

primero de estos factores sobre la ID. Cuando existe intercambio genético entre poblaciones se considera que la heterocigosis (diferencia total o parcial entre los pares de alelos de un genotipo) y la coadaptación genómica (coordinación entre *loci*) son agentes muy asociados al mantenimiento de la estabilidad del desarrollo de los híbridos. Estudios al respecto, ya sea en un contexto inter- o intraespecífico, han puesto de manifiesto, a partir de análisis comparativos de los niveles de AF, que la desorganización de la coadaptación genómica aumenta la ID. Se piensa que la importancia de las perturbaciones que acontecen durante el desarrollo en los híbridos depende del grado de diferenciación genéticas entre los taxones implicados y, en las poblaciones naturales, del tiempo transcurrido desde que tuvieron lugar los primeros cruzamientos. En contraposición a estas apreciaciones, numerosas investigaciones han puesto de relieve que híbridos de grupos genéticamente diferenciados pueden presentar un desarrollo estable, incluso en los casos en que aquéllos muestran una reducción de la fertilidad o de la viabilidad. En estas situaciones, el papel que deben jugar otros procesos genéticos sobre la ID han de ser tenidos muy en cuenta. Concretamente, se ha propuesto repetidamente que niveles de heterocigosis altos van asociados a una menor ID, circunstancia atribuida al efecto amortiguador que la dominancia alélica tiene sobre los accidentes en el desarrollo. No obstante, hay que decir que la existencia de una correlación positiva entre heterocigosis y estabilidad del desarrollo constituye un tema polémico puesto que para algunos autores no está sólidamente fundamentada. En este sentido, se ha sostenido que dicha asociación se ha establecido en muchos casos a partir de observaciones

indirectas basadas en la detección de mayores valores de AF en grupos de homocigotos y en donde las conclusiones se han establecido prescindiendo del efecto que sobre dicho parámetro pueden tener otros factores, tales como el estrés ambiental, la historia evolutiva de las poblaciones o la misma coadaptación genómica. Debe tenerse en cuenta, además, que algunos de estos agentes pueden actuar de manera contrapuesta sobre la ID y que ciertas situaciones pueden ser realmente complejas debido a la aparición de mutaciones y/ o la existencia de una selección direccional efectiva.

Finalmente, hacer tan sólo un breve apunte al hecho de que la AF ha sido empleada frecuentemente como medida de la condición o de la eficacia biológica de los individuos. De hecho existe una rica bibliografía sobre las relaciones entre ID y la eficacia biológica, entendida ésta en términos de supervivencia, éxito reproductivo y circunstancias ambientales. Puesto que los resultados obtenidos en este sentido son muy heterogéneos y en muchos casos contradictorios, dicha cuestión constituye actualmente uno de los temas de debate más encendido en el campo de la biología evolutiva. Para obtener un visión general y actualizada al respecto así como una mayor información sobre las demás aspectos aquí esbozados recomiendo atender especialmente a las revisiones citadas al inicio de este artículo. Cualquier consulta de esas monografías permitirá constatar rápidamente que el binomio ID/AF es un tema complejo y sobre el que todavía quedan muchas incógnitas por resolver. Todo ello hace presagiar que dicha relación seguirá siendo objeto de investigación permanente durante los próximos años.

¡CUIDADO CON LAS INTERFERENCIAS!

Miguel Ángel Medina Torres

Uno de los más fascinantes hallazgos de los últimos años en relación con los mecanismos de regulación de la expresión génica es la interferencia selectiva que pueden ejercer ciertas moléculas de RNA. Y no es sólo un hallazgo fascinante, sino que sus implicaciones tanto en investigación básica como aplicada son tan profundas que, en unos pocos años, se ha situado en la vanguardia de la investigación biológica. De hecho, la influyente revista *Science* situó los estudios de interferencia por RNA en la posición número 1 de los «Breakthrough of the Year 2002», lo que viene a significar que fue el tema de investigación (entre

todas las áreas de las ciencias) más «impactante» de dicho año.

El conocimiento de que existen mecanismos que pueden interferir en la expresión génica no es algo nuevo. En concreto, hay que remontarse a los años setenta, cuando se identificó la denominada *respuesta de interferón*. Entre las respuestas inmediatas que puede generar la infección vírica, se encuentra la liberación de diversas citoquinas por las células afectadas. Entre estos productos se encuentran los interferones, que pueden dar lugar a una respuesta de bloqueo generalizado de la expresión génica. Obviamente, la respuesta al

interferón funciona como un mecanismo de seguridad. Sin embargo, la interferencia por RNA es un mecanismo de control mucho más sutil que permite el bloqueo selectivo de la expresión de genes específicos.

Los antecedentes se remontan a 1990, año en el que, con un mes de diferencia, aparecieron dos artículos en la revista *Plant Cell* que mostraban que, en petunias con flor púrpura, la inserción de copias adicionales del gen de su pigmento nativo no sólo no intensificaban la coloración de las flores sino que dieron lugar a plantas con flores variegadas, con manchas blancas (Napoli *et al.*, *Plant Cell* 2: 279-289, 1990; Koes *et al.*, *Plant Cell* 2: 379-392, 1990). Los autores de estos trabajos concluyeron que las copias extras habrían despertado la censura de los genes del pigmento púrpura tanto nativo como inserto. A esta censura doble se le denomina *cosupresión*.

El experimento decisivo fue realizado en colaboración por los grupos de los Dres. Andrew Fire y Craig Mello y publicado en 1998 (Fire *et al.*, *Nature* 391: 806-811, 1998). En este trabajo, los autores inyectaron RNA monocatenario o bicatenario de un gen implicado en la función muscular (*unc-22*). Las copias de RNA monocatenario sentido o antisentido apenas produjeron efectos en los gusanos. Por contra, el RNA bicatenario sorprendentemente inhibía específicamente la expresión del gen *unc-22* dando lugar a gusanos con serios problemas de espasmos musculares. Esta inhibición fue denominada *interferencia por RNA (RNAi)* y se identificó posteriormente en otros organismos.

Tanto en animales como en plantas, la interferencia por RNA se caracteriza por la presencia de fragmentos de RNA de unos 22 nucleótidos que son homólogos al gen cuya expresión es suprimida. Estas secuencias de unos 22 nucleótidos se denominan RNA interferentes pequeños (siRNA) y sirven como *secuencias guía* que «instruyen» a un complejo supramolecular con actividad nucleasa para destruir moléculas de mRNA específicas. A este complejo supramolecular se le ha denominado *RISC* (complejo silenciador inducido por RNA). Si en RISC se produce un adecuado emparejamiento por complementariedad entre un mRNA y un siRNA específico para él, la actividad nucleasa de RISC corta en dos (de aquí que se hable de actividad *slicer*, es decir, «rebanadora») la cadena de mRNA, haciéndola afuncional. En enero de 2001, se publicó un artículo que describía la identificación de una nucleasa perteneciente a la familia de RNasas III como

responsable de la generación de los siRNA mediante el «troceado» de moléculas de RNA bicatenarias largas (Bernstein *et al.*, *Nature* 409: 363-366, 2001). Por tal motivo, a dicha nucleasa se le ha denominado *dicer* («tajadora»).

Los siRNA proceden de los mismos tipos de genes o regiones genómicas que terminan por quedar silenciados. Sin embargo, se ha identificado *microRNAs* (miRNA) que proceden de genes cuya única misión es producir estos RNA reguladores. De hecho, en el genoma humano se han identificado 255 genes que codifican miRNA, lo que representa casi un 1% del genoma completo. Por otra parte, se ha comprobado que la RNAi puede ejercerse sobre el propio genoma nuclear, regulando el grado de empaquetamiento de regiones específicas de la cromatina, impidiendo así su transcripción.

Los mecanismos de interferencia por RNA dotan a los organismos que lo poseen de una poderosa herramienta de protección frente a la inestabilidad en sus genomas que podrían provocar los transposones o las secuencias génicas foráneas incorporadas por infección vírica. Por otra parte, parece evidente que dicho mecanismo esté destinado a jugar un papel clave en el desarrollo y en procesos patológicos.

Metodológicamente, la RNAi proporciona una herramienta excepcional para analizar sistemática y rápidamente la función de miles de genes, bloqueando específicamente la expresión de cada uno de ellos y estudiando los efectos que dichos silenciamientos específicos provocan. Se trata de una herramienta metodológica potencialmente tan poderosa que en menos de dos años las principales compañías suministradoras de productos y reactivos para biología molecular la han incorporado a sus catálogos. Como lógica consecuencia, el número de artículos publicados que describen el silenciamiento de genes específicos utilizando métodos basados en la RNAi está aumentando exponencialmente.

Sin embargo, alguna «mancha» tenía que aparecer antes o después en esta bonita historia. Y así ha sido. En efecto, dos artículos publicados en 2003 alertan que la interferencia por RNA podría tener también efectos adversos activando genes de la ruta de respuesta al interferón (Sledz *et al.*, *Nature Cell Biol* 5: 834-839, 2003; Bridge *et al.*, *Nature Genetics* 34: 263-264, 2003). Estas observaciones justifican que terminemos con la advertencia que da título a este comentario: *¡Cuidado con las interferencias!*