

# DEL GEN A LA PROTEÍNA

DOCENTES APRENDIENDO EN RED  
DOCENTES APRENDIENDO EN RED  
DOCENTES APRENDIENDO EN RED  
DOCENTES APRENDIENDO EN RED  
DOCENTES APRENDIENDO EN RED



Ministerio de  
Educación  
Presidencia de la Nación



Organización  
de las Naciones Unidas  
para la Educación,  
la Ciencia y la Cultura







PRESIDENTA DE LA NACION  
Cristina FERNÁNDEZ DE KIRCHNER

MINISTRO DE EDUCACIÓN  
Alberto SILEONI

SECRETARIA DE EDUCACIÓN  
María Inés ABRILE de VOLLMER

SECRETARIO DEL CONSEJO FEDERAL DE EDUCACIÓN  
Domingo DE CARA

SECRETARIO DE POLÍTICAS UNIVERSITARIAS  
Alberto DIBBERN

SUBSECRETARIO DE PLANEAMIENTO EDUCATIVO  
Eduardo ARAGUNDI

SUBSECRETARIA DE EQUIDAD Y CALIDAD  
Mara BRAWER

INSTITUTO NACIONAL DE FORMACIÓN DOCENTE  
Graciela LOMBARDI

DIRECCIÓN NACIONAL DE FORMACIÓN DOCENTE E INVESTIGACIÓN  
Andrea MOLINARI

COORDINADORA DE INVESTIGACIÓN EDUCATIVA DEL INFED  
Ana PEREYRA



# PRESENTACIÓN

Durante el año 2010 en el Instituto Nacional de Formación Docente se desarrolló la primera etapa del dispositivo Escritura en Ciencias que contó con la participación de profesores de institutos de formación docente de las provincias de Buenos Aires, Catamarca, Chaco, Córdoba, Corrientes, Entre Ríos, Formosa, La Pampa, La Rioja, Neuquén, Salta, San Luis, Santa Cruz, Santa Fe, Santiago del Estero, Tierra del Fuego y Tucumán.

Inspirada en un programa del Sector Educación de la Oficina de UNESCO, Montevideo denominada *Docentes Aprendiendo en Red*, la propuesta de Escritura en Ciencias conforma una experiencia innovadora en nuestro país, reuniendo a 30 profesores de diferentes provincias que, a través de un trabajo grupal, llevan a cabo la escritura de 6 textos sobre contenidos de problemáticas actuales de las ciencias naturales.

Esta experiencia se desarrolló a lo largo de un año mediante un dispositivo semipresencial, en el cual los grupos de estudio se reúnen periódicamente orientados por coordinadores de escritura y asesorados por destacados investigadores de nuestro país, estudian e investigan sobre los temas. Los profesores llevan adelante un proceso de elaboración de los textos, mediante un uso intensivo de aula virtual realizando intercambios muy activos que tienen como meta específica producir libros sobre temas científicos, en un ejercicio de trabajo colaborativo.

Escritura en Ciencias pretende inscribirse dentro de las tendencias actuales de los dispositivos de formación docente, desplegando un *trayecto de formación* donde se implica la experiencia y la práctica de los participantes, en un proceso conjunto de construcción de conocimiento. Desde esta propuesta se asume que escribir profesionalmente es una práctica y un aprendizaje continuo, que supone un arduo trabajo, que se pone en juego en diferentes contextos sociales, y por eso, frente a cada nueva situación es preciso 'reaprender' las maneras de escribir propias del texto o disciplina que lo demanda.

El desarrollo actual de políticas de formación marca un tiempo de transición y de cambios que empiezan a modificar las lógicas de formación de los docentes. La característica de este dispositivo de Escritura en Ciencias traduce algunas de las propuestas actuales de formación en investigación, tomando en cuenta un conjunto

de variables que contribuyen a la formación sostenida de los profesores.

Es sabido que la escritura académica constituye un aspecto relevante de este proceso. Cuando se investiga, la escritura interviene de diferentes maneras y son variados los modos en que se requiere su uso: escribir planes de escritura, sintetizar lecturas, tomar notas, desarrollar ideas y conceptos, articular discusiones teóricas, son algunas de las muchas operaciones que se activan para la elaboración de un texto. Estas cuestiones se enlazan solidaria y necesariamente dentro del proceso que demanda la tarea y la producción intelectual. El trabajo alcanza otro nivel de complejidad cuando se asocia a un proceso de construcción colectiva, el cual supone algunas condiciones inexcusables para su realización:

- Los trayectos formativos, posibilidad de continuidad y persistencia sobre el trabajo propios y el de otros

Sabemos que durante mucho tiempo en la Argentina los espacios de formación se caracterizaron en propuestas a los docentes para que llevaran por su cuenta la aplicación de grandes principios o cuerpos teóricos que se desplegaban en esos espacios. Algunos rasgos predominantes de esta formación que marcaron todo un estilo de capacitación se reconoce en el predominio del formato 'curso' y la capacitación en cascada que, por efecto derrame, debía llegar desde un centro que se encuentra arriba hacia el lugar más lejano, por lo general, el espacio del aula.

Los problemas fundamentales que conllevan esas lógicas son la intermitencia, la fragmentación y superposición de perspectivas que en no pocos casos dificultan la aplicación que los docentes intentan hacer con las propuestas teóricas. Hay suficiente literatura sobre estas cuestiones y sus consecuencias, entre las más relevantes, la escasa huella que esas modalidades han dejado para las posibilidades de un trabajo enriquecedor con las prácticas docentes.

La idea de *Trayecto formativo* se torna superadora de algunas tradiciones asentadas en la realización de un curso. Posibilita el cumplimiento de procesos formativos y transcurre en una temporalidad de continuidad que permite a los protagonistas ser hacedores de una tarea o producción junto a otros.

- Énfasis en las necesidades prácticas de los docentes en los programas de formación

Paulatinamente se intenta poner en foco ‘las necesidades prácticas’ de los docentes como centro de los programas de formación en servicio. Esta tendencia muestra un movimiento opuesto a aquellas que se presentan alejadas de esas necesidades y que sobredimensionan aspectos teóricos con escaso vínculo con la producción durante la oferta de formación.

En esta propuesta, la práctica de la escritura se coloca en el centro, concebida más que como una *macrohabilidad* que hay que dominar, como una herramienta al servicio del pensamiento epistémico, que trabaja en la adecuación y reorganización de géneros discursivos primarios, para expresar saberes y conocimientos, en *géneros secundarios pertinentes* a situaciones comunicativas con otro nivel de complejidad. Argumentar, explicar, describir, ejemplificar, manejar el discurso de autoridad, referir a fuentes, de manera directa o indirecta, incluir y presentar una evidencia empírica son algunas de las operaciones específicas de este tipo de escritura. Constituyen estrategias puntuales que requieren aprendizaje, reflexión y desarrollo autónomo.

Escritura en Ciencias se convierte en un espacio y oportunidad para que los profesores puedan desarrollar la práctica de la escritura ligada a contextos muy específicos del campo científico.

- Los docentes son sujetos de saber y corresponsables de los procesos de formación

Las posiciones llamadas *aplicacionistas*, que conciben a los profesores como prácticos, ejecutores de algún tipo de teoría, les otorgan un lugar subsidiario y subalterno que termina invisibilizando capacidades y alternativas de un trabajo más creativo vinculado con el conocimiento.

Un presupuesto que se encuentra en la base de las nuevas propuestas, además de verificar la ineficacia de las que hemos mencionado, es la idea de que los docentes son sujetos de saber y corresponsables de los procesos de formación. Y este reconocimiento no es menor y constituye una pieza clave para comprender el sentido de las políticas actuales de formación docente.

La idea que los profesores pueden constituirse en autores de textos que abonen espacios formativos implica un cambio de su estatuto en la manera de concebir su trabajo. Esta es una nota distintiva del proyecto de Escritura en Ciencias y uno de los propósitos fundamentales. Este cambio de estatuto sobre su trabajo conlleva también la idea de la corresponsabilidad en sus procesos de producción y formación.

- El desarrollo de la práctica de escribir a lo largo de todo un proceso de formación

Si bien existe consenso sobre la puesta en foco de las necesidades prácticas de los docentes, es preciso tener en cuenta que este deseo presenta una serie de matices a la hora de traducirlo a propuestas concretas para la formación continua. Las propuestas de formación continua requieren para el desarrollo profesional atender a cuestiones de ¿Cómo hacer aparecer la tarea y la realización de una producción a lo largo de todo un proceso de formación que, sin desestimar cuestiones teóricas, ponga especial énfasis en las maneras prácticas de resolverlo?

Inspirado en esas ideas precedentes, Escritura en Ciencias concibe a la producción de los textos como el hilo articulador y conductor de todo el proceso del trayecto formativo. Todos los otros elementos del dispositivo colaboran a modo de andamiaje para que cada producción pueda ser elaborada.

- El desafío de encontrar los mecanismos institucionales para que los docentes se constituyan en fuerza renovadora de las prácticas.

Existen numerosas propuestas de formación de modalidades presenciales o semi presenciales donde los docentes cuentan con tutorías y diferentes andamiajes que colaboran como sostén y apoyatura durante todo el proceso para favorecer la producción. Pero, como sostiene Flavia Terigi, constituye todo un desafío “encontrar los mecanismos institucionales para que esos docentes se constituyan en una fuerza renovadora de las prácticas”.

En esta propuesta, el reto se resuelve mediante un trabajo de articulación entre investigadores con los grupos de trabajo y las intervenciones de los orientadores de escritura, que entran en un andamiaje artesanal que procura leer y atender todo el tiempo a las necesidades de construcción que plantean los equipos de profesores. Esta actividad propone la idea de una estructura abierta y dinámica que se rearma continuamente, sin desestimar los propósitos y objetivos generales de esta línea de trabajo. Se trata de dispositivos que operan con otra temporalidad y que a simple vista, se tornan más costosos económicamente. No obstante, esta aparente “lentitud” que acompaña intercambios muy activos, es la que genera condiciones para horadar y dejar huella perdurable y transformadora en las experiencias profesionales de los docentes.

- Las producciones combinan procesos investigativos y formativos

La confluencia entre investigadores, docentes y coordinadores de escritura reunidos en este dispositivo del INFD implica una apuesta por superar la escisión entre investigación y formación docente que ha caracterizado durante muchos años los modelos de la formación pedagógica. El vínculo de cooperación y acompañamiento a las producciones entre los distintos perfiles involucrados en el dispositivo de la primera edición, superó con creces las expectativas iniciales del equipo del INFD que generó el dispositivo.

Las producciones que se presentan a continuación expresan la potencialidad de un modelo hermenéutico de la formación docente frente a las limitaciones de concepciones aplicacioncitas o academicistas.

Los textos abordan los siguientes temas:

- 1- Los plaguicidas, aquí y ahora
- 2- H<sub>2</sub>O en estado vulnerable
- 3- Del gen a la proteína
- 4- La multiplicidad de la vida
- 5- Cerebro y memoria
- 6- La evolución biológica, actualidad y debates

Escritura en Ciencias trabaja por el desarrollo de la escritura profesional de los docentes sobre la convicción de que los profesores convocados manifiestan su capacidad para constituirse en autores de textos escritos vinculados con las ciencias, destinados a la consulta y estudio en las aulas de la formación.

Es nuestro deseo que estos textos producidos al calor de estos fecundos procesos de intercambios sean de ayuda y consulta permanente para profesores y estudiantes de Institutos y escuelas de nuestro país.

**Ana Pereyra**, Coordinadora del Área de Investigación del INFD  
**Liliana Calderón**, Coordinación de Escritura en Ciencias, INFD



ESCRITURA EN CIENCIAS

# ***DEL GEN A LA PROTEÍNA***

Autores:

Mónica Mardarás  
Verónica Viviana Corbacho  
Lucía Dina Galotti  
Analía Gladys Maggi

Orientación y asesoramiento científico: Alberto Kornblihtt y Manuel Muñoz

Coordinación de Escritura: María Carrió

Del gen a la proteína / Verónica Viviana Corbacho ... [et.al.]. - 1a ed. - Buenos Aires: Ministerio de Educación de la Nación, 2012.

148 p. : il. ; 20x16 cm. - (Escritura en ciencias)

ISBN 978-950-00-0924-9

1. Ciencias Naturales.Enseñanza. I. Corbacho, Verónica Viviana  
CDD 507

Autores: Mónica Mardarás, Verónica Viviana Corbacho, Lucía Dina Galotti,  
Analía Gladys Maggi

Coordinación general: Ana Pereyra, Liliana Calderón

Revisión general del contenido: Antonio Gutierrez

Colaboración: Gabriela Giordano, Renata Colella

Profesores-coordinadores de escritura: María Carrió

Orientación y asesoramiento científico: Alberto Kornblihtt y Manuel Muñoz

Diseño editorial: Renata Kándico, Gaston Genovese [www.estudiolate.org](http://www.estudiolate.org)

Hecho el depósito que establece la ley 11.723

“Los textos de este libro son copyleft. El autor y el editor autorizan la copia, distribución y citado de los mismos en cualquier medio y formato, siempre y cuando sea sin fines de lucro, el autor sea reconocido como tal, se cite la presente edición como fuente original, y se informe al autor. La reproducción de los textos con fines comerciales queda expresamente prohibida sin el permiso expreso del editor. Toda obra o edición que utilice estos textos, con o sin fines de lucro, deberá conceder estos derechos expresamente mediante la inclusión de la presente cláusula copyleft.”

Fecha de catalogación: 06/03/2012

# ÍNDICE

Introducción .....	17
Capítulo I: ¿Cuál es el material hereditario? .....	21
Maggi, Analía	
Un tiempo de profundos cambios .....	25
De factores a genes y cromosomas .....	27
En el camino del ADN .....	30
¿Proteínas o ADN? .....	33
El Desafío de Proponer un Modelo .....	39
¿Y... dónde está el ADN? .....	41
El ADN mitocondrial .....	43
ADN mitocondrial, las abuelas y nuestra historia .....	49
Aplicaciones del conocimiento del DNA mitocondrial .....	51
Capítulo II: ¿Cómo funcionan los genes? .....	55
Prof. Mónica Mardarás	
Proteínas, fenotipo y genotipo .....	56
Algunos principios bioquímicos para comprender el camino que llevó a establecer la relación entre los genes y las proteínas .....	58
La descripción de una enfermedad genética en humanos: el primer paso .....	62
El establecimiento de la relación entre un gen y un producto químico .....	64
Un gen una enzima .....	66
Colinealidad e Hipótesis de la secuencia .....	71
El papel del ARN .....	72
El dogma central de la biología molecular .....	74
¿Cómo fluye la información dentro de la célula? .....	75
El código molecular de la vida: el código genético .....	77
Capítulo III: Cuándo y cómo se expresan los genes .....	85
Lucía Galotti	
La regulación génica en los organismos eucariotas .....	91
Las proteínas que regulan la transcripción .....	93

Relación entre el ADN y las proteínas reguladoras .....	96
Los genes están fragmentados en las células eucariotas .....	101
El splicing o “corte y empalme” del ARN .....	108
Corte y empalme (“splicing”) alternativo: amplificación de la información genética .....	110
<b>Capítulo IV: ¿Qué desafío nos plantea el conocimiento del genoma?</b> .....	<b>115</b>
<i>Verónica Corbacho</i>	
Breve recorrido por algunos de los principales cambios .....	116
El determinismo biológico y sus consecuencias .....	121
Cambios en la forma de producción de conocimientos .....	122
¿Qué significado tuvo la secuenciación completa de todos los genes de un individuo? .....	125
¿Qué tenemos en común ratones, seres humanos y levaduras? .....	126
¿Cómo se descifró la secuencia completa de genes? ¿Qué impacto provocó sobre el conocimiento de los genes y su funcionamiento? .....	130
¿Cómo se origina la diversidad en el proceso evolutivo del genoma? .....	133
Cambios sociales y éticos .....	134
El modelo de gen como producto dinámico .....	137
 Palabras Finales .....	 140
Bibliografía .....	124

# INTRODUCCIÓN

En el mes de junio del año 2010, se realizó una convocatoria para profesores de institutos de formación docente para formar parte de un proyecto denominado “escritura en ciencias”. Cada uno de los participantes elegimos algunas temáticas de preferencia entre un listado que incluía todas las opciones que forman parte de esta colección. En el primer encuentro, se fueron despejando nuestras dudas iniciales. La invitación del INFD implicaba la escritura de un libro destinado a los institutos de formación docente. A nuestro grupo le fue asignado un probable título “*del gen a la proteína*”. La primera orientación acerca de cómo encarar esta tarea titánica, al menos para nosotras, fue una conferencia del Dr. Alberto Kornblitt, la cual nos planteó algunos hilos conductores posibles a ser abordados en nuestro libro.

Cuando en nuestro primer encuentro discutíamos sobre como encarar el desafío de escribir un libro sobre genética, quedo rápidamente en claro a quién iría dirigido, nuestros alumnos de los Institutos de Formación Docente. Tan claro estuvo este acuerdo entre nosotras que siempre tuvieron un lugar en torno a nuestra mesa de trabajo, o en nuestros mail cuando discutíamos algo y plateábamos “...teniendo presente a mis alumnos.....”

El otro acuerdo al que llegamos fue que no se trataría de un libro de historia ni de un tratado de genética. El énfasis estaría puesto en recorrer y reconstruir algunos experimentos claves para tratar de comprender cuál era el impacto de los nuevos conceptos de genética y cómo se modificaron los modelos explicativos acerca de los genes y sus funciones, poniendo de manifiesto el carácter dinámico de las ciencias. Este carácter dinámico estuvo presente cuando pensamos a la ciencia como un conjunto de procesos sociales de producción de conocimiento y no como cúmulos de descubrimientos.

Como objetivo de trabajo nos planteamos dar cuenta de los cambios de los modelos explicativos y de las evidencias que les dan sustento. El hilo conductor que plasmaríamos sería el recorrido histórico desde las primeras preguntas e ideas acerca de la herencia, hasta las explicaciones sobre este proceso, aportadas por la biología molecular.

Tener presente el eje histórico, el eje epistemológico y la relación entre la ciencia y sociedad, actuó como andamiaje para la producción de los primeros borradores, que fueron transitados una y otra vez. Y para seguir sumando acuerdos todas teníamos en claro que queríamos asomarnos al estado actual del conocimiento, para visualizar el conocimiento científico en permanente reconstrucción. La idea era poder plasmar en el texto algo de “lo nuevo” sobre lo que está trabajando, de lo actual.

Este libro no pretende ser un tratado de genética. ¿Cuál es entonces su aporte original, diferente? Pretende dar una mirada de los procesos de construcción del conocimiento científico en su contexto de producción. No pretendemos por lo tanto, un abordaje disciplinar exhaustivo, ya que el foco está puesto en el reconocimiento de los procesos de producción de conocimientos de la ciencia mas que en sus productos.

En el primer capítulo los contenidos que abordamos se enfocaron en las preguntas ¿qué es la herencia? ¿Cuál es el material hereditario? Esto implicó la necesidad de tener presente las concepciones sobre de herencia a lo largo del tiempo, cómo fueron cambiando y cómo se develó cual es el material portador de la información genética. Paralelamente también nos enfocamos en la pregunta sobre cuáles serían las bases físicas y químicas de la herencia, en qué estructuras celulares encontramos ese material genético, cuál es su composición química. Finalmente, hacemos una reflexión sobre el ADN que no está en el núcleo, la especificidad que tiene el material genético mitocondrial y las implicancias sociales asociadas al conocimiento del ADN mitocondrial.

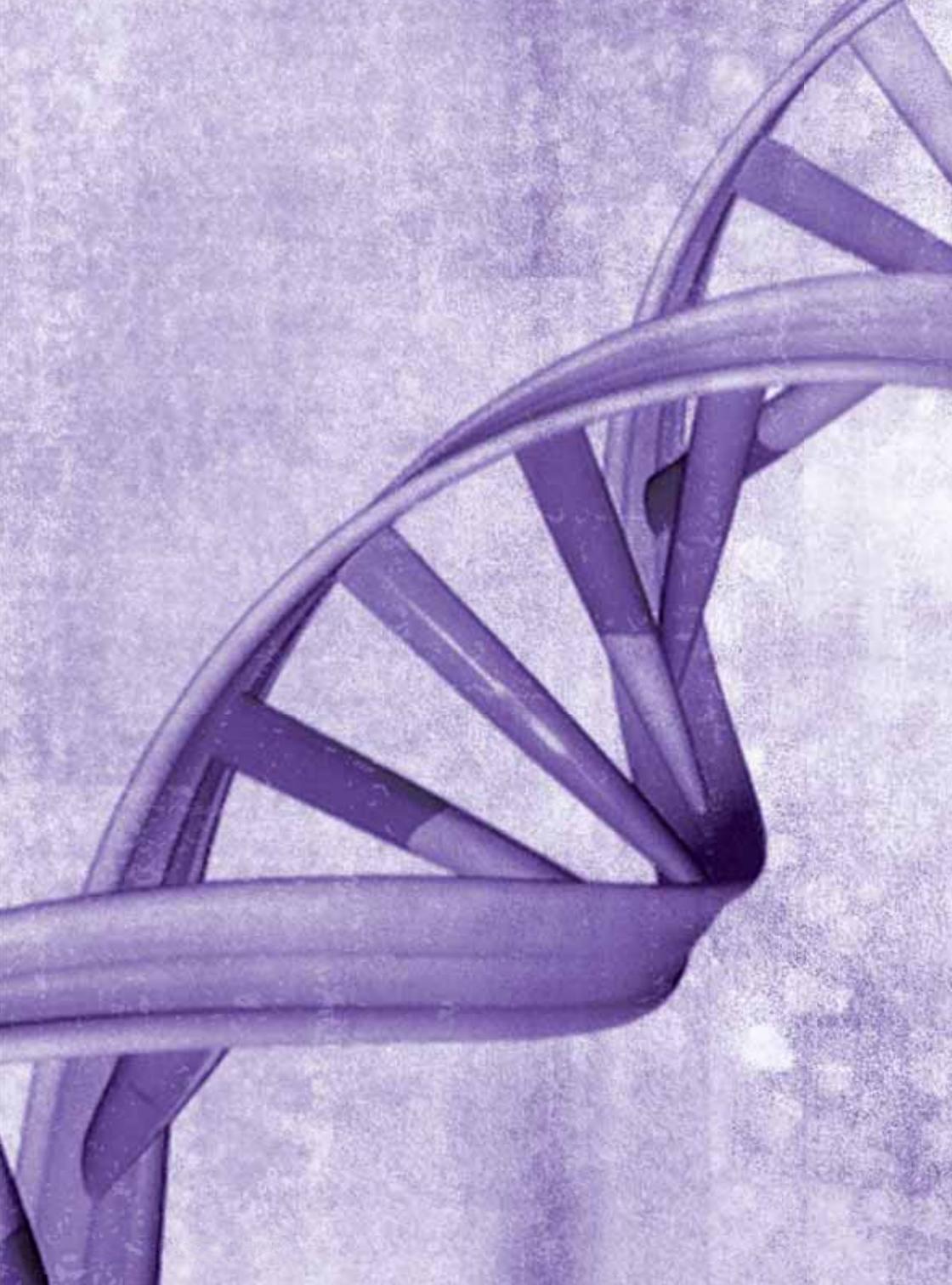
En el segundo capítulo se desarrollamos los acontecimientos que dieron lugar al establecimiento de la relación entre los genes y sus diversos productos químicos. ¿Cómo funcionan los genes? ¿Cuáles son los mecanismos que los relacionan con el funcionamiento de la célula, con la reproducción y con las características fenotípicas? Es decir todos aquellos sucesos que develaron cómo se establece el flujo de la información, la relación entre genes y proteínas, y el desciframiento del código genético

En el 3 capítulo también realizamos un recorrido histórico que da cuenta como se llegaron a comprender los procesos que hacen que determinados genes estén funcionado en una célula, tanto en las distintas etapas del desarrollo como en distintas células de un organismo pluricelular o ante la interacción con el medio en una misma célula. Es decir, intentamos contestar la pregunta de cómo una célula

responde a los cambios del ambiente y cuáles son los mecanismos genéticos implicados la diferenciación celular. Asimismo damos cuenta de cuál fue el camino que llevó a la construcción de esos modelos explicativos.

En el cuarto capítulo realizamos un recorrido por algunas de las cuestiones que se plantearon en los capítulos precedentes, y se ponen de manifiesto algunos de los principales cambios en las ideas acerca de la noción de gen. En este capítulo nos propusimos discutir fundamentalmente tres aspectos que consideramos medulares, la modificación en los conocimientos biológicos, los cambios en la ciencia y sus formas de producción en relación con la comprensión de la naturaleza, las características y el contenido de la información genética y los cambios sociales que promueven los conocimientos acerca de los genes y su funcionamiento.

Esperamos que este libro sea una contribución a la comprensión del camino recorrido hasta el momento en relación con los genes y la forma en que funcionan, pero que también abra la mirada hacia los procesos de construcción del conocimiento y de las explicaciones científicas. Consideramos que puede ser un aporte útil e interesante, tanto para los formadores de docentes como para los alumnos de los institutos, que se abocarán a la noble tarea de enseñar Ciencias y de despertar vocaciones científicas.



# CAPITULO I

## ¿Cuál es el material hereditario?

Maggi, Analía

En los primeros años del siglo XX William Bateson (1861- 1926) propuso el término *Genética* para dar nombre al nuevo campo de la Biología dedicado a investigar las reglas gobernantes de la herencia y la variación entre individuos. Este autor sostenía que el proceso por el cual se transmiten a un hijo las semejanzas con sus progenitores era tan oscuro y misterioso como el origen de los relámpagos lo fue para el hombre primitivo.

A pesar de que la genética es una ciencia relativamente joven, ha tenido un amplio impacto en nuestra vida cotidiana, la que fue su pregunta central durante muchos años ¿Por qué hay similitudes y diferencias entre organismos genealógicamente relacionados? ha estado presente a lo largo de la historia del conocimiento humano. El cultivo de plantas y la domesticación de animales que dio origen de alguna forma a la agricultura primitiva y a las primeras colonias sedentarias hace más de 10.000 años, brindan las primeras evidencias de que los seres humanos comprendían algunos aspectos básicos de la herencia.

La transmisión de características de una generación a la otra es lo que se conoce como herencia biológica, y fue probablemente uno de los primeros fenómenos advertidos con carácter científico por el hombre. El reconocimiento de este fenómeno y su aplicación a la cría selectiva de animales y cultivos de vegetales condujo a la aparición de los primeros animales domésticos y plantas cultivadas ¿fueron acaso estos los primeros éxitos biotecnológicos?

Una de las primeras teorías sobre la herencia fue propuesta por Hipócrates (460- 377 a.C.) y hoy es conocida como “Pangénesis”. Esta teoría trataba de explicar cómo los niños heredaban características de sus progenitores. Sostenía que pequeños elementos representativos de todas partes del cuerpo paterno se concentraban en el semen y que estos elementos se transmiten a la progenie en el momento de la concepción, para luego dar origen a las partes correspondientes en el embrión. En este momento se asociaba la pangénesis a la idea de la herencia de características adquiridas, según la cual los rasgos adquiridos por un individuo durante su vida se transmitía a la descendencia.

Un siglo después, Aristóteles (384-322 a.C.) rechazaba la teoría de Hipócrates planteando que de ser cierto de padres mutilados nacerían hijos mutilados y esto no ocurría. Otra observación que realizó era que a veces algunos individuos tenían rasgos más parecidos a uno de los abuelos o a otro ancestro más que al propio progenitor, entonces ¿cómo se explicaba la herencia?

Según Aristóteles el semen paterno contenía un plan con instrucciones precisas para modelar la sangre “informe” de la madre, es decir tenía presente la necesidad de la transmisión de información para el desarrollo embrionario. Consideraba que tanto los machos como las hembras contribuían en la descendencia y que existía una controversia en el aporte de ambos sexos (Pierce, 2005).

Para Aristóteles lo que se hereda no son los rasgos en sí mismos, sino la potencialidad de producirlos. Estas explicaciones se asemejan extraordinariamente a la idea de gen que actualmente tenemos, pero en su tiempo fue una propuesta revolucionaria a la que no se le dio toda la importancia que requería (Novo Villaverde, F J, 2007).

En una época donde eran totalmente desconocidas las nociones básicas sobre reproducción sexual, meiosis o la existencia de gametas, resultaba difícil de explicar la concepción de herencia a lo largo de generaciones. Quizás esto en parte contribuyó a que la propuesta de Aristóteles quedara en el olvido durante más de veinte siglos.

De la misma manera que el telescopio de Galileo amplió las fronteras de observación desde nuestro planeta al permitir una exploración más detallada del cosmos revolucionando así los estudios de Astronomía, el microscopio amplió la frontera intracelular a los ojos admirados ante mundos insospechados, provocándose una revolución en el contexto de los estudios de los seres vivos.

Hacia mediados del siglo XVII Anton van Leeuwenhoek, un comerciante de telas holandés sin ninguna preparación científica, utilizando microscopios simples de

fabricación propia describió protozoos, bacterias, glóbulos rojos y en 1677 menciona por primera vez los espermatozoides en una carta enviada a la Royal Society, en la que habla de *animálculos* muy numerosos en el esperma (Porter, 1976).

En la misma década en que Leeuwenhoek comienza a mencionar a los espermatozoides, su coterráneo el médico Reinier de Graaf describió por primera vez el folículo ovárico, la estructura en la cual se forma el óvulo humano. De Graaf propuso que los nuevos individuos se preformaban dentro del cuerpo materno y que el padre solo proveía la “chispa vital” necesaria para comenzar el desarrollo del embrión. Recién en 1827, el embriólogo ruso Karl Ernst von Baer (1792-1876), identificó el *óvulo* o célula huevo de los mamíferos, visible sólo a través del microscopio.

En esta época era aceptada la teoría del Preformacionismo o preformista para explicar la herencia. Esta teoría sostenía que el desarrollo del embrión no es más que el crecimiento de un organismo que ya estaba preformado, según la misma teoría todas las generaciones de la humanidad se encontraban preformadas, unas dentro de otras, como una sucesión infinita de muñecas rusas. El nombre de Homúnculo se la daba al diminuto organismo, proviene del latín *homunculus* y significa ‘hombrecillo’. Esta línea de pensamiento está representada por el famoso dibujo hecho en 1694 por Nicolas Hartsoeker.

A principios del siglo XIX los partidarios del preformacionismo se dividían en dos grandes grupos: aquellos que defendían que el organismo preformado se encontraba en los espermatozoides (*animalculismo* o *espermistas*) y aquellos que lo situaban en el óvulo sin fecundar (*ovismo*). Ambas explicaciones implicaban que todos los rasgos provenían de un solo progenitor (Pierce, 2005).

A mediados del siglo XIX los conceptos de los ovistas y espermitas empezaron a ser dejados de lado a partir de los trabajos de jardineros que buscaban producir nuevas plantas ornamentales. Los cruzamientos artificiales de estas plantas mostraron que independientemente de qué planta suministrara el polen y cuál contribuyera con el gameto femenino, ambas contribuían a las características de la nueva variedad.

Darwin en su libro *Variación de las plantas y los animales domesticados*, presentado en 1856, daba a conocer la teoría de la Pangénesis para explicar la herencia. En realidad era una renovación de la pangénesis sostenida por los griegos quienes proponían que ciertas partículas nombradas como “gemulas” o “embriones”, que se desprendían de cada parte del cuerpo, permitían que el cuerpo se reprodujera a sí mismo. Darwin hace su propuesta indicando que las células del cuerpo de un

organismo emiten pequeñas gemulas, que se comportan como entidades independientes que son almacenadas en los órganos reproductores y en el momento de la fecundación, la unión de las gametas provoca la mezcla de las gemulas de los dos progenitores. Incluso proponía que las gemulas podían permanecer latentes saltando su manifestación generaciones, y al activarse se manifestarían los caracteres ancestrales. Con este modelo explicativo ya se separaban dos niveles, por un lado el de la manifestación del carácter y por el otro el de su transmisión. De esta manera se sentarían las bases para la introducción de los conceptos de fenotipo y genotipo propuestos unos 50 años más tarde por el botánico danés Whilhen Johannsen. Esto será retomado y profundizado en el próximo capítulo.

La herencia mezcladora, fue la hipótesis más ampliamente sostenida para explicar la herencia en el siglo XIX. De acuerdo con esta hipótesis

*“cuando se combinan los óvulos y los espermatozoides, se produce una mezcla de material hereditario que resulta en una combinación semejante a la mezcla de dos tintas de diferentes colores. Según esta hipótesis, podría predecirse que la progenie de un animal negro y de uno blanco sería gris y que, a su vez, su progenie también lo sería, pues el material hereditario blanco y negro, una vez mezclado, nunca podría separarse de nuevo.” (Curtis, 2000).*

Hacia fines del siglo XIX August Weismann (1834-1914), quien fuera discípulo de Darwin, creía que la pangénesis no era correcta y para probarlo diseñó y llevó a cabo un experimento donde le cortó la cola a ratones durante 22 generaciones sucesivas, observando que en ningún caso el tamaño de las colas disminuía al nacer. Con este experimento se sepultó la teoría de los caracteres adquiridos.

Teniendo en cuenta los avances científicos de estos años (la existencia de células germinales, la importancia del núcleo y la existencia de cromosomas), Weismann hizo un aporte teórico, casi intuitivo, con la elaboración de la Teoría del Germoplasma como material hereditario. Diferenciaba entre el “plasma germinal”, que se trasmite de generación en generación, y el “plasma somático” que constituye el cuerpo de los organismos. Ambos factores serían independientes de modo que, cualquier modificación que sufriera el plasma somático no sería transmitida a los descendientes.

Según George Beadle en su libro *Introducción a la Nueva Genética* “Weismann afirmaba que debía existir algún tipo de división nuclear mediante la cual cada célula

hija recibe sólo la mitad del plasma germinal de la célula progenitora". Su conclusión era que la herencia se transmitía únicamente a través de las células germinales. Su propuesta no tenía comprobación experimental.

## Un tiempo de profundos cambios

La segunda mitad del siglo XIX se constituyó en una época de generación de contenidos e innovación en las técnicas para las Ciencias Naturales, estableciéndose los fundamentos para el desarrollo de diferentes disciplinas como la citología, la citogenética, la embriología, la genética entre otras tantas.

La vida era concebida desde un enfoque mecanicista, reducida la célula a sus partes constitutivas, esto permitía una mirada estática de las células, *in vitro*, como si hoy nos contentáramos con conocer a una persona solo a partir de una foto de la misma. Sin embargo se esclarecieron muchos procesos elementales de la fisiología celular (enzimas, rutas metabólicas, localización intracelular de proteínas y orgánulos).

Aristóteles ya había indicado que la herencia biológica implicaba alguna forma de transmisión de padres a hijos. Hubo que esperar varios siglos hasta que Gregor Mendel (1822-1884) postulara la existencia de entes de naturaleza química desconocida e inmutables, responsables de la transmisión de los caracteres hereditarios, a los que llamó "factores". Estos entes son los hoy conocidos genes.

Como ocurre frecuentemente con los descubrimientos científicos la importancia de sus aportes no fueron apreciados en su momento, tuvieron que ser redescubiertos a principio del siglo XX para que a Mendel se le pasara a considerar el padre de la genética.

Con el perfeccionamiento de los microscopios que pasan de ser simples a compuestos (de tener una sola lente se pasó a usar una serie de lentes) se aumenta el poder de resolución, y también se combinan lentes de diferentes tipos de cristales, y por tanto con diferentes índices de refracción, con lo cual se logran observaciones cada vez más detallada hacia el interior celular. Otra modificación metodológica fue la introducción de los métodos de fijación y coloración, en especial para la tinción en vivo: ácido carmínico, anilinas, hematoxilina y azul de metileno. La técnica del aceite de inmersión, que permite la observación con mayor aumento, fue introducida en la década de 1870. Estas mejoras tecnológicas fueron muy im-

portantes porque contribuyeron al reconocimiento de las estructuras en el interior celular porque las organelas celulares se tiñen de manera específica con alguno de los diversos colorantes.

Ernst Haeckel, zoólogo alemán, fue quien en 1866 sugirió la idea de que el núcleo era de enorme importancia en la transmisión de características de una generación a la siguiente. Haeckel fue el primer científico en distinguir entre seres unicelulares y pluricelulares, entre protozoos y metazoos. Su nombre lo encontramos en libros de ecología por haber sido quien introdujo precisamente este término como una derivación de la palabra griega *oikos* (casa), o en textos de zoología, por sus aportes en el estudio de los invertebrados como las medusas, radiolarios, sifonóforos y esponjas.

Cuando Mendel murió se estaban describiendo, por un lado los cromosomas presentes en el núcleo celular y por otro, la presencia de una sustancia no conocida hasta ese momento, la nucleína, cuya descripción química tuvo que esperar hasta la segunda década del siglo XX, al igual que la asociación de estos con su función.

Hacia el año 1880 uno de los pioneros en la investigación del núcleo celular era Walter Flemming, médico de origen alemán. Flemming utilizó colorantes derivados de la anilina, logrando una técnica de tinción que permitió la observación en el núcleo celular de una red fibrosa, que absorbía fuertemente la tintura, a la que llamó **cromatina** o “material susceptible de tinción”. Él mismo planteaba que esta palabra tendría que ser usada hasta que se encontrara cuál era su naturaleza química. Lo que realmente había descubierto Flemming eran los cromosomas, que fueron nombrados así en 1888 por Heinrich Waldeyer a partir de dos términos griegos, *khroma* (color) y *soma* (cuerpo) o sea “cuerpo coloreado”.

Al mismo tiempo Walter Flemming observó, por primera vez, células que se dividían, en el cartílago de embriones de salamandra, y realizó una primera descripción de este proceso. Investigó la división celular y la distribución de los cromosomas. Observó que durante el proceso de división celular la cromatina formaba cuerpos filiformes y sobre la base de muchas observaciones detalladas de diferentes divisiones celulares, logró inferir correctamente la secuencia de los movimientos de los cromosomas durante la división celular proceso al que denominó **mitosis** a partir de la palabra griega *mitos* (hebra). Los resultados de sus estudios fueron publicados en 1882 bajo el título *Substancia Celular, Núcleo y División Celular* y fueron los que permitieron sostener las ideas que los cromosomas estaban relacionados con la herencia pero se desconocía cómo y su composición química.

En 1885 el citólogo y embriólogo belga Edouard Van Beneden descubrió lo que Weismann postulaba como “división nuclear” cuando pudo constatar que los cromosomas no duplicaban su número en el momento en que se formaban las células germinales. Por lo tanto cada óvulo y espermatozoide tiene la mitad del número de cromosomas del que poseen las células somáticas. A este proceso lo denominó **meiosis**, el término deriva de una palabra griega que significa “hacer menos”. Un par de años más tarde Van Beneden realizó un aporte fundamental cuando descubrió que el número de cromosomas era constante para cada especie en sus células corporales y que en las células germinales de cada organismo el número de cromosomas era igual a la mitad que en las células corporales o somáticas.

## De factores a genes y cromosomas

Gregor Mendel pensaba que los factores (posteriormente llamados genes) que determinan la expresión de un determinado carácter, se segregan y distribuyen al azar generación tras generación. Los citólogos de principios del siglo veinte reconocieron la correspondencia entre estos postulados y el comportamiento de los cromosomas durante la meiosis (división celular que da origen a los gametos).

En 1902, Theodor Boveri, citólogo alemán, llegó a la conclusión de que los cromosomas son distintos unos de otros, planteó la individualidad de los cromosomas, que son orgánulos permanentes que se condensan durante la mitosis y permanecen difusos durante la interfase (período que separa dos mitosis sucesivas), por otro lado también estableció que todos son necesarios para dar lugar a un embrión viable. Sus estudios se centraron en estudios con embriones de erizos de mar en los que pudo observar formas anormales de desarrollo cuando el número de cromosomas no era el adecuado.

En la misma época pero en forma independiente un estudiante del doctorado de la Universidad de Columbia, EEUU, Walter Sutton (1877-1916) se dedicó a estudiar la producción de espermatozoides en los saltamontes *Brachystola magna*, demostrando por primera vez que los cromosomas se encuentran en pares homólogos (porque tenían una morfología similar) en las células somáticas y que los gametos tienen una sola copia de los cromosomas procedente de uno de los progenitores. Sus estudios citológicos le permitieron inferir que los cromosomas mantienen sus características específicas a lo largo de toda la vida del organismo.

Sutton fue quien más evidencias experimentales produjo de forma tal que pudo relacionar los procesos citológicos con las leyes de Mendel. Al final de una de sus publicaciones presentaba su hipótesis de la siguiente manera: *"Finalmente llamó la atención sobre la probabilidad de que la asociación de cromosomas paternos y maternos en parejas y su separación subsiguiente durante la división reduccional como se indica anteriormente, puede constituir la base física de la ley Mendeliana de la herencia"* (Sutton, 1902). Su contribución permitió explicar las bases físicas del comportamiento de los factores mendelianos, es decir que los factores que se transmiten de una generación a otra están localizados en los cromosomas.

Como ocurre frecuentemente a lo largo de la historia distintos científicos investigan en forma independiente un mismo tema llegando casi simultáneamente a las mismas conclusiones. En este caso ambos, Boveri y Sutton, pudieron establecer la correlación entre las unidades hipotéticas con estructuras visibles llamadas cromosomas. Es decir establecieron la similitud en el comportamiento de los factores hereditarios de Mendel (hoy conocidos como genes) y los cromosomas en la formación de las gametas en la meiosis. Con el descubrimiento de los cromosomas aquello que Mendel denominó factores cobró una entidad física, ya que se los podía ubicar en los cromosomas presentes en las células. Esto hallazgos permitieron proponer la teoría Cromosómica de la Herencia.

Tengamos presente que lo que hoy nos parece obvio fue sorprendente en el contexto de una época en que se consideraba al gen como una idea abstracta y el cromosoma era solo un cuerpo con función desconocida que se tenía fácilmente y del cual no se tenía ni idea de cuál era su composición química.

De esta manera a principios del siglo XX se establecía una conexión entre la citología y la genética. Aunque no todos los biólogos aceptaron inicialmente la teoría Cromosómica de la Herencia. Algunos buscaban sus debilidades para desacreditarla, durante muchos años se produjeron controversias sobre su validez. Una de las objeciones fue que durante la interfase no podían ser identificados los cromosomas, "Boveri realizó estudios detallados sobre la posición de los cromosomas antes y después de la interfase, para defender que los cromosomas mantienen su integridad aunque en ese momento fueran citológicamente invisibles" (Griffiths, 2002).

Hubo que esperar unos años para contar con pruebas concretas que sostuvieran la teoría Cromosómica de la Herencia, porque hasta aquí todo estaba basado en correlaciones. La demostración formal llegaría años más tarde gracias al trabajo

de investigación de Morgan, Sturtevant, Muller y Bridge en una especie de moscas *Drosophila melanogaster*. Durante años estos genetistas fueron estableciendo la posición en los cromosomas de los genes responsables de distintos caracteres.

La acumulación de evidencias citológicas sobre el comportamiento de los cromosomas durante la formación de los gametos y el descubrimiento de los cromosomas sexuales permitió establecer una relación causa-efecto entre cromosomas particulares y un carácter concreto (el sexo), lo que abrió las puertas al reconocimiento de una relación general entre cromosomas y caracteres biológicos, finalmente establecida en la teoría Cromosómica de la Herencia.

En 1902 Clarence Ervin McClung (1870-1946), de la universidad de Kansas, estudiaba la espermatogénesis, proceso de producción de espermatozoides, en la chinche *Pyrrhocoris* y observó que un cromosoma “extra” sin pareja, tenía un comportamiento diferente, ya que no se apareaba con otros cromosomas durante la meiosis. Debido a ello, solo la mitad de los espermatozoides tenía este cromosoma al que llamó “cromosoma accesorio” o “cromosomas X” nombre que llegaría hasta la actualidad. Lo observado le hizo suponer que los espermatozoides que tenían este cromosoma accesorio, X, producirían individuos masculinos, y que por lo tanto este cromosoma accesorio tendría algo que ver con la determinación del sexo.

Hacia 1905, Nettie Maria Stevens (1861-1912) y Edmund Beecher Wilson (1856-1939) describieron simultánea e independientemente los cromosomas sexuales X e Y en distintas especies de insectos. Por otro lado Wilson, determinó la presencia de un cromosoma X y uno Y en las células masculinas de varios organismos mientras sostenía que las células femeninas poseen dos cromosomas X. Esto no podía solamente quedar en una descripción morfológica, la cuestión clave fue determinar cuál era la relación entre estos cromosomas y la determinación de uno u otro sexo. Stevens sugirió que existía relación entre los diferentes tipos de cromosomas y la determinación del sexo, mientras que Wilson consideró que las características sexuales podrían deberse a diferencias en el grado o intensidad de la actividad cromosómica, pero no a las diferencias entre los cromosomas. (Delgado Echeberria, 2003).

La determinación cromosómica del sexo no fue aceptada hasta después de 1910, cuando Thomas Hunt Morgan (1866-1945) trabajando en la Universidad de Columbia, en su laboratorio que era llamado la “habitación de las moscas”, observó el caso de la herencia de la mutación que confieren color blanco a los ojos de la mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*. Lo que pudo apreciar Morgan es

que el patrón de la herencia de esta mutación dependía del sexo del progenitor que transmite la mutación. Él observó que en las sucesivas generaciones esta mutación aparecía casi exclusivamente en los machos, lo que le permitió inferir la relación entre la transmisión de este “factor mendeliano” y la transmisión de los cromosomas sexuales, diciendo que el factor determinante del color de ojos estaba contenido en los cromosomas sexuales X. De este modo asoció, por primera vez, un factor mendeliano a un lugar en un cromosoma. No le quedaron dudas sobre la validez de la teoría cromosómica de la herencia.

El mérito de Morgan radica entonces en haber hecho coincidir las leyes abstractas de la herencia formuladas por Mendel con los datos de la biología celular. Quedó claro desde entonces que los factores mendelianos tenían una existencia concreta. Estos experimentos son hoy considerados unos clásicos y propiciaron que en 1933 fuera reconocido el trabajo de Morgan con el Premio Nobel. Alfred Henry Sturtevant (1891-1970), alumno de Morgan, observó que algunos genes tienden a heredarse juntos, colocados en forma lineal sobre el cromosoma y en función de esto elaboró el primer mapa genético que fue el de la mosca *Drosophila melanogaster*.

## En el camino del ADN

El hoy reconocido ADN, Ácido Desoxirribonucleico, fue aislado por primera vez por el bioquímico suizo Friedrich Miescher, durante sus estudios posdoctorales que en 1869 realizaba en la ciudad de Tubinga, en el primer laboratorio del mundo dedicado exclusivamente al estudio de la bioquímica bajo la dirección de Friedrich Hoppe-Seyler (quien acuñó el término «biochimie»). Ni en sus noches de insomnio pudo Miescher haberse imaginado la relevancia de la molécula que estaba descubriendo.

Miescher tenía especial interés por el contenido químico de las células y sus estudios los realizaba a partir de vendajes ya utilizados que se encontraban empapados de pus humano. En una época anterior al uso de los antisépticos, había descubierto que los grandes núcleos de los leucocitos eran el material adecuado para sus investigaciones. Los trataba con una solución alcalina. Este tratamiento rompía los núcleos dejando escapar su contenido, esto lo pudo observar con el microscopio.

Trabajó con la enzima pepsina como agente fragmentador del material proteico de las células que estaba estudiando y pudo comprobar que una porción quedaba intacta en cada célula. Teniendo en cuenta que se trataba de una única sustancia y

su origen la nombro **nucleína**. Su análisis químico mostró que era de naturaleza ácida, contenía fósforo y no reaccionaba igual que las proteínas a los diferentes agentes. La llamada nucleína no concordaba con ninguna de las biomoléculas conocidas como las proteínas, los carbohidratos o los lípidos. La necesidad de Hoppe-Seyler de confirmar lo encontrado por un lado y la guerra franco-prusiana por otro lado retrasó la publicación de lo descubierto por Miescher hasta 1871.

En 1881, Edwards Zacharias demostró que los cromosomas que estaban en el interior del núcleo de la célula contenían la nucleína de Miescher. Cuatro años más tarde, Hertwig afirmó que esa nucleína era la que transmitía los caracteres hereditarios. Esta afirmación no fue aceptada hasta 1929, cuando Fred Griffith la volvió a replantear realizando un experimento ya clásico, en el que transfería las características patológicas de una bacteria a otra mediante el traspaso del ácido nucleico.

En 1889, Richard Altman quien era alumno de Miescher, logró a partir de la nucleína separar proteínas y una sustancia remanente, para nombrar a esta última acuñó el término de ácido nucleico. Tuvieron que transcurrir unos cuantos años hasta que Albert Kossel (1853-1927), bioquímico de origen alemán, identificara por primera vez que la porción proteica estaba conformada por histonas y la parte no proteica, el ácido nucleico, contenía cuatro sustancias distintas que contenían nitrógeno, pero que pertenecían todas al tipo que los químicos llaman bases. Estas bases se clasificaban según la estructura del anillo que las conforman, las de anillo doble a las que se llamó purinas y a las que presentan una estructura de anillo simple o pirimidinas. El ácido nucleico sobre el que trabajaba Kossel, es el hoy conocido ADN; se podía encontrar dos clases de purinas la adenina y la guanina; y dos clases de pirimidinas: la timina y la citosina.

Kossel también presentó las pruebas de la presencia de un glúcido de cinco átomos de carbono, azúcar que más tarde fue identificada por su discípulo Levene como desoxirribosa. Por estas investigaciones Alberts Kossel recibió en 1910 el Premio Nobel de Fisiología y Medicina por su aporte al conocimiento de la química de las células.

El inicio del siglo XX se caracterizó por los estudios sobre la composición química del ADN que se realizaron en Instituto Rockefeller de Nueva York donde, el bioquímico ruso-norteamericano, Phoebus A Levene (1869-1940) pudo comprobar que la nucleína se encontraba en todas las células animales. Repitiendo algunos de los experimentos de su mentor puso en evidencia que los ácidos nucleicos estaban compuestos por ácido fosfórico, una pentosa y las bases nitrogenadas. Levene defi-

nió que el ADN consiste en un gran número de unidades repetidas y ligadas, a las que llamó **nucléotidos**. Cada nucleótido está compuesto por una base nitrogenada, un azúcar desoxirribosa y un fosfato.

En 1914 el químico alemán Robert Feulgen (1884-1955) describió un método para teñir diferencialmente el ADN por medio de un colorante rojo llamado fucsina. En principio, teñir el ADN, no le pareció relevante por lo que tardó años en comunicarlo, pero cuando finalmente empezó a ser usada con el nombre de coloración de Feulgen se transformó en una evidencia más sobre la composición química de los cromosomas. Con esta coloración, se demostró que el ADN estaba en todas las células y que se localiza en los cromosomas. ¿Cuál era su papel en el metabolismo celular? Fue la pregunta que quedó durante años sin ser contestada.

Levene trabajando a partir de extractos de levadura pudo demostrar que la pentosa que aparecía en la nucleína era la ribosa. Hacia 1929 identificó como desoxirribosa la pentosa presente en muestras del timo animal. Esta diferencia le hizo proponer que la nucleína de los vegetales era ARN o ácido ribonucleico y la de los animales era ADN. Pronto se demostró que esta propuesta era incorrecta, pero a partir de ese momento se diferenciaron dos tipos de ácidos nucleicos, el ácido ribonucleico o ARN y ácido desoxirribonucleico o ADN.

En las muestras analizadas de ADN, Levene encontró que las proporciones de las bases nitrogenadas eran aproximadamente iguales, por lo que concluyó que las cuatro bases debían estar presentes en el ácido nucleico en cantidades iguales. Ampliando esto supuso que estas moléculas debían estar agrupadas de a cuatro en un ramillete, conformando un tetranucleótido plano.

Aunque este primer modelo tridimensional sobre la estructura del ADN era incorrecto, por la autoridad científica de quien lo proponía fue aceptado y prácticamente no discutido. De este modelo se asumía que la molécula de ADN era una molécula muy monótona, casi invariable y rígida, por lo tanto no apta para transmitir información genética. Por eso, cuando Levene postuló que los cromosomas eran las estructuras que almacenan la información hereditaria, y que específicamente las proteínas presentes en ellos eran las moléculas responsables de transmitir esa información y no los ácidos nucleicos, influyó para que el estudio de la química de la herencia se concentrara fuertemente en las proteínas.

En la discusión sobre si el ADN o las proteínas ejercían un rol destacado en la transmisión de la herencia, lo planteado por Levene junto con la determinación de

Emil Fischer ( se le concedió en 1902 el Premio Nobel de Química *por sus estudios de síntesis del grupo de la purina*) quien demostró que las proteínas están compuestas por cadenas de aminoácidos, de los que existen veinte y que según en la cantidad y variedad que se unan se conforman distintas proteínas, terminaba inclinando la discusión hacia las proteínas.

## ¿Proteínas o ADN?

La historia de la biología está llena de incidentes en los cuales la investigación referida a un tema específico- habiendo respondido o no la pregunta originalmente planteada- contribuyó a enriquecer otras áreas aparentemente no relacionadas. Éste fue el caso afortunado del trabajo del médico inglés Frederick Griffith.

Sobre el final de la primera gran guerra mundial que se libro entre 1914 y 1918, se desató la primer gran pandemia de “gripe española”, denominada así no por que se iniciara en España sino por que al no participar de la contienda España no guardó secreto sobre lo que acontecía sino que, al contrario, se brindaba información en los diarios. La propagación de la gripe puede haber sido una consecuencia de la misma guerra por el flujo de personas de un lugar a otro.

En principio en los distintos países no se dio importancia el desarrollo de la enfermedad que repitió el mismo modelo de transmisión, el primer brote era benigno atacó a muchas personas pero causó muy pocas defunciones, pero el segundo brote fue muy fuerte y rápidamente se propagó causando alta mortalidad, las complicaciones eran debidas principalmente a afecciones pulmonares. En el lapso de un año se produjeron más victimas que durante toda la guerra, países Europeos, Gran Bretaña, África central y del Sur, Canadá, incluso Isla Mauricio situada en el océano Indico fueron afectados.

En este contexto, hacia 1920 Griffith estudiaba el comportamiento del neumococo o *Streptococcus pneumoniae*, uno de los agentes causales de neumonía. Trataba de desarrollar una vacuna para proteger de la neumonía, enfermedad que en ese momento era mortal ya que todavía no se conocían los antibióticos.

Una cepa bacteriana es una población de células que desciende de una célula madre única; las cepas difieren en una o más de las características heredadas. Las cepas con las que Griffith trabajó fueron designadas S y R debido que, cuando crecen en el laboratorio, una produce colonias brillantes y lisa (S por smooth, del inglés

liso) y la otra forma colonias rugosas (R por rough, del inglés áspero). Cuando se inyectó la cepa S a ratones, éstos murieron en el día y se encontró en su necropsia que sus corazones estaban llenos de neumococos. Cuando se inyectó a los ratones la cepa R, los ratones no se infectaron. En otras palabras la cepa S fue virulenta (causa enfermedad) y la cepa R fue no virulenta. La virulencia de la cepa S fue causada por una cápsula de polisacáridos que protegía a la bacteria de los mecanismos inmunológicos del huésped. La cepa R carecía de la cápsula, por lo tanto sus células pudieron ser inactivadas por las defensas del ratón.

Con la esperanza de desarrollar su vacuna, Griffith inoculó algunos ratones con neumococos que habían sido muertos por calor. Estas bacterias muertas por calor no debían producir infección, sin embargo, cuando inoculó otros ratones con una mezcla de bacterias R vivas y bacterias S muertas por calor, para su sorpresa, los ratones se murieron de neumonía. Cuando se examinó la sangre de estos ratones, los encontró lleno de bacterias vivas, muchas de ellas con características de la cepa virulenta S. Griffith concluyó que, en presencia de neumococos S muertos, algunos neumococos R vivos habían sido transformados en organismos de la cepa S virulenta. Griffith postuló la existencia de un factor de transformación como responsable de este fenómeno.

Figura 1.1.



Sin saberlo Griffith obtuvo la primer evidencia de transferencia de los genes procariontes, genes bacterianos, cuando descubrió el “principio transformante”. Ahora conocemos la razón de sus resultados: el ADN había escapado de las células muertas de los neumococos virulentos y fue recogido como ADN libre por los neumococos no virulentos, que como resultado se convierten en virulentos. Este experimento marcó el inicio de la investigación hacia el descubrimiento del ADN como material genético.

Oswald Avery (1877-1955) fue un médico microbiólogo canadiense. Realizó casi todo su trabajo en hospital del Instituto Rockefeller en Nueva York, a un paso de jubilarse anunció su descubrimiento luego de años de trabajar en pos de resolver el problema que se desprendía del trabajo realizado en 1928 por Frederick Griffith quien demostró la existencia de un “principio transformador” pero no cuál era su naturaleza química. Precisamente la búsqueda de Avery, con respecto al “principio transformador” tenía por objeto “identificar si es posible su naturaleza química, o al menos, poder colocarlo en un grupo de sustancias químicas conocidas” (Avery y otros, 1943)

Oswald Avery, Colin MacLeod y Maclyn McCarty trabajaron *in Vitro*, emplearon un procedimiento denominado de eliminación paso a paso, que consistía en la extracción mediante el uso de enzimas de las distintas sustancias químicas que componían la estructura celular del neumococo *Streptococcus pneumoniae*. Además utilizaron la morfología de la colonia en el medio de cultivo como evidencia de la transformación, en vez de la bacteremia, presencia de las bacterias en la sangre de los ratones, utilizado por Griffith.

Iniciaron el trabajo aislando y purificando el “principio transformador”, luego trataron porciones de este extracto con distintas enzimas para inactivar proteínas, los hidratos de carbono, lípidos, ARN y ADN. Los extractos tratados fueron puestos en contacto con cultivos de bacterias avirulenta de la cepa llamada R, ya que en cultivo en cajas de Petri crecían producían colonias de apariencia rugosas. Lo que pudieron observar fue que en todos los casos, menos en aquellos tratados con la enzima que puede cortar el ADN se producía una transformación la cepa R al tipo cepa S que producían colonias de tipo lisa. Solo cuando añadieron enzimas que cortaban el ADN desapareció la capacidad transformadora.

Al igual que Griffith, comprobaron que los preparados purificados introducían modificaciones permanentes en las bacterias. Los cultivos donde no se observaba transformación eran aquellos donde se había eliminado la actividad biológica de la sustan-

cia transformadora al tratarlas con enzima DNasa que destruiría el ADN y puestas en contacto con cultivos de bacteria de tipo R no se producía su transformación.

Este experimento hoy lo reconocemos como “clásico”, no tanto por lo que demostraron sino por que alertaron por primera vez con evidencias que el ADN podría ser “el” material genético. Sin embargo en su momento fue discutido. Por un lado, desde el punto de vista químico el ADN en comparación con las proteínas no era suficientemente complejo, en este momento prevalecía la idea que las proteínas constituían el material hereditario. Uno de los más escépticos fue Levene una autoridad en el tema del ADN. Por otro lado todavía la genética bacteriana no se había desarrollado y no se tenía en claro si las bacterias tenían o no genes. Al respecto Brown, en 2008, en su libro *Genoma* afirmó “solo unos pocos microbiólogos reconocieron que la transformación implica transferencia de genes del extracto celular a las bacterias vivas”.

Sin embargo hubo científicos que reconocieron la jerarquía de este anuncio al punto de cambiar su línea de trabajo, por ejemplo Erwin Chargaff (1905-2002), de la Universidad de Columbia, cambió su investigación sobre los lípidos de la membrana celular de *Mycobacterium tuberculosis* por el estudio de la composición química del ADN, este cambio lo llevaría a concluir lo que actualmente conocemos como las leyes de complementariedad de bases o “reglas de Chargaff”. En 1950 Chargaff determinó las cantidades de las cuatro bases del ADN de diversos organismos y encontró que de organismo a organismo, de distintas especies, variaba su composición pero que en organismos de la misma especie encontró cierta regularidad en las proporciones de las bases; la cantidad total de adenina (A) es igual a la de timina (T) y la cantidad de guanina (G) es igual a la de citosina (C).

La complementariedad entre las bases y la composición variable eran difícilmente explicables en el modelo del tetranucleótido, así que lo descubierto por Chargaff sirvió para poner en entredicho este modelo y a su vez fue tenido en cuenta junto a otras evidencias para el planteo del modelo estructural hecho por James Watson y Francis Crick en 1953.

Confirmar que el ADN era el material hereditario requirió de la conformación de un grupo especial de trabajo y de un organismo modelo con características particulares. El astrónomo alemán Max Ludwig Henning Delbrück (1906 - 1981) al decir de Thuillier en 1972 “era un físico para quien la biología ofrecía a los investigadores problemas nuevos particularmente interesante”. Decidió dedicarse a la genética a partir de su interés, en la década de 1930, por los estudios que algunos biólogos

estaban realizando sobre la acción de las radiaciones sobre la mosca *Drosophila melanogaster*. En 1935 junto a dos biólogos publicó un artículo sobre mutación y la estructura del gen. Hacia 1940 comenzó a desarrollar su trabajo en California, en el Instituto de Tecnología (Caltech) junto con Salvador Luria (1912-1991), un bacteriólogo italiano. Comienza aquí a conformarse con y alrededor de ellos el “grupo de los fagos”, llamado así porque su objetivo de investigación eran los bacteriófagos, virus que infectan específicamente a bacterias. Este grupo se dedicó a estudiar las mutaciones genéticas, la estructura de los genes, y los ciclos vitales de los fagos.

Estos virus fueron descubiertos por el microbiólogo franco-canadiense Félix d’Herelle (1873-1949) incansable viajero, quien insistía en que había que salir de la vida estéril de los hospitales para investigar y derrotar a las enfermedades en el ambiente real. En 1917 anunció el descubrimiento de un microbio invisible, antagónico del bacilo de disentería, al que denominó bacteriófagos. Demostró que los bacteriófagos infectaban, mataban y lisaban las células bacterianas en poco tiempo.

Hacia 1919 tuvo éxito en erradicar una plaga de tifus de pollo con la “terapia mágica”, y luego pasó a tratar una enfermedad humana que fue la disentería en 1919. Aunque no sabía con exactitud que eran los fagos, afirmaba que se reproducen “alimentándose” de las bacterias, lo cual fue confirmado posteriormente. Otros autores teorizaban acerca de que los fagos eran objetos inanimados como proteínas, que ya están presentes en las bacterias, y sólo provocan la liberación de proteínas similares, matando a las bacterias durante el proceso. Debido a esta incertidumbre, y a que d’Herelle utilizaba los fagos sin mucha vacilación en humanos, su trabajo fue constantemente atacado por muchos otros científicos. A tal punto que fue nominado varias veces para el Premio Nobel, pero nunca le fue otorgado. Luego de los trabajos de d’Herelle los fagos pasaron a ser considerados “organismos modelos” para los estudios de genética.

La primera evidencia de que el ADN era el material que transmite la información hereditaria la produjo Avery junto con sus colaboradores, mientras que la segunda evidencia la produjo un experimento hecho en 1952 por Alfred Hershey (1908-1997), miembro del grupo de los fagos y Martha Chase que utilizaron como modelo de estudio al bacteriófago T2, que infecta la bacteria *Escherichia coli*.

Este virus consiste en un centro de ADN empaquetado dentro de una cobertura de proteína, es decir está formado por los dos materiales que en ese momento eran los candidatos para ser considerados el material genético. Hershey y Chase tuvieron

ron en cuenta que, como cualquier otro virus, cuando los fagos invaden las células bacterianas se reproducen mediante la maquinaria enzimática de las mismas. Se propusieron dejar que el fago infectara a las bacterias para así identificar si las proteínas o el ADN era lo que penetraba en las mismas.

En el planteo de su hoy famoso experimento se propusieron resaltar las diferencias químicas que ya tenían en claro que existen entre el ADN y las proteínas. El ADN contiene fósforo y solo las proteínas contienen azufre, presente en los aminoácidos metionina y cisteína. Hershey y Chase hicieron crecer un lote de fagos en un cultivo bacteriano en presencia de fósforo radiactivo y de esta manera se marcaría en ADN, y al otro lote de fagos, lo hicieron crecer en un cultivo bacteriano con azufre radiactivo para así marcar las proteínas. De esta manera trataron de asegurarse que tanto las proteínas y como el ADN adquiriera un "etiqueta radiactiva". La presencia de estas etiquetas permitiría seguir el destino del ADN y las proteínas del fago una vez producida una infección.

El paso siguiente consistió en mezclar los fagos marcados radiactivamente con las bacterias y esperar que se produjera la infección. Esto permitió que las partes vacías de los fagos quedaran pegadas al exterior de las células bacterias, mientras que los contenidos de los fagos con las instrucciones para fabricar nuevos fagos, acabaron en el interior de las bacterias. La mezcla obtenida se agitó enérgicamente con una licuadora de cocina con el fin de eliminar la conexión entre los fagos y las bacterias (sin romperlas). Posteriormente con una centrifuga buscaron separar las bacterias del resto para diferenciar que había adentro. Por un lado encontraron la etiqueta radiactiva del fósforo (el ADN) con la porción de bacterias, de lo que pudieron concluir que los fagos habían inyectado el ADN en el interior de las bacterias. Por otro lado encontraron el azufre radiactivo en la porción donde estarían presentes las cápsidas vacías, envolturas de los fagos. Por lo que concluyeron que las proteínas solo habían suministrado una envoltura protectora para el ADN, no poseían instrucciones para que los fagos se reprodujeran.

De esta manera confirmaron el descubrimiento de Avery respecto que el ADN era el anteproyecto de la vida. Según George Beadle, premio Nobel de Fisiología y Medicina 1958, se "suministró una prueba concluyente de que se había descubierto una ley universal y no una excepción".

El pasar de considerar a las proteínas como transmisoras de información a la aceptación de que el ADN es la molécula que transmite la información entre ge-

neraciones, puede ser visto como un cambio de paradigma que a su vez propició la generación de nuevas preguntas, en particular sobre cómo transporta el ADN la información o cómo se traduce esas instrucciones en la actividad del metabolismo celular. Estas preguntas se convirtieron en los puntos centrales en la biología en los siguientes años. En 1969 Max Delbrück, junto a Salvador Luria y a Alfred Hershey recibieron el Premio Nobel de Fisiología y Medicina por sus investigaciones sobre los mecanismos de la replicación y la estructura genética de los virus.

## El desafío de proponer un modelo

Una vez identificado el ADN como material genético, dilucidar cuál era su estructura se transformó en un desafío. Esto se produjo a partir del encuentro entre Francis Crick y James Watson. El primero, Francis Crick biofísico británico que trabajaba en su tesis doctoral en el Laboratorio Cavendish de la Universidad de Cambridge, donde muchos investigadores se dedicaban a investigar la estructura tridimensional de las grandes moléculas. Crick mismo consideraba al ADN con mucho mayor interés que las proteínas. El segundo, James Watson, biólogo estadounidense, realizó su tesis doctoral estudiando a los bacteriófagos, estaba familiarizado con el trabajo de Avery, por lo que comprendía la importancia del ADN en la genética.

En 1953 estos dos científicos, trabajando en forma conjunta, llegaron a deducir la estructura tridimensional del ADN. Esto no se debió a experimentos realizados por ellos para generar nuevos conocimientos sino que utilizaron los conocimientos disponibles sobre la química del ADN para construir modelos moleculares, trabajando con alambre y placas metálicas. Tuvieron en cuenta lo que había sido determinada entre otros científicos por Miescher, Kossel, Levene y Chargaff. Además consideraron la existencia de los nucleótidos conformados cada uno por una azúcar desoxirribosa, una base nitrogenada y un grupo fosfato, pero sin embargo no quedaba en claro la disposición de estos nucleótidos en el espacio y por lo tanto era una incógnita la estructura tridimensional de la molécula.

Al tiempo de la llegada de Watson a Inglaterra, un grupo de trabajo del King's College, de la Universidad de Londres, al que pertenecían Rosalind Elsie Franklin (1920-1958) y Maurice Wilkins, trabajaba en el tema de la cristalografía del ADN. Utilizando la técnica de difracción de rayos X para estudiar la molécula del ADN. Esta técnica consiste en que los rayos X son dirigidos sobre una molécula de ADN,

se reflejan en un patrón específico que revela aspectos de la estructura de la molécula, el patrón de difracción se puede registrar en placas radiográficas. La naturaleza de este patrón depende de la naturaleza del cristal sobre el cual se está trabajando. Las imágenes así obtenidas debían ser luego interpretadas. Cosa que estos científicos no pudieron hacer. La conocida Fotografía 51, obtenida por Franklin en 1952, fue mostrada sin su autorización por Wilkins a Watson y Crick, quienes la interpretaron, Mostraba claramente que la estructura del ADN era helicoidal. Es decir a partir de la fotografía lograron desentrañar la estructura en doble hélice de la molécula del ácido desoxirribonucleico (ADN).

En la revista Nature, del 24 de abril de 1953, Watson y Crick publicaron un artículo de solo una carilla que iniciaba con una frase que marcaría el inicio de una nueva etapa en la Biología “Queremos sugerir una estructura para la sal del ácido desoxirribonucleico (A.D.N). Esta estructura presenta rasgos novedosos que tienen un considerable interés biológico”.

En el mismo artículo diferenciaron su modelo del que estaban trabajando otros investigadores como Pauling y Corey quienes proponían un modelo con tres cadenas enlazadas, con los fósforos cerca del eje de la fibra y las bases hacia el exterior o el modelo de Fraser quien también proponía un modelo con tres cadenas, con los fosfatos hacia el exterior y las bases en el interior, enlazadas entre sí mediante puentes hidrógeno.

En su propuesta describieron una estructura con una doble cadena helicoidal enroscada alrededor del mismo eje. Con los esqueletos de azúcar- fosfato hacia fuera y las bases hacia el interior. Planteaban que las dos cadenas (pero no las bases) estaban relacionadas con un eje de simetría perpendicular al eje de la fibra y, debido a este eje de simetría la secuencia de átomos, en las dos cadenas tenían que estar dispuestos en direcciones opuestas. Esta estructura “encajaría” además con las dimensiones establecidas para el ADN por cristalografía de rayos X.

Watson y Crick planteaban en su artículo *“La característica novedosa de la estructura es la manera en que las dos cadenas se mantienen unidas por las bases púricas y pirimidínicas. Los planos de las bases son perpendiculares al eje de la fibra. Las bases se mantienen unidas por pares: una sola de las bases de una cadena está unida por puentes hidrógeno a una sola base de la otra cadena... Una de la bases de cada par debe ser una purina y la otra una pirimidínica”*

La clave para resolver la estructura surgió cuando Watson se dio cuenta de que una base de adenina podía unirse a una base timina y que una guanina a una citosina. Estos apareamientos explicaban la proporción de las bases descubiertas por Chargaff (Pierce, 2005). Relación que se denomina complementariedad. Los puentes de hidrógeno solo se podrían formar si la polaridad de las dos cadenas iba en direcciones opuestas, es decir antiparalelas.

La construcción del modelo fue la técnica que Watson y Crick realizaron por sí mismos. En las últimas líneas del artículo, citado previamente, ellos afirmaron “No ha escapado a nuestra atención que el emparejamiento específico que hemos postulado sugiere inmediatamente un posible mecanismo de copia para el material genético”.

Determinada la estructura y naturaleza química de los factores mendelianos, luego conocidos como genes, se encontró la clave en cuanto a la transmisión de la información genética.

El planteo de la estructura de una doble hélice, entrelazada y larga para el ADN les permitió a Watson y Crick ganar el premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1962 junto con Maurice Wilkins “por sus descubrimientos concernientes a la estructura molecular de los ácidos nucleicos y su importancia para la transferencia de información en la materia viva” según se lee en el sitio web de la organización del Premio Nobel. El Nobel a Watson y Crick generó cierta controversia por que se habían limitado a recopilar información, sin aportar nuevos datos. Pudieron interpretar algo que otros científicos no vieron, quizás allí esta su genialidad.

## ¿Y... dónde está el ADN?

El término genoma se utiliza para describir la totalidad de la información genética contenida en el ADN de las células del organismo. Tengamos en cuenta que “el genoma es importante no por aquello que lo constituye, sino por lo que hace: es el agente que crea y mantiene un organismo generando una interminable variedad de formas de vida exquisita a partir de huevos amorfos” (Gee, 2006).

En las células eucariotas animales en realidad se consideran en forma conjunta dos genomas, cada uno con su ubicación y características propias, uno es el **genoma nuclear** y el otro es el **genoma mitocondrial**. En las células vegetales hay que sumarle a los dos genomas ya mencionados el **genoma de los cloroplastos**.

En el organismo humano se considera por un lado el genoma nuclear, que se reparte en 46 cromosomas, 22 pares diferentes de autosomas y 2 cromosomas sexuales, y proporciona la mayor cantidad de información genética esencial. Por otro lado el genoma mitocondrial, es el que está constituido por ADN circular bicatenario. Este segundo sistema genético, a pesar de ser extremadamente pequeño comparado con el genoma nuclear y contener muy pocos genes, es indispensable para la vida ya que codifica para proteínas indispensables en el normal funcionamiento mitocondrial.

A principios de 1960 se unieron diversas líneas de evidencia y se aceptó que estos genes extra-cromosómicos estarían ubicados en las mitocondrias tanto de células animales como de vegetales y en los cloroplastos de las células vegetales, conformando genomas diferentes al genoma nuclear de cada una de estas células.

Hacia 1963 fue observada la presencia de ADN en las mitocondrias. Los investigadores Margit M. K. Nass y Sylvan Nass, utilizando microscopía electrónica y diferentes métodos de tinción específicos del ADN, observaron filamentos que fueron interpretados como moléculas de ADN.

Hacia 1981 Anderson y sus colaboradores en Cambridge, obtuvieron la secuencia completa del ADN mitocondrial, es decir pudieron determinar la sucesión base a base de una muestra de ADN mitocondrial y esto se transformó en la secuencia referencial, denominada “Secuencia de Cambridge”, ya que es con la se compara toda otra secuencia mitocondrial para determinar la existencia de mutaciones. Un año antes se había descrito que el ADN mitocondrial se transmite solo de madre a hijo, a través de las mitocondrias del óvulo.

La mayoría de los biólogos aceptan hoy la teoría Endosimbiótica que sostiene que las mitocondrias y cloroplastos son restos evolutivos de bacterias de vida libre que en algún momento formaron una asociación simbiótica con el precursor de la célula eucariota, pero cuando Lynn Margulis propuso esta teoría en 1970 en su libro *El origen de las células Eucariotas* fue recibida con escepticismo.

Sin embargo el desarrollo de la microscopía y la aplicación de distintas técnicas ha posibilitado efectuar estudios comparativos de biología molecular que han aportado evidencias que sostienen hoy a esta teoría, por ejemplo la observación de que los procesos de expresión de los genes que se producen en los orgánulos son similares a los procesos equivalentes en las bacterias. Otra evidencia la constituye el hecho que se hayan encontrado organismos que parecen exhibir estadios de endo-

simbiosis menos avanzados que los observados en mitocondrias y los cloroplastos, por ejemplo la bacteria *Richettsia prowazekii*, que vive dentro de células eucariotas, podría ser una versiones modernas de las bacterias que dieron origen a las mitocondrias. Esta bacteria contiene un genoma muy parecido al de las mitocondrias, y tanto las *Richettsia* como las mitocondrias codifican para las mismas enzimas oxidazas y proteínas responsables de la fosforilación oxidativa.

Otro rasgo que marca semejanzas entre las mitocondrias y las bacterias es que ambas se dividen por fisión binaria, además poseen ribosomas y éstos son más parecidos entre ellos que con los ribosomas eucariontes. El parecido se observa a nivel de las proteínas ribosómicas y de los ácidos ribonucleicos (ARN) que los conforman, en el tamaño de las subunidades ribosómicas, e incluso en la sensibilidad a algunos antibióticos, por ejemplo el cloranfenicol bloquea el funcionamiento de los ribosomas bacterianos y mitocondriales pero no los citoplasmáticos.

## El ADN mitocondrial

Las mitocondrias son organelas presentes en todas las células humanas menos en los glóbulos rojos maduros. En ellas se lleva a cabo principalmente el proceso metabólico oxidativo dando como resultado la producción de ATP, (molécula transportadora de energía utilizable para la célula).

El ADN mitocondrial tiene características propias que lo diferencian del ADN nuclear, y la expresión de sus genes se rige por pautas diferentes a las pautas que rigen a los genes mitocondriales:

La primera de las características estructurales más sobresaliente es que en el ADN mitocondrial los genes se encuentran uno a continuación del otro, solo posee un tres por ciento de secuencias no codificante, carecen de intrones. Este rasgo evolutivo lo emparenta con el ADN de procariontes.

La segunda diferencia es que el ADN mitocondrial no se recombina. Esto no implica que sea estable ya que presenta una alta tasa de mutaciones que se constituyen en la única fuente de variabilidad. La frecuencia de mutación es aproximadamente 10 veces mayor que a nivel nuclear. Estas elevadas frecuencias podrían explicarse por la carencia de histonas que lo protejan, de la producción continua de radicales libres que dañan al ADN y promueven un elevado efecto mutagénico. También podría explicarse por la escasa actividad correctora de la ADN polimerasa

a nivel mitocondrial si se la compara con lo que sucede a nivel nuclear. La producción de radicales libres es consecuencia de la propia actividad mitocondrial.

La tercera diferencia es que el ADN mitocondrial se hereda por vía materna con un patrón vertical no mendeliano, la madre transmite su genoma mitocondrial a todos sus hijos e hijas, y sus hijas lo pasarán a la siguiente generación. Esto es así porque el ovocito es la célula que aporta el citoplasma en la fecundación, por lo tanto cabe esperar que en el cigoto resultante la mayoría del material ciplasmático y las organelas provenga de la madre y de esa manera se siga la línea de trasmisión.

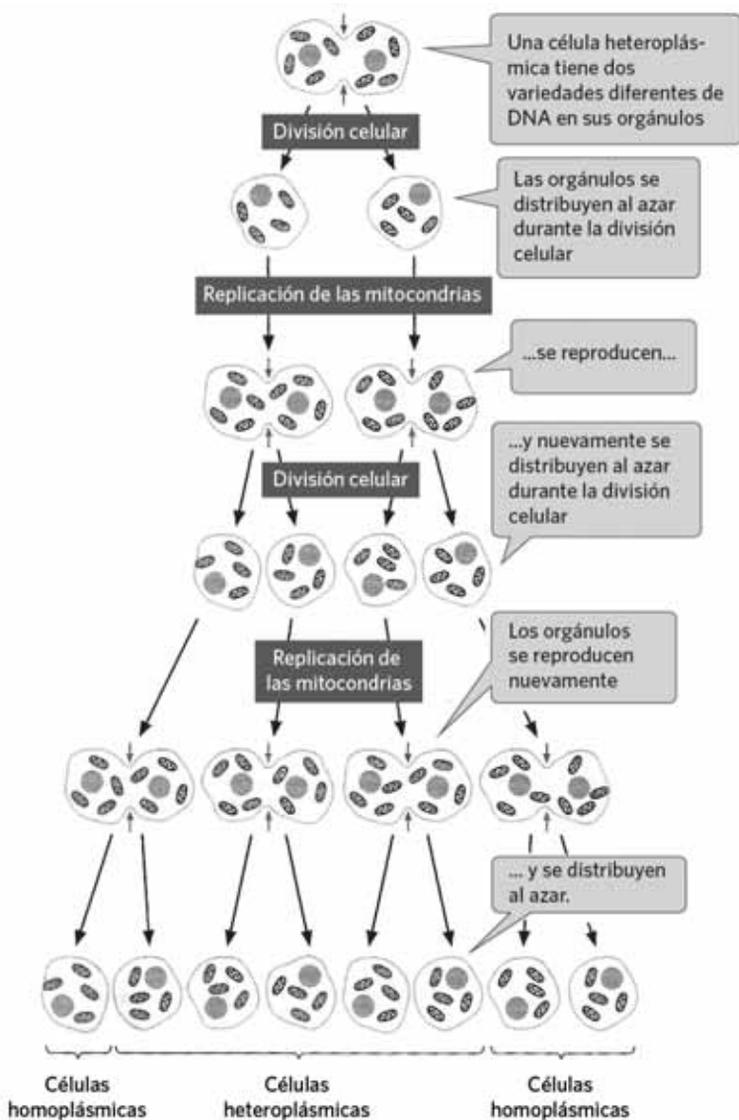
La cuarta diferencia es la presentación de poliplasmia, es decir que cada célula puede contener de docenas a centenas de mitocondrias, cada una con numerosas copias de ADN. Una mutación en el ADN de una mitocondria puede generar una mezcla de mitocondrias con ADN mutado y otras con ADN normal. La existencia de dos tipos distintos de ADN dentro del citoplasma se llama heteroplasmia, es decir la heterogeneidad de los genomas mitocondriales contenidos en la células de un mismo organismo; mientras que en algunas células el ADN pueden ser totalmente de un tipo, ya sea normal o mutado, situación conocida como homoplasmia.

En el momento de la división celular, mitosis, las mitocondrias se dividen al azar entre las células hijas, si la célula madre es heteroplástica se dividen sus orgánulos y se distribuyen al azar entre las células hijas, pudiendo estas tener todo el ADN normal o todo el ADN mutado o tener una mezcla de ADN normal y mutado. Este proceso se conoce como segregación mitótica.

La quinta característica es que se marca diferencia en el umbral de expresión, esto representa la proporción mínima de ADN mitocondrial mutado necesaria para afectar el metabolismo oxidativo. El fenotipo de las células heteroplasmicas depende de cuanto ADN mitocondrial mutado existe en cada célula y de que tejido se esté estudiando específicamente ya que los diferentes tejidos poseen diferentes umbrales según sean sus demandas energéticas. En algunas citopatías mitocondriales, enfermedades que se caracterizan por tener defectos en la producción de energía, cuando la cantidad de ADN mitocondrial supera este nivel umbral se manifiestan síntomas de la enfermedad. Elevados niveles de ADN mutado pueden alterar el normal funcionamiento de por ejemplo los músculos, el sistema nervioso en general, el corazón y el hígado.

La sexta característica es que el código genético a nivel mitocondrial difiere ligeramente del código genético universal del ADN nuclear. Estos cambios deter-

Figura 1.2. : Los orgánulos de una célula heteroplásmica se distribuyen al azar en las células de la descendencia



Conclusión: la mayoría de las células son heteroplásmicas pero, por azar, algunas células pueden recibir un solo tipo de orgánulo (p. ej., pueden recibir todos normales o todos mutantes).

minan que a nivel mitocondrial se produzcan ciertas proteínas que no se pueden producir a nivel nuclear. Esto fue descubierto en 1979 por John Ernest Walker quien aplicó los métodos de secuenciación de ADN inventados por Frederick Sanger.

Las diferencias a nivel del código son, por ejemplo, el codón UGA codifica al aminoácido triptófano en lugar de ser el codón de terminación o stop. Los codones AUA a nivel nuclear codifican para el aminoácido leucina y en la mitocondria para metionina. Los codones AGA, AGG deberían codificar Arginina y codifican "terminación" en ADN mitocondrial. Los codones AUA y AUU en las mitocondrias son reconocidos como codones de iniciación y fuera de las mismas codifican el aminoácido isoleucina.

Como algo único, en las células el sistema metabólico mitocondrial, se requiere de la expresión conjunta del genoma nuclear y el genoma mitocondrial. Casi todas las proteínas que se utilizan en las mitocondrias son sintetizadas en el citoplasma a partir del ADN nuclear y luego son importadas al interior de las organelas y solo un pequeño porcentaje de proteínas son sintetizadas en las mismas mitocondrias, lugar donde van a ser utilizadas. ¿Cómo podemos ver esto? ¿Una simbiosis metabólica?

*En la misma época y en el mismo edificio de la universidad de Cambridge trabajaron entre otros científicos: Sanger, Crick, Aaron Klug, Milstein*

*Sanger obtuvo dos veces el Premio Nobel en Química en 1958 y 1980, el primer premio fue por lograr secuenciar en forma completa la molécula de insulina y con esto ayudó a demostrar que las proteínas tienen una estructura específica y el segundo por desarrollar un método de secuenciación de ADN, con el que secuenció el primer genoma conocido que fue el del bacteriófago  $\Phi$  X174, no está de más aclarar que esto se constituyó en un salto tecnológico en un posterior avance en la ciencia.*

*El Premio Nobel de Fisiología o Medicina 1962 fue otorgado conjuntamente con Francis Crick, James Watson y Maurice Wilkins por sus descubrimientos sobre la estructura molecular de los ácidos nucleicos y su significación para la transferencia de información en materia viva.*

*Aaron Klug, Premio Nobel de Química 1982 por el desarrollo de la microscopía electrónica cristalográfica y su elucidación estructural de ácidos nucleicos e importantes complejos de proteínas de origen biológico*

*Walker junto con Paul Boyer fueron galardonados en 1997 con la mitad del Premio*

*Nobel de química por el descubrimiento de la síntesis de la molécula de Adenosina Trifosfato (ATP)*

*El Premio Nobel de Medicina 1984 fue otorgado conjuntamente a César Milstein, Niels K. Jerne y Georges JF Köhler por las teorías sobre la especificidad en el desarrollo y control del sistema inmune y el descubrimiento del principio para la producción de anticuerpos monoclonales.*

---

El ADN mitocondrial humano es una molécula de doble cadena circular, conformado por una secuencia de 16.569 pares de bases. Cada mitocondria tiene varios cromosomas circulares y cada tipo de células tiene un número variable de mitocondrias dependiendo de su estado funcional, y del tipo de tejido, en la mayoría de los tejidos el rango va desde unos 1.000 a 10.000 copias por células, con 2 a 10 moléculas de ADN por mitocondrias.

Cada ADN mitocondrial tiene 37 genes, estos conformarían la región codificante que representa el 90% del genoma mitocondrial. La organización de estos genes es muy compacta y se disponen sobre ambas cadenas, es decir las dos cadenas del ADN mitocondrial son codificantes, se identifican una como pesada o H y la otra como liviana o L. La cadena H por heavy, llamada así por que posee una mayor concentración de guanina y timina, esto determina una mayor densidad de flotación en gradiente de cesio, tiene 28 genes, y es la que se numera de 1 a 16569. La cadena L o *light* tiene 9 genes.

Cada cadena tiene su origen de replicación, es decir secuencia específica donde comienza a copiarse. Los orígenes de replicación están muy separados y a partir de ellos cada cadena de ADN se transcribe en una única molécula que posteriormente se corta en piezas más pequeñas, las enzimas que intervienen en estos procesos son codificadas en el ADN nuclear, sintetizadas en el citoplasma y luego importadas hacia el interior mitocondrial.

El 10% del ADN mitocondrial no codifica para ningún gen, conformaría la región de control que contiene fundamentalmente las dos regiones promotoras de transcripción de las dos cadenas H y L, el origen de replicación de la cadena H y algunas otras secuencias de control y porciones reguladoras de la expresión génica.

Esta región de control es no codificante pero presenta alto polimorfismo, es decir gran variación entre individuos, en la misma se reconocen dos regiones hiper-

variables denominadas HVI y HVII, comprenden alrededor de 610 pares de bases nucleotídicas, en estas regiones se reconocen importantes diferencias en las secuencias de nucleótidos entre individuos. La identificación de estas variaciones se usan para establecer un patrón de ADN mitocondrial con el cual identificar individuos, esto ha sido utilizada en estudios médicos, evolutivos, antropológicos, etnográficos, evolutivos y forenses.

Las enfermedades genéticas o con un alto componente genético aparecen como las principales causas de morbi- mortalidad a principios del siglo XXI, con una clara diferencia de lo que sucedía a principios del siglo XX donde lo que predominaban eran las enfermedades infecciosas, facilitado su contagio por medidas higiénico sanitarias deficientes. Hoy las enfermedades genéticas constituyen un desafío que la medicina y la sociedad deben enfrentar.

A pesar del pequeño tamaño del genoma mitocondrial hoy se conoce que mutaciones de este genoma son la causa de importantes enfermedades, no tan tanto por el número de personas afectadas sino por el impacto que producen en quienes las padecen.

En 1988 Douglas Wallace describió por primera vez, una mutación en el genoma de la mitocondria como causante de una enfermedad, la neuropatía óptica hereditaria de Leber. Esta enfermedad se caracteriza por una ceguera permanente o temporal debido a la lesión del nervio óptico, problemática que aparece alrededor de los 20 años. Aparentemente el nervio óptico no toleraría los defectos de las mitocondrias por la demanda de oxígeno no cubierta. Esta patología es producida por una mutación puntual donde una guanina es sustituida por una adenina, lo que se evidencia con el cambio de una arginina por una histidina.

Las enfermedades mitocondriales se transmiten siempre por herencia materna pero a diferencia de las enfermedades ligadas al cromosoma X, las padecen tanto mujeres como hombres. Pertenecen a un grupo de enfermedades caracterizadas por fallas en el sistema de fosforilación oxidativa, la ruta del metabolismo energético, como resultado se ve afectada la biosíntesis de ATP en diferente grado y diferentes tejidos. Desde 1985 en adelante se han descrito distintas mutaciones que se han asociados a síntomas clínicos bien definidos.

La teoría mitocondrial del envejecimiento plantea que una persona que inicia su vida con el ADN mitocondrial sano, puede experimentar con el tiempo mutaciones que provocan la disminución en la producción de energía por pérdida de la capa-

cidad respiratoria en los tejidos. Como consecuencia se produciría la aparición de signos de envejecimiento, como pérdida de la memoria, de la capacidad auditiva y visual, e incluso se podría activar la apoptosis, muerte celular programada. Esto ocurre porque en las mitocondrias tienen lugar la fosforilación oxidativa que involucra la producción de ATP. Este proceso libera radicales libres derivados del oxígeno, que actúan sobre el ADN mitocondrial lesionándolo y por lo tanto dan origen a diferentes mutaciones. La acumulación de mutaciones en el ADN mitocondrial estaría entonces asociado con lo que conocemos como el envejecimiento normal pero también a cuadros patológicos, los tejidos más afectados por este proceso serían sistema nervioso, el músculo estriado y el cardíaco.

## ADN mitocondrial, las abuelas y nuestra historia

La relación de nuestra historia reciente y el ADN mitocondrial es un ejemplo claro de cómo un contexto histórico social condiciona el trabajo de los científicos y también es una forma de hacer presente la forma en que la ciencia influye sobre la sociedad, en este caso puntual la forma en que la genética contribuye a entender la historia de los pueblos.

Hacia 1980 las Abuelas de Plaza de Mayo en su búsqueda por los nietos y nietas desaparecidos, se preguntaban y preguntaban en distintos países y a distintos científicos ¿si existía algún elemento constitutivo de la sangre que solo aparece en los integrantes de una familia? , para poder identificar y o recuperar sus familiares.

El Dr Víctor Penchaszadeh, quien se había exiliado de la Argentina hacia diciembre de 1975, empezó en 1981 a trabajar como médico genetista en la Escuela de Medicina de Washington. Al poco tiempo conoció a las abuelas y empezó a colaborar con ellas en la búsqueda de herramientas para lograr la identificación de los niños desaparecidos. Las contactó con diferentes genetistas, entre otros con el prestigioso hematólogo Fred Allen, por entonces director del *Blood Center* de Nueva York, quien había sido uno de los creadores del método de cambio total de sangre de los bebés recién nacidos con problemas de factor Rh negativo, al tanto de las inquietudes de este grupo no pudo aportar una solución a lo planteado por las Abuelas de Plaza de Mayo.

En 1982 las Abuelas de Plaza de Mayo hicieron una gira por 12 países, entre otros Alemania, Inglaterra, Italia, Suecia, pero no encontraron soluciones concretas a su problema.

Otra científica con la que se contactaron fue con Mary-Claire King, una genetista de Berkeley, California, especialista en epidemiología genética, que fue presentada como quien podía ayudar con el tratamiento estadístico de datos y que a su vez estaba vinculada a científicos que trabajaban con variación genética a nivel poblacional. Podemos remarcar que es una especialista en ADN mitocondrial. Fue alumna de Allan Wilson, un genetista de la Universidad de California quien determinó a mediados de los 80 de donde provenían los primeros hombres, quien fue apodado como el “padre de Eva” al proponer la existencia de la “Eva mitocondrial” a partir de sus estudios que condujeron a proponer que era africana, esto se basaba en el conocimiento de que las mujeres de procedencia africana tienen una diversidad de variantes de ADN dos veces mayor que las poblaciones de otras partes del mundo, a partir de esto se concluyó que el *Homo sapiens* vivió más tiempo en África.

Todos los genetistas contactados por la abuelas en estos años buscaban cómo se podía hacer para identificar a los hijos de desaparecidos apropiados por la dictadura argentina. El fruto de este trabajo en conjunto fue el desarrollo del “índice abuelitud” para probar la relación de parentesco entre los niños apropiados y sus abuelos biológicos. La primera identificación fue la de Paula Eva Logares en 1984, cuya base biológica era el reconocimiento de los antígenos de histocompatibilidad. Se trabajaba con los productos de expresión del ADN pero no con el ADN mismo.

Para fines de 1987 en el laboratorio de Allan Wilson se estaban utilizando la técnica de PCR, reacción en cadena de la polimerasa, en estudios ADN mitocondrial. La técnica de la PCR consiste en amplificar, *in vitro*, la cantidad de ADN presente en una muestra en forma rápida y con alto nivel de confiabilidad y fue descubierta en 1985 por el científico Kary Mullis, quien recibió el premio Nobel en 1993, este método de clonación de fragmentos ADN sin utilizar células se transformó en la causa de un salto tecnológico, convertida hoy en una herramienta de uso corriente en investigaciones en biología y genética molecular y aplicada en medicina.

Mary-Claire King se terminó de convencer que el ADN mitocondrial era la molécula para la búsqueda de las abuelas ya que presentaba la convergencia de tres elementos de la biología y la tecnología. Ser una molécula exclusivamente materna, por lo cual se podría comparar el ADN con el de cualquier pariente materno; tener extraordinarios niveles de variabilidad genética; y una secuenciación simple y directa.

Meses después Mary-Claire King realizaría la primera identificación de uno de los nietos desaparecidos a través de ADN mitocondrial. Es decir una nueva herra-

mienta se sumaba a las ya existentes para identificar los niños desaparecidos. A los estudios de grupos sanguíneos, HLA, isoenzimas eritrocitarias y proteínas plasmáticas, ahora se sumaba el ADN mitocondrial. A estas técnicas en poco tiempo se le sumarían el estudio de los marcadores del cromosoma Y para el seguimiento de la “línea paterna”. Es decir se pudo determinar que por medio del cromosoma Y todos los varones de una familia comparten el mismo patrón genético que pasa de generación en generación, de individuo de sexo masculino de una generación a individuo masculino de la siguiente generación.

El ADN es la molécula hereditaria que se transmite de padres a hijos. Hoy sabemos que el 99 % del ADN se encuentra en los cromosomas, en el núcleo de las células, constituyendo el ADN nuclear, del que se hereda el 50% de cada progenitor. Las dos variaciones del porcentaje de herencia la presentan la “herencia del ADN mitocondrial”, donde el 100% del ADN proviene de la línea materna, y la “herencia del cromosoma Y” donde el 100% del ADN proviene de la línea paterna. Estas variaciones son útiles en el momento de analizar vínculos biológicos.

## Aplicaciones del conocimiento del DNA mitocondrial

Al ADN mitocondrial se lo utiliza junto a otras técnicas en la identificación de personas en estudios forenses. En la identificación de personas a partir de restos óseos, como fue el caso de la confirmación de restos de la familia del Zar Nicolás II y la Zarina Alejandra y tres de sus hijas que fueron exhumados en Rusia en 1991 en una fosa común cerca de Ekaterinburgo. Se usó el ADN mitocondrial para establecer relaciones maternas y se comprobó que el ADN de los huesos femeninos era similar al del príncipe Felipe, Duque de Edimburgo, esposo de la reina Isabel de Inglaterra cuya abuela materna era hermana de Alejandra. Recién en el 2007 se encontraron los restos faltantes de la cuarta hija y del hijo de la pareja real, estos restos encontrados por parte de un grupo de arqueólogos a 70 metros de la tumba original. Los restos fueron sometidos a estudios del ADN mitocondrial, además para confirmar sin duda la veracidad de las identificaciones se hicieron estudios del cromosoma Y en los restos del zar, su hijo y lo compararon con el de un descendiente vivo de la familia Romanov, estudio que también confirma la coincidencia.

Al ADN mitocondrial se lo está usando junto a otras evidencias para identificar individuos y grupos de individuos, antropólogos moleculares han estado comparan-

do el ADN de humanos provenientes de diversas regiones con el fin de producir árboles evolutivos. También en el estudio de distintas migraciones.

Se lo está aplicando, al estudio de ADN mitocondrial, para establecer relaciones evolutivas de diferentes organismos y también para estimar la variabilidad existente en poblaciones naturales para ver si hay o no endogamia, la información generada se la está utilizando para plantear políticas de conservación de especies sobre todo aquellas que están amenazadas de extinción. Por ejemplo se ha detectado la existencia de transporte fraudulento y comercialización de salamandra común, *Salamandra salamandra* desde Europa Occidental, donde la especie está protegida por la legislación, a tiendas especializadas de los Estados Unidos. La identificación de uno de estos ejemplares mediante técnicas de secuenciación (citocromo b del ADN mitocondrial), ha permitido situar la procedencia del ejemplar en los Pirineos Orientales. (Iraola, 2005).

Conocer que el material genético es el ADN e incluso tener en claro cual es su estructura molecular o en donde los encontramos dispuesto en las células eucariotas, no nos aclara nada sobre cómo se expresa el ADN, o cómo se regula su expresión, ni tampoco sobre cuál es el estado actual del conocimiento o el impacto que el mismo ha producido. Para profundizar en estos aspectos los invitamos a leer los próximos capítulos.





## CAPÍTULO II

# ¿Cómo funcionan los genes?

Mónica Mardarás

El trabajo de Alfred Hershey y Martha Chase resultó la clave para dilucidar la sustancia portadora de la información genética. Las conclusiones de sus investigaciones lograron la aceptación de lo que ya era evidente: el ADN es la molécula portadora de la información genética. Las microfotografías electrónicas de sus experimentos mostraron que el bacteriófago se adhiere a la pared de la bacteria e inyecta su ADN en ella, dejando afuera la cubierta proteica “vacía”. En el interior de la célula lleva el mensaje hereditario completo de la partícula viral, dirigiendo la formación de nuevo ADN y proteínas virales.

Develado que el ADN es el material genético, en él se reconocieron dos características principales:

- La primera es la de tener la capacidad de copiarse fielmente. La vida de cualquier organismo comienza con una única célula que tras millones de divisiones celulares permite la formación de un organismo pluricelular. En cada división las instrucciones genéticas deben transmitirse a las células hijas. Lo mismo que ocurre al reproducirse un organismo que pasa sus genes a su progenie, donde estas instrucciones deben copiarse con extrema fidelidad, garantizando una de las funciones más importantes de la vida, la “perpetuación”.
- La segunda es contener información compleja, es decir contener las instrucciones para todos los rasgos y funciones de un organismo. Así, por lo tanto, debe

existir un mecanismo para que las instrucciones genéticas puedan traducirse en la secuencia aminoacídica de una proteína.-

La base material de los genes fue una revelación que nos mostró una “visión” del futuro de la biología pero aún faltaba enfrentarse con los detalles operativos de su funcionamiento (tarea que no resultó sencilla), es decir: ¿cómo esta estructura se materializa en proteínas, con formas concretas, funciones específicas e interacciones complejas en la célula? Resumiendo de otro modo: ¿Cómo “informa” el ADN las características de un organismo?

La necesidad de dar respuesta a estos interrogantes guió nuevas investigaciones que implicaron caracterizar algunos principios bioquímicos que llevaron a la descripción de las proteínas, su relación con las enzimas, lo que permitió comenzar a establecer una relación entre los genes las proteínas.

## Proteínas, fenotipo y genotipo

Entre las moléculas orgánicas más abundantes en los seres vivos se encuentran las **proteínas**. Esas moléculas revisten particular interés porque, de su presencia y de la compleja interacción que se establece entre ellas y con otras sustancias a través del tiempo dependen muchas, si no todas, las características **fenotípicas** de los seres vivos, es decir su morfología y funcionamiento.

Si las proteínas son los “obreros de las células” y controlan que un organismo sea como es, ¿por qué las bacterias tienen ciertas proteínas y no otras que están presentes, por ejemplo, en el ser humano? Si esto es así ¿por qué cada individuo produce sus propias proteínas? podríamos preguntarnos entonces: ¿cómo está guardada la información relacionada con las proteínas que un ser vivo fabrica? , ¿Cómo se manifiesta? Se puede decir que la respuesta está en los genes.

Para intentar explicar estas cuestiones, el lenguaje de la ciencia se nutre de metáforas. Se habla de información genética, del mensaje de los genes, de que los genes se expresan. Podemos empezar a aproximarnos al concepto de que los genes son unidades de información que se relacionan con las características de los seres vivos. A la descripción exacta de la composición genética de un individuo, ya sea con respecto a un solo rasgo o con respecto a un conjunto más grande de rasgos se lo denomina: **genotipo**[Gr. *Gen*: producir + *tipos*: impresión].

Sin embargo, ¿qué ocurre con características como la altura? El fenotipo de un ser vivo es el resultado de la interacción entre la información genética del organismo (su genotipo) y el ambiente en el que el organismo crece y se desarrolla. El ambiente no es algo ajeno al organismo, sino que resulta de la interacción con los seres vivos.

Antes de retomar la relación entre las proteínas y el fenotipo, nos gustaría plantear aquí algunas cuestiones tales como aspectos complejos del fenotipo, como por ejemplo la presencia de aptitudes deportivas, artísticas, o la inteligencia, para nombrar solo algunos ejemplos acerca de rasgos del comportamiento. No resulta sencillo establecer si su presencia se debe al genotipo del individuo, o si hubo influencia ambiental. J. Sebastián Bach, reconocidísimo compositor musical y sus descendientes directos fueron músicos reconocidos, ¿eso significa que sus hijos heredaron esa aptitud? ¿O será que estuvieron toda su vida inmersos en un ambiente estimulante? ¿Habrán influido los dos componentes (genotipo y ambiente)? ¿Es posible cuantificar la influencia de uno u otro componente?

Resulta difícil responder a estas preguntas. Se han realizado innumerable cantidad de investigaciones en este sentido. Sin embargo, la interpretación de los resultados suele depender de la postura de los investigadores. Es una de las cuestiones de la ciencia que están en plena discusión y debate. Estas posturas serán ampliadas en el capítulo N° 4.

Para continuar podemos plantear el siguiente interrogante: ¿qué permitió la gran contribución del modelo de Watson y Crick? La misma permitió suponer que las instrucciones genéticas se codifican en una secuencia de bases del ADN, que es la única parte variable de la molécula. La secuencia de cuatro bases a lo largo de la hélice codifica la información que finalmente, en interacción con el ambiente, dará como resultado el fenotipo. Esa elucidación acerca de la estructura química del genotipo, les permitió a los genetistas observar los genes directamente, sin tener que limitarse al análisis de las consecuencias fenotípicas de la acción genética. Sintetizando podemos decir que: con el conocimiento del ADN podemos definir el genotipo y el fenotipo de manera más precisa. El genotipo de un organismo es la información hereditaria que está contenida en su ADN. El fenotipo son los caracteres específicos del organismo. Las bases moleculares del fenotipo descansan en las proteínas.

Pero: ¿qué sabemos acerca de las **proteínas**? Se conocen de ellas muchas diferentes, pero continuamente se siguen conociendo muchas otras de cuya función nada se sabía. En nuestro organismo, por ejemplo, el color de la piel depende de la

cantidad de melanina, un pigmento que se encuentra en la piel y en cuya fabricación intervienen proteínas conocidas. El pelo de los mamíferos está formado fundamentalmente por proteínas, una de las cuales es la queratina. Nuestro organismo se defiende de agentes extraños, entre otras cosas, a través de proteínas especiales que son los anticuerpos. Las células necesitan enzimas para sus actividades bioquímicas, e incluso la síntesis de enzimas depende de otras enzimas. Y así podríamos continuar con innumerables ejemplos. Si no estuviera alguna de las proteínas mencionadas no se podrían llevar a cabo las distintas funciones y, en más de un caso, el individuo no podría sobrevivir.

La existencia de proteínas con funciones tan distintas se puede explicar por su composición química. Así como se pueden unir mostacillas de veinte colores diferentes para formar infinidad de collares distintos, también los 20 aminoácidos presentes en los seres vivos se pueden unir de forma variada conformando miles de proteínas distintas. Por lo que una proteína difiere de otra en el tipo, cantidad y secuencia de los aminoácidos que la componen. Esto permite explicar la especificidad de los “catalizadores biológicos”: las enzimas, la cual depende de su estructura primaria, es decir, la secuencia lineal de aminoácidos de la proteína.

## Algunos principios bioquímicos para comprender el camino que llevó a establecer la relación entre los genes y las proteínas

¿Cómo se supo acerca de las características químicas de las enzimas? ¿Cuál es la relación entre estas y las proteínas? Quienes dieron los primeros pasos para dar respuesta a estos interrogantes fueron los químicos, quienes por el siglo XVIII comenzaron a descomponer las sustancias que encontraban, y cuando lo hacían, les resultaba mucho más fácil describir la estructura molecular de aquellas que no contenían carbono en su estructura. En efecto, las moléculas ricas en carbono de los organismos vivos fueron cuestiones difíciles de resolver. Hubo de transcurrir gran parte del siglo XIX hasta observarse un progreso apreciable en esta materia.

La técnica utilizada por ese entonces era la de aumentar la temperatura de estas moléculas; pero ya en el siglo XVIII se reconoció que para un cierto grupo de sustancias, cuyo representante típico sería la albúmina, no se avanzaba mucho por ese camino. Estas sustancias en vez de licuarse o evaporarse y eventualmente desintegrarse, se aglomeran más intensamente o se solidifican. De modo que en ellas la

aplicación de temperatura elevada quedaba descartada porque provocaba la pérdida de la estructura tridimensional, conocida comúnmente como desnaturalización.

Hacia 1820 se utilizaba otro procedimiento para desdoblar moléculas: el tratamiento era con ácidos. Era por entonces conocido que los “ladrillos” estructurales del almidón y la celulosa, eran similares a las moléculas de glucosa. Aquello se consiguió desdoblado las agrupaciones moleculares de dichas sustancias mediante tratamiento con ácido. Conociendo esto, el químico francés Braconnot aplicó el mismo procedimiento a la gelatina, que químicamente se parece a la albúmina. Lo que halló fue una sustancia cristalina y de sabor dulce, pero puesto que los análisis posteriores revelaron la presencia de nitrógeno, no podría tratarse de un azúcar y la denominó glicina, un conocido aminoácido constituyente de muchas proteínas.

Luego, aprovechando aquel mismo recurso, descompuso tejidos musculares, y a los cristales blanquecinos que obtuvo esta vez – y que también contenían Nitrógeno– los denominó cristales de leucina. Un poco más tarde le tocó el turno a la leche, de la cual el químico alemán Justo Von Leibig aisló una sustancia similar a las recién nombradas a la que llamó tirosina. Por aquellos años a toda esa clase de sustancias, de las que se obtenían los productos nombrados, se las conocía ya con el nombre de **Proteínas**. Fue el químico holandés Juan Mulder quien inventó esta designación y los productos mismos, constituyentes de las proteínas, recibieron el nombre de **aminoácidos**.

Esta denominación tuvo que ver con la importancia que Mulder asignó a aquellas sustancias sobre la salud: Proteínas proviene del vocablo griego que significa “primario” y se le otorgó ese nombre porque a falta de algunas de ellas en la nutrición o un defecto en la producción orgánica de una u otra clase de esas sustancias, tiene consecuencias rápidas y fatales sobre la salud.

El último período del siglo XIX los conocimientos sobre los aminoácidos resultaron un punto de partida hacia el entendimiento de la estructura proteica. Era sabido que las proteínas eran moléculas construidas a partir de aminoácidos, e incluso se habían identificado a muchos de estos. Las proteínas que se encuentran comúnmente en la naturaleza suelen comprender 800 o más eslabones de aminoácidos.

Podemos preguntarnos: ¿Cuántos aminoácidos conocemos en la actualidad? ¿Hay nuevos aminoácidos? Si bien son 20 los aminoácidos comúnmente especificados por el código genético en los seres vivos, en los últimos años nuevos aminoácidos se han sumado a la lista. Un ejemplo es el de la pirrolisina, presente en procariotas y comunicado en el año 2002.

¿Qué tienen que ver en esta historia las **enzimas**? ¿qué relación tienen con los genes? Las enzimas son casi siempre de naturaleza proteica, es decir químicamente son proteínas, pero a diferencia de una proteína estructural como por ejemplo aquellas que forman los filamentos contráctiles de los músculos, las enzimas tienen actividades **medibles**. Esta es la clave que permitió dar respuesta al interrogante.

El estudio de las enzimas permitió analizar que la falta de una enzima puede llevar por ejemplo a cambios en la coloración. Estos cambios son fácilmente observables y medibles lo que permitió a los hombres de ciencia comprender las propiedades químicas de los genes.

Algunas investigaciones estuvieron relacionadas con las levaduras. Durante el siglo pasado hubo una época en la cual se aprendió mucho acerca de la constitución química de los agentes que desdoblán o fragmentan sustancias. En parte ello se debió a las acaloradas discusiones entre Luis Pasteur y Justo Von Leibig, en las que cada uno trataba de probar su punto de vista.

Leibig consideraba que los fermentos vivos y los catalizadores industriales producen un mismo efecto, por eso los consideraba esencialmente iguales. Pasteur en cambio consideraba que los fermentos vivos constituyen un caso especial: que las levaduras no elaboran sustancias químicas, sino que inician cambios químicos para mantenerse con vida.

El inicio de la pulverización resultó un aporte a estos estudios. Cuando el químico alemán Eduardo Buchner en 1897 pulverizó, es decir, se propuso conservar un extracto de levaduras moliéndolas con arena y azúcar. Esto le permitió descubrir una preparación enzimática soluble capaz de llevar a cabo la fermentación alcohólica.

El estudio detallado de este mecanismo libre de células posibilitó demostrar que este complejo proceso metabólico puede ser interpretado como resultado de una sucesión de reacciones químicas. Los hombres de ciencia se percataron de que no existían diferencias entre los fermentos consistentes en células vivas y los consistentes en células muertas, y les dieron a ambos un nombre común: **“enzimas”**.

En conclusión ambos tenían razón: Leibig sostenía que lo que esos compuestos hacen por las sustancias orgánicas es exactamente análogo a lo que realizan los catalizadores industriales, siendo estos de naturaleza inorgánica, aceleran notablemente reacciones químicas que de otro modo, apenas si avanzarían. Por otra parte Pasteur sostenía que cuando los organismos vivos (como las levaduras), generan cambios químicos en diversas sustancias, consiguen este efecto como acción

secundaria de su propósito principal: mantener ellos sus funciones vitales. Ambos tenían una parte de razón en sus posturas.

En 1918 el químico alemán Otto Meyerhof propuso que las células animales (en los músculos) y las levaduras degradan las moléculas de azúcar, su fuente de energía, de igual manera. De este modo probó que la acción enzimática era esencial para el metabolismo celular de todos los seres vivos.

Pero, ¿Qué se sabía acerca de las características químicas de las enzimas mismas? Durante las décadas iniciales del siglo XX no se pudo hacer mucho más que teorizar, ya que por ese entonces eran “huesos difíciles de roer” y faltaban métodos para el estudio de estas moléculas.

Las teorías son ideas inventadas por el hombre y una de las teorías propuestas por ese entonces era la que afirmaba que las enzimas son proteínas. Pero por ese momento no se habían desarrollado experiencias para su estudio. Esto aconteció entre los años 1926-1935, cuando el científico James Sumner en Estados Unidos, aisló y cristalizó una enzima a partir de porotos denominados sables o gigantes, y cuando John Howard Northrop realizó ese mismo trabajo con la pepsina (enzima de nuestro tubo digestivo) y otras enzimas, estableciendo las composiciones químicas de esas sustancias, todo esto empleando métodos no disponibles aún durante las primeras décadas del siglo pasado.

¿Qué tiene que ver todo esto con la entonces “en pañales” ciencia de la genética? En realidad MUCHO. Si bien en aquella época esto no se advertía, era simplemente porque aquellos genetistas y químicos no sabían que estaban investigando un mismo problema. Cada uno exploraba una porción distinta del mismo aspecto.

Por un lado, en el campo de la **genética** se hallaban los investigadores completamente absorbidos por lo que iban descubriendo acerca del mecanismo de la herencia. Por supuesto que cuando discurrían acerca del “gen informante” para alguna característica; sabían perfectamente que tal gen no tenía esa característica ni parte alguna, que no traspasaba a la célula y que, por lo tanto, la única manera de proceder era transportando información que “adiestrarse” a la célula para establecer alguna característica. Pero cómo se realizaba exactamente dicha transmisión era aún una pregunta sin respuesta y por “suerte” había quienes eran capaz de especular teóricamente acerca del tema.

Por el otro lado los **químicos**, no podían tomar muy en serio a los genetistas porque para ellos sus trabajos carecían de relevancia, pues se pasaban casi todo el

tiempo criando enjambres de mosquitas de la fruta dentro de botellas, realizando la genealogía de conejos y polinizando a mano trabajosamente.

Felizmente los investigadores: químicos y genetistas, fueron estableciendo algunos puentes en lo que respecta a lo que separaba a estas dos disciplinas: la química y la genética. Algunos de los puentes que comenzaron a establecerse estuvieron relacionados con conocimiento de la estructura química de los pigmentos vegetales, que por aquella época despertaban gran interés por su valor como colorantes industriales. Era conocido que las características cromáticas de las plantas se heredan de acuerdo con las leyes de Mendel. De esta manera había algo más en común entre los científicos interesados en comprender la pigmentación y sus matices.

Desde 1905 hasta 1913, un grupo de investigadores, cristalizaron los pigmentos determinantes de que las rosas tengan coloración rosada y las violetas, violetas. Estas investigaciones llegaron a la conclusión de que todas las plantas con tintes incluidos en la gama que va del rojo al púrpura, poseen esencialmente la misma molécula cromógena; y que el matiz particular de cada uno se debe a la acidez o alcalinidad del medio. Así en presencia de ácido el color resultante es rojo brillante; si la solución es neutra: violeta; y en medio alcalino, púrpura intenso. Concluyeron también que el tinte era influido por la temperatura, por la luz y por la presencia de ciertos minerales. Además se sabía que todos estos cambios de color se heredan.

La pregunta que surgía de estas observaciones era: ¿Es posible que los genes respondan a las condiciones de alcalinidad o acidez, a diferencias de temperaturas o diferencias de iluminación? Cuanto más estudiaban la pigmentación, tanto más claro se iba haciendo que más variaciones sumamente exiguas del tinte caían bajo el control génico. Surgían algunas dudas: ¿no harán los genes algo más que transportar la información relativa a la herencia? ¿no serán ellos, tal vez, agentes activos de algunos cambios químicos que se relacionan con la pigmentación? . Se preguntaban: ¿serán los genes los responsables de la síntesis de ciertos pigmentos? Pero faltaba todavía establecer una correlación directa entre un gen y un producto químico.

## La descripción de una enfermedad genética en humanos: el primer paso

El primer efecto de la correlación visible entre un gen y un producto químico fue detectado por el médico clínico Archibald Garrod en el año 1908. Esta primera pista

acerca de tal relación provino de los niños que nacían con un defecto en una o más rutas metabólicas.

El interés de Garrod se centraba alrededor de las enfermedades hereditarias a las que él mismo denominaba “errores innatos del metabolismo”. En 1909 publicó un libro donde exponía con detalle un mal llamado alcaptonuria. Describió así la primera enfermedad genética identificada en humanos. La dolencia es poco frecuente y benigna, tiene un síntoma visible (y por lo tanto **medible**): la orina adquiere coloración negra en contacto con el aire. Esto se debe a que el organismo presenta el compuesto denominado “ácido homogentísico”, que no se presenta en los organismos sanos. Es un producto del metabolismo de los aminoácidos tirosina y fenilalanina, tanto en sangre como en orina, que es auto oxidable y cambia a color café.

Garrod realizó intercambios con el genetista Bateson y llegaron a la siguiente conclusión acerca de su explicación genética: un único gen es responsable de esta anomalía (los enfermos son homocigotas y portadores del alelo recesivo). Como los aminoácidos fenilalanina y tirosina son absorbidos en abundancia por estos enfermos, su nivel de ácido homogentísico en sangre y en orina aumenta considerablemente. En los individuos sanos la forma alélica dominante del gen permite la degradación de este ácido hasta dióxido de carbono y agua. Garrod suponía que la ausencia de ácido homogentísico en la orina normal se debía a que era degradado por una enzima y que la falta de esta enzima era lo que provocaba la alcaptonuria. Propuso que la alcaptonuria era el resultado de una deficiencia enzimática y de naturaleza hereditaria.

¿Cuál es el agente específico que produce la transformación del ácido homogentísico en ácido acetoacético? La teoría de Garrod – que, por lo que se vio después, fue un brillante ejemplo de intuición feliz – afirmaba que: “la transformación del ácido homogentísico durante el curso del metabolismo normal era “obra” de una enzima especial, que faltaba en el caso de la alcaptonuria”. En verdad, no mencionó un “gen” defectuoso como determinante de la ausencia de aquella “enzima especial”, pero en su trabajo se hallaba claramente implicada la relación causa – efecto.

En su investigación trató a los enfermos con dietas “especiales”, nutriéndolos con compuestos de los que se creía eran los precursores del ácido homogentísico. Así pudo observar que la cantidad expulsada de aquella sustancia correspondía cualitativamente a la masa ingerida de dichos compuestos.

En 1908 Garrod anuncia la hipótesis según la cual una alteración del metabolismo quizá está relacionada con la mutación de un gen único; este es el célebre

concepto de “error innato del metabolismo”. Esta idea fue revolucionaria y permitió explicar muchos hechos, pero tuvo poco impacto entre sus contemporáneos. Durante mucho tiempo se aceptó la idea de la existencia de los genes, pero se desconocían tanto su composición química como específicamente qué función tenían. Por primera vez se había formulado una correspondencia precisa entre un gen y un compuesto químico, aunque sería necesario aguardar más de 40 años para comprender el sentido de esta observación.

Recién a mediados de la década del 30 empezaron a surgir interpretaciones similares basadas en nuevas investigaciones acerca de la química de la pigmentación. Garrod quedó rescatado del olvido gracias al genetista británico J.B.S.Haldane, quien hizo notar en 1942 que ciertos descubrimientos respecto de la interpretación gen-enzima (que se proclamaban abiertamente como nuevos) habrían sido en realidad proclamados hacía nada menos que treinta años atrás.

Una característica común de la historia de la Biología y en este caso de la genética en particular, es que los descubrimientos fundamentales suelen no ser reconocidos o ser pasados por alto porque requieren una diferencia radical en la forma de ver los principios básicos de la disciplina.

## El establecimiento de la relación entre un gen y un producto químico

Los genes no pueden, por si solos, producir directamente un resultado fenotípico como un color particular de ojos, una forma específica se una semilla o un mentón hendido, más fácilmente que lo que un disco compacto puede ejecutar un tema musical sin la ayuda de una compactera.

El primer paso para relacionar el ADN con su fenotipo fue definir a estos últimos en términos moleculares. La base molecular de los fenotipos fue descubierta en realidad antes del ADN como material genético. Utilizando organismos tan diversos como organismos humanos y mohos de pan, los científicos estudiaron las diferencias químicas entre los organismos que llevan alelos (variante para una característica) de tipo salvaje (“natural”) y mutante. Descubrieron que las principales diferencias fenotípicas se hallaban en proteínas específicas.

En 1920 se realizaron observaciones de la misma naturaleza en vegetales. Se descubrió que los pétalos de muchas flores presentan diversos colores debido a sus pigmentos, en particular antocianinas (pigmentos hidrosolubles que se hallan en

las vacuolas de las células vegetales y que otorgan el color rojo, púrpura o azul a las hojas, flores y frutos), y se comprobó, utilizando variantes naturales, que estos cambios de los pigmentos se relacionan con la modificación de genes únicos.

Del mismo modo, en 1935 se aplicó un método que asoció la genética “normal” con experimentos muy complicados de injertos de órganos en la mosca de la fruta: *Drosophila melanogaster*. Demostraron que el color de los ojos se relacionaba con la presencia de un pigmento producido por acción de diversos genes que funcionaban “en cascada”, como una línea de ensamblaje molecular y daban lugar a la aparición de diversos compuestos intermediarios hipotéticos.

No obstante, debido al limitado número de análisis para establecer una relación de causalidad directa entre un gen y un producto químico a menudo no identificado, fue imposible proponer alguna teoría general sobre el modo de funcionamiento de los genes.

Más adelante se aplicó un modelo biológico conocido en los campos de la genética y la fisiología, que combina el uso sistemático de mutaciones inducidas experimentalmente, permitiendo analizar las consecuencias fenotípicas de las mismas. Esto posibilitó que se realizaran avances significativos para resolver este problema.

Entre 1937 y 1941, los genetistas estadounidenses Beadle y Ephrussi estudiaban mutaciones que afectan el color de las moscas *Drosophila melanogaster* obtenidas en el laboratorio de Morgan. Desarrollaron la hipótesis de que cada variación en el color de los ojos de las moscas se debía al cambio de una sola enzima en una ruta biosintética.

Analizaron diversos mutantes (que habían experimentado un cambio hereditario de material genético) y prestaron atención a los mutantes “bermellón” y “cinabrio” con color bermellón y rojo cinabrio respectivamente. Ambos tenían afectada la ruta de formación del pigmento marrón. Los dos científicos supusieron que los organismos mutantes bermellón y cinabrio tenían bloqueado algún paso de la ruta que conduce a la formación de los pigmentos del ojo.

Llegaron a la conclusión de que había enzimas que bloqueaban un paso particular de la ruta o vía metabólica que conduce a la síntesis de una sustancia, en este caso el pigmento marrón de los ojos.

## Un gen una enzima

¿Cómo se llegó a establecer la hipótesis “un gen una enzima”? Durante la primera mitad del siglo XX se desarrollaron de forma extraordinaria las dos disciplinas que son la base de la biología molecular: la genética y la bioquímica. Uno de los principales aportes en esta línea fue realizada en la década del 40 por George Beadle y el bioquímico Edward Tatum. Ambos demostraron que había una correlación entre los genes y las enzimas a través del estudio de las rutas metabólicas implicadas en la síntesis de aminoácidos.

De manera contraria a sus predecesores decidieron analizar los genes que participaban en el control de las reacciones bioquímicas ya conocidas; de hecho los bioquímicos ya habían establecido el concepto de cadena de biosíntesis e identificado diversas enzimas que catalizaban a estas reacciones. Realizaron sus trabajos en la Universidad de Standford, los que permitieron mostrar que cuando un gen era alterado producía un fenotipo alterado, en consecuencia este aparecía como una enzima proteica alterada. Este hallazgo fue críticamente importante para definir el fenotipo en términos químicos.

Comencemos con esta historia: Beadle se dedicaba a la investigación genética y trabajaba con la mosca de la fruta: *Drosophila melanogaster*, al igual que lo hacía Thomas Hunt Morgan en el Instituto Tecnológico de California. Necesitaba a un bioquímico y pensó en Tatum, que por ese entonces estaba aislando factores de crecimiento en Europa.

De regreso a los Estados Unidos, en la Universidad de Standford, ambos se nutrieron de ayudas y becas de la industria agroalimentaria, farmacéutica, así como la de la Fundación Nutricional. Debido a que el padre de Tatum era un reconocido farmacéutico que había establecido relaciones con aquellas industrias. Beadle recibió también soporte financiero de la fundación Rockefeller desde el principio. Esto permitió entre otras cosas, mantenerlos dedicados a la investigación en el momento que muchos hombres eran movilizados para la guerra.

Hay en esta historia de trabajo una anécdota importante de destacar en relación a la ciencia: que se desarrolla en comunidades y que mientras los científicos descubren e inventan, hay un marco gubernamental que los sostiene y financia, determinan las líneas en las que se ha de trabajar y los usos que se hacen de los resultados de la investigación y de la innovación.

La bioquímica ayudó a explicar que las vías metabólicas también podían aplicarse a las bacterias. Los trabajos de Beadle y Tatum permitieron establecer que cada una de las enzimas que catalizaban estas etapas esenciales del metabolismo está controlada con mucha precisión por un gen. Luego de la exposición a rayos X, se modificaban y alteraban- según demostró Muller- los genes que perturbaban el desarrollo de las bacterias.

El mecanismo de la mutación ha sido utilizado con resultado en la producción de penicilina. El conocimiento del origen mutacional de microorganismos resistentes a la acción de los antibióticos ha sido, igualmente, un hallazgo de gran valor para un mejor uso de ciertos recursos terapéuticos. La teoría formulada por Beadle y Tatum, gracias a la utilización de mutantes en su diseño experimental, permite interpretar algunos procesos patológicos provocados por defectos genéticos del metabolismo, conformando la hipótesis sostenida por Garrod en su libro *“Errores innatos del metabolismo”*.

La idea que pretendemos defender con este ejemplo es que el conocimiento científico afecta inevitablemente, de manera específica en diferentes momentos históricos, la cosmovisión de los hombres y; por lo tanto es una fuerza poderosa constitutiva de la subjetividad humana. Es allí donde reside la no neutralidad ética, históricamente condicionada de la ciencia, y no en que avale tal o cual acción humana a través de un enunciado, una ley o un modelo en particular.

¿En qué consistió el trabajo de estos científicos? 1941 Beadle y Tatum postularon la existencia de la relación “un gen, una enzima”. Las técnicas y métodos que desarrollaron fueron decisivos, no solo para el análisis de esta relación, sino también para el estudio de los caminos o rutas del metabolismo. El trabajo consistió en comenzar con reacciones químicas secuenciales, controladas por enzimas para ver si las mutaciones afectaban a estas reacciones. Para esto tuvieron que elegir un organismo cuyos procesos químicos fuesen conocidos para irradiarlo e, inducir cambios en sus genes; mutaciones tales que los resultados fuesen el bloqueo de alguna reacción química específica y luego (si la suerte les era propicia) identificar los genes que controlaban esas reacciones.

El organismo adoptado para sus experimentos era un organismo igualmente manejable y común como la mosca de la fruta: el moho rojizo del pan *Neurospora crassa*. En este caso como en tantos otros en ciencia, es de vital importancia la selección del modelo experimental (aspecto que destacaremos en el capítulo 4). Las

ventajas que ofrecía este hongo eran numerosas: su ciclo de vida es corto, por lo que se reproduce rápidamente; es fácil de cultivar en el laboratorio y sus caracteres genéticos eran bien conocidos por ese entonces. Además, la principal parte vegetativa del hongo es haploide es decir con un solo juego de cromosomas, permitiendo que los efectos de las mutaciones recesivas se observen con facilidad. Pero faltaba un dato fundamental para esta investigación que pretendía intervenir en los procesos metabólicos del hongo: no conocían mucho sobre requisitos nutritivos.

Aunque el hongo *Neurospora crassa* se encuentra normalmente en el pan que tiene varios días de elaborado, puede sobrevivir con una dieta mucho más simple. Todo lo que necesita es una fuente de energía como el azúcar, unos cuantos minerales y vitamina B6, también llamada biotina. Con estas condiciones fabrica las enzimas necesarias para elaborar prácticamente todas sus moléculas orgánicas, incluidos los aminoácidos. (A diferencia, los seres humanos no somos capaces de sintetizar muchas vitaminas ni tampoco nueve de los veinte aminoácidos más comunes, por lo que debemos obtenerlos de los alimentos).

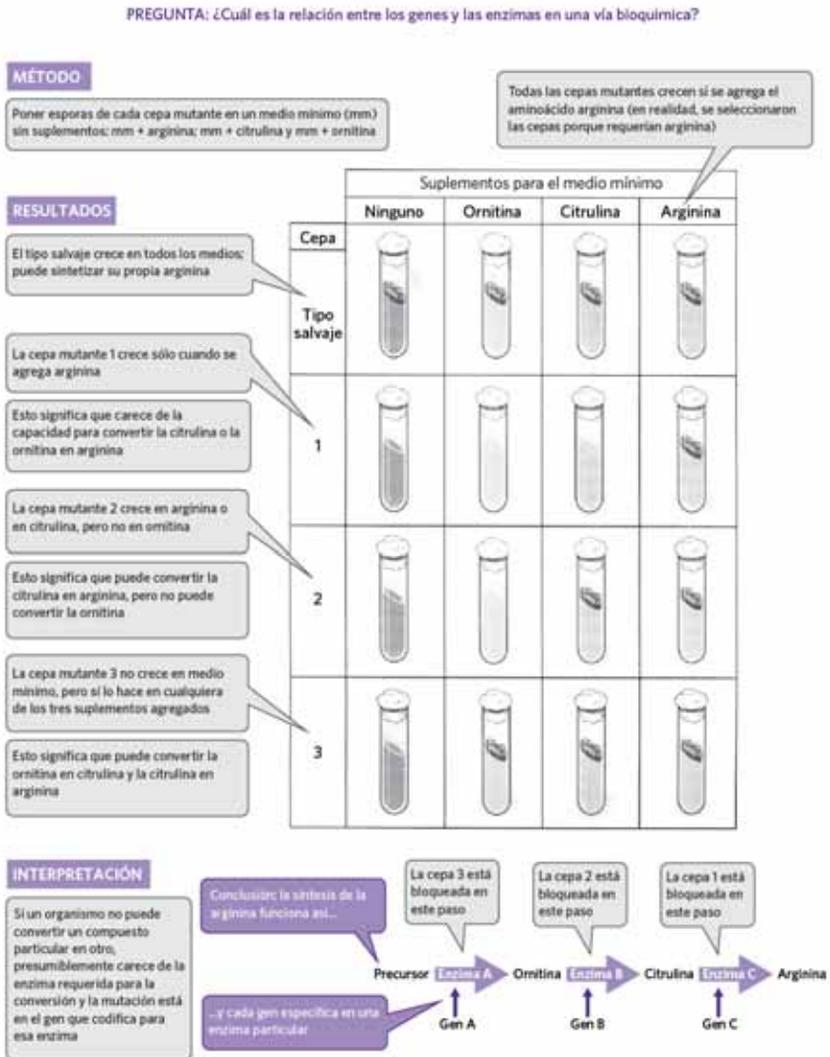
Este mohó, como cualquier organismo, puede sufrir mutaciones en algunos de sus genes que interrumpen su crecimiento porque le impiden sintetizar una o más moléculas biológicas esenciales. A estas estirpes mutantes nutricionales incapaces de vivir en medio mínimo también se las denomina cepas auxótrofas o dependientes. Las mismas no crecen en medio mínimo, pero si lo pueden hacer en un medio que contenga la sustancia que no pueden sintetizar.

Irradiaron al hongo salvaje con rayos X y al examinarlos, encontraron que estas cepas eran incapaces de crecer en un medio mínimo, sino que necesitaban nutrientes adicionales que no podían fabricar por su cuenta. Propusieron que estos auxótrofos deben haber sufrido mutaciones en genes que codifican las enzimas necesarias para sintetizar los nutrientes que ahora debían ingerir.

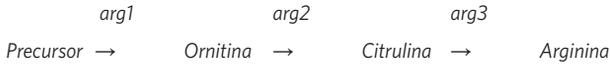
Para cada cepa auxótrofa, Beadle y Tatum encontraron un único compuesto que, cuando era adicionado al medio mínimo, permitía el crecimiento de la cepa. Este resultado apoyó la idea de que las mutaciones tienen efectos simples y que cada mutación causa un defecto en una sola enzima de una vía metabólica.

Si una mutación genética determina una enzima "anormal", entonces el gen de tipo salvaje debe codificar la enzima normal. Esta conclusión los condujo a formular la hipótesis de un gen una enzima. De acuerdo con ella la función de un gen es controlar la producción de una única enzima específica.

Figura 2.1 esquema de la experiencia de Beadle y Tatum ( Purves, Vida. 6 ed. Médica Panamericana. Buenos Aires. pág.217)



Imágen N° 2: vía metabólica que permite la síntesis de arginina- se encuentra escaneado en la última parte del esquema anterior



Estos dos científicos contaron con mucha suerte en cuanto a la época en que efectuaron sus investigaciones, ya que solo uno o dos años atrás la biotina no era conocida y recién en la época en la que comenzaron a trabajar empezó a estar disponible para su empleo en el laboratorio. El término “suerte”, “suena” incorrecto cuando se trata de ciencias pero nos permite una mirada reflexiva sobre el llamado “contexto de descubrimiento”, es decir la etapa de la investigación en la que ocurren los procesos o eventos ( en este caso contar con la biotina)que permiten generar ideas nuevas

Beadle y Tatum recibieron el Premio Nobel de medicina y fisiología en 1958 por sus contribuciones al conocimiento del mecanismo genético por el cual se regulan determinadas transformaciones químicas. La misma constituyó un hallazgo fundamental, no solo porque indicaba un modo de acción preciso para los genes, sino que además aportó una herramienta para analizar el metabolismo. Es decir fueron el sustento del estudio de las rutas metabólicas desde el punto de vista genético, que responde a los siguientes principios básicos:

- El bloqueo de una reacción o paso de una ruta metabólica, por falta de la enzima o fallo en el funcionamiento de la enzima que controla ese paso, produce la acumulación en las células del compuesto inmediatamente anterior al paso alterado.
- El suministro de una sustancia o compuesto posterior al paso metabólico bloqueado permite que el individuo mutante supere el bloqueo y pueda completar la ruta, llegando a fabricar el producto final
- Cuantos más mutantes crecen con un determinado compuesto, tanto más hacia el final de la ruta estará el compuesto añadido.
- Cuantos menos mutantes crecen con una sustancia tanto más hacia el principio de la ruta estará esa sustancia.

**“Un gen: una enzima”** resultó ser una simplificación. Aunque la mayoría de las enzimas son en verdad proteínas (decimos la mayoría porque como describiremos

luego hay ARN con función enzimática), no todas las proteínas son enzimas. Como ya hemos mencionado, algunas proteínas, por ejemplo, son hormonas, como la insulina, y otras tienen función estructural, como el colágeno. Como estas proteínas también son codificadas por genes. “Un gen-una enzima”, fue simplemente corregido a “un gen-una proteína”. Posteriormente, al conocerse que muchas proteínas están formadas por más de una cadena polipeptídica, o subunidad (es decir poseen una estructura cuaternaria), el concepto se modificó una vez más al menos impactante, pero más preciso, **“un gen-una cadena polipeptídica”**.

Mucho más tarde se descubrió que algunos genes codifican formas de ARN que no se traducen en polipéptidos y otros genes están involucrados en controlar cuáles son las secuencias de ADN que se expresan. Estos descubrimientos que describiremos en el próximo capítulo derrumbaron la idea de que todos los genes codifican proteínas pero no invalidaron la relación entre los genes y los polipéptidos.

En síntesis, lo realizado por Beadle y Tatum consistió en descubrir mediante el recorrido de un camino penoso, lo mismo que Garrod había analizado treinta años antes. Pero habían podido ir un poco más allá del único ejemplo que este último había presentado. Además la época de sus publicaciones era mucho más propicia, ya que por 1941, los genetistas y los bioquímicos parecían estar dispuestos “a tirar del mismo carro”.

Lo anteriormente analizado posibilitó que el concepto de gen evolucionara desde “un gen una enzima” a “un gen una proteína” a “un gen una cadena polipeptídica”. Pero, como veremos más adelante no fueron las últimas reformulaciones del concepto.

## Colinealidad e Hipótesis de la secuencia

Cuando se anunció la hipótesis “un gen una enzima”, faltaba determinar si la relación entre los genes y las enzimas es de tipo informacional, es decir, si el gen contiene la información para producir la enzima que actúa en el paso metabólico alterado, o si la relación entre el gen y la enzima consiste simplemente en que el gen permite o impide el funcionamiento de una determinada enzima pero sin llevar información para ella.

Los científicos se preguntaban: ¿cuál es la relación entre los genes y las enzimas? Conviene recordar que en esa época no solo se desconocía la estructura del

ADN y de las proteínas, sino que tampoco se creía con convicción que el ADN fuera el soporte de los caracteres hereditarios.

Gracias al trabajo de los genetistas, que por medio de la construcción de mapas de mutaciones en el ADN estudiaron la estructura “fina” de los genes y a las técnicas de secuenciación de proteínas, fue posible averiguar el aminoácido alterado por cada mutación.

Al mismo tiempo, los progresos en bioquímica, posibilitaron establecer que las proteínas son moléculas lineales no ramificadas, con el número y la secuencia de aminoácidos constitutivos igualmente definidos. Esto permitió establecer una correlación entre dos estructuras lineales funcionalmente relacionadas.

El concepto de **colinealidad** entre el gen y la proteína posibilitó la correspondencia punto por punto entre los sitios mutados a nivel de un gen y los aminoácidos modificados a lo largo de la cadena polipeptídica alterada, cuya síntesis era regida por dicho gen.

En 1958 Crick propuso **“la hipótesis de la secuencia”**, la misma expresa: “*que existe una relación entre la ordenación lineal de nucleótidos en el ADN y la ordenación lineal de aminoácidos en los polipéptidos*”. Su demostración se realizó varios años después de su formulación. Hubo dos demostraciones de la hipótesis de la secuencia: En 1964 dos grupos de investigación el grupo de Yanofsky y el de Sarabhai publicaron resultados que la apoyaban.

La comunidad científica admitió esta hipótesis y se plantearon dos preguntas fundamentales en el avance de la genética molecular: ¿Cómo se “convierte” la información contenida en la secuencia de ADN en una estructura química de una proteína? ¿Existe algún código o clave que permite pasar de la secuencia de nucleótidos en el ADN a la secuencia de aminoácidos en las proteínas?

## El papel del ARN

La mayoría de las actividades biológicas son efectuadas por proteínas. En consecuencia la síntesis exacta de proteínas es esencial para el funcionamiento adecuado de las células. Como analizamos anteriormente el ordenamiento lineal de aminoácidos determina la estructura tridimensional de una proteína y por lo tanto su actividad.

El concepto clave es que la estructura determina la función. Por eso una mutación, aunque este alejada del sitio activo de la enzima (sitio que permite reconocer

específicamente el sustrato), puede provocar la pérdida de su función. Por este motivo el montaje de aminoácidos en el orden correcto, es un elemento clave para la síntesis de proteínas funcionales.

Si bien el ADN es quién almacena la información para la síntesis de proteínas es otro ácido nucleico quién transporta las instrucciones codificadas en el ADN: el ARN (ácido ribonucleico).

Muchos investigadores estaban obsesionados con el “traductor” de la información. Un buen candidato era el ARN, pero su “rol” no era claro por aquel entonces. Solo se tenían nociones parciales de la existencia de lo que posteriormente se conoció con el nombre de ribosomas (estructuras constituidas por ARN y proteínas) y de la existencia de “adaptadores”, capaces de fijar aminoácidos y de interactuar con una secuencia de nucleótidos.

Pero, como era sabido en ese momento, todos los organismos multicelulares contienen tanto ADN como ARN, y parecía muy poco probable que interfiriesen en sus actividades. Muchos esfuerzos de las décadas del 40 y 50 se concentraron en la determinación del papel específico de cada uno. La cuestión se elucidó pronto: aunque los planes para la elaboración de las proteínas se conservan en el ADN, es el ARN el que ejecuta el trabajo de elaborarlas. Esta afirmación cuenta con el apoyo de los siguientes hechos:

1. Aquellos tejidos y órganos que producen cantidades considerables de proteínas son más ricos en ARN que los que no la producen.
2. Dentro de cada célula, al ADN se lo halla en su mayor parte en el núcleo, y al ARN en el citoplasma.
3. El citoplasma presenta dos tipos de ARN: uno en forma de moléculas relativamente pequeñas que flotan libremente; el otro, como moléculas mayores, asociadas con estructuras llamadas ribosomas.

Los trabajos y aportes de varios científicos permitieron armar una parte del rompecabezas en el proceso de Síntesis proteica. La respuesta estaba en el ARN, en sus tres variedades: ARN mensajero, el ARN de transferencia y el ARN ribosómico.

Los tres tipos de moléculas de ARN llevan a cabo funciones diferentes pero cooperativas en la síntesis de proteínas:

- El ARN mensajero: transporta la información genética desde el ADN, bajo la forma de una serie de “palabras” en código de tres bases, cada una de las cuales

especifica un aminoácido particular.

- El ARN de transferencia: es la clave para descifrar las palabras del código del ARN mensajero. Cada aminoácido particular tiene su propio tipo de ARN de transferencia, al que se une temporariamente para ser transportado hasta el extremo creciente de una cadena polipeptídica. El ARN de transferencia correcto, con el aminoácido adosado, es seleccionado en cada paso, porque cada molécula específica de ARN de transferencia contiene una secuencia de tres bases que se aparea con el código complementario en el ARN mensajero.
- El ARN ribosómico: se asocia con proteínas para formar unas estructuras complejas: los ribosomas. Los cuales constituyen el sitio donde se relaciona la molécula de ARN mensajero y catalizan la unión de los aminoácidos para formar las cadenas proteicas. También fijan los ARN de transferencia y distintas moléculas accesorias, necesarias para la síntesis proteica.

Los tres tipos de ARN participan en la vía de la síntesis proteica de todas las células llamada traducción; de hecho, en nuestra opinión, es probable que el desarrollo de estas tres funciones diferenciadas haya sido la clave molecular del origen de la vida.

## El dogma central de la biología molecular

Francis Crick propuso lo que él denominó el dogma central de la biología molecular. El dogma plantea que el ADN codifica la producción de ARN (transcripción), el ARN codifica la producción de proteínas (traducción) y las proteínas no codifican la producción de proteínas, ARN o ADN. El flujo de información fue formalizado en el año 1957, en una conferencia en la Sociedad Británica de Biología Experimental. El dogma establece que la información fluye unidireccionalmente del ADN al ARN y de éste a las proteínas”, pero no de una proteína a otra proteína, ni de una proteína a un ácido nucleico. Según palabras de Crick: “...una vez que la información ha pasado a una proteína no puede salir nuevamente”.

El artículo escrito por Crick, cuyo título original se publicó en 1958 en la revista Nature. Muchos científicos opinan que “dogma” fue una denominación poco acertada, ya que un dogma se refiere a una premisa fija y que no se pone en duda y la ciencia justamente se caracteriza por ser un proceso de cuestionamiento y cambio permanente.

El “Dogma” aportó una nueva refutación de la antigua y arraigada idea del naturalista francés Jean B. Lamarck, quién en 1909 había establecido que las características durante la vida de un organismo son heredadas. Si bien el trabajo de algunos genetistas a principios del siglo XX como August Weisman, entre otros, habían refutado esta idea; distinguiendo que las modificaciones del “plasma somático” no se transmiten a la descendencia, la noción de que las proteínas no pueden transmitir información al ADN dio el “golpe” final a la ideas Lamarkianas.

## ¿Cómo fluye la información dentro de la célula?

El dogma permitió plantear dos preguntas: 1) ¿De qué manera pasa la información del núcleo al citoplasma? (como es sabido, la mayor parte del ADN de una célula eucarionte está confinada en el núcleo, pero las proteínas se sintetizan en el citoplasma.). 2) ¿Cuál es la relación entre una secuencia de nucleótidos específica (en el ADN) y una secuencia específica de aminoácidos (en una proteína)?.

Para responder a la primera pregunta, Crick y sus colaboradores desarrollaron la **hipótesis del mensajero**, de acuerdo con la cual una molécula de ARN se forma como una copia complementaria de una cadena de ADN de un gen particular. Este proceso mediante el cual se forma el ARN se llama **transcripción**. Constituye un proceso de copiado de la información genética encargado de describir la propia naturaleza de organización de los ácidos nucleicos y se basa en la complementariedad de bases AT o (AU) y CG en estructuras de doble cadena. Este proceso contribuye también a segmentar el mensaje hereditario para producir moléculas informativas que pueden utilizarse para la síntesis de proteínas.

El termino **transcripción** es apropiado porque, aunque la información se transfiere desde el ADN al ARN, ella permanece en el lenguaje de los ácidos nucleicos. Cada molécula de ARN mensajero viaja entonces desde el núcleo al citoplasma donde sirve como molde para la síntesis de proteínas.

Para la segunda pregunta, Crick propuso la **“hipótesis del adaptador”**: debe existir una molécula adaptadora que pueda unirse a un aminoácido específico en un extremo y reconocer una secuencia de nucleótidos con otra región. En su debido momento estos adaptadores, llamados ARN de transferencia fueron identificados. Debido a que reconocen el mensaje genético del ARN mensajero y simultáneamente transportan aminoácidos específicos, los ARN de transferencia pueden traducir el

lenguaje del ADN en el lenguaje de las proteínas. Los adaptadores se alinean sobre el ARN mensajero de manera que los aminoácidos se ubiquen en la secuencia correcta para una cadena de polipéptidos en crecimiento, proceso llamado **traducción**. La traducción permite la síntesis de proteínas y se basa en un principio diferente y en la existencia de un mecanismo complejo. A finales de la década del 50 se creía que todos los ARN tenían función de matriz para la síntesis proteica. El término utilizado en este caso- traducción - también resultó apropiado porque la información debe traducirse del lenguaje de los nucleótidos al lenguaje de los aminoácidos.

Las principales características del dogma central, la hipótesis del mensajero y la hipótesis del adaptador que indica el sentido de flujo de la información genética se puede resumir de la siguiente manera: **un gen dado es transcrito para producir un ARN mensajero complementario de una de las cadenas de ADN y las moléculas del ARN de transferencia traducen la secuencia de las bases en el ARN mensajero a la secuencia apropiada de aminoácidos.**

Una diversidad de experimentos demostraron que se cumple (el flujo unidireccional), salvo algunas excepciones. La principal excepción al dogma central es un proceso llamado **transcripción reversa**, en el cual la información codificada por ciertos virus que contienen ARN se transcribe a ADN por la acción de la enzima transcriptasa reversa - esta enzima le dio a la ingeniería genética la posibilidad de sintetizar ADN complementario a partir de ARN mensajero y de esta manera clonar sólo las regiones codificantes de los genes -y en algunos elementos transponibles.

La transcripción reversa es el proceso de hacer un doble trenzado de ADN. Esta idea era muy impopular al principio pues contradijo el dogma central de la biología molecular. Sin embargo en 1970 en que los científicos Howard Temin y David Baltimore descubrieron cada uno por su lado la enzima responsable de la transcripción reversa, la posibilidad de que la información genética pudiera pasar de este modo finalmente fue aceptada.

Temin recibió el Premio Nobel en 1975 por sus descubrimientos en relación con la interacción entre los virus tumorales y el material genético en la célula, en particular por el descubrimiento de la transcripción reversa en virus ARN-ADN.

Aún con el descubrimiento de la transcripción reversa, el dogma central de la biología molecular sigue siendo válido. No "cayó" en desuso, pero sí fue modificado.

## El código molecular de la vida: el código genético

En 1961, colaborando con Sidney Brenner, Crick dedujo que el código genético estaba compuesto por palabras de tres letras (cada tres bases del ADN significan un aminoácido en la proteína), que no tenía comas y que las palabras sin sentido debían ser bastante infrecuentes. Estos científicos y sus colaboradores informaron los resultados de experimentos cuidadosos con el bacteriófago T4, que mostró claramente que el código se componía de tripletes de bases que no se superponen ni parecía estar separados por puntuación.

Varios laboratorios de la elite bioquímica - entre ellos el de Severo Ochoa - comprobaron tras años de trabajo forzado que todas esas predicciones de Crick eran exactas. En 1955, Crick postuló, sin más ayuda que las células de su cerebro, que el código genético, es decir, la traducción de los genes en proteínas, se basaba en una serie de adaptadores hechos de ARN que por un lado mostrarán un grupo de tres bases y por el otro llevarán pegado un aminoácido. Las tres bases debían ser complementarias a un grupo de tres bases en el gen, y debían unirse a ellas mediante un tipo débil de enlace químico conocido como puente hidrogeno. El aminoácido, sin embargo, estaría pegado por otro tipo de enlace, más fuerte y llamado covalente, al otro extremo del adaptador. Los adaptadores imaginados y propuestos por Crick fueron descubiertos muchos años después, y se denominaron ARN de transferencia. Lo más importante para destacar en esta historia es que tenían exactamente las propiedades predichas por Crick.

Esto significaba por un lado la existencia de un código o clave que permitiera pasar de un lenguaje escrito con cuatro letras (las cuatro bases nitrogenadas) en el ADN a un lenguaje escrito con 20 letras (los aminoácidos) en las proteínas. Por otro lado, significaba la existencia de una serie de procesos que realizaran en la célula el trabajo de pasar de una estructura química como la de los ácidos nucleicos a una estructura química como la de las proteínas.

Muchas veces se emplea la expresión "código genético" como sinónimo de ADN, de herencia, o incluso de genoma, y posiblemente ya sea tarde para intentar un uso más adecuado. Pero el código genético es algo mucho más concreto que todo eso: es el sistema de reglas que transforma el lenguaje del ADN al lenguaje de las proteínas (alanina-triptofano-glicina-glicina). Podríamos decir que código genético es el diccionario que traduce cada palabra de tres letras en el ADN - codones- (por

ejemplo CAT, o TAG) por su aminoácido correspondiente. O, dicho con otras palabras, la transmisión de la información contenida en un alfabeto de cuatro letras (correspondiente a los ácidos nucleicos) al alfabeto de veinte letras (correspondiente a las proteínas) se denomina **código genético**, es decir, el sistema de correspondencia formal entre ambas categorías de moléculas.

Consideraciones matemáticas simples conducen al concepto de que es necesario que como mínimo intervengan grupos de tres nucleótidos sucesivos (tripletes) para especificar los aminoácidos: Las proteínas contienen 20 aminoácidos diferentes, pero el ADN y el ARN contienen, cada uno, sólo cuatro nucleótidos diferentes. Si un solo nucleótido “codificara” un aminoácido, entonces sólo cuatro aminoácidos podrían ser especificados por las cuatro bases nitrogenadas. Si dos nucleótidos especificaran un aminoácido, entonces podría haber, usando todos los arreglos posibles, un número máximo de  $4 \times 4$ , o sea 16 aminoácidos, lo cual es insuficiente para codificar los veinte aminoácidos. Por lo tanto, por lo menos tres nucleótidos en secuencia deben especificar cada aminoácido. Esto resulta en  $4 \times 4 \times 4$ , o sea, 64 combinaciones posibles -los **codones**- lo cual, claramente, es más que suficiente.

Además, las experiencias de genética en los bacteriófagos (virus que infectan bacterias) sugieren que bastan tres nucleótidos para asegurar la codificación. Estas unidades elementales de información genética se denominan codones. Es decir que los codones son “las ventanas” con que mira el ARN mensajero al ribosoma. El código genético consiste en 64 combinaciones de tripletes (codones) y sus aminoácidos correspondientes. De los 64 codones, 61 especifican aminoácidos particulares. Los otros 3 codones son señales de detención, que determinan la finalización de la cadena. Dado que los 61 tripletes codifican para 20 aminoácidos, hay “sinónimos” como, por ejemplo, los 6 codones diferentes para la leucina. (Uno de los 20 aminoácidos conocidos) La mayoría de los sinónimos, difieren solamente en el tercer nucleótido. Sin embargo, la afirmación inversa no es válida: cada codón especifica solamente un aminoácido.

Con respecto al código podemos preguntarnos: ¿Por qué se dice que es degenerado? Con respecto a este término “degenerado” para asignar a la característica de que hay más de un codón para la mayoría de los aminoácidos es un vocablo usado por los físicos para describir los estados múltiples que se refieren a la misma cosa y no indica ningún juicio moral.

Por otro lado también se dice que el código es universal. Cada serie de tres letras en el ADN de un gen significa un aminoácido en la proteína correspondiente, y el código genético no es más que el diccionario que traduce lo primero en lo segundo. Y lo sorprendente es que con algunas excepciones (codones en muchas mitocondrias, en protozoos ciliados, y en el alga unicelular *Acetabularia*), ese diccionario es el mismo en todas las especies del planeta tierra. La mayor parte de estas modificaciones implican la lectura de codones de detención normales como aminoácidos, no del reemplazo de un aminoácido por otro. En la actualidad se piensa que estas excepciones al código general son desarrollos de la evolución posterior; es decir, en ningún momento se mantuvo fijo e inmutable el código, si bien no se toleraron cambios masivos una vez que el código general comenzó a funcionar, al comienzo de la evolución.

Todas las células que constituyen nuestro cuerpo como todas las que conforman a todos los seres vivos, así como todas las bacterias que hay en el mundo, descienden evidentemente de la misma célula, la única madre de todas las células. ¿No suena sorprendente esta afirmación?

Sin embargo, a nuestro criterio, no hay la menor duda de que es así. Que “Eva” (primeras células) es una sola y puede mostrar de muchas formas: la universalidad del metabolismo central, es decir, de las principales y complejas estrategias que todas las células usan para transformar energía; la universalidad de las membranas plasmáticas, las estructuras que todas las células usan para individualizarse del entorno y para subdividirse en múltiples compartimientos selectivamente estancos; la universalidad del ADN, el soporte que todas las células utilizan para almacenar información y replicarla establemente.

Las pruebas de la universalidad de la vida son innumerables, pero ninguna es tan aplastante como la universalidad del código genético. Bien entendido que del éxito de la correspondencia depende la estabilidad de las especies y por eso hablamos del llamado «código genético». La primera gran sorpresa en estas investigaciones fue que los cuatro nucleótidos con los que están hechos el ADN y los cuatro del ARN, así como las veinte moléculas diferentes (los aminoácidos) con las que se hacen las proteínas y, en definitiva, el mecanismo del código genético, son universales, esto es, son los mismos para todos los seres vivos: es decir, que todos provenimos de un ancestro común desde el origen de la vida en la Tierra.

La paradoja es a nuestro criterio complicada. Esto es debido a que no hay ninguna razón física para que el codón GCT signifique el aminoácido alanina, y por lo

tanto la universalidad del código genético solo puede estar revelando que toda la vida de la tierra proviene de una sola bacteria primitiva que ya utilizaba ese diccionario. La pregunta que surge es: ¿de dónde salió ese diccionario? Esto no supondría un problema “sofocante” si el diccionario fuera simple, pero no lo es. El diccionario consiste en 20 proteínas llamadas: aminoacil-arntsinetasas y que se ocupan de fabricar una batería de “adaptadores” (también llamados ARN de transferencia). Un adaptador es una molécula que lleva en un extremo tres letras y en el otro un aminoácido: no cualquier aminoácido, naturalmente, sino el aminoácido significado por las tres letras en cuestión. Que los adaptadores vinculen físicamente una serie de tres letras con un aminoácido concreto es la razón última de que el código genético sea el que es, y no otro. Y que los adaptadores sean así se debe a la actividad de la mencionada veintena de proteínas nombradas más arriba. Pero estas proteínas no existirían si la información necesaria para fabricarlas no estuviera contenida en una veintena de genes. Para traducir esos 20 genes a las 20 proteínas de nombre difícil se necesita un código genético. ¡Pero parte del código genético son precisamente esas 20 proteínas! .

La razón de que el código genético sea el que es son estas moléculas adaptadoras, llamadas ARN de transferencia. Estos ARN llevan en un extremo tres letras de ARN (**anticodón**) Por ejemplo: UCG; y en el otro, un aminoácido concreto. La relación entre las tres letras y el aminoácido no tiene causa física inevitable: cualquier grupo de tres letras podría significar cualquier aminoácido. Que sean las que son es responsabilidad de las enzimas que sintetizan los ARN de transferencia: las aminoacil-arntsinetasas, que son la esencia última del código genético.

El código de tres nucleótidos fue ampliamente adoptado como hipótesis de trabajo. Sin embargo, su existencia no fue realmente demostrada hasta que finalmente fue descifrado.

Una década después que James Watson y Francis Crick presentaran por primera vez su modelo en 1953. Los científicos que llevaron a cabo los experimentos cruciales para descifrarlo fueron los estadounidenses Marshall Nirenberg y Heinrich Matthaei. En aquellos primeros tiempos se supuso que cada palabra escrita en el código del ADN debía ser un triplete de nucleótidos. Pero, ¿Cómo encontrar la prueba de ello?

Si el desciframiento de la piedra roseta fue decisivo para entender los jeroglíficos del antiguo Egipto, en biología molecular el código genético supuso un aconteci-

miento similar. Descifrarlo era necesario para conocer cómo las células son capaces de traducir un lenguaje de ácidos nucleicos a proteínas; y resultó ser un estudio apasionante que duró solo cinco años.

La asignación de un aminoácido a cada triplete o el desciframiento de la clave genética, se llevó a cabo fundamentalmente gracias al esfuerzo de tres grupos de investigación: el grupo de M. W. Nirenberg, el grupo de S. Ochoa y el equipo de H. G. Khorana. Parece lógico pensar que el desciframiento del código se debería haber realizado comparando la secuencia de nucleótidos de un gen y la de aminoácidos del polipéptido codificado por dicho gen. Sin embargo, en la época en la que se realizaron estos trabajos no era posible todavía obtener la secuencia de los ácidos nucleicos.

Los experimentos para descifrar a los codones comenzaron en 1961; en ellos se utilizaron sistemas de traducción *in vitro* y ARN mensajero de tipo artificial sintetizados mediante tecnología enzimática. El primer codón que se identificó es el que especifica para el aminoácido fenilalanina, que se polimeriza en forma de polipéptido cuando se utiliza una matriz de ARN mensajero constituida por uracilo (poli u).

La mayoría de los trabajos realizados por estos grupos de investigación consistieron en sintetizar ARN mensajeros para utilizarlos posteriormente como mensajeros artificiales en un sistema acelar de traducción “*in vitro*”. Estos sistemas a celulares de traducción “*in vitro*” procedían de la bacteria *Escherichia coli* y contenían todo lo necesario para llevar a cabo la traducción: ribosomas, todos los ARN de transferencia, aminoácidos, enzimas, etc. Sin embargo, a estos sistemas a celulares se les quitaban los ARN mensajeros de la bacteria y se les añadía un ARN sintetizado artificialmente. En estos sistemas a celulares se sintetizaba un polipéptido.

Posteriormente, se comparaba la secuencia conocida del ARN mensajero sintético utilizado en el experimento con la secuencia de aminoácidos del polipéptido producido. La puesta a punto de estas técnicas requería poder sintetizar ARN mensajero de forma enzimática (grupo de Ochoa) o de forma química (grupo de Khorana) y conseguir un sistema a celular para sintetizar proteínas (grupo de Nirenberg).

Nirenberg y Matthaei prepararon veinte tubos de ensayo diferentes, cada uno con extractos libres de células de la bacteria *Escherichia coli* que incluían ribosomas, ATP (energía química), las enzimas necesarias y todos los aminoácidos. En cada tubo de ensayo, un solo tipo de aminoácido llevaba una marca radiactiva. A cada tubo de ensayo se le añadió la poli-U sintética (propuesta por Ochoa).

En diecinueve tubos de ensayo no hubo producción de polipéptidos radiactivos, pero en el vigésimo tubo, al que se había añadido fenilalanina radiactiva, los investigadores pudieron detectar cadenas polipeptídicas radiactivas recién formadas. Cuando se efectuó el análisis de los polipéptidos, se encontró que consistían sólo en fenilalaninas, una tras otra. Nirenberg y Matthaei habían dictado el mensaje “uracilo... uracilo... uracilo... uracilo...uracilo... uracilo...” y habían recibido una respuesta clara: “fenilalanina... fenilalanina...”. El experimento no sólo definió la primera palabra del código UUU como fenilalanina (phe), sino que también facilitó un método para definir las restantes.

Entre los muchos experimentos que contribuyeron a descifrar el código genético también estuvieron los de Hard Gobind Khorana, químico hindú-estadounidense, de la Universidad de Wisconsin, Estados Unidos, realizados en la década de 1960. Khorana, partió de los resultados de Nirenberg y Matthaei y utilizó nuevas técnicas para sintetizar un mensajero artificial en el cual se repetían dos nucleótidos una y otra vez, en una secuencia conocida: AGAGAGAGAG, UCUCUCUCUC, ACACACACAC y UGUGUGUGUG.

Cada una de estas cadenas de ARN, cuando se usaban como mensajeros en el sistema libre de células, producían cadenas polipeptídicas de aminoácidos alternados. Poli-AG producía arginina y ácido glutámico una y otra vez; poli-UC producía serina y leucina; poli-AC, treonina e histidina; y poli-UG, cisteína y valina. Esto es lo que se esperaría de un código de tripletes. Un mensaje de poli-AG, por ejemplo, sería leído como AGA... GAG...AGA....

Khorana también sintetizó mensajeros artificiales en los cuales se repetían tres nucleótidos una y otra vez. Estos mensajeros producirían tres polipéptidos diferentes, cada uno formado por sólo un aminoácido, repetido numerosas veces. Cada clase de polipéptido producido dependía de dónde comenzaba el proceso de lectura.

Estos estudios dieron la primera demostración clara de que: 1) el ARN mensajero se lee secuencialmente (o sea un codón tras otro), 2) el modo en que se lee depende del marco de lectura, o sea, el nucleótido en el cual comienza la traducción, y 3) el codón está formado por un número impar de nucleótidos, lo que apoya la hipótesis del triplete.

Nirenberg y Khorana, independientemente, descifraron casi todo el código genético y compartieron el Premio Nobel de Medicina y Fisiología. La competitividad entre los laboratorios implicados en la tarea fue, posiblemente, uno de los factores que permitieron culminar la investigación en tiempo récord.

Hay en la carrera de estos científicos un afán de integrar las observaciones en modelos que den cuenta de una lógica interna, para explicar el funcionamiento de los seres vivos. Se ha dicho que muchos de los biólogos experimentales de la segunda mitad del XX razonan en la clave del idealismo platónico, como si la naturaleza respondiera a unas estructuras concebibles desde el pensamiento humano.

Sea como fuere, la interpretación de los resultados experimentales, buscando las claves de una estructura, representó un factor de avance tan esencial como la propia experimentación. En esa línea se sitúa el trabajo de pioneros como Ochoa, junto con Watson, Crick, Jacob, Monod, Kornberg y otros muchos que podrían citarse. En esa clave, también, cabe interpretar el éxito de la Biología desde hace ya más de medio siglo, para situarse en el centro de los progresos alcanzados y alcanzables.

En este capítulo analizamos la relación entre el ADN y las proteínas. Hemos analizado cómo el gen permite sintetizar un polipéptido específico. Es por esto que hasta aquí podemos decir que un gen es una secuencia de ADN que se transcribe en una molécula de ARN que lleva las instrucciones para que se traduzca en un polipéptido.

La noción de gen varía porque los problemas que se plantean son diferentes. Cada científico elige el modelo que le conviene. Esa diversidad muestra que para cada concepto o fenómeno biológico que se desea interpretar existen muchas descripciones posibles. Todo depende de los fines de la explicación y del marco en que se realice la pregunta.

Las respuestas que tenemos hoy en día para comprender cómo se regula el proceso de síntesis proteica y de cómo evolucionó el concepto de gen son las cuestiones que se profundizarán en los próximos capítulos.

1361

1370

## CAPÍTULO III

# *Cuándo y cómo se expresan los genes*

Lucía Galotti

El recorrido histórico realizado a lo largo de los capítulos anteriores ha delineado un conjunto de evidencias y teorías sobre la herencia. Desde mediados del siglo XIX se han producido numerosos hallazgos que permitieron develar como se transmite información de una generación a otra y cuál es su fundamento físico y químico. En síntesis, el camino transitado dio lugar a identificar qué son los genes, cómo se transmiten, se replican y se traducen.

Sin embargo, ¿Es suficiente con entender qué son los genes y cómo se expresan? ¿Quedan aún, preguntas por responder? ¿De qué manera, ese conjunto de instrucciones, regula tanto el desarrollo, como el funcionamiento ordenado y coordinado de los organismos vivos? En los organismos pluricelulares, como por ejemplo un árbol o un perro, existen distintos tipos de células, que tienen un alto grado de especialización. Por ejemplo, en una célula nerviosa se sintetizan determinadas proteínas que son importantes para la transmisión del impulso nervioso, pero no se producen, por ejemplo, las enzimas digestivas que se sintetizan en el páncreas. Se puede deducir, por lo tanto, que aunque todas las células de un organismo tienen prácticamente los mismos genes, no todos están activos en un momento dado.

La pregunta sobre cuáles son los mecanismos implicados en la diferenciación celular no es nueva sino que interesó a muchos biólogos ya desde el siglo XIX. Por este motivo, para explicar este fenómeno, hasta aproximadamente la década del cincuenta, se postularon dos hipótesis. Una de ellas sostenía que las células se diferenciarían eli-

minando gradualmente aquellos genes que serían funcionales a un determinado tipo celular y manteniendo solamente los que les son útiles. La otra hipótesis, sostenía que las células conservarían todos los genes presentes en el cigoto, pero deberían tener mecanismos que les posibilitarían controlar qué genes estarían activos y cuáles no.

Es así que en el año 1883 el eminente biólogo alemán August Weisman (conocido por aportar evidencias que cuestionaron la idea de la herencia de los caracteres adquiridos), propuso un modelo para explicar la diferenciación celular. Dicho modelo sostenía que luego de formado el cigoto, cada división celular podría implicar una distribución desigual de la información genética contenida en la célula. De esta forma, cada célula recibiría solo la información para la función que cumpliría (contracción muscular o secreción de determinadas sustancias, por ejemplo). Esto implicaría que cada célula adulta carecería de toda la información genética necesaria para formar un individuo completo. Si esto fuese cierto, una célula aislada de un embrión en desarrollo no podría ser capaz de regenerar un nuevo embrión viable. Sin embargo esto no pudo demostrarse. Fue el embriólogo alemán Hans Spemann quien refutó esta afirmación.

En los albores del siglo XX, Hans Spemann, un embriólogo de origen alemán, se hizo la siguiente pregunta: los cromosomas de las células diferenciadas del adulto, ¿serán capaces de dirigir el desarrollo completo de un organismo? En 1901 consiguió dos tritones<sup>1</sup> idénticos separando un embrión de dos células a partir de las cuales obtuvo dos embriones similares. Para hacer la separación de las células del embrión, utilizó el cabello de un niño -su propio hijo- que tiene la propiedad de ser fino y resistente. Esto constituyó la primera evidencia que contradujo la idea que las células pierden información genética en cada división celular. Es decir, cada célula continuó siendo totipotente, por lo menos en esta primera fase.

Pero estos hechos le plantearon un nuevo interrogante: ¿Mantendrán su potencial las células en una fase más tardía del embrión? Los resultados que ya había obtenido le permitieron especular sobre la posibilidad de usar una célula cualquiera de un individuo adulto para reconstruir un nuevo embrión. Él pensó en un posible experimento que consideró “fantástico” en el cual se extraería el núcleo de una célula adulta que se pondría en un óvulo al que previamente se le hubiese extraído el núcleo. En ese entonces no se disponía de la tecnología suficiente para poner a

---

1 Los tritones son anfibios del orden de los urodelos (con cola). Tiene un aspecto similar a un lagarto

prueba esta idea, intrépida y brillante, aunque imposible en esa época. Sin embargo, en el año 1914 realizó un nuevo y audaz experimento que permitió comprender el papel crucial de la información contenida en el núcleo para el desarrollo. Lo que resulta apasionante de esta historia es que constituye un primer antecedente de las técnicas de transferencia nuclear empleadas actualmente.

Utilizando también en este caso un pelo, realizó una constricción sobre un huevo fertilizado de anfibio y separó una porción de su citoplasma. La fracción que contenía el núcleo, continuó su desarrollo dividiéndose repetidamente, pero no sucedió lo mismo con la porción recortada de citoplasma, carente de núcleo. Cuando el embrión alcanzó el estadio de 16 células, Spemann aflojó el estrechamiento que había realizado. Como consecuencia, el núcleo de una de las células del embrión fue transferido a la porción de citoplasma que había segmentado al comienzo. Luego, volvió a separar este trozo de citoplasma, ahora con núcleo, del resto del embrión. Esta nueva célula, generada por el citoplasma de un huevo fecundado y el núcleo de una célula en proceso de desarrollo, se dividió normalmente, generando un nuevo embrión, ligeramente más viejo. Mediante este experimento se pudo comprobar entonces, que el núcleo conserva su potencial de desarrollo, al menos hasta el estadio de 16 células, dando lugar a un renacuajo completo.

Este científico, de talento extraordinario se hizo acreedor del premio Nobel de Medicina, en 1935, por sus trabajos sobre el desarrollo embrionario en anfibios. Sin embargo, tanto las ideas, como los resultados de Spemann permanecieron en el olvido por catorce años hasta que, en 1952, Robert Briggs y Thomas King del Instituto por la Investigación del Cáncer en Philadelphia, realizaron el primer experimento de transferencia nuclear. Obtuvieron así, renacuajos de rana, por lo que se convirtieron en los pioneros en la clonación animal. Pero no olvidemos que esta ingeniosa idea ya había sido conceptualizada por Spemann, aunque en ese momento, por cuestiones tecnológicas, era imposible de realizar exitosamente. Además, todos estos hallazgos, fueron contundentes para rechazar la idea de Weissman y apoyar la hipótesis que sostenía que las células conservarían toda la información genética presente en el cigoto. También quedaba claro a partir de estos resultados, que las células deberían tener mecanismos para controlar qué parte de esa información estaría en actividad y cuál no.

Los resultados experimentales demostraron entonces que las células de los organismos pluricelulares mantienen toda su dotación genética, por lo que se descartó por completo la primera hipótesis. Surgió entonces una nueva pregunta: ¿cómo se produ-

ce el control de los genes? ¿Qué hace que unos estén “encendidos” y otros “apagados”? Se conoce que hay unas proteínas, llamadas reguladoras, que al interactuar con el ADN en sitios específicos favorecen o bloquean la expresión de los genes. A su vez, estas proteínas reguladoras, son codificadas por otros genes, llamados reguladores, de gran importancia para el funcionamiento celular. Pero, ¿cómo se supo que esto es así? ¿Cuáles han sido las evidencias que sostienen este modelo explicativo?

También en las bacterias (organismos unicelulares) es necesario que se regule la expresión de los genes en función de las variaciones del medio que las rodea. Como son sistemas más sencillos para estudiar, las primeras respuestas sobre cómo se activan o desactivan los genes, se obtuvieron estudiando bacterias.

A fines de los años cincuenta, los microbiólogos de origen francés, François Jacob y Jaques Monod, que trabajaban en el Instituto Pasteur de París, realizaron el primer aporte importante para el conocimiento de la regulación genética. Ellos estudiaron específicamente el metabolismo de la lactosa en la especie de bacteria *Escherichia coli* (habitante bastante común de los intestinos de animales del grupo de los mamíferos) y recibieron en 1965 el premio Nóbel por sus hallazgos. Comenzaron por preguntarse por la forma en que las bacterias modifican el patrón de expresión de sus genes frente a determinados cambios en el ambiente en que se encuentran. En función de sus observaciones en la bacteria *Escherichia coli* se plantearon los siguientes interrogantes: si estas bacterias pueden usar como fuente de energía al azúcar lactosa entre otros hidratos de carbono, ¿De qué modo una bacteria pone en marcha mecanismos enzimáticos para la degradación de la lactosa, de forma repentina, cuando se agrega este tipo de azúcar en el medio? ¿Las enzimas estarán presentes en la célula en una forma inactiva cuando no hay lactosa y se activan en su presencia? ¿O las enzimas se producen como resultado de la presencia de lactosa?

Jacob y Monod advirtieron que estas bacterias pueden adaptarse a utilizar diferentes azúcares como fuentes de energía según su disponibilidad en el medio que las rodea. Si se colocan algunas células de *E. coli* en un medio de cultivo al que se le agrega glucosa, las células se dividen incrementando su número hasta que la glucosa se agota, y entonces detienen en este punto su crecimiento. Si se lleva cabo una experiencia semejante, pero con el agregado del azúcar lactosa, también ocurre un incremento del número de células aunque a menor velocidad. De la misma forma que en el caso de la glucosa, al agotarse la lactosa, el crecimiento se frena. Pero, si

se repite el experimento, utilizando simultáneamente glucosa y lactosa, las bacterias se reproducen rápidamente hasta agotar la glucosa, luego se detiene unos veinte minutos el crecimiento y se reinicia hasta consumir completamente la lactosa. ¿Por qué ocurre esto? El logro de Jacob y Monod fue precisamente el de proponer un modelo explicativo que respondió de manera ingeniosa y elegante a esta pregunta.

Para que las células puedan utilizar estos azúcares necesitan ciertas enzimas específicas para ello. *Escherichia coli* cuenta con enzimas para utilizar la glucosa pero, en condiciones en las que no está presente la lactosa, carece de las enzimas necesarias para degradarla. Tampoco están presentes cuando la glucosa está junto a la lactosa. Sin embargo, en un medio que solo contiene lactosa, aparecen las enzimas que intervienen en su metabolismo. La pregunta que Jacob y Monod se hicieron es ¿cómo se produce la aparición de estas enzimas solo cuando está presente su sustrato –en este caso la lactosa-? ¿Cómo la lactosa –un sustrato en particular- provoca que aparezcan enzimas específicas que intervienen en su metabolismo?

Se observó que en presencia de lactosa, se produce 1000 veces más galactosidasa (una de las enzimas que participan en la utilización de la lactosa por parte de *E. coli*) que cuando están ausentes estos azúcares. Como la presencia de lactosa determina la síntesis de las enzimas que la degradan, Jacob y Monod llamaron a este azúcar “inductor”. ¿Mediante qué mecanismo, la lactosa provoca la aparición de la galactosidasa y otras dos enzimas destinadas a regular el metabolismo este sustrato?

Jacob y Monod agregaron aminoácidos<sup>2</sup> radioactivos a un cultivo de células antes y después de agregar lactosa y mostraron que luego de agregar este azúcar, se sintetizaron nuevas moléculas de las enzimas correspondientes tres minutos después de agregar el inductor! Por otra parte, si se quitaba el inductor, se dejaba de sintetizar la enzima. Esto puso en evidencia, que la presencia de lactosa determina la inducción – es decir, el encendido- de los genes que tienen información para la síntesis de esas enzimas.

¿Mediante qué mecanismo es posible explicar la manera en que se activa o inactiva la expresión de estos genes? Jacob y Monod propusieron en 1961 su modelo explicativo sobre la base de las evidencias experimentales acumuladas, denominado el *operón*. Según este modelo el genoma contiene medios para controlar la

---

<sup>2</sup> Recordar que los aminoácidos son necesarios para la síntesis de proteínas, en este caso en particular, de las enzimas que intervienen en la degradación de la lactosa.

síntesis de proteínas. Formularon la existencia de una proteína a la que denominaron “reguladora”, la cual estaría relacionada con la inducción de determinados genes en presencia de la lactosa. Esta regulación implica que la proteína que controla la expresión de los genes debe ser capaz de reconocer e interactuar con una secuencia específica de nucleótidos próxima a los genes sujetos a control. A esta secuencia del ADN la llamaron *operador*.

Además, el modelo planteado por Jacob y Monod supone la existencia de otro conjunto de genes, llamados genes estructurales, que están relacionados entre sí por codificar las proteínas que intervienen en una misma ruta metabólica. En el caso del Operón de la lactosa, serían las enzimas que intervienen en la degradación de la lactosa. Este grupo de genes serían también parte de la estructura a la que llamaron “*operón*”. Por otra parte, habría otra secuencia de nucleótidos en el ADN, *el promotor*, que es capaz de interactuar con la enzima ARN polimerasa. El promotor se ubica entre el operador y los genes estructurales. En síntesis, según este modelo, un operón está conformado por un operador, un promotor, un gen regulador y un conjunto de genes estructurales.

Las observaciones de Jacob y Monod permitieron inferir la existencia de dos regiones dentro del operón: uno de ellas tiene una secuencia de nucleótidos que se traducirá en una proteína con una determinada secuencia de aminoácidos. La otra región del gen, tendría una función reguladora. Esta región constaría de una secuencia denominada promotor, localizada a corta distancia del gen estructural, a la cual deberá unirse la enzima ARN polimerasa a fin que se inicie la transcripción.

¿Cómo llegaron a esta conclusión? Una forma de comprender la función de alguna estructura viva es anularla de alguna manera., para luego, al observar qué sucede, inferir su papel en la fisiología. Del mismo modo, se producen deliberadamente mutaciones en los genes para luego analizar su efecto e inferir la función de dicho gen. Jacob y Monod encontraron cepas que eran incapaces de digerir la lactosa a causa de alguna mutación que impedía la síntesis normal de la enzima beta galactosidasa. Por lo tanto, las bacterias no podían sobrevivir en un medio en el que hubiese lactosa como fuente única de energía. También hallaron otra cepa que, aunque producía normalmente la enzima, lo hacía aunque no estuviese presente la lactosa, lo cual ocasionaba un gasto extra de energía para la célula. Esto les hizo suponer que la mutación podría estar en este caso, en algún “gen bloqueador” que tuviese como función impedir de alguna manera la síntesis de esta enzima, cuando

esta no es necesaria para la célula. Por este motivo, lo llamaron represor y postularon que tendría una función reguladora ya que controlaba la expresión de otro gen.

Pero esto no es todo...también identificaron un tercer mutante relacionado con la degradación de la lactosa. Se trataba de una mutación en un fragmento de ADN, próximo al gen de la enzima al cual llamaron *operador*. Esta mutación hacía que la proteína represora no pudiese reconocer la secuencia de nucleótidos del operador. Al no poder unirse a este sitio no fue capaz de reprimir la síntesis de las enzimas que degradan la lactosa, las que de esta forma, se sintetizaban de manera continua, independientemente de las necesidades de la célula.

## La regulación génica en los organismos eucariotas

Pero... ¿Cómo se “construye” un organismo complejo a partir de una única célula? ¿Qué mecanismos se ponen en juego? ¿De qué manera, a partir de varias divisiones de una única célula original, se derivan células hijas con distintas propiedades entre sí?

Todas las células de un organismo pluricelular derivan de la multiplicación de una única célula inicial, el huevo o cigoto que se divide una y otra vez por medio de un mecanismo denominado mitosis hasta originar, finalmente, a un organismo completo. No obstante, aunque las células que se originan por mitosis reciben una dotación cromosómica similar a la de la célula progenitora y tienen por lo tanto tienen la misma información genética, en los organismos complejos son muy diferentes unas de las otras. Las células están especializadas para llevar a cabo funciones muy variadas. Las células de las raíces de un árbol son muy distintas a las de las hojas o los frutos. De la misma manera, una célula muscular es diferente a una de, por ejemplo, las glándulas salivales, del hígado o del riñón. Sin embargo, como provienen en cada caso de la división por mitosis del mismo cigoto contienen por lo tanto, la misma información genética.

¿Cómo se explica entonces, el desarrollo de un organismo pluricelular complejo con multiplicidad de células estructural y funcionalmente diversas, a partir de un único huevo fecundado? ¿Qué es lo que determina que se exprese la información genética de manera diferencial, tanto durante el desarrollo como en el organismo adulto? De los poco más de 20000 genes que contiene cada célula humana, aquellos que se relacionan con las funciones celulares básicas, se encuentran funcionando en todas las células, mientras que otros, solo están activos en algunos tipos celulares a los que les confieren características propias.

¿Qué mecanismos se ponen en juego para dar lugar a esta diferenciación celular en los eucariotas? Si las características de las células dependen en gran parte de las proteínas que tiene, ¿de qué manera se regulan diferentes procesos que darán lugar a la especificidad de cada célula?

En el camino que va desde el ADN hasta las proteínas hay una serie de pasos intermediarios en los que es posible regular la producción de proteínas y por lo tanto, su presencia o no en la célula: la transcripción, el proceso de “corte y empalme” (proceso que en inglés se denomina “*splicing*”), transporte del ARN desde el núcleo hasta el citoplasma y la estabilización del ARN en el citoplasma evitando que se degrade y permitiendo que sea reconocido por los ribosomas. Aunque hay muchos mecanismos de control de la expresión de un gen, el control de la expresión de un gran número de genes estudiados, se realiza mediante la regulación de la transcripción. Por este motivo, centraremos el análisis en este tipo de control. En este punto es conveniente recordar que la transcripción es el proceso por el cual se copia la información genética que contiene el ADN en otra molécula, el ARN mensajero. Ésta última molécula es la que tiene como función participar en la traducción de esa información para dar lugar, en los ribosomas, a una proteína específica (véase capítulo 2)

En determinados lugares de la molécula de ADN hay secuencias reguladoras, los promotores, que son cruciales para el inicio de la transcripción por medio de la enzima ARN polimerasa II (esta enzima cataliza la síntesis del ARN) También hay otras regiones del ADN que determinan el grado en que se expresa un gen. Esas regiones se denominan “amplificadoras” (también llamadas *enhancers*) o “silenciadoras” según sea su efecto sobre la transcripción. Aunque es común que se encuentren cercanos al gen, también pueden ubicarse en sitios muy distantes al gen, a miles de pares de bases de este.

Por lo tanto, en cada gen, la transcripción comienza en su promotor. Pero para que esto ocurra, se requiere de la interacción de muchas proteínas que se unen de manera específica, posibilitando la acción de la ARN polimerasa II. Consecuentemente, para que se inicie el proceso de transcripción, las proteínas que actúan como señales químicas han de unirse al ADN en una zona próxima al gen que ha de transcribirse. Si la combinación de estas señales químicas, que provienen del interior o del exterior de la célula, son las apropiadas, entonces la ARN polimerasa II, comenzará la transcripción. Por ejemplo, los estrógenos son hormonas que regulan el ciclo menstrual y la aparición de caracteres sexuales secundarios femeninos. Esto implica que

en determinadas células, como por ejemplo las de las glándulas mamarias, ante el estímulo de estas hormonas, deben producirse proteínas determinadas que le conferirán propiedades y funciones particulares. Por lo tanto, estas hormonas al ingresar en la célula se transforman en señales químicas que activarán genes específicos.

Uno de los primeros casos estudiados en eucariotas fue el de las hormonas esteroideas (estrógenos, cortisona, progesterona) en la década del 60 en Francia. Estas hormonas activan un conjunto determinado de genes en las células blanco<sup>3</sup>. Por ejemplo, la progesterona en las células del útero activa determinados genes que codifican proteínas encargadas de la adhesión del feto a las paredes del útero. Las hormonas esteroideas ingresan a la célula y se unen a una proteína receptora que a su vez se fija al ADN activando genes específicos. Es decir, esas proteínas solo podrán activar los genes en presencia de la hormona correspondiente. Estos conocimientos permitieron desarrollar por ejemplo, una sustancia que se une fuertemente a la proteína receptora de la progesterona. De esta manera, al no activarse el correspondiente gen, no se producirán las proteínas que fijan al feto, lo cual determina la interrupción del embarazo.

## Las proteínas que regulan la transcripción

Como ya se mencionó anteriormente, el comienzo de la transcripción requiere de la interacción de numerosas proteínas, los factores generales de transcripción que al unirse de forma específica a la secuencia de nucleótidos del promotor, inducen la transcripción por parte de la ARN polimerasa II<sup>4</sup>. Estas proteínas se fijan al ADN en las proximidades del gen a transcribirse en respuesta a señales del interior o del exterior de la célula, de las que depende la expresión de los genes. Pueden activar o bloquear la transcripción afinando el funcionamiento de la ARN polimerasa que por si sola no tiene la capacidad de identificar los genes a transcribir.

A fines de los años ochenta ya se conocían en las células humanas dos tipos de factores de transcripción: los factores generales, necesarios para la transcripción de

---

3 Células blanco, o células diana: Reciben este nombre las células que responden al efecto de las hormonas, porque contienen receptores específicos para estas sustancias.

4 Se destaca que los factores generales de transcripción son aquellos que se unen al promotor (TFIID, TFIIH, etc.) Los factores de transcripción se unen a los enhancers (SP1 u hormonas como el estrógeno o la progesterona)

todos los genes y otras proteínas, activadoras y represoras que determinan el inicio de la transcripción por parte del complejo basal. Los factores generales de transcripción y la ARN polimerasa II constituyen el aparato basal de transcripción. Esta enzima es incapaz de iniciar la transcripción por sí sola y requiere de la intervención de los factores generales para hacerlo.

A fines de los años setenta, el grupo de investigación de Robert Tjian comenzó a trabajar con genes humanos y de otros tipos de células eucariotas. En ese entonces era muy poco lo que se conocía acerca de la regulación de la transcripción en las células eucariotas. Sin embargo sí se tenía una visión más clara de cómo ocurren estos procesos en las células procariotas, lo cual constituyó el punto de partida para el estudio de genomas más complejos. Los avances fueron muy rápidos y consistieron en parte en identificar los complejos de proteínas o “factores de transcripción” que regulan la actividad de los genes en este tipo de células. A fin de adentrarse en las claves del funcionamiento de los factores de transcripción Tjian y colaboradores abordaron el problema intentando aislar y purificar estas moléculas. Para ello buscaron proteínas que se acoplaran *in vitro* a la molécula de ADN y disparasen la transcripción. Esto no fue fácil de lograr ya que estos factores están en proporciones ínfimas en la célula.

En 1982, William Dynan observó que una determinada mezcla de proteínas parecía contener un factor transcripcional. Este componente se unía a un bloque regulador denominado GC por su abundancia en estos nucleótidos. Teniendo en cuenta esta propiedad, se sintetizaron artificialmente estas secuencias y se combinaron con la mezcla de proteínas. Se pudo así aislar el componente proteico específico al que se lo llamó SP1 (specific protein 1)

Al estudiar esta proteína, se advirtió que se plegaba formando “tres dedos de Zinc” a través de los cuales se une al ADN (porque la proteína se pliega alrededor de un átomo de Zinc) También se observó que el otro extremo de esta proteína contiene un dominio rico en el aminoácido glutamina. Además, los mutantes que carecían de este dominio podían unirse al ADN pero no estimulaban la transcripción. Esto hizo pensar que esta porción de la molécula era importante para la regulación de este proceso, tal vez, interactuando con alguna parte del sistema de transcripción.

La respuesta a esta conjetura se develó a mediados de los ochenta cuando, Robert Roeder<sup>5</sup> demostró que para que la transcripción ocurra, la polimerasa debía aco-

---

5 Robert Roeder aisló por primera vez la ARN polimerasa II

plarse previamente al centro promotor junto a una serie de factores de transcripción denominados factores generales. Este conjunto de factores, en un tubo de ensayo posibilitan la transcripción en un nivel basal, bajo e invariante. Cuando se mezclaron estos factores basales (o factores generales) y el gen con un bloque GC, se mantenía el nivel de transcripción basal. Pero, al agregar la proteína SP1 a la mezcla, el nivel de transcripción aumentaba enormemente. Estos resultados sugerían que la interacción entre esta proteína y los factores basales estimulan la transcripción.

¿Por qué ocurre esta estimulación de la transcripción? ¿Cómo se da esta interacción entre la proteína SP1 y los factores basales? La interacción debería darse especialmente con algún factor basal. Hay uno, el factor D, que es el único que se une directamente al promotor y por lo tanto, el único capaz de unirse al ADN reconociendo una secuencia denominada bloque TATA (secuencia consenso<sup>6</sup>, que contiene timinas y adeninas). Diferentes equipos de investigación se abocaron a intentar aislar este factor. Finalmente, en 1989, varios laboratorios consiguieron aislar, de manera independiente, una proteína que se llamó TBP (del inglés, tata binding protein o proteína ligadora) ya que se unía al bloque TATA y, junto a otros factores basales y la polimerasa determinaba niveles basales de transcripción. Pero, también se halló que no era equivalente al factor D. Se vio que este factor constaba de la proteína TBP y otras unidades proteicas hasta ese momento desconocidas. También se observó que estas unidades, actualmente llamados co-activadores, no se combinaban directamente con el ADN sino con la proteína TBP.

Esto se deduce del hecho que una sola proteína -TBP- no tiene los suficientes puntos de unión para la gran cantidad de activadores y represores encontrados. Sin embargo, si pensamos que a esa proteína se unen co-activadores, cada uno de los cuales presentan variados puntos de unión, es posible imaginar cómo cientos o miles de proteínas interactúan para poner en funcionamiento la maquinaria de la transcripción.

Esta idea no fue aceptada inmediatamente y provocó acalorados debates en el ámbito académico. Era necesario diseñar un modo de verificar fehacientemente estas hipótesis, estableciendo sin lugar a dudas la existencia de los co-activadores y la forma en que estos funcionan. Para ello, era necesario aislar y purificar la TBP y todas las demás proteínas asociadas.

---

<sup>6</sup> Una "secuencia consenso" especifica cuáles son los elementos comunes a las secuencias encontradas, para una misma función. La mera existencia de ese consenso, es decir, la presencia sistemática de esos elementos comunes, es informativa porque nos indica que son importantes.

En 1991, Brian Dynlacht, Timothy Hoey, Naoko Tanese y Robert Weinzierl pudieron aislar copias puras del factor D. Al analizarse las copias se encontraron ocho proteínas hasta ese entonces desconocidas a las que se llamó TAF (factores asociados a la TBP). También se encontró que la producción de ARN mensajero *in vitro* ocurría solo si se agregaban estas ocho proteínas. Además se demostró que las proteínas activadoras se unían a los TAF. Por lo tanto, todas estas proteínas que conforman el factor D integran las distintas señales de las proteínas reguladoras (activadoras o represoras) posibilitando el avance de la ARN polimerasa hacia el gen a transcribir. En el caso de las proteínas represoras, es probable que su acción consista en inhibir la transcripción evitando que los activadores se ensamblen en sus sitios específicos. Es decir que la acción de la proteína represora consistiría básicamente en impedir la acción de las activadoras.

## Relación entre el adn y las proteínas reguladoras

¿Cómo intervienen las proteínas en la regulación de la transcripción? ¿En qué momentos y situaciones de la célula? ¿De qué manera se produce la interacción específica entre estas proteínas y el ADN? Los factores de transcripción reconocen secuencias en el ADN. Estas secuencias tienen la particularidad de ser *palindrómicas*, es decir que se leen igual en la misma dirección (en el palíndromo de doble cadena la secuencia de bases se lee igual en dirección 5' P→ 3'OH en ambas cadenas) Pero, ¿de qué manera la proteína reguladora distingue esta secuencia específica?

En 1966 se aislaron por primera vez proteínas reguladoras –los represores del operon lac- demostrando su fijación específica al ADN. Las primeras estructuras proteicas capaces de interactuar con el ADN fueron descritas a principios de los años ochenta cuando se descubrió un motivo estructural común a todas las proteínas denominado “hélice-vuelta-hélice” y se propuso un modelo de cómo se fijaría al ADN: una de las hélices, llamada de reconocimiento, establecería el contacto con determinadas secuencias de nucleótidos. Es decir, fue posible identificar en las proteínas reguladoras las partes, o motivos de esas proteínas capaces de interactuar con una determinada secuencia de nucleótidos en la molécula de ADN.

Los especialistas en genética molecular intentaron ir más allá y se propusieron develar la relación entre una secuencia de bases del ADN y un conjunto de aminoácidos en la hélice de reconocimiento de esta proteína. A partir de 1987, el estudio

con rayos X de las proteínas unidas al ADN permitió visualizar la interacción entre un aminoácido y varios pares de bases. De esta manera, se pudo explicar como ocurriría el acoplamiento entre la hélice de reconocimiento de la proteína y el ADN. Se vio que este engarce, (entre proteína y ADN) depende también del resto de la molécula y no solo de los aminoácidos que tienen un contacto directo con las bases nitrogenadas de los nucleótidos del ADN. Por otra parte la relación es de carácter dinámico, y por lo tanto transitorio. Asimismo, ambas moléculas, proteína y ADN modifican su forma cuando se encuentran.

El motivo hélice-vuelta hélice es muy común en el mundo vivo y se encuentra presente en una gran variedad de proteínas reguladoras. No obstante, se han hallado otros motivos. En los años ochenta el equipo de Aaron Klug de Cambridge describió una estructura llamada “dedos de zinc” que contiene un átomo de zinc, rodeado por cuatro aminoácidos. Esta estructura se encuentra bajo formas muy variadas tanto en distintas proteínas reguladoras como por ejemplo, en las proteínas receptoras de hormonas esteroideas.

Otro motivo es el “cierre de cremallera con leucinas” que se encuentra, por ejemplo en proteínas que intervienen en el control de la proliferación celular. El motivo “hélice-vuelta-hélice”, se encuentra por ejemplo en los factores responsables de regular la formación de los músculos en el embrión, el factor *MyoD*

Estos motivos proteicos, son capaces de reconocer de tres a seis pares de bases, pero esto no es suficiente para reconocer sin ambigüedad las secuencias reguladoras de un gen determinado. Por ello, las proteínas reguladoras tienen varios campos de enlace para reconocer secuencias más largas. Por ejemplo, el motivo dedos de zinc puede estar repetido muchas veces en una misma proteína.

Otra forma de alargar la secuencia de reconocimiento es la asociación de dos proteínas (dímeros), que pueden ser iguales o diferentes, cada una de las cuales tiene zonas de unión con el ADN. De esta manera, en los eucariotas, una reducida cantidad de proteínas pueden combinarse de diversas maneras para dar lugar a muchos factores de transcripción diferentes.

¿De qué manera es posible identificar qué aminoácidos tienen un papel importante en la función reguladora de un factor de transcripción? En 1982, Steven L. McKnight y Robert Kingsbury estudiaron un gen del virus del herpes que se expresa en los ovocitos de una especie de rana. Provocaron mutaciones cerca de este gen con el fin de averiguar qué zonas serían clave para su transcripción. Encontraron una región

adyacente al promotor, de manera semejante a lo que ocurre en las bacterias, como por ejemplo, en el Operon lac. No obstante, hallaron también otros dos sitios que, en términos moleculares se encontraban a una cierta distancia del promotor, entre 50 y 100 pares de bases.

¿Qué sugieren estos datos? ¿Indicarían que habría secuencias en el ADN que interactúan con proteínas reguladoras en lugares que no son contiguas al gen que regulan? Estos interrogantes se explicaron posteriormente cuando se logró aislar una proteína activadora de la transcripción que se unía a cinco sitios diferentes en el ADN, lo cual explicaría por qué realizan su función de control en zonas no adyacentes al promotor. Asimismo, Patashne y Kevin Struhl diseñaron experimentalmente factores de transcripción híbridos y pudieron observar en estos ensayos que estos factores tendrían dos regiones: una que reconoce secuencias específicas en el ADN y otra que sería responsable del efecto activador.

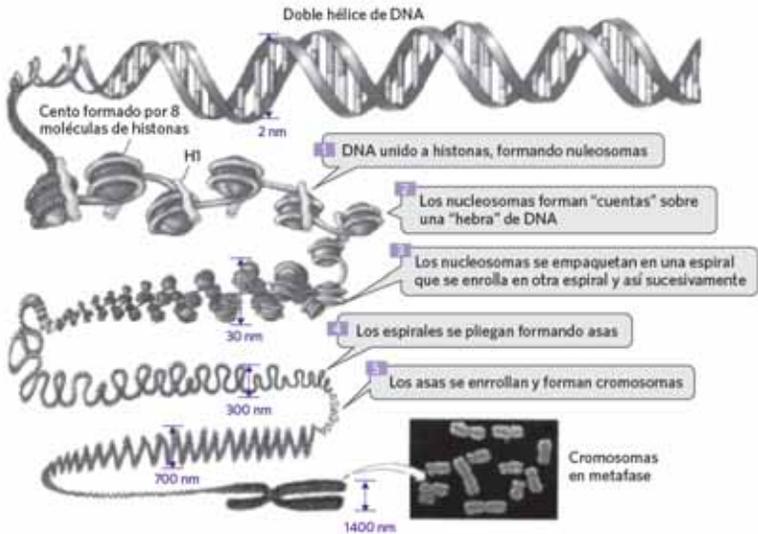
Todos estos hallazgos permiten concebir la importancia que tiene la regulación génica en el funcionamiento de los genomas. Si bien importa la función de los genes individuales, las características y funciones de una célula dependen en parte de la forma en que los genes interactúan entre sí y con las proteínas reguladoras. Estas “redes moleculares” son las que le confieren determinada identidad a un tipo celular y a la forma en que este responde a las condiciones cambiantes del medio.

Por lo tanto, la actividad de un gen en un tejido dado es el resultado de la interacción entre muchas proteínas que actúan conjuntamente. La ARN polimerasa en organismos superiores no actúa aislada sino que se requiere que otras proteínas se fijen al promotor a fin que se inicie la transcripción. A estas proteínas responsables del inicio de este proceso, se las llama factores generales de transcripción o factores basales, porque son comunes a todos los genes. Se diferencian por lo tanto de otras proteínas que son específicas para los distintos genes.

La transcripción en una célula eucariota es un proceso muy complejo. Antes de comenzar se van ubicando sucesivamente y en distintas fases los factores basales y la enzima ARN polimerasa. Las proteínas reguladoras pueden obstaculizar o facilitar alguna de estas etapas. Asimismo, el acceso al promotor por parte de los factores basales está condicionado por las histonas, proteínas que empaquetan la molécula de ADN haciendo poco accesibles los sitios de transcripción. El ADN que forma la cromatina es una molécula muy larga y muy fina, que llega a medir dos metros. Por lo tanto necesita de un empaquetamiento y plegado en el que contribuyen las histo-

nas. Para visualizar el altísimo grado de empaquetamiento, imaginemos por ejemplo, una célula que mida 100 micrones<sup>7</sup>, con un núcleo que es obviamente bastante menor, de qué manera podría “entrar” una hebra que, aunque muy fina, midiese dos metros de longitud.

Figura 3.1: Empaquetamiento del ADN



Algunas proteínas reguladoras desalojan a las histonas confiriendo a los genes en cuestión un estado de “competencia” que puede transmitirse a las células hijas. Es así que en algunas células del embrión puede quedar establecida una determinada línea de diferenciación, antes que sea posible detectar las proteínas que marcarán su posterior diferencia.

El conjunto de proteínas que interviene en la transcripción pueden fijarse cerca del gen como también a una distancia muy grande de él. Estas secuencias regula-

<sup>7</sup> Un micrón es la milésima parte de un milímetro

doras ubicadas lejos, que como ya se dijo se denominan en inglés “*enhancers*” (o secuencias amplificadoras), hacen más específica la regulación de cada gen. Al principio se identificaron los elementos intensificadores de la transcripción, pero estudios posteriores mostraron la existencia de silenciadores que inhiben este proceso. Por lo tanto, la activación de un gen y el grado en que esto ocurra, dependerá de una determinada combinación de intensificadores y silenciadores.

Por ejemplo, la *gluconeogénesis* (*producción de glucosa*) tiene lugar casi exclusivamente en el *hígado*. Un gen que codifica para una enzima que interviene en la gluconeogénesis, está controlado por un conjunto de proteínas que se encuentra presente sólo en el hígado. Otros factores implicados, si bien están presentes en numerosos tejidos, solo se activan en respuesta a las hormonas esteroides o al glucagón que estimulan la gluconeogénesis en las células. Por lo tanto esta enzima solo podrá producirse en el hígado y bajo el control de las hormonas esteroides y del glucagón

A partir del año 1990, se han identificado también proteínas reguladoras que no se unen directamente al ADN sino que lo hacen a otras proteínas que están unidas al promotor. Estas proteínas se llaman cofactores y solo pueden actuar sobre el conjunto proteico formado en el promotor. Por lo tanto, la expresión específica de cada gen es el resultado de la acción coordinada y sinérgica de un conjunto de proteínas que se fijan de manera singular en las regiones reguladoras del gen. Sus funciones pueden ser exclusivas, complementarias o incluso, redundantes.

Eric H. Davidson y colaboradores, del Instituto de Tecnología de California, han encontrado que en las células eucariotas se requieren numerosas proteínas reguladoras, además de los factores de transcripción ubicados junto al gen, para “*orquestar*” su transcripción. Por el contrario, en las células procariotas, generalmente son suficientes una o dos proteínas. El mecanismo más complejo hallado en bacterias presenta solo tres proteínas reguladoras.

Por lo tanto, en los organismos eucariotas, la regulación génica requiere estructurar una “*computadora proteica*” a fin que se produzca la transcripción. Hemos dicho que, para que el sistema funcione se necesitan por lo menos cinco proteínas. Pero además deben estar presentes los factores de transcripción específicos y por supuesto la enzima ARN polimerasa. Solo así, a partir de determinadas señales, extracelulares e intracelulares se dispara todo un encadenamiento de sucesos que hará que se conjuguen de una manera particular todos los componentes proteicos.

Es decir, solo con la presencia de un determinado conjunto de proteínas podrá ocurrir la transcripción. La existencia de esa combinación específica implica el procesamiento de distintos tipos de señales, extracelulares e intracelulares, que dependerán por ejemplo del momento del desarrollo, de las interacciones con otras células, de determinadas señales químicas, como las hormonas o de la etapa del ciclo celular. De esta forma se explican algunos de los mecanismos implicados en la diferenciación celular, en la regulación del desarrollo y del funcionamiento ordenado y coordinado de los organismos pluricelulares.

## Los genes están fragmentados en las células eucariotas

El proceso de encendido y apagado de los genes de las células eucariotas involucra un conjunto de proteínas y una maquinaria de regulación diferente del modelo propuesto por Jacob y Monod al estudiar el metabolismo de los hidratos de carbono en *Escherichia coli*. De la misma manera, el proceso de transcripción y traducción también difiere en procariotas y eucariotas. Este tipo celular es más complejo de lo que se pensó cuando se planteó el dogma central de la biología molecular, que sostiene una relación lineal entre ADN, ARN mensajero y proteínas. Sin embargo no invalida los postulados de este dogma.

Por un lado, en las células procariotas, la transcripción y la traducción tienen lugar de manera simultánea y en el mismo sitio. Pero en las células eucariotas, ambos procesos están separados en el espacio y el tiempo. La transcripción ocurre en el núcleo y la traducción en el citoplasma. Por otra parte en este tipo de células, la expresión de los genes involucra varias etapas que incluyen la síntesis de ARN así como su modificación y procesamiento en el núcleo. El ARN maduro resultante, se transporta al citoplasma en donde se realiza la síntesis de proteínas.

El procesamiento del ARN incluye varias etapas diferentes. En primer lugar, luego de transcribirse, el ARNm se une a varias proteínas, de tamaños diferentes que se llaman ribonucleoproteínas heterogéneas. Otras modificaciones implican la alteración de sus extremos. El extremo 5' se modifica agregándole una "tapa o caperuzas" llamada CAP, cuando se le adhiere un nucleótido (7 metilguanosa) y el 3' se corta y se poliadenila (se le agregan una serie de adeninas) Pero además de estos cambios se hallaron otros aún más drásticos que revolucionaron la interpretación de los procesos de transcripción y traducción.

En las bacterias se observó que un “gen” contiene la información necesaria para la síntesis de una proteína y que este gen es una porción de ADN continua y discreta. Es decir, hay una “colinearidad” entre el ADN, el ARN y la proteína. Esto significa que la secuencia de nucleótidos del ADN se corresponde directamente con la secuencia de aminoácidos de la proteína que de él se deriva. Hasta el año 1977, se pensaba que este principio se mantenía también en las células de los organismos pluricelulares, pero en ese entonces se demostró que esa generalización no es válida. En las células eucariotas los genes están fragmentados, lo cual revela que la organización genética en eucariotas es más compleja, variable y dinámica de lo que se especuló en un principio. Estos genes interrumpidos están en todos los tipos de organismos eucariotas. Representan una proporción pequeña de los genes en los eucariotas inferiores, como por ejemplo en las levaduras, pero son la mayoría de los genes en los eucariotas superiores, como los mamíferos o las aves.

Cada triplete de nucleótidos en el ADN y en el ARN mensajero (codón), se corresponde con un aminoácido en una proteína en particular. Por lo tanto, si un gen estructural tiene información para la síntesis de una proteína de supongamos, trescientos aminoácidos, deberá constar de al menos 900 nucleótidos. Esto es cierto para las células procariontas. *Escherichia coli*, por ejemplo, tiene un único cromosoma con aproximadamente cuatro millones de pares de nucleótidos. Esto da lugar a la síntesis de unas miles de proteínas, lo cual es coherente con la cantidad de proteínas que se espera que haya en una bacteria. Siguiendo este razonamiento, sería lógico suponer que la cantidad de ADN y en consecuencia el tamaño del genoma se relacione con la complejidad del organismo en cuestión.

Pero esta suposición no coincide con algunos hallazgos. En los mamíferos, con un genoma de tres o cuatro mil millones de nucleótidos, cabe esperar que se sinteticen algunos millones de proteínas, pero esto no concuerda con los valores encontrados. El número de proteínas encontrado en este tipo de organismos oscila entre 30000 y 150000, mucho menos de lo que se puede deducir de la cantidad de ADN. Esto nos lleva a preguntarnos ¿cuál será el papel del resto del ADN? Se observó que sólo entre el cinco y el diez por ciento del ADN de un organismo complejo, son genes estructurales. El resto del ADN fue considerado como “basura” o “chatarra evolutiva” ya que no se le conocía ninguna función útil. Sin embargo, esto no descarta el hecho que probablemente tenga funciones desconocidas.

¿Habría alguna relación entre la complejidad y la cantidad de ADN? Se constató que la complejidad de los organismos no se correlaciona con la cantidad de ADN de sus células. Por ejemplo, algunos anfibios quintuplican la cantidad de ADN de los mamíferos; incluso algunas amebas tienen mucho más ADN que muchos vertebrados. Se pensó entonces que la complejidad podría estar relacionada con la cantidad de genes codificadores de proteínas, pero esta idea quedó descartada cuando se vio que el número de genes de nuestra especie es apenas mayor que el de algunas especies de invertebrados.

También se observó que el ARN mensajero maduro es más corto. Esta evidencia dio lugar a nuevas preguntas, ¿por qué el ARN maduro es más corto apenas es transcrito? ¿Se eliminan algunas porciones? ¿Qué segmentos de la molécula precursora se eliminan durante la maduración? Las primeras suposiciones en torno a estos interrogantes, sostenían que ocurrían cortes en uno o en ambos extremos de la molécula precursora. Al principio esto no se podía verificar porque se carecía de las técnicas para hacerlo. Pero, las nuevas técnicas de recombinación *in vitro* (ADN recombinante) y de clonación molecular que posibilitan la obtención de grandes cantidades de ADN, lo hicieron posible.

En 1977, Phillip Sharp y Richard Roberts junto con sus equipos de trabajo, demostraron de manera independiente que los genes de los eucariotas no son continuos. Ellos trabajaron con el material genético de adenovirus. Como este virus es causante del resfrío común, e infecta células de mamíferos, se pensó que sus genes se asemejarían a los de sus hospedadores. Sharp y Roberts observaron que en los adenovirus los genes contenían segmentos de información para la síntesis de proteínas, alternados con otros que no contenían información para ello, es decir, serían segmentos de ADN no codificantes. Esto lo pudieron visualizar al hibridar moléculas de ARN mensajero con moléculas de ADN<sup>8</sup>. En conclusión los genes parecían estar segmentados, contrariamente a lo que se creía hasta ese entonces.

Estos resultados, que muestran que los genes estarían fragmentados, fueron también confirmados, entre otros, por Pierre Chambon y su grupo de investigación quienes descubrieron genes fragmentados, cuando a fines de la década del setenta, se encontraban trabajando en diferenciación celular.

---

8 Este proceso implica la interacción entre las dos cadenas de ácidos nucleicos que se aparearán de acuerdo a la complementariedad de sus bases.

Ellos se preguntaron ¿cuál es el papel de los estrógenos y la progesterona en la diferenciación de las células del oviducto de gallina y la expresión del gen de la ovoalbúmina (la proteína más abundante en la clara del huevo)? Esta proteína solo está presente en la época de puesta, en células muy especializadas de las gallinas, ubicadas en las glándulas tubulares del oviducto. La diferenciación de estas células y la expresión del gen que controla la síntesis de esta proteína están reguladas por las hormonas sexuales femeninas.

Para comprender el proceso de regulación de este gen, fue necesario aislarlo tanto en células en las que se expresa como en aquellas en que no lo hace y compararlo en estas dos situaciones. El primer paso importante se dio cuando se purificó el ARN mensajero de la ovoalbúmina que representaba el 50% del total de ARN mensajero en las células del oviducto de gallina. Este ARN mensajero tiene 1872 nucleótidos de los cuales, 1158 determinan la secuencia de los 386 aminoácidos de la correspondiente proteína.; en el extremo 5' hay también una secuencia líder de 64 nucleótidos y otra en el extremo 3' de 650. Ninguna de las dos se traduce. En el ARNm ocurre una modificación en los extremos: al extremo 5' se le une una caperuza (compuesta por guanina metilada) y al extremo 3' se agrega una "cola" de **poli adenina** o poliA.

Por medio del uso de la enzima transcriptasa inversa, fue posible copiar una molécula de ADN a partir de otra de ARN mensajero. Luego se analizó la estructura gen de la ovoalbúmina, pero esta vez se obtuvo del propio genoma de la gallina a fin de compararlo con el ADN obtenido artificialmente por retrotranscripción del ARN mensajero. Como aún no estaban afinadas las técnicas para aislar el gen del genoma, se decidió analizarlo dentro del genoma.- Para ello, luego de cortar en trozos al ADN, se intentó identificar al gen a partir del ADN artificial marcado radioactivamente, suponiendo que se aparearía a través de la complementariedad de sus bases- Se esperaba que los fragmentos así identificados formaran una banda radioactiva en una técnica de separación denominada "del papel secante" Sorprendentemente, en lugar de encontrar una banda se observaron varias. Sin embargo, nadie pensó que los resultados obtenidos se debieran a que los genes estuviesen fragmentados. En un principio se pensó que se había producido por causa un artefacto<sup>9</sup> producto de la técnica usada.

---

<sup>9</sup> En los experimentos biológicos, formación producida exclusivamente por los reactivos empleados y perturbadora de la recta interpretación de los resultados obtenidos.

Aquí entraron en juego los resultados obtenidos anteriormente por Phillip Sharp y Richard Roberts junto con sus equipos de trabajo. Como ya se mencionó más arriba, estos investigadores hallaron que en algunos virus los genes se encontraban fragmentados ya que poseían secuencias que no se traducen seguidas de otras que sí lo hacen. El conocimiento de estos hallazgos por parte del equipo de Pierre Chambon, hicieron revisar los resultados obtenidos para el gen de la ovoalbúmina, y llevaron a pensar que lejos de ser producto de un artefacto podían reflejar alguna particularidad en este gen.

Para averiguar si esto era realmente así debían encontrar alguna evidencia que sustentase su hipótesis. Para ello, se cartografiaron tanto el ADN del gen como el ADN artificial complementario que reflejaba la estructura del ARN mensajero. Esto puso de manifiesto que el gen de la ovoalbúmina estaba interrumpido por otra secuencia de ADN que no estaba representada en el ARN mensajero. Lo sorprendente es que muchas interrupciones parecían ocurrir en el interior de la secuencia de ADN. Es decir, el gen que codifica para esta proteína estaría fragmentado. Paralelamente otro equipo de investigación, dirigido por R. Flavell y P. Leder, llegaron a la misma conclusión para el gen que codifica la beta globina (componente de molécula de hemoglobina). S. Tonegawa observó también este fenómeno en genes de la inmunoglobulina y N. H. Carey y sus colegas sugirieron de manera independiente que el gen de la ovoalbúmina podría estar fragmentado. En conclusión esta organización fragmentada en regiones llamadas intrones y exones, de los genes de los eucariotas, parecería ser más común de lo que se pensó en un principio. El descubrimiento de que muchos genes de las células eucariotas están interrumpidos por secuencias de ADN que no formarán parte del ARN maduro, hace replantear la idea de gen como una secuencia ininterrumpida que codifica una molécula de ARN funcional o una proteína.

Para hacer un análisis más preciso de este fenómeno se hizo un experimento en el que una cadena sencilla de ADN, que incluye al gen que codifica a la proteína ovoalbúmina, se dejó hibridar con el ARN mensajero, la molécula a partir de la cual se traduce la proteína. Las imágenes de los híbridos proporcionaron una indudable evidencia de cómo se organizan los genes fragmentados. Las regiones del ADN que no tenían sus nucleótidos complementarios en el híbrido, sobresalían a modo de bucles. Estas secuencias intercaladas, los intrones, se alternan con las regiones que se aparean con el ARN mensajero. Las secuencias que están presentes en el ARN maduro, son los exones. Los bucles, que están en el ADN y en el ARN inmaduro, pero

que no están presentes en el ARN maduro, son los intrones. Estos son removidos por un proceso llamado splicing, que se explica más adelante, en este capítulo.

Figura 3.2

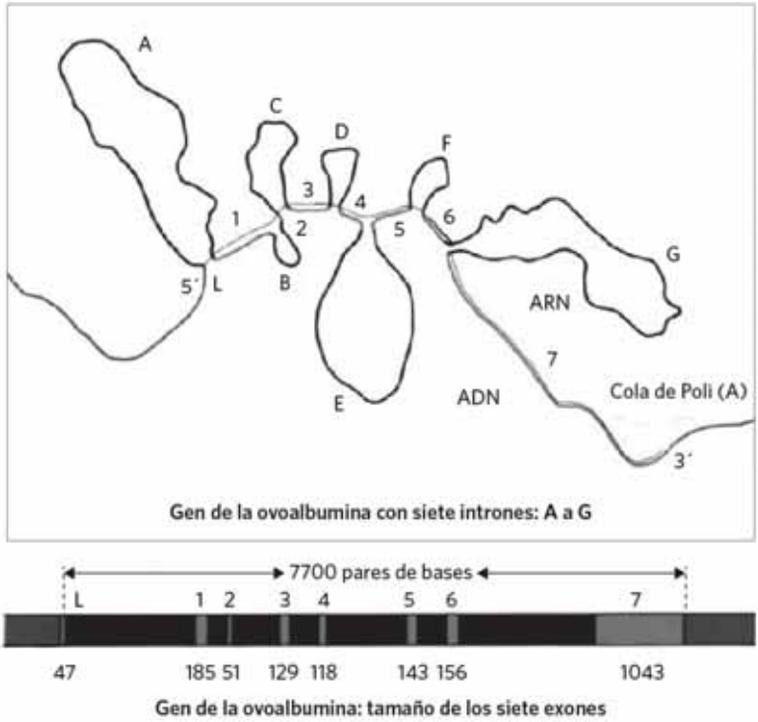


GRÁFICO que muestra los “bucles” que corresponderían a las secuencias intercaladas en el ADN (intrones) que son eliminadas cuando se procesa el ARN mensajero y se forma el ARN maduro.

Posteriormente, se comparó la secuencia del ARN mensajero de la ovoalbúmina con el conjunto de exones, confirmando así que el orden de los exones en el ADN coincide con el ARN mensajero. El gen de la ovoalbúmina tiene una longitud de 7700 pares de bases, desde la región que codifica el extremo inicial 5' de la molécula de ADN, hasta la que codifica el extremo final 3'. Esta longitud es cuatro veces la del ARN mensajero final (1872 pares de bases) y es siete veces la longitud del ARN que se traduce a proteína (1158 pares de bases)

A partir de estos datos surge una nueva pregunta ¿este tipo de organización de genes que no son continuos, que están interrumpidos por secuencias que no son traducidas a proteínas, sufrirá modificaciones durante la diferenciación de las células del oviducto? ¿O estará presente en todos los tipos celulares aunque sin expresarse? A fin de responder esta pregunta se comparó el gen clonado a partir del ADN del oviducto con el mismo gen clonado a partir de los eritrocitos -glóbulos rojos- de gallina (recordemos que los glóbulos rojos de las aves, a diferencia de los mamíferos, son nucleados). No se encontraron diferencias entre ambos. Se pudo concluir entonces, que la organización fragmentada es propia del genoma y no una particularidad de las células especializadas del oviducto. Pero, como si esto fuera poco, estos resultados coinciden con otros obtenidos para otros genes. En mamíferos, aves y anfibios se encontró que los genes están generalmente fragmentados.

Una excepción que merece mencionarse es la de los genes de las histonas, que son proteínas que están asociadas al ADN en el cromosoma. Tampoco tienen intrones los genes de los interferones y muchos ARN mensajeros sintetizados por virus que infectan células humanas. Sin embargo parecería que los genes con exones e intrones no abundan en todos los eucariotas. Aunque se ha encontrado este tipo de estructura fragmentada en levaduras o insectos, la misma no es tan frecuente como en los vertebrados. Por ejemplo los genes que codifican al citocromo C en células de ratas y en humanos presentan intrones, mientras que el mismo gen en levadura carece de estos elementos. Asimismo, en levadura se encuentran pocos genes con intrones. Por otra parte también se observaron genes fragmentados que codifican ARN ribosómico y de transferencia. En general puede decirse que a medida que merma la complejidad del organismo<sup>10</sup> en cuestión va disminuyendo el número de genes con intrones, y además son de menor tamaño que los encontrados en organismos más complejos

¿Qué mecanismos se ponen en juego en el núcleo para readaptar el ARN inicial en uno sin intrones? El hecho que la molécula que se transcribe sea más larga que el ARN citoplasmático nos permite pensar que la ARN polimerasa da lugar a la síntesis de un ARN precursor, continuo, colineal y que incluye todo el gen, con intrones y exones. Posteriormente se eliminarían los intrones y los exones se unirían para formar una molécula madura de ARN mensajero. (Véase figura número 7)

---

10 La complejidad se refiere tanto al nivel de organización como a la diversidad de estructuras, órganos y tejidos especializados.

Se encontraron, en las células del oviducto este tipo de ARN precursor que podía superponerse perfectamente con la secuencia del gen. También se encontraron moléculas de ARN de longitudes intermedias en el núcleo, así como las correspondientes al ARN definitivo, lo cual insinúa que el proceso de maduración ocurriría en varios pasos. Se hibridaron las distintas moléculas intermedias con el gen correspondiente. Se pudo verificar entonces la eliminación sucesiva de los distintos intrones. Pero, ¿cómo se lleva a cabo este proceso de corte y unión? Es de suponer la existencia de enzimas que reconozcan las secuencias de nucleótidos que señalan de alguna manera, los lugares de corte del ARN mensajero inicial. Por otra parte, los cortes deben ser muy precisos para no modificar la secuencia de nucleótidos, originando una mutación que modifique la lectura de los codones y la síntesis de la proteína en cuestión.

## El splicing o “corte y empalme” del ARN

A fines de los setenta, los trabajos de Joan Steitz<sup>11</sup>, de la Universidad de Yale, y colaboradores, sugirieron distintas formas en que se podrían cortar los intrones. Estas suposiciones se basaron en sus trabajos sobre enfermedades autoinmunes que permitieron postular un primer modelo, muy simple, de cómo podía ocurrir el corte y empalme: la ribonucleoproteína, sería una especie de puente que acercaría a los exones y permitiría el corte de los intrones. Las proteínas y el ARN se asocian al ARN mensajero y crean un complejo que se ha llamado “somito cirujano” o en inglés “spliceosome”. Actualmente se conoce que el ARNnp (ARN nuclear pequeño) se reúne con más de un centenar de proteínas que reconocen el punto de inicio y de finalización de un intrón e intervienen en su corte y liberación.

Si se retiran las ribonucleoproteínas de los extractos nucleares, estos pierden la capacidad de realizar el corte y empalme, lo cual demuestra su papel central en este proceso. Esto ponía en evidencia que los anticuerpos, al reaccionar con estos complejos, sacan de circulación a las ribonucleoproteínas del núcleo celular, que son componentes esenciales del mecanismo de corte y empalme.

---

<sup>11</sup> El trabajo de Joan Steitz sobre el papel de las ribonucleoproteínas en el pre - ARN mensajero, y su relación con la enfermedades autoinmunes, fue pionero y ganó el reconocimiento mundial, otorgándosele en el año 2008, “Premio Centro Médico de Albany” a la medicina y a la investigación biomédica.

Sin embargo, no es posible que se procese un ARNm con la sola presencia de las ribonucleoproteínas. En el corte y empalme, también son importantes algunas zonas, más o menos conservadas del intrón a las que se unen tanto ribonucleoproteínas como otros factores. El ARN mensajero no está desnudo en el núcleo. Se combina con otras proteínas formando las llamadas ribonucleoproteínas nucleares heterogéneas (RNPhn). Estas también podrían ser necesarias para el corte y empalme. Sin embargo, el mecanismo es mucho más complejo de lo que se pensó en un principio involucra la participación de numerosas moléculas, tanto enzimas, como otras que confieren una organización estructural propicia para que se produzcan la serie de reacciones químicas involucradas.

Una forma de estudiar el papel de las distintas proteínas en este mecanismo es alterar el gen que las codifica (provocando una mutación) y observar el efecto de este cambio. De esta manera se estudiaron los genes que codifican los ARN<sub>n</sub> de la levadura (*Saccharomices cervisiae*) develando la necesidad de estos ARN en las reacciones del corte y empalme. Por otra parte es posible reconocer los genes que intervienen obteniendo cepas por mutagénesis provocada por medio de agentes químicos. Las cepas mutantes se reconocen por sus alteraciones en el procesamiento del ARN, lo cual constituye una evidencia que esas cepas poseen genes mutados que están de alguna manera involucrados en el corte y empalme del ARN mensajero. Una vez identificados los genes implicados pueden aislarse para su posterior estudio.

Las levaduras son un tipo de organismo que constituye un modelo adecuado para este tipo de estudios, ya que son fácilmente manipulables y además su mecanismo de corte y empalme se acerca mucho al de las células humanas. Esto último hace suponer que este proceso no ha variado demasiado a lo largo de la historia evolutiva de la vida. De todas maneras hay algunas diferencias relevantes. En las levaduras de la especie *Saccharomices cervisiae*, los intrones son más pequeños y tienen pocos genes con intrones. Por otra parte, las mutaciones en ciertas regiones de los intrones de levadura suelen bloquear el corte y empalme, mientras que mutaciones equivalentes en mamíferos no ocasionan el mismo efecto. Esto permite pensar que los intrones de mamíferos son más variables.

Se pudo observar, al analizar varios intrones de distintos genes, que su transcripción comienza, en el punto de corte 5', con la secuencia GU (CT en la cadena del ADN) y finaliza, en el punto de corte 3', con AG. Además, en muchos casos, la región cercana a la unión entre exones e intrones, presenta una secuencia que se ajusta

ta a la denominada secuencia “consenso” que representa a una serie de nucleótidos que son los que se encuentran con mayor frecuencia en determinadas posiciones (aunque con ciertas variaciones). Por lo tanto, la secuencia no es siempre la misma, sino que solo hay nucleótidos que son más usuales que otros y son distintivos de la secuencia, pero no son tan notorios como para que sea simple su identificación. La relación entre las enzimas que procesan el ARN y las secuencias de corte parecería ser universal. Es decir, si en un cultivo de ratón se introducen moléculas de ARN mensajero de la ovoalbúmina, la maquinaria del ratón es capaz de procesarlas correctamente. Sin embargo, estas secuencias son específicas del ARN mensajero y no son válidas para el de transferencia y el ribosómico.

En la reacción de corte y empalme se distinguirían dos etapas: en la primera se produce el corte del extremo 5' del intron a través de un “bucle” o “lazo”. Para que este se forme, debe haber una reacción química entre los nucleótidos del punto de corte y otros en el interior del intron. Este lazo se mantiene aún unido al extremo 3' del intrón. En una segunda etapa, se corta el exón que permanecía unido en el extremo 3' y se une con el exón anterior en la secuencia, liberándose el intrón que se encuentra entre ambos.

Pero... ¿qué implicancias puede tener este proceso en el desarrollo y funcionamiento de un organismo? Si por una alteración, se salteara un exón cuando se procesa el ARNm, esto puede tener consecuencias importantes en el organismo. El ejemplo más sencillo de entender sería que ese exón que se saltea sea codificante, lo cual determinaría que falte parte de la información, originado por lo tanto un ARN mensajero no funcional. Otro caso que muestra un ejemplo claro en el cual el splicing es relevante, es en la determinación del sexo en la mosca de la fruta, *Drosophila sp.* En esta especie, la presencia o ausencia de un determinado exón en el ARN mensajero maduro, determinará el sexo de la mosca en cuestión

## Corte y empalme (“splicing”) alternativo: amplificación de la información genética

Los genes fragmentados están presentes en prácticamente todas las células eucariotas. ¿cuál será el sentido de este tipo de organización? La presencia de intrones y exones, ¿podrá desempeñar algún papel en la regulación génica? Al principio se demostró en los virus de ADN, que distintos modos alternativos de procesamiento

de una misma molécula de ARN mensajero, pueden dar lugar a diferentes proteínas a partir de una misma región del genoma. Se observó que las secuencias intrónicas y exónicas no son fijas. Las que se eliminan en un ARN mensajero se conservan en otro procedente del mismo gen. Cuando se identificó este fenómeno se pensó que era propio de los virus, aunque actualmente se sabe que esto es también común en las células eucariotas. Pero fue la genómica comparada que permitió reconocer que se trata de un proceso frecuente y crucial para la fisiología celular, sobre todo en los organismos más complejos.

La presencia de intrones, por lo tanto, da lugar a la posibilidad que un gen establezca más de una proteína, a través de un mecanismo de corte y empalme alternativo. Lo que en determinadas condiciones celulares constituye un intrón que ha de ser eliminado, en otras permanece, transformándose en un exón, originando entonces una proteína distinta. A medida que los organismos son más complejos, aumenta el número de genes que poseen mecanismos de corte y empalme alternativo. Esto permite presumir que este mecanismo favoreció la evolución de la complejidad.

Por otra parte, también se ha observado la relación entre algunos procesos tumorales y un procesamiento defectuoso del ARN mensajero. Muchas mutaciones genéticas causantes de enfermedades alteran el mecanismo de corte y empalme. Una enfermedad hereditaria, la disautonomía familiar, que da lugar a un desarrollo anormal del sistema nervioso e induce la muerte en edades tempranas (aproximadamente a los 30 años), está provocada por una mutación que hace que se produzca un corte y empalme diferente en tejidos del sistema nervioso, lo cual establece un desarrollo anormal del sistema nervioso.

Sin embargo, los genes fragmentados confieren la posibilidad de amplificar la información del genoma, cuando un mismo gen puede dar lugar a más de una proteína, con diferentes funciones en la célula. Esto permite por ejemplo a nuestra especie sintetizar unas cien mil proteínas con solo algo más de veinte mil genes. Por lo tanto, a la luz de los hallazgos de las últimas décadas, el clásico principio “un gen, una proteína” ha dejado de ser válido, sobre todo, para los organismos con células eucariotas. Por otra parte, este proceso explica también por qué organismos con genomas similares tienen diferencias fenotípicas importantes. Por ejemplo, los ratones y nuestra especie poseen genomas similares que comparten la misma disposición de intrones y exones. ¿Qué nos hace entonces diferentes? Hay evidencias que una variable en la diversificación entre ambas especies está dada por una edición di-

ferencial de los intrones y exones. Se encontraron un grupo de genes en los que la edición de sus exones es específica de nuestra especie. Estos genes serían en parte responsables de la divergencia entre los primates y otros mamíferos y quizá también la divergencia entre los humanos y el resto de los primates.

En conclusión, los eucariotas tienen sistemas reguladores de la expresión de los genes, mucho más complejos que los procariotas. Esto implicaría una red de relaciones en las que parte del ARN intrónico y otros ARN que no se traducen podrían ejercer una función reguladora de la actividad del genoma, interactuando con el ADN y con otras moléculas de ARN. Asimismo, la existencia de estos mecanismos reguladores de ARN, podrían explicar el por qué de la complejidad, por ejemplo, de nuestra especie. Podría también proporcionar algunas pistas en torno a los procesos del desarrollo y aspectos evolutivos. Ya hablamos respecto del llamado ADN “chatarra” o “basura”. Algunos estudios experimentales sugieren que en los organismos complejos muchos genes no codifican proteínas, aunque sí codifican ARN con funciones reguladoras, lo cual hace mucho más compleja la red de interacciones que influyen en la regulación génica. Es decir, un gran número de genes habría evolucionado solo para expresar señales de ARN que actuarían como reguladores de otros ARN y del ADN. Por ejemplo hay estudios que sugieren que el ARN podría intervenir en la regulación del corte y empalme interactuando con los somites cirujanos (spliceosoma)

En estudios de la transcripción de mamíferos se han identificado numerosos ARN que no son codificadores, algunos también de los intrones, en vegetales, animales y hongos. Muchos de ellos regulan aspectos concernientes al desarrollo, como el mantenimiento de células madre, procesos de apoptosis o muerte celular programada (que remodela los tejidos) o procesos de proliferación celular, entre otros. Por lo tanto, es posible suponer a partir de estos datos, que el incremento de la complejidad de la vida y su diversificación podría ser el resultado de la evolución de los sistemas reguladores más que la acumulación gradual de mutaciones puntuales, como lo suponía la Teoría Sintética de la Evolución. Esto podría explicar por ejemplo, la explosión del Cámbrico que aconteció hace 525 millones de años cuando brusca-mente aparecen en el registro fósil nuevos planes de organización en una asombrosa diversificación de la vida en el planeta.

Pero... ¿cómo influyen todos estos hallazgos en el concepto de gen? ¿Podemos seguir considerándolos como *“una secuencia de nucleótidos que codifica para la síntesis*

*de una proteína”?* A la luz de lo expuesto, se hace evidente la necesidad de redefinir la idea de gen. Vimos que no todo el ARN que se transcribe se traduce en una proteína. Muchos ARN tienen funciones importantes en la célula. Además, a partir del conocimiento del splicing alternativo, la transcripción y la traducción de un mismo gen puede dar lugar a más de una proteína. A partir de estas apreciaciones se podría redefinir la idea de gen como *“una región del ADN, necesaria para la síntesis de un ARN funcional”* o como *“un segmento del ADN, susceptible de ser transcrito en un ARN, en algún momento o situación de la célula”*. Sin embargo, no debemos olvidar que la vorágine de nuevos datos y modelos explicativos en biología molecular, hacen muy difícil establecer, una definición definitiva de lo que es un gen.

Handwritten text in a highly stylized, possibly cursive or shorthand script, arranged in approximately 15 horizontal lines. The characters are dark and dense, with some larger, more prominent characters interspersed throughout the lines. The overall appearance is that of a manuscript or a page of notes written in a specialized or historical script.

## CAPÍTULO IV

# *¿Qué desafío nos plantea el conocimiento del genoma?*

Verónica Corbacho

Era la primavera de 1900 y entre los pasajeros del Great Eastern Railway se encontraba W. Bateson, profesor del St. John's College de Cambridge. Cuando subió al tren, Bateson no tenía ni idea de que durante los próximos sesenta minutos iba a leer un trabajo acerca de "la determinación exacta de las leyes de la herencia" que, según sus palabras "haría cambiar el concepto que el hombre tiene del mundo, y su poder sobre la naturaleza". Bateson, cuenta la historia, iba leyendo un artículo, escrito por un desconocido monje llamado Gregor Mendel, que describía experimentos botánicos realizados durante 7 años en un Monasterio de Moravia. Sus experimentos habían sido comunicados en 1865 y publicados en los anales de la sociedad científica local en forma de un artículo de 44 páginas que quedó en el olvido. Bateson acuñó la palabra genética y se convirtió en el principal apóstol de una nueva disciplina científica que representaba la apoteosis del siglo XX (Henig, R 2000).

Desde los primeros enunciados propuestos por Mendel y su redescubrimiento en la primavera de 1900, se han producido en los últimos años importantes transformaciones en el conocimiento sobre la información hereditaria presente en los seres vivos. Estos cambios han modificado los saberes relativos a la información genética, su transmisión y regulación a distintos niveles, y se ha avanzado en el conocimiento del genoma humano en particular, y de los genomas de números seres vivos. El impacto de estos conocimientos ha provocado un cambio en la ciencia y sus formas de

producción, y han inducido cambios sociales y éticos, así como la conformación de nuevas disciplinas como la bioinformática y la proteómica, la genómica comparada, la bioética, entre otras. Por otra parte los avances en el conocimiento de las técnicas que permiten estudiar el genoma han permitido profundizar en las investigaciones en antropología e historia evolutiva de las diversas especies.

En este acápite vamos a esbozar algunas de las consecuencias que ha tenido el “desciframiento completo del genoma humano” que comenzó con las ideas de Méndel acerca de la herencia, continuó con el descubrimiento hecho por J. D. Watson y F. Crick, de la estructura del ADN, y avanza hoy desde primer “borrador” del genoma humano, publicado en febrero de 2001 y su versión definitiva en 2003, hacia la síntesis química de genomas.

## Breve recorrido por algunos de los principales cambios

Podríamos decir que los cambios científicos, en relación con la comprensión de la naturaleza y el contenido de la información genética, han transcurrido por cuatro etapas que coincidirían con la división de la centuria pasada en cuatro cuartos. Como hemos visto en los capítulos precedentes en el primer cuarto de siglo se establecieron las bases celulares de la herencia: los cromosomas. En el segundo cuarto se establecieron las bases moleculares de la herencia: el ADN y su composición química, y su estructura de doble hélice. En el tercer cuarto se produce la decodificación y se explican los mecanismos a partir de los cuales la célula “lee” la información contenida en los genes y la invención de la tecnología del ADN recombinante usada para la secuenciación y clonación. En el cuarto período se produce la expansión de la genómica; se descifraron los primeros genes y genomas completos de virus, organelas, bacterias, hongos y animales como ratas y gusanos, y de algunas plantas.

Para comprender un poco mejor el impacto de los distintos conocimientos podemos analizar los cambios operados sobre el significado del término gen, tanto en su aspecto funcional como estructural. La palabra gen ha hecho referencia a distintos modelos explicativos a medida que se exploraron distintos aspectos de la herencia. Para Méndel eran “factores” cuya existencia se infirió a partir del fenotipo, pero que no se correspondían con una entidad física concreta. A principios del siglo XX los citólogos comenzaron a reconocer la correspondencia entre los postulados de

Mendel y el comportamiento de los cromosomas en la meiosis, y en 1909 Johansen, haciendo referencia al término griego *genos* (que significa origen), utilizó por primera vez la palabra gen. En cuanto a la definición estructural fue recién con el reconocimiento del ADN como la molécula mediadora de la herencia y la dilucidación de la mecánica de la transcripción, que comienza a definirse al gen como “el conjunto de nucleótidos de ADN”.

Por otra parte, como hemos estudiado en los capítulos precedentes, el modelo original del funcionamiento de los genes, en un principio indicaba “un gen-una enzima”, luego fue corregido a “un gen-una proteína”, posteriormente se modificó una vez más a “un gen-una cadena polipeptídica”.

Los nuevos hallazgos en relación con el funcionamiento de los genes, nos llevarían actualmente a definir un gen como “un segmento de ADN susceptible de ser transcrito en un ARN”, en algún momento o situación del ciclo celular. No podríamos hablar específicamente de síntesis de proteínas o polipéptidos. Las investigaciones actuales muestran que cuanto mas complejo es un organismo tanto mayor es la posibilidad de obtener múltiples ARN a partir de segmento de ADN. Estas modificaciones en los modelos explicativos nos permiten sostener, hasta el momento, que el gen es una secuencia del ADN que se transcribe en una molécula de ARN. Así definido incluiría exones, intrones y secuencias que no se traducen a proteínas.

Hoy sabemos que hay ARNs, que no actúan como intermediarios en la síntesis de proteínas, como los ARN ribosómico, de transferencia y otros tipos de ARN no mensajeros, o como el caso de las ribosimas, que son ARNs que actúan como catalizadores biológicos no proteicos. Además también hay que tener presente que del procesamiento alternativo que puede sufrir un transcripto primario se pueden generar diferentes mensajeros y por lo tanto diferentes proteínas. Así se pone en evidencia que no resulta fácil definir qué es un gen y que tal definición se modifica con las nuevas investigaciones.

Finalmente, podemos referirnos al impacto provocado por la secuenciación del genoma humano que creyó encontrar “el manual de instrucciones casi completas de cómo construir y hacer funcionar el organismo humano” y que resultó en múltiples conocimientos acerca de los genes, pero sobre todo que rompió con la idea de que el mayor número de genes implicaba mayor complejidad.

Resulta interesante presentar algunos de los hitos en el desarrollo del proyecto genoma humano para analizar su continuidad y las múltiples derivaciones que pro-

vocan. Presentamos a continuación un **listado de acontecimientos relacionados los avances en el estudio de los genomas**, muchos de los cuales retomamos a lo largo del capítulo.

---

1982. Se funda el Gen Bank, (banco de genes) la base de datos pública de las secuencias génicas, en el laboratorio Nacional de los álamos.
1988. El comité del Consejo Nacional de Ciencia, brazo de la National Academy of Science encargó el trabajo de mapeo genético de la especie humana y de otros organismos.
1990. Simon y colaboradores estudiaron cómo emplear los cromosomas artificiales de bacterias (BAC), para que pudiesen transportar grandes fragmentos de DNA humano, clonado para su secuenciación. Se inicia oficialmente el Proyecto Genoma Humano (PGH), con financiación estatal y comienza la tarea de secuenciación del genoma humano.
1991. Se establecen los primeros centros destinados a secuenciar el genoma humano y son oficializados en los Estados Unidos.
1993. Jerry Hall clona un embrión humano.
1995. Craig Venter ofrece un nuevo método de secuenciación y, junto a Hamilton O. y Smith, secuencian el primer genoma completo correspondiente a la bacteria *Haemophilus influenzae*.
1996. Goffeau y un consorcio internacional de investigadores anuncian la finalización de la primera secuencia genómica de un eucariota, la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.
1997. Se secuencian el genoma de la bacteria *Escherichia Coli*'.
- 1996-1997 Lockhart y colaboradores, y Brown y De Risi desarrollan microchips de ADN, que permiten el estudio simultáneo de miles de genes.
1998. Se secuencian el primer genoma completo del gusano *Caenorhabditis elegans*. 2000 Craig Venter y Gerald M. Rubin secuencian el genoma de la mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*'. Venter y Francis Collins anuncian que han logrado, mediante técnicas distintas, el primer borrador del genoma humano y se establece que la información del genoma será de libre acceso.
2001. Se publican los resultados del grupo científico liderado por Venter en el artículo "The sequence of the Human Genome" del volumen 291 del 16 de febrero de la revista Science, y Nature hace lo propio con los del equipo de Collins.
2002. Se completa y publica el genoma del ratón y la rata.
2003. En el mes de abril, un consorcio privado y grupos de investigación pública liderado por la agencia gubernamental de los EEUU, el National Human Genome Institute, anuncian la obtención de la secuencia completa del genoma humano.
2005. La compañía Life Sciences (EEUU) desarrolla una tecnología para descodificar el ADN de

forma más rápida y económica. EEUU selecciona 13 especies de animales para secuenciar su genoma. Se obtiene la secuencia del genoma del chimpancé. Actualmente se conocen aproximadamente 200 genomas completos de organismos como bacterias, hongos, animales y plantas.

2006. Se descubre que los neandertales y humanos modernos comparten el 99,5% de su genoma.  
2007 James Watson, el 'padre' del ADN, secuencia su propio genoma y Venter también se secuencia a sí mismo. Nature se hace eco del proyecto ENCODE, que analiza todos los elementos del genoma, y del mapa de las diferencias genéticas.
2008. Secuencian por primera vez el genoma del cáncer de un individuo.  
Comienza el uso de los mapas genéticos de la salud.  
2009 Proliferan los análisis genéticos personalizados.
2010. Se sintetiza la primera bacteria artificial. Es decir se logra la síntesis química a partir de la sola secuencia de un ADN digitalizado, obtenido de la bacteria *M genitalis*.
- 

*Numerosos factores explican las dificultades que han encontrado los filósofos para ponerse de acuerdo en una definición de ciencia. La ciencia es considerada al mismo tiempo una actividad (lo que hacen los científicos) y un cuerpo de conocimiento (lo que saben los científicos) dice Mayr (1995; 40). Desde esta postura es que consideramos que los conocimientos en la ciencia de la vida, en este caso particular los referidos al modelo de gen, no solo han producido modificaciones en el cuerpo de conocimientos, sino que también han modificado la forma de producirlos. En este acápite desarrollaremos tres cuestiones: los cambios operados sobre el conocimiento científico y sus formas de producción, las modificaciones en la supremacía de una ciencia sobre otras, promovida por la comunidad científica y la ciencia como construcción social; y el determinismo en biología y sus efectos actuales y en el pasado.*

En palabras de Lewontin (2000) la entronización de la física como ciencia triunfante tuvo lugar el 6 de agosto de 1945, fecha en que la ciudad japonesa de Hiroshima, situada en Honshu, la isla principal del Japón, sufrió la devastación de un ataque nuclear. Ese día, muchos estudiantes decidieron que debían estudiar física nuclear. Posteriormente recibió otro gran impulso con el lanzamiento por del Sputnik 1°. El 4 de octubre de 1957, la entonces Unión Soviética, envía el primer satélite artificial de la historia.

Después de un inicio lento en los años 50 del siglo XX y cuando se encontraba en la cima del prestigio, algunos físicos comenzaron a pasarse a la biología y esto

se convirtió en los fundamentos de la biología molecular. Un ejemplo interesante de esta situación la describe el mismo F. Crick, quien relata su propio acercamiento a las “cuestiones biológicas” del siguiente modo:

---

*Durante la mayor parte de la guerra trabajé en el diseño de minas magnéticas y acústicas (...). Cuando por fin terminó la guerra, yo no sabía qué hacer. (...) Estudié las posibilidades que me ofrecían mis méritos profesionales. Una licenciatura no demasiado buena, en parte compensada por mis logros en el Ministerio de Marina. Un conocimiento restringido a algunas áreas del magnetismo y la hidrodinámica, disciplinas por las que no sentía el más mínimo entusiasmo.(...). Yo por otro lado, no tenía nada a excepción de una formación básica algo anticuada en física y matemática, y la capacidad de cambiar a nuevas áreas. (...) Estreche con rapidez mi abanico de intereses a dos áreas principales: la frontera entre lo viviente y el funcionamiento del cerebro, (...) estos dos temas tenían en común el hecho de tratar problemas que, en muchos aspectos parecían estar más allá del poder de explicación de la ciencia. (...) Pero aún tenía que decidir cuál de las dos áreas (ahora las llamaría biología molecular y neurobiología), debía escoger, lo que resultó mucho más sencillo. No fue difícil convencerme que mi información científica sería mucho más aplicable al primer problema (la frontera entre lo viviente y no viviente) y sin más vacilaciones decidí que ésta sería mi elección.*

“Que loco propósito. Una visión personal del descubrimiento científico”

Francis Crick-1989

---

De este modo los fenómenos históricos más recientes muestran la manera en que la biología ha desplazado a las ciencias físicas clásicas, tanto en prestigio como en poder económico Pero este dominio de la biología va mas allá de la importancia del conocimiento disciplinar en sí mismo, “el paso de la física a la biología no significa solamente la reorientación de las preferencias académicas sino que refleja ante todo nuestra visión de lo que queremos sobre el mundo”. Podemos estar interesados en saber hace cuanto tiempo se produjo el Big Bang, o cuántas clases de materias insolubles forman la materia, pero lo que realmente queremos saber es por qué algunas personas tienen mayor propensión a enfermedades, por qué una mujer no puede ser como un hombre, por qué algunas personas viven más que otras, cómo podemos demorar el envejecimiento. Estas y otras preguntas son expresión de la demanda social

actual hacia la comunidad científica. La ciencia, dice Gould, (1981) “es una actividad social que refleja la ideología dominante de una sociedad en la que se realiza, así como las exigencias políticas de la época y los prejuicios personales de sus practicantes.”

## El determinismo biológico y sus consecuencias

Una postura que han influenciado fuertemente los estudios en genética y luego en genómica es el determinismo. Para el **determinismo** biológico las vidas y las acciones humanas son consecuencias inevitables de las propiedades bioquímicas de las células que constituyen el individuo y esas características están a su vez determinadas únicamente por los constituyentes de los genes de un individuo.

Con base en el determinismo muchos han tratado de explicar las preferencias sexuales, la inteligencia y hasta la propensión a la violencia. Esta postura sostiene entonces que los genes determinan todas las características de un organismo y que el ambiente no ejerce mayores influencias. Los genes explican el funcionamiento del organismo y se los asigna como única causa de los procesos fisiológicos que ocurren en los seres vivos. Creer que los genes son suficientes y que no requerimos de ningún factor adicional para dar cuenta de los caracteres de los seres vivos, es uno de los sesgos más peligrosos que introduce el pensamiento reduccionista. Estas ideas fundamentan erróneamente el uso de la información producida en genética y biología molecular, para la detección de los “genes de un mecanismo” como “el gen de la obesidad” el “gen del cáncer” o el “gen de la inteligencia” y así justificar comportamientos tanto biológicos como conductuales, en los seres vivos.

Lewontin en su libro “El sueño del Genoma humano” analiza críticamente esta visión determinista, según el autor muchos piensan erróneamente que “lo que soy, las diferencias entre yo y otros seres humanos que nos distinguen, pongamos por caso el de los chimpancés están **determinadas** por la exacta composición química del ADN que forma los genes. (...)”. Pensar que los genes son los únicos responsables de nuestro cuerpo y mente llevan a la idea errónea que cuando sepamos exactamente como son los genes, sabremos qué y cómo es un ser humano.

En XIX Cyril Burt, el psicólogo norteamericano más influyente del momento expresaba que “la inteligencia estaba determinada por los genes” y pretendió demostrar que gemelos idénticos tendrían la misma inteligencia, aunque crecieran en ambientes diferentes. Lewontin y Gould han documentado algunas consecuencias

del determinismo de los siglos XIX y XX, que han dejado sus marcas en la sociedad al avalar concepciones racistas y sexistas el ser humano. Estas ideas ligadas a la psicología, la antropología y otras Ciencias Sociales intentaron explicar si los rasgos biológicos de una persona o de una raza determinan su comportamiento social.

Otro ejemplo de investigaciones orientadas en las concepciones deterministas son las que han intentado probar que en los genes se halla la explicación al concepto de razas humanas. Erróneamente se pretendía probar que las razas eran el resultado de las diferencias genotípicas entre los individuos de distintas poblaciones. Galton (1822-1911) uno de los primeros en recurrir a la estadística para estudiar poblaciones de seres vivos, acuñó en Inglaterra el término eugenesia, que indica “buen engendramiento” para denominar el estudio de los factores que influyen en la herencia de los rasgos biológicos en seres humanos. Estos estudios sirvieron de justificación para la esterilización de personas con rasgos considerados negativos.

Los trabajos de Davenport en 1911 sobre las razas humanas otorgaron “barniz científico” a las ideas del momento que sostenían la superioridad de unos grupos raciales sobre otros y tuvieron graves consecuencias sociales. El concepto de raza como la distinción de grupos humanos por sus diferencias en el color de piel, rasgos faciales, u otras características fenotípicas, comenzó a erosionarse con los trabajos de Morgan en la década del 30´ y con las investigaciones de Watson y Crick en los 50´. De este modo, dentro de los supuestos básicos que tienen un efecto profundo sobre las formas de explicación, el determinismo en biología desemboca en una perspectiva que percibe los organismos como individuos “determinados” por factores o causas internas: los genes.

En este sentido y relacionando con el Proyecto Genoma Humano es interesante el planteo de Ayala, (2001) que sostiene que “es arrogante e ingenuo pensar que el descifrar la secuencia de letras del ADN de un individuo sea equivalente a “conocer” lo que es esa persona” para referirse a estas ideas que sostienen que “todo” está en escrito en los genes.

## Cambios en la forma de producción de conocimientos

Otra cuestión importante que pone en foco la secuenciación del genoma humano es la modificación no solo del conocimiento biológico sino en su forma de producción. Mayr, E. (2006) expresa que desde el siglo XVIII se viene produciendo

un cambio para investigar la naturaleza. Podemos reconocer que cada periodo de la historia de los seres humanos civilizados estuvo dominado por un conjunto definido de ideas o ideologías que podríamos denominar como “cosmovisión dominante” tanto en los conocimientos en sí mismos, como en sus formas de producción. Por ejemplo para el caso de las ciencias de la naturaleza su estudio se inició como un ámbito de razonamiento filosófico y posteriormente se constituyó con un carácter más experimental.

Así en la primera mitad del siglo XX la filosofía de la ciencia estuvo dominada por el positivismo lógico o neopositivismo, escuela que sostiene que el conocimiento científico se encuentra contenido exclusivamente en la teorías acabadas de la ciencia. De este modo las teorías consisten en la sistematización de las observaciones leyes o regularidades, legitimada gracias a procedimientos experimentales o de observación. La ciencia es considerada como objetiva, neutra y aquel conocimiento que permite hallar la verdad sobre la naturaleza.

En la actualidad la epistemología de la ciencia reconoce que la producción de conocimiento científico depende del punto de vista del investigador y de los conocimientos vigentes en el momento en que se desarrollan las investigaciones, es decir el modelo vigente). Entonces, es preciso reconocer que las explicaciones son el resultado de nuestras particulares manera de acceder a los fenómenos naturales y que en ese sentido, conlleva los sesgos de los caminos que hemos elegido para estudiarlos, es decir, el camino de pluralismo explicativo.

Durante muchos años “el método científico” destacaba el papel preponderante de experimentación y enfatizaba la importancia de la recolección de datos como las herramientas para hacer ciencia. También sostenía la importancia que la acumulación de conocimiento, resabio de los primeros tiempos del enciclopedismo y cuando la inducción era el método favorito de los científicos. Entre los inductivistas estaba muy extendido el error de creer que una acumulación de datos no solo permitía hacer generalizaciones sino que producía nuevas teorías. (Mayr, E. 1996).

En cuanto a la caracterización de la ciencia como empresa colectiva, el proyecto genoma humano resulta un buen ejemplo ya que adopta dos principios para obtener la secuenciación. Uno es la colaboración mediante la apertura del proyecto a centros de distintas naciones, según se expresa en el artículo de *Nature* “nosotros sentimos que la secuencia del genoma humano es la herencia común de toda la humanidad y el trabajo debe trascender los límites de las naciones”. En el proyecto trabajaron

20 grupos de EEUU, Reino Unido, Japón, Francia, Alemania y China, que produjeron la primera versión del genoma humano que se publica en el año 2001. El segundo principio es la publicación rápida e irrestricta de la secuencia obtenida dentro de las 24 horas de producido el ensamblaje.

Veamos otro ejemplo de cómo va cambiando gradualmente la ciencia: el pujante empirismo hizo que se insistiera mucho en el descubrimiento de nuevos datos y, curiosamente apenas se habla del importante papel que desempeña el desarrollo de nuevos modelos en la construcción de conocimientos científicos, como por ejemplo la modificación del concepto de gen que hemos venido desarrollando a lo largo de este libro y al que no podemos asignarle la categoría de descubrimiento, ya que es un modelo que se ha ido modificando gradualmente a medida que se incrementan las teorías explicativas acerca de su estructura y su funcionamiento. Esta concepción se sostiene aún hoy en día y se refleja en normas editoriales y de premios o distinciones a “descubrimientos científicos”. Es más, podemos pensar que si existiera un premio Nobel de biología, que no lo hay, Darwin no habría podido ganarlo por desarrollar el modelo de selección natural, porque no se trataba de un descubrimiento y no hubiera podido presentar resultados de experimentos.

Quizá el avance más revolucionario de la biología en el siglo XX fue el surgimiento de la biología molecular que tuvo como resultado un nuevo campo, con nuevos científicos, nuevos problemas, nuevos métodos experimentales, nuevas publicaciones periódicas y nuevos “héroes culturales”. Pero si consideramos la idea de revolución al estilo de Kuhn, en realidad no existió una revolución en la cual se rechazara la ciencia anterior, sino que fue una continuidad fluida de ideas. No hubo “paradigmas inconmensurables”. Fue más bien sustitución de explicaciones y análisis, y métodos enteramente originales, (Mayr, 2006). Tomando como ejemplo el concepto de gen y lo que se denominó “el dogma central de la biología” este sufrió modificaciones pero no fue totalmente descartado y surgió una explicación diferente, a modo de revolución en las teorías que reemplazaron radicalmente la anterior. En el caso particular del genoma, el primer borrador obtenido en el año 2000 generó un mapa físico que describía aproximadamente el 96 % de la eucromatina y secuencias adicionales que cubren el 94 % del genoma total. Luego se perfeccionaron las técnicas, y del 10 % obtenido inicialmente se amplió al 90 % en 15 meses pero no podemos afirmar que los métodos cambiaron radicalmente sino que existió una continuidad.

Otras posturas sostienen que sí podemos hablar de “revolución molecular” ya que el cambio operado resulta particularmente importante por dos razones: en primer lugar porque condujo a una restauración de muchas divisiones de la biología clásica, como la biología del desarrollo y muchos temas de fisiología génica que habían sido descuidados. En segundo lugar, la adopción de los métodos y las teorías moleculares implicaron para estas áreas una revitalización y una aproximación a las ramas modernas de la biología. Así fue que la biología molecular efectuó en el siglo XX un aporte importante a la unificación de la biología. (Mayr, 2006).

## ¿Qué significado tuvo la secuenciación completa de todos los genes de un individuo?

En junio del 2000 se presentó en sociedad el primer “borrador” del genoma humano y en abril de 2003 su versión final. El objetivo inicial más importante era determinar la secuencia completa de nucleótidos de los genes del ADN humano e identificar esos genes en los cromosomas. Si bien contar con una larga secuencia de letras parecía ser su objetivo, éste puede resultar inútil si no conocemos su significado y para conocer su sintaxis es fundamental asignar las funciones biológicas a segmentos de ADN. Es decir que una vez finalizada la secuenciación del genoma empezó la etapa en la que comenzaba a dilucidarse la función de los distintos genes, para lo cual era necesario compararlo con otras secuencias.

Para establecer las funciones fueron necesarios diferentes procedimientos entre los cuales fue necesario encontrar similitudes entre el genoma humano y el de otras especies de las que ya se conocían sus genomas y las posibles funciones. Así en la medida que el conocimiento de genomas completos aumenta, se incrementa la capacidad de “anotar” un genoma. La expresión “anotar” un genoma se usa para la actividad de establecer hipótesis sobre la posible función de una secuencia, gracias a sus similitudes con otras de otros organismos para los cuales ya se ha establecido previamente dicha función. Para anotar un genoma es necesario probar que, dicha secuencia codifica para la función que se ha postulado, por lo que es necesario hacer bioquímica y biología molecular tradicional, es decir: aislar el gen, amplificarlo, expresarlo, medir o probar la actividad de su producto. Una vez hallado el gen necesitamos: ampliar la información sobre su funcionamiento y conocer sus mecanismos de regulación, averiguar cómo interactúa el producto de esa secuencia con otros

productos celulares y obtener información de tipo ambiental o clínica, para reconocer el grado de influencia sobre la actividad del gen.

## ¿Qué tenemos en común ratones, seres humanos y levaduras?

Las computadoras nos han familiarizado con el concepto de información como algo cuantificable. Las células vivas como las computadoras tienen información que en lugar de estar codificada binariamente, lo está como pares de bases en forma de moléculas de ADN. Ese ADN posee un código representado por palabras de tres letras (codones) que proveen las secuencias del ARNm. Lo interesante es que ese código es universal, es decir compartido por todos los organismos vivos. Esta característica permite que en la actualidad, gracias a las técnicas de la biología molecular, podamos tomar un fragmento de ADN de una bacteria, insertarlo en una célula humana y viceversa, y que esta información pueda ser leída e interpretada. Entonces, una de las semejanzas más importantes que tenemos con las moscas, los gusanos, las levaduras y los ratones es la universalidad del código genético.

Los humanos creemos que somos muy diferentes y por supuesto, “superiores”, a una mosca, un gusano, un ratón. Pero ¿somos tan distintos?

Alberts, B., *et al* (2002) sostiene que se calcula que el número necesario para que una célula actual sea viable no puede ser menor a 200-300 genes y se estima que hay 200 comunes a todos los organismos. Estas porciones compartidas del genoma nos permiten comprender distintos procesos y las formas que se regulan, para luego compararlos con lo que ocurre en el genoma humano. Hasta el momento el menor genoma conocido es el de la bacteria *Mycoplasma genitalium* que vive como parásito de del tracto genital de primates. Su genoma es de 580.070 pares de bases de nucleótidos y solo tienen 747 genes.

Además de las porciones compartidas del genoma algunos seres vivos comparten la característica de ser *organismos modelos*. Comúnmente al consultar la bibliografía nos encontramos con que la mayoría de las investigaciones en genética clásica y genética molecular se han desarrollado sobre pocos grupos de seres vivos. ¿Por qué los grupos de investigación se limitan a trabajar sobre esos organismos? ¿Que tienen de especial?

En primer lugar, por un tema de “economía de esfuerzos”, ya que la complejidad molecular y genética limita, y por eso es necesario concentrar los recursos en pocos

organismos seleccionados para entender su complejidad. Cuanto más aprendemos acerca de una especie, más atractiva se vuelve como objetivo de estudio posterior porque al aumentar el conocimiento de su estructura y funcionamiento se van generando nuevas cuestiones y proporciona nuevas herramientas con las que podemos responder a nuevas preguntas acerca del organismo seleccionado. Por ello los organismos de una especie, que han sido estudiados intensamente durante un periodo de tiempo muy largo constituyen lo que se denomina **organismos modelo**.

Otra condición que los hace útiles en las investigaciones es que sus genomas y los procesos de regulación resultan muy conocidos. Un tercer rasgo es que son utilizados porque las proteínas que codifican se parecen en muchos casos a las humanas.

Por último otra de las ventajas que ofrecen estos organismos es que su manipulación resulta fácil, tienen una reproducción sencilla, muchos se autofecundan y también tienen la posibilidad de producir muchos individuos por camada, lo que resulta muy adecuado para el “juego preferido” de los genetistas que es según Deutsch, (2009) “cruzar mutantes”, y este procedimiento aún sigue siendo un método utilizado para comprender el papel que juega en el organismo ese objeto simbólico que llamamos “gen”. Para jugar ese juego no alcanza con un solo individuo mutante. Hay que tener toda una colección, una cepa mutante, cruzar individuos y obtenerse por recombinación nuevas asociaciones de genes mutados y estudiar las interacciones entre genes.

Los organismos modelos usados habitualmente son: las eubacterias *Escherichia coli*, y *Mycoplasma genitalium*, el gusano nematodo *Caenorhanditis elegans*; la mosca de la fruta, *Drosophyla melanogaster*; la levadura del pan: *Saccaromyces cerevisiae*; la planta *Arabidopsis thaliana*, el ratón *Mus musculus*; y el organismo humano *Homo sapiens*. Ello ha dado lugar a distintos grupos que trabajan sobre estos organismos específicamente, así tenemos el grupo de los “genetistas del gusano”, cuyo padre espiritual es Sydney Brenner; Sulston y Horvitz; los de la moscas que comenzaron con Reaumur, en 1740 y “las moscas del vinagre” y Morgan, el “inventor” de la *Drosophyla* como objetos de estudios genéticos.

*Escherichia coli* es una eubacteria en forma de bastoncito (bacilo) que vive en el tracto digestivo del hombre, entre otros. Por este motivo es sumamente versátil ya que crece en condiciones químicas variables lo que resulta una gran ventaja. Crece fácilmente en el medio nutritivo en un frasco de cultivo y se reproduce rápidamente. Posee una sola cadena de ADN circular de 4.639.221 pares de nucleótidos. En términos moleculares es el organismo vivo del que se tienen mayor conocimiento.

- *Mycoplasma genitalium*

Es una bacteria presente en el tracto urogenital de los primates. Es considerada por Venter y Smith como un modelo de célula mínima. Presenta un genoma de 580 kb. Tiene el potencial para expresar 480 productos de los genes, por lo que es considerado como un modelo excelente para evaluar: el metabolismo mínimo requerido por una célula de vida libre; técnicas de proteómica y la información obtenida por el análisis del proteoma. Durante el año 2010 se ha logrado sintetizar a partir de un genoma sintético el organismo más simple capaz de autoreplicarse.

- *Saccharomyces cerevisiae*

Las levaduras son organismos unicelulares, que pertenecen al reino de los hongos y está próximo tanto a los animales como a las plantas. Es un individuo eucariota, unicelular robusto y fácil de cultivar. Tienen pared celular, y no se desplaza. En un medio nutritivo adecuado crece y se divide casi tan rápidamente como una bacteria. Tienen reproducción sexual y asexual. Su genoma es extremadamente pequeño, y puede realizar todas las tareas básicas de una célula eucariota. La secuencia completa se obtuvo en 1997.

- *Drosophila melanogaster*

La mosca de la fruta, es un díptero pequeño que ha sido usado como modelo de la genética clásica. Su ciclo de vida es sencillo y tarda 9 días en pasar de huevo fecundado a adulto. Fue usada principalmente para correlacionar las proteínas con sus genes a través de la producción de mutantes, que han permitido dilucidar las instrucciones genéticas codificadas en los cromosomas en relación con la estructura del cuerpo del organismo pluricelular adulto. La secuenciación del genoma de la mosca de la fruta, se completó en marzo del 2000. Su genoma posee 289 genes de enfermedades equivalentes a las humanas, y alrededor de 7000 proteínas muestran semejanzas con las proteínas de mamífero. A medida que se secuenciaron estos genes en *D. melanogaster* los genomas de vertebrados pudieron ser analizados para buscar homólogos.

- *Caenorhabditis elegans*

El "gusano" *Caenorhabditis elegans* es un nematodo de aproximadamente 1 mm de largo formado por 959 células. Tiene tres propiedades que lo hacen un buen

animal modelo: una es que puede “cultivarse” fácilmente en placas de Petri sembradas con bacterias; la segunda es la capacidad de sobrevivir indefinidamente en un estado “congelado de animación suspendida” denominado “larva *dauer*”, (que puede considerarse como una forma de resistencia en condiciones desfavorables). Otra propiedad es que *C. elegans* presenta dos sexos diferentes, pero en su caso no son machos y hembras, sino machos y hermafroditas. Los hermafroditas poseen gónadas y son capaces de autofecundarse, los machos, tienen aparato copulatorio y fecundan a los hermafroditas que se comportan como hembras. Al seleccionar un mutante hermafrodita, se obtienen al mismo tiempo una cepa por medio de la autofecundación donde los descendientes de un hermafrodita constituyen un clon de su “madre”, con excepción de los machos, que se obtienen en una proporción 1/1000 en el laboratorio y que solo tienen un cromosoma sexual en lugar de dos.

La secuencia completa de su genoma se obtuvo en 1998 y se encontró que la tercera parte de las proteínas del gusano son similares a las de los mamíferos.

- *Arabidopsis Thaliana*

Es una planta con flor, de tamaño pequeño, miembro de la familia de las Brassicaceae, a la cual pertenecen el repollo y el rábano. Crece en interiores y es de fácil cultivo en condiciones de laboratorio. Su ciclo de vida es muy rápido, alrededor de 6 semanas entre la germinación y la aparición de semillas maduras.

*Arabidopsis* no posee valor agronómico, pero su importancia radica en que se ha constituido en el primer modelo vegetal escogido para el estudio de genética molecular en plantas. Su genoma se completó en diciembre de 2000 y posee aproximadamente 25.000 genes de los que el 70% ya tiene una función asignada. Tiene 1.400.000 pares de bases, once veces mayor que la levadura, pero pequeño comparado con otras de las plantas superiores. En la actualidad, se cuenta con el mapa genético y físico de sus 5 cromosomas.

- *Muss musculus*

Es un mamífero pequeño robusto y prolífico y se ha convertido en el organismo modelo más utilizado en estudios de genética molecular en vertebrados. Los ratones están muy próximos a los seres humanos, ya que más del 90 % de las proteínas de ratón identificadas muestran semejanzas con las humanas. Se han desarrollado métodos para analizar la función de cualquier gen de ratón o de cualquier porción. Un

“Ratón mutado a la carta” puede proporcionar una enorme cantidad de información: revela efectos de la mutación escogida en distintos contextos y permite estudiar la acción simultánea en distintos tipos celulares.

- **Homo sapiens**

Este organismo nos interesa particularmente, no porque podamos experimentar sobre el sino porque hay aproximadamente 7 mil millones de individuos lo que nos proporciona un enorme base de datos relativo a mutaciones.

## ¿Cómo se descifró la secuencia completa de genes? ¿Qué impacto provocó sobre el conocimiento de los genes y su funcionamiento?

La secuenciación del genoma humano es el último paso de un proceso que comenzó en la década de los 80´ cuando dos líneas distintas de investigación empezaron a converger. Una era la genética humana, el estudio de los patrones de herencia que pueden revelar causas genéticas de la enfermedad; la otra es la biología molecular, que estudia el conjunto de procesos básicos que llevan al mantenimiento de la información genética (replicación) y a su expresión (transcripción y traducción) Moreno, S.(2003) . En 1990, se inició un esfuerzo internacional financiado por fondos públicos, el (PGH) con el fin de secuenciar el ADN humano y lograr trazar el mapa de los genes a través de marcadores que permiten localizarlos en los cromosomas para luego se determinar su secuencia, (generalmente esta secuenciación se realiza con métodos automáticos a partir de fragmentos de cromosomas marcados anteriormente con nucleótidos fluorescentes). El proceso consistió en dos fases, la primera es la localización del “mapa físico” de los genes en los cromosomas y la segunda determina la secuencia completa y ordenada de nucleótidos.

La secuenciación del genoma se realizó mediante dos técnicas que involucran distintos pasos. Celera Genomic usó el enfoque de la fragmentación completa. Esta técnica consiste en la ruptura del genoma completo en fragmentos pequeños, luego se lee la secuencia de ADN de cada fragmento (a través de secuenciadores de ADN), posteriormente se reúnen ordenadamente los fragmentos viendo donde se solapan.

El PGH usó el enfoque de la fragmentación imbricada: primero se corta el genoma en segmentos de tamaño cada vez menor y se les dispone en un orden aproximado, luego se rompe cada fragmento en fragmentos pequeños, se lee la secuencia

de cada uno de los fragmentos con un secuenciador, para finalizar se reúnen los fragmentos secuenciados según su orden relativo conocido.

De todos modos conviene destacar que si bien el proceso de lectura estuvo terminado en 2003, su comprensión llevará varios años, ya que los datos de “las bases” son solo una parte del proceso y la “secuencia bruta” debe ser analizada en busca del contenido de genes y además es necesario adosarle información adicional relevante para la comprensión de su papel biológico.

El genoma de la especie humana es complejo ya que abarca variantes génicas que se encuentran en la población humana y además cambia como resultado de la reproducción sexual. El PGH a partir del estudio del ADN de personas escogidas al azar, ha mostrado que genotípicamente solo se diferencian en uno o dos pares de nucleótidos cada 1000 pares en las secuencias de ADN, a pesar de que miradas “fenotípicamente” pueden tener rasgos muy diferentes.

Para poder entender el impacto que provocó el desciframiento del genoma enunciaremos algunos de los resultados presentados en el artículo de Nature (2001). En principio podemos destacar que el genoma humano fue el primer genoma de vertebrado secuenciado. En él creyeron hallar aproximadamente 30.000 a 40.000 genes que codifican para proteínas, pero actualmente se habla de 25.000. Lo inesperado de este dato es que resulta ser solo el doble que en el gusano (*Caenorhabditis elegans*) y moscas de la fruta (*Drosophyla melanogaster*). Este hallazgo fue sumamente importante ya que pone en evidencia que los genes son más complejos y poseen variados mecanismos de amplificación de la información genética. Es decir que el mayor número de productos proteicos no implica el incremento proporcional en el número de genes.

En principio, se podría suponer que cuanto más complejo es el organismo mayor es la cantidad de genes requerida para llevar a cabo todos los procesos metabólicos, por consiguiente, las especies más complejas, como por ejemplo el ser humano, tendrían genomas más grandes que los de los organismos más simples como las bacterias, los gusanos o las moscas.

El análisis comparativo de los genomas indicaría que el incremento en el número de genes no se refleja en un incremento en la complejidad morfológica ni funcional. Así por ejemplo el nematodo (*Caenorhabditis elegans*), posee aproximadamente 20.000 genes pero no posee ni el rango de tipos celulares ni de tejidos que presenta la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) que contiene menos de 14.000 genes y más aún que el organismo humano tienen 25.000.

Estas ideas eran inimaginables para los biólogos moleculares antes de los primeros resultados de la secuenciación del Genoma humano, quienes seguramente estimaban que se describiría un número mayor de genes. La lógica llevaba a pensar que si el ser humano fabrica unos 90.000 tipos de proteínas deberían contarse con al menos la misma cantidad de genes, pero esto no fue así. Uno de los hitos fundamentales de este siglo en lo que respecta a los nuevos avances en la secuenciación del genoma humano es su característica *de producto dinámico*. Esto quiere decir que un segmento de ADN genera un transcripto primario de un gen que puede ser “editado” de varias formas, es decir puede experimentar distintas opciones de corte y empalme, y da como resultado diferentes ARN mensajeros (ARNm).

Esta idea del ADN como producto dinámico se perfiló como una primera interpretación de los resultados inesperados obtenidos del primer borrador de la secuenciación del genoma humano, en Febrero de 2001, cuando se publicó la cifra de 30.000 a 35.000 genes codificadores de proteínas que se redujeron posteriormente a aproximadamente 25.000 cuando se completó la “cartografía” del genoma humano.

Entonces, ¿Cuáles son los factores responsables de estas grandes variaciones en el tamaño del genoma de los organismos eucariotas? Durante muchos años esta pregunta, denominada paradoja del valor  $c$  - que representa el tamaño del genoma -, careció de respuesta. La información proveniente de recientes proyectos relacionados con la secuenciación del ADN ha aportado datos interesantes para entender esta paradoja. Un factor que contribuye a determinar el tamaño del genoma es la extensión de las secuencias de ADN que son capaces de moverse dentro del genoma. Los genomas de muchos eucariotes poseen remanentes evolutivos de los elementos transponibles y estos son responsables de parte de las grandes diferencias en el tamaño del genoma observadas entre los eucariotas multicelulares. Por ejemplo el 50% del genoma humano está compuesto por estos elementos y muchos genomas grandes lo son debido a su abundancia.

Todavía no se sabe cuánto ADN hace falta para construir un organismo, pero está claro que hay distintos tipos de secuencias de ADN y que algunos podrían ser más importantes para determinar la complejidad que los otros.

## ¿Cómo se origina la diversidad en el proceso evolutivo del genoma?

Varias de las investigaciones en genes humanos están motivadas por la urgente necesidad de encontrar la causa a enfermedades en cuyo desarrollo participan los genes induciéndolas o intensificándolas. Sin embargo en el genoma también encontramos miles de secuencias que cual “tesoro secreto” contiene mensajes del pasado remoto y del reciente, y de cuando éramos criaturas unicelulares. Hay genes que no han cambiado mucho desde los primeros organismos unicelulares que poblaban el barro primitivo.

Desde hace cuatro mil millones de años hasta hace cientos el genoma se ha constituido en una especie de autobiografía para nuestra especie y otras que se desarrollaron en el planeta Tierra. Ahora bien, esta idea de leer el genoma y poder saber más sobre nuestro origen y evolución nos obliga a preguntarnos ¿cómo se origina la diversidad en el proceso evolutivo del genoma? Como hemos visto no es la complejidad del genoma en si misma, sino que son los mecanismos cada vez mas elaborados de regulación de la expresión génica los que marcan las diferencias en la complejidad de los organismos. Los resultados llevaron a los científicos a suponer que hay distintos mecanismos por los cuales un número relativamente pequeño de genes ha podido ser “explotado” durante el tiempo evolutivo, de modo de generar organismos más complejos. Pero entonces, ¿Cómo se produce la mayor complejidad? Como hemos estudiado en el capítulo anterior el transcripto inicial de ARN se “edita” en forma alternativa, para producir ARNm diversos y por ende proteínas distintas, a partir de un mismo gen. En principio son dos los mecanismos propuestos como recursos importantes de complejidad, a nivel genético, uno es el ensamblaje (o splicing) alternativo que lleva a la producción de diferentes ARN a partir de un gen determinado, durante el ensamblaje alternativo del m ARN y el otro es el re arreglo del ADN, donde los genes son reacomodados durante la diferenciación celular.

Tras saber que humanos y ratones tenemos esencialmente los mismos genes, hemos de abordar uno de los principales controversias que retan a la ciencia hoy: Si los genomas son tan parecidos, ¿qué hace que seamos fenotípicamente tan diferentes? ¿Qué semejanzas existen entre el proteoma del ratón y el humano? ¿Qué pudo haber sucedido durante el proceso evolutivo para hacer de ratones y humanos seres tan distintos? Pese a que la respuesta está presente en algún lugar dentro de

los tres mil millones de nucleótidos de cada genoma secuenciado, aún no sabemos cómo interpretar esa información.

## Cambios sociales y éticos

El siglo veinte marca el siglo de la revolución genómica asociado al hecho de la culminación y presentación de los resultados de los estudios multidisciplinarios que llevaron al conocimiento del genoma humano. Los nuevos conocimientos genéticos son un punto de partida muy valioso para la investigación biológica y médica. Los avances en estas áreas de conocimiento han provocado la necesidad de mayor especificidad en las investigaciones y el surgimiento de nuevas disciplinas para satisfacer la demanda de nuevos saberes. A continuación describiremos algunos campos de conocimiento que intenta dar respuesta a las demandas sociales y científicas.

La **Proteómica** es la ciencia que correlaciona las proteínas con sus respectivos genes, de modo de conocer la función de los productos proteicos de un gen. El “proteoma” es un término acuñado en 1994 por M. Wilkins, y puede definirse como el conjunto de proteínas expresadas por un genoma. Entonces podríamos decir que el proteoma es una imagen dinámica de todas las proteínas expresadas en un organismo.

El desarrollo de la proteómica ha sido posible gracias a la convergencia de diferentes áreas destinadas a resolver, identificar y caracterizar, y cuantificar proteínas, así como almacenar los resultados en bancos de datos, comunicar y entrecruzar información con las secuencias de ADN y proteínas que aportan los distintos proyectos del Genoma.

La **Bioinformática** como disciplina científica emergente representa un área de investigación multidisciplinaria, la cual se sustenta en la biología, la computación y la informática y está particularmente focalizada en profundizar la comprensión del genoma humano, del cual hoy en día ya se tiene información muy detallada, extensa y completa. Esta ciencia ha permitido obtener toda la secuenciación de moléculas que componen el genoma de un organismo viviente, bien sea virus, bacteria, invertebrado, vertebrado. La comparación de sus secuencias de PGH y con otros organismos fue posibilitado por el desarrollo de tecnologías de secuenciación automática y de análisis computacional. Las bases de datos inteligentes resultan fundamentales para correlacionar los datos de origen diversos y permiten el manejo de las enormes cantidades de información provenientes tanto de la secuenciación de las macro-

moléculas, tales como el ADN, proteínas estructurales, así como de las técnicas de análisis masivo del comportamiento de genes y proteínas (genómica y proteómica).

La **Genómica** es considerada como el campo con mayor impacto de la revolución molecular sobre la biología, principalmente sobre la biología evolutiva ya que permite, el estudio de las secuencias génicas. La genómica permite el estudio de los efectos del reemplazo de pares de bases singulares, el efecto de la inserción de ADN no codificante, el reemplazo de genes por transferencia lateral y el efecto de todos los numerosos cambios de genes, de su posición en los cromosomas.

Un campo especial dentro de esta disciplina es la genómica comparada que como indica su nombre compara secuencias del genoma de diferentes especies. Al comparar las secuencias de referencia los investigadores pueden hallar regiones similares o distintas que permiten detectar cambios evolutivos entre organismos, ayudando a identificar los genes que se conservan entre las especies, así como el surgimiento de otros nuevos.

La **Farmacogenomía** también es una disciplina emergente y tiene su origen en las variaciones génicas que hacen que algunos fármacos no sean efectivos en el tratamiento de algunas enfermedades. Se cree que el 99.9 por ciento de los genes de todas las personas son exactamente iguales. Pero el 0.1 por ciento restante varía y son esas variaciones lo que más interesa a las compañías farmacéuticas. Incluso un simple polimorfismo de un nucleótido individual (SNP), puede significar un problema. Estas minúsculas variaciones son la causa que muchos remedios no produzcan efectos más que en un 30 a 50 % de la población humana.

Por último nos ocuparemos de la **Bioética** que constituye una de las nuevas formas de la ética aplicada, que caracteriza la sociedad, la cultura y los valores modelos. Según Clotet (2005), el pensamiento ético en la actualidad se caracteriza por el creciente interés de problemas de carácter individual y colectivo. La ética aplicada, se ocupa de cuestiones pertenecientes a las personas y a la humanidad e intenta enfocar el fenómeno de la reflexión ética de la vida. Los avances en la biología molecular, la genética y la medicina preventiva dan lugar a una nueva disciplina que se ocupa de los problemas éticos relativos a la autonomía y la beneficencia. ¿Quién decide sobre la continuidad de la vida de un embrión anencefálico? ¿Cuál es la mejor manera de remediar el dolor insoportable de un paciente terminal? Cuando se difundió la técnica (descubierta por Mullis, que le valió el premio nobel en 1993) del PCR denominada reacción en cadena de la polimerasa, que permite producir miles

de copias de ADN surgió la pregunta ¿Quién tienen derecho de producir la molécula que tiene información hereditaria de la persona?

En muchos casos la genética clínica se encuentra con un paciente asintomático, que hoy está sano pero que posee una enfermedad en su genoma que podría manifestarse en el futuro. La investigación genética, por ejemplo que permita la identificación de un factor de deficiencia impediría la enfermedad o al menos retrasaría su aparición o limitaría sus efectos. Entonces surge otra pregunta ¿cómo evaluamos los resultados de la experimentación genética? ¿Cuáles son los criterios para establecer los riesgos? ¿Cuáles son las enfermedades genéticas que deben ser sometidas a diagnóstico prenatal con el fin de la interrupción del embarazo? ¿Cuáles son los límites de aplicación de los cambios del genoma de células germinales? ¿Cuáles son los límites de la eugenesia?

Para dar un ejemplo, podemos citar el caso de la enfermedad de Huntington, que se desarrolla tanto en hombres y mujeres y se caracteriza por un grave deterioro neuronal, físico y doloroso para el paciente. Es un caso en el que el diagnóstico genético tienen grandes ventajas, se puede detectar la enfermedad pero aún no se puede impedir el desarrollo y la muerte ya que no existe el conocimiento necesario del sistema nervioso y de la manera que interaccionan los productos del gen defectuoso. Se sabe que es producida por un alelo dominante y la condición se manifiesta tardíamente entre los 30 y los 50 años. Si bien ya se detectó y mapeó el gen que lo produce, aún no tiene cura. Contar con la información de padecerla puede redundar en un beneficio para el portador y su descendencia pero aunque se sospeche de la presencia del gen los posibles portadores habitualmente no se realizan el análisis.

Para dar respuesta a algunas de las preguntas planteadas en este apartado y establecer un límite entre la autonomía y la responsabilidad social, se creó en 1993 el CIB, comité Internacional de Bioética. Posteriormente en 1997, se realizó la declaración sobre el genoma humano suscrita en julio de 1997 y que la Unesco puso en vigencia en 1998. Esta declaración en su artículo 1º destaca la unidad del género humano oponiéndose a todo tipo de discriminación racista basada en la existencia de genes buenos o malos. “El genoma es la base de la unidad fundamental de todos los miembros de una familia humana y el reconocimiento de su dignidad y diversidad. En sentido simbólico, el genoma es patrimonio de la Humanidad”.

## El modelo de gen como producto dinámico

Al comenzar este capítulo nos propusimos discutir fundamentalmente tres cuestiones, la modificación en los conocimientos biológicos, los cambios en la ciencia y sus formas de producción y los cambios sociales que promueven los conocimientos acerca de los genes y su funcionamiento.

En cuanto a los conocimientos biológicos podemos concluir, a partir de varias de las cuestiones abordadas en este apartado, que los genes son el punto de partida de un ser humano y ofrecen potencialidades más que restricciones. El modelo de gen como otros modelos en ciencia es dinámico y su modificación cambia las explicaciones y miradas que tenemos sobre el conocimiento de los seres vivos. Lo más importante es que el genoma y su comprensión es un paso clave hacia el conocimiento del funcionamiento molecular del cuerpo humano y que estamos al comienzo. En cuanto al impacto del PGH sobre las sociedades no podemos negar su impacto, pero debemos ser cuidadosos en la evaluación de algunas afirmaciones que se promueven desde los medios ya que titulares como “El código genético vencerá todas las enfermedades” promueve falsas expectativas que ya que la respuesta a muchas enfermedades no es tan rápida como las sociedad pretende. En cambio sí podemos pensar en un efecto más inmediato sobre el diagnóstico, ya que una vez que se encuentra la variante de un gen asociado con una enfermedad, es trivial encontrar si un ser humano tiene dicha variante. En la actualidad los ensayos genéticos están disponibles para varias enfermedades, incluyendo entre otras la fibrosis quística, la distrofia muscular y la corea de Huntington. Estas son situaciones relativamente raras en las que un defecto genético proporciona una alta probabilidad de desarrollar la enfermedad, pero con las bases de datos podemos empezar a manejar variaciones genéticas comunes que tienen un impacto estadístico mayor en trastornos tales como la diabetes y la obesidad.

El desarrollo del PGH y sus derivaciones genera en algunos casos falsas expectativas, y en otros nos obliga a evaluar cuidadosamente los discursos para no caer en posturas deterministas. Muchos avances en las disciplinas de diagnóstico genético llevan a justificar como única razón de muchos problemas, a la información contenida en los genes, postura en que se sostiene el determinismo biológico. Por otra parte los logros del PGH parecen potenciar la creencia de que las posibilidades de manipulación aislamiento, y caracterización de los genes son mayores que las

alcanzadas en la actualidad. Hasta el momento las posibilidades de intervención o manipulación del genoma humano han cambiado respecto al panorama desde hace 30 años: sabemos más de la estructura del genoma humano, de los procesos que regulan la expresión de la información en muchos genes, de la manera en que los genes y otros factores influyen sobre los organismos y de los mecanismos con que los seres vivos cuentan para amortiguar cambios en el genoma, pero aún queda mucho por indagar. A partir de este proyecto y la interpretación de la información dispuesta en los genes se pretende o al menos nos proporciona claves de nuestra historia, de los desplazamientos de nuestros ancestros, sus dietas, de las infecciones que experimentaron. Esos datos han dejado trazas en las formas variantes de los genes que han sobrevivido en las comunidades humanas.

En cuanto al análisis de algunos de los cambios provocados por los nuevos conocimientos también ha tenido un gran impacto en la comprensión de la historia evolutiva de la vida en la tierra. Un hallazgo importante deviene del estudio de las secuencias repetitivas y los registros paleontológicos de los procesos evolutivos y biológicos que proveen los genes humanos y las proteínas; y las diferencias y similitudes con la historia evolutiva de otros organismos que comparten los mismos segmentos.

Pero en realidad la secuenciación del genoma nos ha dejado aún muchos interrogantes aun sin resolver.



# ***PALABRAS FINALES***

Este libro es el resultado de la escritura conjunta de las cuatro autoras. Si bien cada una es responsable de un capítulo, el producto final es parte de un proceso que implicó no pocas dudas, discusiones y acuerdos. La primera etapa implicó conocernos y consolidarnos como grupo. Los intercambios de ideas, las distintas posturas, los largos debates y finalmente los consensos alcanzados permitieron establecer los lineamientos, los contenidos y el enfoque que se fueron plasmando a lo largo de los capítulos precedentes.

Mientras establecíamos el esquema básico de la estructura de nuestro futuro libro, fuimos conociéndonos, y ganando confianza, seguridad y crecimiento en el campo disciplinar específico de la temática del gen y los nuevos desarrollos en los conocimientos del libro. Aunque venimos de contextos y trayectorias distintas se logró la convergencia a la luz de este proyecto que se constituyó en un lugar de encuentro.

Uno de los primeros problemas que enfrentamos fue definir cuál sería el aporte original del libro. Sin embargo, luego de varias idas y vueltas logramos establecer un índice preliminar, el cual fue enriquecido por los aportes generosos de los especialistas tanto de escritura como en Biología molecular. Mientras María, especialista en escritura, nos fue aportando elementos para fortalecernos en nuestras habilidades de escritura y preparándonos para este desafío, los encuentros con Manuel, especialista en biología molecular, y sus preguntas desestabilizadoras nos fueron abriendo la mirada hacia cuál debería ser la idea rectora.

Así fuimos transitando este proceso donde surgió como principio organizador el recorrido por los hitos o hallazgos y sus contextos. Es decir esta idea que los cambios en el concepto de gen a lo largo de la historia, se fueron conjugando con las evidencias y las modificaciones en los modelos explicativos. Otro aspecto que se discutió mucho fue cómo lograr identificar las ideas que hicieran de nuestro libro un aporte original y no una mera recopilación de otros libros especializados de genética, de los cuales hay variadas ofertas y de excelentes autores. Centrados en nuestro perfil docente y nuestra tarea en la formación de futuros profesores pensamos que orientar el libro hacia la construcción del conocimiento, específicamente la idea de gen, podría constituir un aporte interesante para los futuros formadores. De esta forma, además de los conceptos e ideas propios de la genética, estaríamos ofreciendo también una mirada hacia los procesos de la ciencia.

Una vez establecido el índice y los contenidos a desarrollar al interior de cada capítulo, nos lanzamos al proceso de escritura. Los primeros borradores, eran un esbozo incipiente de lo que hoy plasmamos en este libro. Estos escritos fueron objeto de muchas lecturas y relecturas donde cada una de nosotras aportó su mirada constructiva. Por lo tanto, aunque cada capítulo tiene un único autor se trata de un proceso reflexivo de construcción cooperativa de un texto que mantiene aquella idea original surgida en nuestros primeros encuentros y madurada a lo largo de todo el proceso.

Destacamos como fortalezas del proceso de escritura el aprendizaje que implica el mismo hecho de escribir sobre una temática particular, además del intercambio de ideas con nuestras colegas y nuestros asesores. Las preguntas, las correcciones, los aportes de bibliografía, fueron parte de un cúmulo de experiencias que nos enriquecieron y contribuyeron a nuestro desarrollo profesional. Nos encontramos sumamente gratificadas y nos sentimos muy afortunadas por haber tenido la oportunidad de participar de esta experiencia.

## Bibliografía

- Abuelas de plaza de mayo;(s.f.). *Las abuelas y la genética. El aporte de la ciencia en la búsqueda de los chicos desaparecidos*.
- ADURIZ BRAVO, A. (2005): *Una introducción a la naturaleza de la ciencia*. Buenos Aires. Fondo de Cultura económica
- ALBERTS, A.; JOHNSON, A. (1996): *Biología molecular de la célula* (3ª ed.). Barcelona. Omega.
- ALBERTS, B, et al. (2002): *Biología Molecular de la Célula*. Cuarta Edición. Barcelona. Omega.
- ALDRIDGE, S. (1999): *El hilo de la vida: de los genes a la ingeniería genética*. Madrid. Cambridge University Press.
- AST, G. (2010): "El otro genoma", en *Investigación y Ciencia, Scientific American, Temas*, 4-11.
- VERY, O., MACLEOD, C. y MC CARTY M. (1943): "Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type III" en *The Journal of Experimental Medicine*, 79 (2), pp 137-158 . Recuperado en <http://www.twiv.tv/dna.pdf>.
- BACH, M. (1992): "Corte de intrones y empalme de exones" en *Investigación y Ciencia*, 188, 60 - 67.
- BEADLE, G. W. y BEADLE, M. (1971): *Introducción a la nueva genética*. Buenos Aires. Editorial Universitaria Buenos Aires.
- BEADLE, G. (1978): *Las bases físicas y químicas de la herencia*. Eudeba. Buenos Aires.
- BEADLE, G. (1979): *Introducción a la Nueva Genética*. (3era ed.). Buenos Aires. Editorial Universitaria de Buenos Aires.
- BEARDSLEY, T. (1991): "Genes inteligentes" en *Investigación y Ciencia*, 181,76-85.
- BOVERI, T. (2008). "Concerning the Origin of Malignant" en *J. Cell Sci*. 121: 1-84. Recuperado en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18089652>
- BROWM, T. (2008): *Genomas* (3ª ed.). Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana.
- BROWN, K (2000): "El negocio actual del genoma humano" en *Investigación y ciencia*, 288: 36-41.
- CASTAÑEDA PARTIDA, M., ARNAIZ RODRÍGUEZ, R. ( 2009): "De la Genética a la Genómica" en *Revista Fuente*, 1, 1. [http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/01-01/de\\_la\\_genetica\\_a\\_la\\_genomica.pdf](http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/01-01/de_la_genetica_a_la_genomica.pdf) [consultado junio 2011].
- CHAMBON, P. (1981): "Genes fragmentados" en *Investigación y Ciencia*, 58, 22 - 35.
- CHOUARD, L. y MOSHE, Y. (1994): "El control de la expresión de los genes" en *Mundo Científico*, 149, 14.
- CLAROS, G. "Aproximación histórica a la biología molecular a través de sus protagonistas, los conceptos y la terminología fundamental". (En línea) Consultado el 31,enero,2011. En [http://medtrad.org/panacea/IndiceGeneral/n12\\_tribuna\\_GClaros.pdf](http://medtrad.org/panacea/IndiceGeneral/n12_tribuna_GClaros.pdf)
- COBLE, M. D. et al. (2009): Mystery Solved: The Identification of the Two Missing Romanov Children Using DNA Analysis.
- CRICK, F. (1989): *Qué loco propósito. Una visión personal del descubrimiento científico*. Barcelona. Tusquets.
- CROW, E. W. Y CROW, J. F. (2002): "100 Years Ago: Walter Sutton and the Chromosome Theory of Heredity" en *Genetics*. 160(1): 1-4. Recuperado en <http://www.genetics.org/cgi/reprint/160/1/1.pdf>

- CURTIS, H. et al. (2000): *Biología*. Buenos Aires Panamericana.
- DARLINGTON, C.D. y HAQUE, A. (1955). "Chromosomes of monkeys and men" en *Nature* 175:32.
- DELGADO ECHEVERRI, I. (2009): Los estudios morfológicos en la teoría de la determinación cromosómica del sexo: 1880-1912 (En línea) Consultado el 31, enero, 2011. en <http://www.raco.cat/index.php/Dynamis/article/view/103221>
- DEUTSCH, J. (2009): *El gusano que usaba el caracol como taxi y otras historias Naturales*. Buenos Aires. Fondo de Cultura Económica.
- EZZELL, C. (2000): "Mas allá del genoma Humano" en *Investigación y Ciencia*, 288.
- FRANKIN, R. y GOSLING, R. (1953): "Molecular Configuration in Sodium Thymonucleate" en *Nature*, 171, 738 -741.
- ALLEN, G.E. (1985): "Thomas H. Morgan y el nacimiento de la genética moderna" en *Mundo Científico*, 49, 5, 726 - 733.
- GEE, H. (2006): *La Escalera de Jacob: la Historia del Genoma*. Barcelona: Ediciones Paidós Ibérica.
- GILBERT, S. F. (2005): *Biología del desarrollo*, 7ª edición. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana.
- GOULD, S. (2010): *La falsa medida del hombre*. Barcelona. Drakons
- GRIFFITH, F. (1927): "The Significance of Pneumococcal Types. Occurrence of a Variety of Serological Types in the Sputum from an individual case of pneumonia" en *Journal of Hygiene* 27/13-59, 129-176 Recuperado en <http://profiles.nlm.nih.gov/ps/access/CCAAOD.pdf>
- GRIFFITHS, A. (2002): *Genética* (7ª ed.). Madrid. Mc Graw-Hill. HOAGLAND MAHLON H. (1985): *Las raíces de la vida*. Barcelona Salvat Editores.
- INTERNATIONAL HUMAN GENOME SEQUENCING CONSORTIUM (2001): "Initial sequencing and análisis of the human genome" en *Nature*, 409, 860-914.
- IRAOLA, A. y GARCÍAS-PARÍS, M. (2004): "Evidencia molecular de transporte fraudulento y comercio de Salamandra salamandra (Caudata: Salamandridae)" en *Munibe*, 55, 217-222.
- JACOB, F. y MONOD J. (1961): "*Genetic Regulatory Mechanisms in the Synthesis of Proteins*" en *J. Mol. Biol.* 3, 318-356
- KLEIN, A. (1972): *Los hilos de la vida. La genética, desde Aristóteles al ADN*. Buenos Aires. Editorial Universitaria de Buenos Aires.
- KLOTZKO, A. J. (2006): *¿Quieres clonarte?*. Valencia. Editorial Universidad de Valencia.
- LEWIN, B. (2001): *Genes VII*. Madrid. Editorial Marbán.
- LEWONTIN, R. (2000): *El sueño del genoma humano y otras ilusiones*. Barcelona. Paidós.
- LODISH, H. et al. (2009): *Biología Celular y Molecular*. (5ta ed.). Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana.
- MARATZ HENIG, R. (2001): *El Monge en el Huerto*. Madrid. Debate.
- MARGULIS, L. (1970): *Origin of Eukaryotic Cells*. Yale. University Press.
- MATTICK, J. S. (2010): "Los intrones" en *Investigación y Ciencia en Scientific American, Temas*, 59, 12 - 19
- MAYR, E. (1998): *Así es la Biología*. Madrid. Debate.
- MAYRS, E (2006): *Por qué es única la biología. Consideraciones sobre la autonomía de una disciplina científica*. Buenos Aires. Katz.
- MC KNIGHT S.L., (1991): "Cremalleras moleculares y regulación génica" en *Investigación y Ciencia*, 177, 24.
- MC LAREN A., CAMINERO C. (2003): *La clonación*, Madrid. Editorial complutense.
- MORENO, S. (2003): "Las bodas de oro de la estructura del ADN: comienzo de la Biología Molecular" en *Revista Química Viva*, 2,(1).

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

NAGEL, R. (2008): "Genética, Razas y Eugenesia" en *Ciencia Hoy*, 18 (105), 19-26.

NASS, M. y NASS S. (1963): "Intramitochondrial Fiber With DNA Characteristics I. Fixation and Electron Staining Reactions" en *The Journal of Cell Biology*, 19.

(En línea) Consultado el 25, octubre, 2010. En [jcb.rupress.org](http://jcb.rupress.org).

NOVO VILLAVERDE, F. J. (2007): *Genética Humana. Conceptos, mecanismos y aplicaciones de la genética en el campo de la biomedicina*. Madrid. Pearson Educación.

PASSARGE, E. (2004): *Genética: Texto y Atlas*. (2ª ed.). Buenos Aires. Médica Panamericana.

PIERCE, B. (2005): *Genética. Un Enfoque Conceptual*. (2ª ed.). Madrid. Editorial Médica Panamericana.

PORTER, J. R. (1976): "Antony van Leeuwenhoek: Tercentenary of His Discovery of Bacteria" en *Microbiology and Molecular Reviews*, 4,(2), 260-269.

Consultado en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18089652>

SAMPEDRO, J. (2007): *Deconstruyendo a Darwin*. Barcelona. Crítica.

SOLANO, A. et al. (2001): "Enfermedades genéticas del ADN mitocondrial humano" en *Salud Pública de México*, 43,2.

SOLARI, A. J. (2000): *Genética Humana* (2ª ed.). Buenos Aires. Médica Panamericana

STERM, C. (1959). "The chromosomes of man" en *An J Hum genet*; 11 (2pt 2),301-14.

SULSTON, J. y FERRY, G. (2003): *El hilo común de la humanidad*. Una historia sobre la ciencia, la política, la ética y el genoma humano. Madrid. Siglo XXI.

SUTTON, W. S. (1902): "On the morphology of the chromosome group in *Brachystola magna*" en *Biological Bulletin*, 4:24-39.

Recuperado en <http://www.esp.org/foundations/genetics/classical/wss-02.pdf>

TAMARIN, R. (1996): *Principios de Genética*. Barcelona. Reverté.

The Nobel Foundation. Nobelprize.org. Consultado el 3, febrero, 2001. En [http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/](http://nobelprize.org/nobel_prizes/)

THUILLIER, P. (1975): *Cómo nació la biología en biología molecular*. Madrid. Ediciones Orbis.

TJIAN, R. (1995): "Mecanismo molecular de control genético", *Investigación y Ciencia*, 223, 20-27.

CANO, F. (2007): "Tres aventuras por el mundo del conocimiento" en *Material para el Programa "Apoyo al último año de la secundaria para la articulación con el Nivel Superior" MECyT - SE - SPU referido a la ciencia*. Buenos Aires. Eudeba.

VENTER, C. J. et al. (2001): "The sequence of the Human Genome" en *Science*, 291,1304-1350.

WALLACE, D. (1997): "Función normal y patológica del ADN mitocondrial" en *Investigación y Ciencia*, 253, 12- 20.

WATSON, J. (2000): *La doble hélice*. Barcelona. Salvat editores.

WATSON, J. Y CRICK, F. (1953): "Molecular Structure of Nucleic Acids. A structure for desoxyribose nucleic acid" en *Nature*, 171,737-738.



Impreso en Buenos Aires, Argentina.  
en el mes de marzo 2012



# SERIE CUADERNOS DE TRABAJO DOCENTES APRENDIENDO EN RED

El sector de Educación de la Oficina de Montevideo-Representación ante el MERCOSUR implementa sus acciones programáticas a nivel nacional y subregional en el marco del Proyecto Regional de Educación para América Latina y el Caribe (EPT/PRELAC 2007).

Los ministros de Educación de la Región han afirmado que la educación es un bien público y llave para la construcción de un mundo más justo, señalando siete temas centrales en sus recomendaciones ([www.unesco.org/Santiago](http://www.unesco.org/Santiago)). Esta nueva serie de publicaciones, que hemos titulado Docentes Aprendiendo en Red (DAR) se nutre selectivamente de las recomendaciones referentes al “derecho de las personas a aprender a lo largo de la vida” desde “enfoques educativos para la diversidad, la inclusión y la cohesión social”. La serie pretende acercar al docente lector materiales de apoyo educativo, elaborados por algunos de sus pares docentes que han sido participantes activos de proyectos innovadores asistidos por UNESCO.

A nivel nacional, implementar estas recomendaciones potencia una de las funciones de la UNESCO que denominamos “laboratorio de ideas”. En ese sentido, la temática de acortar distancias entre las investigaciones universitarias y la formación de docentes en ciencias es uno de nuestros centros de interés programático. Entendemos que trabajar a favor de los educadores de la enseñanza demanda asistir técnicamente en el diseño de proyectores innovadores fundamentalmente en dos aspectos:

a) Requerir y fomentar equipos con profesionales diversos que sean referentes para el tema seleccionado y se encuentren dispuestos a “Aprender juntos” (Delors 1996)

b) Incluir en el diseño instancias colectivas de formación, discusión y planteo de dificultades con-

ceptuales, con el objetivo de estimular aprendizaje y capacidades de producción de materiales escritos por docentes.

Los cuadernos de trabajo “Escritura en Ciencias” en el marco de la serie DAR han sido generados por el Instituto Nacional de Formación Docente del Ministerio de Educación de la Nación Argentina a través de una convocatoria abierta a los Institutos de Formación Docente de gestión pública de todo el país.

Los cuadernos de Escritura en Ciencias se ponen a disposición de formadores y alumnos de la formación docente como materiales de apoyo educativo elaborados por pares que han sido participantes activos como integrantes de equipos de trabajo que llevan adelante de proyectos innovadores asistidos por UNESCO.

El trabajo de los coordinadores ha sido complejo e indispensable para el éxito de este tipo de proyecto. Las contrapartes por países han hecho propio este diseño y ajustado a sus realidades temáticas y de arquitectura (presencial y/o virtual). De esta manera, la temática de Paraguay es “La Escritura en Paraguay”, en Argentina “Escritura en Ciencias” y en Uruguay “Celebrando el Año Internacional de la Química”. Los coordinadores generales, así como los de Escritura han desarrollado un análisis crítico del proceso y han sabido guiar las intrincadas relaciones generadas cuando se “aprende haciendo” contribuyendo a resolver conflictos y logrando el mejor documento posible. En ese sentido, vaya a todos ellos nuestro agradecimiento.

María Paz Echeverriarza  
Profesional del Programa Educación  
UNESCO Montevideo

ISBN 978-950-00-0924-9

