

La Construcción del Código Genético

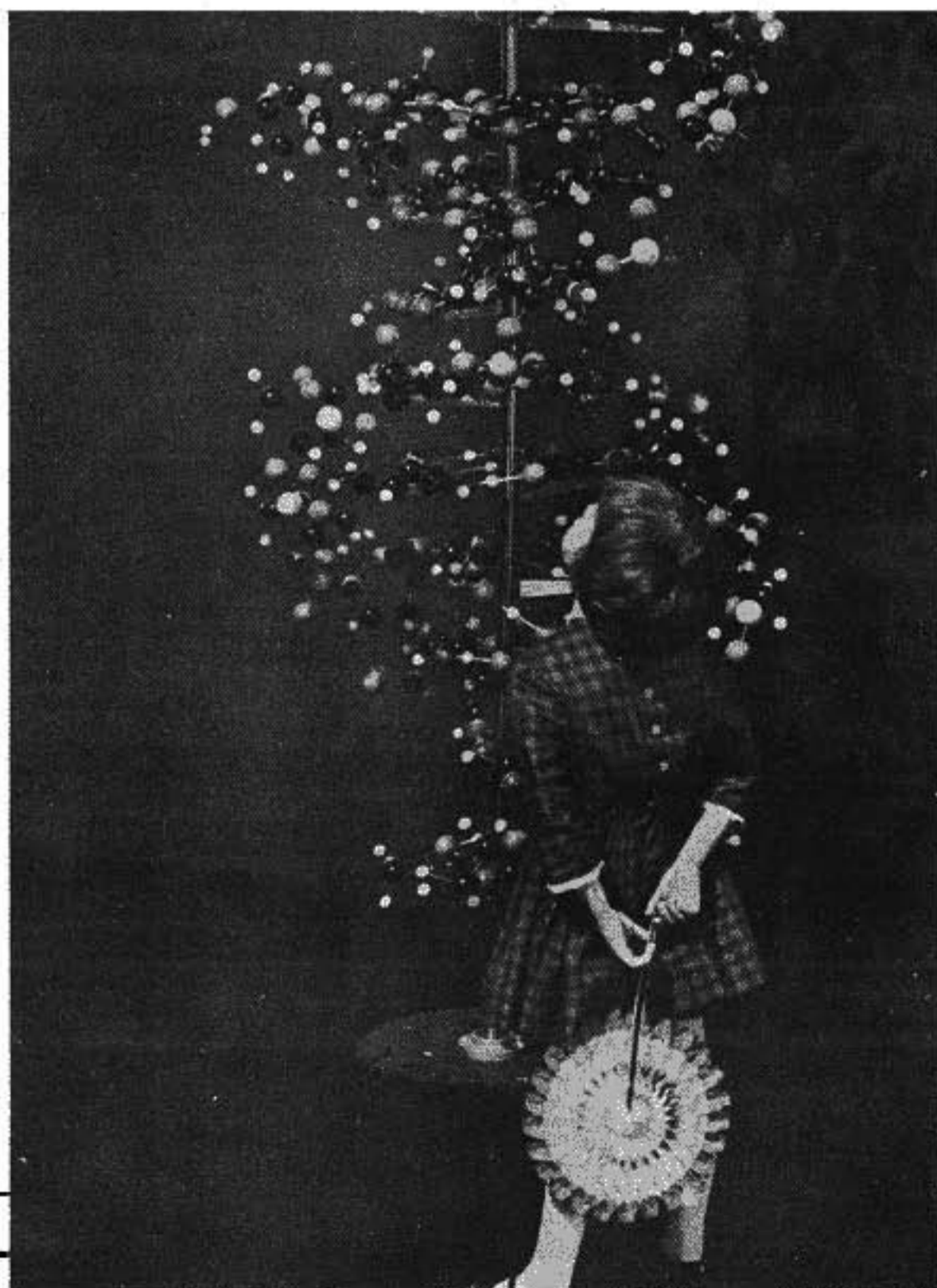
A partir del libro de H.F. Judson, El Octavo día de la creación, he aquí narrada la historia de las múltiples conjeturas e intentos por descifrar la estructura del código genético.

ROSAURA RUIZ G.*

El octavo día de la creación es sobre todo una narración del surgimiento de conceptos (como gen, cistrón, codón) de una ciencia (la biología molecular); de términos (el porqué de la utilización de la palabra código en lugar de cifra o clave o la palabra degenerado para referirse a la codificación por más de un triplete para determinados aminoácidos). Es también una descripción de las personas, nos habla por ejemplo de las grandes capacidades de teorización de Jaques Monod y Francis Crick, (sin lugar a dudas los teóricos más destacados en la biología molecular), del rechazo de este último por la experimentación, de la prodigiosa capacidad de Francois Jacob para planear los experimentos necesarios para encontrar evidencias a una concepción, de la petulancia aunada a la creatividad de James Watson, de la genialidad de Linus Pauling.

Da cuenta también de la mezquindad que a veces se genera en esta área donde se han presentado las más recientes y más intensas competencias científicas; por ejemplo la emoción que sintió Watson cuando demostró los errores del modelo de triple hélice que Pauling propuso, el cual, además de no explicar nada, tenía errores de química básica en cuanto a la estructura del ADN: "los enlaces de

* Departamento de Biología,
Facultad de Ciencias, UNAM



hidrógeno que sostenían la triple hélice de Pauling desde el mollo eran un sin sentido químico. Querían que los grupos de fosfato llevaran hidrógeno suplementario para hacer conexiones P-O... H-O-P, cancelando las cargas eléctricas locales, al punto de que el ácido nucleico de Pauling, en cierto sentido, no era ningún ácido". Esta demostración provocó en Watson el placer de que "un gigante se hubiera olvidado de la química escolar elemental".

A las feministas les interesará saber que en este libro se mencionan también las situaciones desventajosas que las mujeres, particularmente en Estados Unidos, aunque no tanto en Francia, padecieron al escoger como área de trabajo la bioquímica o la biología molecular, como los casos de Rosalind Franklin y Barbara MacClintock. A pesar de no ser propiamente un análisis al estilo de alguna escuela epistemológica, menciona determinadas circunstancias que favorecieron el rápido avance de la biología molecular, entre ellos el impacto que tuvo la lectura del libro de Schrodinger *What is life?* en las mentes de varios físicos entre ellos Wilkins, Delbruck, Benzer y Crick, quienes se convencieron de que los seres vivos podían ser explicados en términos que no contradijeran o superaran los lujos físicos e introdujeron a la biología métodos propios de la física. Igual convencimiento llevó a Monod a la biología aún antes de leer a Schrodinger.

Hay fundamentalmente tres cuestiones que trata este libro: la elucidación de la estructura y la función del material genético, el desciframiento del código genético y la solución al problema de la estructura y la función de las proteínas. En lo personal me interesó sobre todo el segundo problema, el desciframiento del código genético por el papel que el trabajo teórico-deductivo jugó en el éxito de tal empresa. De manera breve, dado que el libro tiene más de 800 páginas, con el fin de interesarlos en su lectura haré una síntesis de la forma en que se logró entender cómo se expresan los genes.

En Abril de 1953 apareció en *Nature* el artículo en el que Watson y Crick, polemizando con Pauling, presentan su modelo de doble hélice para el ADN. En mayo del mismo año apareció el segundo artículo de estos autores, en el que analizan la significación biológica de la estructura del ADN y plantean que "la secuencia precisa de las bases es el código que lleva la información genética". George Gamow, físico teórico de Washington, D. C., famoso por haber propuesto el Big Bang, (el estallido primordial, la teoría de la bola ardiente primigenia para el origen del universo) lee ambos artículos. Gamow también conocía ya los últi-



Linus Pauling en una manifestación antinuclear

mos resultados de Frederik Sanger sobre la secuencia de aminoácidos de la insulina bovina (primera secuencia conocida). De manera sorprendente Gamow relacionó las dos cuestiones y sugirió un esquema para explicar cómo la secuencia de bases púricas y pirimídicas del ADN podía ordenar directa y físicamente la estructura secuencial de las proteínas y se los envió a Watson y Crick. Crick relata que el esquema de Gamow fue decisivo porque lo obligó a pensar en el problema de la codificación.

Si los genes eran ADN, escribía Gamow, y el ADN era un par de cadenas juntas, formadas por sólo cuatro clases de nucleótidos y unidos por las bases apareadas, entonces todas las propiedades hereditarias de cualquier organismo vivo pueden ser caracterizadas por un largo número escrito en un sistema de cuatro dígitos que contiene muchos miles de dígitos consecutivos. Como había 20 aminoácidos, o algunos más, que se encontraban comúnmente en las proteínas, la cuestión era buscar cómo esos largos números basados en cuatro eran traducidos a esas palabras basadas en veinte.

Gamow infirió directamente de la estructura del ADN (no se conocía el ARN mensajero) la clave: sugirió que las combinaciones de las bases formaban agujeros de diferentes formas en los que encajarían específicamente determinados aminoácidos. El esquema de Gamow tenía fallas evidentes, no conocía en absoluto los datos que manifestaron la participación de ARN en la síntesis de proteínas, ni siquiera los testimonios de que éstas eran fabricadas en el citoplasma. Cuestiones que se desprendían de investigaciones de Brachet (1942) y

Caspersson (1940) donde mostraron que la síntesis de proteínas iba siempre asociada a abundancia de ARN y que éste estaba localizado en el citoplasma, mientras que el ADN estaba confinado al núcleo celular.

Los resultados de Brachet demostraron que los gránulos de ribonucleoproteína son estructuras preexistentes en la célula viviente, dentro de la cual ejercen importantes funciones fisiológicas. "Cuando se aíslan gránulos de eritrocitos, resulta que contienen una pequeña cantidad de hemoglobina, los gránulos pancreáticos contienen insulina. Estos hechos apuntan a la siguiente hipótesis: los gránulos de ribonucleoproteína bien pudieran ser los agentes de la síntesis de proteína en las células".

Monod señaló después que "no se hubiera podido pensar en serio en el código genético mientras no se reveló, por principio de cuentas, que una proteína es sin lugar a dudas un polipéptido y que los aminoácidos en verdad están dispuestos en una sucesión genéticamente determinada, constante y definida — sucesión (esto es lo más importante) sin ninguna regla por la cual pudiera determinarse a sí misma. O sea que debe haber un código, esto es, instrucciones completas expresadas de alguna manera que ordenen como existir". Recordemos, agregó Monod, que por aquellos días los bioquímicos conjeturaban que había reglas generales de armado, que un polipéptido estaba hecho de una sucesión repetitiva de aminoácidos, por ejemplo: lisina, ácido aspártico, glutamina, treonina, repetidos cuantas veces se quiera. Aquello hubiera sido una regla química

como la de los azúcares que forman los polisacáridos.

El descubrimiento de Sanger revelaba una secuencia que carecía de regla, que estaba llena de información, en ningún lugar redundante, en ninguna parte predecible a partir de otros lugares. De ahí la necesidad de un código, pues ya era evidente que las proteínas no se determinan a sí mismas. Antes de la solución final se presentaron otras hipótesis alternativas. Entre ellas la de Sir Cril Hinshelwood, de Oxford: "En la síntesis de proteína, el ácido nucleico, por un proceso análogo a la cristalización, guía el orden en el que varios aminoácidos son depositados, en la formación de ácidos nucleicos sucede lo contrario".

Dounce planteó en 1952 que el ARN debiera ser el molde para las proteínas y el ADN el molde del ARN. Señaló de manera rotunda que el orden de los aminoácidos en cada proteína específica deriva del orden de los nucleótidos en el ADN. Dounce fue el primero en plantear que el código debería ser de tripletes.

Estos planteamientos teóricos requerían de evidencia experimental. A principio de la década de los 50 muchos bioquímicos y biólogos moleculares trataban de lograr la síntesis de proteínas fuera de la célula. El grupo de Paul Zamenich, del *Massachusetts General Hospital*, tuvo la idea de poner varias combinaciones de componentes y 27 jugos celulares en ausencia de células vivas, y entonces agregar aminoácidos marcados para ver cuál mezcla formaba proteínas. Pasaron a la historia porque lo lograron con sus experimentos en hígado de rata fresco, picado y homogeneizado.

Rosalind Franklin en 1950, antes de que iniciara su trabajo con ADN



Después de centrifugarlo les quedaba un líquido que contenía núcleos, fragmentos de retículo endoplasmático y de otras estructuras celulares, ADN, ARN, abundantes enzimas y sustancias desconocidas. Esta mezcla podía separarse en otras fracciones ultracentrifugando una o más veces a velocidades muy grandes. Podían recombinarse fracciones escogidas. Podían suministrarse aminoácidos en diferentes combinaciones. Podían ser destruidos el ARN o el ADN por adición de enzimas adecuadas. Era entonces posible introducir ácidos nucleicos de procedencia y carácter conocidos. Los efectos eran seguidos con gran detalle cuando una u otra sustancia estaba marcada con isótopos radiactivos.

Beymour Benzer del grupo del fago, junto con Luria y Delbruck fue quien inventó lo que debía ser el camino más directo para entrar en la relación entre gen y proteína: hágase el mapa del gen, determinense las secuencias de las proteínas correspondientes de los mutantes para averiguar en que aminoácidos difieren, y compárense. De esta forma demostraría la colinealidad entre proteínas y ácidos nucleicos. Benzer llevó así el mendelismo a nivel molecular logrando su objetivo con el bacteriófago llamado T2, perteneciente al conjunto de fagos rII (recordemos que fue quien elaboró los conceptos de gen como cistrón, recón y mutón).

De manera por completo teórica, sin ninguna evidencia experimental, Crick (más o menos en 1954) concibió que tenía que haber un género de molécula pequeña que tuviese dos puntas. Una se vincularía a un aminoácido específico y la otra se acoplaría al ácido nucleico. Así separaba el problema de la captación de aminoácidos del de su ordenación. Brenner propuso que se llamara adaptador a esta molécula. Se demostró posteriormente su existencia y se reconoció que se trataba de ARN. En el laboratorio de Zamecnik se descubrió que, en efecto, era el transportador de aminoácidos, y Benzer y Limpmann probaron que era el ARN quien hallaba el lugar que le correspondía al aminoácido en la proteína.

Dos veces más, escribe Judson, se consumaron proezas intelectuales análogas: postular por necesidad teórica una nueva entidad bioquímica. La siguiente vez fue cuando Jacob salió del callejón ciego genético que requería la existencia de la molécula del represor y la última, cuando las ideas de Jacob y Monod chocaron con las de Crick y Brenner y fue convocada la molécula del mensajero.

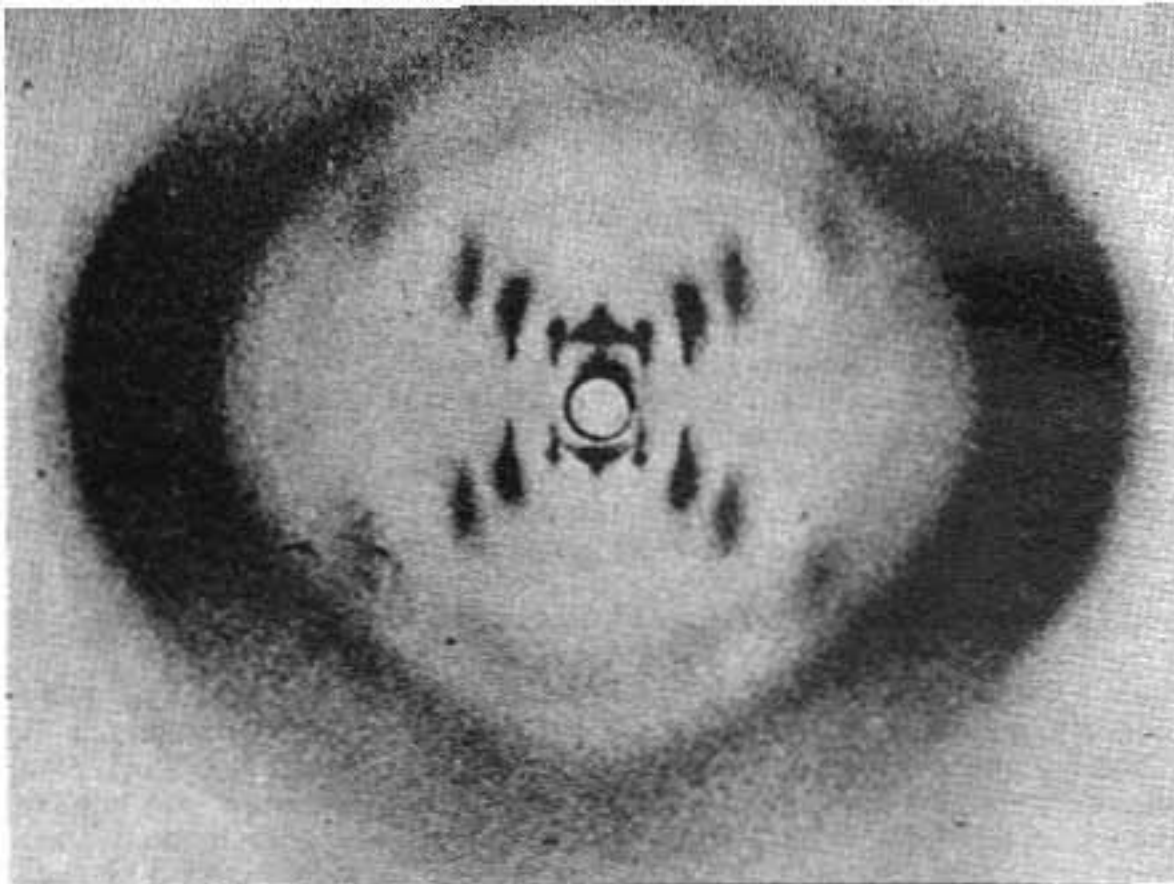
Los últimos años de la década de los 60, Jacob y Monod anunciaron la teoría de la regulación del gen: una molécula que llamaban "represor", bloqueaba el

ADN impidiendo al gen ser leído hasta que la necesidad de la célula, por la proteína particular inscrita en el gen, hacía que el represor fuese desactivado y se elaborara el mensajero. El mismo Crick se manchó las manos en el laboratorio, escribe Judson y realizó algunos experimentos con Brenner y el bacteriófago, a fin de mostrar que el código genético era leído en grupos de tres nucleótidos sin traslapamiento, especificando cada triplete un aminoácido de la cadena polipeptídica.

Un famoso experimento proporcionó la solución a dos grandes problemas. Se trata del experimento *PaJaMo* (Pardec, Jacob, Monod) que tuvo gran impacto en París, donde fue realizado, y fuera de Francia. En París enderezó la lógica de la regulación de la síntesis de enzimas que Monod venía investigando y llevó a una teoría general del represor y de grupos de genes controlados en conjunto, que se llamarían el operón: "La hipótesis del operador implica que entre el gen clásico, unidad independiente de función bioquímica, y el cromosoma entero, existe una organización genética intermedia. Esta comprende unidades coordinadas de expresión (operones) constituidas por un operador y el grupo de genes estructurales coordinados por éste" (Jacob y Monod, 1960.)

Más allá de la fronteras, el experimento *PaJaMo* acabó con el freno a la comprensión de Crick y Brenner, de cómo la información de la serie de bases del ADN llegaba a expresarse en forma de una secuencia de aminoácidos en proteínas conduciendo así a la teoría del mensajero y a la solución del problema de la codificación.

El experimento *PaJaMo* reunió varias técnicas recién descubiertas: la recombinación de bacterias a través de la cual una bacteria macho o donadora pasa una copia de un material genético a una bacteria hembra, junto con el material genético bacteriano, solos pueden transferirse aunque también los genes del fago, que entonces constituyen un profago. Incluía también la técnica de un experimento de curioso y explicativo nombre: el *coitus interruptus*, a través de la cual era posible controlar la parte de cromosoma donado, de acuerdo al tiempo en que el apareamiento fuese permitido. La penetración génica provocaba el inicio de la síntesis de una enzima que no poseía la hembra: la B galactosidasa. La síntesis se iniciaba tres minutos después de introducido el gene, lo cual hablaba de una imposibilidad de construcción de ribosomas *ex profeso* en tan poco tiempo. Entonces, la síntesis de proteínas se realiza en el citoplasma, específicamente en los ribosomas, pero requiere del control



Fotografía de ADN através de rayos X

genético ¿Cómo explicar la relación entre ambos fenómenos?

Jacob, Monod y Pardee pensaron que el ADN producía un portador intermedio de información (tal vez un ARN distinto del ribosomal).

Fue durante esta época (1957) que la idea es resumida y propuesta por Crick como el dogma central: el ADN hace ARN que a su vez hace proteína (entonces Crick se refería al ARN de los ribosomas). En torno a este punto Monod señaló que la biología molecular ha probado, más allá de toda duda, la completa independencia de la información genética con respecto a acontecimientos ocurridos fuera de la célula y hasta dentro de ella. Por la estructura misma del código y el modo como es transcrito, ninguna información del exterior, de ningún género, puede penetrar jamás en el mensaje genético heredable. Crick recordaba después que el nombre de dogma surgió porque para él, un completo ignorante en cuestiones religiosas, un dogma es algo sobre lo que sabe muy poco.

El experimento siguiente pareció obvio, si los ribosomas son estables, una vez que han recibido la información del gen para hacer la enzima, podrían seguir produciéndola aun si el ADN es destruido.

Las pruebas fueron realizadas en Berkeley por Pardee y Mónica Riley. Consistió en eliminar de la célula el gen Z+ (para la B galactosidasa) después de haber empezado a funcionar.

Cultivaron las bacterias en un caldo en el que el fósforo disponible era radioactivo (^{32}P). Se mezclaron con bacterias receptoras (hembras) y la cepa de machos transfirió el gen Z+ diez minutos después de empezar la conjugación.

Al desintegrarse el ^{32}P se destruyeron los genes Z+, entonces se observó que la producción de B galactosidasa disminuía

paulatinamente. Esto les indicó que la inactivación del gen abolió en el acto la síntesis de proteína. Quedaban descartados los ribosomas como agentes intermedios entre el gen y su proteína. Era necesaria la acción continua del gen *m*, ya fuese directamente o pasando por un intermediario inestable, que por serlo, habría de ser renovado de continuo.

Unos años antes (1956) Elliot Uolkin y Lazarus Astrachan, en Tennessee, descubrieron ese tipo de ARN que se renovaba rápidamente. No en ARN ribosómico sino en ARN de transferencia. Entrevistado recientemente por Judson, Crick opinó que Uolkin y Astrachan habían llegado al ARNm sin darse cuenta. Igual que los de París.

Crick relacionó el experimento *Pa-JaMo* y el de Uolkin Astrachan y concluyó que los ribosomas son dispositivos de lectura que no tienen nada que ver con el mensaje: al portador del mensaje le llamó ARN genético. Fue la primera idea firme de la existencia del ARN mensajero.

Jacob por su parte empezó a idear los experimentos que probarían la existencia de una molécula encargada de la información genética para la síntesis de determinada proteína y que fuese destruida al tiempo de la síntesis de proteína: los experimentos por fago. Se trataba de ver si después de la infección, a nuevos ribosomas iba nuevo ARN, o si — como sostenía la nueva teoría — no había tales ribosomas nuevos y los preexistentes estaban disponibles para recibir el mensaje. Para distinguir entre nuevos y viejos ribosomas marcarían éstos con isótopos radiactivos (paradójicamente el ^{13}C que utilizaron fue una donación que Pauling consiguió de la Academia de Ciencias de la URSS, controlada todavía por el enemigo número uno de la genética: Lissenko).

Los resultados son obvios hoy: encontraron sólo ribosomas marcados y nuevo ARN.

Watson también entró a la carrera, acaloradamente competitivo, a decir de Judson. Watson y Francois Gros, en Harvard, mostraron que las bacterias no infectadas contenían un ARN transitorio que aparentemente se comportaba como el ARN nuevo formado después de la infección por un fago.

En el otoño de ese año (1960) Jacob y Monod bautizaron ARN mensajero al inestable intermediario portador de información entre gen y proteína. Casi al mismo tiempo (diciembre de 1960) publicaron su teoría del operón.

Simultáneamente tuvieron lugar otros avances teóricos y técnicos que condujeron a la clarificación del código genético. Leon Heppel y Mary Singer elaboraron moléculas sintéticas de ARN formadas por un sólo tipo de base: poli-uracilo, poli-citocina y poli UC.

Como ya se dijo Zamenick logró síntesis de proteínas en sistemas libres de células. La meta siguiente era introducir a esos sistemas información genética conocida y obtener la proteína específica. Con estos intentos no lograron gran cosa hasta que llegó Heinrich Matthaei: "sabíamos de antemano que íbamos a hacer una prueba de ARN mensajero".

En 1961 Matthaei y Marshall Nirenberg agregaron a los ingredientes antes mencionados, ribonucleasa para provocar destrucción del ARN; con ello la producción de proteína se detenía en seco. Cuando ponían desoxirribonucleasa la síntesis de proteína no era inhibida instantáneamente, decaía rotundamente después de unos treinta minutos.

Matthaei tenía dos tubos en los que puso poli-U, dos para poli-A, el poli-AU y dos para poli-A. El poli-U produjo una fibra artificial compuesta por entero de fenilalanina, se encontró así la primera palabra del código. Después con poli-citocina se obtuvo poli-prolina.

Nirenberg presentó los resultados de sus experimentos junto con Matthaei ante el 5o. Congreso Internacional de Bioquímica (agosto de 1961). Nadie que lo oyera aquel día en Moscú, escribe Judson, recordaría ya las dos cuidadosas pruebas con las que Avery demostró que el principio transformador de los neumococos, la base material de la herencia, era el ADN. Los hombres de ciencia, medita Judson, suelen considerar que interesarse en la historia de un asunto es síntoma de actitudes declinantes.

Al enterarse de estos descubrimientos, Crick decidió participar también en la investigación experimental. Trabajó con Brenner en mutaciones producidas por colorantes acridínicos. En-

contró que las mutaciones que provocan la adición o la supresión de una base desplazaban la lectura de la sucesión siguiente de nucleótidos, de suerte que eran introducidos diferentes aminoácidos. Encontró también que una tercera mutación, una tercera base añadida o una tercera delección podían combinarse con los dos primeros para devolver la lectura al marco correcto. La interpretación surgió de inmediato: el código genético era de tripletes y el mensajero se leía desde un punto de partida fijo. Brenner llamó al triplete codón, recordando los términos de Benzer (cistrón, recón y mutón). Crick, Brenner y Barnett publicaron la confirmación de lo que se sabía en teoría: A) Un grupo de tres bases codifica un aminoácido. B) No hay traslapamiento. C) La secuencia de bases es leída desde un punto de partida fijo. D) El código es "degenerado".

Cinco años tardó en completarse el conocimiento del resto del código genético. Con las técnicas de Nirenberg, Matthaei, Severo Ochoa y Har Gobind Kho-

rana, se dió razón de los veinte aminoácidos, la leucina y la arginina tenían cada una seis codones sinónimos diferentes; los demás iban teniendo menos, hasta llegar a la metionina y el triptofano cada uno con un sólo codón. A tres codones —los tripletes UAA, UAG y UGA, no les tocaban aminoácidos. Garen, Brenner y Crick demostraron que eran codones sin sentido, cuya función es señalar el fin de la cadena polipeptídica.

Como antes comenté, en la elucidación del código genético tuvieron un papel fundamental las aproximaciones teóricas. No es que sea un caso especial, es sólo que en él quedó manifiesto, por la relativa separación de los momentos de especulación científica, el planteamiento de conjeturas para explicar los fenómenos biológicos. Este último es un punto esencial, pues el científico no puede limitarse a describir los fenómenos, tiene que intentar explicaciones, teorías. Este caso, al igual que muchos otros, proporciona evidencias en contra de los planteamientos; inductivistas y empiristas que

sostiene el continuismo; lo que quiero decir es que la investigación científica se inició con una concepción teórica previa, nunca con la mente en blanco, los experimentos tienen su valor fundamental en la verificación o refutación de las teorías, pero ya lo ha escrito Canguilhem, las teorías no surgen directamente de la observación o de la experimentación, las teorías sólo pueden contrastarse empíricamente después que han sido formuladas.

Esta concepción del método científico nos lleva a otra cuestión de gran importancia, la realidad es interpretada por el científico, los datos son construcciones epistemológicas, no son algo que este ahí y que el científico pueda tomar directamente. En efecto, el ADN tiene una existencia objetiva independiente del sujeto que lo estudia, pero su verdadera estructura es inferida, no directamente observada. Repito, el resultado de las inferencias conducidas por observaciones y experimentos es una construcción epistemológica: el modelo de doble hélice. ⊕

