

1. El misterio de la molécula de la vida

1.1 Introducción

El descifrado de la información secreta escondida en el genoma humano, ocurrido en el año 2001, es probablemente uno de los eventos científicos más importantes de la historia de la humanidad. Siendo este descubrimiento un hito tan importante, el lector podría pensar que el mismo nos ha llevado a comprender la biología completa de un organismo humano: ¿cómo funcionamos y por qué? ¿Cómo es que hemos llegado a ser biológicamente tan complejos y por qué? ¿Cómo es que hemos llegado a ser el punto aparentemente culminante de la evolución de la vida sobre la tierra y por qué? Pero ¿esto es así? ¿Hemos podido responder todas esas preguntas con ese descubrimiento? La respuesta es, lamentablemente, no. La lectura del genoma humano proporciona en realidad un mapa de directivas para tratar de descifrar esas preguntas aún más complejas. Es como una guía maestra para empezar a entenderlas. Es como el mapa del tesoro escondido: si primero no tenemos el mapa y entendemos sus jeroglíficos, entonces no podemos empezar su búsqueda.

Así es que explicar la exquisita complejidad de la biología humana es hoy en día un desafío diferente del que era antes del año 2001, simplemente porque hoy tenemos la información completa, es decir, la secuencia completa de ADN del genoma humano.

Sin embargo, este hito no es ni más ni menos que la culminación de una serie de eventos y descubrimientos que comenzaron el siglo pasado.

1.2 El misterio de la molécula que lleva la información de los caracteres heredables

Desde principios del siglo XX, la identificación de la molécula responsable de transmitir los caracteres hereditarios se había transformado en un gran desafío para los biólogos que estaban ansiosos por descubrir las bases

moleculares de la herencia. ¿Por qué los ojos de distintas personas pueden variar entre tonalidades de marrón, azul, verde o negro, por ejemplo? ¿Cuáles son las bases de la variación de caracteres entre individuos de una población?

Los estudios realizados por el monje agustino Gregor Mendel en 1857 establecieron el “modelo particulado” de la herencia. De acuerdo con este modelo, los padres les transmiten unidades heredables discretas a sus hijos que retienen una identidad separada de cada una de ellas. Pero ¿qué tipo de molécula química es esta “unidad heredable discreta” responsable de transmitir los caracteres?

Casi setenta años después, en 1928, se empezó a develar este misterio. Hasta ese momento, los biólogos no se decidían por ninguno de los varios tipos de moléculas diferentes de una célula como candidato responsable, entre ellos: los lípidos, las proteínas y unas moléculas llamadas ácido desoxirribonucleico (ADN) y ácido ribonucleico (ARN).

La discusión empezó a aclararse cuando Frederick Griffith, un médico del ejército británico, realizó un experimento brillante.

Griffith conocía dos tipos distintos de *streptococcus pneumoniae* (neumococos), una bacteria que causa neumonía en los mamíferos, y estaba tratando de hacer una vacuna que sirviera para los soldados del ejército. Cuando las bacterias en cultivos en su laboratorio empezaron a crecer, notó que las colonias generadas tenían dos formas diferentes: lisas (L) o rugosas (R). Los neumococos R eran inocuos, es decir, no causaban enfermedad en ratones, pero los neumococos L eran letales, mataban a los ratones que infectaban.

Cuando tomaba las bacterias L y las mataba con calor antes de infectar a los ratones, éstos sobrevivían al tratamiento. Pero luego Griffith hizo algo notorio, mezcló las bacterias L muertas por el calor con bacterias R vivas y con esta mezcla infectó ratones, los cuales murieron como si hubieran sido infectados con bacterias L vivas (Figura 1).

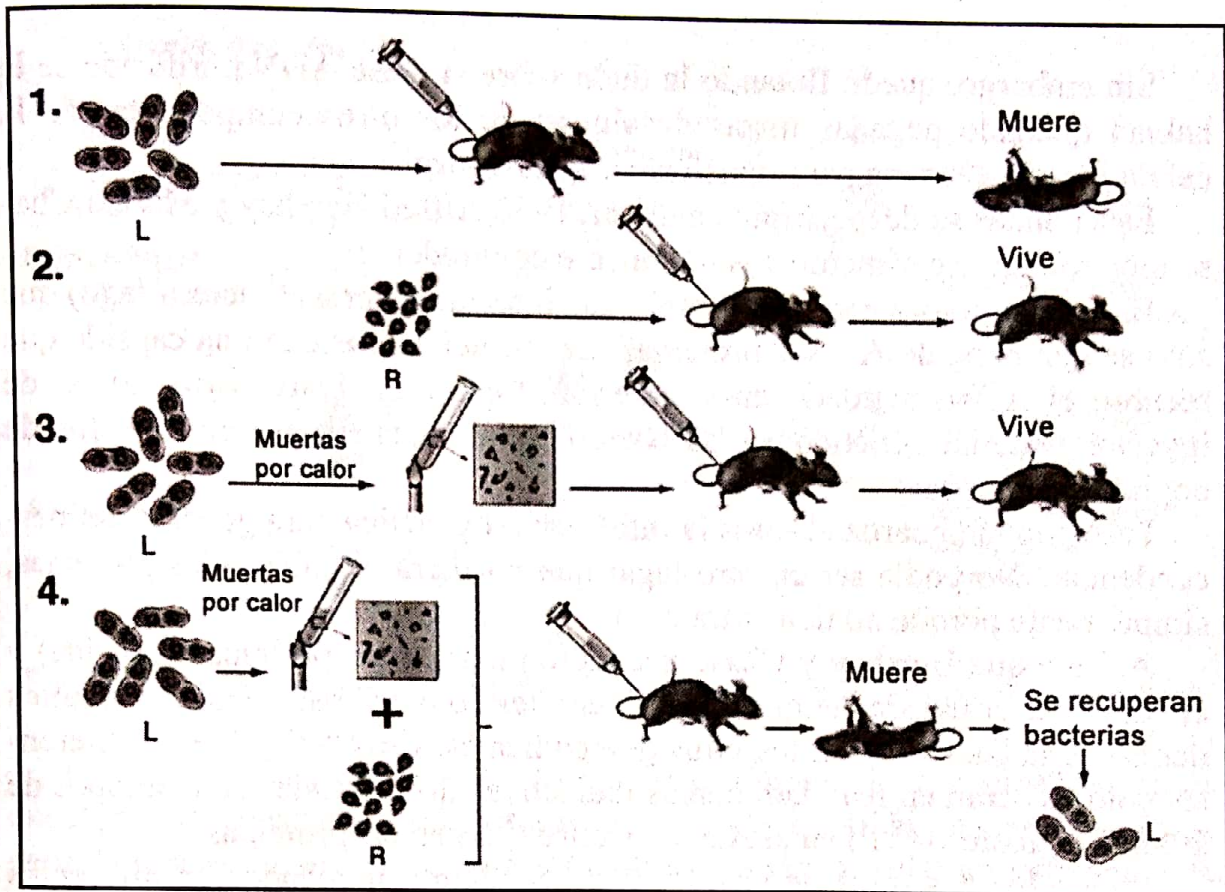


Figura 1: Experimento de Griffith: el “principio” transformante.

Este experimento indicaba claramente que el material genético de las bacterias muertas se había transferido a las bacterias vivas y les había traspasado la capacidad de ser letales. Griffith habló de “principio transformante”. Sin embargo, era aún difícil saber qué tipo de molécula era ese “principio transformante”.

En 1944, Avery, MacLeod y McCarty retomaron el experimento y demostraron que el “principio transformante” era el ácido desoxirribonucleico (ADN). Lo hicieron purificando el principio transformante de las bacterias L, el cual podía estar constituido de proteínas, ADN, ARN o lípidos (grasas). Pusieron en contacto a las bacterias R con el principio aislado. Luego fueron destruyendo uno a uno los sospechosos principales. Destruyeron las proteínas, y las bacterias se transformaron. Destruyeron el ARN y se transformaron. Destruyeron los lípidos y se transformaron. Sólo cuando destruyeron al ADN no lograron transformar a las bacterias R en L.

Sin embargo, quedó flotando la duda sobre si a ese ADN purificado se le habían quedado pegadas trazas de alguno de los otros componentes de la célula y eso alcanzaba para transformar a las bacterias.

Estas dudas se despejaron cuando en 1952 Alfred Hershey y Martha Chase hicieron un experimento absolutamente contundente.

Ellos usaron un virus muy simple que infecta bacterias (bacteriófago) que sólo se compone de ADN y proteínas. Las proteínas forman una cápside que recubre el ADN guardado en el interior (Figura 2). Estos virus, luego de inyectar material genético en las bacterias, las matan y generan cientos de copias de sí mismos.

Pero ¿dónde guarda el virus la información genética para generar esa descendencia? No podía ser en otro lugar que no fuera el ADN o las proteínas, simplemente porque no tiene otra cosa.

Así fue que Hershey y Chase decidieron marcar las proteínas (cápside) y el ADN del virus con “etiquetas de diferentes colores” para poder rastrearlos dentro de la bacteria y en los virus descendientes. Esas “etiquetas de diferentes colores” eran en realidad marcas radiactivas diferenciales con isótopos de átomos de fósforo (^{32}P) en el ADN y azufre (^{35}S) en las proteínas.

Luego los dos tipos de virus (^{32}P y ^{35}S) fueron incubados en diferentes frascos con las bacterias. Al cabo de un tiempo, separaron los virus sobrantes de las bacterias en una licuadora (los virus quedaban flotando, las bacterias se iban al fondo) y analizaron qué había pasado con las “etiquetas” que habían introducido. Para su sorpresa, encontraron que la etiqueta ^{32}P que marcaba al ADN se encontraba dentro de las bacterias y que la que marcaba proteínas, ^{35}S , había quedado flotando con los virus recuperados (cápside vacía). *Primera conclusión importante:* el ADN era el que entraba a las bacterias y no las proteínas.

Luego, y más importante aún, observaron que las bacterias con el ADN viral ^{32}P fueron capaces de generar descendencia de cientos de miles de virus nuevos antes de morir. *Segunda conclusión importante:* el ADN llevaba la información genética para concebir nuevos virus completos y pasar la información a la descendencia. Para mayor claridad, el procedimiento se encuentra esquematizado en la Figura 2.

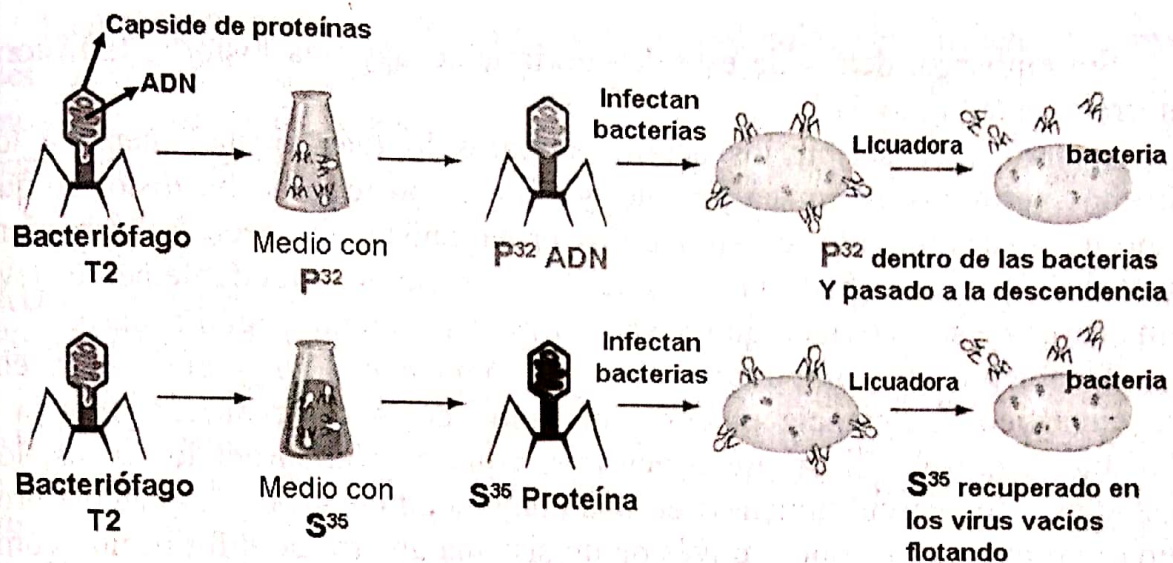


Figura 2: Experimento de Harshey y Chase: el ADN es el material genético.

De esta forma llegaron a la conclusión inequívoca de que el ADN era el encargado de transportar la información genética. El ADN transporta y almacena información así como lo hace el disco rígido de una computadora. El disco rígido tiene toda la información necesaria para lo que una computadora puede ser y hacer. Si lleváramos ese disco rígido a otra computadora, la nueva computadora sería capaz de ser y hacer lo mismo que la anterior. Lo fascinante es pensar que una única molécula química como el ADN pueda transportar y almacenar toda la información para crear un organismo vivo como nosotros, por ejemplo, que hemos creado a las computadoras.

1.3 La estructura de la doble hélice del ADN: un hito en la ciencia y la sociedad modernas

En el año 2003 se celebraron los 50 años del descubrimiento de la estructura del ADN y, en mi opinión personal, pudimos comprobar entonces cuán famosa es esta molécula. Una molécula que trascendió los confines de la ciencia para introducirse en la sociedad en diferentes aspectos, para mezclarse en el vocabulario de la gente común que camina por la calle. Un nombre que aparece mezclado en charlas, oraciones y textos no científicos por doquier.

El descifrado de la estructura química del ADN se lo debemos a dos científicos famosos, James D. Watson y Francis H. C. Crick, premios Nobel en 1962.

Sin embargo, detrás de este descubrimiento hay una historia, la historia secreta de la "Foto 51".

Trataré de describir los acontecimientos lo más ajustadamente a los hechos verídicos como sea posible, ya que como todo hecho histórico que uno no presencié sólo los verdaderos protagonistas conocen la "verdadera historia". "Nuestra historia", la que nos transmite, inevitablemente lleva una carga de subjetividad que puede ser mayor o menor según el caso.

También es muy importante entender cómo se construye el conocimiento científico. La ciencia es como el Linux de la computación, trabaja a "código abierto". El progreso ocurre porque se comparten los datos, los estudios y los descubrimientos en una comunidad científica. La ciencia progresa no en secreto, sino a través de un sistema abierto de información compartida. Es muy importante entender este proceso, pero es también importante entender sus límites. Es una "obligación moral" del científico compartir la información, pero también es "inmoral" compartirla sin su consentimiento.

Dicho esto, veamos la fascinante historia detrás del "secreto de la Foto 51".

Watson (un zoólogo devenido en virólogo) recibió su doctorado en 1948 a la edad de 22 años en Estados Unidos y emigró en 1950 a Europa interesado por estudiar la estructura de grandes moléculas biológicas. Un día de 1951, en una reunión científica celebrada en Nápoles, Watson tuvo la oportunidad de observar una vaga y fantasmal imagen de difracción de rayos X (técnica que usan los físico-químicos para interpretar estructuras de moléculas grandes y complejas) de una molécula de ADN realizada por Maurice Wilkins del King's College de Londres. Ése fue el día del "click" en la cabeza de Watson. "Una llave potencial al secreto de la vida era imposible de empujar afuera de mi mente", afirmaría años después. "Ciertamente debía imaginarme mejor llegando a ser famoso que madurando en un suprimido académico que nunca arriesgaría un pensamiento", concluiría.

Crick (un físico inglés devenido en químico y finalmente en biólogo) tenía por esa época una beca para estudiar Biología y trabajaba en la Universidad de Cambridge en Inglaterra interesado en la estructura de polipéptidos y proteínas.

En 1951, a los 35 años, coincidió con Watson en la unidad de investigación médica de los Laboratorios Cavendish de Cambridge.

Ninguno de los dos tenía el entrenamiento necesario para hacer experimentos de difracción de rayos X de ADN o hacer correctas interpretaciones de los mismos.

La difracción de rayos X no da fotos de las moléculas, sino manchas y borrones que son producidos por los rayos X que se difractan al pasar a través de una molécula cristalizada. Luego, los cristalógrafos usan ecuaciones matemáticas para traducir esos patrones de manchas en la forma tridimensional de la molécula.

Watson y Crick visitaron a Wilkins en el King's College de Londres para la interpretación de los datos de difracción de la molécula deshidratada de ADN (conocida como forma A) y empezaron a construir modelos en tres dimensiones con piezas para tratar de figurarse la estructura en el espacio.

Muy cerca de Wilkins trabajaba la protagonista de nuestra historia, Rosalind Franklin, que obtuvo su doctorado en físico-química en 1945 en la Universidad de Cambridge. Luego estuvo en París perfeccionándose en la técnica de difracción por rayos X. Finalmente, en 1951, retornó a Inglaterra al laboratorio de John Randall, en donde trabajaba también Maurice Wilkins, en el King's College. Randall le encomendó la tarea de dilucidar la estructura del ADN a Rosalind Franklin: ella y Wilkins no se llevaban bien por esa época. Rosalind obtuvo excelentes imágenes de difracción de la molécula hidratada de ADN (conocida como forma B). Entre ellas, una foto conocida simplemente como "Foto 51" (ver Figura 3).

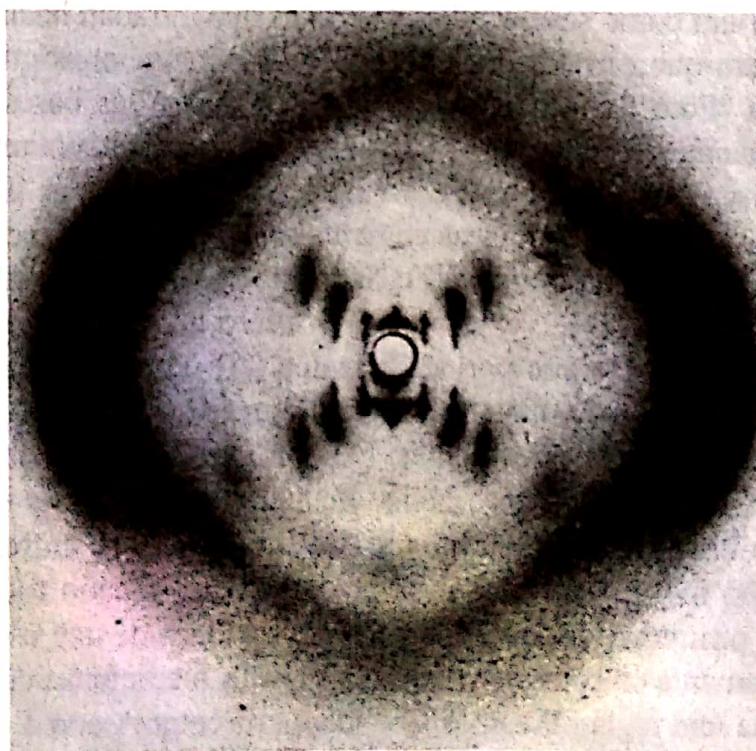


Figura 3: La fotografía 51 de difracción de rayos X de ADN de Rosalind Franklin.

Cuando Randall mostró el trabajo de Rosalind en una reunión interna del King's College, Wilkins decidió, sin el consentimiento de Randall o Rosalind, mostrarle esa "Foto 51" a Watson y a Crick. Tiempo después, Watson comentaría: "al ver esa foto, mis mandíbulas literalmente se cayeron". Watson empezó a darle forma en el espacio con las piezas a su modelo de ADN. Se dio cuenta de que la "X" de la foto indicaba una doble hélice antiparalela. Pero las cosas no le cerraban aún, había varias piezas que no encajaban en su lugar. En una reunión donde estuvieron los cuatro, Watson, Crick, Wilkins y Franklin, ella destruyó prácticamente el modelo de Watson y las sugerencias de Wilkins. Rosalind ya había notado que la molécula de ADN era una doble hélice antiparalela y fue más lejos, sugirió que los fosfatos (uno de sus componentes) apuntaban hacia fuera y las bases nitrogenadas (otro de sus componentes) hacia adentro de la hélice. Watson y Wilkins habían tomado las sugerencias de Linus Pauling y la habían armado al revés. No le creyeron y Rosalind se retiró de la discusión. Años después, en su libro *La doble hélice*, Watson retrataría a Rosalind Franklin simplemente como "Rosy", casi despectivamente.

De todas formas, Crick le sugirió a Watson que finalmente probara lo que sugería Rosalind y así el modelo empezó a encaminarse. El gran problema que faltaba resolver era cómo se apareaban las bases que miraban hacia adentro de la doble hélice para que cerraran los números de las mediciones que había hecho Rosalind de su "Foto 51". Recordemos que son cuatro las bases, adenina (A), citosina (C), guanina (G) y timina (T). Rosalind tampoco tenía la respuesta exacta al rompecabezas pero estaba bien encaminada. Sin embargo, fue la genialidad de Watson y Crick y la sinergia de ideas entre ambos lo que resolvió el problema. La clave estaba en la estructura química de las cuatro bases. Dos de ellas se conocen como pirimidinas, citosina (C) y timina (T), y tienen un solo anillo de carbonos y nitrógenos; las otras dos como purinas, adenina (A) y guanina (G), y tienen dos anillos unidos de carbonos y nitrógenos (ver Figura 4). Esto hace que las purinas ocupen más espacio que las pirimidinas. De esta forma, si dos purinas se enfrentaran hacia el interior de la doble hélice ocuparían mucho más espacio que el medido por la difracción de rayos X, y si dos pirimidinas se enfrentaran entre sí ocuparían mucho menos espacio que el predicho. La solución fue enfrentar una purina con una pirimidina cada vez (como los escalones de una escalera), lo cual entraba perfectamente en el espacio predicho por las mediciones de Rosalind (ver Figura 4). Había una regla más: sólo se podían enfrentar A con T y C con G. La restricción estaba dada por la cantidad de enlaces o puentes de hidrógeno que pueden formar entre ellas: dos en el enfrentamiento de una A con las T y tres en el caso de una C frente a una G.

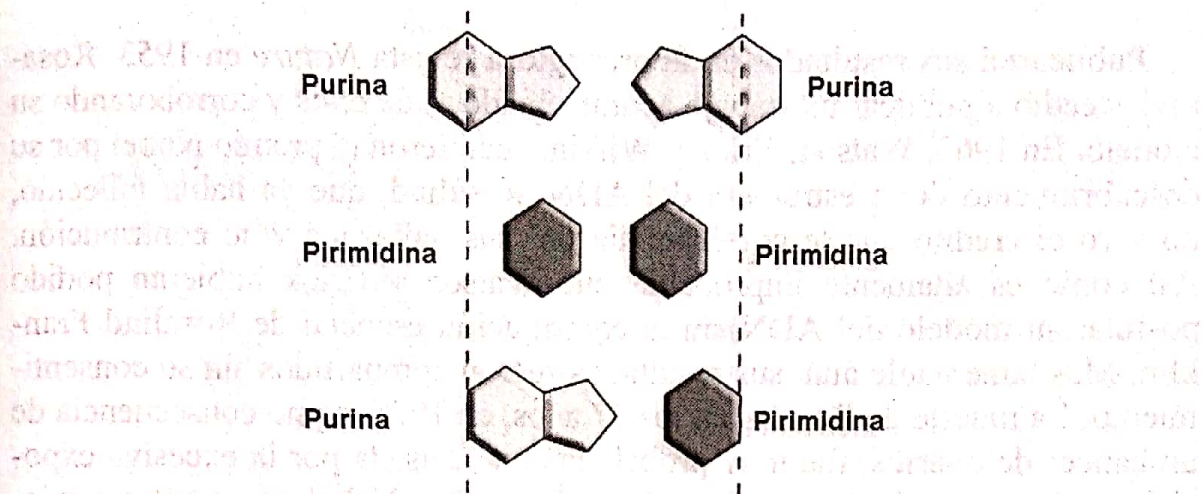


Figura 4: ¿Cómo encajan las bases en la doble hélice?

Finalmente, la famosa estructura de Watson y Crick es la que se muestra en la Figura 5.

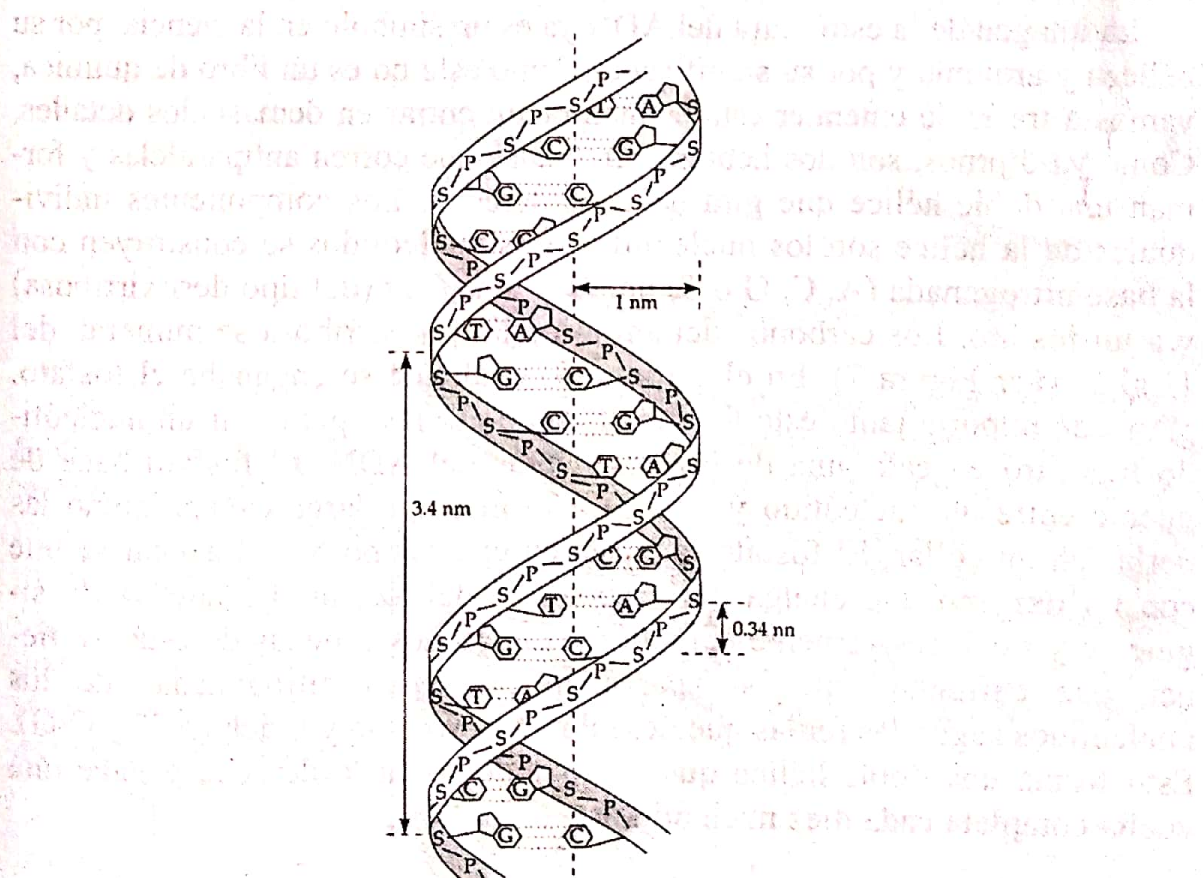


Figura 5: Estructura de la doble hélice de ADN.

Publicaron sus resultados en la prestigiosa revista *Nature* en 1953. Rosalind accedió a publicar un trabajo acompañando al de ellos y corroborando su modelo. En 1962, Watson, Crick y Wilkins recibieron el premio Nobel por su descubrimiento de la estructura del ADN. Rosalind, que ya había fallecido, no tuvo el crédito que le correspondía por sus hallazgos y su contribución. Así como es altamente improbable que Watson y Crick hubieran podido postular su modelo del ADN sin la contribución esencial de Rosalind Franklin. Más lamentable aún, sus resultados fueron compartidos sin su consentimiento. La muerte de Rosalind a los 37 años, en 1958, como consecuencia de un cáncer de ovarios, fue muy probablemente causada por la excesiva exposición a los rayos X durante su trabajo. El premio Nobel no se entrega póstumo, con lo cual sólo nos queda especular si la academia de Ciencias de Suecia hubiera reconocido la importancia de su trabajo en 1962. Más allá de ese no reconocimiento, Rosalind Franklin fue una mente brillante, una excelente científica y persona y está encontrando en la sociedad actual, muchos años después de su muerte, finalmente, el reconocimiento que se merece.

La imagen de la estructura del ADN ya es un símbolo en la ciencia, por su belleza y armonía y por su significado. Como éste no es un libro de química, vamos a tratar de entender esta estructura sin entrar en demasiados detalles. Como ya dijimos, son dos hebras enfrentadas que corren antiparalelas y forman una doble hélice que gira hacia la derecha. Los componentes individuales de la hélice son los nucleótidos. Los nucleótidos se construyen con la base nitrogenada (A, C, G o T) unida a un azúcar (del tipo desoxirribosa) y a un fosfato. Los carbonos del anillo de la desoxirribosa se numeran del 1' al 5' (ver Figura 7). En el carbono 5' es donde se engancha el fosfato. ¿Por qué importa tanto este fosfato? Porque es clave para unir un nucleótido tras otro en cada una de las dos hebras del ADN. El fosfato hace de puente entre un nucleótido y otro para formar una larga cadena como las perlas en un collar. El fosfato que está en el carbono 5' del azúcar se une con un oxígeno que cuelga del carbono 3' del azúcar del nucleótido siguiente y así sucesivamente (Figura 6). Luego dos cadenas de éstas se tienen que enfrentar entre sí apareando las bases nitrogenadas de los nucleótidos según las reglas que descubrieron Watson y Crick (A-T y C-G). Esto forma una doble hélice que va rotando hacia la derecha y hace una vuelta completa cada diez nucleótidos (Figura 6).

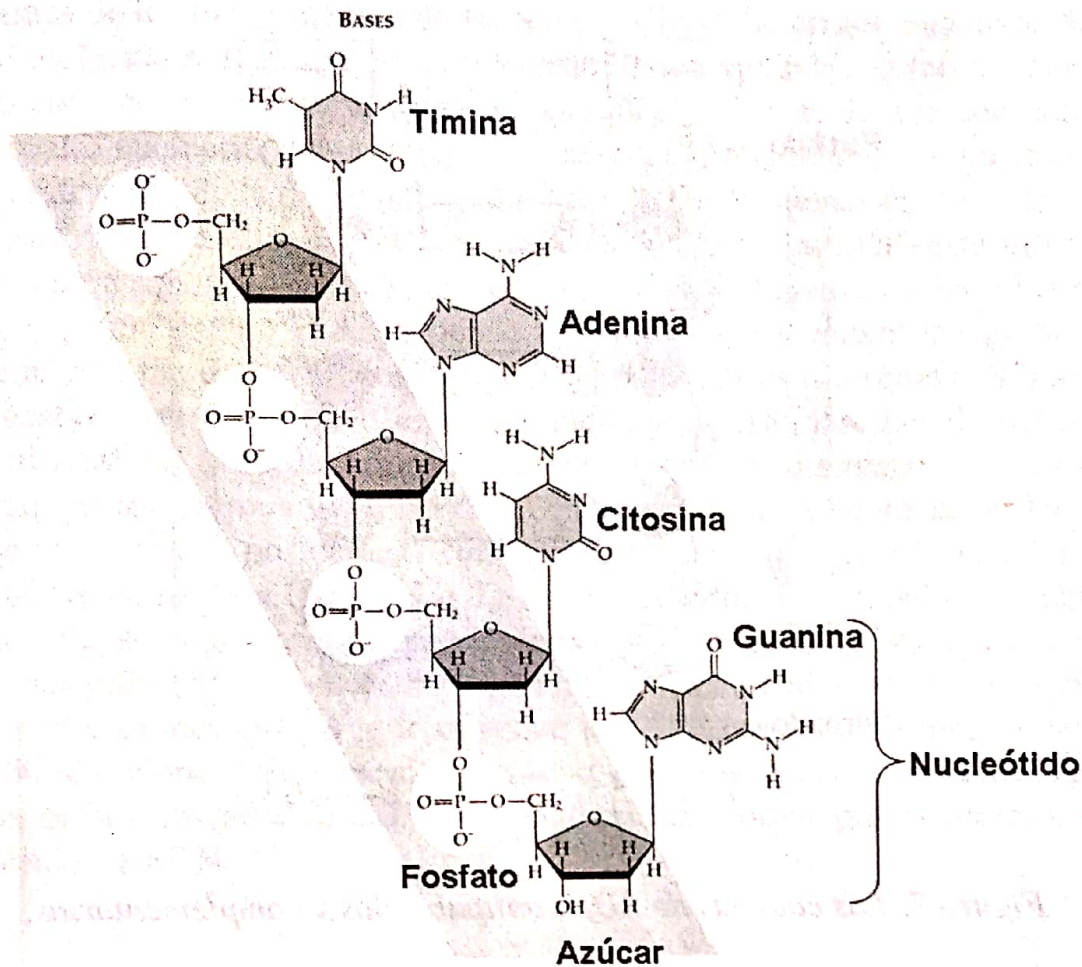


Figura 6: Esquema de una de las dos cadenas del ADN.

Decimos que las dos hebras de la doble hélice se aparean de forma antiparalela. ¿Qué significa esto? Si estamos atentos a la descripción del párrafo de arriba y vemos la Figura 7, observaremos que la cadena empieza con un fosfato colgando en el carbono 5' y termina en la otra punta con el oxígeno del grupo hidroxilo (OH) colgando del carbono 3', a lo cual llamaremos dirección 5' a 3'. Pues bien, la otra cadena de ADN, es decir, su complementaria, corre en el sentido contrario, de 3' a 5'. Así que definiremos dos propiedades muy importantes de la doble hélice de ADN: siempre es complementaria y sus hebras son antiparalelas.

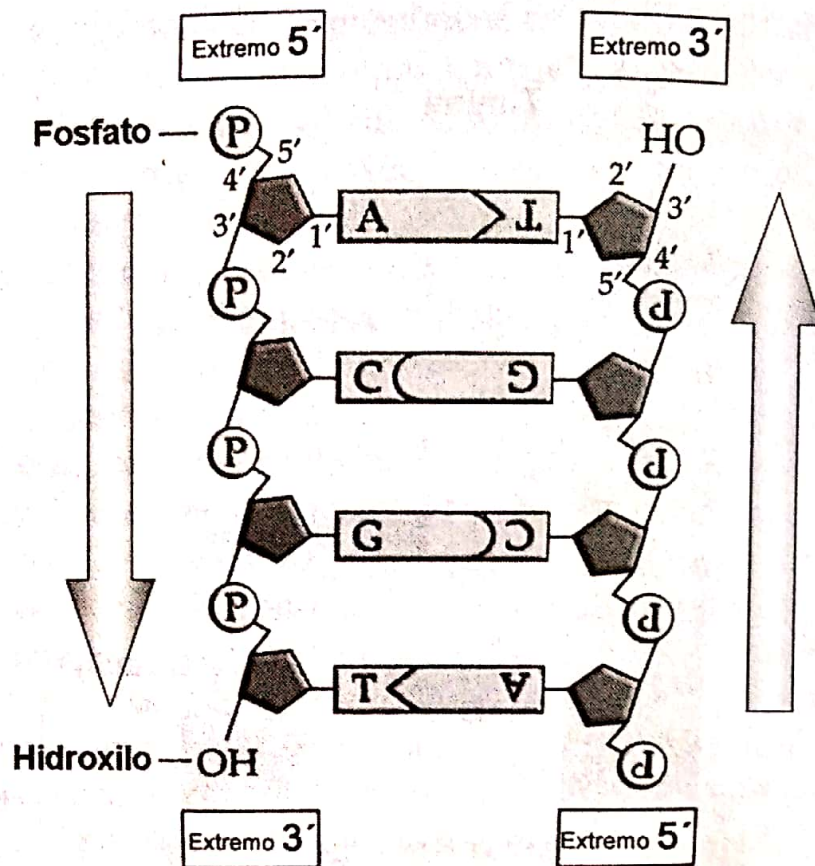


Figura 7: Las cadenas de ADN: antiparalelas y complementarias.

Estas cualidades hacen al ADN muy atractivo para guardar la información genética porque debe, de alguna manera, duplicarse para que las células hijas reciban una copia igual cada una y para que, en definitiva, se pueda pasar la información de padres a hijos.

Watson y Crick notaron esto en su publicación como consecuencia directa de la estructura que estaban presentando: “No se nos ha escapado notar que el apareamiento específico que hemos postulado sugiere inmediatamente un mecanismo de copiado para el material genético”. Como veremos en Capítulo 2 no se habían equivocado.

La sucesión de nucleótidos uno detrás de otro en cada cadena de ADN, el orden en el que se suceden, es lo que conocemos como secuencia del ADN. Secuenciar el ADN del genoma humano es justamente determinar el orden con el que se suceden los nucleótidos (por ejemplo, ACGTACGGAT, etc.). Menuda tarea, ya que el ADN humano tiene 3000 millones de nucleótidos o “letras” en cada una de las dos cadenas. Lo interesante es que al conocer el orden de una de las cadenas automáticamente se conoce el de la otra, por las famosas reglas de apareamiento y complementariedad que ya describimos más arriba.

Antes de los experimentos de Hershey y Chase, se criticó mucho al ADN como molécula portadora de una información tan compleja como la herencia como consecuencia de su aparente simplicidad. Ya se sabía que consistía de sólo cuatro nucleótidos que se repetían, aunque, obviamente, aún no se conocía la estructura de la doble hélice. En cambio, las proteínas eran mucho más diversas en complejidad y tal vez más aptas para llevar una vasta información. Ahora sabemos que esto no fue así, pero vale la pena volver a preguntarnos, ¿cómo es que el ADN puede transportar un volumen tan grande de información tan compleja con sólo cuatro nucleótidos diferentes? Si bien la respuesta a esta pregunta es en sí compleja, y la terminaremos de contestar casi al final del libro, podemos centrarnos ahora en una respuesta más elemental. Si tomáramos un segmento cualquiera de una hebra de ADN, supongamos cinco posiciones consecutivas, cada posición tiene cuatro posibilidades de letra (A, C, G o T). De este modo, la cantidad de combinaciones que se podría armar sería de $4 \times 4 \times 4 \times 4 \times 4$, o sea 4^5 , o sea 1024 combinaciones diferentes con tan sólo 5 posiciones. Imaginemos ahora la cantidad de combinaciones que se podrían armar con 150 posiciones consecutivas ¿y con 3000 millones? El número es tan vasto que escapa a nuestra imaginación, y ésa es la cantidad de información que puede guardar potencialmente una molécula de ADN.

1.4 El paradigma de la biología molecular: el dogma central

No tenemos dudas de que el ADN es la molécula de la vida y que puede guardar una enorme cantidad de información que se transmite de padres a hijos. Ahora bien, ¿cómo es que esa información guardada en el ADN (*genotipo*) se traduce en caracteres visibles (*fenotipo*)?

Las proteínas son las mayores responsables de los fenotipos y en el ADN se guarda la información. ¿Cómo se logra que esta información se traduzca en proteínas? Profundizaremos esta respuesta en los capítulos siguientes con mucho detalle, pero hagamos un anticipo resumido:

Mucho tiempo antes de que se estableciera que el ADN era el material genético, se sabía que se encontraba aislado en un sector especializado de la célula rodeado por una membrana tapizada por pequeños poros, el núcleo.

Las proteínas, en cambio, son fabricadas en el citoplasma de las células, o sea que se encuentran en compartimentos físicamente separados.

El paradigma del “dogma central” de la biología molecular fue postulado por Francis Crick en 1958. Un paradigma es un ejemplo o patrón con el que todo el mundo concuerda y que describe algún concepto. El dogma central explica cómo fluye la información desde el ADN hacia las proteínas.

Como el ADN y la fábrica de proteínas están separados, se necesita que alguien haga una transcripción (usando el mismo lenguaje) y lleve la información hasta la fábrica, una especie de mensajero. Una vez en la fábrica hace falta una traducción (cambiar el lenguaje) para generar proteínas con la información que vino desde el ADN.

De esta forma, la información fluye desde el ADN hacia un mensajero (ARN) y desde el mensajero hacia la fábrica de proteínas. El ADN permanece resguardado en el núcleo y se autoduplica para perpetuar la información en las sucesivas generaciones (ver Figura 8). Además, el dogma central presenta otra ventaja porque indica que a partir de una única porción de ADN se pueden generar cientos de copias del mensajero para generar cientos de proteínas iguales y así amplificar la información.

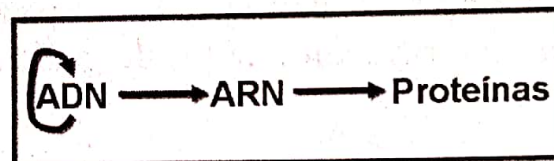


Figura 8: Dogma central.

En el Capítulo 4 veremos los mecanismos por los cuales la información se transcribe en el mismo lenguaje y se traduce usando un lenguaje diferente.

En la Figura 9 se presenta un resumen de los hechos históricos que llevaron hasta el descifrado completo del genoma humano.

Hechos remarcables hacia el descifrado del genoma humano

- **1857**, Gregor Mendel habla del “modelo particulado” de la herencia de caracteres.
- **1928**, Frederick Griffith habla de “principio transformando”, un compuesto químico presente en bacterias letales que volvía letales a las que no lo eran.
- **1944**, Avery, MacLeod, Mc Carty aíslan el “principio transformante” y lo identifican como ácido ácido (ADN).
- **1952**, Alfred Hershey y Martha Chase despejan las dudas: es el ADN el que transporta la información genética.
- **1953**, James Watson y Francis Crick descifran la estructura química del ADN, la molécula de la vida, basándose en experimentos de Rosalind Franklin y Maurice Wilkins.
- **1975**, Fred Sanger idea un método para conocer la secuencia (el orden) de los cuatro nucleótidos en una cadena de ADN.
- **1990**, se establece un consorcio mundial para determinar la secuencia completa de los 3.000 millones de nucleótidos que componen el genoma humano.
- **2001**, Francis Collins y Craig Venter anuncian que el “experimento más grande de la humanidad” había finalizado. El genoma humano estaba descifrado.

Figura 9: Hechos remarcables hacia el descifrado del genoma humano.