

Cincuenta y tres años del descubrimiento de la estructura de la molécula de ADN

Homenaje a James Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins y Rosalind Franklin

MARÍA MAGDALENA E. DE POLANCO

M. Sc., Ph. D

Profesora Titular, Facultad de Ciencias,

Universidad del Tolima

Resumen

Este ensayo, que llega hasta la década de los setenta, es un relato histórico, cronológico y anecdótico de los hechos y los experimentos que antecedieron al descubrimiento de la molécula de ADN, las incidencias que rodearon el proceso y los trabajos posteriores relacionados con la síntesis, estructura y función de los genes. Con este trabajo se rinde un homenaje a los realizadores del que, a juicio de la autora, es el más importante hallazgo científico del siglo XX. Para hacer esta síntesis se han tomado como apoyo los artículos originales de los propios protagonistas de la historia, algunos de ellos, compilados en libros especiales y, muchos datos anecdóticos. La bibliografía, comentada es un recuento de los principales descubrimientos que se llevaron a cabo durante los años comprendidos en las décadas de los cuarenta, cincuenta, sesenta y parte de los setenta.

Abstract

This essay, which reaches to the seventies, is a historical, chronological and anecdotal story of the facts and the experiments that preceded to the discovery of DNA molecule, and, the later works that have to do with the synthesis, structure and function of the genes. We pay homage to the authors of one that, in the author's opinion, it is the most important scientific discovery in the XX century. To make the synthesis we have taken as support, among other, the texts of the own protagonists of the history, especially, the original articles, some of them compiled in special books, and many anecdotic data. The commented bibliography is a recount of the main discoveries that were carried out during the fifties, sixties and seventies.

Palabras clave: ADN, Doble hélice, Watson y Crick, estructura molecular

Key words: DNA, Double helix, Watson and Crick, molecular structure.

Correo electrónico: mmpol@lycos.com

EL EVENTO MÁS IMPORTANTE DE ESTA HISTORIA

En un artículo de 900 palabras enviado a *Nature*, el 2 de abril de 1953, titulado: “*Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid*” Watson y Crick (1953), describían la estructura de la molécula del ADN (Shelly Cummings, 2000). Este descubrimiento no necesitó, al menos por parte de sus principales gestores –aquellos que se hicieron merecedores al premio Nóbel–, de tubos de ensayo, inacabables marchas químicas, ni incubadoras. Aunque en la fabricación del modelo se utilizaron numerosas piezas metálicas, con la forma de los átomos constituyentes de la molécula, además de alambres y tuercas, sin duda los principales apoyos al descubrimiento fueron el acecho constante y a menudo muy oportuno, de cuanto se estaba haciendo en los diferentes laboratorios en los que se investigaba con el ADN, la profunda atención prestada a las publicaciones escritas, a las informaciones obtenidas en las charlas -formales e informales- de los congresos y reuniones de tipo científico y... ¡por supuesto! la indiscutible agilidad de las mentes creativas de los dos descubridores, indispensable en el momento de atar cabos, que aislados no hubiesen permitido armar un modelo, tan maravillosamente preciso, como el de la estructura molecular del gen.

¿Cuáles fueron los cabos sueltos? ¿Quiénes han quedado tras bambalinas aunque sus contribuciones fueron fundamentales? Estas son algunas de las preguntas que se pretenden resolver en este escrito.

LOS PROTAGONISTAS

James Dewey Watson, uno de los descubridores del ADN, nació en 1928, en Chicago. Hijo de un sastre humilde y, de una empleada de la oficina de admisiones de la Universidad de Chicago, heredó de su padre la pasión por las aves, en los paseos de observación que realizaban juntos los domingos.

En los comienzos de la década de los cuarenta, a la edad de 15 años, se vinculó a la universidad de Chicago, donde tomó algunos cursos de biología que le permitieron aprender las bases de la genética. Como dato curioso se puede decir que la Universidad de Chicago fue la sede de la primera pila clandestina de uranio, diseñada por Enrico Fermi, ignorada por el mismo rector del claustro e instalada en un viejo estadio de fútbol.

Completamente decidido por la biología Watson se propuso descubrir el secreto del gen, motivado por la lectura del libro, *¿Qué es la vida?* publicado en 1945 por Erwin Schrödinger, cuyo tema central es el de los genes como componentes claves de las células vivientes. El problema era que él no sentía especial atracción por la química, las fórmulas ni los experimentos (Gallardo-Cabello, 2001; Lee, 1994).

Finalizada su carrera, después de haber sido rechazado en Harvard y en CalTech, Watson llegó becado a la Universidad de Indiana, en Bloomington, en 1947. El académico más destacado del claustro, en esa época era Herman Muller, quien recibió el premio Nobel en 1947, por sus trabajos sobre mutaciones inducidas por rayos X, realizados en 1927 (Muller, 1927). No obstante, fue el italiano Salvador Luria quien logró cautivar al joven científico y llegó a dirigir su doctorado vinculándolo con Max Delbrück, un

notable físico alemán, discípulo de Niels Bohr, llegado a los Estados Unidos en 1937. Estos dos científicos, conformaban el famoso “Grupo de fagos” y eran considerados los padres de la genética de bacterias, por haber sido los primeros en estudiar y publicar sobre las mutaciones de estos microorganismos en 1943, (Luria y Delbrück, 1943; Stent y Calendar, 1978), Watson se doctoró en 1950, a los 22 años, con un trabajo sobre los efectos de los rayos X en los fagos y decidió viajar a Europa para escoger el campo que le permitiera continuar sus investigaciones.

Ya en el viejo continente, James asistió, casualmente, en 1951, a una reunión científica en la estación zoológica de Nápoles, donde uno de los conferenciantes era Maurice Wilkins, del King’s College de Londres, en cuyo laboratorio se centraba el trabajo del ADN. Wilkins, era uno de los tantos físicos que, frustrados por los estragos causados en la guerra por la bomba atómica, decidieron dirigir su interés a la comprensión de los problemas biológicos. El conferencista habló de la estructura molecular del ADN, ilustrando su charla con datos obtenidos en su laboratorio, mediante el uso de la cristalografía con rayos X. Al escucharlo, el interés de Watson – quien aún no estaba muy seguro del rumbo que tomaría en Europa - se despertó en forma inmediata, al darse cuenta de que podían formarse cristales regulares de ADN y, por tanto, la molécula podía ser analizada de un modo sistemático. Aunque pese a sus deseos, no obtuvo una invitación para trabajar directamente con Wilkins, sí consiguió, gracias a Salvador Luria, unirse al grupo de Max Perutz en el Laboratorio Cavendish (Watson, 1968).

El interés de Watson y otros científicos de la época en el ADN, radicaba en que las investigaciones realizadas por Oswald Avery, Colin MacLeod y Maclyn McCarty, del Instituto Rockefeller de Nueva York, en 1944 (Avery et al., 1944), demostraban que el agente transformador causante del cambio de los Pseudomonas aeruginosa en virulentos, del experimento de Griffiths realizado años atrás, en 1928, era ADN puro, ya que esta molécula es el único agente que produce colonias lisas cuando se agrega a células R vivas (Griffiths et al., 1997; Stryer, 1976; Suzuki et al., 1996).

Puesto que ya se sabía que el ADN estaba presente en los cromosomas de todas las células, la idea de que los genes estaban formados por esta sustancia era muy sugerente, por constituir una alternativa diferente para la opción, hasta entonces reinante, de tomar las proteínas como moléculas de primer orden para descifrar los secretos de la vida. Al finalizar la década de los cuarenta, se conocía bien la composición de las moléculas de ADN, se sabía que eran, además de largas, muy complejas. Estaban conformadas por nucleótidos de azúcar (desoxirribosa), un grupo fosfato y una de cuatro bases nitrogenadas; también era claro que las fuerzas internas que mantienen juntas las moléculas obedecen a leyes físicas que imponen restricciones a la forma de las mismas, es decir, que las diversas partes de la molécula de ADN, podrían tener numerosas configuraciones aunque sólo una debía ser correcta, (Watson, 1968).

En Cavendish se encontraba haciendo sus estudios doctorales Francis Harry Compton Crick, uno más de los físicos teóricos seducido por la lectura de Schrödinger (1945). Nacido en Inglaterra en 1916, de una familia de clase media, –su padre dirigía la fábrica de botas y zapatos fundada por el abuelo–, se dedicó desde temprana edad a la ciencia. A los dieciocho años ingresó al University College de Londres, para iniciar sus estudios de

Física y, se vinculó como investigador en la misma institución, con el apoyo económico de su tío Artur Crick. Cuando estalló la segunda guerra mundial en 1939, se incorporó a las filas del ejército de su país y trabajó en la fabricación de minas navales. Crick fue otro de los grandes desilusionados de la física, por culpa de la bomba atómica. Al terminar la guerra, ya sobre los 30 años, decidió dedicarse de lleno a la biología e ingresó como investigador a Cambridge, en 1947, en el laboratorio Strangeways del cual se trasladó, en 1949, al Cavendish en la misma universidad (Gallardo-Cabello 2001; Watson, 1968), lugar donde inició sus estudios doctorales, a los 33 años, bajo la dirección de Max Perutz, quien trabajaba la molécula de hemoglobina, por cristalografía, analizando la difracción de los rayos X, que al incidir sobre la estructura cristalina, proporcionaban imágenes en placas fotográficas las cuales revelaban los grupos de átomos de la molécula (Perutz, 1964, reproducido en *Selecciones de Scientific American*, 1978c, *La base molecular de la vida*; Perutz, 1970).

Cavendish había sido escenario de la revolución científica generada por los experimentos atómicos de Rutherford y, una vez más, en forma inexorable, se gestaba en el mismo lugar una nueva revolución, de proporciones aún mayores, debido a que el destino reunió a estos dos desconocidos que llegarían a ser los más grandes del mundo de la genética (Lee, 1994). Durante su primer día en Cambridge, Watson conoció a un Francis Crick, escandaloso, de carcajada alta, fácil y franca, atrayente personalidad, avezados conocimientos, grandes ideas y una capacidad poco usual para atrapar datos en el aire -sin importar de dónde vinieran- y, con ellos formular teorías, resultaran o no ciertas, ya que podía sin dificultad reformularlas, o proponer otras nuevas en caso de fallar. Por su parte Crick se dio cuenta desde un principio de la gran inteligencia de “Jim” y de su valiosa experiencia con los fagos, todo lo cual hizo que, a pesar de los 12 años de diferencia entre ambos, congeniaran de inmediato (Gallardo-Cabello, 2001; Lee, 1994; Watson, 1968).

Los dos nuevos amigos, compartían el interés por el ADN, tema que les permitía teorizar durante horas diariamente y, estaban de acuerdo en que sólo un análisis molecular detallado de la molécula podría descubrir la verdadera naturaleza del gen, por tanto se prometieron mutuamente llevar a cabo este trabajo, en el que debían enfrentarse con el gran Linus Pauling, el bioquímico más adelantado de su época, hombre atractivo, de risa contagiosa y prodigiosa inteligencia, que sabía encantar con su dramatismo a cualquier público.

Por aquel entonces, se sabía que las proteínas eran polímeros de aminoácidos, que se asociaban entre sí como cuentas en un hilo y que existían veinte tipos diferentes de aminoácidos en los sistemas vivientes. El análisis de rayos X de numerosas proteínas había mostrado que cada una de ellas, en particular, tiene una forma específica invariante. En 1951, Pauling y Corey, trabajando con modelos construidos con piezas metálicas ensambladas, propusieron el modelo de hélice alfa de algunas de las proteínas, en el que la cadena polipeptídica se enrollaba sobre su eje y giraba en su ascenso hacia la derecha (Pauling et al., 1951; Pauling y Corey, 1953). En esa época, Crick obtuvo su primer triunfo al publicar en Nature la formulación matemática de la teoría de Pauling, sobre la hélice alfa, mediante el empleo de las fotos de rayos X de Max Perutz, (Watson, 1968).

Desde el momento en que Watson decidió unirse a Perutz, pensaba que los estudios de ADN debían combinar los modelos mecánicos con la cristalografía, es decir, trabajar en la misma forma en que Pauling lo hacía con las proteínas. Esta idea fue plenamente compartida por Francis. Sin embargo arrastrar a este último hacia el ADN no era cosa fácil, ya que llevaba sólo dos años trabajando con las proteínas y el cambio le implicaba entrar en competencia con Maurice Wilkins, hecho que no parecía muy elegante. Era necesario que las cosas se hicieran al estilo inglés: en forma discreta, sin que Francis abandonara formalmente sus proteínas pero, robándoles algunas no pocas horas diarias para el ADN y, entre tanto, Watson trataría de buscar el apoyo directo de Wilkins.

LA DAMA GRIS DEL KING'S COLLEGE

Sir John Randall, director de la sección de biofísica Del King's – quien contaba con un generoso apoyo del Medical Research Council para sus investigaciones –, era algo así como un héroe de guerra, por haber inventado con Boot, el magnetrón de cavidad, capaz de producir poderosas hondas electromagnéticas de baja frecuencia, con las cuales era posible detectar objetos distantes; este aparato, sirvió para hundir varios submarinos alemanes en el atlántico. El Randall de la postguerra deseaba aplicar las técnicas de física al estudio de las grandes moléculas, consideradas de gran importancia en biología. Alentado por Wilkins, Randall invitó, en 1951, a Rosalind Franklin –la dama gris del ADN–, de 30 años, quien trabajaba en París como especialista en análisis de moléculas mediante rayos X, a que fuera al King's College y que estableciese una unidad de difracción por rayos X. La idea era aprovechar la experiencia de Franklin, en cristalografía, para ponerla a trabajar con ADN, ya que Wilkins era consciente de que no tenía los conocimientos necesarios, para avanzar mucho en el análisis del ADN mediante este sistema (Maddox, 2002; Watson, 1968). En su invitación a Rosalind, Randall le contaba que Gosling y Wilkins se habían dado cuenta de que las fotos de las fibras del ADN, derivadas de un material donado por el profesor Signer de Berner, tenían una forma de X, que denotaba claramente su forma cristalina. ¿Podría tratarse de una estructura helicoidal?

En 1951, el King's había hecho méritos para estar a la cabeza de los avances en la dilucidación de la estructura del ADN. En una conferencia en la Royal Society, el 1 de febrero, titulada “Un experimento en Biofísica”, Randall expuso los avances obtenidos con los ácidos nucleicos, haciendo énfasis en la muestra de ADN, donada por el profesor Signer. Randall alertó a la audiencia, en ese momento, sobre las posibilidades de explorar la célula viva y romper los límites físicos y mentales, para trabajar con colegas entrenados en disciplinas diferentes.

El 8 de enero de 1951, Randall presentó a Rosalind en el laboratorio: le asignó a Raymond Gosling, joven estudiante de doctorado como asistente y la relacionó con Alec Stokes y Louise Heller. Maurice Wilkins, estaba de vacaciones. La situación en el King's, desde un principio, no fue fácil para Rosalind Franklin. No obstante el gran papel que esta mujer jugó en la historia del ADN, no recibió ni el trato ni el reconocimiento al que tenía derecho, por su rutilante carrera, que era desconocida para sus colegas y no muy apreciada por Wilkins. Aunque era joven, brillante, analítica e independiente, fue tratada por este último como su asistente y no como una colega; hecho que no pudo

tolerar el carácter fuerte de Rosalind y que pronto la llevo a aislarse y a trabajar por su cuenta; sin seguir ordenes de su supuesto jefe, quien sólo aspiraba a que ella se fuera rápidamente para otro laboratorio, con el fin de recuperar, él, su liderazgo y autonomía en el King's College (Maddox, 2002; Watson, 1968).

Gosling formó un buen equipo de trabajo con Rosalind. Él y ella lograron demostrar que la hidratación del ADN era fácilmente reversible. Los éxitos de Rosy al usar soluciones salinas para ajustar la humedad de la cámara de hidrógeno impresionaron a Wilkins. No obstante, la ruptura entre ellos se desencadenó en una conferencia de Perutz, a mediados del verano de 1951, en la que Wilkins se refirió al hecho de que todos los patrones de rayos X, obtenidos por ellos en el laboratorio, mostraban una clara X central, que según le había informado Alec Stokes, era fuerte indicio de una estructura única retorcida del ADN. El comentario, fue aplaudido por la audiencia, pero despertó la ira de Rosalind, quien mando airadamente a Wilkins a regresar a sus estudios microscópicos, negándole su colaboración en el futuro. Este hecho, marcó el enfriamiento de las relaciones entre los dos. Rosy no entendía cómo Stokes se atrevía a interpretar las fotografías, que ella y Raymond Gosling habían tomado. Tenía razón, su trabajo era su vida y el corazón de su identidad. Ella había trabajado aislada, logrando extraordinarios resultados y ahora, un colega de mayor jerarquía, quería quitar claridad a sus investigaciones, interpretándolas a su modo (Maddox, 2002).

EL DESCUBRIMIENTO

Las relaciones entre Rosalind y Wilkins no mejoraron y las contrariedades acercaron a este último a Watson y Crick, con los que logró establecer una relación de colaboración y camaradería. Gracias a este hecho, los avances de Wilkins y de Rosalind con el ADN les llegaban fácilmente a los descubridores, cuyas inquietudes giraban en torno a cuáles de los átomos en la molécula de ADN tenían más probabilidad de asociarse. Para resolver esta incógnita Watson y Crick pensaban construir un conjunto de modelos moleculares, mecánicos para intercambiarlos, de acuerdo con las posibilidades de agrupamiento de las distintas moléculas constituyentes. Los dos amigos se daban perfecta cuenta de que la solución al problema del ADN podría llegar a ser más compleja que la de la hélice alfa sencilla, descrita por Linus Pauling. (Pauling et al., 1951; Pauling y Corey, 1953). Los datos iniciales de Wilkins, usando rayos X, indicaban que la molécula de ADN era más ancha de lo que debería ser si consistiese sólo en una cadena de nucleótidos. Eso le había llevado a la conclusión de que el ADN era quizás una espiral compuesta de varias cadenas de nucleótidos que se trenzaban entre sí. Las cadenas podrían ser mantenidas juntas por enlaces de hidrógeno o quizás por enlaces entre los grupos fosfato.

Por su parte, partiendo del supuesto de que los nucleótidos formaban una larga cadena, no ramificada, de azúcar-fosfato, en la que cada una de las unidades de desoxirribosa estaba asociada a una base nitrogenada, Watson y Crick pensaban que si el orden de las bases era irregular, tal como AATGCTACT, se dispondría de una increíble variabilidad para la molécula de ADN (Lee 1994).

Para lograr avanzar en sus teorías, los dos amigos necesitaban una serie de buenas fotografías de rayos X que les permitieran descifrar la forma general de la molécula de ADN. Tras este propósito y, habiéndose enterado de que Franklin debía dar una conferencia acerca de su trabajo en los últimos seis meses, Watson se propuso asistir a la misma, no sin antes dedicarse a estudiar cristalografía para poder entender todos los detalles de la charla, ya que Rosy no concebía una forma diferente de dilucidar la estructura del ADN. Apoyándose en las fotografías y los datos de la conferencia de Franklin, Jim y Francis empezaron a construir modelos de ADN, que en un principio no resultaron muy acertados ya que Watson, ateniéndose a su memoria, no tomó notas de la conferencia y confundió la cantidad de agua, en la que, supuestamente, estaban inmersas las muestras del ADN, con el que Rosy había trabajado, reduciéndolas a una décima parte.

Este error, unido al hecho de que Wilkins había deducido de sus trabajos que el ADN estaba constituido por tres cadenas, enrolladas una en torno a la otra, llevó a los investigadores a proponer una estructura helicoidal, también de tres hebras para el ADN. Ellos colocaron la cadena azúcar fosfato en el centro, enlazando los grupos fosfato, de las diferentes cadenas, con sales de magnesio, en una triple hélice y, creyeron haber resuelto de esta manera el problema de la estructura molecular.

Por supuesto que cuando Maurice y Rosalind fueron invitados a recorrer las cincuenta millas que separaban el Cavendish del King's College, para observar el modelo y ver cómo se cotejaba con las medidas de Franklin, ella inmediatamente lo cuestionó aduciendo que los iones Mg^{++} , utilizados para mantener unidos los grupos fosfato de la molécula, debían estar rodeados por densas capas de moléculas de agua, lo cual hacía muy improbable que fuesen el soporte de una estructura compacta. Aunque sus críticas, como siempre, eran duras, los descorazonados autores tuvieron que aceptar que una vez más, ella tenía razón (Gallardo-Cabello 2001; Lee, 1994; Watson 1968).

Mientras los dos amigos buscaban la forma de reacondicionar su estructura, la suerte les sonrió de manera inesperada. Quince meses después, de la frustrada exposición de su modelo tridimensional del ADN, Watson y Crick, compañeros de despacho de Peter Pauling, el hijo de Linus, conocieron, a través de este, un informe preliminar en el que su padre pensando, equivocadamente, que nadie podía hacerle contrapeso en Cavendish, les anticipaba a él y a Sir William Lawrence Bragg, las conclusiones a las que había llegado acerca de la estructura del ADN. Lawrence Bragg, Director del Cavendish y uno de los fundadores de la cristalografía, se había hecho merecedor, en 1915, junto con su padre William Henry Bragg, al premio Nobel, por demostrar, con sus trabajos de más de cuarenta años, la relevancia de los rayos X en el uso de la cristalografía (Maddox, 2002).

Al leer el informe y, gracias a su fallida experiencia con el modelo anterior, pues la espiral de tres cadenas, era muy parecida a la que ellos habían propuesto erróneamente, Watson advirtió un gran error en el modelo de Pauling: los polinucleótidos se unían por puentes de hidrogeno y los grupos fosfato no estaban ionizados, cada uno contenía un átomo de hidrogeno enlazado, es decir, no tenían carga; en otras palabras, el ácido nucleico de Pauling no era ningún ácido. Linus, el grande, estaba equivocado. ¡Y de que manera! Se había olvidado nada menos que de la química elemental. Los hidrógenos

formaban parte de los enlaces que unían las tres cadenas, sin ellos la estructura entera se desmoronaría (Gallardo-Cabello, 2001; Lee, 1994; Watson, 1968).

Pocos días después, Watson corrió al King's College con las noticias de Pauling. Allí se encontró con Rosalind Franklin, quien se ofuscó mucho al ver el manuscrito, aduciendo que ni Pauling ni nadie tenía evidencias de que la estructura del ADN fuese helicoidal. Es posible y, *esta es una apreciación personal*, que su enojo tuviese que ver con el hecho de que Watson y Crick se estuviesen adelantando a sus propias deducciones.

En cuanto pudo librarse de la ira de Rosy, Watson comunicó a Wilkins su hallazgo y, este a su vez, le mostró la imagen de un patrón de rayos X, de una de dos excelentes fotografías, tomadas diez meses antes, de la nueva forma, tridimensional, rodeada de agua, del ADN, descubierta por Rosalind, a mediados del verano, que ellos llamaban estructura B., esta era más larga, más delgada, hidratada, húmeda o, paracristalina. La forma A utilizada hasta entonces en el laboratorio, era más corta, seca y cristalina. La molécula tipo B fue esencial para el gran descubrimiento del ADN. La destreza de Rosalind para las preparaciones químicas y para los análisis con rayos X, la llevaron a producir las mejores fotos de rayos X tomadas hasta entonces a cualquier sustancia y, a la primera foto clara del ADN, que permitía prever la forma de replicación de la molécula.

Watson escribió acerca de la experiencia: *“En cuanto vi la fotografía, quedé boquiabierto y se me aceleró el pulso. La figura resultaba increíblemente más sencilla que las obtenidas con anterioridad, es decir, las de la forma A. Además, los reflejos negros en forma de cruz que dominaban la fotografía sólo podían provenir de una estructura helicoidal”* (Watson, 1968:107). Para él, la foto resultaba muy clara ya que poco antes, había obtenido fotografías de la forma helicoidal del virus del mosaico del tabaco VMT, utilizando rayos X (Watson, 1968); este trabajo se publicó más tarde en 1954 (Watson 1954).

Ante esta nueva evidencia, Maurice reconoció que Rosy tenía razón en su deducción de que las bases nitrogenadas tenían que estar en el centro de la espiral, con el espinazo de azúcar-fosfato en el exterior, tal como estaba consignado en sus notas: *Una estructura helicoidal... que contiene 2, 3 o 4 cadenas de ácidos nucleicos coaxiales por unidad helicoidal y que tienen los grupos fosfato cerca del exterior* (Watson, 1968).

Aunque sólo había visto una vez la fotografía, la brillante mente de Jim aclaró mucho del ADN, a través de la misma y pudo describírsela en forma clara a Francis. En sus especulaciones, los dos amigos percibieron las increíbles posibilidades de variabilidad para la molécula de ADN, si se suponía que los nucleótidos formaban una larga cadena, no ramificada, de azúcar-fosfato, en la que cada una de las unidades de desoxirribosa estaba asociada a una base nitrogenada, y que el orden de las bases era irregular, tal como AATGCTACT.

¿Podrían Watson y Crick haber logrado descifrar la clave de la vida sin la ayuda de la dama oscura? Según lo narra el propio Watson en *“La doble hélice”* (Watson, 1968), las notas de Franklin, sus fotografías y datos de investigación, circularon entre los amigos, gracias a un informe que resultó vital para ellos, solicitado por Randall a todos sus colaboradores, para ser entregado a un comité nombrado por el Consejo médico de investigadores, del cual formaba parte Max Perutz. Los números de Franklin contenidos en el

informe les proporcionaron la última pieza del rompecabezas del ADN, los espinazos de azúcar-fosfato deberían correr en direcciones opuestas, para que los dos lados de la hélice, reunidos por los pares de bases, se ajustasen al diámetro de 20 ángstrom.

EL MODELO

La carta de Alfred Hershey, remitida a Watson desde Cold Spring Harbor, en 1952, fue un acicate más para avivar el interés de los descubridores de la estructura del ADN. En ella Hershey le contaba que él y Martha Chase habían establecido, a través de sus investigaciones, de infección de bacterias por virus, que el ADN era el material genético. La publicación de este descubrimiento, por Hershey y Chase (1952), fue inmediata.

Por aquel entonces, Watson acudía con frecuencia, en las tardes a cine y, mientras parecía ver la película, en realidad se concentraba en tratar de descifrar la molécula que le obsesionaba. Una de esas tardes, mientras se encontraba viendo *Éxtasis*, el joven investigador encontró la clave de la forma de la molécula: dos cadenas que se enrollaban una en torno a la otra, con series de bases idénticas, unidas por puentes de hidrogeno. Esa noche soñó con la estructura pero, al otro día..., al tratar de armarla con la forma enol de la G y la T, se encontró con serios problemas; para entender los cuales, es necesario recordar que los átomos de nitrógeno de los anillos purínicos y pirimidínicos se encuentran, por lo general, en forma de grupos amino (NH_2), adoptando la forma imino (NH) sólo excepcionalmente. Lo mismo sucede con los átomos de oxígeno, unidos a los átomos de C-6 de la guanina y timina, los cuales normalmente, tienen la estructura cetónica $\text{C}=\text{O}$ y, muy rara vez la configuración enol (COH), (Watson, 1968; 1978).

Aunque su fuerte no era precisamente la química, la suerte, como siempre, lo sacó del mal paso; su compañero, el cristalógrafo americano Jerry Donohue, le aconsejó que usara las formas ceto, en lugar de las tautoméricas enol y, al hacerlo, Watson se encontró, de repente, con la especificidad en el apareamiento de las bases que explicaba las reglas de Chargaff. Este investigador, era un refugiado austriaco de la Universidad de Columbia, quien a finales de la década de los cuarenta descubrió que la composición del ADN de diferentes organismos era bastante similar, en ciertos aspectos: dos de las cuatro bases nitrogenadas del ADN, las purinas llamadas adenina (A) y guanina (G), estaban hechas de dos anillos de carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno, uno de cinco lados y el otro de seis. Las otras dos bases eran las pirimidinas citosina (C) y timina (T), ambas estaban conformadas por anillos de seis lados. Chargaff determinó que la cantidad de adenina en una muestra de ADN dada era siempre igual a la cantidad de timina y que la de guanina era igual a la de citosina. Sin embargo, había una diferencia crítica entre el ADN aislado de diferentes especies de organismos. Aunque la cantidad de A era igual a la de T y la de G a la de C, las cantidades relativas de $A + T$ y $G + C$ variaban mucho. Las bases nitrogenadas, acordes a las reglas de Chargaff, estaban asociadas a una larga cadena de grupos del azúcar desoxirribosa y fosfato alternantes. Una de las cuatro bases nitrogenadas posibles, estaba enlazada con cada desoxirribosa. Un nucleótido consistía en una combinación de desoxirribosa, fosfato y base nitrogenada. Es imposible construir esta estructura con la ribosa, dado que el oxígeno extra puede hacer muy cercanos

los contactos de van der Waals (Chargaff, 1950; Chargaff, y Davidson, 1955; Stryer, 1976).

Las formas amino y cetona, relativamente estables, son esenciales para la función biológica del ADN, porque si los hidrógenos no tuvieran una posición fija, la adenina se podría aparearse a menudo con la citosina y, a su vez, la guanina con la timina (Watson, 1978).

Los pares AT y GC, colocados en un modelo de doble hélice, hecho de dos barandas entrelazadas de azúcar-fosfato con los pares de bases en posición plana, permitirían que diez pares de bases cupiesen en un giro completo de 34 ángstrom de las espiras helicoidales. Al hacerlo, cada par de bases resultaba rotado 36 grados respecto de los pares adyacentes. Este apareamiento se ajustaba a la configuración de dos espirales de azúcar-fosfato unidas por estos pares de bases nitrogenadas. La doble hélice era “diestra”. Si uno pudiese mirar hacia abajo desde el eje longitudinal, los dos espinazos de azúcar-fosfato girarían en un sentido antihorario. El modelo según Watson *era demasiado hermoso para no ser verdadero* (Lee, 1994; Stryer, 1976; Watson, 1968).

En este punto, resulta indispensable analizar el memorable artículo original, Watson y Crick (1953), reproducido en Shelly Cummings (2000). En el primer párrafo los autores hacen referencia a la publicación de Pauling y Corey (1953), para señalar las razones por las que consideran que la estructura de tres cadenas del ADN no es satisfactoria:

1. El material con el que se han hecho las autorradiografías de rayos X es la sal, no el ácido libre. En el ácido, los grupos fosfato de los nucleótidos en realidad se ionizan, liberando Hidrógeno. Sin los átomos de Hidrógeno no es claro cuáles serían las fuerzas que podrían mantener junta la estructura, especialmente, porque los fosfatos cargados negativamente, cercanos al eje, podrían repeler a los otros.
2. Algunas de las distancias de van der Waals parecen muy pequeñas.

En el modelo, de Linus los fosfatos están en el exterior y las bases en el interior, ligadas por puentes de hidrogeno. Watson y Crick proponen en su escrito una estructura totalmente diferente:

- Una doble hélice, cuyas cadenas giran alrededor de un eje central.
- Cada cadena consta de grupos fosfodiéster, unidos por residuos de β -D-deoxiribofuranosa con enlaces 3', 5'.
- Las dos cadenas pero no sus bases, están relacionadas perpendicularmente al eje central.
- Las dos cadenas son levóginas, pero los átomos corren en direcciones diferentes.
- Las bases están en el interior de la cadena y los fosfatos en el exterior.
- El azúcar es perpendicular a la base más cercana.
- Hay un residuo cada 3.4 Å.
- El ángulo de rotación, entre dos residuos adyacentes es de 36°.

- La estructura se repite cada 10 pares de bases y cada 34 Å.
- La distancia de los átomos de fósforo al eje es de 10 Å.
- Como los fosfatos están en el exterior, son de fácil acceso para los cationes
- La principal característica de la molécula es la manera como las dos cadenas permanecen juntas, por las purinas y pirimidinas.
- Los planos de las bases son perpendiculares al eje central.
- Las uniones se dan entre una purina de una cadena, con una pirimidina de la otra, a través de puentes de hidrógeno: Purina en posición 1 a pirimidina en posición 1. Purina en posición 6 a pirimidina en posición 6.
- Si se asume que las bases sólo aparecen en la estructura, en la forma tautomérica más plausible, es decir ceto en vez de enol, se encuentra que el apareamiento sólo puede darse en forma específica, adenina con timina y guanina con citosina.
- La secuencia de las bases a lo largo de una cadena única, no tiene restricciones de ningún tipo.
- Si sólo se pueden formar pares de bases específicos, es lógico que si está dada la secuencia de bases de una cadena, la secuencia de la otra está automáticamente determinada (Watson y Crick, 1953, reproducido en Shelly Cummings, 2000).

Aunque una parte muy significativa de los datos que los autores proponen en su artículo procedía de Rosalind Franklin, el triunfo fue de ellos. Rosy había tomado la fotografía por rayos X definitiva y, sus cálculos fueron vitales en la creación del modelo. Sin embargo, no compartió la gloria de Watson, Crick y Wilkins, quienes recibieron el premio Nobel, para fisiología o medicina en 1962, (Maddox, 2002). Rosalind Franklin murió de cáncer en 1958 y permaneció prácticamente ignorada, hasta cuando Watson publicó *La Doble Hélice*. En el epílogo él reconoce los logros de Rosalind, calificando de extraordinarios sus trabajos con rayos X de:

- Las formas A y B del ADN.
- Su demostración en 1952, utilizando los métodos de superposición de Patterson, de que los grupos fosfato debían estar en la periferia.
- Su precisa imagen cuantitativa estableciendo los parámetros helicoidales esenciales y localizando la cadena ribonucleica a mitad de distancia del eje central.

“Llegamos a apreciar mucho su honradez y generosidad personales, comprendiendo con varios años de retraso las luchas que debe arrostrar una mujer inteligente para ser aceptada en un mundo científico que, a menudo, considera a las mujeres como meras distracciones del trabajo reflexivo serio. El valor y la integridad ejemplares de Rosalind quedaron de manifiesto para todos cuando, sabiendo que estaba mortalmente enferma de cáncer, continuó trabajando intensamente hasta pocas semanas antes de su muerte” (Watson 1968: 146)

En 1958 Rosalind murió, a los 37 años; durante el tiempo en que trabajó con rayos X, no se protegía apropiadamente y, la cámara sólo podía ser alineada cuando estaba prendida. Para ella su trabajo era más importante que cualquier otra cosa, incluida la vida.

LA REPLICACIÓN

La especificidad en el apareamiento de las bases, permitió postular en forma inmediata el mecanismo de replicación para el ADN. Un mes después, de la publicación de la estructura de la molécula, en un segundo artículo, puramente especulativo, del cual los autores admitían no tener evidencia, Watson y Crick, (1953), planteaban que el ADN durante la división celular se copia a si mismo mediante la separación de los dos lados de la espiral, de tal modo que cada uno de ellos es el modelo para construir una cadena complementaria.

1. En 1954 Crick publicó “La estructura del material hereditario”, con fotografías del ADN de Rosalind Franklin y la explicación de cómo funcionaba la cadena molde en la replicación (Crick, 1954, reproducido en Selecciones de Scientific American, 1978c, *La base molecular de la vida*).

La especulación, acerca de la replicación del ADN, fue confirmada en: Meselson y Stall (1957). Matthew Meselson, era un estudiante de postgrado, de Cal Tech, adscrito al laboratorio de Linus Pauling y su compañero Franklin Stahl adelantaba, también en Cal Tech, sus estudios postdoctorales. El experimento era sencillo y elegante, en él se marcaba la molécula de ADN, con isótopos -formas alternas de un elemento químico que difieren de los otros átomos del mismo elemento por el número de neutrones del núcleo-. Un isótopo comercial, no radiactivo del nitrógeno, es el N_{15} , “pesado”.

Meselson y Stahl cultivaron por muchas generaciones *Escherichia coli*, en un medio rico en N_{15} , el cual fue incorporado a las bases nitrogenadas del ADN bacteriano. Los investigadores transfirieron parte de estas bacterias a un medio nutritivo con N_{14} . Cada nueva generación de bacterias, era centrifugada y las células eran abiertas, liberando su contenido. Una muestra de éste era colocada en un tubo y centrifugada, en una solución de cloruro de cesio. En el gradiente de densidad el nivel del ADN de las bacterias con N_{14} es más alto mientras que el de las de N_{15} alcanza un nivel de flotación inferior. Después de una generación, como era de suponer para un ADN mixto, el ADN de las bacterias tenía un nivel intermedio entre los de N_{14} y N_{15} . Después de la segunda generación, la banda con el nivel de flotación del ADN normal, se fue haciendo cada vez mayor, en relación con la mixta que permanecía igual, (Griffiths et al. 1997; Meselson y Stall, 1957; Stryer, 1976, Suzuki et al. 1996).

Dieciséis años después, en 1973, Surgino y Okazaki demostraron que la replicación del ADN, es un proceso semiconservativo, discontinuo, en el que una gran proporción del ADN nuevo aparece en pequeños fragmentos, que se van uniendo en la medida que avanza el proceso (Surgino y Okazaki, 1973).

LA FUNCIÓN

Es necesario recordar, que desde la década de los veinte se sabía que los ácidos nucleicos eran de dos tipos. El más abundante era el ADN, el otro era el ARN, presente en cantidades más pequeñas en las células. El ARN se diferencia del ADN en que es monocatenario, contiene ribosa en lugar de desoxirribosa y uracilo en lugar de timina.

El descubrimiento de la estructura del ADN y su forma de replicación, no fueron los únicos eventos importantes en 1953. En ese año se marcó un hito en el desarrollo de la genética, por los grandes avances logrados; por ejemplo, el bioquímico inglés Fred Sanger, del laboratorio Cavendish, tras una década de trabajo rastreó la secuencia completa de aminoácidos en la insulina, proteína pequeña de dos polipéptidos, uno con 30 aminoácidos y el otro con 21. La secuencia de aminoácidos en una proteína era específica y consistente, lo que sugería que estaba determinada por un código (Sanger,1955).

Entre tanto, el microscopio electrónico había sido mejorado y permitía ver detalles celulares, como los “ribosomas”. George Palade, del Instituto Rockefeller, mostró que estas abundantes partículas también se encontraban en las células bacterianas. En ese mismo año, 1953, Paul Zamecnik, investigador del Hospital General de Massachusetts, usando aminoácidos que contenían C_{14} , un isótopo radiactivo del carbono, rastreó el lugar de la síntesis de proteínas en ratas, encontrando que estaba en los ribosomas.

Después de la publicación de la estructura del ADN, tanto Watson como Crick volvieron su atención al ARN. En Cal Tech Watson comenzó a trabajar en el análisis del ARN mediante rayos X. Durante los meses en los que estuvo preocupado por el modelo del ADN, había pegado en la pared la frase: “ADN a ARN a proteína”. Desde 1955 Crick propuso, informalmente, la hipótesis del adaptador, aunque esta idea se quedó sin publicar hasta 1958, cuando apareció en Crick, (1958).

La primera idea, ingenua, tal como el mismo Crick la calificó, fue que el RNA tomara una configuración capaz de formar veinte cavidades diferentes, una para cada cadena lateral de cada uno de los veinte aminoácidos. El RNA presenta una secuencia de lugares donde pueden producirse puentes de hidrógeno. Podría esperarse por ello que llegase al molde en forma específica, formando puentes de hidrógeno. Por lo tanto, es una hipótesis lógica que los aminoácidos son transportados hacia el molde por una molécula adaptadora, y que el adaptador es la parte que ajusta realmente con el RNA. En su forma simplificada uno requeriría veinte adaptadores, uno para cada aminoácido (Crick,1958).

Para confirmar esta hipótesis, hacia finales de 1956, los bioquímicos, con extractos libres de células y sistemas bacterianos, diseñaron un esbozo de la síntesis de proteínas, la cual incluía el ARN como molécula “portadora”, que recogía aminoácidos y los llevaba a los ribosomas. Cada aminoácido parecía tener su propia molécula específica de ARN, y la asociación del aminoácido con el ARN se realizaba mediante enzimas específicas. Era como si tuviese que haber veinte “obreros” diferentes,

cada uno para llevar una parte distinta a la línea de ensamblado. Zamecnik descubrió que cada uno de esos ARN portadores tenía la misma secuencia de nucleótidos en un extremo de la molécula (CCA). El aminoácido se asociaba en ese punto de tres bases. Este tipo de ARN que portaba los aminoácidos, fue denominado “ARN de transferencia” o ARN_T, porque al parecer transfería los aminoácidos desde el citoplasma a los ribosomas.

En 1955, Artur Kornberg y colaboradores habían iniciado la búsqueda de una enzima implicada en la replicación del ADN, logrando sintetizar y caracterizar la ADN polimerasa I (de Kornberg), después de una década de trabajo en el laboratorio; gracias al cual, Kornberg y Severo Ochoa recibieron el premio Nobel de fisiología y medicina en 1959, sus trabajos fueron publicados en: Kornberg (1960), Kornberg (1968), y reproducidos en: Readings from Scientific American, *Recombinant DNA*, 1978; Selecciones de Scientific American, (1978a), *Facetas de la Genética* y; Selecciones de Scientific American, (1978b), *La célula viva*. También pueden encontrarse en los textos: Kornberg (1978); Stryer (1976); Suzuki et al. (1996).

En 1956, con extractos libres de células y, sistemas bacterianos, se hace un esbozo de la síntesis de proteínas, en la que las moléculas de ARN recogían aminoácidos y los llevaba a los ribosomas. Tal como lo había predicho Crick, en su hipótesis del adaptador, era como si tuviese que haber veinte “obreros” diferentes, cada uno para llevar una parte distinta a la línea de ensamblado.

También en 1956, Vernon Ingram, del Instituto Rockefeller, se unió al grupo de Max Perutz en el Cavendish, convencido por Crick para probar la hipótesis de que un gen mutante debía producir un cambio en la secuencia de aminoácidos de una proteína (Ingram, 1957; Ingram, 1963). El laboratorio de Perutz contaba con moléculas de hemoglobina de las formas normal y anormal aisladas en la sangre de pacientes con anemia de células falciformes. Basado en los resultados de la electroforesis, en los que se veía como la hemoglobina normal migraba hacia el polo positivo mientras la falciforme lo hacía hacia el polo negativo, indicando una variación en la estructura química de las dos moléculas, Ingram dividió la hemoglobina en pequeños péptidos, con una enzima que corta entre aminoácidos específicos, en fragmentos de aproximadamente diez aminoácidos, aplicó su muestra a un trozo húmedo de papel secante y usó electroforesis para lograr una separación parcial de los péptidos. Continuó con “cromatografía de papel”, en la cual un borde del papel secante, con los péptidos parcialmente separados, se coloca en un disolvente químico. A medida que el disolvente migra lentamente hacia arriba en el papel, arrastra los péptidos que dejan periódicamente el disolvente y se fijan al papel secante en diferentes sitios.

El resultado mostró que había un trozo cargado de forma positiva en la hemoglobina de la célula falciforme, que no fue hallado en la forma normal. Ingram llamó a este patrón cromatográfico la “huella dactilar” de la proteína. Las modificaciones de su técnica, que llevan su nombre, son hoy en día usadas universalmente en la separación de mezclas complejas, incluyendo fragmentos de ADN, un procedimiento esencial para el Proyecto Genoma Humano (Lee, 1994).

En septiembre de 1957, Francis Crick durante el Simposio de la Sociedad de Biología Experimental, en Cambridge hizo una serie de especulaciones que en su mayoría resultaron ser correctas y planteó la “Hipótesis de Secuencia” en la cual sostenía que el orden en el que aparecen los aminoácidos en las moléculas de proteína está determinado por una secuencia de bases nitrogenadas, en una sección particular del ADN. Otra de sus especulaciones era el “Dogma Central” que fue publicado en 1970: “La información que pasa a la proteína no puede salir nuevamente.” Es decir, puede haber transferencia de información del ADN al ARN o del ARN a la proteína pero nunca en el otro sentido (Crick, 1970).

Crick argumentó que si la secuencia de bases nitrogenadas de los nucleótidos del ADN dirigía el ensamblado de los aminoácidos en cadenas, esa secuencia, en si misma, sería suficiente para formar la proteína compleja. Afirmó además que se descubriría que el código genético era universal y estaba formado de una secuencia que codificaba para cada aminoácido particular. Con cuatro bases nitrogenadas y 20 aminoácidos, un conjunto de dos nucleótidos estaba limitado a 16 combinaciones posibles. Una serie de tres nucleótidos daría 64 combinaciones diferentes, más que suficientes para proveer un código para los 20 aminoácidos. Esto resultó ser cierto como todas las otras especulaciones de Crick.

A fines de la década de los cincuenta, François Jacob y Jacques Monod, en el Instituto Pasteur en Paris, encontraron en bacterias, una segunda forma de ARN, larga y recta, intermediaria entre el ADN y el ribosoma, era el “ARN mensajero (Jacob y Monod, 1961).

En 1959, Severo Ochoa y Arthur Kornberg ganan el premio Nobel de fisiología y medicina por sus trabajos sobre la síntesis de polinucleótidos de ADN y de ARN (Geftel et al., 1971; Kornberg, 1960; Kornberg, 1968; Kornberg, 1978).

Para 1961, ya se tenía conocimiento de que el ADN pasa la información a un ARN mensajero, el cual lleva ese mensaje a un ribosoma. Las moléculas del ARN de transferencia, conducen los aminoácidos al ribosoma y se monta la secuencia correcta de la proteína, siguiendo la información del ARN mensajero (Jacob y Monod, 1961).

En el Congreso Internacional de Bioquímica, en agosto de 1961, en Moscú, Marshall Warren Nirenberg, científico de 34 años, del National Institute of Health (NIH), cerca de Washington, D.C. y Johann Matthaei, mostraron que con sus trabajos habían obtenido la clave para descifrar el código genético, que en 1965 logró ser dilucidado en su totalidad (Nirenberg y Matthaei, 1961; Nirenberg, 1963; Nirenberg, 1968). Se utilizaron las bacterias *Escherichia coli* en el sistema libre de células de Paul Zamecnik y aminoácidos, marcados radiactivamente, para poder detectarlos en las proteínas recién formadas. Al agregar una enzima que destruía específicamente el ARN, la síntesis de proteínas se detuvo en seguida. La adición de la enzima que descomponía el ADN no impedía la síntesis hasta después de unos 30 minutos. Ellos no sabían que la existencia del RNAm había sido postulada poco antes por Jacob y Monod (1961), (Lee, 1994).

Nirenberg y Matthei compartieron el Nobel en 1968 con Robert Holley un bioquímico de la Estación Agrícola Experimental del estado de Nueva York, en Cornell, quien determinó la secuencia exacta de bases nitrogenadas en una molécula de ARN de transferencia, que resultó ser de 77 nucleótidos de largo y tener una peculiar forma de hoja de trébol. En un extremo de la cadena de nucleótidos estaba la secuencia CCA para la asociación de aminoácidos. En el extremo distante había un elemento clave en el proceso de la síntesis de proteínas. Era una secuencia de tres nucleótidos que contenía tres bases nitrogenadas complementarias de un conjunto de bases localizadas en el ribosoma (Holley, 1966).

2. Fueron muchos los aportes de Crick después de la publicación que le valió el Nobel: El código genético (Crick, 1962), reproducido en *Selecciones de Scientific American* (1978a), *Facetas de la Genética* y en *Selecciones de Scientific American* (1978c), *La base molecular de la vida*. En este trabajo, se describen los experimentos originales de Brenner et al. (1961), con el fago T₄, gracias a los cuales se revela que el código genético se descifra con codones de tres letras; posteriormente, Crick publicó los avances en el problema del código genético (Crick, 1963), *The genetic code III* Crick (1966a), reproducido como *La clave genética III* Crick (1966b), y en *Readings from Scientific American* (1978); posteriormente Crick publicó: la hipótesis del balanceo (Crick, 1966c); el dogma central de la biología molecular (Crick, 1970) y, sus apreciaciones personales sobre la doble hélice (Crick, 1974).

El Dogma Central (Crick, 1970), ha sido dilucidado poco a poco. Hoy, por ejemplo, se sabe que el ARNm sufre un proceso de maduración en el cual su tamaño se reduce considerablemente, por la pérdida de los intrones, secuencias que no codifican para la síntesis de proteína. Parte de la variación del genoma podría estar allí, en forma subyacente, actuando en la expresión de los genes. El mensaje codificado en los genes puede ser alterado por cambios en la secuencia de las bases (mutaciones), por inserciones, duplicaciones o deleciones, cuyo origen pueden ser los transposones, por cambios en la estructura y número de los cromosomas, entre otras. Estos cambios en su conjunto, proporcionan a la naturaleza la materia básica para la evolución.

La explosión de conocimientos nuevos en genética y biotecnología, generada por el descubrimiento de la estructura y función del ADN, no tiene parangón en la historia de la ciencia y su recopilación, desde donde la hemos dejado hasta el día de hoy, ameritaría, sin duda, un nuevo ensayo.

LAS FUENTES DE LA HISTORIA BIBLIOGRAFÍA COMENTADA

Avery, O. T., MacLeod, C. M. and McCarty, M. (1944). Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. Induction of transformation by a deoxyribonucleic acid fraction isolated from *Pneumococcus* Type III. *Journal of Experimental medicine*, 79, 137-158.

En este artículo, mediante un elegante y sencillo experimento, se establece claramente y de

forma muy concluyente, la naturaleza química del principio transformador del experimento de Griffiths con los *Pneumococcus*, en el año 1928.

Brenner, S., Jacob F, and Messelson, M. (1961). An unstable intermediate carrying information from genes to ribosomes for protein synthesis. *Journal of Molecular Biology*, 3, 318-356.

Artículo relacionado con el ARNm y su función como intermediario entre los genes y los ribosomas, en la síntesis de las proteínas.

Crick, F. H. C. (1954). La estructura del material hereditario. En *Selecciones de Scientific American* (1978c), *La base molecular de la vida* (pp. 86 – 93) Madrid: Editorial Blume.

En este artículo aparecen las fotografías del ADN de Rosalind Franklin y se explica como funciona la cadena molde en la replicación.

Crick, F. H. C. (1958). On Protein Synthesis. *Symposia of the Society for Experimental Biology*, 12, 138-163.

Exposición de las ideas que indujeron al autor a proponer la hipótesis del adaptador. Una visión anticipada de la síntesis de las proteínas.

Crick, F. H. C. (1962). The genetic code. *Scientific American*, 207 (4), 66-74.

Describe los experimentos originales de Crick y Brenner con el fago T₄, que revelaron que el código genético se descifra con codones de tres letras.

Crick, F. H. C. (1962). La clave genética I. En *Selecciones de Scientific American*. (1978c), *La base molecular de la vida* (pp. 247 - 255) Madrid: Editorial Blume.

Alude a los experimentos realizados en Cambridge, por Crick y colaboradores con el bacteriofago T₄, mediante los cuales, utilizando diferentes cepas mutantes, se logra descifrar la forma en que se lee el mensaje de los genes, a través de una clave de tripletes. El ARN se traduce de tres en tres y cada grupo – codon - corresponde a un aminoácido en particular.

Crick, F. H. C. (1963). The recent excitement in the coding problem. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology*, 1, 164.

Analiza de forma muy clara el problema de la codificación hasta 1962.

Crick, F. H. C. (1966^a). The genetic code III. *Scientific American*, 215 (4), 55-62.

La separata 1052 de *Scientific American*, es una consideración del código, cuando éste fue interpretado casi en su totalidad. Analiza la clave de los tripletes, los trabajos con RNAs mensajeros sintéticos, el uso de las mutaciones “phase shift” o desfase para predecir los cambios en los aminoácidos de una proteína en particular, el hallazgo de los anticodones y la hipótesis del balanceo.

Crick, F. H. C. (1966). La clave genética III. En *Selecciones de Scientific American*. (1978c), *La base molecular de la vida* (pp. 256 – 274) Madrid: Editorial Blume.

Este artículo se reprodujo también como: El código genético II, en *Selecciones de Scientific American*. (1978a). *Facetas de la genética* (pp. 19– 26). Madrid: Editorial Blume.

Crick, F. H. C. (1966b). Codon Anticodon Pairing: The Wobble Hypothesis, *Journal Molecular Biology*, 19, 548.

Argumentos para el entendimiento de la forma como un ARNt, puede ligarse a más de un codón. Hipótesis del balanceo.

- Crick, F. H. C. (1970). Central dogma of molecular biology. *Nature*, 227 (5258), 561-563.
Dogma central de la biología molecular, acerca de cómo fluye la información del ADN, al ARN y no al contrario.
- Crick, F. H. C. (1974). The double helix: a personal view. *Nature*, 248, 766.
La doble hélice del ADN, desde la óptica de uno de sus descubridores.
- Chargaff, E. (1950). Chemical specificity of nucleic acids and mechanism for their enzymatic degradation. *Experientia*, 6, 201-209.
El autor plantea que la cantidad de bases aminadas en la posición 6 (A+C) era igual a la cantidad de bases con un grupo cetónico en posición 6 (T+G), en cualquier especie en particular.
- Chargaff, E., and Davison, J. N (Ed). (1955). *The nucleic Acids* 3. New York USA: Academic Press.
- Gallardo-Cabello, M. (2001). *Atrapados en la doble hélice, James Watson y Francis Crick*. Bogotá: Alfaomega.
Este libro que pertenece a la colección Viajeros del Conocimiento, de Colciencias, contiene datos anecdóticos y traducciones de algunos de los escritos de Watson y Crick, a los que se hace referencia en este ensayo.
- Gefter, M. L., Hyrota Y., Kornberg T., Wechsler J. A., and Barnoux C. (1971). Analysis of DNA polymerases II and III in mutants of *E. coli* thermosensitive for DNA synthesis. *Proceedings of the National Academic of Sciences U.S.A.*, 71: 6-10.
Las polimerasas II y III fueron descubiertas aproximadamente 15 años después de la polimerasa I
- Griffiths, A. J. F., Miller, J. H., Suzuki, D. T., Lewontin, R. C., Gelbart, W. M. (1997). *An Introduction to Genetic Analysis*. New York, EE. UU.: Freeman and Company.
Libro de texto, en el que pueden leerse muchos de los experimentos citados en este ensayo.
- Hershey, A. D., and Chase, M. (1952). Independent functions of rival protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. *Journal of Genetical Physiology*, 36, 39-56.
Con este crucial experimento, los autores lograron establecer que la producción de nuevas partículas virales podía realizarse si la cubierta proteica permanecía fuera de la célula bacteriana infectada y, que únicamente el ADN penetraba en la célula.
- Holley, R. W. (1966). The nucleotide sequence of a nucleic acid. *Scientific American*. 21 (2), 30 – 39.
Separata 1092 de *Scientific American*. Gracias a este trabajo, Holley determinó la secuencia exacta de bases nitrogenadas en una molécula de ARN de transferencia, que resultó ser de 77 nucleótidos de largo y tener una peculiar forma de hoja de trébol.
- Ingram, V. M. (1957). Gene mutations in human hemoglobin: the chemical difference between normal and sickle cell hemoglobin. *Nature* 180, 326.
Resultados de las experiencias con electroforesis de la hemoglobina normal y la falciforme en humanos.
- Ingram, V. M. (1963). *The hemoglobin in genetics and evolution*. New York, EE. UU.: Columbia University Press.

Describe las diferentes maneras en que se ha usado la hemoglobina para establecer principios biológicos, especialmente, los relacionados con las moléculas anormales de hemoglobina.

Jacob, F., and Monod, J. (1961). Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *Journal of Molecular Biology* 3, 318-356.

Trabajo clásico en el que los autores formulan el concepto de ARN mensajero y proponen sus propiedades.

Kornberg, A. (1960). Biological synthesis of deoxyribonucleic acid. En *Selecciones de Scientific American*. (1978b). *La célula viva* (pp.224-234), con el nombre de: La síntesis del DNA. Madrid: Editorial Blume.

Como lo afirma el autor, con la síntesis de la doble hélice en el tubo de ensayo, gracias al aislamiento de la ADN polimerasa, se culminan los esfuerzos de 50 años, por sintetizar moléculas gigantes, con actividad biológica, fuera de la célula viva.

Kornberg, A. (1968). The synthesis of de DNA. *Scientific American* 219 (4), 64-70.

Separata de la revista *Scientific American*, que amplía los detalles sobre la síntesis del ADN. Reproducido en *Readings from Scientific American* (1978).

Kornberg, A. (1978). *Síntesis del DNA*. Madrid, España: Blume.

En este texto, básico en la comprensión de la replicación del ADN, el autor, galardonado con el premio Nobel, sabe abordar con sencillez la problemática de la estructura y función del ADN. El libro es la versión española de: *DNA Synthesis 1974*. dirigida por Julio Rodríguez V. Edit. Blume Madrid.

Lee, T. F. (1994). *El proyecto Genoma Humano*. Barcelona España: Gedisa.

Este libro, volumen No. 31 de la colección: Límites de la ciencia, revela desde su génesis la historia del desarrollo y perspectivas del desciframiento del lenguaje del secreto del ADN. Es uno de los principales soportes de este ensayo.

Luria, S. E. and Delbrück, M. (1943). Mutations of bacteria from virus sensitivity to virus resistance. *Genetics* 28, 491.

Este trabajo tiene tanta importancia para la genética de las bacterias, como el de Mendel, para la genética de los organismos de reproducción sexual.

Maddox, B. (2002). *Rosalind Franklin. The dark lady of DNA*. New York, EE.UU. Harper Collins Publishers.

Este libro relata la vida de Rosalind Franklin desde su infancia y, contiene numerosos y valiosos datos, relacionados con los protagonistas de la historia del ADN.

Meselson, M. S., and Stahl, F. W. (1957). The replication of DNA in *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academic of Sciences U.S.A*, 44, 671 – 682.

Elegante y sencillo experimento, clásico en biología molecular, mediante el cual se comprobó que la replicación del ADN es semiconservativa, es decir, que implica la separación de las dos cadenas polinucleotídicas complementarias..

Muller, H. J. (1927). Artificial transmutation of the gene. *Science*, 46: 84.

Herman Muller, recibió el premio Nobel en 1947, por este trabajo sobre mutaciones inducidas por rayos X.

Nirenberg, M. W. and Matthaei J. H. (1961). The dependence of cell – free protein synthesis in *Escherichia coli* upon naturally occurring or synthetic polyribonucleotides. *Proceedings of the National Academic of Sciences U.S.A.*, 47, 1588.

En esta publicación se demostró que poli-U codifica para poli-fenilalanina.

Nirenberg, M. W. (1963). The genetic code II. *Scientific American*, 208 (3), 80-94.

La separata 153 de *Scientific American*, en la que se publicó este trabajo, fue reproducida en Selecciones de *Scientific American*. (1978b), *La célula viva* (pp. 212 – 223) Madrid: Editorial Blume. El artículo describe, el modo mediante el cual varias combinaciones de bases, proporcionan la información para que las células puedan fabricar las proteínas. El uso de polinucleótidos sintéticos, para descifrar el código, es otro acontecimiento en los albores del desciframiento del código genético.

Nirenberg, M. W. (1968). The genetic code. Nobel lectures: Physiology of medicine *American Elsevier*. 1963 – 1970: 372-395.

Otra publicación acerca de todo lo relacionado con el código genético.

Pauling, L. Corey, R. B., and Branson, H. R. (1951). The structure of proteins: two hydrogen bonded helical configurations of the polypeptide chain. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.* 37, 205.

En este artículo, los autores proponen la estructura de hélice α de las proteínas. La más importante estructura regular, encontrada en estas moléculas.

Pauling L. and Corey, R. B. (1953). Compound helical configuration of polypeptide chains. *Nature*. 171, 59.

Trabajando con modelos contruidos con piezas metálicas ensambladas, los autores propusieron el modelo de hélice alfa de algunas de las proteínas, en el que la cadena polipeptídica se enrollaba sobre su eje, girando en su ascenso hacia la derecha

Pauling, L., and Corey, R. B. (1953). A proposed structure for the nucleic acids. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.* 39, 84-97.

Este modelo, de tres cadenas, con los fosfatos cerca al eje y las bases hacia afuera, fue corregido por Watson y Crick en su publicación de este mismo año.

Perutz, M. F. (1964). The hemoglobin molecule. *Scientific American* 211, 2-14.

Describe la arquitectura de la molécula de hemoglobina en presencia o ausencia de oxígeno. Un resumen agradable de los trabajos de cristalografía con rayos X, sobre la hemoglobina, hasta ese momento.

Perutz, M. F. (1970). Stereochemistry of cooperative effects in hemoglobin. *Nature* 228, 726.

Readings from *Scientific American*. (1978). Recombinant DNA. Edit. Freeman And Company, San Francisco.

En esta recopilación de artículos relevantes, se encuentran reproducidos los artículos originales de Crick, 4- 11; 21- 27 y Kornberg, 101-111.

- Sanger, F., (1955). The chemistry of simple proteins. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 9, 10-31.
 Gracias a sus estudios con la insulina, Tras una década de trabajo, el autor rastreó la secuencia completa de aminoácidos en la insulina, la cual sugería que estaba determinada por un código. Sanger desarrolló una técnica para identificar el aminoácido terminal de la cadena polipeptídica, con el grupo amino libre. Gracias a este trabajo se desarrollaron más métodos para el secuenciamiento de las proteínas.
- Selecciones de Scientific American. (Ed). (1978a). *Facetas de la Genética*. Madrid, España: Blume.
 Otra excelente recopilación de artículos originales entre los que se encuentran El código genético I de Crick, 11 - 18 ; El código genético II de Crick II, 19 – 26 y La Síntesis del ADN de Kornberg, 47 – 57.
- Selecciones de Scientific American. (Ed). (1978b). *La célula viva*. Madrid, España: Blume. Reproduce originales de artículos como el de Nirenberg y Kornberg, entre otros
- Selecciones de Scientific American. (Ed). (1978c). *La base molecular de la vida*. Madrid, España: Blume.
 Reproduce artículos originales de Crick, La estructura del material hereditario, 86- 93; La clave genética I, 247 – 255; delbrück y Perutz.
- Shelly Cummings (Comp). (2000). *Current Perspectives in genetics*. Chicago USA: Brooks/Cole.
 Este importante libro reproduce una serie de artículos clásicos de genética y evolución, como los de Mendel, Watson y Crick, Hardy, etc.
- Schrödinger, E. (1945). *What is life?* New York, EE. UU.: Cambridge University Press.
 Este libro logró despertar el interés y motivar a muchos de los científicos de la época, hacia el estudio de las sustancias que podían resultar ser las moléculas constitutivas de los genes.
- Stent, G. S., and Calendar, R. (1978). *Molecular Genetics. An Introductory Narrative*. San Francisco, EE.UU.: Freeman and Company.
 En este valioso libro se puede recorrer la historia del surgimiento de la genética molecular, con referencias a ensayos retrospectivos, a los artículos originales de los investigadores, fotografías, etc.
- Stryer, L. (1976). *Bioquímica*. Barcelona, España: Reverté S. A.
 Excelente texto que reproduce y analiza, paso a paso, muchos de los experimentos referenciados en este ensayo, a la vez que contiene una buena serie de datos históricos.
- Surgino, A., and Okazaki, R. (1973). RNA- linked DNA fragments in vitro. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.* 70, 88-92.
 En este artículo, los autores muestran que la replicación del ADN es un proceso discontinuo, en el que una gran proporción del ADN nuevo existe como pequeños fragmentos.
- Suzuki, D. T., Griffiths, A. J. F., Miller, J. H., Lewontin, R. C. (1996). *Genética*. Madrid, España. McGraw Hill Interamericana.
 Libro de texto en el que se pueden leer muchos de los experimentos citados en el ensayo.
- Watson, J. D. (1954). The structure of *Tobacco mosaic virus*: I. X ray evidence of a helical arrangement of sub-units around the longitudinal axis. *Biosciences et Biophysiques*. Acta 13: 10-19.

Watson J. D. (1978). *Biología Molecular del Gen*. Madrid, España. Fondo Educativo Interamericano S. A.

Tercera edición. Traducción de Peter Fiedler y Ernesto Bautista. 738 páginas. Excelente libro de texto, para un curso de Bioquímica o de Introducción a la Biología molecular. Escrito por uno de los protagonistas de la historia, contiene en detalle la descripción de muchos de los experimentos que rodearon el antes y el después del descubrimiento de la estructura química del ADN.

Watson, J. D. (1968). *The double Helix: A personal account of the discovery of the structure of DNA*. New York, U.S.A.: Atheneum.

Libro de 146 páginas, en la versión en español de Adolfo Martín, publicada en 1987, por Salvat Editores, S. A. Barcelona. El texto que recoge mucha de la historia plasmada en este ensayo, es un relato personal, sobre el descubrimiento de la doble hélice, que permite ver la forma a veces despectiva en que Watson se refiere a Rosalind Franklin, llamándola Rosy y preguntándose cómo se vería sin gafas, se peinase diferente y usara un poco de colorete en los labios. No obstante, en el epílogo, Watson reconoce los méritos de Rosalind.

Watson, J. D., and Crick F. H. C. (1953), Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid, *Nature* 171,(4356), 737 – 738.

Artículo original de 900 palabras enviado a *Nature*, el 2 de abril de 1953 en el que los autores describían la estructura de la molécula del ADN, analizado en este ensayo.

Watson, J. D., and Crick, F. H. C. (1953), Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acid. *Nature*, 171(4361), 964 – 967.

Artículo netamente especulativo en el que los autores proponen la síntesis semiconservativa del ADN.

María Magdalena Echeverry de Polanco. M. Sc., Biología, y Ph. D, en Genética de la Universidad de los Andes, es Profesora Titular de las asignaturas de Genética y Evolución, del pregrado de Biología y de la Maestría en Ciencias Biológicas, de la Facultad de Ciencias de la Universidad del Tolima. Es además directora del grupo de investigación en Citogenética, filogenia y evolución de poblaciones, escalafón B de Colciencias. mmpol@lycos.com 

Referencia	Fecha de recepción	Fecha de aprobación
De Polanco M. (2006). Cincuenta y tres años del descubrimiento de la estructura de la molécula de ADN. Homenaje a James Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins y Rosalind Franklin. <i>Revista Tumbaga</i> , 1, 21-42	Día/mes/año 05/02/2006	Día/mes/año 30/06/2006