

Antecedentes de la función y la estructura del ADN. Identificación de la naturaleza de las moléculas portadoras del mensaje genético

José C. Illana

Resumen: Los primeros estudios genéticos fueron realizados por Mendel, De Vries, Correns y Tschermak. Meischer descubrió la nucleína o ácido nucleico. Kossel relacionó la química de los ácidos nucleicos con sus efectos fisiológicos. Estas sustancias estaban constituidas por bases nitrogenadas. Levene propuso su estructuración tetranucleotídica. Avery, McLeod y McCarty identificaron al ADN como el portador de la información genética. Alfred Hershey y Martha Chase, utilizando isótopos radiactivos, confirmaron que el principio transformador era el ADN. Erwin Chargaff demostró químicamente que el ADN era el compuesto por el que las características hereditarias se conservan y se transmiten.

Palabras clave: Meischer, ácidos nucleicos, Avery, principio transformador, información genética.

Abstract: Early genetic studies were performed by Mendel, De Vries, Correns and Tschermak. Meischer discovered nuclein or nucleic acid. Kossel related the chemistry of nucleic acids with its physiological effects. These substances were composed of nitrogenous bases. Levene proposed its tetranucleotide structure. Avery, McLeod and McCarty identified DNA as the carrier of genetic information. Alfred Hershey and Martha Chase, using radioactive isotopes, confirmed that the transforming principle was DNA. Erwin Chargaff demonstrated chemically that the DNA was the compound for which the hereditary characteristics remain and are transmitted.

Keywords: Meischer, nucleic acids, Avery, transforming principle, genetic information.

PRIMEROS ESTUDIOS GENÉTICOS

Los primeros estudios genéticos estuvieron relacionados con fenómenos biológicos de transmisión de caracteres dentro de cada especie y fueron impulsados por sus aplicaciones agrícolas y ganaderas. La mutación y evolución de las especies en la teoría de Darwin había trastocado todos los planteamientos anteriores. Carl von Linné había considerado la *hibridación* como la causa de la variación de los individuos y de la producción de nuevas especies. La Universidad de Munich estableció un concurso en 1834 sobre la *variabilidad de las especies*, que ganó Spring en 1838, y la Universidad de París otro sobre *híbridos vegetales* en 1861, que fue adjudicado a Naudín en 1863.^[1]

Así se encontraba el panorama científico en temáticas relacionadas con la *herencia biológica* cuando en 1856 apareció Gregor Johann Mendel (Figura 1). Mendel nació en Heinzendorf (hoy Hynčice) en el norte de Moravia (República Checa), en 1822, el mismo año que Pasteur, y como él en una familia humilde.

Ingresa en el Monasterio de los Agustinos de Brno (hoy Brno) y estudió en la Universidad de Viena. En 1853 inició sus investigaciones sobre la hibridación de plantas, usando semillas de guisantes como modelo. Mendel expuso sus trabajos en la Sociedad de Historia Natural de Brno el 8 de febrero y el 8 de marzo de 1861. En su extraordinaria investigación sobresalen dos hechos: el primero es



Figura 1. Mendel

que en la transmisión de caracteres, las hipótesis no pueden llegar a ninguna explicación si no se utiliza un gran número de plantas, para eliminar cualquier posibilidad de efectos debidos al azar; y el segundo, que los caracteres cualitativos se distribuyen de una forma cuantitativa, la cual, se puede explicar aplicando la teoría combinatoria a la distribución en la progenie resultante de los sucesivos cruces. Durante su vida, Mendel se acercó de forma exasperante al reconocimiento de sus investigaciones, pero, por una parte la sociedad científica de su tiempo no estaba preparada para asimilar sus conclusiones, y por otra, Mendel no difundió sus ideas con la vehemencia que



Catedrático de Física y Química. Inspector de Educación.
Doctor en Bioquímica. Universidad Complutense.
Dirección postal: C/ Ribadavia nº 6, 2º H, 28029
C-e: joscleirubeta@yahoo.es

José C. Illana

Recibido: 08/05/2013. Aceptado: 15/09/2013.

hacia Pasteur. Sin embargo él se dio cuenta de la trascendencia de su trabajo, puesto que, tres meses antes de morir, escribió:

[...] Estoy plenamente seguro de que no pasará mucho tiempo hasta que el mundo reconozca los resultados de mis investigaciones.^[2]

Mendel sólo apareció citado en el libro *Los híbridos vegetales* en 1881. Esta cita es importante ya que, gracias a ella, cuando en 1900 Hugo de Vries (Figura 2), Carl Correns y Erich Tschermak, independientemente, descubren de nuevo la *segregación de los caracteres*, y comprueban que 35 años antes un monje agustino había observado lo mismo y había sabido interpretarlo.

El procedimiento experimental que utilizó Mendel se diferenciaba de los trabajos genéticos anteriores en la elección del número de muestras objeto del estudio, las hipótesis de trabajo, y la evaluación de los resultados, que concordaban con los principios metodológicos de una buena investigación mecánico-causal. En relación a su método de trabajo escribió:

[...] La importancia y la validez de cada uno de los experimentos está condicionada por la idoneidad de los medios auxiliares empleados en ellos, así como por la apropiada utilización de los mismos... Los híbridos han de estar protegidos, o han de ser fácilmente protegibles, durante el periodo de floración de la influencia de cualquier polen ajeno... Para conocer la relación existente entre las formas híbridas entre sí y con las especies originarias parece indispensable que los miembros de cada generación de la serie evolutiva sean sometidos en su totalidad a observación...^[3]

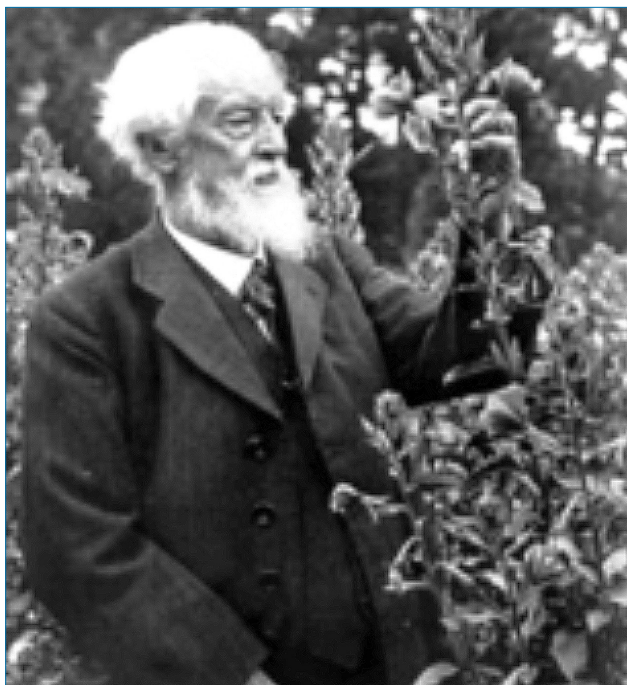


Figura 2. Hugo de Vries

En la bibliografía disponible en su época sobre *hibridación* no se había considerado un tratamiento numérico de las *formas híbridas*. Mendel introdujo los términos de *carácter dominante* y *carácter recesivo* según aparecieran o no en las combinaciones heredadas, sus *fenotipos*, o características externas. Utilizó métodos estadísticos en la comparación de los caracteres de los descendientes. Obtuvo en la primera generación resultados del carácter dominante en la proporción 3:1; diferenciando dos caracteres las proporciones eran 9:3:3:1. Mendel consideró con estos resultados que el número de *formas híbridas* podría predecirse por aplicación matemática de las leyes de la combinatoria:

[...] Si llamamos n al número de las diferencias características en las dos plantas originales, 3^n será el término general de la serie de combinaciones, 4^n será el número de individuos pertenecientes a la serie y 2^n el número de combinaciones que se mantienen constantes. Todas las combinaciones constantes posibles por la combinación de los siete rasgos característicos de los guisantes aquí presentados se mantendrá también realmente en cruces reiterados. Su número es por tanto $2^7=128$.^[4]

La publicación por Mendel de estas conclusiones en un órgano periodístico de poca difusión y la gran polémica evolucionista que afectó a la biología del siglo XIX hizo caer en el olvido temporal estas notorias contribuciones a la teoría de la herencia. Ni la Unión Naturalista de Brünn, ni el propio Carl von Nägeli, que tuvieron conocimiento directo de los resultados experimentales de Mendel, se hicieron eco de esta novedad científica, ni fueron capaces de confirmarlos en mayor proporción que lo que había realizado el monje agustino en el pequeño huerto donde trabajó.

DESARROLLO DE LA GENÉTICA

Las hipótesis genéticas de Charles Darwin sobre la transformación de las especies llevaron en 1900 al botánico holandés Hugo de Vries (1848-1935) a realizar una serie de experimentos sistemáticos para probar la *independencia* y *combinatoriedad* como las características esenciales de la constitución hereditaria de todos los organismos. De Vries generalizó las ideas de Mendel sin tener conocimiento de sus trabajos experimentales y obtuvo resultados iguales en la transmisión del color de las flores de *híbridos* de alubias. Cuando conoció las publicaciones de Mendel escribió lo siguiente:

[...] De estos experimentos, y de otros muchos más, deduzco que la ley de la segregación de los híbridos hallada por Mendel para los guisantes tiene una gran aplicación en todo el reino vegetal y una principalísima importancia para el estudio de las unidades que componen los caracteres específicos...^[5]

De Vries incidió en las consecuencias de estos resultados para el estudio de la *hibridación* y de las nociones de *especie*, *subespecie* y *variedad*, así como en las combinaciones de factores genéticos que se producían en la obtención de nuevos *híbridos*. Estableció las leyes de la segregación de las especies y descartó la problemática *filogenética* de un gran número de organismos que se designaban hasta ese momento como *variedades* de otras *especies*, lo que había desorientado a los biólogos durante un siglo, y aumentado las diferencias entre evolucionistas y no evolucionistas.

Carl Correns (1864-1933) y Erich Tschermak (1871-1962) también llegaron al mismo resultado experimental que Mendel, en el mismo año que De Vries. Sus experiencias se pueden considerar como un hito importante para el nacimiento de la genética. Correns consideró que:

[...] La obra de Mendel era lo mejor que se había escrito sobre híbridos.^[6]

En su libro sobre cruces de guisantes, Correns aceptó los términos de Mendel de *dominante* y *recesivo* y explicó la segregación de caracteres por la fusión de los núcleos de las células sexuales y por la división celular. Tschermak fue el tercer científico que redescubrió las investigaciones de Mendel y junto con Correns consideraron las leyes de la herencia, conocidas actualmente con el nombre de leyes de Mendel.^[7]

La polémica entre adaptación y herencia estuvo presente en todos los escritos de los seguidores y críticos de Darwin. La teoría celular y su aplicación a los planteamientos genéticos de la herencia hizo escribir a Ernest Haeckel (1834-1919), biólogo admirador de la teoría evolucionista lo siguiente:

[...] Si pudiésemos ver en el plasma el componente celular predominantemente nutritivo y en el núcleo el predominantemente reproductivo, teniendo además en cuenta, por una parte la relación entre nutrición y adaptación y, por otra, entre reproducción y herencia, podríamos considerar justamente que el núcleo de las células es el principal órgano de la herencia y el plasma el órgano principal de la adaptación.^[8]

Haeckel intuyó en esa época que el núcleo celular era la parte de la célula con capacidad genética mientras el citoplasma regulaba las funciones de nutrición y de adaptación al medio.

La genética continuó su desarrollo en los primeros años del siglo xx con algún intento de aproximación a la química fisiológica.^[9] Sin embargo sus inquietudes más inmediatas iban por otros caminos, relacionados con el mendelismo. La escuela alemana dirigida por Carl Correns y Fritz von Wettstein se centró en la fisiogenética de la mariposa de la harina, *Ephestia Kuhnii*, y en la genética del hongo del pan, *Neurospora sitophila*. Erwin Baur (1875-1933) consideraba lo siguiente en relación con estos planteamientos:

[...] Parece muy probable que esta serie de variedades cromáticas tenga algo que ver con las polimerizacio-



Figura 3. Thomas H. Morgan

nes de la química orgánica... Podemos representar cada tipo de cromómero como una especie de molécula gigante capaz de crecer y dividirse...^[10]

Los cromosomas y su estudio morfológico, y los genes, reales o ficticios, como unidades físicas de los caracteres de la herencia fueron los objetivos de la genética. Thomas H. Morgan (1866-1945) (Figura 3) en su discurso de aceptación del Premio Nobel, en junio de 1933, consideraba respecto de los genes:

[...] Ahora que los tenemos localizados en los cromosomas podemos considerarlos unidades materiales; ¿acaso son cuerpos químicos de orden superior al de las moléculas? Francamente, estas son cuestiones por las que el genetista no se preocupa demasiado, excepto cuando especula sobre la naturaleza de los elementos postulados. No existe ningún consenso de opinión entre los genetistas sobre qué son los genes –ya sean reales o puramente ficticios– porque al nivel en el que se encuentran con experimentos de genética, no influye lo más mínimo que el gen sea una unidad hipotética o que sea una partícula material.^[11]

NUCLEÍNA Y ÁCIDOS NUCLEICOS

Mendel, con sus experimentos, demostró la distribución cuantitativa de los caracteres hereditarios y, llegó a la conclusión, de que existían ciertas unidades particulares o factores genéticos que controlaban los rasgos hereditarios de los individuos que eran transmitidos intactos a la descendencia. Dichos factores fueron denominados genes, y durante varios años, permanecieron como entidades abs-

tractas, cuya localización celular no fue determinada hasta comienzos del pasado siglo, cuando se concluyó que se encontraban en los cromosomas, los cuales a su vez se hallaban en el núcleo celular. El gen fue entonces redefinido como aquella parte del cromosoma que determina o afecta a un sólo carácter, pero su naturaleza química permaneció sin descubrir durante bastantes años.

En 1869, Friedrich Miescher (1844-1895) (Figura 4) había tratado las células del pus con pepsina, separando los núcleos celulares del resto del citoplasma. La sustancia que obtuvo la llamó *nucleína*. Miescher detectó posteriormente que la *nucleína* tenía carácter ácido y propuso que se llamase *ácido nucleico* a este compuesto químico nuclear libre de proteína. En 1892 en una carta dirigida a su tío con asombrosa presciencia le decía:

[...] El ADN podía transportar el mensaje hereditario del mismo modo que las palabras y los conceptos de todas las lenguas encuentran expresión en veinticuatro o treinta letras del alfabeto.^[12]

Los investigadores de aquel tiempo no hicieron ningún caso de las palabras de Miescher ya que el ADN estaba constituido solo por cuatro nucleótidos diferentes, un número seis o siete veces menor que las letras de un alfabeto. ¿Cómo se podía transportar el mensaje para la fabricación de un organismo completo mediante una sustancia tan repetitiva y monótona?

Albrecht Kossel (1853-1927), (Figura 5) Premio Nobel en 1910, continuó los estudios de Miescher en su laboratorio de Heildeberg, y relacionó la química del núcleo de la célula con la fisiología concluyendo que los ácidos nucleicos no son sustancias de almacenamiento energético



Figura 4. Miescher

que están relacionados con la síntesis de nuevos tejidos. Al respecto escribió:

[...] La aparición del ácido nucleico se limita al núcleo de la célula, en definitiva a una parte del núcleo que desde hace mucho tiempo conocen los histólogos con el nombre de cromatina a causa de su tendencia a admitir tintes básicos en contraste con los restantes constituyentes morfológicos del núcleo. Este hecho posee gran importancia para la relación entre la química y la teoría de la célula, porque nos proporciona cierta caracterización química de un órgano elemental de la célula además de la caracterización morfológica.^[13]

Kossel obtuvo por hidrólisis ácida y enzimática unas moléculas nitrogenadas con gran proporción de dobles enlaces entre el carbono y el nitrógeno. Eran sustancias básicas derivadas de la purina y la pirimidina que se encontraban en las células de la levadura y en el timo de los animales.

En estos años se consideraba la posibilidad de dos tipos de ácidos nucleicos, uno de procedencia vegetal, obtenido habitualmente de las células de levadura, y otro de procedencia animal llamado timonucleico.^[14]



Figura 5. Kossel

La influencia de Kossel fue grande en toda Europa e incluso en USA. Entre los científicos que tuvieron relación con él pueden citarse al químico británico T. M. Milroy, el alemán Heine, y el americano A. P. Mathews.

Mathews estudió el esperma del invertebrado *Arbacia*. Según las previsiones de la época debía tener una constitución química más simple que la del salmón. Mathews comprobó que el ácido nucleico del *Arbacia* era igual que el procedente del esperma del pez, y su parte proteínica más compleja por la diversidad de sus aminoácidos. Res-

pecto de los ácidos nucleicos Mathews escribió en 1924 lo siguiente:

[...] La estructura que el citólogo denomina cromosoma y que la mayoría consideramos portadora de todos los rasgos hereditarios (algunos, que llegan aun más lejos, imaginan a cada rasgo o carácter representado por una unidad o un gen distinto), no es nada más que una sal del ácido nucleico con el tinte básico que se ha empleado para teñirla... ¿Qué es, pues, el ácido nucleico? ¿Hay muchos ácidos nucleicos o uno?... El ácido nucleico de células muy diferentes parece ser el mismo... El hecho de que muestre las mismas propiedades físicas, las mismas cifras analíticas, la misma capacidad de rotación, etc., indica que probablemente no hay varios ácidos nucleicos diferentes.^[15]

Richard Altman (1852-1900) había obtenido los ácidos nucleicos libres de proteína a partir de tejidos animales y de células de levadura en 1899. Algunos años después, Albert Neumann había perfeccionado las técnicas de separación del ácido nucleico de la proteína.^[16]

COMPOSICIÓN DE LOS ÁCIDOS NUCLEICOS. HIPÓTESIS DEL TETRANUCLEÓTIDO

Se conocía la existencia de fósforo en la composición del ácido nucleico y se especulaba sobre una posible fórmula empírica $C_{41}H_{61}N_{16}P_4O_{31}$ suponiendo el carácter polimérico de esta sustancia. Los químicos americanos Thomas B. Osborne e Isaac Harris plantearon algunas consideraciones con respecto a las bases nitrogenadas que eran constituyentes de estas sustancias. En 1902 escribieron al respecto:

[...] Indudablemente las bases aparecen en proporciones equimoleculares. Las pequeñas diferencias (demasiada guanina) se deben a las dificultades para separar las bases por completo, ya que hay cierta cantidad de adenina mezclada en el precipitante de guanina... Una molécula de uracilo de la molécula de ácido nucleico representa el 8% de esta última. En los experimentos antes descritos se encontró un 11% de uracilo a partir de lo cual debemos concluir que la molécula de ácido nucleico contiene al menos dos moléculas de esta sustancia.^[17]

La citosina y la timina también habían sido detectadas. Osborne y Harris planteaban la existencia de dos moléculas de bases púricas y dos moléculas de bases pirimidínicas por cada cuatro átomos de fósforo. Ello llevó a establecer la hipótesis del tetranucleótido, que fue apoyada por Phoebus Aaron Levene (1869-1940) (Figura 6).

Levene había considerado un modelo de estructuración del ácido nucleico con las bases nitrogenadas unidas a un azúcar pentagonal y a la existencia de un grupo fosfato en su composición. En 1909 postulaba para la inosina la unión de una purina al azúcar por un enlace glicosídico (Figura 7).^[18]

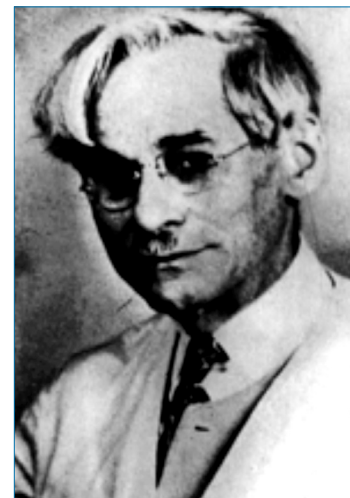


Figura 6. Levene

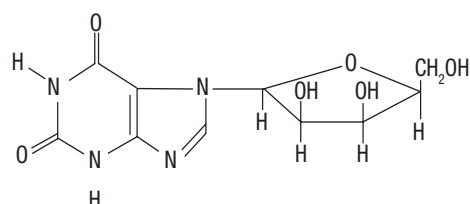


Figura 7.

En 1929 Levene identificó el azúcar del ácido timonucleico como desoxirribosa.^[19] Anteriormente había postulado la unión entre las unidades azúcar-base nitrogenada a través de grupos fosfato que esterificaba a un grupo hidroxilo de los azúcares (Figura 8).

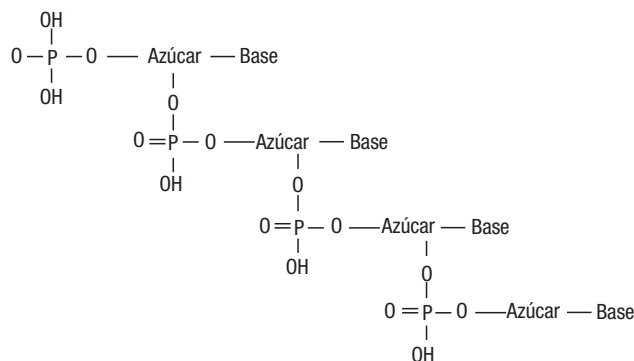


Figura 8.

En 1938, Levene volvió a considerar el carácter polimérico de los ácidos nucleicos. Por acción de una *nucleasa* sobre el material nuclear obtenía fragmentos de distintos tamaños y pesos moleculares. En relación a este proceso de despolimerización y al carácter de la *nucleasa* escribió:

[...] Así que, este hallazgo es importante no sólo porque revela un paso más del proceso del catabolismo biológico de los ácidos nucleicos, sino también porque proporciona un medio para verificar la pureza del áci-

do nucleico natural, por una parte, y para verificar la pureza de las nucleofosfatasa por medio del ácido nucleico natural, por otra.^[20]

PROTEÍNAS Y ÁCIDOS NUCLEICOS

A pesar de los avances bioquímicos en el estudio de los ácidos nucleicos no estaba suficientemente clara su importancia en el desarrollo de la vida y de la herencia genética. La comunidad científica seguía considerando a las proteínas como las sustancias fundamentales en la transmisión de los caracteres hereditarios.

Los citólogos no habían podido determinar los efectos celulares del ácido nucleico por las dificultades de tinción del material cromosómico hasta el desarrollo de las técnicas de Robert Feulgen (1884-1955), que se aplicaron en 1923 en la Universidad de Tubinga. La reacción de Feulgen reconocía a los grupos aldehídos de los azúcares.^[21]

William Thomas Astbury (1898-1961) (Figura 9) había aplicado sus técnicas radiocristalográficas a los ácidos nucleicos y había obtenido un modelo molecular con las bases nitrogenadas en planos horizontales perpendiculares al eje de la fibra (modelo de la torre de peniques).^[22]

Astbury se había atrevido a pronosticar la función del ácido nucleico similar a la de un bastidor que serviría de plantilla para sintetizar una cadena complementaria a la original si ambas tuvieran direcciones opuestas.

Torbjörn Caspersson estudió el contenido de ácido nucleico en las etapas de división celular y duplicación cromosómica observando que tenía un papel importante en la síntesis de nuevas moléculas de proteína asociadas a los genes. Einar Hammarsten y Caspersson aplicaron técnicas

de microfotometría ultravioleta a los ácidos nucleicos y a los cromosomas de las glándulas salivares de la mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*, observando relaciones significativas entre la absorción de la luz ultravioleta en ambos casos. Caspersson y Jack Schultz concluyeron con relación a la *heterocromatina* del cromosoma lo siguiente:

[...] Estas regiones del cromosoma tienen una función que también realizan todos los demás genes -a saber, la síntesis del ácido nucleico-. La relación de estas regiones con la aparición local de ácido nucleico en los cromosomas, sugiere una estrecha conexión entre la síntesis del ácido nucleico y la reproducción de los genes.^[23]

Todas las consideraciones anteriores llevaron al establecimiento de la *teoría nucleoproteínica del gen*, que planteaba que los genes estaban formados por ácidos nucleicos y proteínas, aunque se seguía pensando en la mayor importancia genética de estas últimas.

En el *Congreso Internacional de Genética* de 1939 y en el *Simposium de Cold Spring Harbor* de 1941 se trataron estas propuestas sobre los genes, su estructura, y su posible composición química. En ellos polemizaron científicos de especialidades diversas, como Darlington, Muller, Bernal, Waddington, Wrinch, Astbury, o el propio Linus Pauling. Pauling manifestaba, unos años después, en relación a la duplicación genética:

[...] Si la estructura que sirve de plantilla (la molécula del gen o del virus) consta de, digamos, dos partes estructuralmente complementarias, cada una de esas partes puede servir de molde en la producción de una réplica de la otra parte, y el complejo formado por las dos partes complementarias también puede servir de molde en la producción de duplicados del mismo.^[24]

La química de los virus y la transformación bacteriana vino a dar nueva luz a la investigación sobre la naturaleza del *principio genético de la herencia*. John D. Bernal y Fankuchen estudiaron la estructura cristalina del virus del mosaico del tabaco (VMT), formado por proteína y ácido nucleico. Al respecto escribieron lo siguiente:

[...] La naturaleza cristalina de las partículas que hemos estudiado no puede ser considerada en sí misma de importancia biológica ni puede ofrecer respuesta alguna a la pregunta de si ellas son o no son los agentes infecciosos, ni tampoco a la pregunta más metafísica todavía de si deben ser consideradas organismos vivos.^[25]



Figura 9. Astbury

TRANSFORMACIONES BACTERIANAS. PRINCIPIO TRANSFORMADOR

La transformación de bacterias virulentas en atenuadas o viceversa, con el fin de ser utilizadas en vacunas de los procesos infecciosos, o en otras investigaciones médicas, fue tratada inicialmente por Friedrich Griffith en Inglaterra y posteriormente por Oswald T. Avery (1877-1955) y sus co-

laboradores, en USA. Griffith trabajaba con *Neumococos* de formas S (lisa) y R (rugosa), y con diversos tipos I, II, III y IV de estas formas (Figura 10).

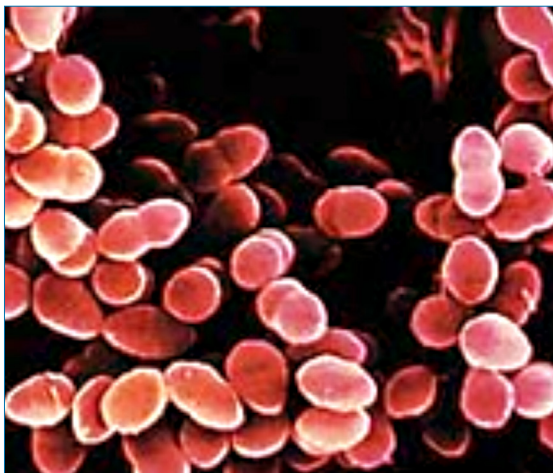


Figura 10. Neumococos

La forma S era letal y la forma R no lo era. Se producían transformaciones entre ellas, no siempre controladas. Griffith consideraba que el *principio transformador* era una sustancia termolábil existente en el caldo de cultivo bacteriano. Griffith escribió al respecto lo siguiente:

[...] Como la virulencia y la capacidad para formar sustancias solubles son atributos de la cepa S, nos conviene adscribir su posesión a un antígeno especial que podemos denominar antígeno S... Cuando los neumococos de los tipos I y II son reducidos a sus respectivas formas R cultivándolos en sueros inmunes homólogos pierden casi todo su antígeno S principal, aunque pueden conservar sus antígenos S menos importantes que según parece no resultan afectados por la sustancia inmune heteróloga. Pero evidentemente continúa prevaleciendo el antígeno S principal, porque en cuanto se produce la reversión de una forma R a la forma S recupera sus caracteres tipológicos originales.^[26]

Avery (Figura 11), MacLeod y McCarty determinaron que el *principio transformador bacteriano* era el DNA.^[27] Inicialmente se pensaba que era de naturaleza proteínica, en relación al carácter termolábil considerado por Griffith. Lionel Alloway había precipitado la sustancia transformadora con alcohol.^[28] Avery, MacLeod y McCarty emplearon técnicas enzimológicas para destruir la actividad transformadora. La tripsina, quimotripsina y ribonucleasa no ejercían ningún efecto sobre la sustancia transformadora.

McCarty describió al respecto, en 1946, lo que no podía ser esta sustancia, después de diversos ensayos en el laboratorio con la intención de eliminar los componentes cuya inactividad se hubiese comprobado que no ejercía ningún efecto sobre la sustancia transformadora:

[...] la proteína por el método del cloroformo, el polisacárido capsular por digestión con un enzima bacteriano específico que lo hidroliza, el polisacárido so-



Figura 11. Avery

mático por precipitación fraccionaria de alcohol y el ácido ribonucleico bien por digestión enzimática con ribonucleasa o bien por fraccionamiento de alcohol.^[29]

McCarty manifestó posteriormente, en un Simposium de la *American Chemical Society*, en relación con la naturaleza química del *principio transformador* y su similitud con los virus, lo siguiente:

[...] A partir del análisis precedente puede observarse que aunque la sustancia transformadora del neumococo es parecida a un virus en algunas de sus propiedades, hay ciertos datos que hacen incoherente su clasificación entre los virus a pesar de la diversidad de este grupo de agentes. Sin embargo, si aceptamos la validez de la idea de que la especificidad biológica de la sustancia transformadora es la propiedad de un ácido desoxirribonucleico, los resultados del presente estudio servirán para centrar la atención sobre el ácido nucleico que forma parte de las nucleoproteínas víricas.^[30]

Algunos genetistas consideraron que se había producido en las bacterias *neumocócicas* una mutación dirigida que había alterado sus caracteres patogénicos. Entre ellos puede citarse a Dobzhansky y a Muller. Otros como Mirsky, que había estudiado concienzudamente la química del núcleo celular desde 1942, planteó objeciones al descubrimiento, considerando la no suficiente separación experimental de la proteína y el ácido nucleico, por lo que seguía manteniendo sus posiciones antiguas sobre la importancia genética de las proteínas.^[31]

Sin embargo el descubrimiento se fue imponiendo poco a poco. André Boivin y sus colaboradores obtuvieron resultados idénticos en *Escherichia coli*. Boivin escribió al respecto:

[...] Pruebas de la extraordinaria multiplicidad de tipos antígenicos entre los bacilos del colon, cada uno de los cuales poseía su propio polisacárido, caracterizados por una constitución química especial y por una especificidad serológica concreta. Cada tipo se mantiene estable

a lo largo de cultivos sucesivos; como los tipos neumocócicos, estos tipos pueden sufrir degradación antigénica pasando de la forma S a la forma R perdiendo su polisacárido y también como los tipos neumocócicos, poseen el valor de auténticas especies elementales dentro de la inmensa especie de las *Escherichia coli*.^[32]

En relación al futuro de la genética molecular, y en función de estos descubrimientos, Boivin, se atrevió a pronosticar lo siguiente:

[...] En las bacterias –y, con toda probabilidad, en los organismos superiores también– cada gen posee su propio constituyente específico, no una proteína sino un ácido desoxirribonucleico particular que, al menos en determinadas condiciones (mutaciones dirigidas de las bacterias), es capaz de funcionar por sí solo como portador de los caracteres hereditarios; por lo tanto, en el último análisis, cada gen puede ser achacado a una macromolécula de un ácido desoxirribonucleico especial... Este es un punto de vista que, en lo que respecta al estado actual de la bioquímica, parece ser francamente revolucionario.^[33]

Sir Macfarlane Burnet, Premio Nóbel en Fisiología y Medicina en 1960, consideró que el descubrimiento de la naturaleza bioquímica del *principio transformador* marcó el paso de la investigación médica aplicada a la investigación pura, y con ella la incorporación de muchos científicos de formación en medicina y en otras materias al campo incipiente de la biología molecular. Al respecto escribió:

[...] Avery acaba de hacer un descubrimiento extremadamente interesante que, dicho sin muchos refinamientos, es nada menos que el aislamiento de un gen puro en forma de ácido desoxirribonucleico... Ni él ni yo lo sabíamos en aquel momento, pero el descubrimiento de que el ADN podía transferir información genética de un neumococo a otro casi señaló el fin de un campo de investigación académica, la bacteriología médica, y anunció el nacimiento del campo de la biología molecular que desde entonces ha dominado el pensamiento académico en el ámbito de la biología.^[34]

André Boivin y Roger Vendrely encontraron que el contenido en ADN de las células diploides era el doble del contenido de las células haploides. Se confirmaba así la reducción a la mitad del número de genes de las células somáticas. Este hecho se conoce como la regla genética de Boivin-Vendrely. En 1948 las funciones de los ácidos nucleicos y su diferenciación dentro de la célula parecían estar más claras. Otros científicos franceses consideraron que el ADN era el depositario de los caracteres de la herencia, y el ARN participaba en la biosíntesis celular. A este respecto escribieron lo siguiente:

[...] La invariabilidad del ADN parece consecuencia natural de la función especial que hoy día se le atribuye, la de ser el depositario de los caracteres hereditarios

de la especie. En lo que respecta a la variabilidad del ARN, es fácil de explicar por el papel tan activo que hay quien se inclina a atribuirle en el proceso de la síntesis celular.^[35]

Sin embargo, estas conclusiones no fueron aceptadas por muchos investigadores; algunos sugirieron que los preparados de ADN podían contener una sustancia mutagénica que podría inducir el cambio de la forma S y otros eran partidarios de que la transformación de las células R en S era provocada por cantidades pequeñísimas de alguna proteína específica que quedaba en las muestras del ADN utilizado.

Las dudas fueron resueltas de una forma elegante e incuestionable por Alfred Hershey y Marta Chase en 1952 utilizando isótopos radiactivos. Existen unos virus denominados T2 que están formados por un núcleo central de ADN rodeado de una cubierta proteica. Cuando el virus, llamado bacteriófago, o simplemente fago, se pone en contacto con la bacteria *Escherichia coli*, la infecta provocando, en determinadas condiciones y después de un cierto tiempo, su lisis; el virus nunca penetra en la célula, es la cola la que contacta con la bacteria y el ácido nucleico de la cabeza del virus penetra en el interior de la célula. Hershey y Chase marcaron con el radioisótopo ³²P el ADN del fago, mientras que la cubierta proteica la marcaron con ³⁵S. Estos marcadores son altamente específicos puesto que el ADN no contiene azufre y la cubierta proteica está desprovista de fósforo. Una muestra de un cultivo de *Escherichia coli* se infectó con el fago marcado, el cual se unió a la bacteria después de un corto periodo de incubación. La suspensión se sometió durante unos pocos minutos a la acción de un homogenizador, para romper las conexiones entre los virus y las bacterias y, después se centrifugó a una velocidad conveniente para mantener los virus en el sobrenadante y sedimentar las bacterias en el fondo del tubo. Se investigó en estas fracciones la presencia de ³²P y ³⁵S para determinar la localización del ADN del fago y de la cubierta proteica, resultando que el ADN del fago se encontraba en la bacteria y la proteína del fago en el sobrenadante.^[36]

Erwin Chargaff (Figura 12) investigó sobre los ácidos nucleicos desde los primeros años de la década de 1940. Aplicó la técnica de separación de aminoácidos de Martín y Syngé, por cromatografía en papel, a la separación de las purinas y las pirimidinas, y obtuvo unas proporciones entre ambos tipos de bases con valores próximos a la unidad. Consideró por ello que no procedía mantener la *hipótesis del tetranucleótido*, propuesta por Levene. En 1950 escribió lo siguiente:

[...] Estos resultados desautorizan la hipótesis del tetranucleótido. Sin embargo, merece la pena destacar –y todavía no podemos decir si esto es algo más que un mero accidente– que en todos los ácidos nucleicos desoxipentosa examinados hasta ahora las proporciones molares entre purinas totales y pirimidinas totales, así como entre la adenina y la timina y la guanina y la citosina, no se alejaban mucho de la unidad.^[37]

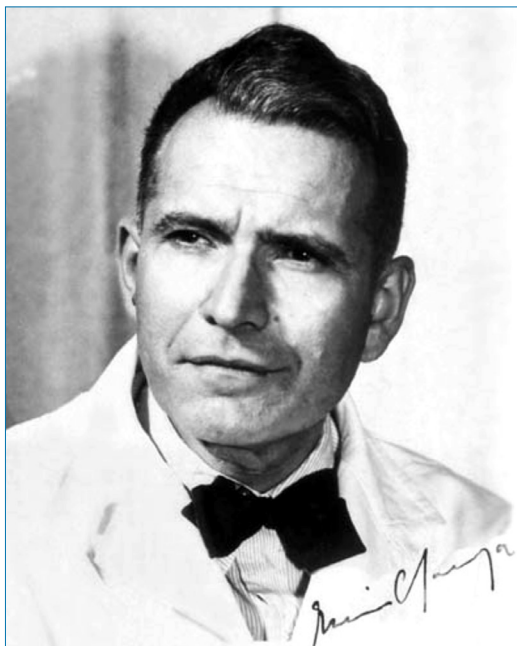


Figura 12. Chargaff

Stephen Zamenhof había intentado prever la forma de distribución de las bases nitrogenadas en el ADN, aunque no encontró una secuencia regular.^[38] Stern, asociando ideas sobre el tamaño de los genes y las características de los enlaces de hidrógeno, planteó la posibilidad de interacciones entre purinas y pirimidinas, en las formas tautómeras más idóneas, mediante uniones de hidrógeno. Sin embargo la estructura de la doble hélice no estaba todavía madura, aunque ya se planteaba la búsqueda de la forma estructural del ADN de una manera incipiente.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] I. Jahn, *et al. Historia de la Biología*, Labor, Barcelona, **1989**, 418.
- [2] G. J. Mendel (1884), Tomado de *La unidad de la vida* de A. Garrido Pertierra (Ed. Tebar), Madrid, **2003**, 60.
- [3] G. J. Mendel, *Versuche über Pflanzen-Hybriden. Verh. d. naturf. Vereins in Brünn. Abhandlungen IV*, **1866**, 3-47, 5.
- [4] G. J. Mendel. *Versuche über Pflanzen-Hybriden...* Op.cit. **1866**, 22.
- [5] H. de Vries, "Das Spaltungsgesetz der Bastarde", *Acta betr. Botan. Garten* **1900**, 18, 90.
- [6] C. Correns, "G. Mendel's Regel über das Verhalten der Nachkommenschaft der Rassen-bastarde", *Berichte Deuts. Botan. Gesellschaft* **1900**, 18, 158.
- [7] E. Tschermak, "Ueber Künstliche Kreuzuns bei Pisum Sativum" *Berichte Deuts. Botan. Gesellschaft* **1900**, 18, 232.
- [8] E. Haeckel, *Generelle Morphologie der Organismen*, vol 1. Berlín. **1866**, 289.
- [9] W. Bateson, "Experimental Studies in the Physiology of Heredity" *Rep. Evol. Comm. Roy. Soc. London*, **1905**, 2, 1.

- [10] E. Baur, "Untersuchungen über das Wesen, die Entstehung und die Vererbung von Rassenunterschieden bei *Antirrhinum majus*", *Bibliothca Genet.* **1924**, 4, 170.
- [11] T. H. Morgan (1933), "The Relation of Genetics to Physiology and Medicine", en *Nobel Lectures. Physiology and Medicine (1922-1941)*, **1965**, 315.
- [12] F. Miescher (1892), Tomado de "La unidad de la vida". Op. cit. **2003**, 61.
- [13] A. Kossel, "Beziehungen der Chemie zur Physiologie", en *Die Kultur der Gegenwart ihre Entwicklung und ihre Ziele: Chemie*, **1913**, 383.
- [14] W. Jones, *Nucleic Acid: Their Chemical Properties and Physiological Conduct*, Londres. **1920**.
- [15] A. P. Mathews, *Some General Aspects of the Chemistry of Cell's. General Cytology. A Textbook of Cellular Structure and Function for Students of Biology and Medicine* (Ed.: E. V. Covodry), Chicago **1924**, 75.
- [16] A. Neumann, "Verfahren zur Darstellung der Nucleinsäure a und b und der Nucleothuminsäure" *Arch. Anat. Physiol.* **1899**, 552.
- [17] T. B. Osborne, I. F. Harris, "Die Nucleinsäure des Weizenembryos" *Hoppe-Seyler's. Z. Physiol. Chem.* **1902**, 36, 104 y 109.
- [18] P. A. Levene, W. A. Jacobs, "Über die Inosinsäure", *Ver. dt. Chem. Ges.* **1909**, 42, 335.
- [19] P. A. Levene, E. S. London, "The Structure of Thymonucleic Acid", *J. Biol. Chem.* **1929**, 83, 793.
- [20] G. Schmidt, P. A. Levene, "The Effect of Nucleophosphatase on Native and Depolymerized Thymonucleic Acid" *Science* **1938**, 88, 173.
- [21] R. Feulgen, *Chemie und Physiologie der Nucleinstoffe nebst Einführung in die chemie der Purinkörper*, Berlín, **1923**.
- [22] W. T. Astbury, F. O. Bell, *Cold. Spring. Harb. Symp. Quant. Biol.* **1930**, 6, 109.
- [23] T. Caspersson, J. Schultz, *Nature* **1938**, 142, 295.
- [24] L. Pauling, *Molecular Architecture and the Processes of Life*. 21 St. Sir. Jesse Boot Foundation Lecture, **1948**, 10.
- [25] J. D. Bernal, I. Fankuchen, *J. Gen. Physiol.* **1941**, 25, 161.
- [26] F. Griffith, *J. Hygiene* **1928**, 27, 149.
- [27] M. McCarty, *The Transforming Principle. Discovering that Genes are made of DNA*, The Commonwealth Fond Book Program New York, **1984**. Traducción española: *El principio transformador*, Reverte, Barcelona, **1988**.
- [28] J. L. Alloway, *J. Exp. Med.* **1932**, 55, 1932, 91.
- [29] M. McCarty, *Bact. Rev.* **1946**, 10, 71.
- [30] M. McCarty. *Biochemical and Biophysical Studies on Viruses.* **1946**. Conferencia citada en *El camino hacia la doble hélice*, de R. Olby. **1972**, 295.
- [31] R. Olby, *El camino hacia la doble hélice*. Alianza Editorial, Madrid, **1972**, 295.
- [32] A. Boivin, *Cold. Spring. Harb. Symp. Quant. Biol.* **1947**, 12, 7.
- [33] A. Boivin, *Directed Mutation in Colon Bacilli*. Op. cit. **1947**, 12.
- [34] F. Macfarlane Burnet, *Changing Patterns: An Atypical Biography*, Melbourne y Londres. **1968**, 81.
- [35] P. Mandel, L. Mandel, M. Jacob, *C. R. Hebd. Séanc. Acad. Sci. Paris* **1948**, 226, 2020.
- [36] A. D. Hershey, M. Chase, *J. Gen. Physiol.* **1952**, 36, 39.
- [37] E. Chargaff, *Experientia* **1950**, 6, 206.
- [38] S. Zamenhof, *et al. J. Biol. Chem.* **1949**, 177, 429.