

Comprender la célula, el grial de este nuevo milenio

En 1986, el descubrimiento del gen de la distrofina anunciaba una nueva era. Y, en efecto, los años 90 del siglo pasado conocieron el auge de las investigaciones sobre el genoma humano que permitieron su desciframiento completo en 2003-04. Hoy en día, esos conocimientos se traducen en la puesta en marcha de numerosos ensayos terapéuticos en seres humanos. Pero, como sucede muchas veces en la ciencia, esos descubrimientos también pusieron de manifiesto sus propios límites.

De hecho, el desarrollo de terapias para las enfermedades genéticas no puede apoyarse sólo en el conocimiento del genoma. Los investigadores deben ir «más allá del gen», es decir, considerar la célula en su conjunto con todas las entidades que operan en ella: las proteínas capaces de influir en el ADN, de interactuar entre ellas, los ARN que perturban a otros o que son sensibles a diferentes señales... Una realidad compleja pero fuente de ideas terapéuticas.

Informe realizado por Françoise Dupuy-Maury para la AFM – Revista *VLM* n° 121. Publicación en Internet: abril de 2006.

Documentos traducidos del original de la AFM – Association Française contre les Myopathies, disponible en http://www.afm-france.org/ewb_pages/d/dossier_thematique_14399.php#
Traducción promovida para la Federación ASEM www.asem-esp.org por ASEM Galicia www.asemgalicia.com. Traductoras Dña Tamara Varela Vila y Dña Elena Sánchez Trigo (Universidade de Vigo 2007). Revisión médica: Dra. Carmen Navarro (Hospital do Meixoeiro de Vigo) ISBN 978-84-690-9257-6

p. 2 Ir más allá del gen

Los investigadores se enfrentan hoy a una multiplicidad de fenómenos, ciertamente complejos, pero que son también blancos terapéuticos potenciales.

p. 6 Ejemplos de alteraciones del funcionamiento celular

En el medio de la célula, del gen a la proteína (esquema).

p. 8 Buscando interacciones entre las proteínas de las células musculares

Gracias al trabajo de Généthon y de la compañía Hybrigenics, ciertas células musculares deberían tener pronto una parte de su «carné de identidad» proteico. Ese programa, dirigido por Isabelle Richard, de Généthon, está financiado por la AFM (Asociación Francesa contra las Miopatías)

p.9 Décryphon: compartir las tareas para ir más rápido

Con el fin de acelerar los cálculos necesarios para la comprensión del funcionamiento de las proteínas, la AFM (Asociación Francesa contra las Miopatías), en colaboración con IBM y el CNRS (Centro Nacional de Investigación Científica de Francia), ha lanzado una nueva fase de Décryphon, un programa que se apoya en el principio del cálculo compartido entre varios ordenadores.

Informe: Comprender la célula

Ir más allá del gen

Los investigadores se enfrentan hoy a una multiplicidad de fenómenos, ciertamente complejos, pero que son también blancos terapéuticos potenciales.

Hasta el inicio de los años 90 del siglo pasado, el gen era el centro de atención porque se había hecho esperar. Prevalecía el dogma «un gen, una proteína, una enfermedad». Pero, desde hace una década, los científicos comienzan a descubrir genes que codifican varias proteínas, así como interacciones entre proteínas, entre genes, entre proteínas y ADN, entre ARN, etc.

De hecho, la comprensión de las enfermedades genéticas tiene algo de rompecabezas. Por supuesto, los genes siguen siendo el punto de partida de la historia de las enfermedades genéticas. La identificación de las mutaciones sigue siendo, por lo tanto, importante, incluso más imprescindible que nunca si pensamos en los «tratamientos a la carta», es decir, en terapias dirigidas a ciertas anomalías. Sin embargo, «ahora está claro que introducir un gen sano para reemplazar uno enfermo no es la única solución aplicable a todas las patologías genéticas», subraya Laurence Tiennot- Herment, presidente de la AFM (Asociación Francesa contra las Miopatías). En muchas de ellas es necesario ir «más allá del gen», es decir, no sólo todas las etapas existentes hasta llegar a la proteína, sino también los vínculos que hay entre ellas porque «en las células [y más ampliamente en los tejidos y en los órganos, N. de la R.] son las proteínas las que intervienen», precisa Luc Selig, cofundador de la compañía de biotecnología Hybrigenics. Ahora bien, aunque los genes sean siempre los mismos en todas las células de un individuo, desde que nace hasta que muere, en el momento en el que tienen que expresarse, las cosas se complican especialmente. En efecto, las células tienen funciones concretas según el tejido en el que se encuentren. Por lo tanto, necesitan ciertas proteínas y no otras, proteínas que dependen también de una maquinaria celular muy compleja y sensible a los genes que presentan anomalías, a los ARN resultantes de genes mutados, a otras proteínas, etc.

MODIFICACIONES EPIGENÉTICAS

Entre los fenómenos que causan disfunciones celulares, se encuentran las «modificaciones epigenéticas». Este término algo oscuro significa que el ADN puede verse alterado por su entorno inmediato, es decir, por modificaciones situadas en otros genes o interacciones con proteínas.

Cuando todo va bien, en función de las necesidades de la célula, el ADN se expresa a nivel genético codificando la proteína necesaria; el resto del ADN continúa compacto para evitar que los otros genes que encierra se expresen.

No obstante, puede suceder que el ADN se separe de forma inesperada y provoque la expresión de genes no deseados. Hablamos entonces de modificaciones epigenéticas. Se sospecha que este fenómeno está implicado en la distrofia facioescapulohumeral (FSH).

Efectivamente, esta patología está relacionada con la disminución anormal del número de repeticiones de una pequeña secuencia de ADN, llamada D4Z4, que se sitúa en el cromosoma 4.

Ahora bien, según los trabajos llevados a cabo en el seno del Club FSH, impulsados en 2002 por la AFM y coordinados por Rossella Tupler (1), esta disminución de las D4Z4 favorecería una separación «demasiado importante» del ADN, permitiendo la expresión de diferentes genes dañinos para las células musculares. Por otro lado, un consorcio internacional (2) constató que, en los enfermos, esas pequeñas repeticiones de ADN presentan modificaciones químicas (3) que podrían facilitar su separación.

UNA MADEJA QUE HAY QUE DESENREDAR

El segundo punto débil de las células se basa, efectivamente, en su energía, es decir, en su capacidad para producir cientos de miles de proteínas a partir de algunos miles de genes dado que, como indica Olivier Poch (4), «hoy en día contamos con entre 100 000 y 200 000 proteínas conocidas para 25 000 genes». El uso de esa energía interviene en el momento del *splicing*. Durante esa fase, la maquinaria celular puede decidir guardar, para un mismo gen, sólo ciertos exones (secuencias codificantes) en lugar de otros, para producir una determinada proteína. Ahora bien, aunque el *splicing* es una etapa vital para la célula, también es uno de sus talones de Aquiles, porque precisa de numerosos actores o, más concretamente, «actrices». En efecto, hace intervenir a proteínas que ya pasaron por esa etapa de *splicing* y que, por lo tanto, pueden haber sido perturbadas, ya sea directamente por las anomalías genéticas o indirectamente por sus hermanas deficientes. Y así sucesivamente.

El trabajo de los científicos consiste, por lo tanto, en desenredar la madeja tal y como ilustran las investigaciones realizadas sobre la enfermedad de Steinert. Esta patología se debe a una expansión anormal de tres bases (los ladrillos que conforman el ADN), CTG, en el gen de la proteína DMPK. Los ARN con esta mutación se acumulan en el núcleo de las células y hacen que se modifiquen las proteínas implicadas en la transcripción de otras proteínas, precisamente a nivel de sus ARN.

En otras palabras, al captar ciertas proteínas, el ARN mutado de DMPK perturba indirectamente los ARN de otras proteínas. Esta cadena de acontecimientos conlleva la disfunción de la célula.

Finalmente, incluso aunque no se haya perturbado la expresión de los genes, la célula no está fuera de peligro. Continúa sometida al azar de las proteínas que ella produce o de las que no. De hecho, el tercer gran fenómeno causante de las disfunciones celulares es la aparición de interacciones –o de su ausencia– entre las proteínas. Por ejemplo, la distrofina, una proteína anormal o que está ausente en las miopatías de Duchenne y Becker, forma parte normalmente de un complejo de proteínas encargado de vincular el interior y el exterior de la fibra muscular. En otro ámbito, la calpaína 3, una proteína implicada en las miopatías de cinturas, tendría por misión cortar a una de sus hermanas, la titina, que es importante para la contracción del músculo.

SEPARAR LAS PIEZAS DE UN MOTOR

Podríamos dar muchos más ejemplos, aunque dentro de unos límites. En efecto, es necesario constatar que las proteínas son las actrices principales de la célula, pero también el punto débil en materia de conocimientos. A lo largo de sus trabajos, los científicos llegaron a aislar algunas proteínas y a conocer una parte de su función. Sin embargo, «estamos todavía lejos de tener una visión de conjunto –reconoce Pierre Legrain del CEA (5)–. Esperar establecer el modelo de una célula en su totalidad cuando estamos aún en el inicio de los estudios sobre las proteínas es como encontrarse ante las piezas separadas de un motor e intentar volver a montarlo sin haber visto nunca cómo funciona uno». Por lo tanto, antes de pensar en volver a montar el motor, es necesario separar las piezas, es decir, las proteínas. Distrofina, calpaína, SMN (del inglés *Survival Motoneuron*), laminas A y C... Los nombres de las proteínas abundan en el vocabulario de los investigadores. Sin embargo, esto no significa que sean fáciles de aislar y mucho menos que se conozcan todas.

«Hoy en día con las técnicas de análisis [cf. recuadro] se obtienen grandes resultados –explica Thierry Rabilloud, director de investigaciones del CNRS (Centro Nacional de Investigación Científica de Francia) (6) en Grenoble–. No obstante, los análisis sólo tratan un 10% de lo que nos gustaría ver.» Por eso los científicos sólo tienen a su disposición –por el momento– las proteínas más abundantes y más accesibles. «Ahora bien, podemos plantearnos si la parte todavía desconocida no será la que aporte la información decisiva», se pregunta el investigador de Grenoble.

Una vez localizada una proteína, los científicos trabajan para comprender «su función, que depende en gran medida de su estructura en tres dimensiones», nos cuenta Olivier Poch.

De forma esquemática, después de que la maquinaria celular haya traducido el gen en una cadena de aminoácidos (los ladrillos que constituyen las proteínas), esta última se organiza en el espacio para darle a la proteína su forma definitiva. Ahora bien, esta estructura en 3D depende no sólo de las interacciones entre los aminoácidos en sí mismos, sino también de otras moléculas. De hecho, incluso en el mejor de los casos en el que el investigador conoce perfectamente la cadena de aminoácidos resultante de la traducción de un gen, no puede deducir automáticamente de ella la estructura en 3D. Para determinar esta última puede apoyarse en herramientas «de imágenes de proteínas» –herramientas que, para los no iniciados, responden a los nombres extraños de cristalografía a través de rayos X o espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN)– o en «proteínas modelo».

En ese último caso, el científico intenta encontrar puntos comunes entre la cadena de aminoácidos con estructura desconocida y las proteínas cuya estructura en 3D se conoce.

Una vez que se establece esta estructura y por lo tanto se conoce la función potencial de una proteína, los investigadores aún tienen trabajo por hacer. Les queda todavía saber con qué otras proteínas interactúa, en qué momento, si son necesarios muchos ejemplares o pocos... A partir de esa información, los científicos podrán comprender las consecuencias de las anomalías genéticas y, sobre todo, desarrollar medicamentos con objetivos bien dirigidos.

UNA APROXIMACIÓN A MUY GRAN ESCALA

Con varios millones de proteínas conocidas y entre 20 000 y 25 000 nuevas descubiertas cada semana por los investigadores, imaginamos la tarea colosal que supone el análisis de cada una de ellas.

Para ir más rápido y más lejos, la comunidad científica se dotó de diferentes herramientas entre las que se encuentra la Human Proteome Organisation (HUPO), el equivalente para las proteínas (cf. recuadro) a la Human Genome Organisation (HUGO) para descifrar del genoma humano.

En esa misma línea, la AFM, en colaboración con IBM y el CNRS (Centro Nacional de Investigación Científica de Francia), lanzó el programa Décryphon (cf. artículo) que pone a disposición de los investigadores un gran potencial de cálculos informáticos además de competencias en cuestión de cálculo compartido y bioinformática, con el objetivo de, por ejemplo, acelerar las investigaciones sobre las proteínas implicadas en las enfermedades neuromusculares.

Esas herramientas permiten obtener una aproximación a muy gran escala, que se denomina proteómica. No obstante, los enfoques con objetivos más concretos no deben excluirse. Por una parte, las células definen las proteínas que necesitan en función del tejido en el que se encuentran. De hecho, observar lo que sucede en las células sanguíneas puede ayudar a comprender ciertos fenómenos encontrados en el músculo, pero para curarlo también es importante ver lo que sucede en él.

Por otra parte, en ciertas patologías, incluso muy complejas, dedicarse a una sola proteína podría permitir tratar eficazmente a los enfermos.

De este modo, el concurso de la AFM «Interacciones proteicas en las fisiopatologías neuromusculares» aceptó diez proyectos de escala variable que van del análisis de una pequeña secuencia de ARN implicada en la regulación del desarrollo del músculo (7) a la determinación del papel de ciertas proteínas en la degeneración muscular (8), pasando por las interacciones entre diferentes proteínas implicadas en las miopatías (9).

En resumen, las aproximaciones a muy gran escala y otras más modestas pueden convivir. Sólo así las proteínas desvelarán sus misterios y aumentará el número de tratamientos de las enfermedades genéticas, sin esperar, por otra parte, a que la célula se conozca perfectamente.

(1) Università degli Studi de Pavie (Italia) et University of Massachusetts (Estados Unidos).

- (2) Estados Unidos, Francia, Gran Bretaña, Italia y Países Bajos.
 (3) Variable hypomethylation of D4Z4 in facioscapulohumeral muscular dystrophy.,
Annals of Neurology, Oct. 2005, Vol. 58(4), pp. 569 - 576.
 (4) Instituto de biología genética, molecular y celular de Estrasburgo.
 (5) Departamento de biología Joliot-Curie - CEA Saclay.
 (6) Departamento Respuestas y Dinámicas Celulares – CEA Grenoble.
 (7) Anna Polesskaya, UPR 9079 CNRS, Instituto André Lwoff, Villejuif.
 (8) Vehary Sakanyan, CNRS UMR6204, Nantes.
 (9) Isabelle Richard, Généthon, Évry.

Referencias

.En 1959, Max Perutz y John Kendrew, ambos investigadores en Gran Bretaña, descubren por primera vez la estructura completa de una proteína, la hemoglobina. Gracias a esos trabajos obtuvieron el Premio Nobel en 1962.

.El término «proteína» viene del adjetivo griego «prôtos» con el que se hace referencia a lo que está «más adelante» en el espacio o «al primero» de una serie. De hecho, la proteína es el primer constituyente, en términos de cantidad, de una célula.

La organización HUPO hace que se unan las fuerzas

«La Human Proteome Organisation (HUPO) no es una agencia de financiación», precisa en el preámbulo Pierre Legrain (1), miembro del consejo de administración de la organización internacional. «Fue creada en 2001 para promover iniciativas científicas en el ámbito de la biología a gran escala.»

En ese momento, HUPO definió siete grandes líneas científicas de investigación sobre las proteínas, particularmente con el establecimiento de estándares proteicos. El objetivo es establecer un lenguaje común para que los datos recogidos sobre las proteínas puedan ser explotados por todos. En definitiva y de modo general, como explica Pierre Legrain, «HUPO intenta poner en marcha redes de colaboración de científicos que pongan en común sus competencias al servicio de la proteómica» [es decir, del análisis de las proteínas a gran escala, N. de la R.].

(1) Departamento de biología Joliot-Curie - CEA Saclay.

SMN, ejemplo de un gen que codifica varias proteínas

La atrofia muscular espinal (AME) se debe a un déficit de SMN (del inglés *Survival Motoneuron*), una proteína normalmente codificada por el gen SMN1. Ahora bien, en el 95% de la población, incluidos los enfermos, existe una segunda copia de SMN1, el gen SMN2. Este último codifica a la vez la proteína SMN, pero en cantidad insuficiente para evitar la enfermedad, y una SMN truncada en el exón 7 no funcional. Además de la constatación de que un gen codifica varias proteínas, esta doble función del gen SMN2 es interesante para los investigadores.

Así, en el mes de diciembre de 2005, un equipo norteamericano (1) utilizó los pequeños ARN U7, conocidos en el salto de exón, para volver a introducir el exón 7 en el pre-ARN mensajero del gen SMN2, favoreciendo de esta manera la producción de la proteína SMN funcional.

(1) *Correction of SMN2 Pre-mRNA splicing by antisense U7 small nuclear RNAs. Molecular Therapy: the Journal of the American Society of Gene Therapy, Dic.2005, 12(6), pp. 1013-22*

Informe: Comprender la célula

Ejemplos de alteraciones del funcionamiento celular

EN INTERIOR DE LA CÉLULA, DEL GEN A LA PROTEÍNA

El camino que lleva del gen a la proteína comienza con la separación del ADN en la zona en la que se encuentra el gen determinado. La maquinaria celular realiza entonces una especie de fotocopia fiel del texto escrito con ayuda de las bases (los ladrillos que conforman el ADN). El pre-ARN mensajero que se obtiene está compuesto por secuencias no codificantes, los intrones, y por secuencias codificantes, los exones, que contienen la información necesaria para la traducción en proteína. Cuando se produce el *splicing*, el pre-ARN pierde sus intrones. Ya sólo quedan los exones colocados uno detrás de otro que fabrican el ARN mensajero, cuya traducción dará como resultado una proteína.

No obstante, todo eso no es tan simple como parece. Puede tener lugar una selección en los exones que se mantienen con el fin de producir proteínas diferentes en función de las necesidades de la célula. De esta manera, un mismo gen codifica varias proteínas. Después, el texto del ARNm es traducido por el ribosoma en una cadena de aminoácidos, los ladrillos que conforman las proteínas. Finalmente, esta cadena se organiza de forma particular para dar a la proteína su forma final.

1 – Mala separación del ADN

Para poder caber en las células, el ADN se compacta. Cuando se tiene que elegir un gen, se descompacta donde éste está situado. Pero a veces el ADN se separa un poco más de lo debido o en un lugar no deseado y provoca la expresión de genes dañinos para la célula.

2 – Problema de *splicing*

El *splicing*, es decir, la eliminación de secuencias de gen (los intrones) que no sirven directamente para la producción de la proteína, precisa de la intervención de un complejo de proteínas.

Puede suceder que estas proteínas no funcionen correctamente o sean perturbadas por un ARNm resultante de un gen también mutado. En ese caso, el *splicing* no puede tener lugar, lo cual hace que se bloquee la producción de la proteína.

3 – Mutación del gen

La mutación de un gen tiene diversas consecuencias para la proteína que codifica. En ciertos casos, la anomalía bloquea la maquinaria celular antes de que haya terminado su trabajo, por lo tanto, la proteína está ausente.

En otros casos, la expresión del gen llega a su fin, pero la proteína obtenida es defectuosa y no interactuará correctamente con las otras proteínas.

PROBLEMAS DE INTERACCIÓN ENTRE LAS PROTEÍNAS

Las proteínas intervienen en un gran número de procesos. De hecho, si están ausentes, son defectuosas o están presentes sin sentido, perjudican el correcto funcionamiento de la célula.

Informe: Comprender la célula

Buscando interacciones entre las proteínas de las células musculares

Gracias al trabajo de Généthon y de la compañía Hybrigenics, ciertas células musculares deberían tener pronto una parte de su «carné de identidad» proteico. Ese programa, dirigido por Isabelle Richard, de Généthon, está financiado por la AFM (Asociación Francesa contra las Miopatías).

Con el fin de desarrollar nuevos blancos terapéuticos, Généthon lanzó el pasado mes de diciembre un programa de mapeo de proteínas de la célula muscular. Ese trabajo, dirigido por Isabelle Richard y financiado por la AFM con 894.000 euros, consiste en comprender las funciones de las proteínas así como las interacciones existentes entre ellas. Esa recopilación de informaciones se llama «interactoma».

El programa se apoya en herramientas desarrolladas por la sociedad francesa de biotecnología Hybrigenics que permiten analizar las decenas de millones de interacciones potenciales de una proteína dada con sus congéneres, en unos meses. Estas cifras pueden provocar vértigo pero, en realidad, el principio es relativamente simple, como declara Luc Selig, cofundador de Hybrigenics. «Nuestra plataforma de cribado de doble híbrido en levadura de alto rendimiento nos permite poner en contacto una proteína que nos interese con, paralelamente, 10 millones de fragmentos de proteínas –llamados péptidos–, con el fin de observar si esas dos entidades interactúan», señala el investigador.

Más concretamente, los científicos introducen en una misma célula de levadura el gen de la proteína que hay que analizar y el que codifica uno de los 10 millones de fragmentos de proteínas con los que cuenta la «librería del músculo».

Cuando existe una interacción, la levadura crece «en una colonia distinta». Es necesario entonces determinar a qué proteína, si es conocida, pertenece el péptido que interactúa.

«El hecho de identificar una interacción es una etapa capital, pero nuestro trabajo no se acaba ahí –precisa Luc Selig.– A partir de ahí, nuestro programa PIMRider® trata todos esos datos para poder establecer un nivel de confianza, es decir, una jerarquía de interacciones en función de su pertinencia y, por lo tanto, de su interés, para convertirse en blancos terapéuticos potenciales.»

El proyecto llevado a cabo por Généthon se centra en 80 proteínas interesantes de la célula muscular y debería durar de seis a ocho meses. Esos análisis completarán los obtenidos por la compañía de biotecnología en otras 20 proteínas en 2004 y 2005.

Hybrigenics o la biotecnología con múltiples facetas

Además de ofrecer sus plataformas técnicas a los laboratorios privados y públicos, Hybrigenics desarrolla sus propias investigaciones. Para sacar adelante estas últimas, como en su colaboración con Généthon, los investigadores de la compañía parisina de biotecnología comienzan observando lo que sucede en las células. «De este modo, se determinan los blancos, como por ejemplo las vías de regulación de la proliferación celular –explica Luc Selig, cofundador de la compañía–. Después, realizamos tests en nuestra quimioteca [una colección de moléculas químicas, N. de la R.]. Finalmente, si una molécula nos parece interesante, la desarrollamos para evaluarla en ensayos preclínicos.»

Informe: Comprender la célula

Décryphon: compartir las tareas para ir más rápido

Con el fin de acelerar los cálculos necesarios para la comprensión del funcionamiento de las proteínas, la AFM (Asociación Francesa contra las Miopatías), en colaboración con IBM y el CNRS (Centro Nacional de Investigación Científica de Francia), ha lanzado una nueva fase de Décryphon, un programa que se apoya en el principio del cálculo compartido entre varios ordenadores.

A pesar de que cada vez existen ordenadores más potentes, el tratamiento de la información que ofrecen los millones de proteínas supone un desafío en la vida de un investigador. Por ejemplo, «la identificación de los sitios de interacción potenciales de una sola proteína supone 70 días de cálculos –explica Alessandra Carbone, de la universidad Pierre et Marie Curie (París)–. Para miles de proteínas, ¡los cálculos duran miles de años!»

En ese contexto de avalancha de datos que deben ser tratados interviene el programa Décryphon, cuyo adagio podría ser «si se comparten las tareas se va más rápido». En efecto, esquemáticamente Décryphon consiste en unir las potencias de cálculo de varios ordenadores con el fin de que los cálculos lleven el menor tiempo posible. Con este fin, el programa dispone actualmente de una plataforma denominada «universitaria» que agrupa superordenadores instalados por IBM en las universidades de París VI, Lille 1, Bordeaux1 y controlados por un servidor basado en Orsay. ¡De este modo las máquinas son capaces de efectuar 298 mil millones de operaciones por segundo! Por ahora, esta malla universitaria funciona con los cinco proyectos seleccionados en los concursos de 2003, 2004 y 2005. Uno de esos proyectos podría necesitar próximamente una segunda malla, denominada «de internautas», como sucedió con el primer Décryphon en 2001, que permitió que se realizara un primer mapeo de las proteínas del mundo vivo gracias a la participación de ordenadores individuales de más de 70.000 internautas.

RECONOCER LOS EXONES

El proyecto coordinado por Olivier Poch, del Instituto de biología genética, molecular y celular de Estrasburgo, y Gilbert Deléage, del Instituto de biología y de química de las proteínas de Lyon, se consagra a la búsqueda del vínculo entre las anomalías genéticas y los defectos de la estructura en tres dimensiones de las proteínas. «En un primer momento, trabajamos con una decena de proteínas. – explica el investigador–. Pero, con el tiempo, esperamos analizar un millar.»

Un segundo proyecto, en el que colabora Yann Guermeur del Laboratorio loreno de investigación en informática y sus aplicaciones (Loria), tiene por objetivo el establecimiento de los vínculos existentes entre los defectos de *splicing* y las enfermedades genéticas. «Sin embargo, antes de predecir cómo será la secuencia del ADN de una persona enferma, tenemos que enseñarle a la máquina a reconocer los exones [las secuencias codificantes del gen, N. de la R.]», precisa Emmanuel Monfrini, del laboratorio loreno respaldado por la AFM. En la superficie de las proteínas se encuentran zonas privilegiadas que les permiten interactuar entre sí o con otras moléculas de la célula. Esos puntos se llaman «zonas de interacción».

El tercer proyecto, coordinado por Alessandra Carbone, tiene por objetivo desarrollar herramientas bioinformáticas para localizar esas zonas, entre otras las de las proteínas implicadas en las disfunciones neuromusculares.

UN SITIO EN INTERNET PARA LOS NEURÓLOGOS

Con el fin de desvelar las posibles disfunciones de las fibras en los músculos, los médicos registran su actividad. El problema es que esos registros reflejan una «mezcla» de potenciales de acción.

El cuarto proyecto, coordinado por Christophe Pouzat, de la universidad René Descartes Paris V, se propuso, basándose en las probabilidades, automatizar la «selección» de esos potenciales de acción y elaborar un sitio en Internet en el que los neurólogos puedan colgar los electromiogramas. Las medidas de los potenciales de acción se realizarán automáticamente y su interpretación llegará al médico para que éste establezca un diagnóstico. Finalmente, el último proyecto parte de la afirmación de que aunque todas las células de un individuo dado contienen los mismos genes, sólo algunos de ellos se expresan en función de las necesidades de la célula. El trabajo coordinado por Marc Robinson-Rechavi, de la facultad de biología y de medicina de la universidad de Lausana (Suiza), permitirá identificar precisamente cuáles son los genes que deberían expresarse –o que se expresan sin motivo– en las células musculares. Está previsto que esos proyectos duren 18 meses y deberían ofrecer sus primeros resultados antes de finales de año. Podremos entonces medir el interés que tiene Décryphon y, de una forma más amplia, el cálculo compartido, para las enfermedades neuromusculares.

Herramientas para localizar las proteínas

Para localizar proteínas se utilizan principalmente tres técnicas, tanto una detrás de otra como individualmente. La electroforesis bidimensional sobre un gel permite separar las proteínas de la mezcla que se va a estudiar. A continuación, cada proteína se corta en pequeños trozos llamados péptidos, gracias a enzimas que cortan en lugares precisos. Esos péptidos se analizan gracias a la espectrometría de masas. El «perfil de fragmentación» que se obtiene de esa manera se compara entonces con las bases de datos con el objetivo de saber a qué proteína conocida corresponde, siempre que, por supuesto, haya sido catalogada.

Esas dos técnicas permiten determinar la naturaleza y la cantidad de una proteína. El tercer método utilizado, llamado «doble híbrido», consiste esquemáticamente en poner en contacto dos proteínas para constatar si interactúan.

«La elección de la herramienta depende de la pregunta biológica que se haga el investigador. –explica Thierry

Rabilloud, director de investigación del CNRS (Centro Nacional de Investigación Científica) (1). – Por otro lado, aunque esas herramientas sean buenas, deberían ser mejoradas. Por desgracia, hay que reconocer que pocas personas se dedican al desarrollo de las tecnologías.»

(1) Departamento Respuestas y Dinámicas Celulares - CEA Grenoble.

Encuentro

Stéphane Roques, responsable del programa Décryphon en la AFM (Asociación Francesa contra las Miopatías)

VLM: ¿Cuál es el presupuesto de Décryphon?

Stéphane Roques: El presupuesto total para los tres años que debe durar el programa se eleva a 5 millones de euros, de los cuales la mayoría corresponden a aportaciones en forma de máquinas y de competencias. La contribución global de la AFM debería acercarse a 1,2 millones de euros, una financiación que esperamos asegurar en parte gracias a colaboraciones con las pequeñas y medianas empresas desarrolladas por el programa Décryphon Entreprises, lanzado en 2005.

VLM: ¿Cómo se seleccionan los proyectos?

S.R.: Cada proyecto es evaluado independientemente por dos biólogos y dos bioinformáticos. Después, se someten a la aprobación del comité científico de Décryphon, formado por investigadores del CNRS y representantes de la AFM.

VLM: ¿Qué va a pasar después de estos tres años?

S.R.: Todavía es difícil pronunciarse al respecto, porque estamos esperando los resultados de los primeros proyectos que apoyamos.

No obstante, si los investigadores y, más precisamente, aquellos que trabajan sobre las enfermedades neuromusculares necesitan todavía a Décryphon, la AFM y sus dos socios deberían renovar el programa.