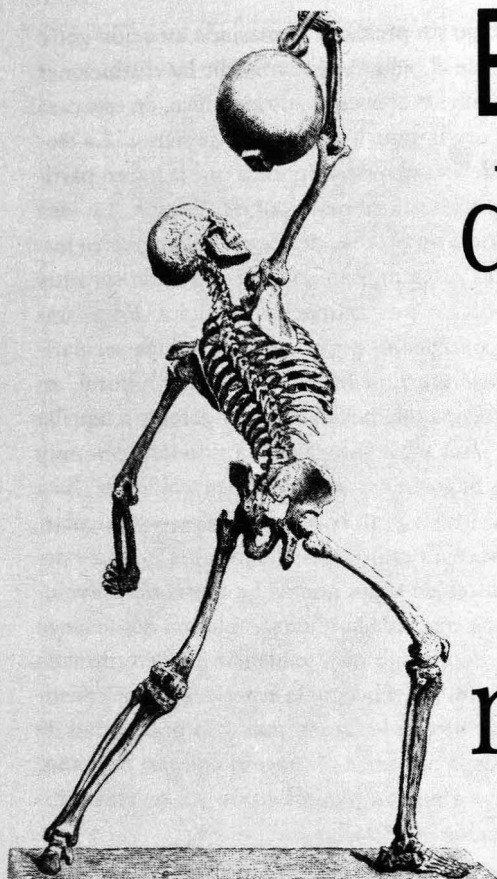


El secreto de la vida y la biología molecular

*Rafael Palacios**



El concepto de vida ha sido siempre central en la evolución cultural del hombre. Ha cambiado de ser mágico e inexplicable al concepto actual, que en general comparten todos aquellos que no han permanecido al margen de avances científicos recientes y que se centra en la concepción de que el fenómeno que conocemos como vida obedece a las mismas leyes físico-químicas que rigen otros órdenes inanimados del Universo.

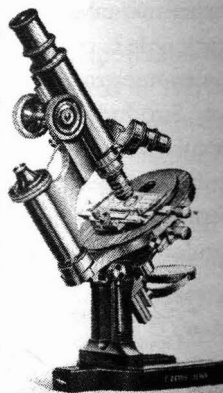
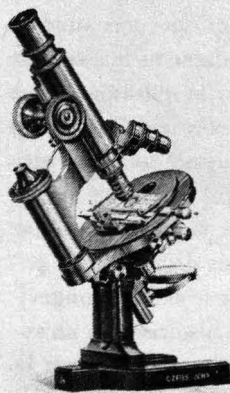
En este contexto el “secreto de la vida” se encuentra en las relaciones que existen entre las moléculas que forman parte de, o que interaccionan con, los organismos vivos. A pesar de la diversidad de organismos que viven en nuestro planeta, desde las bacterias hasta el hombre, las bases fundamentales que sustentan el fenómeno biológico son similares en todos ellos. Esto ha permitido establecer principios generales válidos para todos los organismos vivos y recientemente utilizar estos principios para obtener formas de vida derivadas de la recombinación de propiedades existentes en organismos diferentes. Como resultado, el hombre ha adquirido la capacidad de incidir en forma directa en el proceso de la evolución.

Discutiremos con el lector algunos de los principios generales del fenómeno biológico, con objeto de compartir nuestra concepción sobre “el secreto de la vida”. Centraremos la discusión alrededor de la naturaleza y propiedades químicas del material genético.

La vida se reproduce continuamente originando formas similares a la vez que evoluciona hacia nuevas formas. En la naturaleza del material genético deberemos encontrar respuesta a estas dos propiedades fundamentales: la constancia en la reproducción y el cambio en la evolución. Si hemos dicho que el hombre ha adquirido la capacidad para producir “nuevos” organismos recombinantes y para incidir en la evolución, es precisamente en la manipulación del material genético donde se manifiesta esta capacidad.

Las propiedades de un organismo, sea una bacteria, una planta o un animal, son

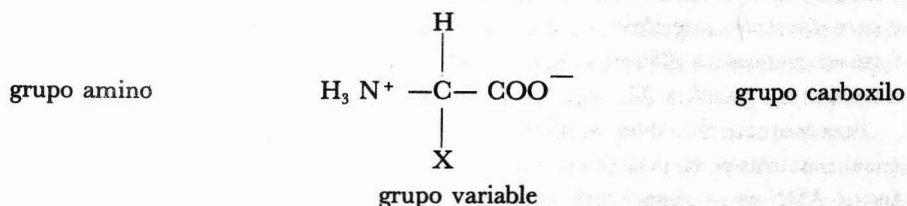
* Centro de Investigación sobre Fijación de Nitrógeno



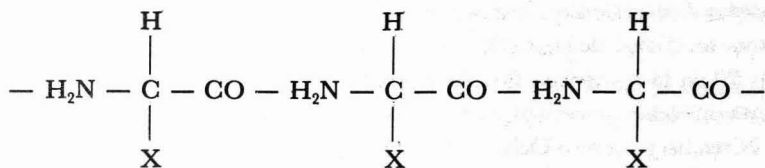
el resultado de las estructuras moleculares que lo forman y de las reacciones químicas que ocurren en él. El organismo encuentra sus límites en relación a estructuras y funciones en aquello cifrado en el material genético que porta, material que ha heredado de sus antecesores y que transmitirá a sus descendientes.

Las reacciones químicas que ocurren en un organismo no son espontáneas. Para que se lleven a cabo, se requiere de la presencia de catalizadores específicos que conocemos como enzimas. Todas las enzimas son macromoléculas que pertenecen al grupo químico de las proteínas. Por otra parte, las estructuras que constituyen el organismo están formadas por proteínas y por otras macromoléculas que se sintetizan por la actividad catalítica de ciertas enzimas. Es así que en último término, los límites de la estructura y función de un organismo dependen de las proteínas que dicho organismo es capaz de sintetizar. Dicha capacidad se encuentra codificada en el material genético.

Antes de preguntarnos sobre la naturaleza química del material genético, discutiremos brevemente sobre la estructura de las proteínas. Las proteínas son moléculas muy grandes formadas por la unión de moléculas pequeñas que corresponden al grupo químico de los aminoácidos. Los aminoácidos presentan la siguiente estructura general:



Cada aminoácido presenta un grupo carboxilo (ácido) cargado negativamente, un grupo amino (básico) cargado positivamente y un grupo de naturaleza variable dependiendo del aminoácido (X). Existen 20 aminoácidos diferentes que participan en la estructura de las proteínas. Para formar una proteína, distintos aminoácidos son ensamblados por medio de sus grupos amino y carboxilo como se muestra a continuación:



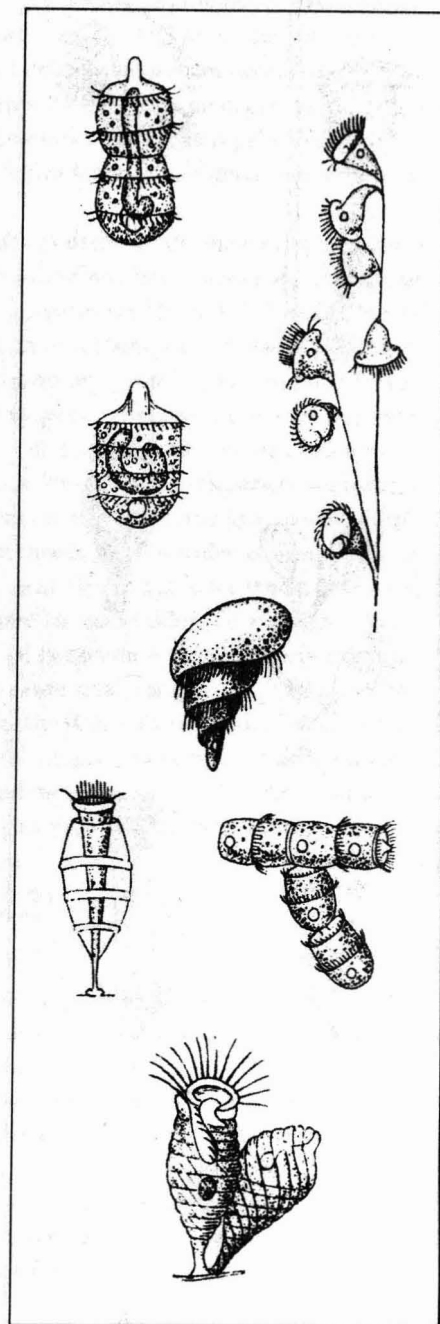
La cadena formada se pliega en una forma específica como resultado de interacciones entre los grupos de los diferentes aminoácidos, estableciendo una estructura tridimensional de la cual depende la función de la proteína. Como la estructura tridimensional es resultado del ordenamiento de aminoácidos en la cadena, podemos decir que el funcionamiento de la proteína depende en último término de la secuencia de aminoácidos que la forman. Una proteína promedio presenta aproximadamente 100 aminoácidos. La cantidad de proteínas diferentes que podemos obtener de la combinación de 20 aminoácidos en una cadena de 100 es enorme (20^{100}).

Habiendo hecho estas consideraciones podemos resumir nuestro problema en la siguiente forma: "en el material genético se encuentra codificada la secuencia de aminoácidos de las proteínas que constituyen un organismo". ¿Cuál es la naturaleza química del material genético? El establecimiento de la estructura y propiedades del material genético ha sido uno de los grandes logros dentro de la evolución cultural del hombre, por lo cual una breve reseña histórica parecería justa y necesaria.

En 1928, el microbiólogo inglés Frederick Griffith hizo la observación de que al mezclar bacterias no patógenas con material orgánico derivado de bacterias patógenas muertas por calentamiento, se obtenían algunas bacterias patógenas. Esto indicó que algún componente de la célula bacteriana tenía la capacidad de transformar genéticamente a otras células. Ese componente sería el material genético. Hacia 1944,

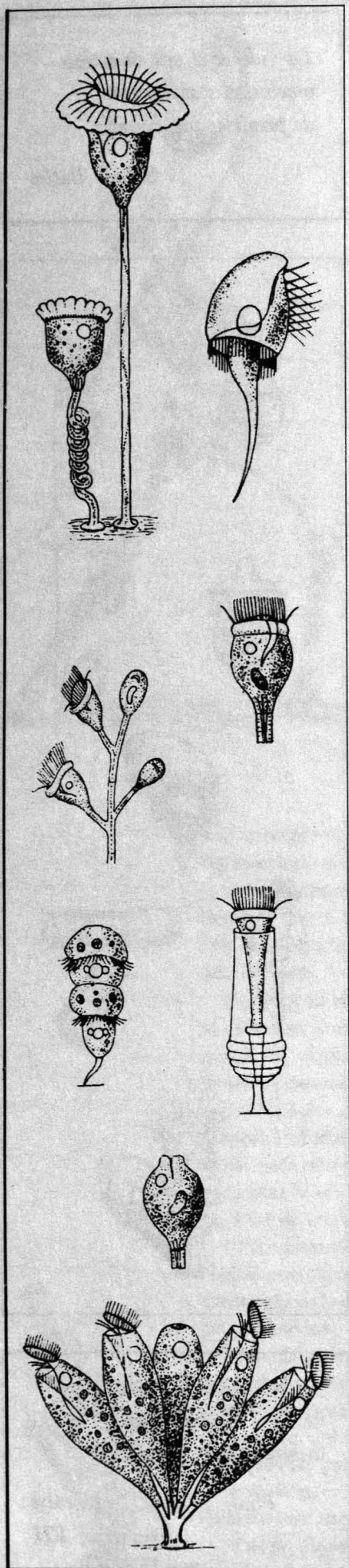
La vida es el arte de extraer conclusiones suficientes de premisas insuficientes.

Samuel Butler



Lo mejor que la Naturaleza ha dado al hombre es la brevedad de la vida.

Plinio el Viejo, Naturalis Historia, VII



el microbiólogo norteamericano Oswald Avery demostró que el principio transformante correspondía químicamente al compuesto que conocemos como ácido desoxirribonucleico, ADN. Experimentos posteriores utilizando virus y bacterias, aunados a observaciones sobre la constancia especie-específica del contenido de ADN en las células, confirmaron la demostración de que el ADN es el material genético. En la estructura del ADN debíamos, por lo tanto, encontrar respuesta a fenómenos fundamentales como la replicación del material genético y la codificación de la estructura de las proteínas. La composición química de la molécula se conocía desde tiempo atrás pero su estructura fue resuelta hacia 1953 gracias a las investigaciones de James D. Watson, Francis Crick y M.H.F. Wilkins, que trabajaban entonces en Inglaterra y fueron laureados con el Premio Nobel por la trascendencia de su descubrimiento.

El ADN es un polímero biológico formado por subunidades que pertenecen al grupo químico de los nucleótidos. Un nucleótido está formado por un grupo fosfato unido a un azúcar de 5 átomos de carbono (desoxirribosa en el caso de los componentes del ADN) que a su vez, se une a una molécula orgánica cíclica que contiene nitrógeno y que puede pertenecer a dos tipos de compuestos: purinas o pirimidinas. Únicamente dos diferentes purinas, adenina y guanina, y dos diferentes pirimidinas, citocina y timina, se encuentran presentes en el ADN, en tal forma que sólo cuatro diferentes nucleótidos forman su estructura. El ADN es pues, un polímero formado por cuatro diferentes tipos de subunidades: los nucleótidos que contienen adenina (A), guanina (G), citocina (C) y timina (T).

Podemos concebir ahora al ADN como una larga cadena de nucleótidos con cuatro alternativas en cada posición (A,G,C,T). Lo único en que difieren dos fragmentos de ADN es en la secuencia de nucleótidos que presentan. En esta forma toda la potencialidad de un organismo se encuentra cifrada en la secuencia de nucleótidos que presenta el ADN que posee. El ser una bacteria, una rosa, una hormiga, un elefante o un hombre, es resultado de la secuencia de nucleótidos que presenta el ADN de cada uno.

Correlacionando la estructura del ADN con la estructura y función de un organismo, determinada por sus proteínas, podemos ahora simplificar nuestro problema en la siguiente forma: "la secuencia de nucleótidos en el ADN determina la secuencia de aminoácidos de las proteínas que constituyen un organismo". ¿Cómo transformamos un código de cuatro letras en el ADN (los cuatro nucleótidos) en un alfabeto de 20 en las proteínas (los 20 aminoácidos)? En la actualidad conocemos la respuesta (el código genético) gracias a los trabajos pioneros de tres investigadores: M.H. Nirenberg, Severo Ochoa y H.G. Khorana, quienes trabajando independientemente en Estados Unidos aportaron distintas claves para la solución.

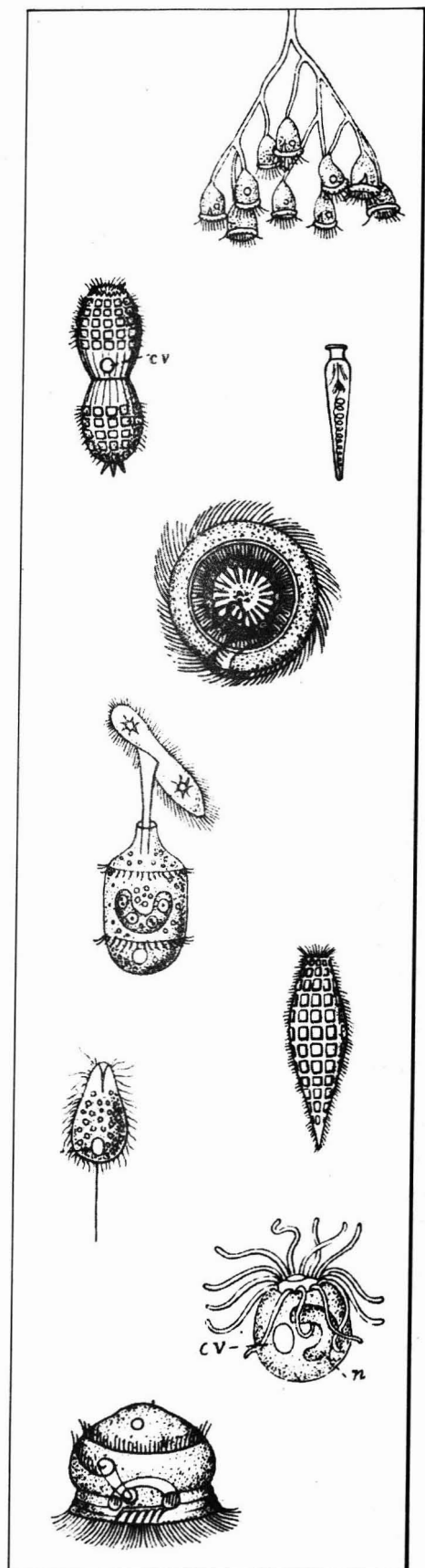
Una secuencia de tres nucleótidos en el ADN codifica para la posición de un aminoácido en una proteína. Existiendo cuatro posibilidades en los nucleótidos se generan 64 posibles tripletes o codones (4^3) o sea más de lo necesario para codificar los 20 aminoácidos. De hecho, 61 de los posibles tripletes codifican para algún aminoá-

Una lúgubre noche de noviembre vi coronados mis esfuerzos. Con una ansiedad casi rayana en la agonía, reuní a mi alrededor los instrumentos capaces de infundir la chispa vital al ser inerte que yacía ante mí. Era ya la una de la madrugada; la lluvia golpeaba triste contra los cristales, y la vela estaba a punto de consumirse, cuando, al parpadear de la llama medio extinguida, vi abrirse los ojos amarillentos y apagados de la criatura; respiró con dificultad, y un movimiento convulso agitó sus miembros.

Mary W. Shelley

*La vida es una queja fatal,
y eminentemente contagiosa.*

O.W. Holmes

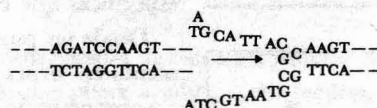


cido en tal forma que cada aminoácido puede tener más de una y en ocasiones hasta seis diferentes posibilidades de codificación. Los restantes tres tripletes no codifican para ningún aminoácido constituyendo señales para la terminación de la síntesis de una proteína. Uno de los codones que corresponde al aminoácido metionina, cuando es precedido por una secuencia determinada, codifica para la iniciación de la síntesis de una proteína.

En esta forma, podemos conceptualizar el ADN como un largo mensaje lineal en código de cuatro letras, en el cual se encuentran señales para la iniciación de la síntesis, la secuencia de aminoácidos y la terminación de la síntesis de las distintas proteínas que forman un organismo. Más aún, en el ADN se encuentran codificadas también (en forma de secuencias de nucleótidos), las señales necesarias para regular en el tiempo y el espacio (diferentes tipos de células en un organismo multicelular), el proceso de síntesis de proteínas. En estos procesos de regulación, distintos componentes celulares interaccionan como activadores o inhibidores con secuencias específicas en el ADN.

El proceso de síntesis de proteínas específicas derivado del mensaje que porta el ADN, es de hecho muy complejo, y esta discusión no intenta revisarlo. Que quede bien claro, sin embargo, que el alterar un solo nucleótido en el ADN resulta (hecho que se ha comprobado experimentalmente en muchísimos casos) en el cambio de un aminoácido en la posición correspondiente en una proteína, lo cual puede resultar en una alteración en su función. Por otra parte, como veremos más adelante, la introducción de ADN de un organismo a otro, puede resultar en la síntesis de proteínas y por lo tanto, en la incorporación de funciones nuevas para el organismo.

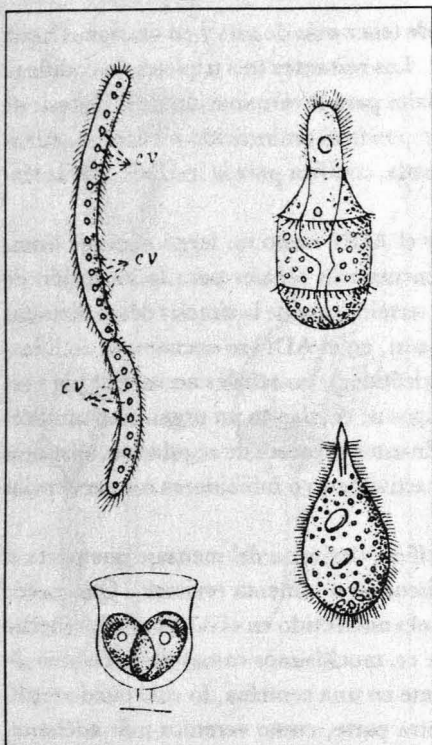
Para discutir la codificación hemos presentado al ADN como una cadena simple de nucleótidos. De hecho la molécula está formada por dos cadenas complementarias, en tal forma, que la secuencia de una cadena determina la secuencia de la otra, debido a interacciones químicas directas entre los nucleótidos. Cuando en una cadena existe un nucleótido con adenina (A), en la cadena complementaria existe un nucleótido con timina (T), mientras que si existe uno con guanina (G), la cadena complementaria siempre tendrá uno con citosina (C). Esta particular estructura de doble cadena, que en su forma tridimensional adopta una estructura de doble hélice, nos explica en forma directa la capacidad de replicación del ADN, resultando la formación de dos moléculas idénticas a partir de una molécula original:



Esta forma de replicación nos explica una de las propiedades fundamentales de la vida: la constancia en la reproducción. La otra, o sea el cambio en la evolución, se debe a que los mecanismos no son perfectos, introduciéndose alteraciones en la posición de los nucleótidos, así como transposiciones (cambios de lugar), duplicaciones y deleciones (pérdidas de fragmentos) en el ADN, lo cual determina cambios espontáneos que se van seleccionando en el transcurso de la evolución.

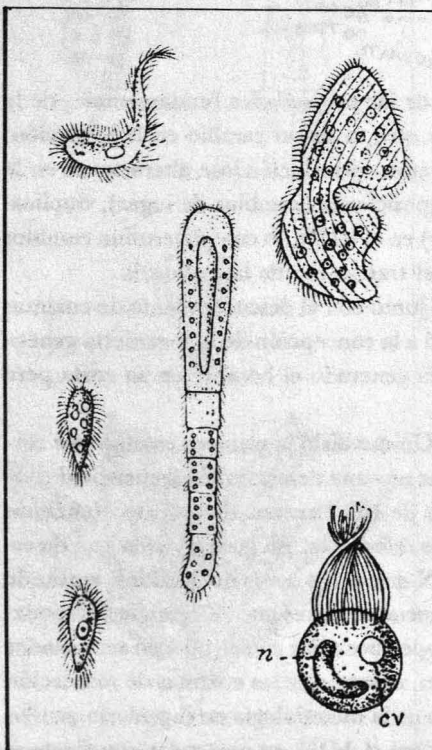
La elucidación de la estructura del ADN junto con el descubrimiento de enzimas que cortan el ADN en sitios específicos llevó a la concepción de la ingeniería genética, una de las armas más poderosas que ha generado el hombre en su corta pero acelerada historia de evolución cultural.

Hacia 1970 Hamilton Smith en Estados Unidos aisló la primera enzima que corta el ADN en sitios específicos caracterizados por una determinada secuencia de nucleótidos. En la actualidad conocemos más de 100 enzimas de este tipo (enzimas de restricción) que presentan especificidades diferentes. En general cada una de estas enzimas reconoce una secuencia de ADN de cuatro o seis nucleótidos, cortando la cadena cada vez que dicha secuencia se encuentra presente. En esta forma podemos subdividir un genoma en fragmentos específicos, los cuales pueden ser aislados empleando diferentes métodos de separación. Además de las enzimas de restricción han sido muy importantes para el desarrollo de la metodología en ingeniería genética, otras enzimas que ejercen su actividad sobre el ADN, en particular aquellas que



—Usted ama la vida, y quiere la vida, ¿verdad?
 —¡Oh, sí, exactamente! ¡La vida es lo único que necesitamos!
 —Mas, ¿cómo obtener la vida sin conseguir también el alma?

Bram Stoker, Drácula



pueden unir fragmentos de ADN (ligasas de ADN).

La concepción es sencilla: ver al material genético como una estructura química (ADN) capaz de ser manipulada en forma directa. Si incorporamos fragmentos de ADN de un organismo como parte del material genético de otro, éste contendrá ahora zonas nuevas de codificación derivadas del organismo donador que dotarán al aceptor de nuevas propiedades. En su forma más simple, el problema se reduce técnicamente a separar un fragmento de ADN de un organismo, unirlo "in vitro" a un fragmento de otro organismo que sea capaz de replicarse en él, e introducir el fragmento "recombinante" de ADN al organismo aceptor.

Los experimentos iniciales de juntar (ligar) fragmentos de ADN de diferentes orígenes se llevaron a cabo en el laboratorio de Paul Berg en 1972 y la primera introducción de ADN recombinante a una célula bacteriana, se llevó a cabo por Stanley Cohen y Herbert Boyer, de Estados Unidos, en 1973. En este experimento utilizaron un fragmento de ADN circular capaz de replicarse (plásmido) derivado de la bacteria *Escherichia coli* como ADN aceptor o en la terminología de ingeniería genética, como vehículo molecular. El plásmido fue cortado en un sitio específico y un fragmento de ADN heterólogo fue ligado al vehículo en el mismo sitio de corte. La molécula fue introducida a la bacteria *Escherichia coli* en la cual se replicó normalmente en tal forma que las nuevas generaciones bacterianas heredaron el fragmento de ADN heterólogo.

Para tener una idea de los alcances actuales de la ingeniería genética, imaginemos la posibilidad de aislar un gene (fragmento de ADN que codifica para una proteína específica) humano que codifique para una proteína de importancia médica, unir este fragmento a un plásmido de la bacteria *E. coli* formando así un plásmido recombinante, transferir dicho plásmido a la bacteria y obtener la síntesis de la proteína a partir de bacterias cultivadas en fermentadores. El experimento se ha realizado exitosamente. Actualmente tenemos bacterias sintetizando insulina humana, una hormona proteica de gran utilidad en la medicina. Como éste, existen actualmente una gran cantidad de ejemplos de la utilidad de las técnicas de ingeniería genética. Podemos en general decir que cualquier fragmento de ADN es ahora aislable, amplificable y caracterizable en detalle, incluyendo la posibilidad de establecer su secuencia de nucleótidos, y por lo tanto de deducir la secuencia de aminoácidos de las proteínas que codifique, así como de descifrar algunas señales regulatorias específicas que contenga.

Desde un punto de vista científico, las técnicas de ingeniería genética han ampliado en forma fundamental nuestra capacidad de adquirir nuevo conocimiento. La organización del genoma y los mecanismos de regulación de la expresión génica en bacterias, plantas y animales pueden ser abordados ahora en forma directa y precisa. Esta metodología ha permitido nuevos enfoques para estudiar fenómenos tan complejos como la diferenciación celular o la organización del tejido nervioso y ha dado claves fundamentales en relación a problemas tan importantes para el hombre como las bases de la respuesta inmunológica o el origen molecular del cáncer.

Desde un punto de vista aplicado, la ingeniería genética puede ser considerada como una verdadera revolución tecnológica que incidirá en la industria, la medicina, la agricultura, la contaminación ambiental, etcétera. Así como ha sido posible obtener bacterias portadoras de genes heterólogos, también se han obtenido plantas y animales transgénicos.

Las técnicas genéticas clásicas de obtención de nuevas variedades vegetales y animales por entrecruzamiento de individuos de la misma especie, serán complementadas y eventualmente sustituidas por la introducción de genes específicos que lleven la codificación de las características deseadas. Ciertas enfermedades hereditarias de la especie humana podrán controlarse por métodos de terapia génica.

Como toda nueva capacidad, el hombre podrá utilizar la potencialidad derivada de las técnicas de ingeniería genética para diversos fines. Tenemos la confianza de que el desarrollo de este nuevo poder irá acompañado de la sabiduría necesaria para utilizarlo en tal forma que se beneficie el ecosistema en el que vivimos y que no resulte en una perturbación irreversible. ♦