

De Petri a Markov: Mecanismos evolutivos en poblaciones asexuales *in-vitro* e *in-silico*

Susanna C. Manrubia¹, Ester Lázaro, Juan Pérez-Mercader, Cristina Escarmís², and Esteban Domingo
 Centro de Astrobiología, INTA-CSIC
 Ctra. de Ajalvir km.4
 28850 Torrejón de Ardoz, Madrid

Las poblaciones virales son un sistema excelente para el estudio de la evolución *in vitro*. Su complejidad se encuentra a medio camino entre los organismos con genoma de DNA y los replicadores simples: cambian rápidamente y se adaptan a ambientes fluctuantes a gran velocidad, mientras que preservan su identidad y se comportan como una (cuasi)especie. El análisis de su evolución y adaptación a través de experimentos de laboratorio puede complementarse con modelos simples de agentes replicativos con altas tasas de mutación. Actualmente, varios grupos trabajan para comprender mejor la estructura de las cuasiespecies virales a través de un análisis a nivel fenotípico. Revisaremos algunos experimentos recientes que han estudiado la diversidad de poblaciones virales midiendo la eficacia biológica (*fitness*) de sus componentes, esto es, su capacidad para replicarse y producir progenie. Duarte y colaboradores⁴ analizaron los componentes “subclonales” de un virus de RNA optimizado. Observaron que la secuencia típica no se correspondía con la secuencia con mayor eficacia biológica, y obtuvieron una distribución amplia para esta variable. En un estudio con clones individuales de eficacia muy diferente en una única población, Burch y Chao³ encontraron distribuciones amplias de eficacia en la cuasiespecie, resultado de someter la población a muchos ciclos de replicación. En estos dos experimentos, la competencia entre mutantes fue el factor principal en la evolución del sistema. Otra serie de experimentos analizó la respuesta de poblaciones virales a perturbaciones frecuentes en la forma de cuellos de botella poblacionales^{5,6}. Debido a la acción del trinquete de Muller, las mutaciones deletéreas se acumulan y finalmente la población debería cruzar la catástrofe de error y extinguirse. Sin embargo, estos experimentos han identificado la presencia de estados estacionarios de eficacia biológica con grandes fluctuaciones en el título viral tras los sucesivos pases. Aparentemente, las cuasiespecies evolucionan a un ritmo suficientemente rápido como para evitar la extinción incluso en esta situación.

Hemos estudiado un modelo simple de evolución de replicadores con técnicas numéricas y analíticas. Cada elemento se caracteriza por un valor de eficacia f y puede producir una cantidad de secuencias “hijas” proporcional a este valor. La introducción de mutaciones al azar (con probabilidad p la eficacia de la secuencia hija es $f' = f - 1$, con probabilidad q se asigna $f' = f + 1$, $1 \gg p \gg q$) produce variaciones de eficacia en la progenie. Finalmente, el crecimiento ilimitado de los replicadores o la selección de una subpoblación permite simular los protocolos llevados a cabo en el laboratorio: competencia y evolución darwiniana o acumulación de mutaciones deletéreas por efecto del trinquete de Muller.

En general, iniciamos el crecimiento de la población con una única secuencia de fitness f_0 , y permitimos el crecimiento durante g generaciones o ciclos de replicación. La ecuación que describe el crecimiento es

$$n_f(g+1) = n_f(g) + (1-p-q)fn_f(g) + p(f+1)n_{f+1}(g) + q(f-1)n_{f-1}(g), \quad (1)$$

con condiciones libres de frontera en $f = 1$ (lo que implica $n_0(g) = 0$) y una barrera reflectante en $f = F$ (y por tanto $n_F(g+1) = (1+F(1-p))n_F(g) + q(F-1)n_{F-1}(g)$). La condición inicial es $n_f(0) = \delta_{f,f_0}$.

Si se permite el crecimiento ilimitado de la población, se llega a una situación estacionaria en la que

$$\frac{n_f(g+1)}{n_f(g)} \rightarrow \rho, = \text{ct}, \quad \frac{n_{f+1}(g)}{n_f(g)} \rightarrow \beta_f, \quad (2)$$

con una distribución en clases tanto más amplia cuanto mayores son p y q . En la situación en que la población es sometida a repetidos cuellos de botella⁵⁻⁷, el parámetro f_0 se convierte en una variable aleatoria y el problema de calcular los valores sucesivos de f_0 se corresponde con una cadena de Markov. Repitiendo el proceso, se espera que la cantidad N de partículas infectivas producidas en el límite $p, q \rightarrow 0$ sea de la forma

$$Q(N) \propto N \exp\{N^{1/g} \ln(q/p)\}. \quad (3)$$

Nuestros resultados analíticos⁸ reproducen los datos experimentales tanto cualitativa como cuantitativamente, y permiten agrupar en un único tipo de modelo diferentes situaciones experimentales.

¹ cuevasms@inta.es

² Centro de Biología Molecular “Severo Ochoa”, CSIC-UAM, Cantoblanco, 28049 Madrid.

³ C.L. Burch and L. Chao, *Nature* **406**, 625 (2000).

⁴ E.A. Duarte, I.S. Novella, S. Ledesma, D.K. Clarke, A. Moya, S.F. Elena, E. Domingo, and J.J. Holland, *Journal of Virology* **68**, 4295 (1994).

⁵ C. Escarmís, G. Gómez-Mariano, M. Dávila, E. Lázaro, and E. Domingo, *J. Mol. Biol.* **315**, 647 (2002).

⁶ E. Lázaro, C. Escarmís, E. Domingo, and S.C. Manrubia, *Journal of Virology* **76**, 8675 (2002).

⁷ E. Lázaro, C. Escarmís, J. Pérez-Mercader, S.C. Manrubia, and E. Domingo, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, (2003, to appear).

⁸ S.C. Manrubia, E. Lázaro, J. Pérez-Mercader, C. Escarmís, and E. Domingo, *Phys. Rev. Lett.* **90**, 188102 (2003).