cuando sea traducido producirá un pequeño péptido (secuencia de aminoácidos unidos) que nunca logrará cumplir con la función de la proteína original. Sin embargo, recordemos que siempre contamos con dos cromosomas (uno paterno y uno materno) y cada cromosoma tiene una copia de dicho gen (a excepción de los cromosomas sexuales X e Y). Si el gen mutado está en un cromosoma, pero en el otro existe una versión normal del gen, entonces esto no debería generar un gran problema para el organismo ya que tendríamos la proteína funcional gracias al alelo “bueno” del gen. Pero... ¿qué ocurriría si los dos alelos fueran mutantes? La proteína dejaría, “literalmente”, de existir en esa persona y, de acuerdo a su importancia, en el organismo podrán aparecer enfermedades con diferentes niveles de gravedad.

El siguiente informe que el grupo deberá elaborar constará de:

- I. Una sección de análisis de secuencia, donde mostrarán los datos de la secuencia de ADN original del gen y su traducción completa. Además, marcarán la aparición de codones de terminación.

Mostrarán a su vez, la secuencia de ADN del gen mutante, con su traducción trunca. Harán un esquema para explicar la diferencia de aminoácidos en cada caso.

- II. De acuerdo al tipo de mutación generada, podemos decir que el alelo va a convertirse en “recesivo”. Supongamos que un hombre llamado Daniel posee un alelo de este gen normal y uno mutante, se casa y tiene hijos con una mujer (Claudia) que también posee un alelo normal y uno mutante. Deberás realizar un esquema gráfico que muestre todas las posibles combinaciones de los alelos del gen en los hijos de este matrimonio y especular qué tipo de enfermedades portarían (en las combinaciones apropiadas) de acuerdo a lo que has aprendido sobre este gen. Es decir, si el gen es importante para el desarrollo de los receptores de luz de la retina, entonces, podrías especular que la falta parcial de esta proteína podría generar, en una persona portadora de un solo alelo mutante (el otro sería normal), dificultades en la vista, sin embargo, en una persona portadora de los dos alelos mutantes le causaría ceguera.

Es importante remarcar que el objetivo de esta parte del informe no es que describan a la enfermedad real generada por la mutación de dicho gen. Sino y, muy por el contrario, lograr que los alumnos especulen, y propongan hipótesis respecto a cómo podrían generarse a partir del conocimiento previo de la actividad del gen.

- III. Por último, los alumnos deberán imaginar una posible herramienta molecular para resolver el problema y curar la enfermedad. En el apéndice se dejarán tres estrategias posibles para el tratamiento de estas enfermedades de origen genético

(“Herramientas moleculares de tratamiento”). Deberán optar por una de ellas y elaborar un informe describiendo cuál ha sido la estrategia elegida. Explicando por qué la han seleccionado en detrimento de las restantes. Finalmente, deberán imaginar un escenario de fase de prueba de esa herramienta en humanos y realizar un gráfico de “torta” mostrando los porcentajes de mejoría en las personas tratadas durante X tiempo con la herramienta elegida. El tiempo del tratamiento también tendrá que ser elegido por los alumnos de acuerdo a algún criterio que ellos mismo tendrán que explicar.

Grupo B. La aparición de un codón de terminación prematuro, entre los 5 y 10 aminoácidos finales de la proteína, generará (al menos en nuestro ejemplo hipotético) una proteína muy parecida a la normal, pero incapaz de disparar la función de la proteína original. Por lo tanto, actuará en forma negativa, ya que competirá con la proteína normal (serán casi idénticas) sólo que la mutante no hará nada. Por ejemplo, en caso de una proteína de membrana (un receptor) a la cual se une una determinada molécula “A” en respuesta a un estímulo. Cuando se encuentra la proteína normal ubicada en la membrana, luego de que se le une la molécula “A”, disparará toda una serie de eventos en el interior de la célula en respuesta al estímulo inicial. Pero cuando se encuentre la proteína mutante en la membrana, la unión de la molécula “A” no iniciará ninguna respuesta. Entonces, en un individuo que posea los dos alelos de este gen, vamos a encontrar las dos proteínas en la membrana y por más que existan proteínas normales, las proteínas mutantes competirán por la unión de la molécula “A” opacando su función, inhibiéndolas de alguna manera. Este fenómeno es importante porque, muchas veces, la presencia de un alelo normal no es suficiente para que no se produzca una enfermedad, ya que el alelo mutante lo enmascara y actúa en forma “dominante” sobre él. A veces suele llamarse a este tipo de dominancia “dominante negativo”.

El siguiente informe que el grupo deberá elaborar constará de:

I) Una sección de análisis de secuencia, donde mostrarán los datos de la secuencia de ADN original del gen y su traducción completa. Además marcarán la aparición de codones de terminación.

Mostrarán, a su vez, la secuencia de ADN del gen mutante, con su traducción trunca. Harán un esquema para explicar la diferencia de aminoácidos en cada caso.

II) De acuerdo al tipo de mutación generada, podemos decir que el alelo va a convertirse en “dominante negativo”. Supongamos que un hombre llamado Jorge posee un alelo de este gen normal y uno mutante, se casa y tiene hijos con una mujer (Cristina) que, también, posee un alelo normal y uno mutante. Deberás realizar un esquema gráfico que muestre todas las posibles combinaciones de los alelos del gen en los hijos de este matrimonio y especular qué tipo de enfermedades portarían (en las combinaciones apropiadas) de acuerdo a lo que has aprendido sobre este gen.

Es importante remarcar que el objetivo de esta parte del informe no es que describan a la enfermedad real generada por la mutación de dicho gen. Sino, y muy por el contrario lograr que los alumnos especulen y propongan hipótesis respecto a cómo podrían generarse a partir del conocimiento previo de la actividad del gen.

III) Por último, los alumnos deberán imaginar una posible herramienta molecular para resolver el problema y curar la enfermedad. En el apéndice se dejarán tres

estrategias posibles para el tratamiento de estas enfermedades de origen genético (“Herramientas moleculares de tratamiento”). Deberán optar por una de ellas y elaborar un informe describiendo cuál ha sido la estrategia elegida. Explicando por qué la han seleccionado en detrimento de las restantes. Finalmente, deberán imaginar un escenario de fase de prueba de esa herramienta en humanos y realizar un gráfico de “torta” mostrando los porcentajes de mejoría en las personas tratadas durante X tiempo con la herramienta elegida. El tiempo del tratamiento también tendrá que ser elegido por los alumnos de acuerdo a algún criterio que ellos mismos, tendrán que explicar.

Grupo C. La inserción de una secuencia de nucleótidos (letras) duplicando la cantidad de aminoácidos antes del codón de terminación, generará (en nuestro caso hipotético) una proteína completamente nueva, además de más grande. Esta proteína tendrá la función de la proteína original, sumada a la aparición de una nueva función producto de la inserción. Los alumnos deberán suponer que la nueva función puede ser tanto positiva como negativa para el organismo portador. Para ello deberán imaginar, dos escenarios y proponer dos nuevas funciones que puedan asociarse a la previa, una de carácter positivo para el organismo y la otra negativa.

El siguiente informe que el grupo deberá elaborar constará de:

I) Una sección de análisis de secuencia, donde mostrarán los datos de la secuencia de ADN original del gen y su traducción completa. Además, resaltarán la secuencia insertada y marcarán la aparición de codones de terminación. Es importante que no aparezcan codones de terminación en la secuencia ingresada para respetar el paradigma propuesto.

Harán un esquema para explicar la diferencia de aminoácidos en cada caso.

II) De acuerdo al tipo de mutación generada, podemos decir que el alelo va a convertirse en “dominante”. Supongamos que un hombre llamado Ezequiel posee un alelo de este gen normal y uno mutante, se casa y tiene hijos con una mujer (Grisel) que también posee un alelo normal y uno mutante. Deberás realizar un esquema gráfico que muestre todas las posibles combinaciones de los alelos del gen en los hijos de este matrimonio y especular qué tipo de enfermedades portarían (en las combinaciones apropiadas) de acuerdo a lo que has aprendido sobre este gen. Y qué beneficios aportarían en el caso de que la inserción fuese “positiva”.

Es importante remarcar que el objetivo de esta parte del informe no es que describan a la enfermedad real generada por la mutación de dicho gen, sino y, muy por el contrario, lograr que los alumnos especulen, y propongan hipótesis respecto a cómo podrían generarse a partir del conocimiento previo de la actividad del gen.

III) Por último, tomando el ejemplo en el cual la inserción fuera negativa, los alumnos deberán imaginar una posible herramienta molecular para resolver el problema y curar la enfermedad. En el apéndice se dejarán tres estrategias posibles para el tratamiento de estas enfermedades de origen genético (“Herramientas moleculares de tratamiento”). Deberán optar por una de ellas y elaborar un informe describiendo cuál ha sido la estrategia elegida. Explicando por qué la han seleccionado en detrimento de las restantes. Finalmente, deberán imaginar un escenario de fase de prueba de esa herramienta en humanos y realizar un gráfico de “torta” mostrando los porcentajes de mejoría en las personas tratadas durante X tiempo con la herramienta elegida. El tiempo del tratamiento también tendrá que ser elegido por los alumnos de acuerdo a algún criterio que ellos mismo tendrán que explicar.

- 5) La última tarea del grupo será elaborar un póster de una dimensión mayor a 1,10 cm de ancho x 1,50 cm de alto, al cual lo dividirán en las siguientes áreas:

Título: máximo 10 palabras.

Autores: el nombre y apellido de los miembros del grupo.

Introducción: breve explicación y descripción del gen elegido.

Resultados:

Parte 1. Esquema del gen original y el mutante con las secuencias de ADN y de aminoácido (en el código de una letra, por ejemplo A=Alanina, la tabla se encuentra en el apéndice del capítulo).

Parte 2. Explicación de la enfermedad generada en pacientes portadores de uno o dos alelos mutantes.

Parte 3. Estrategia de tratamiento. Breve descripción de la misma. Deberán colocar el gráfico de “torta” con los resultados hipotetizados del tratamiento en pacientes.

Discusión: un breve resumen de todo el trabajo y cuál ha sido el aporte principal para la formación de los alumnos según su propia opinión.

Bibliografía: detalle de la bibliografía utilizada durante el trabajo.

- 6) Se propone como actividad final que todos los grupos compartan su aprendizaje y el nuevo conocimiento adquirido de manera similar a como lo hacen los científicos en los congresos. En una fecha previamente estipulada, cada grupo colgará su póster. Cada miembro del grupo deberá explicar su póster al menos una vez a un compañero de otro grupo, y a su vez deberá observar, preguntar y aprender sobre los restantes póster. De esta manera, todos habrán defendido sus propias teorías y habrán escuchado y discutido las de los otros grupos. Al final de ese encuentro el docente realizará una pequeña evaluación cruzada, donde a cada alumno se le harán preguntas generales sobre los ejemplos y las problemáticas de algún otro grupo y sobre cómo la resolvieron.