

INSTITUTO DE ESPAÑA; **Error! Marcador no definido.**  
REAL ACADEMIA DE FARMACIA

---

**HISTORIA "NOBELADA" DE LA GENÉTICA:  
CONCEPTO Y MÉTODO**

**DISCURSO DEL  
EXMO. SR. D. JUAN-RAMÓN LACADENA CALERO**

**LEÍDO EN LA SESIÓN DEL 14 DE DICIEMBRE DE 1995  
PARA SU INGRESO COMO ACADÉMICO DE NÚMERO**

**Y CONTESTACIÓN DEL  
EXMO. SR. D. EMILIO FERNÁNDEZ-GALIANO FERNÁNDEZ**



¡Error! Marcador no definido.**SUMARIO**

**PRESENTACIÓN**

**DISCURSO DE INGRESO:**

**HISTORIA “NOBELADA” DE LA GENÉTICA: CONCEPTO Y MÉTODO .**

1. Introducción
2. El concepto de Genética
3. La aportación de los premios Nobel al contenido formal de la Genética
  - 3.1. ¿Qué son los genes?
  - 3.2. ¿Cómo se organizan y transmiten los genes?
  - 3.3. ¿Cómo y cuándo se expresan los genes?
  - 3.4. ¿Cómo cambian los genes?
  - 3.5. ¿Cuál es el destino de los genes?
4. El método científico en Genética y los premios Nobel
  - 4.1. La pregunta
  - 4.2. El material biológico
  - 4.3. La técnica
5. Areas específicas de investigación en Genética y premios Nobel
  - 5.1. Inmunogenética
  - 5.2. Genética y Cáncer
  - 5.3. Genética aplicada a la Mejora de Plantas
6. Herejías genéticas y premios Nobel
7. Epílogo

Referencias

**CONTESTACION DEL ACADÉMICO DE NÚMERO EXMO. SR. D.  
EMILIO FERNÁNDEZ-GALIANO FERNÁNDEZ**

Exmo. Sr. Director  
Exmas. Sras. Académicas  
Exmos. Sres. Académicos  
Señoras y Señores:

Puede parecer que es de obligado cumplimiento protocolario dedicar las primeras palabras de mi intervención a mostrar públicamente mi agradecimiento a esta docta Corporación por haberme aceptado en su seno como Académico de Número. Sinceramente, mi gratitud nace de lo más profundo de mí. Gratitud que además quiero personalizar en los Exmos. Sres. Académicos D. Angel Santos Ruiz, D. Salvador Rivas Martínez y D. Emilio Fernández-Galiano Fernández que avalaron mis posibles méritos presentando mi candidatura. A este último quiero agradecer especialmente que haya aceptado realizar la contestación a mi discurso.

La alegría y emoción que tengo en este momento es doble: por un lado, la satisfacción personal de recibir un nombramiento que me honra; por otro lado, porque estoy convencido que en la decisión de mi elección influyó el área de conocimiento -la Genética- a la que pertenezco y he dedicado en exclusividad mi vida profesional desde que terminé mi carrera de Ingeniero Agrónomo en 1961 y que -tras un periodo de ocho años en la Estación Experimental de Aula Dei, C.S.I.C., Zaragoza- he materializado en mi actividad académica docente e investigadora en el Departamento de Genética de la Facultad de Biología de la Universidad Complutense de Madrid durante veintiocho años, primero como Profesor Agregado (tres años) y luego como Catedrático y Director del Departamento. En mi trayectoria profesional, no sólo me ha interesado la investigación citogenética del comportamiento de los cromosomas, sino que en los últimos años he procurado reflexionar sobre los aspectos bioéticos relacionados con el progreso de la Genética

En Julio de 1946, una Orden Ministerial autorizó a la Academia de Farmacia a dar entrada en su seno a cultivadores de Ciencias Afines, a cuyo grupo corresponde la vacante para la cual he sido elegido. Todos somos conscientes de la importancia que tiene la Genética en el campo de las ciencias de la vida en general y de las ciencias biomédicas en particular. La Biología, la Agricultura, la Veterinaria, la Medicina y la Farmacia necesitan de la Genética. En el acto que aquí hoy nos reúne, me parece importante poner de manifiesto que, en términos de política académica y exceptuando por supuesto dedicaciones personales concretas, la

Universidad española ha cometido el error durante muchos años de no incluir la Genética con el rango académico necesario en las Facultades de Medicina y de Farmacia. Afortunadamente, la situación está empezando a cambiar con los nuevos planes de estudio. En el caso de la licenciatura de Farmacia, ya se ha incluido la enseñanza de la Genética repartida entre varias asignaturas obligatorias ("Genética" en primer curso, "Genética molecular e Ingeniería genética" en segundo y tercer curso). Ha sido una feliz coincidencia que desde el curso 1993-94 el Departamento de Genética de la Facultad de Biología y yo personalmente estamos implicados en la enseñanza de la "Genética" de primer curso en la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense; y aunque las horas lectivas (créditos) asignadas nos parecen insuficientes, sin embargo somos optimistas y pensamos que por algo se empieza.

A la hora de los agradecimientos quiero, una vez más, manifestar mi gratitud a mi esposa Isabel. En todos los libros que he escrito hay una dedicatoria especial para ella, sin cuyo estímulo constante y ayuda material de su tiempo y esfuerzo no hubiera hecho ni llegado a reunir los méritos que esta docta Corporación consideró adecuados para admitirme en su seno. Los varios miles de páginas impresas que haya podido escribir yo a lo largo de mi vida los ha materializado ella previamente. Sirvan pues, Isabel, estas palabras como dedicatoria de esta publicación con el cariño acumulado de casi cuarenta años de vida compartida.

Como sucede en este caso, en el que se cubre una plaza vacante por el fallecimiento de quien la ocupaba, mi alegría personal de este momento va acompañada de la tristeza por la desaparición del Profesor Alfredo Carrato Ibáñez, a quien admiraba y quería. Estoy seguro que el afecto era mutuo, entre otras cosas porque los dos nacimos en Zaragoza y en muchas ocasiones actuábamos igual porque, como comentábamos, "ejercemos de aragoneses". Además, a nivel personal no puedo olvidar que el Profesor Carrato fue miembro del tribunal que juzgó el concurso de traslado de la Cátedra de Genética de la Facultad de Ciencias Biológicas que había quedado vacante por renuncia a la misma de su titular el Profesor Enrique Sánchez-Monge. Por aquellos días, el Profesor Carrato estaba convaleciente de una operación de sinusitis y, sin embargo, no renunció a actuar como juez de dicho concurso porque, como representante de la

Facultad de Ciencias Biológicas, tenía especial interés en formar parte de dicho tribunal. Afortunadamente para mí, obtuve el voto unánime del tribunal a pesar de que competía con otros dos catedráticos con mayor antigüedad en el escalafón.

Alfredo Carrato nació en Zaragoza el 20 de Octubre de 1911, donde cursó la carrera de Medicina, obteniendo el Premio Extraordinario Fin de Carrera 1933. Su primera actividad profesional fue como médico rural en Agón, Fráscano y Visimbre (Zaragoza), volviendo a Zaragoza para ocupar una plaza de médico en la Casa de Socorro, tras pasar una breve estancia en Logroño. A partir de 1936 marchó a Madrid para realizar el Doctorado en el Instituto Cajal y también cursó la carrera de Ciencias Naturales.

La dilatada vida académica, docente e investigadora, del Prof. Carrato se puede resumir en los siguientes puntos. Fue Doctor en Medicina y Cirugía y Doctor en Ciencias Naturales. Paralelamente, y en correspondencia a su formación, fue Catedrático de Histología y Anatomía Patológica en la Facultad de Medicina de Salamanca (1942) y, tras nueva oposición, Catedrático de Histología y Embriología General en la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense (1967) y, también por oposición, fue Catedrático de Histología Vegetal y Animal en la Facultad de Ciencias (Biológicas) de la Universidad Complutense (1957). Finalmente fue obligado a elegir entre una de las dos cátedras que por oposición había logrado en la Universidad Complutense y optó por quedarse en la Facultad de Biología.

Ocupó cargos de responsabilidad en la Universidad: Decano de la Facultad de Medicina en Salamanca y Vicerrector en la Complutense, formando parte del equipo rectoral del Profesor Royo-Villanova.

Fue el Prof. Carrato miembro de numerosas asociaciones científicas y tuvo diversos nombramientos honorarios de los que sólo mencionaré, porque estoy seguro que a él le honraron en forma especial como buen zaragozano que era, el de Miembro de Honor de la Institución Fernando el Católico (1961) y el de Académico de Honor de la Real Academia de Medicina de Zaragoza (1984), además del nombramiento de Aragonés del Año que le otorgó en 1983 la Diputación Provincial de Zaragoza.

Su labor de investigación estuvo repartida en dos frentes: por un lado, fuertemente vinculada al Instituto Cajal, C.S.I.C., Madrid -donde fue Becario, Ayudante, Jefe de Sección y Director- y, por otro lado, en la Universidad. Su formación científica en la continuación de la escuela de Cajal se materializó en más de medio centenar de tesis doctorales dirigidas sobre el sistema nervioso en muy diversas especies animales.

Desde el punto de vista docente, es importante resaltar su contribución decisiva a la introducción en España de la enseñanza de la "Organografía Microscópica Animal" y de la "Anatomía Comparada del Sistema Nervioso.

El Profesor Carrato era "Don Alfredo" para los que trabajaban con él en la investigación o en la docencia, lo cual se traduce en que le consideraban su Maestro, con mayúscula. Ciertamente que formó escuela, como lo demuestra el gran número de Catedráticos y Profesores de Histología y de Biología Celular de la Universidad española que fueron discípulos suyos. Una buena prueba de ello es que en el Acto Académico In Memoriam, que tuvo lugar en la Facultad de Biología de la Universidad Complutense el 21 de Octubre de 1994, había representantes de diecinueve universidades. Cito entre sus discípulos, por la amistad que me une a ellos, a los Profesores Benjamín Fernández Ruiz y Agustín Zapata González.

Además de su vocación científica, el Prof. Carrato era amante de la música. Tengo entendido que durante la carrera cursó también estudios musicales en el Conservatorio de Zaragoza, actuando de concertista en los viejos cafés cantantes y en las primeras salas de cine mudo de esta ciudad, como eran los Doré, Ena Victoria y Pignatelli.

El perfil humano de Alfredo Carrato queda de manifiesto al leer la docena de intervenciones que se produjeron en el acto académico que se celebró en su memoria en la Facultad de Biología. Todas ellas avalan sus cualidades humanas. Transcribo aquí la descripción que hacía de él uno de sus primeros discípulos, hoy catedrático en la Universidad de Murcia. Dice así: "Era Don Alfredo un hombre sencillo (nada vanidoso), muy inteligente, muy trabajador, generoso (nada egoísta), sumamente amable, comprensivo, paciente, comunicativo, sincero, con gran sentido común, ecuánime, prudente, buen consejero, amigo fiel, un buen padre de familia y un

hombre consecuente con su fe". ¿Qué más se puede pedir? Por eso, cuando se me propuso como candidato para ocupar la vacante que había producido su fallecimiento el 25 de Julio de 1994, me sentí ilusionado ante la posibilidad de ser su sucesor en la posesión de la Medalla número 1, del grupo de Ciencias Afines, de esta Real Academia de Farmacia del Instituto de España. Esa ilusión se está haciendo hoy realidad.

Con el recuerdo emocionado del Profesor D. Alfredo Carrato Ibáñez, paso a exponer mi discurso de ingreso que versa sobre "Historia «nobelada» de la Genética: Concepto y método".



# HISTORIA "NOBELADA" DE LA GENÉTICA: CONCEPTO Y MÉTODO

## ¡Error! Marcador no definido.1. INTRODUCCIÓN

Aunque el título de este discurso de ingreso en la Real Academia de Farmacia del Instituto de España pudiera parecer algo frívolo o superficial, nada más lejos de la realidad y de mi intención puesto que el objeto del presente trabajo es realizar un estudio de cómo el concepto y el método de la Genética han quedado reflejados en su propia historia científica puesta de manifiesto en los 26 premios que la Fundación Nobel ha concedido desde su creación hasta la fecha a un total de 55 científicos por sus aportaciones relevantes en el campo de la Genética o materias afines.

La Fundación Nobel, con sede en Estocolmo, fue fundada en 1896 por disposición testamentaria de Alfred Nobel (1833-1896) con las rentas de su fortuna, estimada en unos 31 millones de coronas suecas. Los premios de Fisiología y Medicina son concedidos por el Real Instituto Karolinska de Estocolmo, los de Física y los de Química por la Real Academia de Ciencias de Estocolmo, los de Literatura por la Academia Sueca, los de la Paz por una comisión de cinco miembros nombrados por el Parlamento Noruego y los de Economía, creados por el Banco de Suecia, son supervisados por la Academia de Ciencias. Los premios empezaron a concederse en 1901 y los de Economía desde 1969. La ceremonia de entrega de los premios tiene lugar el día 10 de Diciembre, coincidiendo con el aniversario de la muerte de Alfred Nobel.

En el Cuadro 1 se hace una relación cronológica de los premios Nobel que, más o menos directamente, tienen que ver con la investigación genética o temas biológicos afines a ella. De los 26 premios considerados, 20 corresponden a Fisiología y Medicina, 5 a Química y 1 de la Paz. En el Cuadro 2 se incluye la relación de los 55 científicos galardonados que serán objeto del presente estudio (44 de Fisiología y Medicina, 10 de Química y 1 de la Paz). Los discursos de recepción de los premios (ver Cuadro 3) están recogidos en la colección "Les Prix Nobel" *Nobel Foundation, Stockholm*, y en la colección en versión inglesa "Nobel

lectures", *Elsevier Publishing Company, Amsterdam-New York*. La revista *Science* también publica los discursos en versión inglesa.

*Cuadro 1*

**PREMIOS NOBEL RELACIONADOS CON LA GENETICA**

(Todos ellos de Fisiología y Medicina, salvo indicación expresa)

---

- 1910 ALBRECHT KOSSEL: "por sus trabajos sobre las sustancias albuminoides, incluyendo las nucleínas, que han contribuido al conocimiento de la química de las células"
- 1930 KARL LANDSTEINER: "por sus descubrimientos de los grupos sanguíneos de la especie humana"
- 1933 THOMAS H. MORGAN: "por su descubrimiento sobre la función de los cromosomas como portadores de la herencia"
- 1946 HERMANN J. MULLER: "por su descubrimiento de la inducción de mutaciones mediante radiación con rayos X"
- 1958 GEORGE W. BEADLE y EDWARD L. TATUM: "por su descubrimiento de que los genes actúan regulando sucesos químicos definidos"  
JOSHUA LEDERBERG: "por sus descubrimientos relacionados con la recombinación genética y la organización del material genético en las bacterias"
- 1959 SEVERO OCHOA y ARTHUR KORNBERG: "por su descubrimiento de los mecanismos en la síntesis biológica de los ácidos ribonucleico y desoxirribonucleico"
- 1960 PETER MEDAWAR y FRANK MACFARLANE BURNET: "por su descubrimiento de la tolerancia inmunológica adquirida"
- 1962 JAMES D. WATSON, FRANCIS H. C. CRICK y MAURICE H. F. WILKINS: "por sus descubrimientos en relación con la estructura molecular de los ácidos nucleicos y su significación para la transmisión de la información en la materia viva"
- 1965 FRANCOIS JACOB, JACQUES MONOD y ANDRE LWOFF: "por sus descubrimientos en relación con el control genético de la síntesis de enzimas y virus"
- 1968 ROBERT W. HOLLEY, HAR GOBIND KHORANA y MARSHALL W. NIRENBERG: "por su interpretación del código genético y su función en la síntesis de proteínas"
- 1969 MAX DELBRÜCK, SALVADOR E. LURIA y ALFRED D. HERSHEY: "por sus descubrimientos sobre el ciclo de reproducción de los virus y el papel del material genético en las

bacterias y los virus"

- 1970 NORMAN E. BORLAUG: "por su contribución a la revolución verde". (Paz)
- 1972 RODNEY R. PORTER y GERALD M. EDELMAN: "por sus descubrimientos sobre la estructura química de los anticuerpos". (Química)
- 1975 RENATO DULBECCO, DAVID BALTIMORE y HOWARD M. TEMIN: "por sus descubrimientos en relación con la interacción entre los virus tumorales y el material genético en la célula"
- 1978 WERNER ARBER, HAMILTON O. SMITH y DANIEL NATHANS: "por su descubrimiento de las endonucleasas de restricción y su aplicación en genética molecular"
- 1980 GEORGE SNELL, BARUJ BENACERRAF y JEAN DAUSSET: "por sus descubrimientos sobre las estructuras de las superficies celulares genéticamente determinadas que rigen las reacciones inmunológicas"
- 1980 PAUL BERG: "por sus estudios fundamentales de bioquímica sobre ácidos nucleicos, en particular el ADN recombinante". (Química)  
WALTER GILBERT y FREDERICK SANGER: "por sus contribuciones a la determinación de las secuencias de bases en los ácidos nucleicos". (Química)
- 1982 AARON KLUG: "por su desarrollo de la microscopía electrónica cristalográfica y sus descubrimientos sobre la estructura de complejos de ácidos nucleicos-proteínas biológicamente importantes". (Química)
- 1983 BARBARA McCLINTOCK: "por su descubrimiento de estructuras móviles en la masa genética"
- 1984 NIELS K. JERNE: "por sus teorías sobre la especificidad en el desarrollo y control de los sistemas de inmunidad"  
GEORGE J. F. KÖHLER y CESAR MILSTEIN: "por su descubrimiento del principio que rige la producción de anticuerpos monoclonales"
- 1987 SUSUMU TONEGAWA: "por su descubrimiento del fundamento

- genético de la formación de una rica variedad de anticuerpos"
- 1989 J. MICHAEL BISHOP y HAROLD E. VARMUS: "por sus descubrimientos sobre el origen celular de los oncogenes retrovirales"
- 1989 SIDNEY ALTMAN y THOMAS R. CECH: "por su descubrimiento de las propiedades catalíticas del ácido ribonucleico (ARN)". (Química)
- 1993 RICHARD J. ROBERTS y PHILLIP A. SHARP: "por el descubrimiento de los genes discontinuos"
- 1993 KARY B. MULLIS: "por su invención del método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR)". (Química)
- MICHAEL SMITH: "por su contribución fundamental al establecimiento de la mutagénesis dirigida mediante oligonucleótidos y su desarrollo para estudios de proteínas". (Química)
- 1995 EDWARD B. LEWIS, CHRISTIANE NÜSSLEIN-VOLHARD y ERICK F. WIESCHAUS: "por sus descubrimientos sobre el control genético del desarrollo temprano del embrión"
-

*Cuadro 2*

**CIENTIFICOS GALARDONADOS CON EL PREMIO NOBEL  
POR SU TRABAJO EN EL CAMPO DE LA GENETICA O  
TEMAS AFINES**

---

Sidney ALTMAN (*1939)	Química, 1989
Werner ARBER (*1929)	Fisiología y Medicina, 1978
David BALTIMORE (*1938)	Fisiología y Medicina, 1975
George W. BEADLE (*1903 - _1989)	Fisiología y Medicina, 1958
Baruj BENACERRAF (*1920)	Fisiología y Medicina, 1980
Paul BERG (*1926)	Química, 1980
J. Michael BISHOP (*1936)	Fisiología y Medicina, 1989
Norman E. BORLAUG (*1914)	Paz, 1970
Frank Macfarlane BURNET (*1899 - _1985)	Fisiología y Medicina, 1960
Thomas R. CECH (*1947)	Química, 1989
Francis H. C. CRICK (*1916)	Fisiología y Medicina, 1962
Jean DAUSSET (*1916)	Fisiología y Medicina, 1980
Max DELBRÜCK (*1906 - _1981)	Fisiología y Medicina, 1969
Renato DULBECCO (*1914)	Fisiología y Medicina, 1975
Gerald M. EDELMAN (*1929)	Química, 1972
Walter GILBERT (*1932)	Química, 1980
Alfred D. HERSHEY (*1908)	Fisiología y Medicina, 1969



Robert W. HOLLEY (*1922 - _1993)	Fisiología y Medicina, 1968
Francois JACOB (*1920)	Fisiología y Medicina, 1965
Niels K. JERNE (*1911)	Fisiología y Medicina, 1984
Har Gobind KHORANA (*1922)	Fisiología y Medicina, 1968
Aaron KLUG (*1926)	Química, 1982
George J. F. KÖHLER (*1946 - _1995)	Fisiología y Medicina, 1984
Arthur KORNBERG (*1918)	Fisiología y Medicina, 1959
Albrecht KOSSEL (*1853 - _1927)	Fisiología y Medicina, 1910
Karl LANDSTEINER (*1868 - _1943)	Fisiología y Medicina, 1930
Joshua LEDERBERG (*1925)	Fisiología y Medicina, 1958
Edward B. LEWIS (*1918)	Fisiología y Medicina, 1995
Salvador E. LURIA (*1912 - _1991)	Fisiología y Medicina, 1969
André LWOFF (*1902 - _1994)	Fisiología y Medicina, 1965
Barbara McClINTOCK (*1902 - _1992)	Fisiología y Medicina, 1983
Peter B. MEDAWAR (*1915 - _1987)	Fisiología y Medicina, 1960
César MILSTEIN (*1927)	Fisiología y Medicina, 1984
Jacques MONOD (*1910 - _1976)	Fisiología y Medicina, 1965
Thomas H. MORGAN (*1866 - _1945)	Fisiología y Medicina, 1933
Hermann J. MULLER (*1890 - _1967)	Fisiología y Medicina, 1946
Kary B. MULLIS (*1944)	Química, 1993
Daniel NATHANS (*1928)	Fisiología y Medicina, 1978

Marshall W. NIRENBERG (*1927)	Fisiología y Medicina, 1968
Christiane NÜSSLEIN-VOLHARD (*1942)	Fisiología y Medicina, 1995
Severo OCHOA (*1905 - _1993)	Fisiología y Medicina, 1959
Rodney R. PORTER (*1917 - _1985)	Química, 1972
Richard J. ROBERTS (*1943)	Fisiología y Medicina, 1993
Frederick SANGER (*1918)	Química, 1980
Phillip A. SHARP (*1943)	Fisiología y Medicina, 1993
Hamilton O. SMITH (*1931)	Fisiología y Medicina, 1978
Michael SMITH (*1932)	Química, 1993
George SNELL (*1903)	Fisiología y Medicina, 1980
Edward L. TATUM (*1909 - _1975)	Fisiología y Medicina, 1958
Howard M. TEMIN (*1934 - _1994)	Fisiología y Medicina, 1975
Susumu TONEGAWA (*1939)	Fisiología y Medicina, 1987
Harold E. VARMUS (*1939)	Fisiología y Medicina, 1989
James D. WATSON (*1928)	Fisiología y Medicina, 1962
Eric F. WIESCHAUS (*1947)	Fisiología y Medicina, 1995
Maurice H. F. WILKINS (*1916)	Fisiología y Medicina, 1962

---

Cuadro 3

**DISCURSOS DE RECEPCION DE LOS PREMIOS NOBEL**  
**(Nobel Conference)**

---

- ALTMAN, S.- "Enzymatic cleavage of RNA by RNA"
- ARBER, W.- "Promotion and limitation of genetic exchange"
- BALTIMORE, D.- "Viruses, polymerases, and cancer"
- BEADLE, G.W.- "Genes and chemical reactions in *Neurospora*"
- BENACERRAF, B.- "The role of MHC gene products in immune regulation and its relevance to alloreactivity"
- BERG, P.- "Dissections and reconstructions of genes and chromosomes"
- BISHOP, J.M.- "Retroviruses and oncogenes II"
- BORLAUG, N.E.- "The green revolution, peace, and humanity"
- BURNET, F.M.- "Immunological recognition of self"
- CECH, T.R.- "Self-splicing and enzymatic activity of an intervening sequence RNA from *Tetrahymena*"
- CRICK, F.H.C.- "On the genetic code"
- DAUSSET, J.- "Concepts passés, présents et futurs sur le complex majeur d'histocompatibilité de l'homme (HLA)"
- DELBRÜCK, M.- "A physicist's renewed look at biology - Twenty years later"
- DULBECCO, R.- "From the molecular biology of oncogenic DNA viruses to cancer"
- EDELMAN, G.M.- "Antibody structure and molecular immunology"
- GILBERT, W.- "DNA sequences and gene structure"
- HERSHEY, A.D.- "Idiosyncrasies of DNA structure"
- HOLLEY, R.W.- "Alanine transfer RNA"
- JACOB, F.- "Genétique de la cellule bacterienne"
- JERNE, N.K.- "The generative grammar of the immune system"

KHORANA, H.G.- "Nucleic acid synthesis in the study of the genetic code"

KLUG, A.- "From macromolecules to biological assemblies"

KÖHLER, G.J.F.- "Derivation and diversification of monoclonal antibodies"

KORNBERG, A.- "The biologic synthesis of desoxyribonucleic acid"

KOSSEL, A.- "Über die chemische beschaffenheit des zellkerns"

LANDSTEINER, K.- "Über individuelle unterschiede des menschlichen blutes"

LEDERBERG, J.- "A view of Genetics"

LEWIS, E.B.- (pendiente en la fecha en que se escribe este trabajo)

LURIA, S.E.- "Phage, colicins, and macroregulatory phenomena"

LWOFF, A.- "Interactions entre virus, cellule et organism"

McCLINTOCK, B.- "The significance of responses of the genome to challenge"

MEDAVAR, P.B.- "Immunological tolerance"

MILSTEIN, C.- "From the structure of antibodies to the diversification of the immune response"

MONOD, J.- "De l'adaptation enzymatique aux transitions allosteriques"

MORGAN, T.H.- "The relation of Genetics to Physiology and Medicine"

MULLER, H.J.- "The production of mutations"

MULLIS, K.B.- "The polymerase chain reaction"

NATHANS, D.- "Restriction endonucleases, simian virus 40, and the new genetics"

NIRENBERG, M.W.- "The genetic code"

NÜSSLEIN-VOLHARD, C.- (pendiente en la fecha en que se escribe este trabajo)

OCHOA, S.- "Enzymatic synthesis of ribonucleic acid"

PORTER, R.R.- "Structural studies of immunoglobulins"

ROBERTS, R.J.- "An amazing distortion in DNA induced by a methyltransferase"

SANGER, F.- "Determination of nucleotide sequences in DNA"

SHARP, P.A.- "Split genes and RNA splicing"

SMITH, H.O.- "Nucleotide sequence specificity of restriction endonucleases"

SMITH, M.- "Synthetic DNA and Biology"

SNELL, G.D.- "Studies in histocompatibility"

TATUM, E.L.- "A case history in biological research"

TEMIN, H.M.- "The DNA provirus hypothesis"

TONEGAWA, S.- "Somatic generation of immune diversity"

VARMUS, H.E.- "Retroviruses and oncogenes I"

WATSON, J.D.- "The involvement of RNA in the synthesis of proteins"

WIESCHAUS, E.F.- (pendiente en la fecha en que se escribe este trabajo)

WILKINS, M.H.F.- "The molecular configuration of nucleic acids"

---

## ¡Error! Marcador no definido.2. EL CONCEPTO DE GENETICA

Como ya he tenido ocasión de decir en escritos anteriores (Lacadena, 1985, 1986, 1988), en un sentido estricto, el nacimiento de una nueva ciencia -la Genética- que explicara los fenómenos hereditarios biológicos habría de estar condicionado a su capacidad para dar respuesta a las dos preguntas fundamentales siguientes: ¿cuáles son las leyes por las que se transmiten los caracteres biológicos de padres a hijos? ¿cuál es la base física -es decir, la substancia- por la que tales características hereditarias se conservan y transmiten? o, en otras palabras, ¿cuál es la base molecular de la herencia?. La respuesta a la primera pregunta fue conocida a partir de las experiencias de Gregor Johann Mendel hechas públicas en 1865 en dos sesiones consecutivas (8 de Febrero y 8 de Marzo) de la Sociedad de Naturalistas de Brünn, Moravia (hoy Brno, República Checa) y publicadas a finales del año siguiente, 1866, en el tomo IV de las Actas de la Sociedad. La respuesta a la segunda pregunta está en íntima relación con la historia del ácido desoxirribonucleico, ADN, que se inicia en 1869 cuando Miescher escribió el artículo (aparecido en 1871) en el que describía la "nucleína" como una "substancia ácida rica en fósforo" aislada por vez primera de los núcleos de las células de pus y después de otros tipos de células (levaduras, riñón, hígado, testículos y glóbulos rojos nucleados). La "nucleína" fue rebautizada en 1889 por Richard Altmann como *ácido nucleico*. Sin embargo, la identificación de la substancia o material hereditario como ADN -los genes son ADN- no se produjo hasta 1944 cuando Avery, MacLeod y McCarty identificaron el ADN como el *principio transformante* de Griffith (1928) en el fenómeno de transformación bacteriana. Por ello, se deduce que es incorrecto decir -como suele hacerse- que la Genética nació como ciencia en 1900 cuando de Vries, Correns y Tschermak redescubrieron las denominadas leyes de Mendel. En mi opinión, y de acuerdo con lo expuesto anteriormente, el parto de la Genética duró 80 años puesto que empezó en 1865 con el trabajo de Mendel y terminó en 1944 con la identificación del ADN como el material hereditario.

De ambos tipos de planteamientos se derivan dos definiciones diferentes de la Genética: la propuesta por Bateson en 1906 como "la ciencia que estudia la herencia y la variación en los seres vivos" y la que propuse yo mismo

como "la ciencia que estudia el material hereditario bajo cualquier nivel o dimensión" (Lacadena, 1974, 1988).

El desarrollo de la Genética a partir del redescubrimiento de las leyes de Mendel en 1900 fue muy rápido y, posiblemente, igualado por muy pocas ciencias. Su progreso ha estado impulsado por tres fuerzas. La primera en orden cronológico fue su inmediata aplicación a la Mejora de plantas y animales. Aquí habría que tener en cuenta su propio origen como consecuencia de la actividad de los mejoradores y criadores de plantas y animales, recordando que las reuniones que hoy se consideran como los tres primeros congresos internacionales de Genética se convocaron como "International Conference on Hybridization" (Londres, 1899), "International Conference on Plant Breeding and Hybridization" (Nueva York, 1902) y "Conference on Hybridization and Plant Breeding" (Londres, 1906). Y fue precisamente en esta tercera reunión donde William Bateson propuso el nombre de "Genética" para la actividad que allí les reunía y que "había dejado de ser un misterio para convertirse en ciencia", decidiéndose que los resúmenes y acuerdos de dicha reunión se publicaran bajo el nuevo epígrafe de "Third International Conference on Genetics".

La segunda fuerza que ha impulsado el progreso de la Genética radica en su aplicación a la Medicina, convirtiendo al ser humano en beneficiario directo del conocimiento genético.

Por último, pero no por eso menos importante, hay que tener en cuenta que la Genética puede aportar luz al conocimiento básico del fenómeno vital: su esencia, origen y evolución.

Cuando se tiene una perspectiva global de la Genética se percata uno de la posición que ocupa entre las ciencias biológicas. Así, el profesor Julián Rubio (1973), tras examinar las relaciones interdisciplinarias entre la Genética y otras ciencias biológicas (Citología, Bioquímica, Fisiología, Microbiología, Botánica, Zoología, Ecología, Agronomía, Zootecnia, Medicina), concluía que la Genética ocupa un puesto central porque con todas ellas tiene conexión en contenido y desarrollo histórico, ofreciendo un punto de vista aglutinante del pensamiento biológico actual. Es -decía el profesor Rubio- "como un relieve orográfico en una llanura, observatorio desde el cual se consigue una visión nueva de todo el paisaje circundante, pero siendo al mismo tiempo desde los diversos puntos de la llanura desde

donde se logra precisar el perfil característico [diferente] de ese relieve". En la llanura de ese panorama descrito podrían situarse también las ciencias experimentales no biológicas como la Física, la Química, las Matemáticas y la Geología.

Esta relación múltiple de la Genética con las demás ciencias implica una enorme diversidad de organismos y de técnicas de estudio que pueden llevar -como se lamentaba Hadorn en su alocución presidencial del XI Congreso Internacional de Genética (La Haya, 1963)- a una diversificación y divergencia tan grandes entre los diferentes campos de investigación de la Genética que conduzcan a una falta de entendimiento mutuo entre las diversas especialidades, con la consiguiente desintegración y secesión. Las técnicas experimentales, los organismos manejados y los problemas abordados son tan dispares que puede resultar incluso ininteligible el lenguaje utilizado por los diversos especialistas.

Sin embargo, a pesar de la especialización de la Genética a nivel de organismos (Genética de virus, Genética de bacterias, Genética de hongos, ..., Genética humana), a nivel de organización (Genética Molecular, Citogenética, Genética Mendeliana, Genética de Poblaciones) o a nivel de proceso (Genética del Desarrollo, Genética Evolutiva), se mantiene un concepto unitario gracias a la existencia de un denominador común: el material hereditario. Tan genético es quien estudia el material hereditario de los virus (Genética de virus) como quien analiza cómo se organiza y transmite (Citogenética), cómo se expresa (Genética Molecular) o cuál es su destino en el espacio y en el tiempo (Genética Evolutiva). De ahí que adquiera todo su significado la definición propuesta de Genética como "la ciencia que estudia el material hereditario bajo cualquier nivel o dimensión".

Como señalaba Rubio (1973), el material hereditario se puede estudiar bajo tres dimensiones: analítico-estructural (en sí mismo), dinámica (propiedades y expresión) y espacio-temporal (destino). En otras palabras, el objeto de la Genética son los genes y, por tanto, esta ciencia ha de proporcionar respuestas adecuadas a las siguientes preguntas:

- ¿qué son los genes?



- ¿cómo se organizan y transmiten?
- ¿cómo y cuándo se expresan?
- ¿cómo cambian?
- ¿cuál es su destino en el espacio y en el tiempo?

En mi opinión, en el desarrollo histórico de la Genética pueden diferenciarse *grosso modo* cinco etapas: la primera, que comprende desde Mendel (1865) y el redescubrimiento de sus leyes en 1900 hasta 1944, corresponde al estudio de la transmisión de los caracteres tanto a nivel familiar como de población; la segunda etapa, que abarca de 1940 a 1960 incluye fundamentalmente el estudio de la naturaleza y propiedades del material hereditario; la tercera etapa, que va de 1960 a 1975, abordó especialmente los mecanismos de acción génica (código genético, transcripción, traducción) y su regulación; la cuarta etapa, denominada de la *Nueva Genética* (Nathans, 1979) abarca de 1975 a 1985 y se caracteriza por el desarrollo y la aplicación de la tecnología de los ácidos nucleicos (restricción o fragmentación, hibridación y secuenciación); por último, la quinta etapa, que se inicia en 1985 y llega hasta nuestros días, se caracteriza, por un lado, por la introducción del análisis genético en la dirección gen→proteína (es decir, genotipo→fenotipo), contraria al análisis genético mendeliano convencional (fenotipo→genotipo) por lo que ha venido en denominarse *Genética Inversa* (Orkin, 1986), y, por otro lado, se caracteriza por la disección molecular del desarrollo y del genoma de los organismos complejos hasta llegar al Proyecto Genoma Humano.

Finalmente, dentro de la cronología histórica de la Genética, es importante resaltar que la identificación en 1944 del ADN como el material hereditario supuso un cambio de paradigma en la Genética -ampliable a la Biología en general e incluso a la Sociedad- de tal importancia que puedo repetir aquí lo que ya he dicho en otras ocasiones (Lacadena, 1988): la Historia de la Genética puede dividirse en dos grandes épocas -"antes del ADN" y "después del ADN"- que en estos momentos se corresponden a periodos de tiempo más o menos equivalente (1865-1944, 1944-1995). Utilizando un juego de palabras, podríamos hablar de "la transformación de la Genética por el ADN" (Lederberg, 1994), haciendo referencia a la demostración experimental que supuso el fenómeno de transformación bacteriana y la identificación del ADN como principio transformante.

### ¡Error! Marcador no definido.3. LA APORTACIÓN DE LOS PREMIOS NOBEL AL CONTENIDO FORMAL DE LA GENÉTICA

En el apartado anterior hemos justificado el concepto de Genética como la ciencia que estudia el material hereditario bajo cualquier nivel o dimensión y ello nos llevaba a concluir que su contenido formal viene dado por las respuestas a las preguntas en torno a los genes: ¿qué son? ¿cómo se organizan y transmiten? ¿cómo y cuándo se expresan? ¿cómo cambian? ¿cuál es su destino?. Pasemos, pues, a analizar cuáles han sido las aportaciones de los diferentes premios Nobel en la contestación a tales cuestiones. En el Cuadro 4 se resumen tales aportaciones.

#### ¡Error! Marcador no definido.3.1. ¿Qué son los genes?

Hacia la misma época y a no muchos kilómetros de Brünn donde residía Mendel, Friedrich Miescher, trabajando en el laboratorio de Hoppe-Seyler de la Universidad de Tübingen, escribía en Octubre de 1869 (aunque el artículo apareció publicado en 1871) el trabajo en el que se describía la "nucleína" como una sustancia ácida "rica en fósforo" contenida en los núcleos (de ahí su nombre) de las células de pus y otros tipos de células (levaduras, riñón, hígado, testículos y glóbulos rs nucleados). Sin embargo, Miescher no pudo aislar el ácido nucleico en forma pura pues la "nucleína" tenía un 70% de proteínas. Fue Richard Altmann quien en 1889 lograba separar por vez primera las proteínas de la "nucleína", llamando a la otra sustancia *ácido nucleico*. Por su parte, diez años después de que Miescher aislara la "nucleína", Albrecht Kossel (1893, 1894) iniciaba los estudios químicos de la "nucleína", descubriendo que contenía las bases púricas adenina y guanina y las bases pirimidínicas timina y citosina así como un azúcar que más tarde fue identificada por Levene y Jacobs como D-ribosa. Sin embargo, el mismo Levene encontró e identificó el azúcar 2'-desoxi-D-ribosa propia del ácido desoxirribonucleico. Kossel recibió el premio Nobel en 1910 "por sus trabajos sobre las sustancias albuminoides, incluyendo las nucleínas, que han contribuido al conocimiento de la química de las células".

¿Cuáles son las leyes de transmisión?

¿Cuál es la base molecular de la herencia?

**GENÉTICA**

Ciencia que estudia la herencia y la variación en los seres vivos

Ciencia que estudia el MATERIAL HEREDITARIO bajo cualquier nivel o dimensión

**GENES**

¿Qué son?

Química de los ácidos nucleicos (1943): Kossel (1910)  
Los genes son ADN: Fagos radiactivos (1952): Hershey (1969)  
Modelo estructural del ADN (1953): Watson y Crick (1962), Wilkins (1962)

¿Cómo se organizan y transmiten?

Estructura de la cromatina (1977): Klug (1982)  
Transmisión molecular: Replicación semiconservativa (propuesta por Watson y Crick, 1953). Síntesis enzimática del ADN (1956): Kornberg (1959)  
Transmisión celular: Teoría cromosómica de la herencia  
Los genes están en los cromosomas (1910): Morgan (1933)  
Sobrecruzamiento y recombinación (1931): McClintock (1983)

¿Cómo y cuándo se expresan?

Hipótesis un gen una enzima (1941): Beadle y Tatum (1958)  
Hipótesis de la secuencia (1958): Crick (1962)  
Desciframiento de la clave del código genético (1961): Ochoa (1959), Nirenberg y Khorana (1968)  
Síntesis de proteínas: el ARNt (1965): Holley (1968)  
Genes discontinuos (1977): Sharp y Roberts (1993)  
Procesamiento del ARN y actividad catalítica del ARN (1981, 1983): Altman y Cech (1989)  
Regulación de la expresión génica: Modelo del operón (1961): Jacob y Monod (1965)  
Control genético del desarrollo embrionario temprano en *Drosophila* (1978, 1980): Lewis, Nüsslein-Volhard y Wieschaus (1995)

¿Cómo cambian?

Elementos genéticos móviles (1951): McClintock (1983)  
Inducción de mutaciones con rayos X (1927): Muller (1946)  
Mutagénesis dirigida (1978): Smith (1993)

¿Cuál es su destino?

**Cuadro 4.- Aportaciones de los premios Nobel al contenido formal (concepto) de la Genética**  
(Las fechas indicadas en primer lugar corresponden a las de publicación de los trabajos originales fundamentales mientras que las que aparecen detrás de los nombres hacen referencia a las de concesión del premio Nobel)

El trabajo de Mendel y el trabajo de Miescher tienen en común que, no sólo ambos representan el punto de arranque para contestar las dos preguntas fundamentales de la Genética (las leyes de transmisión y la base molecular de la herencia), sino también el que fueron olvidados o minusvalorados en su tiempo. Sin embargo, así como el trabajo de Mendel dio lugar, tras un periodo de treinta y cinco años de oscuridad, a una gran actividad científica encaminada a verificar sus conclusiones y plantear nuevas hipótesis que condujeron al establecimiento definitivo de la nueva ciencia a través de la Teoría Cromosómica de la Herencia, el trabajo de Miescher resultó de interés para un pequeño grupo de bioquímicos pero no generó, ni mucho menos, una ulterior investigación masiva. Como señala Glass (1965), la ceguera de los científicos para no ver el significado de una sustancia química tan especialmente limitada al núcleo de las células e, incluso, a los propios cromosomas perduró hasta 1944 en que Avery, MacLeod y McCarty identificaron el ADN como el "principio transformante" de Griffith en el fenómeno de transformación bacteriana.

¿Por qué sucedieron así las cosas? Todos los historiadores de la Biología están de acuerdo en afirmar que el escaso interés inicial por el ADN desde el punto de vista hereditario era debido a que en aquella época eran las proteínas las más firmes candidatas a ser la "sustancia de la herencia" debido a una aparentemente mayor variabilidad frente al ADN, contribuyendo aún más a esta apreciación equivocada la *hipótesis del tetranucleótido* de Levene (1921) -uno de los grandes bioquímicos de la época- que suponía que el ácido nucleico estaba formado por la repetición monótona de cuatro nucleótidos. Corroborando esta situación, resultan muy significativas las influyentes palabras del citólogo americano Edmund B. Wilson quien en la tercera edición de su importante obra "The Cell in Development and Heredity" (1925) decía, recogiendo el pensamiento biológico de la época: " ... los ácidos nucleicos del núcleo son en conjunto notablemente uniformes ... en contraste con las proteínas... Las diferencias entre diferentes "cromatinas" depende de sus componentes básicos o proteicos y no de sus ácidos nucleicos".

Por ello, la evidencia experimental aportada por Avery y colaboradores (1944) identificando el ADN como el principio transformante no fue suficiente para convencer a la comunidad científica de que los genes eran

ADN y no proteínas. Tuvieron que pasar ocho años más hasta que Hershey y Chase (1952), utilizando bacteriófagos marcados radiactivamente con  $S^{35}$  o  $P^{32}$  (el azufre como elemento químico propio de las proteínas y el fósforo del ADN) demostraron que en el proceso de infección solamente penetraba en la célula bacteriana el ADN viral y puesto que en la misma se producía la formación de partículas virales era una evidencia irrefutable de que el ADN viral llevaba la información genética responsable de la síntesis de los compuestos proteicos que constituyen la cápside del virus. Es decir, los genes son ADN. A partir de este experimento la comunidad científica abandonó definitivamente su postura en favor de las proteínas y tuvo que valorar positivamente los datos experimentales que ocho años antes habían obtenido Avery, MacLeod y McCarty. En 1969, Alfred D. Hershey compartió el premio Nobel con Delbrück y Luria "por sus descubrimientos en relación con el mecanismo de replicación y estructura genética de los virus". Hershey (1946) había estudiado también las mutaciones en los fagos y realizó el primer estudio completo de la recombinación genética en los mismos (Hershey and Rotman, 1949).

Un estudio histórico sobre la historia del descubrimiento de la estructura y función de la "substancia genética" fue realizado por Portugal y Cohen (1977).

Una vez aceptado el significado genético del ADN, el paso obligado siguiente era determinar sus propiedades físico-químicas. El descubrimiento por James D. Watson y Francis H. C. Crick en 1953 de la estructura del ADN fue fundamental para el desarrollo posterior de la Genética. El éxito de Watson y Crick se basó, por un lado, en saber utilizar los datos de composición química (Chargaff, 1950: las proporciones de bases púricas y pirimidínicas eran equimolares, lo mismo que las de adenina y timina y las de guanina y citosina; es decir:  $A+G/T+C=1$  y  $A/T=G/C=1$ ) y de difracción de rayos X (Wilkins *et al.*, 1953; Franklin and Gosling, 1953) obtenidos por otros investigadores y, por otro lado, -y a mi juicio en ello radicó su acierto- en tener muy claro el concepto genético de lo que significaba el material hereditario; es decir, cuál tenía que ser su función.

En Biología, el binomio estructura-función se manifiesta de forma constante; es decir, si existe una estructura determinada es para realizar una

cierta función y, recíprocamente, para llevar a cabo una función concreta es necesaria la estructura adecuada. Por ello, a la hora de proponer un modelo estructural del ADN había que tener presente cuál o cuáles eran las funciones que tenían que realizar el material hereditario. Este planteamiento fue utilizado por Watson y Crick como pone de manifiesto el hecho de que, junto al artículo de la revista *Nature* en la que proponían el modelo estructural de la doble hélice, publicaron un segundo artículo que titularon "Implicaciones genéticas de la estructura del ácido desoxirribonucleico" (Watson and Crick, 1953b) en el que justificaban cómo su modelo estructural podía explicar dos propiedades genéticas fundamentales del material hereditario: la de conservarse a sí mismo (*replicación*) y la de ser capaz de cambiar (*mutación*). Posiblemente, esa clarividencia genética contribuyó de forma decisiva a ganarle la carrera a Linus Pauling, dos veces galardonado con el premio Nobel por otras razones, quien competía con ellos en la búsqueda del modelo estructural del ADN. Watson y Crick recibieron el premio Nobel en 1962 "por sus descubrimientos en relación con la estructura de los ácidos nucleicos y su significación para la transmisión de la información en la materia viva". Compartió el premio con ellos Maurice H.F. Wilkins, cuyos estudios sobre la difracción de rayos X (Wilkins *et al.*, 1953) contribuyeron de forma fundamental -como ya he mencionado antes- al modelo estructural de la doble hélice.

Para un conocimiento histórico de las investigaciones que condujeron al establecimiento del modelo estructural del ADN, ver Watson (1968), Crick (1974, 1988), Olby (1974a y b), Pauling (1974), Chargaff (1974), Klug (1974).

No resisto la tentación de hacer un breve comentario personal -sin duda subjetivo- sobre Watson y Crick. En mis clases de Genética en la universidad suelo recomendar a mis alumnos la lectura de tres obras que causaron en mí un gran impacto y que considero pueden serles de gran utilidad en su formación científica. La primera es el trabajo original de Mendel (1866) porque, como señalaba el profesor Francisco J. Ayala (1984), "el trabajo clásico de Mendel constituye un ejemplo eminente del uso del método científico en Biología"; ciertamente, es una aplicación perfecta del método hipotético-deductivo de investigación porque "Mendel

formuló hipótesis, examinó su coherencia con los resultados previos y, a continuación, sometió la hipótesis a rigurosas pruebas empíricas y sugirió, asimismo, pruebas adicionales a realizar" (ver también Lacadena, 1986).

La segunda obra es el discurso de ingreso de Santiago Ramón y Cajal en la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de Madrid, leído en la sesión del 5 de Diciembre de 1897. Al leer este discurso, titulado "Reglas y consejos sobre investigación científica (los tónicos de la voluntad)", tuve la sensación de estar sentado junto a él escuchando sus consejos, todavía válidos a pesar del tiempo transcurrido. El único cambio que habría que introducir sería la sustitución del idioma alemán por el inglés cuando hace referencia al idioma científico universal.

La tercera obra es "La doble hélice" escrita por Watson (1968) en la que, de forma autobiográfica, relata sus experiencias vitales en torno al descubrimiento de la estructura del ADN y en la que se ponen de manifiesto las intrigas, insidias y -diríamos- manejos poco limpios del mundo científico. En esta obra el estudiante puede encontrar, junto a páginas y hechos estimulantes, situaciones en las que la competitividad puede llevar a comportamientos no éticos.

En cierto sentido, Watson puede resultar un premio Nobel atípico teniendo en cuenta que ha publicado muy pocos trabajos científicos y, por lo general, muy breves. Sin embargo, al decir esto no pretendo, ni mucho menos, restarle mérito alguno ni dudar de su papel fundamental e influencia en el desarrollo de la Genética. De hecho, el propio Crick reconocía que sin el concurso de Watson él no hubiera llegado al modelo estructural del ADN. Por otro lado, considero la importancia del papel que ha jugado Watson en su puesto al frente del Cold Spring Harbor Laboratory, New York, como catalizador del progreso de la Genética mundial como consecuencia de sus reuniones y publicaciones (*Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, etc.), así como de su obra "Molecular Biology of the Gene" (1ª edición, 1965; 4ª edición, Watson *et al.*, 1987), su participación en la obra clásica "Molecular Biology of the Cell" (Alberts *et al.*, 1989) o de su papel como impulsor del Proyecto Genoma Humano.

Por su parte, además de su participación en el modelo estructural del ADN, Crick ha tenido otras aportaciones importantes en la Genética como son su fundamental -yo diría que genial- *hipótesis de la secuencia* (Crick, 1958), a la que haremos referencia posteriormente, así como su contribución al establecimiento de las características de la clave del código genético (Crick *et al.*, 1961) y sus hipótesis sobre la existencia del *adaptador* (Crick, 1958) (más tarde identificado como el ARN transferente) en el proceso de traducción y la de la flexibilidad o tambaleo en la complementariedad codón-anticodón (Crick, 1966). No es de extrañar, por ello, que su discurso de recepción del premio Nobel en 1962 versara sobre el código genético y no sobre la estructura del ADN cuyo descubrimiento había sido el motivo de la concesión. (Ver su narración autobiográfica, Crick, 1988).

La reunión anual del Cold Spring Harbor Laboratory de Junio de 1966, que trató el tema del Código Genético, supuso para Crick y otros genéticos moleculares el fin de la Biología Molecular clásica y decidieron introducirse en nuevos campos de investigación biológica. Como indica en su autobiografía (Crick, 1988), se interesó por la embriología y el papel de los gradientes como característica básica del desarrollo, la estructura de los nucleosomas (Crick and Klug, 1975), el "ADN egoísta" (Orgel and Crick, 1980), el origen de la vida (Crick, 1981), para terminar en la neurobiología eligiendo el sistema visual de los primates. Finalmente, su interés por el cerebro le ha llevado a plantearse el misterio de la consciencia: la búsqueda científica del alma (Crick, 1990). A lo largo de su vida, Crick ha demostrado ser un gran pensador científico.

### ¡Error! Marcador no definido. **3.2. ¿Cómo se organizan y transmiten los genes?**

Trataremos ambas preguntas por separado:

#### **¡Error! Marcador no definido.- ¿Cómo se organizan los genes?**

Los genes no se encuentran dispersos dentro de las células, sino que están organizados constituyendo una estructura denominada cromosoma. El *cromosoma* se puede definir como "el material hereditario organizado cuya estructura adquiere complejidad creciente en la evolución, pasando de simples moléculas desnudas de ácidos nucleicos en algunos procariontes a asociaciones de ácidos nucleicos (especialmente ADN) con proteínas



histónicas y no histónicas como componentes químicos mayoritarios en eucariontes. La función esencial de los cromosomas es conservar, transmitir y expresar la información genética que contienen" (Lacadena, 1988). Es evidente que en esta definición quedan comprendidos no sólo los cromosomas propios, por así decirlo, de cualquier organismo, sino también elementos genéticos adicionales tales como los plasmidios y el ADN de orgánulos citoplásmicos como mitocondrias y cloroplastos.

En la definición anterior se indica que la estructura del cromosoma eucariótico es una interacción compleja entre el ADN y las proteínas de naturaleza histónica y no histónica. Aunque el término *cromatina* fue definido inicialmente con un significado citológico puramente descriptivo como "la substancia que constituye el núcleo interfásico y muestra ciertas propiedades de tinción" (Flemming, 1882), hoy día el concepto de cromatina se utiliza también y de forma mayoritaria para hacer referencia a la organización molecular del material hereditario. En este contexto molecular, para algunos autores la cromatina es "el conjunto complejo de ADN, histonas, proteínas no histonas y ARN presentes en el núcleo interfásico" (Rieger *et al.*, 1976, 4ª edición). Sin embargo, otros autores entienden por cromatina únicamente la asociación del ADN y las histonas formando una estructura que responde a una ordenación espacial regular: los *nucleosomas* (Kornberg, 1974). Algunos autores piensan, incluso, que el ARN y las proteínas no histónicas no son constituyentes verdaderos de la estructura cromosómica, considerando, por ejemplo, que el ARN detectado no es más que un ARN naciente producto de la transcripción y que las proteínas no histonas tengan una misión enzimática o reguladora, pero no estructural. Por ejemplo, Rieger *et al.* (1991), en la 5ª edición de su Glosario, eliminan el ARN en la definición de cromatina antes indicada. Aunque sin duda ésto pueda ser así en cierta medida, sin embargo hay alguna evidencia experimental en favor de un posible papel estructural tanto de las proteínas no histónicas como del ARN.

La estructura nucleosomal de la cromatina, inicialmente descrita por Roger Kornberg (1974), fue objeto del análisis detallado de Aaron Klug y colaboradores, quienes analizaron con microscopía electrónica, difracción de neutrones y difracción de rayos X la médula del nucleosoma formado por el octámero de histonas envuelto por una vuelta y tres cuartos de ADN

(Finch *et al.*, 1977; Klug *et al.*, 1980; Richmond *et al.*, 1984; Klug *et al.*, 1985). La estructura nucleosomal no es rígida, sino que permite adaptarse a estructuras de orden superior de la cromatina. Así, Finch y Klug (1976) propusieron la formación de solenoides de 20-30nm de diámetro como estructura básica de la cromatina interfásica. Aaron Klug recibió el premio Nobel de Química en 1982 "por su desarrollo de la microscopía electrónica cristalográfica y su elucidación estructural de complejos de ácidos nucleicos y proteínas biológicamente importantes". Además de su investigación sobre la estructura de la cromatina analizó también las interacciones ARN-proteínas en el virus del mosaico del tabaco (TMV) determinantes de su propia morfogénesis (Butler and Klug, 1971, 1978; Champness *et al.*, 1976).

**¡Error! Marcador no definido.**- ¿Cómo se transmiten los genes?

La transmisión de la información genética puede considerarse a nivel molecular y a nivel celular. La transmisión molecular hace referencia, por un lado, al modelo por el cual una molécula de ADN se copia a sí misma dando lugar a dos moléculas idénticas y, por otro lado, a los mecanismos enzimáticos implicados en la síntesis del nuevo ADN.

Como señalaba anteriormente, el acierto de Watson y Crick al proponer su modelo estructural del ADN fue tener presente las propiedades genéticas que tal estructura había de tener. Así, ellos mismos (Watson and Crick, 1953b) ponían de manifiesto que, en términos de autoduplicación, la molécula de ADN representaba realmente "un par de moldes" complementarios uno del otro (A-T, G-C), explicando la replicación del siguiente modo: "Imaginamos que antes de la duplicación los enlaces hidrógeno [entre bases complementarias, A-T y G-C] se rompen y las dos hélices se desenrollan y separan; luego, cada cadena actúa como molde para la formación sobre sí misma de una nueva cadena compañera, de modo que eventualmente tendremos dos pares de cadenas donde antes sólo había una. Más aún, la secuencia de los pares de bases A-T, G-C habrá sido duplicada exactamente". Este tipo de duplicación propuesto por Watson y Crick responde a un modelo de *replicación semiconservativa* porque cada nueva molécula de ADN que se forma está constituida por una cadena vieja que ha servido de molde y una cadena nueva complementaria sintetizada a partir de los nucleótidos presentes en el medio. El modelo

semiconservativo de replicación del ADN propuesto teóricamente por Watson y Crick en 1953 fue demostrado experimentalmente unos años más tarde por Taylor y colaboradores (1957) en meristemos radiculares de haba, *Vicia faba*, y por Meselson y Stahl (1958) en la bacteria *Escherichia coli*.

En su trabajo, Watson y Crick decían también: "... postulamos que la polimerización de estos monómeros nucleótidos para formar una nueva cadena sólo es posible si la cadena resultante puede formar la estructura propuesta...", y añadían "si se requiere una enzima especial para llevar a cabo la polimerización... está todavía por ver."

Esa hipotética enzima fue aislada por Arthur Kornberg y colaboradores en 1956 (Kornberg *et al.*, 1956). Con dicha ADN polimerasa (después denominada ADNpol I) fueron capaces de inducir la síntesis *in vitro* del ADN. Las investigaciones posteriores de Kornberg (1960, 1969, 1978, 1980) permitieron conocer los mecanismos moleculares de la replicación. La biosíntesis del ADN incluye tres etapas principales: 1) la formación de desoxirribonucleósidos monofosfatos (dNMP), 2) su fosforilación a trifosfatos (dNTP) mediante quinasas, y 3) la polimerización de estos trifosfatos por la acción de la ADN polimerasa que cataliza la unión entre unidades mononucleótidas en presencia de un ADN que sirva como molde y de  $Mg^{++}$ . El papel de la ADN polimerasa tiene dos características fundamentales: por un lado formar el enlace fosfodiéster entre el grupo 3' hidroxil en el extremo de crecimiento de la cadena de ADN que se está sintetizando y el grupo 5' fosfato del desoxirribonucleótido que se está incorporando en el proceso de síntesis; por otro lado, seleccionar cada desoxirribonucleótido añadido por complementariedad a la cadena de ADN que está sirviendo de molde y que determina además la dirección de síntesis. Arthur Kornberg recibió el premio Nobel en 1959 "por su descubrimiento de los mecanismos en la síntesis biológica del ácido desoxirribonucleico".

Como se indicaba anteriormente, un segundo aspecto de cómo se transmiten los genes hace referencia a su transmisión celular. Ello nos lleva a la *teoría cromosómica de la herencia*, cuyo nacimiento se remonta a 1902 cuando Sutton (1902) decía: "Puedo finalmente llamar la atención a la probabilidad de que la asociación de cromosomas paternos y maternos

en parejas y su subsiguiente separación durante la división reductora pueda constituir la base física de las leyes mendelianas de la herencia". Sus propias investigaciones (Sutton, 1902, 1903) junto con las de Boveri (1902) constituyen la base citológica de la teoría genética, por lo que dieron lugar a la llamada *hipótesis de Sutton-Boveri* o *teoría cromosómica de la herencia* (para un análisis más detallado ver Lacadena, 1984b).

A partir de entonces se produjo una avalancha de datos experimentales que confirmaban la hipótesis, quedando definida la teoría cromosómica de la herencia por los tres puntos fundamentales siguientes: 1) los genes están situados en los cromosomas, 2) su ordenación sobre los mismos es lineal, y 3) al fenómeno genético de la recombinación le corresponde un fenómeno citológico de intercambio de segmentos cromosómicos homólogos producido por el denominado *crossing-over* (Morgan and Cattell, 1912) o sobrecruzamiento.

Fue Thomas Hunt Morgan (1910) quien por vez primera pudo inferir a partir de datos experimentales una relación directa entre un gen (la mutación *white*) y un cromosoma (el cromosoma sexual X) al analizar el comportamiento genético de la mutación que produce la pigmentación blanca en el ojo compuesto de la mosca del vinagre, *Drosophila melanogaster*. Posteriormente su colaborador Bridges (1916) utilizó el fenómeno de la no-disyunción para ratificar la inferencia de Morgan, demostrando la relación entre la mutación *vermilion* ( bermellón) y el cromosoma X. Por otro lado, Sturtevant (1913), también del grupo de Morgan, obtuvo la primera evidencia de la ordenación lineal de los genes sobre los cromosomas, construyendo el primer mapa de ligamiento correspondiente a seis genes del cromosoma X de *Drosophila melanogaster*. Las conclusiones de los primeros trabajos de la escuela de Morgan, que confirmaban la teoría mendeliana de la herencia, fueron expuestos en forma de libro en 1915 (Morgan *et al.*, 1915). En 1933, Morgan recibió el premio Nobel "por su descubrimiento en relación con el papel que desempeñan los cromosomas en la herencia".

Por último, el tercer punto de la teoría cromosómica de la herencia -la relación entre el fenómeno citológico de intercambio entre cromosomas homólogos y el fenómeno genético de la recombinación- fue demostrado simultáneamente en 1931 en *Drosophila* (Stern, 1931) y en maíz

(Creighton and McClintock, 1931). Aquí cabe señalar la importante contribución de Barbara McClintock en el desarrollo de la Citogenética y cuyas investigaciones en el comportamiento de los cambios cromosómicos estructurales le llevó a postular proféticamente a finales de la década de los cuarenta y principios de los cincuenta (McClintock, 1948, 1949, 1950, 1951, 1957) la existencia de los *elementos genéticos móviles*, que le valieron el premio Nobel en 1983, como veremos después. Desde el punto de vista citogenético hay que resaltar el posible papel de los transposones en los reordenamientos estructurales (Nevers and Saedler, 1977).

El desarrollo posterior de la teoría cromosómica de la herencia condujo al nacimiento de una nueva ciencia -la Citogenética- que, a semejanza de la Genética de la que deriva en hibridación con la Citología, me llevó a definirla como "la ciencia que estudia el cromosoma -el material hereditario organizado- bajo cualquier nivel o dimensión" (Lacadena, 1995a, 1996).

¡Error! Marcador no definido.**3.3. ¿Cómo y cuándo se expresan los genes?**

El contenido del presente apartado está basado en escritos previos del autor (Lacadena, 1974, 1985, 1986, 1988). Contestaremos a ambas preguntas por separado:

**¡Error! Marcador no definido.** - *¿Cómo se expresan los genes?*

Durante los primeros treinta o cuarenta años de existencia de la Genética, la investigación estuvo encaminada al conocimiento de lo que se podría llamar *Genética de la transmisión*; es decir, el análisis de los factores hereditarios en cuanto a su comportamiento mendeliano simple o complejo, en caracteres cualitativos o cuantitativos, a nivel individual o de población. Mediada la década de los treinta, agotada -valga la expresión- la Genética de la transmisión, los científicos genéticos de la época se plantearon la doble pregunta fundamental: ¿cuál es la naturaleza y el modo de acción de los genes? Esta doble problemática se abordó durante los veinte años siguientes, constituyendo la segunda etapa cronológica de la Genética (1940-1960) antes mencionada.

Aunque, en buena lógica científica, parecería que la contestación a la segunda cuestión debería estar condicionada al conocimiento previo de la naturaleza del material hereditario, sin embargo los acontecimientos no se produjeron así. De hecho, la fundamental *hipótesis un gen-una enzima* propuesta por Beadle y Tatum en 1941 se adelantaba tres años a la identificación del ADN como material hereditario.

Como comentaré con cierta extensión más adelante, la regla de oro de la investigación científica implica tres requisitos: tener una pregunta importante y buscar su contestación en el material biológico apropiado y con las técnicas adecuadas. En el caso que nos ocupa, evidentemente la pregunta era esencial. Sin embargo, las especies biológicas hasta entonces más utilizadas en la investigación genética (*Drosophila*, ratón, maíz, cebada, etc.) eran demasiado complejas en su organización biológica para acometer las nuevas líneas de investigación. Por ello, se eligieron nuevos organismos con organización biológica más simple que los anteriores, de tal forma que los virus, las bacterias y los hongos desbancaron a *Drosophila* que, en ingeniosa frase de Dobzhansky, "ya no es la reina de la Genética, sino que ha pasado a la honorífica oscuridad de una reina fundadora".

El tercer requisito que debería cumplirse de acuerdo con esa regla de oro de la investigación era el de utilizar una técnica adecuada. Para poder abordar el análisis del funcionamiento de los genes era necesario cambiar los caracteres a estudiar. En los caracteres estudiados hasta entonces la manifestación externa de los caracteres o fenotipo, como expresión del genotipo, estaba demasiado alejada de éste en cuanto que suponía una compleja serie de procesos fisiológicos y de desarrollo difíciles de analizar. La idea genial de Beadle y Tatum fue la de pasar a estudiar caracteres cuyo fenotipo fuera fácilmente analizable en términos de procesos metabólicos y, por consiguiente, de reacciones químicas. Ello iba a suponer el nacimiento de la *Genética Bioquímica* como eslabón que había de unir dos ramas y dos épocas de la Genética: La *Genética de la transmisión de los caracteres* y la *Genética Molecular*. Volviendo a la regla de oro de la investigación, ahora se trataba de utilizar una metodología y técnica adecuadas; la metodología consistió en el análisis genético de las reacciones químicas. De hecho, en 1958 Beadle y Tatum fueron

galardonados con el premio Nobel "por su descubrimiento de que los genes actúan regulando sucesos químicos definidos".

Es digno de mención, sin embargo, que los primeros trabajos de Genética Bioquímica se adelantaron más de treinta años al planteamiento anterior: en 1902, Archibald Garrod, un médico inglés, indicaba que la alcaptonuria humana era una enfermedad hereditaria atribuible a una deficiencia en el metabolismo del nitrógeno; más tarde, demostraba que el determinismo se debía a un gen mendeliano recesivo que producía un fallo en alguna reacción metabólica catalizada enzimáticamente e introducía el término de "errores congénitos del metabolismo" para indicar este tipo de alteraciones enzimáticas determinadas genéticamente, dando así el título "Inborn Errors of Metabolism" al libro publicado en 1909.

El "caso Garrod" es el segundo ejemplo -el primero fue el de Miescher- de profundo olvido de un gran descubrimiento bioquímico en el campo de la Genética. Lo mismo que el trabajo de Miescher era conocido entre los bioquímicos, así también el de Garrod lo fue entre los médicos; sin embargo, su profundo significado conceptual no fue comprendido por los genéticos contemporáneos a pesar de que, incluso, el propio Bateson había ayudado a Garrod a hacer el análisis genético en los estudios de cuatro de tales errores metabólicos hereditarios: la alcaptonuria, el albinismo, la cistinuria y la pentosuria. Ciertamente, el significado genético que se derivaba de tales trabajos estaba implícito en las propias palabras de Garrod: "... en la alcaptonuria el fallo de rotura del anillo bencénico se extiende a los ácidos con grupos hidroxil en posición 2:5 distintos al ácido homogentísico... Esta concepción de la anomalía localiza el error en la penúltima etapa del catabolismo de la fracción proteica aromática...", y más adelante añade: "... Podemos, por tanto, concebir que la rotura del anillo benzénico en el metabolismo normal es el trabajo de una enzima especial... cuyo trabajo puede ser parcial o totalmente inhibido en la enfermedad".

Aunque con posterioridad a Garrod muchos y muy cualificados genéticos (Cuénot, Bateson, Goldshmidt, Haldane, Muller, Bridges, Wright, etc.) hicieron sugerencias más o menos teóricas indicando que las enzimas estaban involucradas en la acción génica, sin embargo, el trabajo de Garrod

fue mucho más explícito y más directamente basado en la evidencia experimental.

Los trabajos sistemáticos de Genética Bioquímica aparecieron en la década 1930-1940. En todos ellos se tomaban como fenotipos a analizar la pigmentación ya fuera de las flores ya del ojo compuesto de los insectos, especialmente *Drosophila*.

En el caso de la pigmentación de las flores, ya en 1940, al revisar los trabajos realizados, se llegaban a conclusiones tales como que: 1) las principales sustancias responsables de la coloración de las flores son las antocianinas, las antoxantinas y los carotenoides; 2) la producción de pigmentos está genéticamente controlada cualitativa y cuantitativamente; 3) modificaciones químicas del tipo oxidación, glicosilación, metilación, etc. están determinadas por relaciones génicas simples.

Por la misma época, iniciaba Beadle, en colaboración primero con Ephrussi (Beadle and Ephrussi, 1937) y Tatum, el estudio de la pigmentación del ojo compuesto de *Drosophila*, llegando a la conclusión de que las mutaciones *vermilion* y *cinnabar* bloqueaban de alguna manera la transformación del triptófano en formilquinurenina y la de ésta en hidroxiquinurenina, respectivamente. Hoy día se sabe que la enzima codificada por el locus *vermilion* es la triptófano pirrolasa y la codificada por el locus *cinnabar* la quinurenina-3-hidroxilasa.

Ante estos resultados esperanzadores, Beadle y Tatum decidieron continuar sus investigaciones en otros organismos más sencillos como son los hongos y, en concreto, utilizaron el moho del pan, *Neurospora crassa*. Continuaron trabajando en la ruta del triptófano utilizando gran cantidad de mutantes bioquímicos (*mutantes nutricionales*) inducidos por rayos X. Estudiando la ruta metabólica del triptófano desde el ácido antranílico hasta el ácido nicotínico pudieron deducir la existencia de diferentes genes que controlaban el proceso, llevándoles a enunciar en 1941 su teoría "un gen-una enzima", de fundamental transcendencia para el ulterior desarrollo de la Genética (Beadle and Tatum, 1941; Beadle, 1946).

Cuando Beadle recibió el premio Nobel en 1958 dijo en su discurso: "... Primero en *Drosophila* y luego en *Neurospora*, nosotros hemos redescubierto lo que Garrod había visto tan claramente hace tantos años.



Nosotros conocíamos su trabajo y éramos conscientes de que poco, si algo, habíamos añadido en principio. Estábamos trabajando con un organismo más favorable y éramos capaces de producir, casi a voluntad, errores congénitos del metabolismo para casi cualquier reacción química cuyo producto podía ser suministrado a través del medio. Así, fuimos capaces de demostrar que lo que Garrod había mostrado para unos pocos genes y unas pocas reacciones químicas en el hombre, era cierto para muchos genes y muchas reacciones en *Neurospora*". Se había hecho justicia con Garrod.

Una vez aceptada la hipótesis "un gen-una enzima" quedaba por resolver si la relación entre ambas unidades (genética y fisiológica, respectivamente) consistía simplemente en que el gen permitía o impedía la actividad de la enzima o si, por el contrario, existía algún tipo de *relación informacional* entre el gen y la enzima; es decir, si el propio gen llevaba información sobre la estructura y, por consiguiente, especificidad de la enzima (ver Lacadena, 1988).

El conocimiento de las propiedades de las proteínas, tales como que la movilidad electroforética de la hemoglobina normal y falciforme (y, por tanto, su estructura) está bajo control genético (Pauling *et al.*, 1949) que sus propiedades específicas están determinadas por la secuencia definida de aminoácidos (Sanger, 1955, en la insulina) y que la mutación *falciforme* sólo supone el cambio de un aminoácido en la hemoglobina normal (Ingram, 1956) llevó a la conclusión de que un gen podía determinar la estructura específica de una proteína.

Todos estos datos, unidos al conocimiento que ya se tenía sobre la estructura del ADN, permitieron a Crick sugerir en 1958 su genial *hipótesis de la secuencia* enunciada en los términos siguientes: "existe una relación entre la ordenación lineal de los nucleótidos en el ácido nucleico y la de los aminoácidos en las proteínas". La hipótesis era tan sugestiva y, por otro lado, tan congruente con los datos genéticos conocidos hasta la fecha que nadie dudó de ella y se aceptó, sin ningún tipo de reservas, como punto de partida para ulteriores investigaciones, las cuales culminaron con el descubrimiento de los fenómenos genéticos incluidos en lo que puede denominarse *código genético* en su más amplio sentido; es decir, el "conjunto de regularidades o principios de coordinación según los cuales la *información genética* está *codificada* en el ADN, transcrita a un ARN

*mensajero* en el curso de la *transcripción* y traducida a *proteínas* con secuencias específicas de 20 aminoácidos mediante el proceso de *traducción*". De hecho, la demostración experimental de la "hipótesis de la secuencia" tuvo lugar seis años más tarde ("principio de colinealidad", Yanofsky, Sarabhai) cuando ya estaba prácticamente finalizada la investigación fundamental en torno al código genético.

Decíamos antes que la Genética Bioquímica era el nexo entre la Genética de la Transmisión y la Genética Molecular. Ciertamente, podríamos decir que la Genética Bioquímica se transforma en Genética Molecular cuando se establece la correspondencia colineal entre las estructuras moleculares de los genes y las proteínas para las que codifican.

Admitida, pues, la "hipótesis de la secuencia", se plantearon dos cuestiones fundamentales: 1) ¿Existe una *clave* de equivalencia que relaciona ambas estructuras lineales, es decir, la ordenación lineal de bases en el ADN con la de aminoácidos en la proteína; 2) ¿por qué medios llega a traducirse a una estructura química de naturaleza proteica la información genética contenida en la estructura química del material hereditario que es el ADN? La primera cuestión implicó el estudio de las *características* y el *desciframiento* de la *clave genética*. La segunda cuestión llevó consigo el análisis de los *procesos genéticos* de la *síntesis de proteínas*, a saber: la *transcripción* y la *traducción*.

El primer concepto esencial de cómo debía intentarse resolver el problema de la clave genética fue propuesto por el astrofísico Gamow (1954): se trata de pasar de un lenguaje de cuatro letras -las bases nitrogenadas del ADN- a otro de veinte -los aminoácidos esenciales que componen las proteínas. Así -decía Gamow- "las propiedades hereditarias de cualquier organismo pueden ser caracterizadas por un largo número escrito en un sistema de cuatro dígitos".

Las *características de la clave genética* (tripletes, código degenerado y sin superposición, lectura sin comas) fueron establecidas por Crick y colaboradores (1961) recopilando tanto sus propias investigaciones como las de otros investigadores.

El *desciframiento de la clave* -esto es, la asignación de un aminoácido a cada triplete o codón- se llevó a cabo gracias principalmente a los grupos

de trabajo dirigidos por Severo Ochoa, Marshall W. Nirenberg y Har Gobind Khorana. En esencia, el planteamiento experimental consistió en producir ARNs sintéticos que utilizaron como mensajeros artificiales en sistemas *in vitro* con todos los elementos necesarios para inducir la síntesis de polipéptidos. De la comparación entre las secuencias de bases de los ARN mensajeros artificiales y los aminoácidos presentes en los polipéptidos sintetizados se pudieron descifrar los diferentes codones.

La aportación fundamental de Ochoa fue el descubrimiento en 1955 de una enzima -la *polirribonucleótido fosforilasa*- que cataliza la síntesis de ARN a partir de ribonucleósidos difosfatos sin necesidad de un molde previo (Grunberg-Manago and Ochoa, 1955). Por tanto, con esta enzima se podían sintetizar los ARN mensajeros artificiales.

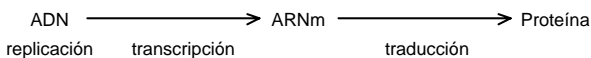
Por otro lado, la aportación del grupo de Nirenberg (Matthaei and Nirenberg, 1961) consistió en la obtención de un sistema acelular estable donde producir la síntesis de proteínas *in vitro*. Así, en 1961, Nirenberg y Matthaei consiguieron sintetizar polipéptidos añadiendo un ARN de secuencia conocida a un sistema acelular estable de *Escherichia coli* desprovisto de ARN mensajero, pero en el que estaban todos los demás elementos biológicos (aminoácidos, ARN transferente, ribosomas, enzimas, etc.) necesarios para llevar a cabo un proceso de síntesis de proteínas. La utilización de *homopolímeros* y *copolímeros* como ARN mensajeros artificiales permitió identificar los primeros codones.

Posteriormente se llevó a cabo un tercer ataque al problema del desciframiento de la clave utilizando como mensajeros artificiales *polímeros de secuencia conocida*. Esta técnica, puesta en práctica inicialmente por el grupo de Ochoa, tuvo importantes dificultades de tipo experimental hasta que fue utilizada por el grupo de Khorana (Khorana, 1965; Nishimura *et al.*, 1965a y b, etc.), quienes, a diferencia de los métodos abordados anteriormente, utilizaban un ARN sintetizado químicamente y no por medios enzimáticos.

Con las técnicas experimentales mencionadas se llegó a descifrar en un lapso de tiempo de cinco años (1961-1966) 61 tripletes que codificaban para los 20 aminoácidos. Los tres codones que faltaban por descifrar (UAA, UAG y UGA) fueron identificados posteriormente como codones

de terminación. A Ochoa le concedieron el premio Nobel en 1959 "por su descubrimiento de los mecanismos en la síntesis biológica del ácido ribonucleico" y a Nirenberg y Khorana en 1968 "por su interpretación del código genético y su función en la síntesis de proteínas". Estos dos últimos compartieron el premio con Robert W. Holley cuyas investigaciones habían permitido conocer la estructura del ARN transferente, *ARNt* (Holley *et al.*, 1965*a* y *b*; ver la nota necrológica por Rich, 1993) que juega un importante papel en el proceso de traducción transfiriendo a los aminoácidos (complejo de transferencia, aminoácido-ARNt) para que se incorporen en el lugar correcto en el polipéptido naciente de acuerdo con los codones presentes en el ARN mensajero.

El planteamiento de la "hipótesis de la secuencia" de Crick condujo al desciframiento de la clave del código genético. En otras palabras, la información genética consiste en la secuencia de bases en el ADN. Sin embargo, la información contenida en el ADN de los cromosomas se expresa en la síntesis de proteínas que tiene lugar en el citoplasma de la célula. Por ello, desde un principio se tuvo la idea clara de que en el flujo de información ADN→proteína tenía que haber una molécula intermediaria que transcribiese fielmente la información contenida en el ADN. Fueron Jacob y colaboradores quienes postularon, primero, y demostraron experimentalmente su existencia, después (Brenner *et al.*, 1961): se trataba de una molécula de ácido ribonucleico que denominaron ARN mensajero (*ARNm*) (ver la autobiografía de Jacob, 1987 sobre el tema). Es decir, el esquema general de lo que es en esencia nuestro sistema vital desde el punto de vista genético queda expresado en lo que Crick (1970) denominó *dogma central de la biología molecular*:



La información genética está contenida en la secuencia de bases del ADN, que se conserva gracias a su propiedad de *replicación*. Mediante el proceso de *transcripción* la información es transferida a una molécula monocatenaria de ARN (el ARNm). Posteriormente, el mensaje contenido en forma de ARN es traducido a proteína en el proceso de *traducción*.

El progreso de la Genética Molecular había llevado al conocimiento de que los genes son fragmentos más o menos largos de ADN y que la información genética consiste en la secuencia de bases que contienen. Sin embargo, a partir de 1977 se demostró que aunque se transcribe todo el ADN de un gen no todo el ARN sintetizado aparece en forma de ARN mensajero maduro y, por tanto, no es expresado en términos de secuencia de aminoácidos en el polipéptido sintetizado. Es decir, dentro de un gen puede haber *secuencias interpuestas* o *intrones*, definiéndose el intrón como una secuencia inerte en el ADN del gen. En contraposición, la secuencia del ADN que se expresa -es decir, que se traduce, en su caso, en aminoácidos- se denomina *exón*.

En 1977 Phillip A. Sharp y Richard J. Roberts (Berge *et al.*, 1977; Chow *et al.*, 1977) demostraba mediante microscopía electrónica que el ARNm y el ADN del gen correspondiente de adenovirus no coincidían con exactitud en la molécula híbrida ADN-ARN, de manera que se formaban lazos monocatenarios de ADN, indicando claramente que había segmentos de ADN del gen que no estaban representados en el ARNm maduro y, por tanto, en la proteína para la que dicho gen codificaba. Este descubrimiento ponía de manifiesto que el modelo universal de gen como un fragmento continuo de ADN ya no era válido: acababa de nacer un nuevo modelo de *gen discontinuo* o *gen en piezas*.

La importancia del descubrimiento la describe muy bien Thomas R. Cech (también premio Nobel como comentaremos más adelante) cuando relata la sensación que produjeron las comunicaciones presentadas por ambos grupos de investigación en el congreso de Cold Spring Harbor en Junio de 1977: "La audiencia -dice Cech- estaba atónita. Era uno de esos momentos en los que el mundo se pone cabeza abajo". En 1993, Sharp y Roberts recibían el premio Nobel "por el descubrimiento de los genes discontinuos".

Inmediatamente después de la publicación en 1977 de los trabajos de Sharp y de Roberts se comprobó que la estructura discontinua de los genes también se da en los organismos eucarióticos. Por ejemplo, el gen de la  $\beta$ -globina del ratón y del conejo tiene dos intrones, el gen de la ovoalbúmina del pollo tiene 7 exones y 7 intrones, el de la seroalbúmina de rata tiene 14 exones y 13 intrones, el del factor VIII humano tiene 26 exones, etc.

Ciertamente, el descubrimiento de la existencia de "genes en piezas" fue revolucionario. Algunos autores le han dado un significado evolutivo al considerar que los exones codifican para unidades o dominios funcionales de las proteínas que pueden servir para una más rápida evolución de las mismas. Algo así como si fuera una construcción evolutiva mediante módulos o piezas prefabricadas. Por deformación profesional debo confesar que en muchas ocasiones, cuando escribo trabajos de revisión y voy tomando frases o párrafos de mis propios escritos, me imagino que estoy manejando mis "exones intelectuales", valga la expresión.

La existencia de intrones y exones en la estructura del gen implica que el ARN transcrito inicialmente por el gen tiene que eliminar las regiones correspondientes a los intrones y unir los extremos rotos para recomponer la molécula continua de ARN que ha de constituir el ARN mensajero maduro que lleva la información correspondiente a los exones. Es el mecanismo conocido como rotura y empalme (*splitting and splicing*) en el que el propio Sharp ha seguido interesado (Sharp, 1981, 1985, 1987, y su propia Conferencia Nobel).

Precisamente, el estudio de cómo podría producirse la rotura y empalme les llevó a Thomas R. Cech en 1981 y a Sidney Altman en 1983 a demostrar la actividad catalítica del ARN: el primero estudiando el proceso de maduración del ARN ribosomal (*ARN<sub>r</sub>*) del protozoo ciliado *Tetrahymena thermophila* (Cech *et al.*, 1981; Kruger *et al.*, 1982; Zaug and Cech, 1986) y el segundo demostrando que el componente ARN de la ribonucleasa *P* es la subunidad catalítica responsable de la escisión de parte del ARN en el proceso de maduración de la molécula de ARN transferente en la levadura (Guerrier-Takada *et al.*, 1983; Altman *et al.*, 1986). En 1989, Altman y Cech recibieron el premio Nobel de Química "por su descubrimiento de las propiedades catalíticas del ácido ribonucleico (ARN)". Aquí podría resaltar que los resultados de ambos investigadores estuvieron en su día en contra del "orden científico establecido" (el *establishment* científico) -como lo fue en su tiempo la identificación del ADN como material hereditario frente a las proteínas- puesto que hasta entonces la actividad enzimática era una exclusiva de las proteínas.

Finalmente, en relación con el nuevo modelo estructural de gen discontinuo, y teniendo en cuenta que se han descrito fenómenos de *splicing* alternativo y de *trans-splicing*, queda en entredicho la idea genética fuertemente arraigada de un gen o un cistrón - un polipéptido frente a la posibilidad de un cistrón - varios polipéptidos o varios cistrones - un polipéptido. Todo ello hace más difícil la definición de gen.

**¡Error! Marcador no definido.**- *¿Cuándo se expresan los genes?*

Hasta ahora hemos hecho referencia a *cómo se expresan* los genes. Pasemos, pues, a considerar *cuándo se expresan*; es decir, cómo se regula la expresión del material hereditario. Haremos referencia, por un lado, a los mecanismos de regulación y, por otro lado, al control genético del desarrollo.

**¡Error! Marcador no definido.**- *Mecanismos de regulación*

En términos generales, puede aceptarse que todas las células de un organismo pluricelular contienen la misma información genética nuclear recibida a través de los mecanismos citológicos (mitosis) que aseguran la conservación y transmisión de un patrimonio hereditario idéntico a las células hijas en cada proceso de división celular. Sin embargo, en un organismo pluricelular las células se diferencian y especializan en funciones determinadas de manera que, por ejemplo, los sistemas enzimáticos presentes en un hepatocito no tienen que ser los mismos que los de un miocito. O, incluso, en un organismo unicelular como es una bacteria o una levadura la producción enzimática no es continua, sino que está en relación con las necesidades celulares. Es un principio de economía celular que la producción de una enzima determinada venga regulada por algún mecanismo que actúe de acuerdo con las circunstancias cambiantes de la célula.

Dentro de la fisiología celular hay algunos procesos que suceden de forma continua y por ello necesitarán la presencia constante de ciertas enzimas, de manera que su producción es independiente de las variaciones del medio celular: son las *enzimas constitutivas*. Por el contrario, hay otras cuya presencia o ausencia está en relación con el medio: son las *enzimas adaptativas*. En este último caso, cuando la presencia del sustrato sobre el que va a actuar la enzima estimula su síntesis implica que se trata de un

*sistema enzimático inducible*, mientras que si la presencia del propio producto final de la reacción que cataliza la enzima inhibe la síntesis de la misma, entonces se trata de un *sistema enzimático represible*.

El sistema inducible lactosa o, abreviadamente, *sistema lac* de *Escherichia coli* analizado por Jacob, Monod y colaboradores permitió establecer un modelo genético -el *operón* (Jacob and Monod, 1961a)- esencial para la comprensión de la regulación de la actividad génica. Como consecuencia de la evidencia experimental acumulada, Jacob y Monod (1961a y b) propusieron su modelo de operón constituido por el gen regulador y el represor citoplásmico que produce y por el operador y los genes estructurales que controla, definiendo el operón como una "unidad genética de expresión coordinada"; es decir, al conjunto del operador y los genes estructurales que controla (Jacob *et al.*, 1960). Ellos mismos reunieron la evidencia experimental que permitía aplicar su modelo del operón a sistemas enzimáticos represibles. Francois Jacob y Jacques Monod recibieron el Premio Nobel en 1965 "por sus descubrimientos en relación con el control genético de la síntesis de enzimas", compartiéndolo con André Lwoff, director del laboratorio del Instituto Pasteur donde ellos trabajaron. Lwoff descubrió el fenómeno de la *lisogenia* (Lwoff et Gutmann, 1950; Lwoff *et al.*, 1950; Lwoff, 1953) por el que el ADN del fago se integra en el cromosoma de la bacteria y no produce la respuesta lítica al no haber multiplicación del ADN viral ni maduración de viriones. Cuando las bacterias replican su ADN lo hace también el ADN viral que lleva integrado (profago), transmitiéndose así de generación en generación. A estas bacterias se les denomina *lisogénicas* en atención a que pueden perpetuar los fagos que llevan en un estado no infeccioso (condición de *profago*, Lwoff and Gutmann, 1950) y, con una cierta frecuencia, liberar fagos infectivos (*inducción*) cuando en el medio realmente no los había.

Además de su aportación al modelo genético de regulación, no se puede olvidar la influencia del pensamiento de Monod (1970) a través de su libro "Le hasard et la nécessité" y de Jacob (1970) con su obra "La logique du vivant" y de su autobiografía ("La statue interieure", 1987).

**¡Error! Marcador no definido.-** *Genética del desarrollo* (ver Lacadena, 1988)



Desde el punto de vista genético, el *desarrollo* puede definirse como un "proceso regulado de crecimiento y diferenciación resultante de la interacción núcleo-citoplásmica, del ambiente celular interno del individuo y del medio externo, mediante el cual se produce la formación del individuo adulto a partir de una célula inicial única: el cigoto". Al producirse la fecundación de los gametos se origina el cigoto que reúne, ya desde el mismo instante de su formación, la información genética necesaria para programar la formación del nuevo ser, de manera que, de no mediar alteraciones de cualquier tipo que interfieran con el proceso, a partir del momento en que empieza a funcionar el primer gen en dicha célula la programación genética conducirá inexorablemente a la formación del individuo adulto. El proceso del desarrollo constituye, pues, una secuencia programada de cambios fenotípicos controlados espacial y temporalmente que constituyen el ciclo vital del organismo. En resumen, podría definirse a cualquier organismo o *individuo* como *aquellos que exigen su ADN que sea*. Aunque a primera vista esta definición genética de individuo puede parecer excesivamente determinista, en realidad no lo es si se tiene en cuenta la definición de desarrollo antes indicada puesto que el desenvolvimiento o realización progresiva del programa genético contenido en el cigoto va a estar mediatizado en mayor o menor medida por factores ambientales, según sean los organismos, los caracteres y el tiempo de acción de que se trate.

La *Genética del Desarrollo* como disciplina estudia los procesos genéticos que controlan el paso de cigoto a adulto. Las concepciones clásicas de preformación (Hartsoecker) y de epigénesis (Wolff) tienen un paralelismo genético conceptual por cuanto, por un lado, el cigoto reúne esencialmente ya en forma de ADN lo que ha de ser el nuevo individuo (preformación) y, por otro lado, esa información genética controla temporal y espacialmente los procesos que constituyen las sucesivas etapas del desarrollo como actualización de las potencialidades contenidas en el cigoto (epigénesis).

Dentro del proceso total cabe distinguir los siguientes fenómenos o *componentes del desarrollo*:

- El *crecimiento*, que produce el aumento en masa del organismo;

- la *diferenciación celular* o *citodiferenciación*, fenómeno por el cual células que tienen un origen común y, por lo tanto, son genéticamente idénticas, divergen en su estructura y/o función, dando lugar a líneas celulares morfológica y/o fisiológicamente diferentes;
- la *histogénesis*, como resultado de la agregación de células diferenciadas para constituir un tejido con función especializada;
- la *organogénesis*, como consecuencia de la asociación de tejidos, dando lugar a
- la *morfogénesis*, como proceso mediante el cual se van desarrollando en el embrión los diferentes órganos del adulto a partir de estructuras indiferenciadas;
- por último, podría considerarse el *comportamiento*, como una expresión multidimensional del desarrollo.

En el presente contexto, vamos a hacer referencia expresa a la morfogénesis, que puede definirse también como el conjunto de procesos a través de los cuales los embriones o partes de ellos cambian de forma y los grupos de células cambian de posiciones relativas en el espacio (*movimientos morfogenéticos*). La morfogénesis da lugar a la forma final del individuo adulto estableciendo un patrón específico de tejidos y órganos que implica relaciones definidas de unos con otros en términos de tamaño y contenido celulares. Por consiguiente, los procesos morfogenéticos, en su sentido más amplio, constituyen un nexo entre la acción génica primaria y la morfología.

Entre los organismos eucarióticos, *Drosophila melanogaster* constituye uno de los materiales biológicos más apropiados para el estudio de la morfogénesis porque, junto al profundo conocimiento de su biología y genética, presenta la propiedad de poseer *autonomía celular* al secretar individualmente cada célula las estructuras cuticulares específicas y la posibilidad de formar cepas celulares con constituciones citogenéticas óptimas para este tipo de estudios en cuestión.

Como ocurre en cualquier estudio genético, para hacer un análisis del desarrollo es necesario disponer de métodos selectivos de inducción y aislamiento de mutantes. Se llaman *mutantes morfogenéticos* a aquellos

cuyo efecto reside en interferir la organización y desarrollo de diversos grupos celulares más que alterar la síntesis de productos necesarios para el metabolismo y función de las propias células (García-Bellido, 1972).

En *Drosophila melanogaster*, que tiene un patrón de desarrollo segmentado, hay mutaciones que afectan a los genes que controlan la organización espacial del individuo: *genes de efecto materno* que controlan la polaridad del embrión, *genes de segmentación* que controlan el número y la polaridad de los segmentos, y *genes homeóticos* que especifican la identidad de los segmentos. Estos tipos de genes que controlan el desarrollo temprano del embrión de *Drosophila* son los que han estudiado Edward B. Lewis, Christiane Nüsslein-Volhard y Eric F. Wieschaus y por cuyos trabajos acaban de recibir el premio Nobel en 1995.

Como indican Nüsslein-Volhard y Wieschaus (1980), el proceso de segmentación de *Drosophila* incluye tres niveles de organización espacial: el huevo completo como una unidad de desarrollo, una unidad que se repite con una longitud de dos segmentos y el segmento individual.

Los genes de efecto materno -es decir, influencia del genotipo materno vía citoplasma a través del ARN mensajero- son responsables de que un embrión simétrico sepa reconocer la polaridad anterior-posterior y la dorsal-ventral (Anderson and Nüsslein-Volhard, 1984; Anderson *et al.*, 1985a y b).

Tras la expresión de los genes que determinan la polaridad del embrión entran en acción los que afectan al patrón de segmentación (cabeza, tres segmentos torácicos y ocho segmentos abdominales), controlando el número y polaridad de los segmentos. Nüsslein-Volhard y Wieschaus (1980) identificaron mutaciones en 15 loci implicados en tales procesos que agruparon en tres clases: los que producen un patrón de duplicación (anterior-posterior) en cada segmento (mutantes de polaridad del segmento; 6 loci), los que originan un patrón de delección en segmentos alternantes (mutantes de "regla de pares"; 6 loci) y los que dan lugar a un patrón de pérdida de un grupo de segmentos adyacentes (mutantes de ausencia; 3 loci). En condiciones normales, actúan primero los genes que regulan el número, seguidos de los genes de la "regla de pares" y, por

último, los genes de polaridad. Y, como decíamos antes, todos ellos después de los genes de polaridad general del embrión.

La identidad de los segmentos (varios de la cabeza, protórax, mesotórax, metatórax, y abdominales A1-A8) está determinada por los genes homeóticos. El término *homeosis* -que ha cumplido un siglo (Lewis, 1994)- fue utilizado por William Bateson (1894) para explicar un tipo de variación en el que "alguna cosa cambia pareciéndose a otra cosa distinta" y atribuir a las variaciones homeóticas la explicación de los cambios drásticos en la evolución.

El primer mutante homeótico que se describió (Bridges) fue el denominado *bithorax* de *Drosophila* que produce la transformación del segmento metatorácico en mesotorácico y, por consiguiente, la del halterio o balancín en ala; en consecuencia, la mosca adulta *bithorax* tiene dos pares de alas en lugar de un solo par. Muchos años más tarde, Lewis (1951, 1964, 1967) inició sus estudios que le llevaron a conocer que el "locus" *bithorax* es realmente un complejo génico (*complejo bithorax*, BX-C) y que los patrones de segmentación son consistentes con un gradiente antero-posterior de concentración de cierta substancia represora a lo largo del embrión y de un gradiente próximo-distal a lo largo del cromosoma respecto a las afinidades hacia el represor del elemento regulador en *cis* de cada uno de los genes del complejo *bithorax* (Lewis, 1978). Al analizar posteriormente la estructura molecular de BX-C se ha encontrado que hay un sorprendente paralelismo entre la organización de los genes del complejo *bithorax* en el ADN y los segmentos para los que codifican. Esta manifestación del binomio estructura (organización genética) - función (segmentación) es lo que Lewis (1985) ha llamado "regla de la colinealidad" (ver Duboule and Morata, 1994). Es digno de mencionar aquí también el caso similar del fago T7 de *Escherichia coli* en el que los genes tempranos, medios y tardíos están situados en el cromosoma lineal del virus en el mismo orden en el que actúan durante el proceso de infección (iniciación, replicación del ADN viral, morfogénesis) (Studier, 1972). Ambos casos resultan de interés dentro de una posible controversia orden *versus* caos en la organización genética a los niveles molecular y cromosómico (organización supracromosómica. Ver Lacadena, 1996).

Lo mismo que el complejo *bithorax* controla el desarrollo de los segmentos T2 posterior-T3-A1 a A8, el desarrollo de los segmentos de la cabeza y los torácicos T1 y T2 anterior está controlado por el complejo *antennapedia* (ANT-C). Es decir, los genes de los complejos ANT-C y BX-C controlan el desarrollo de todo el cuerpo de la mosca a excepción de las porciones más distales. Al conjunto de los dos complejos se le denomina *complejo homeótico*, HOM-C.

Cuando a Lewis, Nüsslein-Volhard y Wieschaus les concedieron en 1995 el premio Nobel por "sus descubrimientos del control genético del desarrollo temprano del embrión", el propio Instituto Karolinska señalaba la importancia de los descubrimientos realizados en *Drosophila* porque podían ser aplicados a animales superiores e incluso al desarrollo humano. Efectivamente, en los vertebrados la información genética equivalente a los complejos ANT-C y BX-C forman un único complejo estrechamente ligado denominado *complejo homeótico Hox* (ver Krumlauf, 1994). En el caso del ratón y del hombre el complejo *Hox* está repetido cuatro veces (*Hox-A*, *Hox-B*, *Hox-C* y *Hox-D*) y localizado en cuatro cromosomas diferentes. A pesar del inconveniente que supone esta redundancia de información genética para realizar el análisis genético adecuado, sin embargo está siendo muy importante el progreso en relación al conocimiento de cómo el complejo homeótico *Hox* controla la especificación del plan de desarrollo del cuerpo en los vertebrados.

Mencionaba antes las palabras de Dobzhansky en las que decía que "*Drosophila* ya no es la reina de la Genética, sino que ha pasado a la honorífica oscuridad de una reina fundadora". La concesión del premio Nobel de Fisiología y Medicina de 1995 ha vuelto a poner a *Drosophila* en un lugar de honor.

### ¡Error! Marcador no definido.3.4. ¿Cómo cambian los genes?

Junto a la propiedad de replicación, el material hereditario tiene también la propiedad esencial de *mutación* puesto que, si así no fuera, no hubiera habido evolución. La mutación es la fuente primaria de la variabilidad

genética y como tal es indispensable para que tenga lugar el hecho evolutivo ya que éste se produce como resultado de la acción de la selección natural y del azar sobre la diversidad existente en las poblaciones.

***¡Error! Marcador no definido.***- Base molecular de la mutación

Conocido el flujo de información ADN→ARN→proteína se infiere fácilmente que un cambio en la secuencia de bases del ADN de un gen puede originar, por lo general, un cambio en la proteína codificada que, a su vez, puede modificar el fenotipo del individuo. A nivel molecular, los tipos de cambios que pueden ocurrir se clasifican en sustituciones, adiciones o inserciones, deleciones, duplicaciones, inversiones y transposiciones.

Ya Watson y Crick (1953b) indicaron que su modelo estructural del ADN implicaba la posibilidad de que la mutación espontánea pudiera ser debida a que ocasionalmente una base se presente en su menos probable forma tautomérica; es decir, la timina y la guanina en sus formas enólicas (en lugar de cetónicas) y la adenina y la citosina en sus formas imino (en lugar de amino). La tautomería, al cambiar la distribución espacial de los electrones de las moléculas hace posible el apareamiento complementario entre bases distinto al normal en el momento de la replicación del ADN, induciendo así sustituciones de unas bases por otras.

Las *inserciones* constituyen otro de los posibles mecanismos moleculares de mutación. Hoy día está demostrado que muchas de las mutaciones descritas y analizadas por métodos clásicos de la Genética están realmente producidas por la inserción dentro de un gen de un *elemento genético móvil* o *transposón* que, obviamente, modifica drásticamente la información genética original. Como ya he mencionado en un lugar anterior, fue Barbara McClintock quién profetizó la existencia de los elementos genéticos móviles en el maíz (McClintock, 1949, 1950, 1951, 1957); sin embargo, sus razonamientos fueron totalmente incomprendidos porque la comunidad científica no estaba preparada para comprender y aceptar sus ideas. Afortunadamente para ella, más de veinte años después, los descubrimientos posteriores de la Genética Molecular le dieron la razón (ver, por ejemplo, Bukhari *et al.*, 1977; Cold Spring Harbor Symp. Quant.

Biol., 1980; Shapiro, 1983) y pudo recibir todavía en vida, a sus 81 años, el reconocimiento de la comunidad científica internacional cuando se le concedió en 1983 el premio Nobel "por sus hallazgos sobre la existencia de estructuras móviles en la masa genética". El propio sistema *Ds-Ac* (*disociación - activador*) utilizado por McClintock en su análisis citogenético fue posteriormente caracterizado (ver Fedoroff, 1983, 1984). La personalidad científica de Barbara McClintock -adelantada a su tiempo- ha sido analizada por varios autores (Keller, 1983; Kahmann, 1992; Campbell, 1993; Fedoroff, 1994).

### ***¡Error! Marcador no definido.- Mutaciones inducidas***

El análisis genético convencional maneja alternativas alélicas de un locus, de manera que en el diseño experimental se parte del cruzamiento entre individuos que presentan genotipos distintos.

Durante casi treinta años estuvieron intentando los genéticos producir artificialmente las mutaciones sin conseguirlo, hasta que Hermann J. Muller demostró en 1927 los efectos mutagénicos de los rayos X en *Drosophila*. Al año siguiente, Stadler (1928a y b) confirmó los mismos efectos en material vegetal (maíz y cebada). Desde entonces el hombre ha tenido en su mano la posibilidad de imitar a la naturaleza en la producción de nueva variabilidad genética. En 1946 recibía Muller el premio Nobel "por su descubrimiento de la inducción de mutaciones mediante radiación con rayos X". Además desarrolló diversos métodos para estimar la tasa o frecuencia de mutación en *Drosophila*, utilizando cepas de moscas con constituciones citogenéticas adecuadas (Muller, 1928). Como colaborador de Morgan participó en el desarrollo de la teoría cromosómica de la herencia y en alguna de las primeras obras que establecieron un cuerpo de doctrina de la nueva ciencia Genética, como fue el libro "Mechanism of Mendelian heredity" (Morgan *et al.*, 1915).

Casi veinte años más tarde, Auerbach y Robson (1946) demostraban que el gas mostaza (sulfuro de  $\beta,\beta'$ -dicloroetilo) y sus derivados tenían un gran poder mutagénico, dando así paso a las sustancias químicas como otro gran grupo de agentes inductores de mutación, además de las radiaciones ionizantes y no-ionizantes (luz ultravioleta).

La mutagénesis experimental convencional es un proceso de azar en el sentido de que el investigador sabe de la eficacia de la técnica utilizada (qué tipo de radiación, a qué dosis, durante cuánto tiempo o qué sustancia química, a qué concentración, etc.), pero escapa a su control la posibilidad de dirigir la mutación; es decir, que el mutágeno utilizado afecte a un gen concreto que se desea modificar y, mucho menos aún, a una parte concreta de dicho gen. Sin embargo, el progreso de la tecnología molecular ha hecho posible el milagro. A final de la década de los setenta, Michael Smith y colaboradores (Hutchison *et al.*, 1978; Gillam and Smith, 1979a y b; Gillam *et al.*, 1979) introdujeron la técnica de *mutagénesis dirigida* basada en la utilización de oligonucleótidos sintéticos que alteran por apareamiento erróneo nucleótidos específicos de una determinada secuencia de ADN (ver revisión por Smith, 1985). De esta manera se pueden producir cambios predecibles en la secuencia de aminoácidos de la proteína codificada por el gen mutado, permitiendo analizar cómo las diferentes partes o dominios de la proteína contribuyen a su función y, eventualmente, diseñar nuevas proteínas. Esta técnica ha revolucionado la investigación en los laboratorios de investigación y en las compañías biofarmacéuticas. Por ello no fue de extrañar que Smith recibiera el premio Nobel de Química en 1993 "por su contribución fundamental al establecimiento de la mutagénesis dirigida mediante oligonucleótidos y su desarrollo para estudios de proteínas", en palabras de la Real Academia de Ciencias sueca que le otorgó el premio.

Aunque no está relacionado directamente con el tema que nos ocupa, no resisto la tentación de hacer un comentario, aunque sea muy breve, sobre el impacto de la mutagénesis en la sociedad, que ya en otras ocasiones he tratado con mayor extensión (Lacadena, 1976, 1988, 1991a).

La variabilidad genética producida en las poblaciones naturales se debe a posibles errores ocurridos a escala molecular -por ejemplo, durante la replicación de la molécula de ADN- así como a la acción del medio ambiente sobre el ADN. A este tipo de cambios en el material hereditario se les llama *mutaciones espontáneas*. Frente a este tipo de alteraciones genéticas están las *mutaciones inducidas* producidas directa o indirectamente, con intención o sin ella, por intervención humana. En ocasiones, el hombre realiza tratamientos experimentales -como acabamos



de ver- con el propósito de inducir mutaciones en los seres vivos con el fin de realizar estudios de genética básica o aplicada. Otras veces, sin embargo, la mutagenésis se induce por la acción de agentes físicos o químicos producidos y utilizados por la nueva tecnología. Las radiaciones, ciertas sustancias químicas y determinados sistemas biológicos constituyen los tres grupos en que se pueden clasificar los posibles agentes mutágenos.

De todos es conocido el efecto mutagénico de las radiaciones. Aunque en el medio ambiente en que vivimos estamos sometidos a la acción de una cierta radiactividad natural, está demostrado que dicha radiación ionizante no es lo suficientemente intensa como para producir las mutaciones espontáneas con las frecuencias detectadas en diversos organismos (del orden de  $10^{-5}$ ). Sin embargo, la tecnología moderna tiende a incrementar la utilización de la energía nuclear, resultando obvio deducir las graves consecuencias que se derivarían del uso indebido o de la ocurrencia de un accidente fortuito. Todos tenemos en la memoria el efecto devastador de las bombas atómicas lanzadas el 6 y el 9 de Agosto de 1945 sobre Hiroshima y Nagasaki, o el accidente de la central nuclear de Chernobil, ocurrido en Abril de 1986. Como decía Rostand en sus "Inquietudes d'un biologiste" (1967), "las explosiones nucleares hacen algo peor que matar: preparan la vida mala, ponen en circulación genes defectuosos que van a proliferar indefinidamente... No sólo crimen futuro, sino crimen viviente, continuo, que se mantiene a sí mismo".

A partir del trabajo pionero de Auerbach y Robson sobre el efecto mutagénico del gas mostaza, que fue publicado en 1946 porque los resultados positivos que habían obtenido antes fueron considerados secreto militar durante la Segunda Guerra Mundial, los estudios sobre mutagenésis química se intensificaron. El número de sustancias químicas que han demostrado tener poder mutágeno es enorme. Desde el punto de vista de su naturaleza química se pueden agrupar como agentes alquilantes (aziridinas y triazinas, mostazas nitrogenadas, epóxidos, aldehidos y lactonas, sulfatos alquílicos, etc.), entre los que hay algunos -los supermutágenos- que destacan por su poderosa acción mutagénica (EMS, EES y NG); análogos de base; derivados del nitrógeno (hidrazina, hidroxilamina), etcétera.

Desde el punto de vista de su utilización por el hombre, los mutágenos químicos se pueden agrupar como pesticidas, productos industriales, alimentos y aditivos de la alimentación y fármacos y drogas.

Por la repercusión que tienen en la actividad humana en relación con el *riesgo ocupacional*, haré un breve comentario sobre los productos industriales, que incluyen una amplia gama de compuestos, tanto en lo referente a su estructura orgánica como a su aplicación industrial. La mayor parte son agentes alquilantes con diferentes grupos funcionales: aziridinas, mostazas, epóxidos, lactonas, aldehidos, nitrosaminas, sulfatos dialquílicos, etc. Por ejemplo, podríamos citar el formaldehído -que es muy utilizado, él o sus polímeros, en la fabricación de resinas sintéticas y en la industria textil y del papel-, el acetaldehído -utilizado como disolvente en las industrias del caucho, curtido de pieles y papel- o la acroleína utilizada en el acabado textil, tratamiento del papel, gomas químicas, plásticos, resinas sintéticas. Todos ellos, que además se encuentran en el humo del tabaco y de los automóviles, han demostrado ser mutágenos.

Otro tanto ocurre con algunos alimentos o aditivos de la alimentación. Por ejemplo, se ha demostrado que son mutágenos el EDTA (ácido etilendiamino-tetracético), que se utiliza para conservación de alimentos que contienen grasas y aceites (mayonesa, margarina, etc.) por su acción antioxidante; el nitrito sódico, utilizado para conservar la carne, el pescado y el queso; el bisulfito sódico, utilizado como inhibidor bacteriano en la fabricación del vino y la cerveza; el isotiocianato de alilo, utilizado como aditivo de salsas picantes, mostazas sintéticas, etc.

¿Y qué decir de los fármacos y las drogas? Muchos fármacos antineoplásicos, antibacterianos, antipiréticos, sedativos, etc. han demostrado ser capaces de inducir mutaciones génicas y aberraciones cromosómicas.

Ante la situación descrita podríamos volver a recoger la preocupación de Jean Rostand ("Inquietudes d'un biologiste", 1967) cuando se preguntaba: ¿quién dirá cuántas mutaciones nocivas se compran diariamente?

¡Error! Marcador no definido.**3.5. ¿Cuál es el destino de los genes?**

Desde el punto de vista genético y biológico, no cabe la menor duda de que el papel de los genes en la evolución -su destino en el espacio y en el tiempo- es un tema importante. Sin embargo, en la historia genética de los premios Nobel -que es el objeto del presente estudio- no ha habido ninguno que tuviera que ver con este tema.

Posiblemente habría que pensar que las instituciones responsables de la propuesta y de la concesión de los premios consideren la problemática evolutiva alejada de las áreas de Fisiología y Medicina o de Química. Sin embargo, a este respecto, me gustaría recordar las palabras de Dobzhansky (1973) cuando decía que "nada en Biología tiene sentido si no es a la luz de la evolución" y que su discípulo Francisco J. Ayala (1980) parafraseó diciendo que "nada en la Biología es comprensible si no es a la luz de la Genética". Incluso este mismo año, al justificar la concesión del premio Nobel de Fisiología y Medicina a Lewis, Nüsslein-Volhard y Wieschaus por sus estudios sobre el control genético del desarrollo embrionario temprano en la mosca *Drosophila melanogaster*, la institución Karolinska reconocía la trascendencia de tales investigaciones por su extrapolación y aplicabilidad al embrión humano, ya que la evolución ha conservado informaciones genéticas semejantes en ambos organismos durante cientos de millones de años. Con este ejemplo quiero defender la idea de que también los aspectos evolutivos podrían ser objeto de consideración de posibles premios Nobel.

Otro tanto podríamos decir de las investigaciones en torno al origen de la vida, desde el punto de vista de la evolución química (síntesis prebiótica) o de la evolución del "mundo del ARN" y del "mundo de las ribonucleoproteínas" que llevó al "mundo del ADN" y a la aparición del *progenote* como precursor de los *urcariotas*, las *eubacterias* y las *arqueobacterias* (Pace *et al.*, 1986; Orgel, 1987; Joyce, 1989). Hasta hace relativamente poco tiempo fue un círculo vicioso del "huevo y la gallina" el establecer científicamente que fue antes si los ácidos nucleicos o las proteínas, si el ADN o el ARN, puesto que desde la perspectiva actual de nuestro mundo biológico no sería fácil comprender cómo se puede sintetizar el ADN o el ARN si no hubiera enzimas (proteínas) y, a su vez, éstas no podrían existir si no se produjeran unos procesos de síntesis de proteínas que parten de un mensaje codificado en forma de ácidos

nucleicos. El nudo gordiano del círculo vicioso se rompe en el momento en que se acepte que el sistema genético actual es el resultado de la evolución de un sistema genético prebiótico anterior al ARN del que se originó el "mundo del ARN" que evolucionó hacia otro de las ribonucleoproteínas a partir del cual surgió, por fin, el "mundo del ADN" en el que se produjo ya la evolución celular y de los organismos, como hemos mencionado anteriormente.

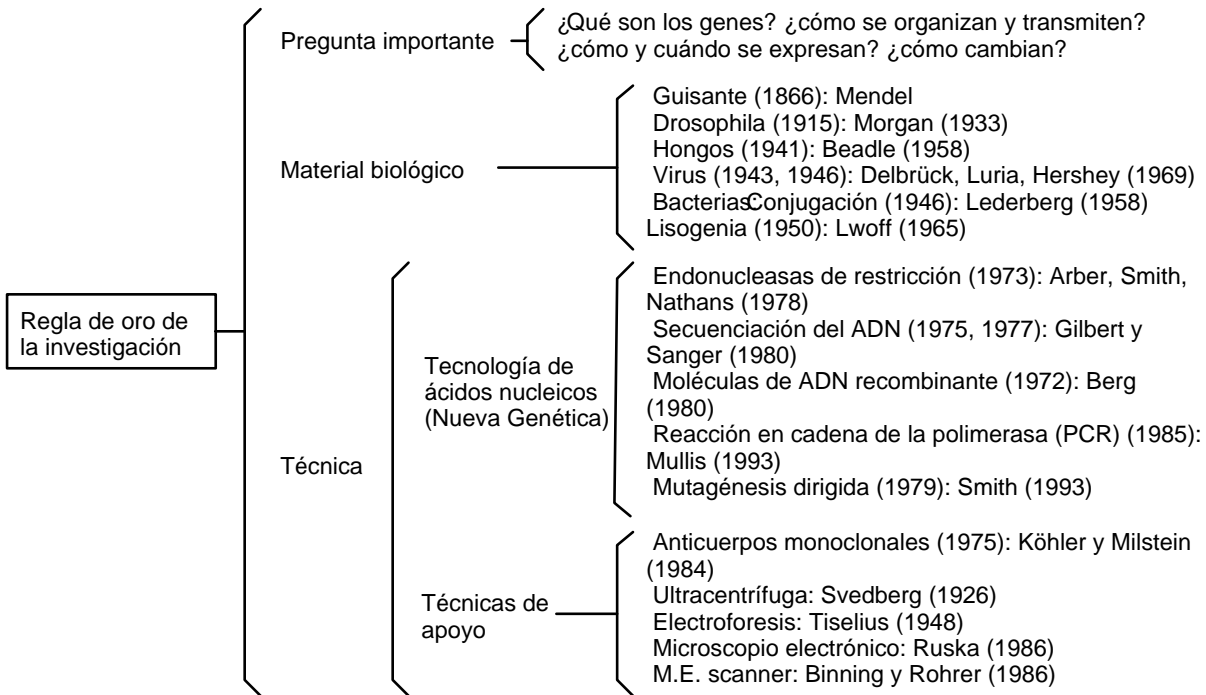
Posiblemente, el descubrimiento de la actividad catalítica del ARN por los premios Nobel Altman y Cech antes citados pueda representar la espada que rompió el nudo gordiano. Un dato experimental adicional que, de alguna manera, confirmaría las especulaciones en torno al tema fue aportado por Doudna y Szostak (1989) quienes demostraron que un derivado de la ribozima de Cech tenía propiedades de replicasa, catalizando la unión de múltiples oligonucleótidos alineados sobre un molde externo (ver Orgel, 1994).

Aunque, nuestro conocimiento de la transición prebiótica al "mundo del ARN" está plagado de incertidumbres por falta de datos experimentales, es hora -como señalaba Joyce (1989)- de situar la evolución del ARN en el contexto de la química que le precedió y de la biología que le siguió. Por ello pienso que, en términos de evolución del aparato genético, habría que gritar, parafraseando la antigua fórmula de proclamación de los reyes en la monarquía francesa: el ADN ha muerto, ¡viva el ARN! (Lacadena, 1991*b*). En este contexto es, sin embargo, importante señalar que empieza a apuntar la posibilidad de que también el ADN pueda reunir la doble propiedad de almacenar información y catalizar reacciones (desoxirribozima) tal como señalan Cuenod y Szostak (1995).

#### ¡Error! Marcador no definido. **4. EL MÉTODO CIENTÍFICO EN GENÉTICA Y LOS PREMIOS NOBEL**

El método científico hipotético-deductivo implica el planteamiento de una hipótesis -basada en y coherente con datos previamente conocidos- que debe ser sometida a rigurosas pruebas experimentales. Los resultados obtenidos conducirán al planteamiento de nuevos experimentos para contestar los nuevos interrogantes surgidos.

La regla de oro de la investigación biológica, extensible obviamente a la investigación genética, se basa en tres puntos: qué pregunta o problema se trata de resolver, en qué material biológico y mediante qué técnica. No hay duda que si un investigador quiere llegar a premio Nobel habrá de plantearse una pregunta importante y, a partir de ahí, decidir cuál es el organismo más adecuado para abordar el problema y si dispone de la técnica necesaria. Veamos cómo se ha aplicado en la historia "nobelada" de la Genética la regla de oro de la investigación (Ver el Cuadro 5).



**Cuadro 5.- El método científico en Genética y los premios Nobel** (las fechas indicadas en primer corresponden a las de publicación de los trabajos originales fundamentales mientras que las que aparecen detrás de los nombres hacen referencia a las de concesión del premio Nobel)

#### 4.1. La pregunta

Como se ha venido exponiendo a lo largo del presente estudio, las preguntas planteadas en el desarrollo del contenido formal (concepto) de la Genética han sido importantes: ¿qué son los genes? ¿cómo se organizan y transmiten? ¿cómo y cuándo se expresan? ¿cómo cambian? ¿cuál es su destino?. La respuesta a todas ellas -excepto la última- han sido ocasión de numerosos premios Nobel, como hemos visto anteriormente.

#### ¡Error! Marcador no definido.4.2. El material biológico

En su trabajo sobre "Hibridación en plantas", Mendel (1866) decía, en lo que hoy llamaríamos "Material y Métodos" de una publicación moderna, que "el valor y la utilidad de un experimento dependen de lo apropiado que sea el material para el objeto con que se emplea y, por ello, en el caso que nos ocupa no carece de importancia qué plantas se emplean para experimentar...", y a continuación indicaba las condiciones que debían reunir: "Las plantas experimentales -decía Mendel- deben necesariamente poseer caracteres diferenciales constantes..., estar protegidas de la influencia de polen extraño... y no presentar perturbaciones en la fertilidad de los híbridos y su descendencia", añadiendo a continuación que: "... En un principio se prestó especial atención a las leguminosas, debido a su peculiar estructura floral. Se hicieron experimentos con varios miembros de esta familia que condujeron al resultado de que el género *Pisum* posee las cualidades necesarias". Y así fue como el guisante, *Pisum sativum*, se convirtió en el material biológico "fundador" de la Genética.

Al redescubrimiento de las leyes de Mendel en 1900 siguió una investigación masiva para comprobar si las hipótesis propuestas eran de aplicación universal. Así, cabe señalar, entre otras, las investigaciones de Cuénot (1902) con ratones, Bateson con gallinas (Bateson and Saunders, 1902) y las del premio Nobel Morgan y su escuela (Morgan *et al.*, 1915) con *Drosophila melanogaster*, que fue durante muchos años el organismo animal básico de la investigación genética: la "reina fundadora", en palabras de Dobzhansky.

Cuando, al término de la etapa cronológica de la "Genética de la transmisión" (1866-1900-1940), se planteó Beadle abordar el problema del modo de acción de los genes introdujo -como ya he comentado anteriormente- dos innovaciones importantes en la investigación genética:

por un lado, analizar los genes que controlan las reacciones químicas y, por otro lado, utilizar los *hongos* como nuevo material biológico. El propio Beadle (1958), en su discurso de recepción del premio Nobel y haciendo referencia y reconociendo el mérito de Garrod, dijo: "Nosotros... éramos conscientes de que poco, si algo, habíamos añadido en principio. Estábamos trabajando con un organismo más favorable y éramos capaces de producir, casi a voluntad, errores congénitos del metabolismo [mutantes nutricionales]... lo que Garrod había mostrado para unos pocos genes y unas pocas reacciones químicas en el hombre, era cierto para muchos genes y muchas reacciones en *Neurospora*".

A final de la década de los años treinta y principio de los cuarenta se introducen en la investigación genética de la mano de Max Delbrück y colaboradores los virus y las bacterias. Un primer paso fue el estudio cuantitativo de la interacción fago-bacteria que establecieron Ellis y Delbrück (1939) mediante la técnica denominada de *crecimiento en escalón* (*one-step growth experiment*) que permite analizar la tasa de multiplicación de los fagos.

El paso siguiente lo dieron Salvador E. Luria y Delbrück en 1943. Como dicen Stent y Calendar (1978) en su obra narrativa de la Genética Molecular, "lo mismo que el nacimiento de la Genética tuvo lugar en 1865 con la publicación del trabajo de Mendel, el nacimiento de la Genética Bacteriana tuvo lugar en 1943 con la publicación por Luria y Delbrück de su trabajo «Mutations of bacteria from virus sensitivity to virus resistance». Ello no quiere decir que el trabajo de Luria y Delbrück fuera el primer estudio sobre mutación en bacterias, como tampoco Mendel fue el primero que utilizó el cruzamiento artificial entre plantas para estudiar la herencia; pero en su investigación, Luria y Delbrück hicieron por la Genética Bacteriana lo que Mendel por la Genética: indicar el tipo de experimentación, la forma de manejar los datos obtenidos y, sobre todo, la complicación que requiere la obtención de resultados significativos y concretos".

De poco hubieran servido los virus y las bacterias en la investigación genética si no se hubiera podido estudiar sus mutaciones mediante el análisis de la recombinación. El descubrimiento de la recombinación en los fagos lo hicieron en 1946 Delbrück y Bailey, por un lado, y Alfred D.

Hershey, por otro; si bien el primer estudio completo se debe a éste último (Hershey and Rotman, 1949). Recordemos, además, que Hershey y Chase (1952) demostraron que la información genética de los virus está en su ADN y no en las proteínas. En 1969, Delbrück, Luria y Hershey recibieron el premio Nobel "por sus descubrimientos sobre el ciclo de reproducción de los virus y el papel del material genético en las bacterias y los virus". Aquí me parece oportuno volver a citar a André Lwoff, premio Nobel 1965 "por su descubrimiento del control genético en los virus", en concreto por sus estudios sobre la lisogenia (Lwoff and Gutmann, 1950; Lwoff *et al.*, 1950; Lwoff, 1953).

En relación con las bacterias, fue Joshua Lederberg quien, en colaboración con Tatum, demostró por vez primera el fenómeno de recombinación genética debido al proceso de *conjugación* (Lederberg and Tatum, 1946; Tatum and Lederberg, 1947). También contribuyó al esclarecimiento de la sexualidad en las bacterias como "donadoras" y "receptoras" (Lederberg *et al.*, 1952). Lederberg recibió el premio Nobel en 1958 "por sus descubrimientos relacionados con la recombinación genética y la organización del material genético en las bacterias".

#### ¡Error! Marcador no definido. **4.3. La técnica**

En este apartado nos referiremos a la tecnología de los ácidos nucleicos, por un lado, y a las técnicas de apoyo, por otro.

#### **¡Error! Marcador no definido.** - *Tecnología de los ácidos nucleicos*

Como se ha indicado anteriormente, la etapa cronológica de la historia de la Genética que abarca de 1975 a 1985 se caracteriza por el desarrollo y aplicación de nuevas técnicas moleculares al análisis genético. Estas técnicas son la *restricción*, la *hibridación* y la *secuenciación* de los ácidos nucleicos que, en palabras del premio Nobel Daniel Nathans (1979), caracterizan la *Nueva Genética* (ver Lacadena, 1988b).

Por *restricción* se entiende la posibilidad de fragmentar el ADN por la acción de enzimas (*endonucleasas de restricción*) que reconocen secuencias específicas palindrómicas dentro del ADN y cortan la molécula por dichos puntos (Arber, 1974; Nathans and Smith, 1975). El grupo de



Nathans (Danna *et al.*, 1973) fue uno de los pioneros en la construcción de *mapas de restricción* utilizando varias enzimas y separando los *fragmentos de restricción* por electroforesis en gel. Otra utilización práctica de las endonucleasas de restricción es el análisis del *polimorfismo para la longitud de los fragmentos de restricción* (RFLP). Werner Arber, Hamilton O. Smith y Daniel Nathans recibieron el premio Nobel en 1978 "por su descubrimiento de las endonucleasas de restricción y su aplicación en genética molecular".

La *hibridación* de ácidos nucleicos quiere decir que, utilizando moléculas monocatenarias complementarias, se pueden construir moléculas bicatenarias híbridas ADN-ADN o ADN-ARN, pudiéndose realizar tal hibridación en sistemas *in vitro* o *in situ* sobre los cromosomas en las preparaciones citológicas.

La *secuenciación* de ácidos nucleicos significa la posibilidad de "leer" directamente la secuencia de bases contenidas en un fragmento de ADN. Frederick Sanger desarrolló en 1975 un método enzimático de secuenciación (*método "menos-más"*, "*minus-plus*", Sanger and Coulson, 1975) que luego modificó en 1977 (*método didesoxi* o *de terminación de cadena*, Sanger *et al.*, 1977b). Mediante la secuenciación de diferentes fragmentos de restricción y empalmado unas secuencias con otras, Sanger y colaboradores determinaron la secuencia completa de nucleótidos del cromosoma del fago  $\phi$  X174 (5.375b, Sanger *et al.*, 1977a) y del ADN mitocondrial humano (16.569pb, Anderson *et al.*, 1981), permitiéndoles analizar su organización genética.

Por su parte, Walter Gilbert ideó en 1977 otro procedimiento de secuenciación basado, no en la síntesis enzimática, sino en la modificación química del ADN (Maxam and Gilbert, 1977). En 1980, Gilbert y Sanger recibieron el premio Nobel de Química "por sus contribuciones a la determinación de las secuencias de bases en los ácidos nucleicos".

Las aplicaciones de las técnicas de secuenciación a la investigación genética son fabulosas. Por un lado permiten "leer" la información genética de los genes así como conocer la organización molecular del genoma de los organismos, desde los más simples, como el virus  $\phi$  X174 antes mencionado, hasta los más complejos, como es el genoma humano.

De todos es conocida la importancia del denominado Proyecto Genoma Humano (3.000 millones de pares de bases) que se inició en 1988 y que se prevee finalizar en torno al año 2005. Algunas veces se utiliza la comparación de lo que supuso para la Medicina la obra de Andrés Vesalio (1515-1564) "*De fabrica humani corporis*" (1543) como fundamento de la Anatomía moderna con lo que el Proyecto Genoma Humano puede significar para la Medicina del futuro, la que algunos autores han bautizado como Medicina Predictiva y Medicina Genómica. Como decía el premio Nobel Watson (1990), decidido defensor del Proyecto Genoma Humano: "Nunca se encontrará un conjunto de libros de instrucción más importante. Cuando sean finalmente interpretados, los mensajes genéticos codificados dentro de nuestro ADN nos proporcionarán las últimas respuestas a los cimientos químicos de la existencia humana. No solamente nos ayudarán a comprender cómo funcionamos como seres humanos sanos, sino que también nos explicarán a nivel químico el papel de los factores genéticos en una multitud de enfermedades -como el cáncer, la enfermedad de Alzheimer y la esquizofrenia- que disminuyen la [calidad de] vida individual de millones de personas". Las implicaciones éticas y legales del proyecto son importantes, pero no es éste el momento adecuado de abordarlas (ver Lacadena, 1993).

Por otro lado, una aplicación de la secuenciación del ADN es realizar el análisis genético en la dirección gen→proteína, contraria al análisis convencional. Es decir, partiendo de la secuencia total o parcial de un gen se puede identificar mediante anticuerpos monoclonales (ver más adelante) dónde se sintetiza en el organismo la proteína para la que codifica el gen secuenciado. Es lo que se ha venido en denominar la *Genética Inversa* (Orkin, 1986) que, como se ha indicado anteriormente, forma parte substancial de la última etapa cronológica de la Genética que estamos viviendo actualmente.

Como he tenido oportunidad de decir en otras ocasiones (Lacadena, 1988b), en la actualidad puede decirse que los genes -los abstractos "factores hereditarios" de Mendel- se han hecho tangibles, ya se pueden "tocar". Son fragmentos de ADN que se pueden identificar y aislar de entre toda la masa de ADN del genoma, que se pueden transferir de unas células a otras, de unos individuos a otros de la misma o de distinta especie. Por

esta razón, cuando se habla de *manipulación genética* no hay que darle un sentido peyorativo al término manipulación, sino el de "operar con las manos o con cualquier instrumento" como define la Real Academia Española. La puesta a punto de las técnicas mencionadas ha proporcionado a la Genética Molecular una potencialidad enorme que es de esperar siempre sea utilizada para bien de la humanidad. Aquí podría recordar cómo hace treinta años, Fred Hoyle, astrónomo de la Universidad de Cambridge, profetizaba que "...los físicos, que sólo fabrican inofensivas bombas de hidrógeno, trabajarán en libertad, mientras que los biólogos moleculares lo harán tras alambradas eléctricas". Salvando las distancias, podríamos hacer la siguiente comparación: lo mismo que el poder y el peligro de la Física se alcanzó cuando los científicos fueron capaces de "tocar" los átomos -me refiero a la Física Atómica y la energía nuclear-, el poder y el peligro potencial de la Genética se han hecho realidad cuando los científicos han podido "tocar" (manipular) los genes. Esperemos que el ADN -la doble hélice- no se convierta en una molécula de doble filo (Lacadena, 1990).

La *ingeniería genética molecular* surgió en la década de los setenta para manifestarse con un potencial fabuloso de aplicaciones en la década de los ochenta. Su fundamento científico está basado en la obtención de *moléculas de ADN recombinante*, entendiendo por tales la unión artificial -recombinación en concepto genético, de ahí su nombre- de fragmentos de ADN de procedencia distinta. En esencia, la ingeniería genética molecular consiste en la unión de un fragmento de ADN (un gen, por ejemplo) a otra molécula de ADN (puede ser el cromosoma de un virus o de un plasmidio) que, haciendo de vector, permitirá introducir dicho fragmento en células bacterianas o eucarióticas donde se multiplicará (clonación) y, en su caso, se expresará, sintetizando tales células los polipéptidos codificados por los genes introducidos. Por ejemplo, un gen humano que se exprese en una célula bacteriana producirá la síntesis de la proteína humana en ésta.

La obtención de las moléculas recombinantes de ADN se realiza construyendo extremos monocatenarios complementarios (*extremos cohesivos*) en los fragmentos que se quiere unir. Paul Berg y colaboradores (Jackson *et al.*, 1972) utilizaron las enzimas nucleotidil terminal transferasas para fabricar los extremos cohesivos, que también se pueden

generar mediante endonucleasas de restricción que producen roturas en bisel en las regiones de secuencias palindrómicas que reconocen. En 1980, Berg recibió el premio Nobel de Química (que compartió con Gilbert y Sanger) "por sus estudios fundamentales de bioquímica sobre ácidos nucleicos, en particular el ADN recombinante".

Un factor limitante en algunas técnicas modernas de Genética Molecular - como son la secuenciación o la identificación del ADN por su polimorfismo para ciertas secuencias de nucleótidos repetidas en tándem (*ADN minisatélite* o *microsatélite*)- es la cantidad de ADN disponible. Tal sería el caso, por ejemplo, de una investigación de un crimen y sólo hubiera posibilidad de analizar una pequeña mancha de sangre, de esperma o de pelos. En 1985, Kary B. Mullis y colaboradores (Saiki *et al.*, 1985) inventaron la técnica de *reacción en cadena de la polimerasa*, abreviadamente conocida como PCR, que permite amplificar *in vitro* pequeños fragmentos de ADN, obteniendo millones de copias a partir de una única copia original por medio de la repetición de ciclos sucesivos de desnaturalización y síntesis del ADN. Para ello se utilizan oligonucleótidos como cebadores que sirven para iniciar cada nuevo proceso de síntesis en los extremos del fragmento que se quiere amplificar (Mullis *et al.*, 1986; Mullis and Faloona, 1987; Mullis, 1990). La automatización del proceso en un termociclador ha sido posible utilizando ADN polimerasas que no se desnaturalizan a las elevadas temperaturas en que se produce la desnaturalización. En este aspecto ha jugado un papel importante la ADN polimerasa de *Thermus aquaticus* (Innis *et al.*, 1988), que fue propuesta como "molécula del año" en 1989 por la revista *Science* (Guyer and Koshland, 1989).

La aplicabilidad de la PCR es tan grande que puede decirse que no hay hoy en día un laboratorio de Biología Molecular que no disponga de un termociclador. En 1993, Mullis recibió el premio Nobel de Química "por su invención del método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR)". Kary B. Mullis es un premio Nobel atípico, tanto por no estar vinculado a ningún centro oficial de investigación como por su propia personalidad humana. Incluso fue inusual la forma en la que gestó su idea de la reacción en cadena de la polimerasa en compañía de una muchacha a la luz de las estrellas, según él mismo ha narrado (Mullis, 1990).

Dentro de las técnicas innovadoras incluidas en la tecnología de los ácidos nucleicos que caracterizan la Nueva Genética hay que incluir también la de la *mutagénesis dirigida* basada en oligonucleótidos sintéticos puesta a punto por Michael Smith que, como ya se ha mencionado anteriormente, le permitió compartir el premio Nobel de Química 1993 con Mullis.

**¡Error! Marcador no definido.** - *Técnicas de apoyo*

Además de las técnicas directamente relacionadas con la tecnología de los ácidos nucleicos, puede ser interesante hacer referencia a otras que podríamos llamar "técnicas de apoyo" que también fueron merecedoras del galardón Nobel.

La técnica de la obtención de los *anticuerpos monoclonales* mediante *hibridomas* fue puesta a punto por César Milstein y George J. F. Köhler mediada la década de los setenta (Köhler and Milstein, 1975, 1976; Milstein, 1980; Milstein and Cuello, 1983). Los hibridomas son células híbridas de linfocitos y células de mieloma capaces de mantener, por un lado, la propiedad de inmortalidad de la célula cancerosa y, por otro lado, la de sintetizar un tipo concreto de anticuerpo. Es decir, cada clon celular híbrido es una fuente de producción a largo plazo de cantidades substanciales de un solo anticuerpo altamente específico: el anticuerpo monoclonal.

Dentro de la inmunogenética, la producción de anticuerpos monoclonales se ha convertido en una herramienta de trabajo indispensable en la investigación biomédica actual. En 1984, Köhler y Milstein recibieron el premio Nobel "por sus descubrimientos del principio que rige la producción de anticuerpos monoclonales".

Aunque no se trata de investigaciones en el campo de la Genética, no sería lógico terminar este apartado sin mencionar la invención de la ultracentrífuga de Svedberg, la técnica de electroforesis de Tiselius, el microscopio electrónico de Ruska y el microscopio electrónico de barrido (*scanner*) de Binning y Rohver, de tanta utilidad en la investigación moderna, que recibieron los respectivos premios Nobel en 1926, 1948 y 1986.

## ¡Error! Marcador no definido.5. ÁREAS ESPECÍFICAS DE INVESTIGACIÓN EN GENÉTICA Y PREMIOS NOBEL

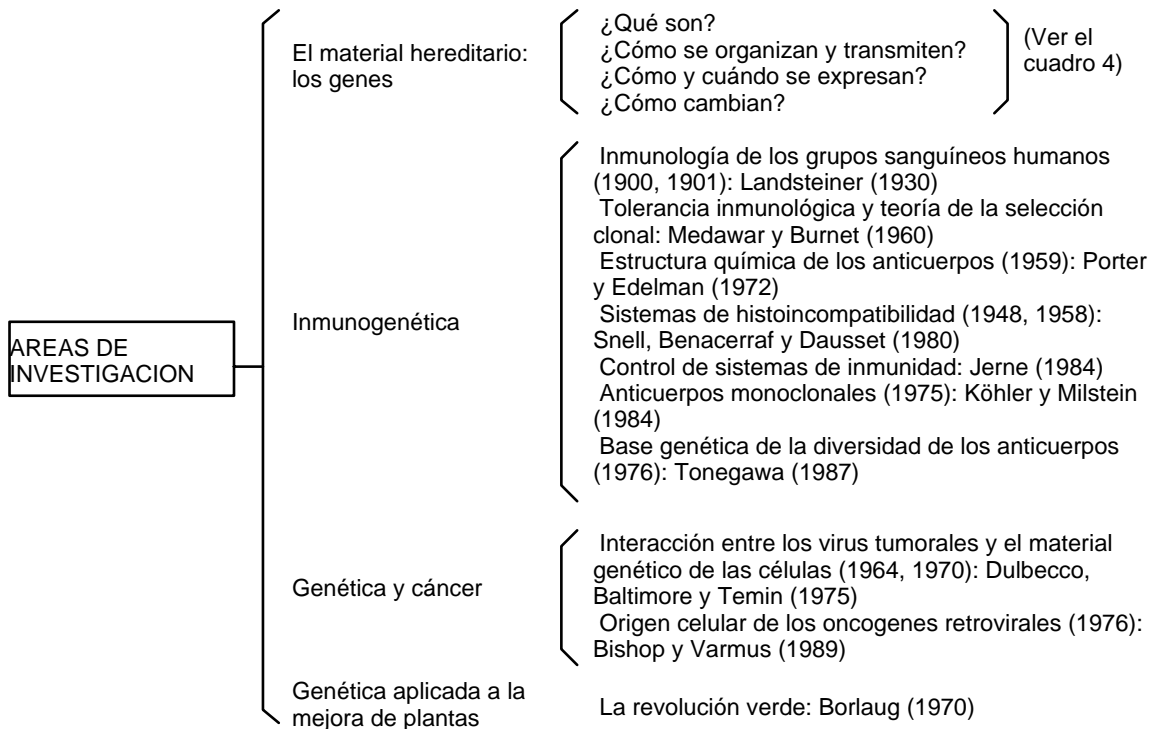
El análisis del desarrollo histórico-conceptual de la Genética desde el punto de vista de los premios Nobel concedidos pone de manifiesto que - además de las investigaciones realizadas para dar contestación a las preguntas referentes al concepto de Genética como ciencia que estudia el material hereditario: ¿qué son los genes? ¿cómo se organizan y transmiten? ¿cómo y cuándo se expresan? ¿cómo cambian?- hay algunas áreas específicas que también han sido motivo de concesión del galardón, tales como la Inmunogenética, la Genética y el Cáncer y la Genética aplicada a la Mejora de Plantas (ver el Cuadro 6).

### ¡Error! Marcador no definido.5.1. Inmunogenética

El contenido del presente apartado está basado en Lacadena (1988a).

Resulta llamativo que en seis ocasiones se haya concedido el premio Nobel a investigaciones realizadas en el campo de la Inmunogenética.

Las primeras investigaciones del campo de la Inmunología que fueron relacionadas más tarde con la Genética fueron las de los grupos sanguíneos humanos del sistema A,B,0 realizadas por Karl Landsteiner en 1900 y 1901 que le condujeron a clasificar las personas como pertenecientes a una de cuatro clases (fenotipos) posibles según se produjera o no aglutinación al mezclar suspensiones de eritrocitos de un tipo con suero sanguíneo de otro tipo (pruebas cruzadas de aglutinación). A tales clases las denominó A,B,AB y 0. La aglutinación es debida a la reacción de sustancias antigénicas específicas presentes en la superficie de los glóbulos rojos con anticuerpos específicos presentes en el suero sanguíneo. Cuando Landsteiner realizó estos estudios se acababan de redescubrir las leyes de Mendel y él no aportó la explicación genética. El determinismo genético (una serie alélica) fue establecido veinticinco años más tarde por Bernstein. Landsteiner que también descubrió los sistemas M,N (Landsteiner and Levine, 1927) y Rh (Landsteiner and Wiener, 1940), recibió el premio Nobel en 1930 "por sus descubrimientos de los grupos sanguíneos de la especie humana".



**Cuadro 6.- Areas específicas de investigación en Genética y premios Nobel** (Las fechas que se citan en primer lugar corresponden a las de los trabajos originales fundamentales mientras que las que aparecen detrás de los nombres de los investigadores hacen referencia a las de concesión del premio)

Los mecanismos de defensa de los organismos sirven para inactivar o eliminar elementos extraños por medios tales como la fagocitosis, la encapsulación o la producción de sustancias solubles. Sin embargo, junto a estos mecanismos filogenéticamente antiguos, los vertebrados han desarrollado un *sistema inmune* extraordinariamente específico basado a nivel molecular en la producción de *anticuerpos* o *inmunoglobulinas* y a nivel celular en el concurso de *elementos linfoides*. Esta dicotomía funcional -inmunidad humoral *versus* inmunidad celular- se refleja a nivel

citológico en la existencia de dos poblaciones de células linfoides: las células B y las células T.

La *respuesta inmune* dentro de los vertebrados superiores puede consistir en una *respuesta humoral* -en la que se producen anticuerpos circulantes con especificidad hacia el antígeno que ha inducido su producción- y en una *respuesta celular* en la que los efectores son las propias células linfoides. A nivel citológico, la respuesta humoral está directamente relacionada con la diferenciación de células B en *células plasmáticas* con capacidad para secretar anticuerpos específicos.

La Inmunogenética ha planteado a lo largo del tiempo una serie de interrogantes como son los fenómenos de memoria y tolerancia inmunológica, la estructura y origen de la diversidad de los anticuerpos, los sistemas de histocompatibilidad, etc. Las investigaciones en torno a dichas cuestiones han dado lugar a la concesión de diversos premios Nobel en 1960, 1972, 1980, 1984 y 1987. Así, Peter Medawar y Frank Macfarlane Burnet lo recibieron en 1960 "por su descubrimiento de la tolerancia inmunológica adquirida" y a Rodney R. Porter y Gerald M. Edelman se les concedió el de Química en 1972 "por sus descubrimientos sobre la estructura química de los anticuerpos (Porter, 1959, Edelman, 1959; Edelman *et al.*, 1969).

El concepto de *gen principal de histocompatibilidad* fue introducido por Snell y colaboradores (Snell, 1948, 1953; Snell *et al.*, 1953) para establecer la distinción entre el gen o genes asociados con el rechazo agudo de injertos y tumores alogénicos de los *genes menores de histocompatibilidad* que controlan el rechazo crónico de injertos de tejidos alogénicos normales y no producen normalmente el rechazo de injertos de tumores. Posteriormente se supo que los genes principales están agrupados formando un nicho de loci (*cluster*) sobre un cromosoma, constituyendo el *complejo o sistema principal de histocompatibilidad* (MHC o MHS) que ha resultado ser el sistema genético más polimórfico y multialélico conocido en los mamíferos. También Snell (1948, 1953) desarrolló el concepto, e inició la producción, de líneas *congénicas* o *isogénicas* de ratón cuyo análisis le permitió establecer las bases genéticas y biológicas de la histocompatibilidad en general y de la estructura genética del sistema principal de histocompatibilidad (MHS) en particular (el sistema *H-2* del



ratón), así como su importancia en la biología de los trasplantes, la respuesta inmune, la diferenciación de células inmunes, etc.

Más tarde, Jean Dausset (1958) describió el antígeno humano *MAC* -hoy denominado *HLA-A2*- basándose en el modelo de reacción de los anticuerpos leucocito-aglutinantes encontrados en sueros de determinadas personas. A partir de entonces se desarrollaron las investigaciones que llevaron a describir el sistema *HLA* humano como análogo del sistema *H-2* del ratón (Dausset *et al.*, 1965, 1968, 1969).

Otra aportación importante fue la realizada por Baruj Benacerraf y colaboradores quienes descubrieron la existencia de los genes responsables de la respuesta inmune (genes *Ir*); es decir, que la capacidad de un organismo para producir la respuesta inmune ante la presencia de un antígeno está controlada genéticamente. También demostraron que los genes *Ir* están situados en el complejo principal de histocompatibilidad (McDevitt and Benacerraf, 1969; Benacerraf and McDevitt, 1972).

La importancia de las investigaciones de Snell, Dausset y Benacerraf fue reconocida por el Instituto Karolinska cuando les concedió el premio Nobel en 1980 "por sus descubrimientos sobre las estructuras de las superficies celulares genéticamente determinadas que rigen las reacciones inmunológicas".

En 1984, Niels K. Jerne recibió el premio Nobel "por sus teorías sobre la especificidad en el desarrollo y control de los sistemas de inmunidad". Frente a las teorías "instruccionistas" vigentes en la época, que sugerían que el antígeno servía de molde para la formación del anticuerpo, Jerne propuso una teoría selectiva revolucionaria; es decir, la información que generan las moléculas de anticuerpo con especificidades diferentes está presente en el huésped antes de que encuentre al antígeno. Era un concepto darwiniano -la variación preexistente y la selección conducen a alteraciones en la estructura de las poblaciones- que plasmó el ya mencionado premio Nobel Burnet (1959) en la "teoría de la selección clonal" (ver Edelman, 1994).

Junto con Jerne compartieron el premio Nobel en 1984 George J. F. Köhler y César Milstein "por su descubrimiento del principio que rige la producción de anticuerpos monoclonales" que se ha comentado en un lugar

anterior. Es posible que los experimentos de Köhler y Milstein no se hubieran producido sin la influencia de las ideas de Jerne.

Uno de los problemas esenciales en la inmunología es el de explicar los *mecanismos genéticos* por los que se produce la enorme *diversidad de anticuerpos*. ¿Cómo es posible que un único genotipo pueda codificar para anticuerpos específicos para un número ilimitado de antígenos? Partiendo del conocimiento de que las *proteínas Bence-Jones* -secretadas en la orina por pacientes con mieloma múltiple (cáncer de células plasmáticas) y que corresponden a cadenas ligeras de inmunoglobulinas- tienen la mitad de su mapa peptídico común en todos los individuos y la otra mitad diferente, Dreyer y Bennet (1965) propusieron que tanto las cadenas ligeras como las pesadas de los anticuerpos podían ser el producto de dos genes distintos (V=variable y C=constante). Es decir, proponían la hipótesis *dos genes-un polipéptido*, contraria a cualquier planteamiento anterior. La hipótesis fue confirmada experimentalmente por Susumu Tonegawa y colaboradores mediante mapas físicos de restricción (Hozumi and Tonegawa, 1976) y mediante clonado y secuenciación (Bernard *et al.*, 1978). En efecto, Hozumi y Tonegawa (1976) demostraron que los *genes funcionales* de anticuerpos son ensamblados o construidos en los linfocitos B mediante sucesos de *reordenación* que mueven segmentos de ADN que codifican para *regiones variables*, aproximándolas a segmentos de ADN que codifican para *regiones constantes*; es decir, establecieron la base genética de la diversidad de los anticuerpos (Tonegawa *et al.*, 1977; Tonegawa, 1983). En 1987 recibía Tonegawa el premio Nobel "por su descubrimiento del fundamento genético de la formación de una rica variedad de anticuerpos".

Una característica fundamental del fenómeno inmune es la capacidad del organismo para reconocer cuándo una macromolécula o cualquier posible antígeno es propio o extraño, de forma que sólo en este último caso pondrá en funcionamiento los mecanismos precisos para desarrollar una respuesta inmune. No hay duda que, de alguna forma, los sistemas inmunológicos aprenden a reconocer sus propias moléculas en un proceso de aprendizaje que tiene lugar durante las primeras etapas de la vida, obviamente antes de que se desarrolle la respuesta inmune para las proteínas o antígenos extraños. Se llama *tolerancia inmunológica* a la falta de respuesta inmune

frente a cualquier antígeno presente ya en el organismo cuando éste inicia el desarrollo del sistema generador de anticuerpos o de células T; es decir, la tolerancia inmunológica es la capacidad de reconocer "lo propio" y no responder inmunológicamente. Como hemos mencionado anteriormente, los premios Nobel Peter B. Medawar y Frank Macfarlane Burnet estudiaron el fenómeno de la tolerancia inmunológica.

Una diferencia importante entre los linfocitos B y T es que los primeros se activan con la sola presencia del antígeno que les es específico, mientras que los linfocitos T sólo se activan si el antígeno está expuesto en la superficie de una célula que lleve además las "señas de identidad" del propio individuo. Tales "señas de identidad" están determinadas por su sistema principal de histocompatibilidad (MHC) codificado, en el caso humano, por el conjunto de genes que constituyen el denominado sistema HL-A y que está localizado en el cromosoma 6. Dentro del sistema HL-A son especialmente importantes los genes de la clase I y de la clase II.

Las *células T citotóxicas* responden al antígeno específico y a la presencia simultánea de una proteína MHC de la clase I, mientras que las *células T ayudantes* responden al antígeno específico y a la presencia simultánea de una proteína MHC de la clase II. La necesidad de las células T de reconocer las "señas de identidad" del propio sistema MHC se denomina *fenómeno de restricción MHC*. El proceso por el cual las células T adquieren durante su paso por el timo la propiedad de reconocer los antígenos sólo en presencia de las proteínas MHC del propio individuo se conoce con el nombre de *educación o maduración tímica*.

Por *mismidad genética* se entiende la condición genética de ser uno mismo o por la cual se es uno mismo. Es equivalente a *identidad genética*, concepto relacionado con la capacidad genética del organismo de distinguir lo "propio" de lo "extraño". De lo dicho anteriormente se desprende que el concepto de identidad o mismidad genética depende, por lo tanto, de las proteínas de las clases I y II codificadas por los respectivos genes del sistema principal de histocompatibilidad (MHC). En otras palabras, el "documento de identidad" o las "señas de identidad" genéticas de un individuo están escritos en los genes de su sistema HLA. Ello justificaría, tal como se ha indicado antes, su elevado polimorfismo.

Todo lo dicho nos lleva a plantear la cuestión de cuándo en el desarrollo del individuo se actualiza su identidad o mismidad genética. Es decir, aunque el genotipo del cigoto incluye ya, obviamente, el sistema HLA con un haplotipo (genotipo) determinado, sin embargo su actualización no se hace efectiva hasta que los genes que contiene se expresen (transcripción) y se sinteticen (traducción) las proteínas correspondientes. En ese momento podría decirse que quedan fijadas las "señas de identidad" del individuo. Estas cuestiones pueden tener trascendencia cuando se discuten las consideraciones genético-biológicas sobre el desarrollo embrionario humano y la individualidad del nuevo ser humano (Lacadena, 1995b). No cabe duda que el título de la Conferencia Nobel de Burnet en 1960 - "Immunological recognition of self"- resulta premonitorio. Para una biografía de Sir Frank Macfarlane Burnet ver Sexton (1992).

## ¡Error! Marcador no definido.5.2. Genética y Cáncer

Bajo la denominación de *cáncer* se incluyen muchas enfermedades distintas, pero que tienen una característica común: las células se multiplican cuando no deberían hacerlo o a un ritmo de división anormal. En otras palabras, la célula cancerosa ha perdido la capacidad de controlar su crecimiento y división, de manera que se divide cuando y donde no debería hacerlo. Dada la importancia clínica y la incidencia del cáncer en la población humana, puede resultar chocante que sólo haya habido dos premios Nobel concedidos a investigadores que han trabajado en aspectos genéticos del cáncer.

El *Dogma Central de la Biología Molecular* (Crick, 1970) establece que el flujo de información genética ocurre en la dirección ADN→ARN→proteínas. Sin embargo, Howard M. Temin demostró que no siempre se cumple el dogma.

El virus del *sarcoma de Rous* es un virus ARN que produce cáncer de tejido conectivo en el pollo. Temin comprobó que la infección del virus ARN era inhibida por la actinomicina D -antibiótico que inhibe la síntesis de ARN a partir de un ADN molde, pero no la replicación del ARN a partir de otro ARN-, concluyendo que dicho virus podía replicarse a través de un ADN intermediario cuya información genética habría sido transferida, evidentemente, a partir del ARN viral. En 1964, Temin demostró, mediante

hibridación de ácidos nucleicos ADN-ARN, la complementariedad de un ADN aislado en células de pollo infectadas con el virus del sarcoma de Rous. Sin embargo, al no conocerse en aquella época la existencia de sistema enzimático alguno capaz de sintetizar ADN a partir del ARN, sus hipótesis no fueron universalmente aceptadas hasta que logró demostrar la existencia de una enzima que realizaba la *transcripción inversa* (Temin and Mizutani, 1970). Simultáneamente, pero con un material biológico distinto (el virus ARN que produce la *leucemia de Rauscher* en el ratón), David Baltimore (1970) obtuvo resultados similares a los de Temin. Posteriormente otros investigadores demostraron que la enzima aislada por Temin presentaba la misma actividad en sistemas *in vitro* en los que se utilizaban como ARN molde polirribonucleótidos sintéticos (Gallo, 1971). La enzima fue inicialmente denominada como *ADN polimerasa-ARN dependiente*, pero dado que también tiene actividad de síntesis de ADN utilizando como molde ADN, Temin (1972) propuso la denominación más matizada de *ADN polimerasa-ARN dirigida*. Puesto que la función que cataliza esta enzima es una transcripción en sentido inverso, se le llama normalmente *transcriptasa inversa*. Este tipo de enzimas se ha convertido en una útil herramienta en la Genética Molecular moderna para la obtención del *ADN copia (ADNc)* a partir del ARN mensajero.

Las investigaciones de Temin y Baltimore contribuyeron al conocimiento del comportamiento de estos virus oncogénicos, también denominados *virus ARN-ADN*, *ribodesoxivirus* o *retrovirus* (Temin and Baltimore, 1972; Temin, 1974). Muchos años más tarde, los retrovirus han vuelto a la actualidad puesto que incluyen al virus responsable de la inmunodeficiencia adquirida humana (*HIV*) que produce el SIDA (síndrome de inmunodeficiencia adquirida). Temin y Baltimore recibieron el premio Nobel en 1975, junto con su maestro Renato Dulbecco, "por sus descubrimientos en relación con la interacción entre los virus tumorales y el material genético en la célula".

El estudio de los virus tumorales condujo al descubrimiento de los *oncogenes* como responsables del cáncer. Utilizando mutantes condicionales sensibles a la temperatura del virus del sarcoma de Rous, Martin (1970) descubrió la existencia del gen *src* como responsable de la transformación celular. Posteriormente se demostró que el producto de

acción del gen *src* es una fosfoproteína de 60 kilodalton (pp60-*src*) que tiene una actividad enzimática proteína quinasa.

La casuística del fenómeno canceroso es tan variada que no podía ser explicada únicamente en términos de infección viral. Por ello, Huebner y Todaro (1969) propusieron la "hipótesis del oncogén", sugiriendo que todas las células de los organismos llevan incorporadas en sus genomas los oncogenes de los retrovirus a partir de infecciones virales producidas en los primeros tiempos de la evolución. Si tal hipótesis fuera correcta ello significaría que en las células normales de los vertebrados debería encontrarse el gen *src*. Y así fue, en efecto: J. Michael Bishop, Harold E. Varmus y colaboradores, utilizando *ADNc* obtenido por transcripción inversa a partir del ARN del gen *src*, demostraron en 1976 que el ADN de pollos y otras aves no cancerosas hibridaba con el *ADNc* del gen *src*; es decir, el gen *src* (o una secuencia homóloga) estaba presente en las células normales (Stehelin *et al.*, 1976).

Aunque los descubrimientos mencionados aparentemente parecían corroborar la "hipótesis del oncogén" de Huebner y Todaro, sin embargo hubo datos experimentales posteriores que invirtieron la explicación evolutiva del fenómeno, ya que los genes celulares homólogos a los oncogenes virales tienen intrones y éstos no y, además, el gen se expresa en las células normales produciendo una proteína con estructura y función similares a la codificada por el gen viral *src*. Una explicación racional a estos hechos fue propuesta por Bishop (1981): en las células normales existen los *proto-oncogenes* u oncogenes celulares (*c-onc*) que codifican para proteínas cuya actividad es esencial para el normal funcionamiento de las células. Al producirse una infección por un retrovirus puede ocurrir que el virus incorpore en su genoma el oncogén celular, pasando a constituir un *oncogén viral* (*v-onc*). Para distinguir el gen *src* en ambas situaciones se representa como *c-src* y *v-src* y las proteínas codificadas como pp60*c-src* y pp60*v-src*, respectivamente.

Teniendo en cuenta la diversidad de datos experimentales disponibles - como que el oncogén *c-src* está presente y activo en las células normales; que algunos retrovirus no tienen el gen *v-src* y, sin embargo, pueden inducir la transformación celular; que la estimulación de oncogenes celulares por promotores virales desencadena el proceso canceroso; que las

anomalías cromosómicas o los agentes químicos o físicos pueden tener efectos cancerígenos; etc.- Bishop (1982) propuso una teoría unificada que explicara todas las situaciones posibles, proponiendo así su *hipótesis de la dosis*: el oncogén celular (*c-onc*) determina la síntesis en cantidades adecuadas de una proteína requerida para el crecimiento y comportamiento normales de la célula, pero la producción de una cantidad anormalmente excesiva de la misma o la expresión inadecuada (mutación) del oncogén celular induce el proceso canceroso. La superproducción de la oncoproteína puede originarse por la integración en el genoma celular de un ADN de procedencia viral con o sin *v-onc*, por reordenamientos cromosómicos estructurales, por amplificación génica del *c-onc*. etc.

En 1989, Bishop y Varmus recibieron el premio Nobel "por sus descubrimientos sobre el origen celular de los oncogenes retrovirales".

### ¡Error! Marcador no definido.**5.3. Genética aplicada a la Mejora de Plantas**

"La experiencia de la fecundación artificial, tal como se realiza en plantas ornamentales para obtener nuevas variedades en el color, han conducido a los experimentos que se van a describir aquí". Con estas palabras empieza Mendel (1866) su trabajo fundamental "Experimentos sobre híbridos de plantas", que hoy se considera la piedra angular de la Genética. Para entender en profundidad estas palabras hay que estar en antecedentes del *porqué* del trabajo de Mendel (ver Lacadena, 1986).

En 1825, la Academia de Ciencias de Holanda ofreció un premio para quien diera una contestación a la siguiente pregunta. "¿Qué enseña la experiencia en relación a la producción de nuevas especies y variedades por medio de la fecundación artificial de flores de una con polen de otra y qué plantas económicas y ornamentales pueden ser producidas y multiplicadas de este modo?". El concurso se resolvió en 1837 y el ganador fue C.F. von Gärtner, hibridista experimental, sucesor directo de otro hibridista, G.J.G. Kölreuter. Pero, ¿qué relación tienen estos hibridistas con Mendel?. Si continuamos leyendo el principio del trabajo de Mendel nos encontramos la siguiente frase: "A este objeto (estudiar los híbridos en su descendencia) han dedicado parte de su vida, con inagotable perseverancia, cuidadosos observadores como Kölreuter, Gärtner, ... y otros". Y más

adelante, cuando en el penúltimo párrafo de la introducción trata de justificar el porqué de su trabajo, dice Mendel: "En realidad requiere cierto ánimo emprender un trabajo tan extenso; no obstante, hacerlo parece ser la única vía buena para alcanzar finalmente la *solución de una cuestión* de tanta importancia en relación con la historia de la *evolución de los seres orgánicos*" (la cursiva es mía). La *cuestión* a la que hacía referencia Mendel era la controversia, entonces en su punto álgido, entre los hibridistas experimentales sobre si pueden aparecer nuevas especies a partir de la hibridación de otras especies preexistentes. Algunos historiadores de la ciencia como Olby (1985) creen que Mendel trataba de dilucidar con sus experimentos entre las ideas evolucionistas de Franz Unger -que fue su profesor de Fisiología Vegetal en la Universidad de Viena- y las ideas fijistas de los hibridistas experimentales más famosos como Kölreuter y Gärtner.

Dice Ramón y Cajal (1897) en sus "Reglas y consejos sobre investigación científica" que "...mucho aprendemos en los libros, pero más aprenderemos en la contemplación de la naturaleza, causa y ocasión de todos los libros". Y así es como, al principio inconscientemente y luego con plena conciencia y base científicas, lo que la Mejora Genética hace es imitar los procesos evolutivos naturales, pero dirigiéndolos hacia un fin concreto: la obtención de los genotipos de las plantas cultivadas y de los animales domésticos que resulten más beneficiosos para el hombre en un ambiente y circunstancias determinadas (Lacadena, 1970).

El paralelismo entre la Mejora y la Evolución puede esquematizarse de la siguiente manera:



<u>Mecanismo evolutivo</u>	<u>Método de Mejora</u>
Hibridación espontánea	Cruzamiento artificial
Introgresión de genes	Retrocruzamiento
Heterocigosis y heterosis	Híbridos
Mutación	Mutagénesis artificial
Migración	Importación de genes
Selección natural	Selección artificial
Variaciones cromosómicas estructurales y numéricas	Técnicas citogenéticas

---

Si a todas estas consideraciones que venimos haciendo añadimos el origen de la Genética -que hemos mencionado al principio de este trabajo- como consecuencia de la actividad de los mejoradores y criadores de plantas y animales ("International Conference on Hybridization", Londres, 1899; "International Conference on Plant Breeding and Hybridization", Nueva York, 1902 y "Conference on Hybridization and Plant Breeding", Londres, 1906), parece de justicia que la investigación genética aplicada a la Mejora de Plantas haya sido merecedora también de un premio Nobel. Tal fue el caso de Norman E. Borlaug quien en 1970 recibió el premio Nobel de la Paz por su contribución a la "revolución verde". Las variedades de trigo que Borlaug y colaboradores obtuvieron en el CIMMYT (Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo) de México duplicaron y hasta triplicaron la producción en el propio México, en la India y en Paquistán, contribuyendo a remediar el hambre en extensas zonas del mundo. El título de su Conferencia Nobel -"La revolución verde, paz y humanidad"- contiene las ideas de lo que siempre deberían ser las aplicaciones de los descubrimientos genéticos.

## ¡Error! Marcador no definido.6. HEREJÍAS GENÉTICAS Y PREMIOS NOBEL

Popper estableció su "criterio de demarcación" como la línea fronteriza que separa las ciencias empíricas -la Genética en nuestro caso- de otras formas de conocimiento; es decir, en aquéllas las hipótesis son contrastables (*falsabilidad* de la hipótesis) y en éstas no. En otras palabras, una hipótesis científica es cierta -o, mejor dicho, puede aceptarse como verdadera- mientras no se demuestre que es falsa. Por otro lado, una hipótesis no tiene que ser necesariamente correcta para que sea útil a la ciencia ya que el avance de la misma a veces se debe más a la falsabilidad de las hipótesis que a su corroboración.

Hay varias formas de llegar a alcanzar el premio Nobel. Una, es por acumulación de trabajos de investigación a lo largo de toda una vida y la creación de una escuela importante de discípulos; otra forma más directa es realizar un experimento que eche por tierra los principios científicos supuestamente bien establecidos de una disciplina.

Ocurre a veces, que los científicos tienden a dogmatizar. Los dogmas son totalmente válidos en las creencias personales, pero no en las ciencias positivas. Dentro de la Genética se han postulado en diversas ocasiones asertos que parecían inamovibles ("dogmas" genéticos) hasta que algún científico "hereje" se atrevía a alzar su voz experimental contra ellos (ver Lacadena, 1984a). Sin ir más lejos, resulta chocante que se hable del *Dogma central de la Biología Molecular* (Crick, 1970) al que he hecho referencia en varias ocasiones. Pues bien, cuando Temin sugirió la posibilidad de que en ciertos virus se producía un cambio en la dirección del flujo de información genética (ARN→ADN, *transcripción inversa*), la comunidad científica acogió con frialdad su hipótesis porque iba en contra del "orden establecido".

Lo mismo sucedió con Barbara McClintock, que sufrió la incompreensión general de la comunidad científica cuando postuló en los años cincuenta la existencia de los *elementos genéticos móviles*. Entre sus datos biográficos se cuenta la anécdota siguiente: Cuando expuso su teoría en un congreso científico le preguntaron a un genético eminente qué opinaba sobre lo que había expuesto Barbara McClintock y contestó: "No he entendido

absolutamente nada, pero si lo dice Barbara será verdad". Lo malo de ser acusado de hereje es que le quemaron en la hoguera a uno antes de que se demuestre que tenía razón en lo que decía. Afortunadamente para ella, vivió lo suficiente para que a sus 81 años pudiera recibir el premio Nobel de su "herejía" en 1983.

Establecida la *hipótesis de la secuencia* (Crick, 1958) y demostrada la correlación entre la ordenación lineal de las bases en el ADN y la de los aminoácidos en las proteínas, parecía quedar perfectamente establecido que un gen era un segmento continuo de ADN. Por ello, era una "herejía" genética la propuesta de Sharp y de Roberts sobre la existencia de *genes en piezas* que, sin embargo, les valió el premio Nobel en 1993.

La *hipótesis un gen-una enzima*, que les valió el premio Nobel a Beadle y Tatum en 1958, implicaba la relación biunívoca un gen-una proteína o, más precisamente, un cistron-un polipéptido. Cuando se demuestra la existencia del *splicing* alternativo como consecuencia de la estructura discontinua de los genes, el "dogma" un gen-una proteína se ve cuestionado por la herejía "un gen-varias proteínas". Pero las cosas no quedan ahí: el *trans-splicing* significa la herejía contraria "varios genes-una proteína". También se inscribe en esta última herejía la propuesta de Dreyer y Bennett (1965) respecto a la formación de las cadenas de las inmunoglobulinas en las que -decían- dos genes distintos, *C* y *V*, codificaban para las regiones constantes y variables de cada polipéptido. Tonegawa recibió el premio Nobel en 1987 cuando demostró el *mecanismo de reordenación del ADN* de los segmentos *V* y *C*.

Una última "herejía" en la que están implicados los premios Nobel afecta a una de las esencias de la Bioquímica: la actividad enzimática no está reservada en exclusiva a las proteínas, sino que el *ARN* puede tener también *actividad catalítica*, como demostraron Altman y Cech y por ello recibieron el galardón en 1989. Y, por si fuera poco, parece que el ADN no quiere quedarse atrás ya que se ha demostrado su actividad catalítica (Cuenod and Szostak, 1995).

¡Error! Marcador no definido.**7. EPÍLOGO**

El nombre de (Gregor) Johann Mendel (1822-1884) pertenece al patrimonio de la historia de la humanidad, pudiendo incluirse junto con los de aquellos que han contribuido al conocimiento de las leyes que gobiernan nuestro sistema vital. Las ideas y descubrimientos de Copérnico (1473-1543), Kepler (1571-1630), Galileo (1564-1642) y Newton (1642-1727) condujeron de forma gradual a la concepción del universo como un sistema de materia en movimiento gobernado por leyes naturales. Darwin (1809-1882) completó la revolución copernicana al extender a los seres vivos dicha concepción del universo, explicando la diversidad y adaptación de los organismos como resultado de un proceso natural de selección e incluyendo al hombre dentro de ese mismo sistema en evolución. Una de las lagunas de la teoría darwiniana era su desconocimiento sobre el verdadero mecanismo de la herencia. Fue la aportación científica de Mendel la que contribuyó a tapar ese hueco fundamental.

La personalidad y el polifacetismo científico de Mendel son ciertamente apasionantes. Con ocasión de la conmemoración del centenario de su muerte (6 Enero 1884) tuve ocasión de profundizar en el estudio de su figura humana y científica (Lacadena, 1984c, 1986) y descubrí entonces a un Mendel desconocido para mí (y pienso que para la mayoría de los profesionales de la Genética).

Cuando se piensa en Mendel normalmente se le asocia exclusivamente con los guisantes, como si esa hubiera sido la única especie de plantas con las que había trabajado; sin embargo, nada más lejos de la realidad pues Mendel trabajó con casi noventa especies diferentes de plantas pertenecientes a cerca de 30 géneros. También trabajó con especies animales como la abeja y el ratón e, incluso, hizo algún tipo de estudio en la especie humana respecto a ciertas características familiares (estatura, cabello, etc.), estudiándolas en alguna familia de Brünn y en la suya propia. En su biografía se cita que en una de sus habitaciones criaba ratones blancos y grises, quizás con el propósito de extender sus experimentos de hibridación.

A las abejas les dedicó una especial atención. Fue miembro fundador en 1869 de la Sociedad Apícola de Brünn y en 1871 mandó construir en la huerta del monasterio del que era abad un colmenar de 50 colmenas, que

todavía se conserva. Incluso, parece ser que llegó a publicar algunas experiencias científicas en la revista "Abeja obrera".

Traigo a colación esta actividad de Mendel con flores y con abejas porque de forma instintiva tuve una asociación de ideas cuando leía la descripción de la medalla que aparece en el Artículo 8º de los Estatutos de esta Real Academia, que dice así: los Académicos de Número usarán como distintivo una Medalla numerada, análoga a la adoptada por las demás Reales Academias, sin más diferencia que el emblema particular de la Farmacia, que es, permanentemente, el escudo aprobado en sus Constituciones de 21 de Agosto de 1737, consistente en una colmena situada en el centro de un jardín, con diversas flores y abejas iluminados por un sol radiante y el lema «Medicamenta non mella».

Al finalizar este trabajo en el que he tratado de hacer un estudio conceptual y metodológico de la ciencia Genética desde el punto de vista de las aportaciones de los investigadores genéticos y de campos afines galardonados con el premio Nobel, me parece oportuno terminar con las mismas palabras que utilicé con ocasión del centenario de la muerte de Mendel (Lacadena, 1984a, c): De entre todos los galardones científicos es, sin duda, el premio Nobel el más importante, siendo de destacar que 55 científicos pertenecientes a diferentes campos de la Genética y afines a ella hayan recibido en 26 ocasiones dicho premio, tanto de Fisiología y Medicina o Química como, incluso, el de la Paz. A mí me gustaría creer que si la Fundación Nobel pudiera conceder sus premios a título póstumo - hay un caso excepcional en toda su historia- le otorgaría el premio a Gregor Johann Mendel "por su contribución fundamental al nacimiento de una nueva ciencia -la Genética- al establecer los principios básicos de la herencia de los caracteres en los seres vivos, constituyendo la piedra angular sobre la que se ha construido todo el edificio de la propia Genética, fuente y ocasión de numerosos premios Nobel".

He dicho.

## REFERENCIAS

- Alberts,B.; Bray,D.; Lewis,J.; Raff,M.; Watson,J.D.; 1989. *Molecular Biology of the Cell* (Second edition). *Garland Publishing, Inc., New York & London*, XXXV+1219 pp+I-44
- Altmann,R. 1889. Über Nucleinsäuren. *Arch. Anat. Physiol. Abt. Physiol.*, 1889:524-536
- Altman,S.; Baer,M.; Guerrier-Takada,C.; Vioque,A. 1986. Enzymatic cleavage of RNA by RNA. *Trends Biochem. Sci.*, 11:515
- Anderson,K.V.; Bokla,L.; Nüsslein-Volhard,C. 1985a. Establishment of dorsal-ventral polarity in the *Drosophila* embryo: the induction of polarity by the *Toll* gene product. *Cell*, 42:791-798
- Anderson,K.V.; Jurgens,G.; Nüsslein-Volhard,C. 1985b. Establishment of dorsal-ventral polarity in the *Drosophila* embryo: Genetic studies on the role of the *Toll* gene product. *Cell*, 42:779-789
- Anderson,K.V.; Nüsslein-Volhard,C. 1984. Information for the dorsal-ventral pattern of the *Drosophila* embryo is stored as maternal mRNA. *Nature*, 311:223-227
- Anderson,S.; Bankier,A.T.; Barrell,B.G.; de Bruijn,M.H.L.; Coulson,A.R.; Drouin,J.; Eperon,I.C.; Nierlich,D.P.; Roe,B.A.; Sanger,F.; Schreier,P.H.; Smith,A.J.H.; Standen,R.; Young,I.G. 1981. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, 290:457-465
- Arber,W. 1974. DNA modification and restriction. *Prog. Nucl. Acid. Res. Mol. Biol.*, 14:1-37
- Auerbach,C.; Robson,J.M. 1946. Chemical production of mutations. *Nature*, 157:302
- Avery,O.T.; MacLeod,C.M.; McCarty,M. 1944. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. Induction to transformation by a deoxyribonucleic acid fraction isolated from *Pneumococcus* Type III. *J. Expl. Med.*, 79:137-158
- Ayala,F.J. 1980. En *Modern Genetics* (F.J.Ayala and J.A.Kiger,Jr.), *The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. Menlo Park, California*, XVII+844 pp.
- Ayala,F.J. 1984. El método científico en Mendel. En *En el centenario de Mendel: La Genética ayer y hoy* (coord. J.R.Lacadena), *Editorial Alhambra, S.A., Madrid*, pp. 85-101
- Baltimore,D. 1970. An RNA-dependent DNA polymerase in virions of RNA tumor viruses. *Nature*, 226:1209
- Bateson,W. 1894. Materials for the study of variation treated with especial regard to discontinuity in the origin of species. *Mcmillan, London*

- Bateson,W.; Saunders,E.R. 1902. Experimental studies in the physiology of heredity. *Rep. Evol. Comm. Roy. Soc.*, 1:1-160
- Beadle,G.W. 1946. Genes and the chemistry of organism. *Am. Scientist*, 34:31-53
- Beadle,G.W.; Ephrussi,B. 1937. Development of eye color in *Drosophila*: diffusible substances and their interrelation. *Genetics*, 22:76-86
- Beadle,G.W.; Tatum,E.L. 1941. Genetic control of biochemical reactions in *Neurospora*. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 27:499-506
- Benacerraf,B.; McDevitt,H.O. 1972. Histocompatibility-linked immune response genes. *Science*, 175:273-279
- Berget,S.M.; Moore,C.M.; Sharp,P.A. 1977. Spliced segments at the 5' terminus of adenovirus 2 late mRNA. *Proc. Nat. Acad. Sci.*,74:3171-3175
- Bernard,O.; Hozumi,N.; Tonegawa,S. 1978. Sequences of mouse immunoglobulin light chain genes before and after somatic changes. *Cell*, 15:1133-1144
- Bishop,J.M. 1981. Enemies within: the genesis of retrovirus oncogenes. *Cell*, 23:5-6
- Bishop,J.M. 1982. Oncogenes. *Scient. Amer.*, 246(3):68-78
- Boveri,T. 1902. Über mehrpolige Mitosen als Mittel zur Analyse des Zellkerns. *Verh. phys.- med. Gessellsc.*, 35:67-90
- Brenner,S.; Jacob,F.; Meselson,M. 1961. An unstable intermediate carrying information from genes to ribosomes for protein synthesis. *Nature*, 190:576-580
- Bridges,C.B. 1916. Non disjunction as a proof of the chromosome theory of heredity. *Genetics*, 1:1-52, 107-163
- Bukhari,A.I.; Shapiro,J.A.; Adhya,S.L. (eds.). 1977. DNA insertion elements, plasmids and episomes. *Cold Spring Harbor Laboratory, New York*, XIII+782 pp.
- Burnet,F.M. 1959. The clonal selection theory of acquired immunity. *Vanderbilt University Press, Nashville*
- Butler,P.J.G.; Klug,A. 1971. Assembly of the particle of tobacco mosaic virus from RNA and disks proteins. *Nature New Biology*, 229:47-50
- Butler,P.J.G.; Klug,A. 1978. The assembly of a virus. *Scient. Amer.*, 239(5):52-59
- Campbell,A. 1993. Barbara McClintock. *Ann. Rev. Genet.*, 27:1-6
- Cech,T.R.; Zaug,A.J.; Grabowski,P.I. 1981. In vitro splicing of the ribosomal RNA precursor of *Tetrahymena*: involvement of a guanosine nucleotide in the excision of the intervening sequence. *Cell*, 27:487-496

- Champness,J.N.; Bloomer,A.C.; Bricogne,G.; Butler,P.J.G.; Klug,A. 1976. The structure of the protein disk of tobacco mosaic virus to 5 Å resolution. *Nature*, 259:20-24
- Chargaff,E. 1950. Chemical specificity of nucleic acids and mechanism of their enzymatic degradation. *Experientia*, 6:201-209
- Chargaff,E. 1974. Building the tower of Babel. *Nature*, 248:776-779
- Chow,L.T.; Gelinas,R.E.; Broker,T.R.; Roberts,R.J. 1977. An amazing sequence arrangement at the 5' ends of adenovirus 2 messenger RNA. *Cell*, 12:1-8
- Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology. 1980. Movable genetic elements. Volume 45 (part 1, XX+445 pp.; part 2, XII+446-1025 pp.), *Cold Spring Harbor Laboratory, New York*
- Correns,C. 1900. G. Mendel's Regel über das Verhalten der Nachkommenschaft der Rassenbastarde. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*, 18:158-168
- Creighton,H.B.; McClintock,B. 1931. A correlation of cytological and genetical crossing-over in *Zea mays*. *Proc. Nat. Acad. Sci.*,17:492-497
- Crick,F.H.C. 1958. On protein synthesis. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 12:138-163
- Crick,F.H.C. 1966. Codon-anticodon pairing: the wobble hypothesis. *J. Mol. Biol.*, 19:548-555
- Crick,F.H.C. 1970. Central dogma of Molecular Biology. *Nature*, 227:561-563
- Crick,F.H.C. 1974. The double helix: a personal view. *Nature*, 248:766-771
- Crick,F.H.C. 1981. Life Itself. *Simon & Schuster*
- Crick,F.H.C. 1988. What mad pursuit. (Traducida al castellano con el título "Qué loco propósito. Una visión personal del descubrimiento científico", *Tusquets Editores, S.A., Barcelona*, 1989)
- Crick,F.H.C. 1990. The astonishing hypothesis. *The Francis H.C.Crick and Odile Crick Revocable Trust* (Traducido al castellano con el título "La búsqueda científica del alma. Una revolucionaria hipótesis para el siglo XXI". *Cículo de Lectores, S.A. Barcelona*, 1994)
- Crick,F.H.C.; Barnett,L.; Brenner,S.; Watts-Tobin,R.J. 1961. General nature of the genetic code for proteins. *Nature*, 192:1227-1232
- Crick,F.H.C.; Klug,A. 1975. Kinky helix. *Nature*, 225:530-533
- Cuenod,B.; Szostak,J.W. 1995. A DNA metalloenzyme with DNA ligase activity. *Nature*, 375:611-614
- Cuénot,L. 1902. La loi de Mendel et l'hérédité de la pigmentation chez les souris. *Arch. Zool. exp. gén.*, 3<sup>ème</sup> serie, *Notes et Revue*, 27-30



- Danna,K.J.; Sack,G.H.; Nathans,D. 1973. Studies of simian virus 40 DNA. VII. A cleavage map of the SV40 genome. *J. Mol. Biol.*, 78:363-376
- Dausset,J. 1958. Iso-leuco-anticorps. *Acta Haematol.*, 20:156-166
- Dausset,J.; Colombani,J.; Legrand,L., Feingold,N. 1968. Le deuxième sub-locus du système HL-A. *Nouv. Rev. Franc. Haematol.*, 8:861
- Dausset,J.; Rapaport,F.T.; Ivanyi,P.; Colombani,J. 1965. Tissue allo-antigens and transplantation. *Histocompatibility testing 1965, Munksgaard, Copenhagen*, pp. 63-69
- Dausset,J.; Walford,R.L.; Colombani,J.; Legrand,L., Feingold,N., Rapaport,F.T. 1969. The HL-A sub-loci and their importance in transplantation. *Transplant. Proc.*, 1:331
- Delbrück,M., Bailey,W.T. 1946. Induced mutations in bacterial viruses. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 11:33-37
- Dobzhansky,T. 1973. Nothing in biology makes sense except in the light of evolution. *Amer. Biol. Teacher*, 35:125-129
- Doudna,J.A.; Szostak,J.W. 1989. RNA-catalysed synthesis of complementary-strand RNA. *Nature*, 339:519-522
- Dreyer,W.J.; Bennett,J.C. 1965. The molecular basis of antibody formation: A paradox. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 54:864
- Duboule,D.; Morata,G. 1994. Colinearity and functional hierarchy among genes of the homeotic complexes. *Trends in Genetics*, 10:358-364
- Edelman,G.M. 1959. Dissociation of  $\gamma$ -globulin. *J. Am. Chem. Soc.*, 81:3155
- Edelman,G.M. 1994. The evolution of somatic selection: The antibody tale. *Genetics*, 138:975-981
- Edelman,G.M.; Cunningham,B.A.; Gall,W.E., Gottlier,P.D.; Rutishauser,U.; Waxdel,M.J. 1969. The covalent structure on an entire  $\gamma$ -immunoglobulin molecule. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 63:78-85
- Ellis,E.L., Delbrück,M. 1939. The growth of bacteriophage. *J. Gen. Physiol.*, 22:365-384
- Fedoroff,N.V. 1983. Controlling elements in maize. En *Mobile genetic elements* (ed. J.A. Shapiro), *Academic Press, New York*, pp. 1-63
- Fedoroff,N.V. 1984. Transposable genetic elements in maize. *Scient. Amer.*, 250(6):64-74
- Fedoroff,N.V. 1994. Barbara McClintock (June 16,1902-September 2,1992). *Genetics*, 136:1-10
- Finch,J.T.; Klug,A. 1976. Solenoidal model for superstructure in chromatin. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 73:1897-1901

- Finch, J.T.; Lutter, L.C.; Rhodes, D.; Brown, R.S.; Rushton, B.; Levit, M.; Klug, A. 1977. Structure of nucleosome core particles of chromatin. *Nature*, 269:29-36
- Flemming, W. 1882. Zellsubstanz, Kern und Zellteilung. *Vogel, Leipzig*
- Franklin, R.E.; Gosling, R.G. 1953. Molecular configuration in sodium thymonucleate. *Nature*, 171:740-741
- Gallo, R.C. 1971. Reverse transcriptase, the DNA polymerase of oncogenic RNA viruses. *Nature*, 234:194-198
- Gamow, G. 1954. Possible relation between deoxyribonucleic acid and protein structure. *Nature*, 173:318
- García-Bellido, A. 1972. Pattern formulation in imaginal disks. En *The biology of imaginal disks* (eds. H.Ursprung and R.Nöthiger), *Springer-Verlag, Berlin*, pp. 59-86
- Garrod, A.E. 1909. Inborn errors of metabolism. *Oxford University Press, London*
- Gillam, S.; Jahnke, P.; Astell, C.; Phillips, S.; Hutchison, C.A. III; Smith, M. 1979. Defined transversion mutations at a specific position using synthetic oligodeoxyribonucleotides as mutagens. *Nucleic Acids Res.*, 6:2973-2985
- Gillam, S.; Smith, M. 1979a. Site-specific mutagenesis using synthetic oligodeoxyribonucleotide primers: I. Optimum conditions and minimum oligodeoxyribonucleotide length. *Gene*, 8:81-97
- Gillam, S.; Smith, M. 1979b. Site-specific mutagenesis using synthetic oligodeoxyribonucleotide primers: II. In vitro selection of mutant DNA. *Gene*, 88:99-106
- Glass, B. 1965. A century of biochemical genetics. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 109:227-236
- Griffith, F. 1928. Significance of pneumococcal types. *J. Hyg. Camb.*, 27:113-159
- Grunberg-Manago, M.; Ochoa, S. 1955. Enzymatic synthesis and breakdown of polynucleotides: Polynucleotide phosphorylase. *J. Am. Chem. Soc.*, 77:3165-3166
- Guerrier-Takada, C.; Gardiner, K.; Marsh, T.; Pace, N.; Altman, S. 1983. The RNA moiety of ribonuclease P is the catalytic subunit of the enzyme. *Cell*, 35:849-857
- Guyer, R.L.; Koshland, D.E. 1989. The molecule of the year. *Science*, 246:1543-1544
- Hadorn, E. 1963. Genetics on its way. *Proc. XI Int. Cong. Genet., The Hague*.
- Hershey, A.D. 1946. Spontaneous mutations in bacterial viruses. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 11:67-77
- Hershey, A.D.; Chase, M. 1952. Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. *J. Gen. Physiol.*, 36:39-56

- Hershey,A.D.; Rotman,R. 1949. Genetic recombination between host range and plaque-type mutants of bacteriophage in single bacterial cells. *Genetics*, 34:44-71
- Holley,R.W.; Apgar,J.; Everett,G.A.; Madison,J.T.; Marquisee,M., Merrill,S.H.; Penswick,J.R.; Zamir,A. 1965a. Structure of a ribonucleic acid. *Science*, 147:1462-1465
- Holley,R.W.; Everett,G.A.; Madison,J.T.; Zamir,A. 1965b. Nucleotide sequences in the yeast alanine transfer ribonucleic acid. *J. Biol. Chem.*, 240:2122-2128
- Hozumi,N.; Tonegawa,S. 1976. Evidence for somatic rearrangement of immunoglobulin genes coding for variable and constant regions. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 73:3628-3632
- Huebner,R.J.; Todaro,G.J. 1969. Oncogenes of RNA tumor viruses as determinants of cancer. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 64:1087
- Hutchison,C.A.III; Phillips,S., Edgell,M.H.; Gillam,S.; Jahnke,P.; Smith,M. 1978. Mutagenesis at a specific position in a DNA sequence. *J. Biol. Chem.*, 253:6551-6560
- Ingram,V.M. 1956. A specific chemical difference between the globins of normal and sickle-cell anaemia haemoglobin. *Nature*, 178:792-794
- Innis,M.A.; Myambo,K.B.; Gelfand,D.H., Brow,M.A.D. 1988. DNA sequencing with *Thermus aquaticus* DNA polymerase and direct sequencing of polymerase chain reaction-amplified DNA. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 85:9436-9440
- Jackson,D.A.; Symons,R.H.; Berg,P. 1972. Biochemical method for inserting new genetic information into DNA of simian virus 40: Circular SV40 DNA molecules containing lambda phage genes and the galactose operon of *Escherichia coli*. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 69:2904-2909
- Jacob,F. 1970. La logique du vivant. Une histoire de l'heredité. *Editions Gallimard*, 354 pp.
- Jacob,F. 1987. La statue interieure. *Editions Odile Jacob* (traducida al castellano con el título "La estatua interior", *Tusquets Editores, S.A., Barcelona*, 1989)
- Jacob,F.; Monod,J. 1961a. Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *J. Mol. Biol.*, 3:318-356
- Jacob,F.; Monod,J. 1961b. On the regulation of gene activity. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 26:193-211
- Jacob,F.; Perrin,D., Sánchez,C.; Monod,J. 1960. L'operon groupe des gènes à expression coordinnée par un opérateur. *Compt. Rend. Acad. Sci.*, 250:1727
- Joyce,G.F. 1989. RNA evolution and the origins of life. *Nature*, 338:217-224
- Kahmann,R. 1992. Barbara McClintock - a personal view. *Trends in Genetics*, 8:407

- Keller,E.F. 1983. A feeling for the organism: The life and work of Barbara McClintock. *W.H. Freeman and Company, New York*, 235 pp. (traducida al castellano con el título "Seducida por lo vivo. Vida y obra de Barbara McClintock", *Editorial Fontalba, S.A., Barcelona*, 1984)
- Khorana,H.G. 1965. Polynucleotide synthesis and the genetic code. *Federation Proc.*, 24:1473-1487
- Klug,A. 1974. Rosalind Franklin and the double helix. *Nature*, 248:787-788
- Klug,A.; Finch,J.T.; Richmond,T.J. 1985. Cristallographic structure of the octamer histone core of the nucleosome. *Science*, 229:1109-1110
- Klug,A.; Rhodes,D.; Smith,J.; Finch,J.T.; Thomas,J.O. 1980. A low resolution for the histone core of the nucleosome. *Nature*, 287:509-516
- Köhler,G.; Milstein,C. 1975. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*, 256:495-497
- Köhler,G.; Milstein,C. 1976. Derivations of specific antibody-producing tissue culture and tumor lines by cell fusion. *Eur. J. Immunol.*, 6:511-519
- Kornberg,A. 1960. Biological synthesis of deoxyribonucleic acid. *Science*, 131:1503-1508
- Kornberg,A. 1969. Active center of DNA polymerase. *Science*, 163:1410-1418
- Kornberg,A. 1978. Aspects of DNA replication. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 43:1-9
- Kornberg,A. 1980. DNA replication. *W.H. Freeman and Company, San Francisco*, X+724 pp.
- Kornberg,A.; Lehman,I.R.; Bessman,M.J., Simms,E.S. 1956. Enzymic synthesis of deoxyribonucleic acid. *Biochim. Biophys. Acta*, 21:197-198
- Kornberg,R.D. 1974. Chromatin structure: a repeating unit of histone and DNA. *Science*, 184:868-871
- Kossel,A. 1893-1894. Über die Nucleinsäure. *Archiv für Anatomy und Physiologie. Physiologie Abteilung*, 1893:157-164, 1894:194-203
- Kruger,K.; Grabowski,P.J., Zau,A.J.; Sands,J.; Gottschling,D.E.; Cech,T.R. 1982. Self-splicing RNA: Autoexcision and autocyclization of the ribosomal RNA intervening sequence of *Tetrahymena*. *Cell*, 31:147-157
- Krumlauf,R. 1994. *Hox* genes in vertebrate development. *Cell*, 78:191-201
- Lacadena,J.R. 1970. Genética Vegetal. Fundamentos de su aplicación. *A.G.E.S.A., Madrid*, 429 pp.

- Lacadena,J.R. 1974. Introducción a la Genética: Una perspectiva histórica. *Ser. Monogr. Dpto. Genética, Fac. Biol., Univ. Complutense de Madrid*, vol. 1, 38 pp.
- Lacadena,J.R. 1976. El medio ambiente: Problemas genéticos. *Rev. Univ. Complutense*, 105:131-164
- Lacadena,J.R. 1984a. Una perspectiva histórico-conceptual de la Genética. En *En el centenario de Mendel: La Genética ayer y hoy* (coord. J.R.Lacadena), Editorial Alhambra, S.A., Madrid, pp. 103-165
- Lacadena,J.R. 1984b. De la teoría cromosómica de la herencia a la Citogenética moderna como modelo de ciencia experimental. En *En el centenario de Mendel: la Genética ayer y hoy* (coord. J.R.Lacadena), Editorial Alhambra, S.A., Madrid, pp. 167-188
- Lacadena,J.R. 1984c. Mendel, ese desconocido. *Arbor*, tomo CXVII, mim. 459:7-37
- Lacadena,J.R. 1985. La historia de la Genética a través de la Bioquímica. En *Historia de la Bioquímica* (coord. A.M.Municio), Real Acad. Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Madrid, pp. 157-172
- Lacadena,J.R. 1986. La Genética: Una narrativa histórico-conceptual. Editorial Alhambra, S.A., Madrid, 171 pp.
- Lacadena,J.R. 1988a. Genética (4ª edición). A.G.E.S.A., Madrid, XXXII+1549 pp.
- Lacadena,J.R. 1988b. Manipulación genética. En *Dilemas éticos de la Medicina actual. 2. Fundamentos de la bioética y manipulación genética* (ed. J.Gafo), Publ. Univ. Pontificia Comillas, Madrid, pp. 133-176
- Lacadena,J.R. 1990. El ADN, la molécula de doble filo. *Col. Conferencias Cursos Universitarios de Verano, Univ. Santa Catalina (1550-1841), El Burgo de Osma*, 33 pp.
- Lacadena,J.R. 1991a. Problemas genéticos en relación con el medio ambiente. En *Dilemas éticos de la Medicina actual.5. Ética y ecología* (ed. J.Gafo), Publicaciones Univ. Pontif. Comillas, Madrid, pp. 77-118
- Lacadena,J.R. 1991b. Hacia los organismos superiores: La evolución genética. En *De la nada al hombre. Una historia de nuestro origen* (ed. C.Seoane), Biblioteca de Autores y Temas Manchegos, Diputación de Ciudad Real, pp. 87-110
- Lacadena,J.R. 1993. El Proyecto Genoma Humano y sus derivaciones. En *Problemas éticos de la Medicina actual. 7. Ética y biotecnología* (ed. J.Gafo), Publ. Univ. Pontificia Comillas, Madrid, pp. 95-121
- Lacadena,J.R. 1995a. Cytogenetic: yesterday, today and forever. A conceptual and historical view (Opening lecture, 12th International Chromosome Conference). *Chromosomes Today Volume 12, Chapman & Hall, London* (in press)
- Lacadena,J.R. 1995b. Consideraciones genético-biológicas sobre el desarrollo embrionario humano. En *Genética Humana, Fundamentos para el estudio de los efectos sociales*

*derivados de los avances en genética humana* (ed. C.M.Romeo Casabona), *Universidad de Deusto, Bilbao*, pp. 77-103

Lacadena,J.R. 1996. Citogenética. *Editorial Complutense, S.A., Madrid* (en prensa)

Landsteiner,K. 1900. Zur Kenntniss der antifermentativen, lytischen und agglutinierenden Wirkungen der Blutserums und der Lymphe. *Zentralbl. für Bakteriologie*, 27:357-362

Landsteiner,K. 1901. Über Agglutinationserscheinungen normalen menschlichen Blutes. *Wien. Klin. Wsch.*, 14:1132

Landsteiner,K.; Levine,P. 1927. A new agglutinable factor differentiating individual human bloods. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med. N. Y.*, 24:600-602

Landsteiner,K.; Wiener,A.S. 1940. An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera from rhesus blood. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med. N. Y.*, 43:223

Lederberg,J. 1994. The transformation of Genetics by DNA: An anniversary celebration of AVERY, MacLEOD and McCARTY (1944). *Genetics*, 136:423-426

Lederberg,J.; Cavalli,L.L.; Lederberg,E. 1952. Sex compatibility in *E. coli*. *Genetics*, 37:720

Lederberg,J.; Tatum,E.L. 1946. Novel genotypes in mixed cultures of biochemical mutants of bacteria. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 11:113-114

Levene,P.A. 1921. On the structure of thymus nucleic acid and on its possible bearing on the structure of plant nucleic acid. *J. Biol. Chem.*, 48:119-125

Lewis,E.B. 1951. Pseudoallelism and gen evolution. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 16:159-172

Lewis,E.B. 1964. Genetic control and regulation of developmental pathways. En *The role of chromosomes in development* (ed. M.Locke), *Academic Press, New York*, pp. 231-252

Lewis,E.B. 1967. Genes and gene complexes. En *Heritage from Mendel* (ed. A.Brindk), *Univ. of Wisconsin Press, Madison*, pp. 17-47

Lewis,E.B. 1978. A gene complex controlling segmentation in *Drosophila*. *Nature*, 276:565-570

Lewis,E.B. 1985. Regulation of the genes of the *bithorax* complex in *Drosophila*. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 50:155-164

Lewis,E.B. 1994. Homeosis: the first 100 years. *Trends in Genetic*, 10:341-343

Luria,S.E., Delbrück,M. 1943. Mutations of bacteria from virus sensitivity to virus resistance. *Genetics*, 28:491-511

Lwoff,A. 1953. Lysogeny. *Bacteriol. Rev.*, 17:269-337

- Lwoff,A.; Gutmann,A. 1950. Recherches sur un *Bacillus megatherium* lisogène. *Ann. Inst. Pasteur*, 78:711
- Lwoff,A.; Siminovitch,L.; Kjelgaard,N. 1950. Induction de la production de bactériophages chez une bactérie lysogène. *Ann. Inst. Pasteur*, 79:815
- Martin,G.S. 1970. Rous sarcoma virus: A function required for the maintenance of the transformed state. *Nature*, 227:1021-1023
- Matthaei,J.H.; Nirenberg,M.W. 1961. Characteristics and stabilization of DNase-sensitive protein synthesis in *E. coli* extracts. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 47:1580-1588
- Maxam,A.M.; Gilbert,W. 1977. A new method for sequencing DNA. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 74:560-564
- McClintock,B. 1948. Mutable loci in maize. *Carnegie Inst. Wash. Year Book*, 47:155-169
- McClintock,B. 1949. Mutable loci in maize. *Carnegie Inst. Wash. Year Book*, 48:142-154
- McClintock,B. 1950. The origin and behavior of mutable loci in maize. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 36: 344-355
- McClintock,B. 1951. Chromosome organization and genic expression. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 16:13-47
- McClintock,B. 1957. Controlling elements and the gene. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 21:197-216
- McDevitt,H.O.; Benacerraf,B. 1969. Genetic control of specific immune responses. *Adv. Immunol.*, 11:31
- Mendel,G. 1886. Versuche über Pflanzenhybriden. *Verh. des Naturf. Vereines in Brünn (Abhandlungen)*, 4:3-47
- Meselson,M., Stahl,F.W. 1958. The replication of DNA in *Escherichia coli*. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 44:671-682
- Miescher,F. 1871. Über die chemische Zusammensetzung der Eiterzellen. *Hoppe-Seylers's-Chemischen Untersuchungen*, 4:441-460
- Milstein,C. 1980. Monoclonal antibodies. *Scient. Amer.*, 243(4):56-64
- Milstein,C.; Cuello,A.C. 1983. Hybrid hybridomas and their use in immunohistochemistry. *Nature*, 305:537-540
- Monod,J.L. 1970. Le hasard et la nécessité. *Editions du Seuil*. (traducido al castellano con el título "El azar y la necesidad. Ensayo sobre la filosofía natural de la Biología moderna", Barral Editores, 1970)
- Morgan,T.H. 1910. Sex limited inheritance in *Drosophila*. *Science*, 32:120-122

- Morgan,T.H.; Cattell,E. 1912. Data for the study of sexlinked inheritance in *Drosophila*. *Exp. Zool.*, 13:79
- Morgan,T.H., Sturtevant,A.H.; Muller,H.J.; Bridges,C.B. 1915. The mechanism of mendelian inheritance. *Holt, New York*, 262 pp.
- Muller,H.J. 1927. Artificial transmutation of the gene. *Science*, 66:84-87
- Muller,H.J. 1928. The measurement of gene mutation rate in *Drosophila*, its high variability and its dependence upon temperature. *Genetics*, 13:279-357
- Mullis,K.B. 1990. The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Scient. Amer.*, 262(4):36-43
- Mullis,K.B.; Faloona,F.A. 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology*, 155:335-350
- Mullis,K.B.; Faloona,F.A.; Scharf,S.; Saiki,R.; Horn,G.; Erlich,H. 1986. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: The polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 51:263-273
- Nathans,D. 1979. Restriction endonucleases, simian virus 40, and the new genetics. *Science*, 206:903-909.(Conferencia Nobel 1978)
- Nathans,D.; Smith,H.O. 1975. Restriction endonucleases in the analysis and restructuring of DNA molecules. *Ann. Rev. Biochem.*, 44:273-293
- Nevers,P.; Saedler,H. 1977. Transposable genetic elements as agents of gene instability and chromosomal rearrangements. *Nature*, 268:109-114
- Nirenberg,M.W.; Matthaei,J.H. 1961. The dependence of cell-free protein synthesis in *E. coli* upon naturally occurring or synthetic polyribonucleotides. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 47:1588-1602
- Nishimura,S.; Jones,D.S.; Khorana,H.G. 1965a. Studies on polynucleotides. XLVIII. The *in vitro* synthesis of a co-polypeptide containing two amino acids in alternating sequence dependent upon a DNA-like polymer containing two nucleotides in alternating sequence. *J. Mol. Biol.*, 13:302-324
- Nishimura,S.; Jones,D.S.; Ohtsuka,E.; Hayatsu,H.; Jacob,T.M.; Khorana,H.G. 1965b. Studies on polynucleotides. XLVII. The *in vitro* synthesis of homopeptides as directed by a ribopolynucleotide containing a repeating trinucleotide sequence. New codon sequences for lysine, glutamic acid and arginine. *J. Mol. Biol.*, 13:283-301
- Nüsslein-Volhard,C.; Wieschaus,E. 1980. Mutation affecting segment number and polarity in *Drosophila*. *Nature*, 287:795-801
- Olby,R. 1974a. The path to the double helix. *Macmillan*, XXIII+510 pp.
- Olby,R. 1974b. DNA before Watson-Crick. *Nature*, 248:782-785



- Olby,R.C. 1985. Origins of Mendelism (2nd edition). *University of Chicago Press, Chicago*, 310 pp.
- Orgel,L.E. 1987. Evolution of the genetics apparatus: A review. En *Evolution of catalytic function, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 52:9-16
- Orgel,L.E. 1994. The origin of life on the earth. *Scient. Amer.*, 271(4):53-61
- Orgel,L.E.; Crick,F.H.C. 1980. Selfish DNA: the ultimate parasite. *Nature*, 284:604-607
- Orkin,S.H. 1986. Reverse Genetics and human disease. *Cell*, 47:845-850
- Pace,N.R.; Olsen,G.J.; Woese,C.R. 1986. Ribosomal RNA phylogeny and the primary lines of evolutionary descent. *Cell*, 45:325-326
- Pauling,L. 1974. Molecular basis of biological specificity. *Nature*, 248:769-771
- Pauling,L.; Itano,H.; Singer,S.J.; Wells,I.C. 1949. Sick cell anaemia, a molecular disease. *Science*, 110:543-548
- Porter,R.R. 1959. The hydrolysis of rabbit  $\gamma$ -globulin and antibodies with crystalline papain. *Biochem. J.*, 73:119-126
- Portugal,F.H.; Cohen,J.S. 1977. A century of DNA. A history of the discovery of the structure and function of the genetic substance. *The MIT Press, Cambridge, Massachusetts*, XIII+384 pp.
- Ramón y Cajal,S. 1897. Reglas y consejos sobre investigación científica (los tónicos de la voluntad). *Discurso leído en la Sesión del 5 de Diciembre de 1897 al ingresar en la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* (Recogido en sus *Obras literarias completas*, M. Aguilar, Editor, Madrid, 1947)
- Rich,A. 1993. Robert W. Holley (1922-1993). *Nature*, 362:16
- Richmond,T.J.; Finch,J.T.; Rushton,B.; Rhodes,D.; Klug,A. 1984. Structure of the nucleosome core particle at 7A resolution. *Nature*, 311:532-537
- Rieger,R.; Michaelis,A.; Green,M.M. 1976. Glossary of Genetics. Classical and Molecular (Fourth completely revised edition). *Springer-Verlag, Berlin*, 647 pp.
- Rieger,R.; Michaelis,A.; Green,M.M. 1991. Glossary of Genetics. Classical and Molecular (Fifth edition). *Springer-Verlag, Berlin*, 553 pp.
- Rubio,J. 1973. Genética. Su posición entre las ciencias biológicas. *Boletín Est. Exp. Aula Dei*, nº 12, 80 pp.
- Saiki,R.K.; Scharf,S.; Faloona,F.; Mullis,K.B.; Horn,G.T.; Erlich,H.A.; Arnheim,N. 1985. Enzymatic amplification of  $\beta$ -globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, 230:1350-1354
- Sanger,F. 1955. The chemistry of simple proteins. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 9:10-31

- Sanger,F.; Coulson,A.R. 1975. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *J. Mol. Biol.*, 94:441-448
- Sanger,F.; Air,G.M.; Barrell,B.G.; Brown,N.L.; Coulson,A.R.; Fiddes,J.C.; Hutchison,C.V. III; Slocombe,P.M.; Smith,M. 1977a. Nucleotide sequence of bacteriophage X174 DNA. *Nature*, 265:687-695
- Sanger,F.; Nicklen,S.; Coulson,A.R. 1977b. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 74:5463-5467
- Sexton,C. 1992. The seeds of time: The life of Sir Macfarlane Burnet. *Oxford University Press, Oxford*, 300 pp.
- Shapiro,J.A.(ed.). 1983. Mobile genetic elements. *Academic Press, New York*, XVI+688 pp.
- Sharp,P.A. 1981. Speculations on RNA splicing. *Cell*, 23:643-646
- Sharp,P.A. 1985. On the origin of RNA splicing and introns. *Cell*, 42:397-400
- Sharp,P.A. 1987. Splicing of messenger RNA precursors. *Science*, 235:766-771
- Sharp,P.A. 1994. Split genes and RNA splicing. *Cell*, 77:805-815
- Smith,M. 1985. In vitro mutagenesis. *Ann. Rev. Genet.*, 19:423-462
- Snell,G.D. 1948. Methods for the study of histocompatibility genes. *J. Genetics*, 49:87-108
- Snell,G.D. 1953. The genetics of transplantation. *J. Nat. Cancer Inst.*, 14:691-700
- Snell,G.D.; Russell,E.; Fekete,E.; Smith,P. 1953. Resistance of various inbred strains of mice to tumor homoiotransplants, and its relation to the *H-2* allele which each carries. *J. Natl. Cancer Inst.*, 14:485-491
- Stadler,L.J. 1928a. Genetic effects of X-rays in maize. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 14:69-75
- Stadler,L.J. 1928b. Mutations in barley induced by X-rays and radium. *Science*, 68:186-187
- Stehelin,D.; Varmus,H.E.; Bishop,J.M.; Vogt,P.K. 1976. DNA related to the transforming gene(s) of avian sarcoma viruses is present in normal avian DNA. *Nature*, 260:170-173
- Stent,G.S.; Calendar,R. 1978. Molecular Genetics. An introductory narrative (2nd edition). *W.H.Freeman and Co., San Francisco*, XIII+773 pp.
- Stern,C. 1931. Zytologisch-genetische Untersuchungen als Beweise für die Morgansche Theorie des Faktorenaustausch. *Biol. Zentralbl.*, 51:547-587
- Studier,F.W. 1972. Bacteriophage T7. *Science*, 176:367-376

- Sturtevant,A.H. 1913. The linear arrangement of six sex-linked factors in *Drosophila*, as shown by their mode of association. *J. Exp. Zool.*, 14:43-59
- Sutton,W.S. 1902. On the morphology of the chromosome group in *Brachystola magna*. *Biol. Bull.*, 4:24-39
- Sutton,W.S. 1903. The chromosomes in heredity. *Biol. Bull.*, 4:231-251
- Tatum,E.L.; Lederberg,J. 1947. Gene recombination in the bacterium *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, 53:673
- Taylor,J.H.; Woods,P.S.; Hughes,W.L. 1957. The organization and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium-labeled thymidine. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 43:122-128
- Temin,H.M. 1964. Homology between RNA from Rous sarcoma virus and DNA from Rous sarcoma virus-infected cells. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 52:323-329
- Temin,H.M. 1972. RNA-directed DNA synthesis. *Scient. Amer.*, 226:24-33
- Temin,H.M. 1974. On the origin of RNA tumor viruses. *Ann. Rev. Genet.*, 8:155-177
- Temin,H.M.; Baltimore,D. 1972. RNA-directed DNA synthesis and RNA tumor viruses. *Adv. Virus Res.*, 17:128-186
- Temin,H.M.; Mizutani,S. 1970. RNA-dependant DNA polymerase in virions of Rous sarcoma virus. *Nature*, 226:1211
- Tonegawa,S. 1983. Somatic generation of antibody diversity. *Nature*, 302:575-581
- Tonegawa,S.; Brach,C.; Hozumi,N.; Pirrotta,V. 1977. Organization of immunoglobulin genes. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 42:921-931
- Tschermak,E. 1900. Über Künstliche Kreuzung bei *Pisum sativum*. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*, 18:232-239
- De Vries,H. 1900. Sur la loi de disjonction des hybrides. *Compt. Rend. Acad. Sci.*, (París), 130:845-847
- Watson,J.D. 1968. The double helix. *Weidenfeld and Nicolson, London*, XVI+226 pp. (traducida al castellano con el título "La doble hélice")
- Watson,J.D. 1990. The Human Genome Project: Past, present and future. *Science*, 248:44-49
- Watson,J.D.; Crick,F.H.C. 1953a. The molecular structure of nucleic acids. A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171:737-738
- Watson,J.D.; Crick,F.H.C. 1953b. Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acid. *Nature*, 171:964-967

Watson,J.D.; Hopkins,N.H.; Roberts,J.W.; Steitz,J.A.; Weiner,A.M. 1987. Molecular Biology of the Gene (Fourth edition). *The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., Menlo Park, California*, XXX+1163 pp.+I-26 pp.

Wilkins,M.H.F.; Stokes,A.R.; Wilson,H.R. 1953. Molecular structure of deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171:738-740

Zaug,A.J., Cech,T.R. 1986. The intervening sequence RNA of *Tetrahymena* is an enzyme. *Science*,231:470-475.

**CONTESTACIÓN DEL ACADÉMICO DE NÚMERO**

**EXMO. SR. D. EMILIO FERNÁNDEZ-GALIANO FERNÁNDEZ**



Excmo. Sr. Director,  
Excmos. Sras. y Sres. Académicos,  
Señoras y Señores:

Es costumbre en las Academias, cuando se trata de cubrir una plaza vacante de Académico de Número, celebrar entre sus miembros conciliábulo oficiosos, a veces en los mismos pasillos, discutiendo amistosamente sobre los méritos y peculiaridades científicas y humanas de los aspirantes. En uno de estos cambios de impresiones, trataba yo de ilustrar a algunos colegas sobre las virtudes que adornan a nuestro hoy recipiendario, resaltando su ambivalencia como docto en Genética y en Bioética, su larga experiencia docente e investigadora y su interesantísima obra como divulgador de la ciencia, cuando un venerable compañero académico que me escuchaba atentamente emitió su sentencia, con la seguridad que confieren los muchos años de vida y de experiencia: "*Y, además, es una buena persona*".

Si bien es cierto que la calidad de una persona no debe figurar como condición prioritaria para ingresar en nuestra Corporación, que se encuentra, por otra parte, rebosante de buenas personas, hoy se comenta favorablemente "*la necesidad de recuperar el valor de ser buena persona*" ante la degradación moral que en muchos aspectos está sufriendo nuestra sociedad, por lo que no era baladí, en modo alguno, la observación de nuestro veterano compañero. Pero la condición de buena persona, en el caso de Lacadena, que no en el de todo el mundo, va acompañada de otras particularidades que lo convierten en un hombre, no sólo adecuado, sino necesario para nuestra Academia. Trataré de exponer brevemente su historial científico e investigador, y algunas otras circunstancias, con la pretensión de ser, en lo posible, ecuánime y objetivo.

Si el lugar de nacimiento de los hombres imprime carácter, es evidente que por las constantes de tesón, amor al trabajo, fortaleza de espíritu y seriedad de trato, Lacadena no podía ser otra cosa que aragonés, y por eso nació en Zaragoza, donde realizó brillantemente sus primeros estudios. Pero parece que el espíritu de Mendel, el padre de una nueva ciencia, la Genética, le incitaba ya a dedicarse al cultivo de las plantas y a trasladarse a Madrid para estudiar en la Escuela Especial de Ingenieros Agrónomos, único centro de esta clase que existía entonces en España, donde, además de cursar brillantemente su carrera y doctorarse, adquirió la base y la mentalidad matemática que después, en el ejercicio de sus trabajos, le

habría de ser de gran utilidad. Con su título de ingeniero en el bolsillo regresó a su ciudad natal, no sin antes contraer matrimonio con su esposa, Isabel, que le ha dado seis hijos y que ha sido colaboradora, y en cierto modo coautora, de sus trabajos; ella, Isabel, ha sabido valorar como nadie la distinción con que la Academia premia a su marido, pues su padre, Don Alfonso García-Gallo fue también Académico e ilustrísimo catedrático de Historia del Derecho en nuestra Universidad, persona a la que Juan Ramón profesó siempre gran admiración y cariño.

En Zaragoza entró de Colaborador Científico en la Estación Experimental de Aula Dei del CSIC, donde trabajó durante siete años dedicado preferentemente a la aplicación de la Citogenética a la Mejora de Plantas. Pero en 1961 sintió la misteriosa (y muchas veces inexplicable) llamada de la Universidad y opositó a una plaza de Profesor Agregado de Genética Vegetal y Animal de reciente creación en la Facultad de Ciencias de la Universidad Complutense de Madrid. Hizo la oposición y durante tres años desempeñó allí su labor, esta vez de carácter docente además de investigador.

Siempre había manifestado interés por la Citogenética, pero como en Aula Dei existía una sólida tradición en Mejora de Cereales, se había dedicado más a ello. Pero en Madrid, la situación era distinta. Los trabajos de mejora requieren el uso de amplias parcelas de experimentación para obtener cosechas abundantes de semillas que avalen estadísticamente los resultados, y en la Ciudad Universitaria Lacadena carecía no sólo de las hectáreas necesarias para su trabajo, sino siquiera de un amplio invernadero. Y nuestro hombre, influido por esa circunstancia, derivó definitivamente hacia la Citogenética básica, especialmente el comportamiento de los cromosomas, trabajos que ha realizado hasta la fecha, ahora con la ayuda de un gran invernadero que consiguió hace algunos años.

Pero nuevamente, las tribulaciones de origen administrativo sufridas por los seguidores de la carrera docente, le obligan a concursar para pasar de Profesor Agregado a Catedrático, ahora de la Universidad de la Laguna, donde permanece siete meses hasta que en diciembre de 1971 va a parar a su destino definitivo en la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Complutense, ocupando así, sucesivamente, los dos puestos



que dejara en su día el Prof. Enrique Sánchez-Monge, primero en Zaragoza y más tarde en Madrid, lo que enorgullece a Lacadena. Y en nuestra Facultad de Biológicas impartirá su docencia, Dios mediante, hasta su jubilación en el año 2004 (si es que el gobierno no decide otra cosa). Desde entonces está desarrollando un activo trabajo docente e investigador, sobre todo en Citogenética, donde ha alcanzado gran prestigio, como lo demuestra el hecho de haber presidido la 12th International Chromosome Conference celebrada el pasado mes de septiembre en El Escorial.

Pero no quiero terminar esta parte de mi discurso, dedicada a comentar el historial de nuestro nuevo Académico, sin referirme a otra de sus facetas, de indiscutible valor: su condición de especialista en Bioética preocupado por la problemática humana actual, que lo sitúa en la primera línea de los dedicados a esta apasionante materia. Como profundo conocedor de la Genética, dispone de una base científica firme para opinar y entrar en discusión sobre problemas en los que muchas personas, aun habiendo adoptado previamente posiciones irrefutables, no suelen estar en condiciones de defenderlas razonablemente al carecer de argumentos científicos incontrovertibles. Antes comentaba la degradación moral que está sufriendo nuestra sociedad. La Academia ha mostrado una evidente preocupación por este hecho que cristalizó en la publicación, en 1991, de un "*Código deontológico farmacéutico*" recibido, hay que reconocerlo, con más indiferencia y escepticismo de lo que merece. Creo que puede ser decisiva la aportación de la personalidad de Lacadena a esta actitud moral de nuestra Corporación en temas tan importantes como los aspectos genéticos de la reproducción humana, la manipulación genética o la bioética del proyecto Genoma Humano, entre otros.

\* \* \*

Sería inútil pretensión, por mi parte, comentar todos y cada uno de los puntos que el nuevo académico trata en su denso e interesante discurso, especialmente si se tiene en cuenta que pertenezco a una generación que no recibió en su día una formación adecuada en Genética por haber llegado esta ciencia con excesivo retraso a nuestras aulas universitarias, y lo poco que conozco ha sido adquirido al encontrarme en la necesidad de

comprender algunos de los procesos evolutivos de plantas y animales. Trataré, pues, de forma algo desordenada, de hacer algunos breves comentarios surgidos de la lectura del discurso.

Aun cuando Alfred Nobel no previó la posibilidad de premiar las investigaciones en una materia tan apasionante como la Biología, que años después iba a alcanzar un excepcional desarrollo, al ser la Genética una ciencia que ha aportado importantes innovaciones a diferentes campos de investigación, muchos genéticos han recibido su galardón en Fisiología, Medicina o Química, e incluso alguno de ellos, Borlaug, que fue premiado por las aplicaciones de la Genética a la Mejora de Plantas, lo recibió en concepto de premio de la Paz al haber contribuido con sus trabajos a elevar sustancialmente el nivel de la producción de alimentos de la humanidad.

La "revolución verde", que algunos han comparado en importancia con la "explosión agrícola" del Creciente Fértil que dio lugar a la expansión de la agricultura en el Neolítico, ha sido el término empleado para definir el aumento de la producción agrícola conseguido en los países en desarrollo como consecuencia de la utilización de nuevas variedades de alto rendimiento, sobre todo de trigo y arroz. Se transfirieron estas variedades desde los países desarrollados (Japón, Estados Unidos y Europa) a los países en desarrollo de Asia, África, Oriente Medio y América Latina, donde después se multiplicaron. La selección de estas variedades fue el resultado de los progresos realizados en el campo de la hibridación y mejora genética de las plantas cultivadas.

La selección empírica, que emplearon desde la antigüedad los agricultores y que ha continuado en vigor hasta finales del siglo XIX, consistía en elegir dentro de una población individuos con características agronómicas favorables y resebrar sus semillas repetidamente hasta obtener poblaciones homogéneas más productivas o incluso resistentes a la sequía, a una enfermedad o a una determinada plaga.

Después del descubrimiento por Mendel de las leyes de la herencia se pensó que podrían mejorarse las plantas cultivadas aumentando su diversidad genética, es decir, creando nuevas combinaciones de genes al cruzar líneas con caracteres interesantes mediante polinización cruzada y seleccionar después individuos con las propiedades deseadas. Un variedad indígena de una planta cultivada rara vez es una línea pura; corresponde

más bien a una población en la que todos los individuos pueden tener un fenotipo parecido pero, en realidad, tienen genotipo diferente. Estas poblaciones constituyen las "razas locales" o "variedades del país" y su diversidad genética es muy favorable para los agricultores al ofrecerles una cosecha bastante segura. Pero estas razas locales, en cambio, no dan altos rendimientos por estar limitadas por una serie de factores del medio en que se desarrollan.

Las investigaciones de Borlaug, aplicando la Genética a la Mejora de Plantas, se basan en la hibridación de líneas parentales con características deseadas, mediante polinizaciones controladas. En las generaciones que se obtienen con estos cruzamientos se seleccionan los individuos con los mejores caracteres y se repite la operación hasta que todos presenten la misma uniformidad; se repiten los ensayos durante varios años y en diferentes localidades y cuando una línea o variedad se muestra superior a las variedades existentes se multiplica y se difunde como variedad comercial.

Las investigaciones de Borlaug sobre trigos, patrocinadas por la Fundación Rockefeller y el gobierno mexicano, dieron como resultado el aumento espectacular de los rendimientos, la creación de nuevas variedades y la extensión de las experiencias, no sólo a otros cereales, como arroz, maíz o sorgo, sino también a varias leguminosas, tabaco o mandioca, lo que supuso el incremento de la producción de alimentos para las poblaciones humanas y de piensos para el ganado, con las correspondientes repercusiones en la economía y el desarrollo mundial.

\* \* \*

En las últimas líneas de su discurso Lacadena copia unos párrafos propios, escritos en ocasión del centenario de la muerte de Gregor Mendel, en los que postula la posible concesión de un Premio Nobel, a título póstumo, al descubridor de las leyes de la herencia que llevan su nombre. Entre los siglos XVIII y XIX se sucedieron, uno tras otro, tres genios con el impulso suficiente para dejar su huella indeleble en el progreso de las Ciencias Naturales: Carl Linneo (1707-1778), Gregor Mendel (1822-1884) y

Charles Darwin (1809-1882), el primero anterior a los otros dos, que fueron contemporáneos.

La vida de Linneo presenta curiosas contradicciones todavía, en parte, vigentes, pues su recuerdo permanece algo olvidado quizá porque la Taxonomía no se encuentra ahora, precisamente, entre las ciencias con más futuro. En 1978, segundo centenario de la muerte de Linneo, se celebraron muy pocos actos conmemorativos y no recuerdo ninguno sobresaliente en nuestro país, tan pródigo a veces en homenajear a personajes que muy poco aportaron al progreso de la ciencia o de la cultura. Sin embargo, Linneo fue un excepcional naturalista que realizó la difícil obra de poner en orden la desordenada y caótica nomenclatura de los tres reinos naturales en la que hoy se basan los trabajos tan en boga sobre biodiversidad. Pero esta notable tarea, al igual que lo ocurrido con Mendel, ocultó una parte sustancial de su obra e incluso aspectos fundamentales de su problemática: la concepción linneana del equilibrio de la naturaleza que, a partir de la aparición del darwinismo fue sustituida parcialmente por los conceptos ecológicos. En su "*Discurso sobre el crecimiento de la Tierra habitable*", documento que nunca fue traducido a nuestra lengua, se exponen sus ideas sobre las posibilidades futuras de nuestro planeta y se adelantan las bases sobre las que más tarde los ecólogos establecerían los mecanismos de las cadenas o redes tróficas.

También Juan Ramón Lacadena nos ha hablado apasionadamente de la personalidad y el polifacetismo científico de Gregor Mendel. Olvidamos a veces que, además de con guisantes, trabajó con otras plantas y otros animales e incluso realizó una breve incursión en el campo de la antropología humana.

Y Darwin, que desconocía los verdaderos mecanismos de la herencia, fue conocido sobre todo por su obra "*El origen de las especies*" que dio nacimiento al darwinismo, explicativo del mecanismo evolutivo de los seres vivos, pero se olvidan con frecuencia sus investigaciones en polinización, comportamiento animal y fecundación de las plantas, por ejemplo.

Los Premios Nobel de los que nos ha hablado el nuevo Académico se resumen, generalmente, en una sola frase, en una línea nada más. Pero Lacadena nos ha referido minuciosamente cuánto trabajo, cuánta

dedicación y cuántas decepciones encierra a veces esa corta línea en la que pretendemos resumir ese enorme galardón.

\* \* \*

Un extraño maleficio ha acompañado a los acontecimientos relacionados con el progreso de la Genética. Los trabajos de Mendel, que establecían los principios de la Genética clásica pasaron inadvertidos hasta que 30 años después fueron redescubiertos por el botánico holandés Hugo de Vries. En los planes de estudios de las Universidades españolas hasta 1953 no figuró la Genética como asignatura obligatoria, es decir, 88 años después de las experiencias del sabio fraile agustino. Y en nuestra Real Academia de Farmacia, en cuyas filas no había figurado nunca un genético, toma hoy posesión de su asiento el Excmo. Sr. D. Juan Ramón Lacadena Calero, 132 años después de los descubrimientos de Gregor Mendel. A nuestro nuevo compañero le toca ahora recuperar el tiempo perdido.

He dicho.









