

## Breve Historia de la Biología Molecular

Juan Guillermo McEwen, MD, PhD.

Profesor Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia  
Investigador Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB)

En nuestro recuento de la historia de la Biología Molecular (BM), nos tenemos que remontar a la época de Charles Darwin (1809-1882), quien al escribir el «Origen de las especies», puso la piedra angular de la biología moderna. Darwin realizó un viaje entre 1831-1836 en el que visitó, entre otros lugares, las Islas Galápagos; allí realizó las observaciones que condujeron a la escritura del libro anteriormente mencionado que se convirtió en el incentivo para comprender los sistemas vivos. Es interesante anotar que para su viaje Darwin no tuvo ninguna financiación fuera de su propio dinero. Otra de las grandes personalidades en esta historia es Gregor Mendel (1822-1884), un monje Austriaco, que en el monasterio Agustiniiano donde vivía, trabajó por 8 años, analizando más de 10.000 plantas de guisantes y recolectando datos que le sirvieron para la elaboración del artículo, titulado «Experimentos en hibridación de plantas», el cual presentó en 1865 ante la Sociedad de Ciencia Natural en Brúnn. En este trabajo se describieron con gran exactitud, las leyes de la herencia y cómo las características o rasgos se transmiten de una generación a la siguiente. Este artículo, a pesar de haber sido publicado al siguiente año, permaneció sin ningún reconocimiento, pues fue escrito en una lengua y en una revista que no tenían mucha difusión en la comunidad científica de la época. En 1900 los trabajos independientes de De Vries, Correns y Tschermak, condujeron a la formulación principios muy similares a los de Mendel: en una búsqueda bibliográfica encuentran la publicación de

Mendel con las leyes ya enunciadas, lo cual permite que se inicie la difusión y reconocimiento de su trabajo.

Pero para poder comprender completamente las bases de la herencia era necesario conocer cuál era la molécula o moléculas que en la célula eran responsables de almacenar y transmitir esta información. Por tanto era fundamentalmente estudiar las características químicas de las moléculas.

El primero en aislar ácidos nucleicos, fue Johann Friedrich Miescher (1844-1895), quien a la edad de 24 años fue a estudiar con el Prof. Felix Hoppe-Seyler, personaje que le dió el nombre a la hemoglobina y fue editor de la primera revista de bioquímica. Miescher estaba interesado en la química del núcleo, para lo cual purificaba células blancas de pus obtenida de gasas desechadas en una clínica cercana. En 1869 encontró una sustancia nueva, la cual era rica en fósforo y tenía un pH ácido; al siguiente año regresó a su tierra natal, Basilea y continuó trabajando con esta sustancia, obtenida de esperma de salmón. Sus hallazgos solo fueron publicados en 1871, pues su Profesor insistió en repetir los experimentos personalmente. El nombre de Ácidos Nucleicos fue dado a esta sustancia por uno de los estudiantes de Miescher en 1889. El interés en los ácidos nucleicos continuó y fue así como en pocos años se lograron identificar sus componentes y se aislaron en forma pura las bases nitrogenadas. La

GUANINA (G) había sido aislada de Guano en 1844. La ADENINA (A) fue aislada en 1885 de ácidos nucleicos de páncreas de ternero (Adenos: glándula). La TIMINA (T) se obtuvo de Timo de ganado vacuno en 1893. El URACILO (U) de levaduras en 1900 y la CITOCINA (C) en 1894.

Por esta época se observó que el material del núcleo se organiza en filamentos y a estos filamentos se les llamó cromosomas. Walter S. Sutton en 1903 publicó « El cromosoma en la herencia » y con éste dio origen a la citogenética y al establecimiento de la relación entre las leyes de Mendel y el cromosoma como portador de los factores hereditarios o genes, como fue designada la unidad de información genética; por este trabajo Sutton recibió el premio Nobel en 1933. La investigación en genética se centró por ese tiempo en un organismo que pasó a ser muy importante en el desarrollo de esta ciencia, la mosca de la fruta; «*Drosophila*». Fue así como Tomas Hunt Morgan en 1909 comenzó sus investigaciones con moscas de variedad salvaje, luego de un año de estudiar miles de ellas encontró que uno de los machos tenía, a diferencia de los demás de su especie, ojos blancos y no rojos como era lo usual. En sus estudios logró determinar que este cambio o mutación estaba ligado al sexo. Hoy en día se tienen colecciones de *Drosophila* con miles de mutaciones, pero al inicio de estos estudios, la búsqueda de mutantes era un proceso tedioso y lento; en este insecto la frecuencia de mutación espontánea es aproximadamente de 1:1000. Esto cambió con un descubrimiento hecho por Herman J. Müller, quien en 1927 demostró que estas



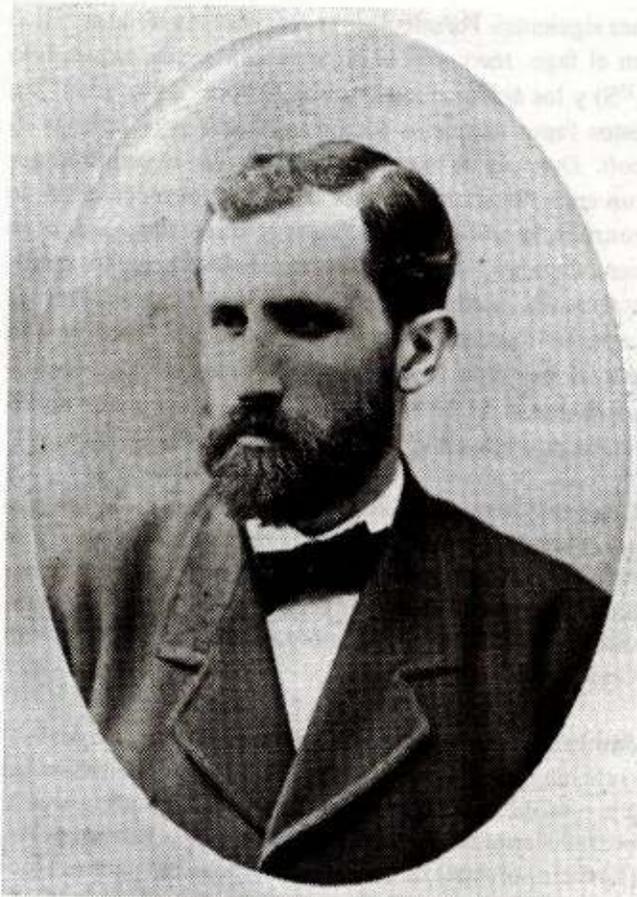
Charles Darwin



Gregorio Mendel

mutaciones pueden ser producidas artificialmente por medio de la exposición a Rx ; de paso se determinó el peligro de la exposición a la radiación, y que el material genético es susceptible a cambios ocasionados por agentes externos. Por este trabajo Müller obtuvo el premio Nobel en 1946.

Estos estudios dieron origen a nuevas preguntas; una de ellas referente a la naturaleza del material genético. Los estudios que llevaron a identificar el ADN como el componente del material genético, comenzaron con las observaciones hechas por Frederic Griffith. Este era un médico que en 1923 estaba haciendo investigación en el laboratorio de patología del Ministerio de Salud en Londres; allí trabajaba con la bacteria *Diplococcus pneumoniae* mejor conocida como *pneumococcus*. De esta bacteria se encuentran cepas virulentas, las cuales poseen una cápsula, lo que les da la apariencia de colonias lisas cuando crecen en cultivo in vitro, y cepas avirulentas, sin cápsula, cuyas colonias tienen apariencia rugosa. Griffith encontró que cuando inyectaba ratones con bacterias de la



Federico Miescher

variedad lisa, muertas por calor, o con la variedad rugosa en forma viva, los animales sobrevivían; pero cuando inyectaba bacterias lisas inactivadas conjuntamente con bacterias rugosas vivas, los animales morían y de ellos se aislaba la variedad virulenta (lisa). Como no era posible que la variedad virulenta hubiera «resucitado», una de las posibles explicaciones era que algún componente de la bacteria muerta que se transmitiera, fuera el responsable de la transformación de la variedad avirulenta. Estos resultados fueron publicados por Griffith en 1928. Unos años después se demostró que esta transformación de una cepa avirulenta en otra virulenta, no requería la infección de los ratones, puesto que extractos de la bacteria virulenta, podían producir la misma transformación *in vitro*.

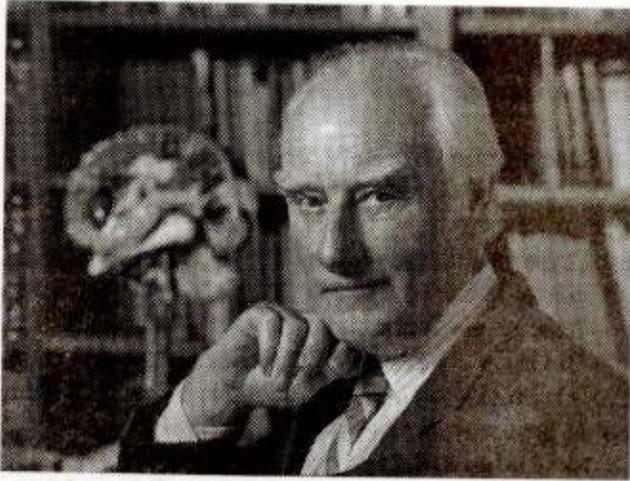
Al conocer estos estudios Oswal T. Avery, un médico que trabajaba en inmunología y *pneumococcus* en la Universidad de Rockefeller, decidió estudiar la naturaleza del factor transformante del *pneumococcus*. Fruto de dichos estudios, en 1944, publicó su artículo «Estudios de la naturaleza química de la sustancia que induce transformación en el *pneumococcus*». El principal problema de Avery no fue separar la sustancia sino demostrar que esta era

solo ADN, pues para la mayor parte de los científicos de la época, el ADN no era una molécula lo suficientemente compleja para transmitir la información genética.

La demostración de que el ADN era el material genético se confirmó con los experimentos realizados con el fago  $\lambda$  por A. Hershey y M. Chase. Pero antes de referirnos a estos experimentos hablemos del fago  $\lambda$  que es un virus que infecta la bacteria *E. coli*. El fago  $\lambda$  fue estudiado ampliamente por varios científicos que pasaron a llamarse « El Grupo del Fago ». El fundador de este grupo fue Max Delbrück (1907-1981). Delbrück era un científico, que al igual que muchos otros científicos alemanes fue forzado a salir de su tierra natal en el periodo previo a la guerra mundial. Su entrenamiento era en física y fue estudiante de Niels Born. Durante su tiempo en Alemania ya se había interesado por el concepto del gen, y escribió un artículo que hablaba sobre las propiedades físicas del gen, esta publicación llevó a otro contemporáneo suyo, Erwin Schrödinger, a escribir el libro «Qué es la vida», que a su vez tuvo gran influencia en muchos otros científicos. Continuando con la historia, el Dr. Delbrück, al llegar a Estados Unidos, se vinculó al Instituto de Tecnología en California (CALTECH); allí trabajó durante un año con *Drosophila*, pero luego decidió unirse al grupo de Emory



Archibald Garrod



Francis Harry Compton Crick

Ellis que trabajaba con el fago  $\lambda$ . Ellis le presentó algunos datos de D'Herelle, el descubridor de los fagos, y su posición inicial fue de desconfianza con estos datos, pues pensaba que no era posible que los biólogos trataran de aprender algo de un organismo tan pequeño, que solo mostraba su presencia indirectamente, mediante las bacterias que destruía, "como un niño demuestra su presencia cuando un pedazo de pastel ha desaparecido". Luego de esto decidió trabajar en este virus, pues creía que con unos pocos experimentos podría resolver las dudas que se tenían. Ocho años más tarde fue invitado a dar una conferencia a la Sociedad Harvey, y relató la historia de un físico que decidió trabajar en biología y creía que los problemas biológicos se podían resolver en muy poco tiempo pero, ocho años después se convence de que pasarían varias décadas de investigación y necesitaría de más investigadores para poder entender el fago  $\lambda$ . Otros investigadores como Salvador Luria y Alfred Hershey ingresaron al Grupo del Fago. En 1969, los tres recibieron el premio Nobel por este trabajo.

El experimento realizado por Hershey y Chase en 1952. Que esclareció cuál era la naturaleza del material genético usaba el fago  $\lambda$ . Para esta época se sabía que este virus solo tenía dos componentes: una cápsula proteica y en su interior, ADN. Este experimento popularmente conocido como el experimento de la licuadora, se basaba en 2 propiedades que debía tener ese material genético: 1) el debía pasar a la célula infectada y 2) el material tendría que transmitirse a las generacio-

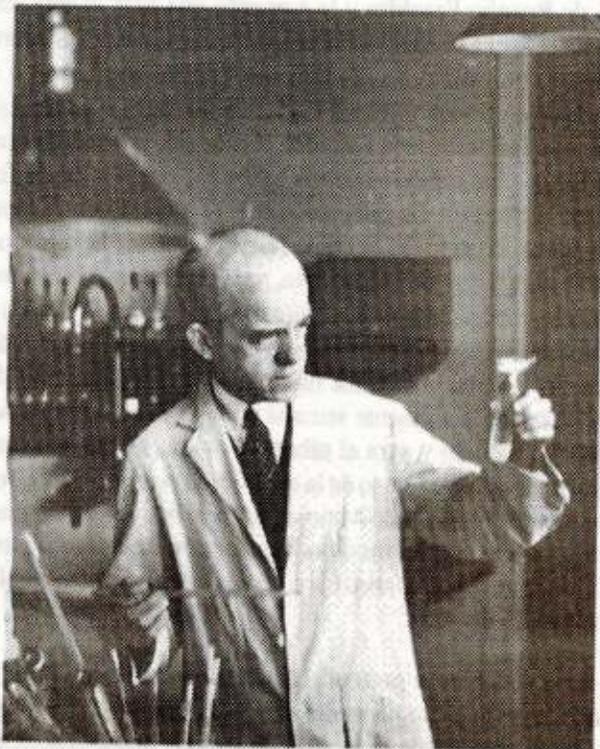
nes siguientes. Para demostrar cuál era el material genético en el fago, marcaron la proteína con azufre radioactivo ( $^{35}\text{S}$ ) y los ácidos nucleicos con fósforo radioactivo ( $^{32}\text{P}$ ); estos fagos marcados fueron utilizados para infectar *E. coli*. Después de unos minutos los cultivos se introdujeron en la licuadora por unos segundos; esto con el fin de romper la unión entre fagos y bacterias, luego se centrifugaron y se siguió cada una de las fracciones radioactivas. Se encontró que en el sobrenadante estaban las cápsidas marcadas con  $^{35}\text{S}$  y en el botón, conformado por las bacterias se encontraba la radioactividad correspondiente al ADN  $^{32}\text{P}$ , además esta radioactividad continuaba presente en la progenie de estas células (Figura).

Una vez que se estableció que el ADN era la molécula responsable de la transmisión de la información genética se despertó un gran interés en determinar cuál era su estructura, y fue aquí donde aparecieron dos grandes protagonistas: James Dewey Watson y Francis Harry Compton Crick.

**James Dewey Watson:** Desde temprana edad se destacó como un estudiante muy brillante, ingresó a la universidad a la edad de 15 años, gracias a un programa especial que le permitió terminar en dos años el bachillerato. Realizó su BA (Bachelor of Arts) en Zoología y se presentó para su Doctorado a Harvard y Caltech, pero no fue recibido, finalmente fue recibido en 1946 en la U. de Indiana y allí tomó un curso con Salvador Luria, convirtiéndose luego en su estudiante graduado. En 1950 escribió su tesis y viajó a Europa a realizar un postdoctorado, durante el primer año no obtuvo muchos resultados y luego de escuchar una conferencia en Nápoles sobre cristalografía de Rx y ácidos nucleicos por Maurice Wilkins, de la cual no entendió casi nada, decidió que quería cambiar de tema y aprender



Barbara McClintock y Jacques Monod



Oswald Avery

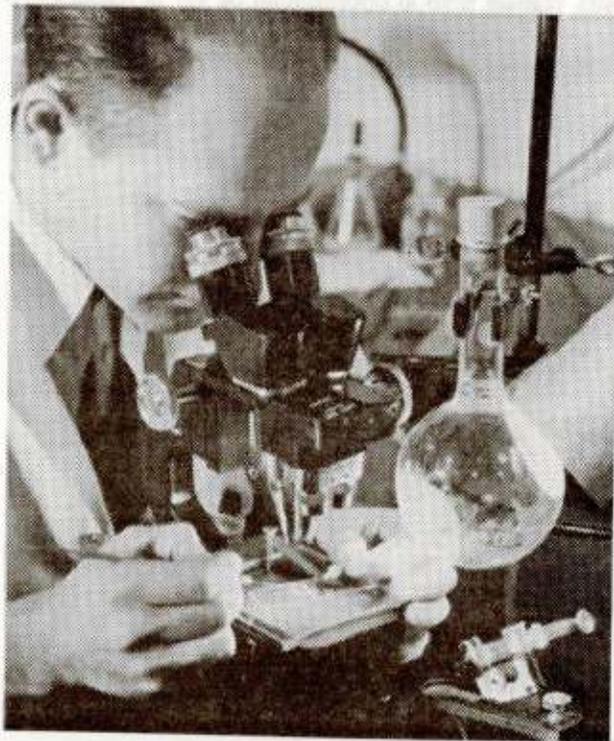
cristalografía; para esto al siguiente año viajó a trabajar con Max Perutz, quien dirigía un grupo que trabajaba cristalografía de la estructura de la hemoglobina, en el laboratorio Cavendish de la U. de Cambridge (Inglaterra); este laboratorio estaba dirigido por Sir Lawrence Bragg, descubridor de la cristalografía de  $Rx$ , por lo cual había recibido el premio Nobel en 1915 a la edad de 25 años.

**Francis Harry Compton Crick:** fue el gran teórico de la Biología Molecular; estaba realizando su doctorado en física cuando comenzó la 2<sup>da</sup> Guerra Mundial, lo cual le impidió terminarlo. Al salir del ejército en 1947, trabajó por 2 años en la U. de Cambridge y en 1949 se unió al grupo de cristalografía, convirtiéndose en un autodidacta en este campo. Era un asiduo lector de estos temas, y opinaba activamente sobre los experimentos de todos sus colegas, por lo cual algunos creían que era un parlanchín y no ponía mucha atención a su propio trabajo.

En cierta forma Watson fue un catalítico para Crick. Cuando el Dr. Watson (23 años) comenzó a trabajar con el Sr. Crick (35 años), compartían el mismo cuarto y se la pasaban hablando todo el tiempo de sus respectivos trabajos; ambos coincidían en lo importante que era el ADN. Cuando se obtuvo una ampliación en el laboratorio y se hizo un nuevo cuarto, Max Perutz y Kendrew se los cedieron con tal de librarse de ellos, pues con su continua conversación era muy difícil concentrarse en el trabajo.

Cuando Watson y Crick decidieron trabajar en la estructura del ADN, había una buena cantidad de conocimiento que resultó esencial para comprender y revelar la estructura de esta molécula. En particular fueron muy importantes los trabajos realizados por Lord Alexander Todd con respecto a la conformación de los nucleótidos y los trabajos de cristalografía de ADN realizados por Maurice Wilkins y Rosalind Franklin. Además fue de gran importancia un artículo publicado por Erwin Chargaff, quien descubrió en qué proporción se encontraban las bases de nucleótidos en el genoma, de lo cual fue posible deducir que la Adenina siempre se aparea con Timina y que la Guanina siempre se une a Citosina ( $A=T$   $G=C$ ).

**Descubrimiento de la estructura del ADN:** El primer intento de Watson y Crick para descifrar la estructura del ADN fue realizado a finales de 1951, pero este fue un completo desastre. Lo peor fue que la beca de Watson no fue renovada, pues el comité estimó que su preparación no era suficiente para trabajar en cristalografía. Afortunadamente entre Luria y Bragg y con la ayuda de Linus Pauling, lograron que la beca fuera restituida, con la promesa de que Watson trabajara en Londres en virología. En la primavera del siguiente año Crick le pidió a John Griffith que calculara la atracción de las bases, este le comunicó unos días más tarde que la atracción es de  $A \rightarrow T$  y de  $G \rightarrow C$ . Este concepto es reforzado por Chargaff en un almuerzo de verano, cuando les comenta su trabajo en el que demostró la complementariedad de las bases. Al



George Beadle



Martha Chase y Alfred Hershey

Después de volver de vacaciones de verano encontraron al hijo de Linus Pauling trabajando en el laboratorio y este les dijo que su padre había enviado un artículo a la revista Proceedings of National Academy of Science con una hipótesis de la estructura del ADN. En Enero de 1953 les llegó copia de este artículo y se dan cuenta que Pauling estaba equivocado. Así que deciden hacer otro intento. El 30 de enero Watson fue a Londres al Colegio del Rey a mostrarle a Maurice Wilkins el artículo de Pauling; en su visita Watson tuvo la oportunidad de ver la fotografía #

51 de Rosalind Franklin y le comentó que para él ésta demostraba, que el ADN tenía una estructura helicoidal, pero Rosalind no estuvo de acuerdo. En febrero comenzaron a trabajar en forma y mientras esperaban las partes del taller que les permitiría elaborar el modelo, fabricaron con cartulinas los modelos de las bases. El viernes 20 de febrero Watson estaba infructuosamente tratando de aparear las bases, cuando un vecino, Jerry Donohue, le dijo que debía usar la conformación keto, para la guanina y la timina, pues la conformación enol que estaba empleando era incorrecta; «más vale un metido a tiempo». El sábado 28 de febrero Watson encuentra finalmente el apareamiento de las bases, en la siguiente semana trabajaron en la construcción del modelo y para el sábado 7 de marzo la estructura estaba terminada. Luego de la evaluación cuidadosa de otros científicos, incluyendo Maurice y Rosalind que fueron desde Londres a ver el modelo, escribieron un artículo para Nature que fue enviado el 14 de marzo y apareció publicado el 25 de abril.

Esta revisión solo pretende dar una idea del inicio de la historia de la biología molecular. Muchos otros descubrimientos importantes han sido realizados desde entonces, los cuales han contribuido al entendimiento actual de esta ciencia que avanza y muta a gran velocidad. Una cronografía de estos descubrimientos se encuentra en la Tabla 1 y varias de las fotos de los protagonistas se presentan en las Figuras 2ª, b, c etc.. Esta ciencia tiene un gran impacto en el mundo actual y su importancia crecerá con el tiempo de ahí la importancia de conocer estos hitos fundacionales.

