

El nemátodo *Caenorhabditis elegans* como organismo modelo

Mamá: ¿Por qué los científicos estudian animales en el laboratorio?



Micrografía de electrones de barrido de un hermafrodita adulto de *C. elegans*. Este animal mide 1 mm de largo.

Ralf J. Sommer

Departamento de Biología Evolutiva Integrativa, Instituto Max Planck de Biología, Tübingen, Alemania

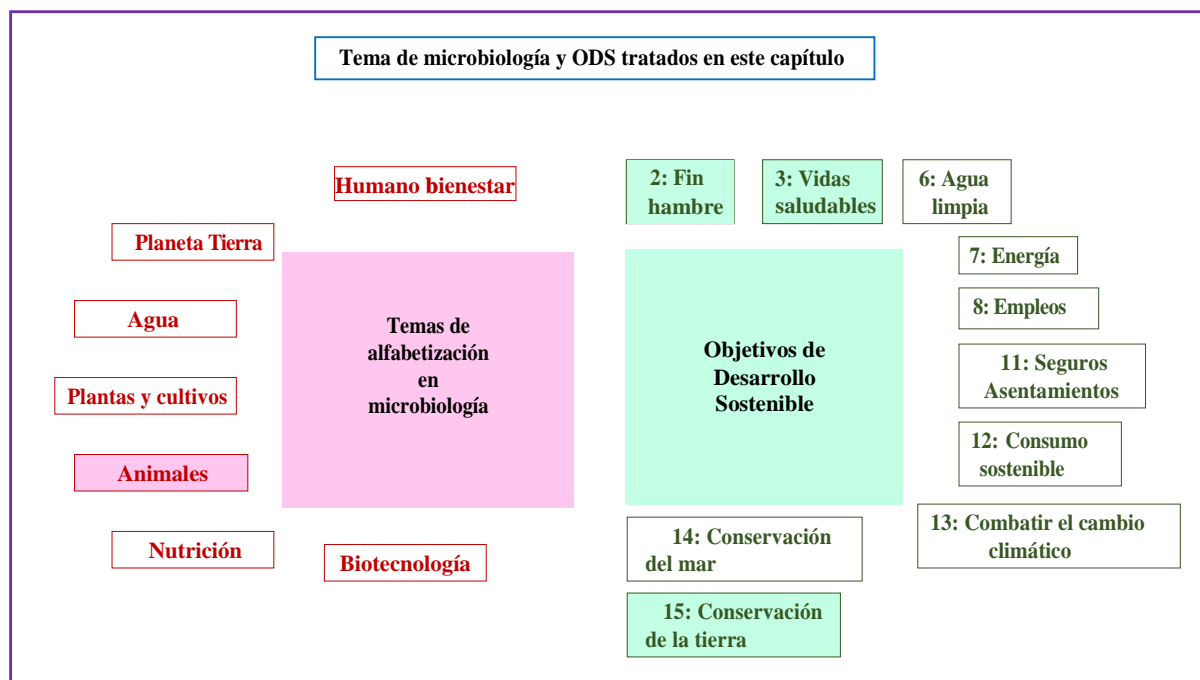
C. elegans como Modelo Experimental

Sinopsis

Los biólogos buscan entender los principios básicos de la vida: ¿cómo funciona la vida? ¿Cómo crecen y se desarrollan los organismos? ¿Cómo digieren los alimentos? ¿Cuáles son los principios para percibir la luz y otros factores ambientales? ¿Cómo interactúan con otros organismos en el entorno? ¿Cuáles son los principios del cambio evolutivo a lo largo del tiempo? Los biólogos han estado abordando estas preguntas durante más de un siglo, pero los enfoques que utilizan han cambiado drásticamente en los últimos 50 años. Mientras que originalmente los científicos observaban organismos salvajes en la naturaleza, ahora llevan los organismos al laboratorio. Se seleccionaron bacterias, hongos, plantas y animales con características que los hacen fáciles de cultivar bajo condiciones constantes de laboratorio, siendo llamados "**organismos modelo**". De hecho, la biología moderna depende de aproximadamente de una docena de especies modelo. Una de estas especies es el gusano redondo (**nemátodo**) *Caenorhabditis elegans*. Estudiar este nematodo ha ayudado a responder muchas preguntas básicas en biología. Esto no solo es útil para los biólogos, sino también para la sociedad en general, porque a menudo surgen principios generales que pueden ser importantes para la medicina y la salud humana.

La Microbiología y el Contexto Social

La microbiología: nemátodos; diversidad microbiana; interacciones microbianas; simbiosis; infecciones de plantas y animales; control biológico de plagas de insectos. *Problemas de sostenibilidad:* erradicar el hambre; vidas saludables; proteger los ecosistemas terrestres.



***C. elegans* como Modelo Experimental: la microbiología**

1. *Caenorhabditis elegans* es un nemátodo que se puede cultivar en el laboratorio. En los animales, las especies microscópicas multicelulares se encuentran abundantemente en hábitats de suelos, marinos y de agua dulce. Un filo es el más numeroso y extendido: los nemátodos o gusanos redondos. Se piensa que los nemátodos representan el grupo dominante de animales, tanto en cuanto a abundancia y número de especies, como en todos los ecosistemas. Algunos de ellos se pueden cultivar fácilmente en un entorno de laboratorio, y uno de ellos, *Caenorhabditis elegans*, fue seleccionado como un posible organismo modelo. Lo que nadie podría prever en los primeros días de la investigación sobre *C. elegans* es que en 2022 más de 1000 laboratorios en todo el mundo estarían trabajando en todos los aspectos de la biología de este pequeño gusano.

2. Lo que importa: tamaño, tiempo y dinero. En la década de 1960, los científicos comenzaron a buscar sistemas de modelos animales simples. Varios criterios eran importantes. Primero, la reproducción bajo condiciones constantes de laboratorio debía ser rápida para permitir el crecimiento de muchas generaciones de animales por año. Segundo, el cuidado debía ser sencillo, con demandas limitadas de la fuente de alimento requerida. Finalmente, el alojamiento del organismo en el laboratorio debía ser fácil y barato. El biólogo sudafricano Sydney Brenner introdujo el nemátodo *Caenorhabditis elegans* como un posible modelo que cumplía con todos estos requisitos:

a. *C. elegans* puede ser cultivado utilizando la bacteria intestinal humana *Escherichia coli* como su única fuente de alimento. Los huevos son puestos y eclosionan en gusanos juveniles que pasan por un proceso de muda. Después de cuatro etapas larvales (denominadas L1-L4), se forma el gusano adulto que mide solo 1 mm de largo.

b. Las cultivos típicos de *C. elegans* se establecen en placas de agar de 6 cm, lo que permite cultivar muchos gusanos en esas placas. Estas placas cuestan solo unos pocos centavos, lo que hace que los sistemas de cultivo sean fáciles y baratos.

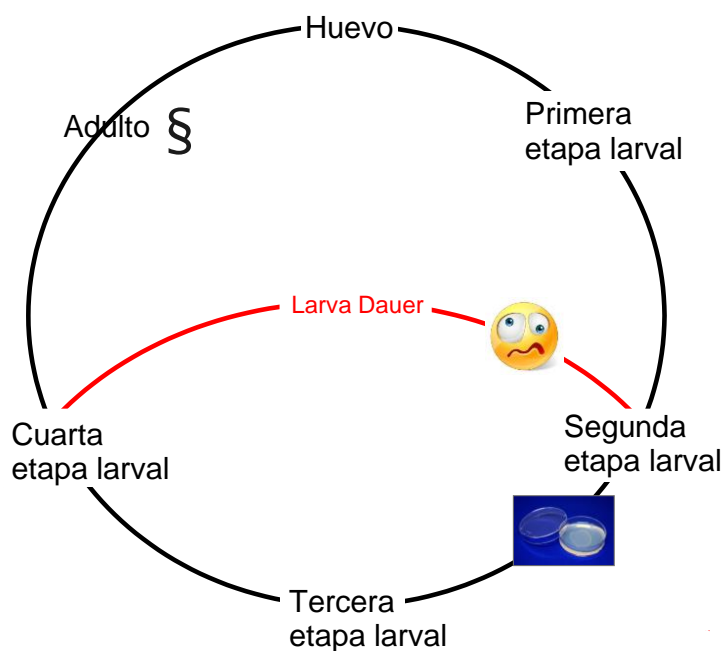


Un marco de educación en microbiología centrado en la niñez

- c. *C. elegans* tiene un tiempo de generación de 3,5 días a 20 °C y de 2,5 días a 25 °C, y miles de animales pueden producirse en menos de una semana.
- d. Además, los gusanos pueden ser congelados y almacenados en nitrógeno líquido en pequeños viales (tubos de vidrio) indefinidamente, y pueden ser "revividos" en minutos después de descongelarlos.

3. La reproducción facilita el cultivo. Las características mencionadas anteriormente hicieron que *C. elegans* fuera fácil de cultivar en el laboratorio. Pero una característica más de este organismo fue "crucial" para atraer a grandes cantidades de investigadores a estudiar la biología de *C. elegans*. Mientras que la mayoría de los nemátodos tienen dos sexos, machos y hembras, *C. elegans* tiene otro modo de reproducción, es decir, como un hermafrodita auto fértil. Las larvas de *C. elegans* tardías son machos que producen un número limitado de esperma durante el desarrollo postembrionario. Sin embargo, cuando se desarrollan en adultos, se convierten en hembras y usan el esperma almacenado para fertilizar sus propios huevos. Este modo de reproducción resulta en una ventaja importante: los investigadores pueden establecer lo que se conoce como "cultivos isogénicos". En los cultivos isogénicos, todos los animales son genéticamente idénticos porque provienen del mismo progenitor; no ha habido mezcla de genes de diferentes padres y madres. Esto es importante para el análisis de mutantes, como veremos más adelante. Sin embargo, es importante destacar que *C. elegans* también forma machos como un segundo sexo, y los hermafroditas pueden cruzarse con individuos machos.

En resumen, los hermafroditas auto fértiles de *C. elegans* pueden cultivarse en simples placas de agar con *E. coli* como fuente de alimento y completan su ciclo de vida en menos de 4 días. Establecer un sistema de cultivo como este fue un gran comienzo para estudiar todos los aspectos de la biología de este simple animal.



Ciclo de vida de *C. elegans*. Las larvas del primer estadio eclosionan del huevo. Bajo condiciones favorables (placa de agar con alimento bacteriano), pasarán por un desarrollo directo y alcanzarán la adultez después de aproximadamente dos días. Bajo condiciones ambientales adversas, las larvas de segundo estadio se transforman en larvas dauer. Esta etapa es resistente al estrés y de larga duración, y solo volverá al desarrollo cuando las condiciones ambientales se vuelvan favorables nuevamente.

4. *El nemátodo modelo proporciona información sobre todos los aspectos de la biología.*

a. Desarrollo

Cuando *C. elegans* fue identificado como un posible organismo modelo, muchos biólogos empezaban a interesarse por la biología del desarrollo animal. Se planteaban preguntas fundamentales como: ¿Cuáles son los principios del desarrollo embrionario? ¿Cómo se transforma un huevo fertilizado en un organismo completamente formado? ¿Cómo se generan los diferentes tejidos en el organismo adulto? ¿Y cómo se especifican los tipos celulares durante el desarrollo? Los nemátodos, y en particular *C. elegans*, fueron elegidos para investigaciones detalladas.

Este gusano presenta dos características clave que lo hicieron ideal para estudiar la biología del desarrollo. Primero, es transparente, lo que permite observar las divisiones celulares a lo largo de su desarrollo mediante microscopía de alta resolución. Segundo, su desarrollo es altamente reproducible, con un patrón de división celular idéntico en todos los individuos, lo que da lugar a un número fijo de células y un patrón de linaje celular constante. Durante la embriogénesis, se forman 558 células a partir del huevo no segmentado, y después de la eclosión, muchas de estas células se dividen aún más hasta alcanzar un total de 959 células somáticas, sin contar las células germinales. Esta constancia en el número de células y el patrón predecible del linaje celular a lo largo del desarrollo se conoce como **eutelía**. Gracias a esto, los investigadores pudieron asignar un nombre a cada célula siguiendo su desarrollo, un proyecto publicado en 1977 y 1983. Con el linaje celular completamente mapeado, era posible predecir las divisiones celulares en cualquier punto del desarrollo del gusano, un nivel de precisión sin igual en otros sistemas animales.

Además, se observó que cada gusano produce inicialmente 1090 células, pero 131 de ellas mueren de manera programada, a menudo poco después de su formación. Esta observación llevó al concepto de "muerte celular programada". Los estudios demostraron que la muerte celular requiere un programa de desarrollo específico, y muchos de los genes involucrados en este proceso están conservados entre *C. elegans* y los humanos. El descubrimiento de la muerte celular programada fue reconocido con uno de los premios Nobel por la investigación en *C. elegans*.

b. El genoma

C. elegans fue el primer animal metazoario cuyo genoma fue completamente secuenciado. En 1998, como parte del proyecto de secuenciación del genoma humano, se publicó la secuencia completa de este organismo, que consta de unas 100 megabases, equivalentes a un libro con 100 millones de letras. El ADN utiliza un alfabeto de cuatro letras, y la secuencia de estas 100 millones de bases contiene información tanto para genes como para regiones no codificantes que tienen funciones regulatorias o aún desconocidas.

En ese mismo año, se estimó que el genoma de *C. elegans* contenía alrededor de 20,000 genes, cifra que sigue siendo válida hoy en día. En comparación, la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* tiene unos 14,000 genes, y los humanos alrededor de 24,000. Esto demuestra que la complejidad de un organismo no se relaciona directamente con el número de genes.

Pero, ¿cuál es la función de todos estos genes y cómo contribuyen las células a la formación de tejidos y órganos? Una de las principales vías para responder a estas preguntas es la genética.

Un marco de educación en microbiología centrado en la niñez

c. Mutagénesis y genética reversa

Los genetistas estudian la función de los genes y las proteínas que codifican manipulando los genes de manera imparcial o sesgada. En los experimentos de mutagénesis imparcial, las mutaciones pueden insertarse de manera aleatoria en el genoma mediante tratamiento químico o físico del organismo. Los genetistas luego buscan animales mutantes con una característica o fenotipo particular. Por ejemplo, un genetista del desarrollo interesado en un órgano específico de un gusano u otro organismo modelo buscaría mutantes en los que este órgano no se forme adecuadamente o no se forme en absoluto. Estos mutantes pueden investigarse genéticamente para identificar qué genes han sido mutados (alterados en su secuencia) para causar un fenotipo particular. A estos enfoques se les ha denominado "**genética directa**", porque las mutaciones se introducen aleatoriamente en el genoma y se buscan fenotipos alterados en los animales tratados.

En contraste, los enfoques de "**genética reversa**" se centran en genes individuales. Estos enfoques se hicieron posibles gracias a la elucidación de la secuencia del genoma (como se mencionó anteriormente). En *C. elegans*, se han utilizado intensivamente dos enfoques de genética reversa: la interferencia de ARN y la eliminación del gen CRISPR. Mientras que la primera permite la inactivación sistemática o la reducción (inhibición de la expresión) de los genes en el genoma, la segunda proporciona la capacidad de modificar sistemáticamente genes individuales en el genoma. Juntas, estas herramientas de análisis genético han brindado opciones sin precedentes para identificar los mecanismos moleculares de muchos procesos biológicos. A continuación, se presentarán dos ejemplos de este tipo.

d. Neurobiología y comportamiento

El pequeño y constante número de células de *C. elegans* es también una ventaja única para la neurobiología. De las 959 células somáticas (no reproductivas) del hermafrodita adulto, exactamente 302 son neuronas, que se dividen en un total de 118 clases de tipos celulares neuronales. A lo largo de los años, los científicos han aprendido: i) qué neuronas controlan la locomoción del gusano, ii) a qué tipo de olores responde el gusano y qué neuronas son responsables de ello, iii) cómo los machos y los hermafroditas se buscan y se encuentran para el apareamiento, y cómo se controla el apareamiento como conducta.

Para estos y otros procesos neurobiológicos, el conocimiento sobre la identidad de las 302 neuronas fue solo un punto de partida. A través de reconstrucciones seriales de secciones microscópicas electrónicas a lo largo del cuerpo del gusano, se conoce la conectividad sináptica de todas las neuronas. Esta es otra característica que hace único a *C. elegans*, ya que permite a los investigadores estudiar qué neuronas están en comunicación entre sí, y se ha aprendido mucho sobre los mecanismos moleculares asociados.

e. Envejecimiento

C. elegans tiene un tiempo de generación rápido bajo condiciones de laboratorio, de 2,5 a 4 días, dependiendo de la temperatura. Esto significa que un huevo fertilizado se desarrolla hasta convertirse en un hermafrodita adulto, que pone sus primeros huevos en menos de 4 días. Sin embargo, este hermafrodita adulto puede vivir mucho más tiempo. Bajo condiciones estándar, *C. elegans* vive entre 18 y 20 días a 20°C, lo que hace que su esperanza de vida sea mucho mayor que su tiempo de generación.

Los animales envejecidos de *C. elegans* muestran degradación anatómica y funcional en todos los niveles. Muchos tejidos y tipos celulares se ven afectados, y características del organismo, como inmunidad, aprendizaje y motilidad, disminuyen con el tiempo. Los cambios estructurales en neuronas y músculos son comunes en gusanos envejecidos. Así, *C. elegans* presenta características de envejecimiento similares a las de mamíferos o humanos, lo que sugiere que el envejecimiento es una característica común en muchos animales.

Un marco de educación en microbiología centrado en la niñez

Los genetistas han encontrado mutantes que afectan la esperanza de vida en *C. elegans*. De particular interés han sido los mutantes en los que la esperanza de vida se aumenta, y se han identificado más de 50 genes que controlan la longevidad de *C. elegans*. Algunos de estos genes están altamente conservados en la evolución, con genes correspondientes encontrados en moscas o humanos. El grupo más prominente de genes es el de la vía de señalización de insulina. La insulina es una proteohormona o factor de crecimiento en los humanos, y el genoma de *C. elegans* contiene varios genes que codifican factores de crecimiento similares a la insulina. Estos péptidos se unen a un receptor en la superficie celular llamado receptor de insulina. En *C. elegans*, un solo receptor de insulina es codificado por el gen *daf-2*, que, cuando se muta, presenta varios fenotipos de desarrollo y fisiología alterados. Curiosamente, los animales mutantes de *daf-2* viven un 15% más que los gusanos de tipo salvaje. Los investigadores descubrieron que la función principal de la proteína DAF-2, y por lo tanto de la señalización de insulina, es reprimir el factor de transcripción DAF-16. Cuando ambos genes están mutados, los gusanos mutantes dobles *daf-2*, *daf-16* no viven más que los gusanos de tipo salvaje, lo que indica que, bajo condiciones normales, DAF-16 regularía positivamente los genes de longevidad, pero esta acción se ve obstaculizada por la vía de insulina.

Estos hallazgos permiten tres conclusiones importantes. Primero, la longevidad y el envejecimiento están al menos en parte controlados genéticamente. Segundo, este control genético está, nuevamente en parte, conservado evolutivamente, lo que significa que los estudios en un modelo de nematodo pueden ofrecer información relevante para la biología y salud humanas. Finalmente, los investigadores que trabajan con especies animales bajo condiciones de laboratorio pueden establecer modelos para condiciones humanas importantes como la longevidad. En algunos casos, los investigadores que trabajan con ratones o peces han podido establecer "modelos de enfermedad", en los que el animal muestra algunas o muchas de las características patológicas observadas en enfermedades humanas.

f. Conclusiones

C. elegans es un pequeño gusano redondo y, como tal, casi invisible a simple vista. Sin embargo, lo pequeño puede ser hermoso y poderoso. Aprovechando las condiciones de cultivo simples que permiten cultivar millones de gusanos en un solo laboratorio por un pequeño grupo de científicos, la comunidad de investigación de *C. elegans* ha estudiado de manera sistemática muchas preguntas biológicas. Desde una comprensión general del progreso del desarrollo y la homeostasis adulta en fisiología, la investigación también ha proporcionado información sobre los principios generales importantes para la salud humana y la sociedad. Sorprendentemente, o no, el trabajo sobre "el gusano" ha encontrado que muchos principios de la biología están altamente conservados en todo el reino animal, incluidos los humanos. No obstante, *C. elegans* es solo una de las millones de especies de nematodos en nuestro planeta, que se han diversificado en muchos nichos ecológicos diferentes. Así, aunque muchos principios básicos de la biología son compartidos y conservados entre especies, la evolución ha creado una diversidad casi infinita de formas y funciones, también en los nematodos.

La Base de Evidencia, Lecturas Adicionales y Materiales Didácticos

Eds.: I. Glazer, D. Shapiro-Ilan, P. W. Sternberg (2022): Nematodes as model organisms. CABI, Oxfordshire.

WormBook: The online review of Caenorhabditis elegans Biology: dev.wormbook.org

WormBase: Exploring worm biology facilitating insights into nematode. biology: <https://wormbase.org>