

73
2ej.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**



FACULTAD DE CIENCIAS

**FRANCIS CRICK,
TEORICO DE LA BIOLOGIA MOLECULAR**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A :

PAULA GONZALEZ TREVIÑO

DIRECTORA M. EN C. ESTER MA. SUAREZ

000210343

MEXICO, D. F.



FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR

1994
BIBLIOTECA
INSTITUTO DE ECOLOGIA
UNAM



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CIUDAD UNIVERSITARIA



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
División de Estudios
Profesionales
Exp. Núm. 55

M. EN C. VIRGINIA ABRIN BATULE
Jefe de la División de Estudios Profesionales
Universidad Nacional Autónoma de México.
P r e s e n t e .

Por medio de la presente, nos permitimos informar a Usted, que habiendo
revisado el trabajo de tesis que realiz^ó la pasante Paula
González Treviño
con número de cuenta 9052223-5 con el título: Francis Crick, Teórico de la Biología Molecular

Consideramos que reúne los méritos necesarios para que pueda conti-
nuar el trámite de su Examen Profesional para obtener el título de Biólogo.

GRADO NOMBRE Y APELLIDOS COMPLETOS

FIRMA

M. en C. Edna María Suárez Díaz

Edna M. Suárez Díaz

Director de Tesis
Dr. Alfonso Miguel Torre Blanco

Dra. Ana Rosa Barahona Echeverría

Ana Rosa Barahona Echeverría

Dr. Sergio Fernando Martínez Muñoz

Sergio F. Martínez Muñoz

Suplente
Dr. Jaime Martínez Medellín

Jaime Martínez Medellín

Suplente

Ciudad Universitaria, D.F., a 17 de agosto

de 1994.

INDICE

Introducción

Capítulo 1. Francis Crick y la Biología Molecular

- 1.1 Datos biográficos
- 1.2 Cambio hacia la biología
- 1.3 Situación de la biología molecular a fines de los años 40
 - 1.3.1 La Escuela Informacional
 - 1.3.2 La Escuela Estructural
- 1.4 Llegada al Cavendish
- 1.5 Trabajo con James Watson
- 1.6 25 de abril de 1953
- 1.7 Después de la doble hélice
 - 1.7.1 Trabajo con Sydney Brenner
 - 1.7.2 "Club de la Corbata del ARN"
- 1.8 Vida en E.U.
 - 1.8.1 Ideas sobre el origen de la vida
 - 1.8.2 Trabajo sobre la conciencia

Capítulo 2. Teorías del Código Genético en los años 50

- 2.1 Reacciones ante la estructura del ADN
- 2.2 Aproximaciones teóricas al problema del código genético
 - 2.2.1 El trabajo de G. Gamow
 - 2.2.2 El grupo de F. Crick
 - 2.2.2 a La Hipótesis del Adaptador
 - 2.2.2 b Códigos sin comas
 - 2.2.2 c Naturaleza del código genético
- 2.3 El no solapamiento del código

- 2.4 Comienzo de la lectura en un punto fijo y tripletes con sentido
- 2.5 Sistemas *in vitro*
- 2.6 Representación del código genético
- 2.7 Comprobación del código
- 2.8 Dirección del código
- 2.9 El ARN mensajero
- 2.10 La Hipótesis del Bamboleo

Capítulo 3. El papel teórico de Francis Crick

- 3.1 La teoría en la investigación científica
- 3.2 Papel del experimento en la investigación científica
- 3.3 El investigador teórico: Francis Crick
- 3.4 Ejemplos de la labor teórica de Crick
 - 3.4.1 El adaptador
 - 3.4.2 Un código sin comas
 - 3.4.3 Sobre la síntesis de proteínas
 - 3.4.4 La naturaleza del código genético
 - 3.4.5 El bamboleo
 - 3.4.6 Una visión general
- 3.5 Desempeño del trabajo teórico sobre el código genético

Conclusiones

Bibliografía

INTRODUCCION

“Lo que hace que la gente realmente aprecie la conexión entre dos áreas diferentes es algún resultado nuevo y notable que las conecta obviamente y de una manera dramática. Un buen ejemplo vale lo que una tonelada de argumentos teóricos.”

Francis Crick, 1988

Desde sus inicios la biología se ha construido a base de teorías y experimentos. En este trabajo pretendo analizar una figura importante en el desarrollo de esta ciencia, especialmente por sus aportaciones teóricas, y examinar su trabajo con el fin de comprender mejor la manera en que se obtienen los conocimientos al seguir el programa de investigación que ha utilizado y la estrategia que siguió para conocer entidades y mecanismos biológicos.

Para este propósito he escogido a Francis Harry Compton Crick quien, en 1953, junto con James Watson, propuso la estructura doble helicoidal del material hereditario, lo que constituye una de las aportaciones más importantes a la biología de este siglo. Francis Crick es conocido principalmente por esta época de su vida como científico, sin embargo, desde entonces hasta hoy ha tenido una carrera excepcional de investigación, pues, como se verá en este trabajo, aportó nociones muy importantes a la biología molecular.

El surgimiento de la biología molecular constituyó una revolución dentro de la biología ya que representaba la unión exitosa de diversas disciplinas que se encontraban aisladas y porque ofrecía un campo de investigación interesante, totalmente nuevo.

F. Crick fue un personaje de vital importancia dentro del desarrollo de esta área de la biología. Además de su participación en el descubrimiento de la estructura del ADN, aportó conocimientos relevantes para la dilucidación del código genético, cuyo efecto se vio reflejado en el estudio y comprensión de la genética y la síntesis de proteínas. Su gran interés por comprender el concepto de información,

intrínseco del ADN y las proteínas, se vio saciado al dilucidar el código genético, al comprender la relación entre su estructura y función, y al conocer el alto grado de orden y especificidad que comprenden.

Su aprendizaje de la biología fue en gran parte autodidacta. En un principio estudió a fondo la cristalografía de rayos X, así como química, bioquímica y biofísica. Todas estas áreas eran necesarias para llevar a cabo la investigación que le permitiría comprender la estructura del gen que le resultaba tan interesante.

Cuando, en 1947 Crick comenzó a realizar investigación en biología, no se imaginó que una gran parte de lo que le interesaba conocer se habría respondido durante su vida. Pensaba que sus ambiciones intelectuales ocuparían todo el tiempo que trabajara como científico, pero muchas de ellas se aclararon en ese tiempo. (Por supuesto que había muchos detalles por resolver aún, pero para 1966 las bases de la biología molecular estaban descritas firmemente para ser utilizadas para la posterior aclaración de los detalles.)

Crick se mantuvo siempre bien informado sobre las investigaciones que se llevaban a cabo en el mundo de la ciencia y, con una visión panorámica, aportó guías básicas para la investigación del código genético. Por su gran conocimiento de la biología molecular, su capacidad de simplificar los problemas y verlos como unidades, sin perderse en los detalles, Crick es considerado una importante figura teórica en biología. Al analizar su carrera, su manera de abordar los problemas biológicos y su personalidad, podemos aprender mucho acerca de la estructura de pensamiento en la investigación biológica.

Francis Crick es un teórico de la biología. La frase que se ha escuchado tanto: *Francis Crick, teórico de la biología molecular*, tiene algo de místico y algo de verdad. Si bien, al calificarlo de teórico se tiende a dejar fuera su trabajo experimental, es indudable que la "parte teórica" de Crick pesa sobre la idea que tenemos de él. El propósito fundamental de esta tesis es comprender el significado de esta frase y qué tan adecuadamente describe la labor de Crick.

Como estudiantes de biología, muchas veces recibimos el conocimiento como si fuese una verdad que siempre se ha sabido, o que "es" de cierta manera, sin dar mucha importancia a la historia de los acontecimientos que llevaron a obtener dicho conocimiento. Al estudiar la historia de la biología, nos damos cuenta de la manera en que se llega a producir la ciencia que leemos en un libro de texto.

Gracias a la historia, podemos darnos cuenta del tipo de investigaciones que se llevaron a cabo para obtener cierto conocimiento. En ocasiones éste se buscó específicamente, y en otras se llegó a él sin tenerlo como finalidad, simplemente siguiendo el curso de la investigación; por último, también en ocasiones los científicos no supieron qué era lo que habían encontrado. Con este trabajo se busca también comprender mejor el papel de la teoría en las investigaciones sobre el código genético.

Me centraré particularmente en las investigaciones de Francis Crick sobre el código genético. A partir del análisis, en su mayor parte de tipo teórico, de la información disponible, F. Crick logró sintetizar las ideas que se tenían y proponer hipótesis muy interesantes e importantes en biología.

En este trabajo se trata también la importancia que tuvo la interacción (y la falta de ella) entre las diferentes áreas y grupos de investigación. Algunas veces en diversos grupos se llevó a cabo la investigación sobre el mismo tema al mismo tiempo, sin que los científicos estuvieran al tanto de ello.

Las diferentes líneas de investigación sobre el código genético se encontraron en esta situación, dándose cuenta del trabajo del otro cuando ya no podía ser útil. Algunas propuestas "teóricas" de Crick, por ejemplo, se encuentran en este caso.

En este trabajo se intenta resaltar la "mutua dependencia" del trabajo teórico y el experimental, así como su mutuo intercambio e influencia. Se ejemplifica el papel de la teoría en biología y muy particularmente, en la dilucidación del código genético.

La realización de este trabajo está basada en fuentes primarias como artículos de investigación, autobiográficos, etc., así como en literatura

histórica secundaria sobre las investigaciones que se llevaron a cabo después de 1953 sobre el descubrimiento del código genético.

El primer capítulo trata sobre la educación, los intereses y los grupos de trabajo de Francis Crick, desde que entró a formar parte de la comunidad científica hasta el presente. Se analizan asimismo aspectos de su personalidad que pueden ayudar a comprender su manera de llevar a cabo una investigación. Por último se presenta la situación de la biología molecular en el tiempo en que Crick entró a formar parte de ella y se analiza brevemente la importante colaboración de Crick con S. Brenner en los trabajos sobre el código genético.

En el segundo capítulo expongo las pruebas, las teorías y los resultados más importantes del trabajo de Crick sobre las propiedades del código genético. Analizo las postulaciones de Crick del ARN de transferencia, al que llamó el "adaptador" y del "Dogma Central". Trato el código genético desde que se concibió su existencia hasta su dilucidación, tanto por las aportaciones de Crick como las de muchos investigadores que tuvieron que ver con la aclaración del código.

En el último capítulo analizo el papel de Francis Crick como teórico de la biología molecular. Analizo sus propuestas teóricas y sus contribuciones a la solución del código genético y, en general, intento dar respuesta a la pregunta ¿Qué quiere decir ser un "teórico de la biología molecular"? En este capítulo se muestra, con ejemplos concretos que, efectivamente, Francis Crick es un teórico de la biología molecular.

CAPITULO 1 Francis Crick y la Biología Molecular

1.1 Datos biográficos.

Francis Harry Compton Crick nació en Northampton, Northampshire, en Gran Bretaña, el 8 de junio de 1916. Sus padres, Anne Elizabeth Wilkins de Crick y Harry Crick, ni asistieron a la universidad ni tuvieron una educación en ciencias, pero procuraron siempre que sus hijos obtuvieran una buena preparación.

Pertenecía a una familia de clase media, cristiana, pero desde joven Crick abandonó la religión convirtiéndose en un escéptico con una gran inclinación hacia el ateísmo, con interés de terminar con el vitalismo persistente. Le resultaba de suma importancia encontrar el lugar del hombre en el universo y eliminar creencias obsoletas. Asimismo le parecía sumamente importante identificar las áreas del conocimiento que aún no habían sido explicadas y trabajar para lograr su comprensión científica, ya fuera que dichas explicaciones confirmaran las creencias religiosas existentes o las refutaran (Crick, 1988).

Asistió a la escuela Northampton Grammar School y a la edad de 14 años obtuvo una beca para estudiar en la Mill Hill School donde fue un alumno destacado en matemáticas, física y química. Disfrutaba enormemente sus clases de física, y desde muy joven tuvo un gran interés por las matemáticas y, mucho más adelante, cuando leyó el libro *General Chemistry* (Química General) de Linnus Pauling, quedó cautivado por la materia.

En 1934, a los 18 años, ingresó al University College en Londres en donde estudió física. A los 21 años obtuvo honores en física y matemáticas. En 1937, habiendo obtenido su título en Ciencias, comenzó su trabajo de investigación con el profesor Edward Neville da Costa Andrade, con quien estudiaba sin gran interés problemas sobre la viscosidad del agua. Su trabajo se centraba en la construcción de una vasija esférica de cobre, sellable, que contuviera el agua y con un cuello que permitiera su

expansión. Crick trabajaba con un excelente grupo de personas del laboratorio y, a pesar de lo aburrido que pudiera resultarle el problema intelectualmente, disfrutó la construcción del aparato, pues al menos estaba haciendo algo después de tantos años de aprendizaje. Según Crick, la experiencia que aquí obtuvo le sirvió más adelante en su trabajo de diseño de minas explosivas. Indirectamente, adquirió la idea del trabajo de un físico, y encontró a la física como una disciplina exitosa y promisoría.

Logró sostenerse en esta universidad gracias al apoyo financiero de su tío Arthur Crick, e inició su investigación como estudiante de doctorado en el Gonville and Caius College. Según él mismo, su conocimiento de la física entonces se centraba en lo que hoy se conoce como física histórica.

En septiembre de 1939, con el comienzo de la 2a Guerra Mundial, el departamento de la universidad en el cual se encontraba fue evacuado a Gales; la escuela se convirtió temporalmente en hospital de emergencias, y Crick prácticamente abandonó sus estudios de doctorado. Según él mismo, permanecía en su casa y ocupaba su tiempo aprendiendo a jugar squash con su hermano menor, Tony Crick, quien entonces era estudiante de medicina.

En 1940 consiguió un trabajo en el Almirantazgo Británico, lo que le permitió casarse con Ruth Doreen Dodd, su primera esposa, con quien en ese mismo año tuvo un hijo, Michael Crick. Después del Laboratorio de Investigación del Almirantazgo, fue transferido al Laboratorio Nacional de Física, en Teddington, un suburbio del sur de Londres, y más adelante al Departamento de Diseño de Minas en la costa sur de Inglaterra.

Durante la mayor parte de la guerra, trabajó en el diseño de minas magnéticas y acústicas inicialmente bajo la dirección del renombrado físico teórico H.S.W. Massey. Dichas minas eran lanzadas por aviones en canales navegables de aguas relativamente poco profundas del Mar Báltico y del Mar del Norte. Allí esperaban secretamente en el fondo del mar hasta que detonaban al paso de un barco enemigo.

El propósito del diseño de sus circuitos era hacerlos capaces de distinguir los campos magnéticos y los sonidos producidos al paso de un

barco. Esas minas resultaron ser cinco veces más eficaces que las estándares.

1.2 El cambio hacia la biología.

Con el fin de la guerra, Crick se preguntaba qué hacer. Se encontraba trabajando en la parte de los cuarteles del Almirantazgo llamada "La Ciudadela". Durante la guerra había sido empleado temporal, por lo que al cambiar la situación solicitó un trabajo permanente en el Almirantazgo, mismo que consiguió al cabo de dos entrevistas. En ese momento sabía que no quería seguir diseñando armas toda su vida, pero no sabía a qué dedicarse. Crick narra cómo en ese periodo se concentró en el análisis de sus aptitudes. A pesar de que llegó a la conclusión de que no había sido destacado en algo en particular, gradualmente se percató de que esto precisamente podía servirle para tener un mayor espectro de opciones, y que en lugar de ser una desventaja, esta falta de especialización sería una ventaja (Crick, 1988). Según Crick, a los treinta años, la mayoría de los científicos están demasiado involucrados en su área de trabajo, han invertido ya muchos esfuerzos en una dirección específica y por eso es difícil que les interese cambiar de área. Él en cambio, teniendo conocimientos básicos de magnetismo, hidrodinámica, matemáticas y física tradicional, no tenía este problema. Se entrevistó con el matemático Edward Collingwood, quien había sido su jefe durante la guerra, y con su amigo cercano Georg Kreisel, quien era un matemático lógico que trabajó junto con él en el Almirantazgo; escuchó sus consejos y le aseguraron que no tendría problemas como investigador. Crick estaba seguro de que prefería la investigación fundamental más que la aplicada, a pesar de que su experiencia en el Almirantazgo pareciera favorecer lo contrario.

Su siguiente paso fue definir el tema que quería estudiar. Sentía que la física era una disciplina muy exitosa y pensaba que la situación sería similar en otras ciencias. Idea que le fue muy útil al momento de decidir el cambio hacia la biología. Como ya era tarde en su carrera, invirtió varios

meses para tomar su decisión pues tenía que ser la correcta y se dedicaría a ello por muchos años (Crick, 1988).

En una ocasión se percató de que estaba hablándoles a sus colegas del Almirantazgo acerca de los avances recientes en antibióticos como la penicilina, y justo entonces se dio cuenta de que realmente sabía muy poco sobre el tema. Estaba simplemente "chismeando" sobre ciencia. Esta idea fue una revelación para Crick pues había descubierto la importancia de someter a prueba las palabras, en lo que llamó "gossip test", "la prueba del chisme": "Cada quien habla de lo que realmente le interesa" (Crick, 1988, 17).

Teniendo esto en mente, lo aplicó a sus conversaciones recientes y su campo de interés se vio más definido. Principalmente estaba centrado en dos áreas:

- a) La frontera entre lo vivo y lo no vivo (ejemplificada por estudios sobre proteínas, virus, bacterias y la estructura de los cromosomas; estudio de la biología molecular) y
- b) La forma en que trabaja el cerebro (neurobiología).

Ambos temas concernían al "misterio de la vida". Ambos tenían que ver con problemas que de cierta forma parecían estar más allá del poder explicativo de la ciencia. Aún tenía que decidir entre estas dos áreas, pero le resultó muy sencillo. Se convenció rápidamente de que sus antecedentes científicos se aplicarían más fácilmente al primer problema, la frontera entre lo vivo y lo no vivo y entonces sin ninguna duda escogió este camino (Crick, 1988).

Para entonces Crick había estudiado algo de biología, había leído a Linnus Pauling acerca de los aminoácidos que forman las proteínas, a Lord Adrian sobre temas del cerebro y el libro *What's Life?* (¿Qué es la vida?) de Erwin Schrödinger que fue otro importante estímulo para acrecentar su interés por la biología. Pero, a pesar de sus lecturas, el conocimiento que tenía sobre su nuevo tema era bastante superficial (Crick, 1988).

Estaba por decidirse cuando Hamilton Hartdridge le ofreció un trabajo en investigación sobre el ojo humano en el Medical Research Council. La oferta de un trabajo formal le pareció muy interesante, sin

embargo la rechazó pues había tomado ya una decisión para adentrarse en la biología molecular y no en neurobiología (nombres con los que hoy conocemos a estas áreas). Ahora sabía que había tomado la decisión correcta y tenía solamente una oportunidad para embarcarse en una nueva carrera; su decisión no debía verse afectada por una oferta de trabajo (Crick, 1988).

Se entrevistó con algunos conocidos, quienes le ayudaron a ponerse en contacto con investigadores que trabajaran sobre su nuevo tema de interés. Fue al University College a entrevistarse con H.S.W. Massey, físico teórico quien fuera su jefe en el Almirantazgo. Massey lo presentó a su vez con A.V. Hill, fisiólogo también del University College, que trabajaba sobre la biofísica del músculo, especialmente los aspectos térmicos de la contracción muscular. Él a su vez le consiguió a Crick una entrevista con Sir Edward Mellanby, el poderoso secretario del Medical Research Council, quien le aconsejó ir a Cambridge.

Massey también lo presentó con Maurice Wilkins, quien entonces se encontraba trabajando en el departamento de biofísica en la unidad del Kings College en Londres, bajo la dirección de John Randall. Randall había persuadido al Medical Research Council de que debía apoyar la entrada de físicos a la biología pues, así como los físicos habían tenido una gran influencia en el esfuerzo de guerra, ahora podían enfocarse en algunos de los problemas biológicos fundamentales que dictaban la base de la investigación médica. Así que esta institución contaba con recursos económicos para los biofísicos, quienes querían aplicar técnicas de la física moderna a problemas de biología, situación que definitivamente favoreció a Crick (Crick, 1988).

A pesar del entusiasmo de Wilkins, Crick no estaba totalmente convencido que éste era el camino que quería seguir. Estaba interesado en estudiar la frontera entre lo vivo y lo no vivo, y la mayor parte del trabajo que se llevaba a cabo en el King's College estaba más bien inclinada hacia lado biológico de esta frontera por lo que continuó su búsqueda de laboratorios. Le pareció que entrar a hacer investigación con John D. Bernal, cristalógrafo de rayos X, en el Birkbeck College en Londres sería

muy interesante pero su aceptación era difícil pues Bernal era un científico muy reconocido y muchos estudiantes deseaban entrar a trabajar con él. Además, de haber entrado a este laboratorio, seguramente habría tenido problemas, pues Mellanby le había advertido que si entraba a formar parte de este laboratorio, el Medical Research Council no lo respaldaría, pues querían que Crick se centrara más en técnicas de biología y biofísica.

Siguió entonces el consejo de A.V. Hill y en el otoño de 1947, a los 33 años de edad, fue a Cambridge. Allí visitó al fisiólogo Richard Keynes quien trabajaba con el movimiento de iones en el axón gigante de calamar. Se entrevistó también con el bioquímico Roy Markham, dedicado al estudio del virus del mosaico del tabaco. Ambos intentaron ayudar a Crick, pero ninguno pudo ofrecerle un puesto. Finalmente visitó el Strangeways Laboratory, encabezado por Honor Fell, donde se trabajaba con la técnica de cultivo de tejidos. Recientemente un físico que trabajaba en el laboratorio había muerto y su puesto seguía vacante. Lo invitaron a trabajar aquí y el Medical Research Council le otorgó una beca. Trabajó allí casi dos años y su estudio se centraba específicamente en las propiedades físicas del citoplasma. Arthur Hughes, investigador del laboratorio, trabajaba con fibroblastos de pollo mediante la técnica de cultivo de tejidos, y estudiaba su capacidad de fagocitar pequeños trozos de minerales magnéticos. Estas pequeñas partículas podían moverse dentro de las células, creando un campo magnético. Estos movimientos eran los que Crick analizaba y trataba de deducir algo acerca de las propiedades físicas del citoplasma a partir de ellos. Este problema no le resultaba de gran interés pero, según Crick era bueno para él, pues los temas científicos con los que estaba familiarizado eran el magnetismo y la hidrodinámica. Durante su estancia en este laboratorio escribió dos artículos científicos en la revista *Experimental Cell Research*. Como su trabajo no era tan pesado, tenía tiempo libre que utilizaba para leer y aprender sobre su nuevo tema (Crick, 1988).

Dejaremos por el momento a Crick para referirnos, en cambio, a la situación prevaleciente en el "nuevo tema" que había elegido. Más adelante regresaremos al periodo más conocido de su vida.

1.3 Situación de la biología molecular a fines de los años 40

En 1945 Erwin Schrödinger escribió el libro *¿Qué es la vida?* en el cual anunciaba una nueva época en la investigación biológica a sus compañeros físicos. El hecho de que uno de los inventores de la mecánica cuántica se preguntara qué es la vida, los confrontaba con un problema fundamental que valía la pena abordar. Muchos de estos físicos sufrían de un malestar profesional general en el periodo de posguerra y estaban ansiosos de dirigir sus esfuerzos hacia una nueva frontera que, según Schrödinger, estaba lista para ser desarrollada. Schrödinger planteaba que el problema que en realidad requería de explicación era el de la base física de la información genética. Consideraba que los genes eran responsables del orden de los organismos y que podían conservar su estructura porque el cromosoma que los portaba era un cristal aperiódico, compuesto de una sucesión de pequeños elementos isoméricos, la naturaleza exacta de la sucesión que representaba el código hereditario (Stent, 1968). Así Schrödinger había planteado en términos físicos uno de los más importantes problemas de la biología. Si consideramos exclusivamente el trabajo desarrollado por Watson y Crick en torno a la estructura del material hereditario, nos resulta útil la clasificación tradicional propuesta por Stent (1968) referente a las escuelas "fundadoras" de la biología molecular. Esta clasificación, sin embargo, ha sido constantemente criticada (Abir-Am, 1982, Suárez, 1992, Zallen, 1993).*

* A pesar de que generalmente se tiene la idea de que la biología molecular está compuesta únicamente por estas dos escuelas, al principio comprendía también ciertas ramas de la bioenergética, p.ej. fotosíntesis. Con esta idea se observa que la biología molecular surgió de una constelación más amplia de la que hoy normalmente se reconoce.

Aunque una de las áreas más fuertes en los estudios de la biología molecular ha sido la creación de programas experimentales adaptados a la comprensión de los mecanismos moleculares asociados a la herencia, la biología molecular no siempre se ha centrado en esto únicamente. Se ha propuesto que la bioenergética, estudio de la transformación de energía por los organismos vivos, se suma a estas áreas de estructura e información en el surgimiento de la biología molecular. Zallen argumenta que la fisiología vegetal cumple los "requisitos" de la biología molecular (Zallen, 1993).

Según Stent (1968), dependiendo del tema de estudio, entre los biólogos moleculares han existido principalmente dos escuelas, la de los estructuralistas y la de los informacionalistas. En general esta separación se debe a la diferencia de actitud de los fundadores de cada escuela ante la relación de la física con la biología (diferencia que engendró también una diferente actitud ante la bioquímica).

1.3.1 La escuela informacional

Esta escuela, también llamada "uni-dimensional" o "Grupo del Fago" tenía un enfoque funcional sobre la naturaleza del gen. A los miembros del Grupo del Fago los unía una meta común: el dilucidar uno de los secretos de la vida, el proceso mediante el cual el material hereditario sirve de reservorio de información autorreplicante que produce las propiedades características de cada organismo (Zallen, 1993).

Puede decirse que esta escuela comenzó con el físico Niels Bohr, quien propuso la idea de que ciertos fenómenos biológicos podrían no ser explicables en su totalidad en términos de la física convencional. Consideraba muy importante reconocer que las características fundamentalmente atomistas de las funciones de los seres vivos no eran en ningún momento suficientes para proporcionar una buena explicación de los fenómenos biológicos; que las condiciones en las que se llevaba a cabo la investigación biológica y física no eran directamente comparables (Stent, 1978). Evidentemente estas ideas de Bohr dieron por resultado que la relación de la física con la biología se encontrara en un nuevo terreno.

El físico Max Delbrück, discípulo de Bohr, pensaba que en efecto, la genética era un área de investigación biológica en la cual las explicaciones puramente físicas y químicas podrían resultar insuficientes. Pensaba que la genética era autónoma y que no debía de ser mezclada con concepciones fisicoquímicas (Stent, 1978).

Desde 1938 Delbrück trabajaba con bacteriófagos estudiando la autorreplicación y se enfocó en el problema de la herencia. El

conocimiento de las leyes de la genética le dio la idea de que era posible la existencia de leyes exactas en biología (Suárez, 1992).

La decisión de considerar a la genética como punto básico de la escuela informacionista tuvo gran importancia, ya que no existía un terreno común entre la genética por un lado, y la física y la química por el otro. Mientras que los biólogos moleculares estructurales trabajaban bajo el supuesto totalmente razonable de que la física podía hacer grandes contribuciones a la biología, algunos de los biólogos moleculares informacionales estaban motivados por la idea fantástica y muy poco convencional de que la biología podría hacer contribuciones significativas a la física (Stent, 1968).

1.3.2. La escuela estructuralista

Llamada también "tri-dimensional", tenía un enfoque estructural sobre la naturaleza del gen. Comenzó en Inglaterra con W.H. Bragg y W.L. Bragg (padre e hijo), quienes en 1912 desarrollaron la técnica de la cristalografía de rayos X para estudiar la estructura de moléculas de importancia biológica. En esta escuela se había llegado a la idea de que la función de la célula sólo podía ser comprendida en términos de la configuración tridimensional de sus elementos. A fines de los años 30 los miembros de esta escuela comenzaron a acercarse al análisis estructural de las proteínas y de los ácidos nucleicos, aportando conocimientos que resultaron muy importantes en la historia de la biología molecular (Stent, 1978).

Este grupo, con la ayuda de técnicas avanzadas de cristalografía y con el uso de computadoras que facilitaban el análisis de fotografías de rayos X, logró obtener la estructura terciaria de la hemoglobina y la mioglobina.

El grupo de Linus Pauling en Pasadena, California, tuvo el primer triunfo de biología molecular estructural en 1951 cuando propuso la alfa hélice como la estructura secundaria de las cadenas polipeptídicas. Su éxito se debió en parte a una nueva forma de determinación estructural basada en construcción de modelos y trabajo de conjeturas, diferente del enfoque de los cristalógrafos (Stent, 1978).

Gunther Stent propone que la preocupación de este grupo por la estructura (más que por la información), refleja una visión práctica de la relación de la física con la biología, es decir, que todos los fenómenos biológicos, sin importar su complejidad, podían ser descritos finalmente en términos de leyes físicas convencionales. Como el estudio de la estructura era un terreno en el cual la física podía contribuir significativamente a la biología, la decisión de enfocarse en la estructura era muy comprensible en ese momento (Stent, 1968).

Como se ve, estas dos escuelas expresan formas muy distintas y – sabemos – complementarias, para estudiar físicamente a los seres vivos. Sus métodos, perspectivas y procedimientos explican en gran parte los instrumentos con que contó Crick para sus investigaciones posteriores.

La mejor explicación de por qué los miembros de ambas escuelas adoptaron el entonces neologismo de “biología molecular” fue dada por Francis Crick: “Me vi obligado a llamarme a mí mismo biólogo molecular porque cuando ciertos clérigos inquisitivos me preguntaban lo que hacía, me cansé de explicar que era una mezcla de cristalógrafo, biofísico, bioquímico y geneticista, una explicación que, de cualquier modo encontraban difícil de comprender.” (en Stent, 1978).

1.4 Llegada al Cavendish.

Alrededor de 1949 se abrió una nueva unidad del Medical Research Council en el Laboratorio Cavendish de la Universidad de Cambridge, para estudiar la estructura de las proteínas, específicamente la hemoglobina, utilizando el método de difracción de rayos X (desarrollado en 1912 por los Bragg). El laboratorio estaba encabezado por el cristalógrafo Max Perutz, bajo la dirección general de Sir Lawrence Bragg. En una entrevista, Mellanby (el director del Medical Research Council) le ofreció a Crick la posibilidad de entrar a este laboratorio. Crick, con más conocimientos de biología, estaba interesado en la estructura de proteínas, ya que sentía que su habilidad le garantizaba el acierto de enfocarse en este tema. (Crick, 1988).

Se entrevistó con Max Perutz y en junio de 1949 fue aceptado como estudiante de posgrado en el Cavendish; intentaba aprender algo acerca de la estructura tridimensional de las proteínas mediante el estudio de los patrones de difracción de rayos X producidos por cristales de proteínas (Crick, 1988).

Según su propia narración, desde que Crick se enteró de la existencia de las enzimas, se dio cuenta de que uno de los principales problemas a resolver era la explicación de la forma en que se sintetizaban. No dejó de estudiar y continuamente se preguntaba qué eran los genes, cómo se copiaban y cómo controlaban la síntesis de las proteínas (Crick, 1988).

Para un físico inglés, el Cavendish tenía un encanto muy especial. Había recibido este nombre en honor al físico del siglo XVIII, Henry Cavendish. El primer Profesor había sido el físico teórico James Clerk Maxwell (autor de las ecuaciones de Maxwell). Aquí J.J. Thomson "descubrió" el electrón midiendo tanto su masa como su carga. Ernest Rutherford había sustituido a Thomson como Profesor y bajo su dirección, Cockroft y Walton produjeron la primera desintegración atómica artificial. A principios de los años 30, James Chadwick descubrió el neutrón. A la fecha, el Cavendish iba a la vanguardia de la investigación física fundamental. Por todo esto, porque iba a comenzar su experiencia en su nuevo campo de interés y porque iba a trabajar con el Premio Nobel, Sir L. Bragg, Crick estaba deseoso de comenzar su experiencia en Cambridge (Crick, 1988).

El año 1947 fue decisivo en la vida de Crick. Se divorció de su esposa Doreen, dejó su trabajo del Almirantazgo y la física para dedicarse a la biología y en 1949 contrajo matrimonio con Odile Speed, a quien había conocido durante la guerra.

Una vez dentro del Cavendish, recibió la orientación de Max Perutz en cuanto a la literatura de cristalografía de rayos X, pero los textos disponibles trataban, paso a paso, el método de la cristalografía y la historia de su desarrollo. Entonces Crick se vio obligado a aprender cristalografía de rayos X de manera autodidacta, tanto la teoría como la práctica. Aprender por sí mismo le fue muy útil entonces y más adelante en su carrera.

Estudió la orientación y el sentido de las moléculas biológicas y aprendió que su imagen especular no se encontraba en el mundo de lo vivo (Crick, 1988).

Max Perutz trabajaba con hemoglobina de caballo, una proteína que forma cristales que pueden ser estudiados mediante rayos X. Al ser la longitud de onda de estos rayos muy pequeña, el patrón de rayos X que las moléculas dispersan, en condiciones óptimas, puede contener información suficiente como para que el experimentador determine las posiciones de todos los átomos de la molécula. (Específicamente, una fotografía tal muestra la densidad de electrones que rodea a cada átomo y que, al tener muy poca masa y ser más ligeros que el núcleo atómico, dispersan los rayos X con más eficacia. Se utilizan cristales, pues los rayos X, dispersos por una sola molécula serían demasiado débiles; si se utilizaran exposiciones más prolongadas (para eliminar esta dificultad), la gran dosis de rayos X dañaría a la molécula antes de producir una buena difracción de los rayos (Crick, 1988).

Crick por su parte, intentaba resolver el problema de la estructura de las proteínas. En el laboratorio, Sir Lawrence Bragg se ocupaba igualmente del tema y avanzaba con rapidez. Bragg tenía la virtud de ver los problemas en términos sencillos, y se daba cuenta de que muchas de las complicaciones aparentes podrían desaparecer al descubrir el modelo fundamental. No le importaba que los datos no se ajustaran perfectamente a su modelo, daba por hecho algunas cosas, las simplificaba y trabajaba con la mayor gama de datos posibles. De este modo obtuvo una buena aproximación de la forma real de la molécula de hemoglobina. Para Crick, trabajar con Bragg fue una revelación y toda una experiencia en cuanto a la manera de llevar a cabo una investigación científica y, lo más importante: cómo no hacerlo.

A finales de su primer año en el laboratorio, Crick invitó a los investigadores del laboratorio con más experiencia a una charla en la que habló sobre las deficiencias de los métodos que estaban utilizando (con la

excepción del reemplazo isomórfico* , siempre que se llevara a cabo químicamente). Habló asimismo de lo inadecuado que resultaba elegir la molécula de hemoglobina para sus estudios estructurales. Tituló a esta plática "What Mad Pursuit" (Qué insensata búsqueda) siguiendo el consejo de J. Kendrew (Judson, 1979).

Como él mismo opinó más tarde: "Al llamarles la atención a mis colegas, orientaron su investigación en la dirección correcta ... claro que a la larga se impondría mi punto de vista. Lo que hice fue abreviar el trabajo" (Crick, 1988, 51).

Esta conducta de Crick, casi un recién llegado al laboratorio que se atrevía a decir a investigadores con experiencia (incluyendo a un "Premio Nobel") que su trabajo tal vez no los llevaría a ningún resultado, nos revela la fuerza de su personalidad y la seguridad de su pensamiento. En esta plática, pretendía mostrar a sus colegas el camino a seguir para resolver ciertos aspectos de la estructura de las proteínas. También nos muestra desde muy temprano la inquietud que Crick sentía por las cuestiones "metodológicas".

Según Crick, valía la pena hacer notar lo que había aprendido sobre la teoría de cristalografía, aunque esto significara el enojo de los escuchas; consideraba inútil persistir en una acción que estaba destinada a fracasar, especialmente existiendo métodos alternativos (Crick, 1988).

Más tarde se vio que las críticas de Crick eran correctas pues la técnica del reemplazo isomórfico era el único método que les permitiría conocer la estructura detallada de las proteínas. Sin embargo Crick había subestimado la utilidad del estudio de péptidos artificiales, simples y repetitivos que pronto aportó información relevante.

* Con esta técnica se puede obtener una "fotografía tridimensional" de la densidad electrónica de un cristal. Se reemplaza un átomo ligero (agua) por uno pesado (mercurio), que difracta mejor los rayos X y así se obtienen dos patrones de rayos X diferentes, uno con y otro sin mercurio. Al estudiar las diferencias entre ambos patrones, se puede llegar a localizar la posición del mercurio en el cristal e inferir de este modo la estructura de la proteína que se estudia.



Según Crick, siempre tuvo una pregunta en mente: ¿Cuál era la relación entre la estructura del gen y la estructura proteica? ¿Cómo transmitir información de una a otra para construir un organismo? (Judson, 1979) Al hacerse estas preguntas es claro para nosotros ver el interés de Crick sobre el concepto de información contenido en estas moléculas. Aunque el dogma central todavía necesitaba de muchos más elementos para ser formulado, desde este momento, Crick nos descubre la orientación de sus ideas.

Antes de entrar a formar parte de este grupo, Crick ya había tenido la idea de que la autorreplicación de los genes era algo de gran importancia y, aunque no sabía que el material genético era ADN puro, había también concebido la idea de la colinealidad del material genético y la secuencia aminoacídica de las proteínas. Incluso desde esa época, Crick concibió la idea del tipo de experimentos que se tendrían que hacer para demostrar que lo que estaba en la cadena proteica, parte por parte, tenía que encontrarse también de algún modo en el gen, parte por parte. Pensaba que la genética era la parte clave de la biología y que había que explicarla en términos estructurales (Judson, 1979).

1.5 Trabajo con James Watson

Es difícil escribir algo nuevo acerca de los antecedentes del descubrimiento de la doble hélice del ácido desoxirribonucleico, ADN. Se trata de una historia conocida pues ha sido tema de varios libros (como: *The Double Helix* de James Watson, *The Path to the Double Helix* de Robert Olby, *The Eighth Day of Creation* de Horace F. Judson, etc). Este aspecto de la vida de Crick no es el propósito del presente trabajo, sin embargo debido a su gran trascendencia, haré un breve recuento.

En 1951, a sus 23 años, el doctor James Watson llegó al Laboratorio Cavendish, llevando consigo las ideas del Grupo del Fago, grupo de investigadores dirigido por Max Delbrück, Salvador Luria y Alfred Hershey. Su llegada al laboratorio fue muy oportuna ya que una de estas

ideas era la de la importancia del conocimiento de la función genética, que era casi desconocida para los analistas estructurales del Cavendish. Este grupo americano trabajaba con bacteriófagos (virus que infectan bacterias) para estudiar la reproducción biológica. Se encontraba principalmente en el California Institute of Technology (CalTech) y se reunía anualmente en Cold Spring Harbor, en Nueva York.

Con la llegada de Watson a Inglaterra, se unieron las dos escuelas de investigación que hasta entonces habían permanecido aisladas: la americana, de los enfoques funcionales abstractos, y la inglesa, concretamente estructural. Ambos enfoques sólo se habían unido en el CalTech con Linus Pauling por un lado y Max Delbrück por el otro quienes, sin embargo, sólo en una ocasión publicaron un artículo "secundario" conjunto (Judson, 1979).

Watson y Crick entablaron una buena relación desde que se conocieron. Trabajaban en el mismo cubículo del laboratorio, de modo que podían tener largas conversaciones sin molestar al resto de los investigadores. Sus ideas complementarias estimularon su pasión intelectual.

"Cuando nos conocimos fue algo extraordinario, ya que ambos compartíamos el mismo punto de vista, pero Watson sabía todo acerca de fagos, lo que yo sólo había leído en libros, y yo sabía todo acerca de difracción de rayos X, lo que Watson sólo sabía de 'segunda mano'... Era la primera persona del mundo exterior que había conocido que reforzaba mi propio sentido acerca de lo que era importante" Crick (Judson, 1979, 112). Aunque diferían en cuanto a experiencia, coincidían en cuanto al proceso del pensamiento. (Crick, 1988).

Crick y Watson comenzaron a trabajar juntos tratando de construir un modelo de la estructura del ADN. Realizaron su modelo y Crick escribió un memorándum, a manera de plan de ataque, no definitivo, en el que hablaba de la naturaleza helicoidal del ADN. (Esta información la presentó únicamente en forma de postulados. R. Franklin, al mismo tiempo, trabajaba sobre el mismo tema). Transcurrieron 15 meses desde este primer modelo al modelo final del ADN (Judson, 1979).

Crick continuó interesado y estudiando el modelo de la alfa hélice de Linus Pauling y trataba de explicarse las inconsistencias con las que se encontraba al comparar el modelo con sus datos. Adquirió un conocimiento teórico general acerca de las estructuras helicoidales y desarrolló dos teorías cristalográficas. Trabajó con una mancha anómala y notoria en los patrones de difracción de rayos X que producía la alfa queratina. Pensó que estas diferencias podían explicarse suponiendo que la alfa hélice misma, en tal sustancia, tenía un enrollamiento mayor, más lento y sobrepuesto, a lo que llamó "hélice de hélices" o "superhélice". Escribió un artículo sobre difracción de hélices y, más adelante, en 1952, escribió otro sobre la hélice de hélices (artículo que llegó a la revista *Nature* días antes de que llegara un artículo sobre el mismo tema de L. Pauling) (Judson, 1979).

1.6 25 de abril de 1953.

Watson y Crick discutían mucho acerca de los posibles experimentos con ADN, pero ninguno los había realizado hasta entonces. Siguiendo el ejemplo de Pauling, creían que la forma de resolver la estructura era mediante la construcción de modelos. Crick prefería no tomar en cuenta restricciones que todavía no se probaran y trabajar partiendo de un número mínimo de postulados para la construcción de modelos. Esta técnica permitía eliminar otras posibilidades y utilizar todos los datos disponibles para elegir entre aquellas estructuras que quedarán como las más probables (Olby, 1974). La idea de que el ADN fuera una hélice surgió, efectivamente, de la alfa hélice de Pauling. Ambos aprendieron que la construcción cuidadosa y exacta de modelos podía englobar limitaciones a las que la respuesta final tendría que responder. Su primer intento resultó errado pues les faltaba incluir agua en la molécula. El descubrimiento clave (llevado a cabo por Watson) fue comprender la naturaleza exacta de los dos pares de bases (AT y GC) (A: adenina, T: timina, G: guanina y C: citosina) (Crick, 1988).

En 1953 Watson y Crick construyeron el modelo de la doble hélice del ADN, descubrimiento que en 1962 les valió el Premio Nobel junto con Maurice Wilkins.

Propusieron una estructura con dos cadenas helicoidales, cada una de las cuales es antiparalela a la otra, las bases se encuentran en el interior de la hélice y los fosfatos en el exterior, hay un residuo en cada cadena cada 3.4 Å y la estructura se repite cada 10 residuos en cada cadena, es decir, cada 34 Å. Los planos de las bases son perpendiculares al eje de la fibra y cada base de cada cadena está unida mediante enlaces de hidrógeno con la base de la cadena adyacente. Dada la secuencia de una cadena, la secuencia de la otra se determina automáticamente por los apareamientos que existen (A con T y G con C).

El ataque final les llevó únicamente unas semanas, a Crick le pareció un tiempo ridículamente corto, pero insiste en que deben incluirse también las largas horas de lectura y discusión (Crick, 1988). Llegaron a la estructura del ADN habiendo estudiado los conocimientos que se tenían acerca de esta macromolécula y tomando en cuenta la menor cantidad de datos experimentales posible. Estrategia de investigación que Crick repitió a lo largo de su carrera. No pretendían que estos datos fueran la única base sobre la que había de sustentarse la propuesta teórica de la estructura del ADN.

El establecimiento de la estructura del ADN, como es bien sabido, no se logró por trabajo experimental realizado directamente por Watson y Crick, sino por argumentos básicamente teóricos (respaldados por pruebas experimentales de otros investigadores). Desde ese momento Crick comenzó a ser un teórico de la investigación biológica.*

Crick recalca la importancia de discutir en el artículo las implicaciones genéticas. Finalmente incluyeron una oración en el artículo, a petición de Crick, aunque en cierto desacuerdo con Watson, en la que

* Pero, sin embargo, su primera intervención "teórica" había consistido en corroborar, en 1952, el modelo de la alfa-hélice de L. Pauling, gracias a la construcción de un modelo teórico sobre las estructuras helicoidales.

aclaraban que el apareamiento específico que postulaban les sugería inmediatamente un mecanismo de copiado para el material genético.

Se pusieron en contacto con los investigadores del King's College quienes tenían pruebas que sustentaban fuertemente su estructura y con este importante apoyo, decidieron escribir el 30 de mayo del mismo año otro artículo en el que recalcan la posibilidad de un mecanismo de copiado.

"Científicamente fue muy sencillo llegar a la hélice. Lo importante no fue cómo se descubrió sino qué se descubrió: la estructura del ADN. El atractivo está en la molécula, no en los científicos" Crick (1988, 67).

El modelo tenía pequeños errores pero captaba los aspectos esenciales de la doble hélice, su establecimiento podría servir como un caso histórico, ejemplo de la compleja forma en que las teorías se vuelven hechos (Crick, 1988).

"Si Watson y yo merecemos crédito es por la perseverancia y la determinación de descartar ideas insostenibles; por escoger el problema adecuado y apegarnos a él" Crick (1988, 74).

Hay que destacar también que fue muy importante que haya habido apoyo económico y humano disponible para explotar el descubrimiento cuando se llevó a cabo.

1.7 Después de la Doble Hélice

La dilucidación de la estructura del ADN fue un descubrimiento paradigmático en la biología pues hasta ese momento se comprendió la gran importancia de que el material genético hereditario fuera el ADN y no las proteínas. Desde ese momento en adelante la biología molecular se redujo a genética molecular. Esto significó el cambio del paradigma de proteínas al de ácidos nucleicos. Se abrió un campo nuevo a la investigación, al cual muchos deseaban ingresar. Determinar la estructura del ADN puede considerarse como la construcción del "núcleo duro" del programa de investigación de la biología molecular, tomando la perspectiva histórica filosófica de Lakatos (Suárez, 1992).

El establecimiento de la estructura doble helicoidal del ADN fue un acontecimiento de gran importancia histórica en el reemplazo de la "versión proteica del Dogma Central" por la "versión del ADN del Dogma Central", el núcleo de las investigaciones dejaron de ser las proteínas y pasó a serlo el ADN. (La noción del Dogma Central se tratará ampliamente en el Capítulo 2.) El modelo asimismo dio la confianza necesaria para asumir que el ADN podía ser el único material hereditario y proporcionaba finalmente una barrera química entre el mensaje codificado (ADN) y su producto génico (proteína). La existencia de la herencia de caracteres adquiridos definitivamente dejó de ser posible.

El nuevo núcleo de investigación requirió también del cambio y del refinamiento de la tecnología. El progreso de la biología molecular se logró tanto por las nuevas hipótesis como por las nuevas técnicas. Fue muy importante el uso de marcadores radiactivos, la microscopía electrónica, el uso de anticuerpos y las técnicas y aparatos que implican fraccionamientos como la cromatografía, la electroforesis y la ultracentrífuga, el uso de isótopos radiactivos y sobre todo, el uso combinado de las técnicas.

Entonces, una vez establecida la estructura del ADN, los problemas que había que resolver eran básicamente, el mecanismo de la replicación del ADN, el papel del ARN y la traducción a proteínas.

En los años que siguieron al descubrimiento de la estructura del ADN existió una gran efervescencia intelectual de parte de muchos hombres de ciencia. Siguió una etapa de dispersión, movimiento e intersección de múltiples líneas de trabajo. La biología se expandió enormemente, pues mucho de lo que se hizo y se pensó resultó ser mutuamente explicativo.

La importancia de la estructura dio lugar a la importancia de la función, y en este cambio veremos cómo la investigación del ADN le cedió lugar al ARN. El problema central en biología a partir de este momento fue la síntesis de proteínas en la célula viviente. En torno a él se dieron tres enfoques principales: el de la bioquímica, el de la genética y el del problema de la codificación (cada uno dependía de los otros, pues eran aspectos del problema central: la síntesis de proteínas). El trabajo de Crick

en este periodo (después de 1953) se centró principalmente en el tercer acercamiento que se discutirá ampliamente en el Capítulo 2, pero tocaré a continuación la importante colaboración de Sydney Brenner, uno de los colegas más cercanos de Crick en este tiempo "post- doble hélice".

1.7.1 Trabajo con Sydney Brenner.

Sydney Brenner era un médico sudafricano con una maestría en biología médica. Fue a Inglaterra a estudiar el área que hoy conocemos como biología molecular, pues Sudáfrica no le ofrecía el desarrollo intelectual que buscaba. Llegó a Oxford en 1952 y entró a trabajar al laboratorio de Sir Cyril Hinshelwood, quien aplicaba la fisicoquímica a la biología. Aquí comenzó su investigación de doctorado trabajando con bacteriófagos.

En ese momento Brenner tenía la idea (hoy descabellada) de que era posible marcar el ADN con tintes fluorescentes y cristalizarlo para poder obtener su estructura (Judson, 1979). Su interés por la molécula del ADN lo llevó (acompañado del cristalógrafo Jack Dunits y el bioquímico Leslie Orgel, también de Oxford) en 1953, a Cambridge para ver el modelo del ADN de Watson y Crick. En esta ocasión por primera vez conoció a J. Watson y a F. Crick, pero fue más tarde, en el verano de 1954, cuando realmente tuvieron oportunidad de conversar y conocerse en Woods Hole, Cold Spring Harbor, en Nueva York y comenzaron una amistad y una relación de intercambio intelectual que duraría por muchos años. En aquel verano Brenner trabajaba con Seymour Benzer (con quien también formó un buen equipo de trabajo) en Cold Spring Harbor. Al terminar su estancia en E.U., Brenner regresó a Sudáfrica como docente en la escuela de medicina de la Universidad de Witwatersrand. Sin embargo, según el propio Brenner, se encontraba en un gran aislamiento intelectual en su país y deseaba regresar a Inglaterra. Durante este tiempo mantuvo correspondencia con Crick, G. Stent, S. Benzer, J. Watson y otros investigadores.

Estando Crick en Cambridge y Brenner en Johannesburgo, mediante su correspondencia se dieron cuenta de que coincidían en el enfoque de los

problemas que estudiaban. En su intento por descifrar el código genético juntos formaron un excelente equipo de trabajo. De modo que se entiende que desde 1955 Crick quisiera encontrar la forma de conseguir un puesto para Brenner en Inglaterra.

De hecho, en la etapa en que trabajaron en diferentes partes del mundo, siempre se mantuvieron al tanto del trabajo del otro y de los avances de la comunidad científica que se encontraba trabajando sobre el código genético, a través de una correspondencia amistosa y constante.

En septiembre de 1956 Brenner escribió una nota para el "RNA Tie Club" (Club de la Corbata del ARN) sobre la imposibilidad de la existencia de todos los códigos de tripletes sobrelapados. Se basaba en una restricción que muchos habían ya pensado pero no desde la perspectiva de Brenner.

Finalmente en enero de 1957 Brenner llegó a Cambridge donde intercambió con Crick sus puntos de vista y las técnicas que cada uno conocía. Brenner se volvió el colega más cercano de Crick y juntos compartieron una oficina casi durante veinte años. En una entrevista en la cual se le preguntó a Crick cómo llegaba a sus ideas, opinó: " Pienso yo solo pero es cierto que pienso también al hablar con mis colegas, y especialmente con Sydney, esta es una de las razones por las cuales compartimos una oficina" (Judson, 1979, 203).

Continuamente discutían sus avances, fue Brenner quien acuñó el término "codón" para designar al triplete de bases que especifica un aminoácido, así como quien decidió, después de discutir con Crick, llamar "adaptadores" a las moléculas que posteriormente se conocieron como ARN de transferencia, 'tARN'.

1.7.2 El "Club de la Corbata del ARN" (*RNA Tie Club*).

En 1954 el físico Georges Gamow fundó una organización a la que llamó "RNA Tie Club" ("Club de la Corbata del ARN"). Este grupo pretendía resolver el enigma de la estructura del ARN y comprender la forma en que éste construye las proteínas. El emblema del club era una corbata con

el dibujo de una hélice, acompañada de un pisacorbata. Gamow escogió a los veinte miembros (uno por cada aminoácido) que formarían el grupo (Judson, 1979).

La importancia de este club era que pretendía alentar la discusión y hacer circular artículos más bien especulativos, discursivos y de resultados menos comprobables de lo que sus autores se arriesgarían a decir en una publicación formal (Judson, 1979). En este grupo, Crick escribió varios artículos y el club cumplió con su objetivo, ya que los integrantes continuaron circulando manuscritos especulativos "entre los pocos interesados" a pesar de encontrarse en ocasiones en otros continentes. Uno de los artículos que Crick escribió para el club fue de una gran trascendencia; en él planteó la "hipótesis del adaptador", que posteriormente será referida en más detalle.

Después de proponer el modelo de la doble hélice del ADN, Crick había estado en California con Gamow, Watson y Brenner, y en el otoño de 1956 regresó a Inglaterra. Fue entonces cuando escribió este artículo para el club en el que sugería una idea que más tarde resultó ser de gran importancia. Ese artículo se llamó "On Degenerate Templates and the Adaptor Hypothesis" (Sobre plantados degenerados y la Hipótesis del Adaptador). No lo publicó en ninguna revista establecida, pero más adelante, el bioquímico Mahlon Hoaglan quien trabajaba en el laboratorio de Paul Zamecnik en el Hospital General de Massachusetts, obtuvo una prueba experimental que reforzaba su planteamiento (sobre el ARNt) (Crick, 1988).

Crick estaba muy interesado en el problema del código genético y, a pesar de encontrarse en dificultades para aclararlo, logró mucho por su dilucidación, como se verá en el siguiente capítulo.

1.8 Vida en Estados Unidos.

En 1976 Francis Crick se trasladó al Salk Institute en La Jolla, California, para pasar allí un año sabático. Al finalizar este año, el presidente del instituto, el Dr. Frederick de Hoffmann, le pidió que permaneciera en el

instituto. En la primavera siguiente Crick renunció al Medical Research Council después de treinta años de servicio y 87 artículos científicos. Desde entonces Crick y su esposa viven en California. Ingresar en el Salk Institute fue la oportunidad ideal para dedicarse más a los trabajos sobre el cerebro (lo que le interesó desde que inició su carrera en biología). Comprendió que si quería estudiar el cerebro más de cerca era entonces o nunca, se encontraba en sus "sesenta y tantos" años. Le interesó mucho estudiar la conciencia y el REM (sueño de movimiento ocular rápido), la memoria y las bases moleculares de la atención. Sin embargo no se desligó, y siguió atento a cualquier avance que se diera en biología molecular (Crick, 1988).

1.8.1 Ideas sobre el origen de la vida

Durante su estancia en el Salk Institute, Crick se interesó por el problema del origen de la vida pues su colega y amigo Dr. Leslie Orgel trabajaba sobre este tema. Semanalmente se reunían a discutir los avances de Orgel y juntos llegaron a una idea, basada en que la panspermia, propuesta desde el siglo pasado por Arrhenius, sostenía que la vida no había comenzado en la tierra, sino que había sido implantada por microorganismos llegados del espacio. La variante que ellos propusieron, a la que llamaron "Panspermia Dirigida", se basa en que los microorganismos supuestamente viajaron dentro de una nave espacial sin tripulación, enviada a la tierra por una civilización más avanzada que se desarrolló en otro sitio del universo hace miles de millones de años. Cuando estos organismos llegaron al océano primitivo comenzaron a multiplicarse originando la vida en la Tierra.

En 1981, Crick escribió el libro *Life Itself* (La Vida Misma) en el cual extiende sus ideas acerca de la Panspermia Dirigida. En él habla de las razones por las cuales esta idea es una teoría y no ciencia ficción (como la calificó su esposa, entre otras personas) pues está basada en su conocimiento científico. Argumenta que el cuerpo de la idea es bastante sólido:

“Cada uno de los detalles que contribuyen al escenario que se requiere, cuenta con sólidos fundamentos de la ciencia contemporánea: la edad del universo, la probabilidad de la existencia de vida en otros planetas, la composición del océano primitivo, la fuerza de las bacterias en tiempo de adversidad y la facilidad con que pueden florecer en lugares en los que casi cualquier otro organismo moriría, el diseño del cohete, etc” Crick (1989, 149).

En su libro, Crick defiende el estatus de teoría científica de su propuesta. Insiste en la aparente universalidad del código genético. Una posible línea de pruebas para apoyar o refutar la Panspermia Dirigida está contenida en los organismos que tenemos hoy en día. A pesar de la gran variedad de moléculas y reacciones químicas producidas por evolución, hay ciertas características que parecen ser comunes a todos los organismos vivos. El código genético es un rasgo muy invariable; con la excepción de las mitocondrias, el código es idéntico en todos los seres vivos examinados hasta ahora, y aún en las mitocondrias las diferencias son pequeñas. Esto no sería sorprendente si existiera una razón estructural obvia para los detalles del código, como si ciertos aminoácidos tuvieran necesariamente que ir con ciertos codones porque sus formas embonaran bien por ejemplo. Esto ha tratado de probarse, pero a lo que se ha llegado es aún poco convincente. Según Crick, es muy poco probable que todos los *detalles* del código genético se hayan decidido por razones únicamente químicas, entonces el hecho de que el código sea tan uniforme apoya, aunque no en gran medida, a la Panspermia Dirigida (Crick, 1981).

Crick dice que la dificultad esencial no es la naturaleza de la teoría sino la gran escasez de pruebas relevantes. Es interesante cómo, al defender su teoría, Crick habla de que sólo la plausibilidad, no era suficiente para descartar esta teoría [ni para aceptar otra, independientemente del hecho de que la plausibilidad normalmente está “contaminada con nuestros prejuicios infundados” (Crick, 1981, 152)]. Opina que treinta años de experiencia en biología molecular le han enseñado la lección de que sola, la plausibilidad *no* es suficiente. Entonces

aclara que la Panspermia Dirigida es en efecto una teoría científica, pero que, como teoría, es prematura (Crick, 1981).*

1.8.2 Trabajo sobre la conciencia

Como se mencionó anteriormente, en el Salk Institute Crick encontró la gran oportunidad de adentrarse en la neurobiología, área que le interesaba desde que se inició en la biología. Su interés se centró principalmente en el estudio y definición de la *conciencia* y la atención.

Muchas de sus propias ideas sobre la conciencia las desarrolló en colaboración con su colega Christof Koch del Caltech. Su enfoque es esencialmente científico, ya que piensa que no tiene sentido intentar resolver los problemas de la conciencia mediante argumentos filosóficos generales, sino que exige la *sugerencia* de nuevos experimentos que puedan iluminar estos problemas y para lograr esto es necesario un conjunto de ideas teóricas. Este aspecto de la personalidad de Crick y su manera de llevar a cabo una investigación es importante para este trabajo y será discutido más ampliamente en el capítulo 3.

La pregunta que se ha hecho Crick es la de cómo se podría llegar a conocer y comprender la conciencia de una forma científica. Entonces, para un ataque científico del problema, Crick consideró que convenía concentrarse en la forma de la conciencia que parecía ser la más fácil de estudiar; por eso Koch y él optaron por el estudio de la conciencia visual, tanto en humanos como en sus parientes primates más cercanos, pues la consideraron el aspecto más susceptible de ser atacado experimentalmente (Crick, 1994).

Crick opina que para entender cómo trabaja el cerebro, se deben desarrollar modelos teóricos que describan cómo interactúan entre sí los

* Independientemente de nuestra opinión sobre la Panspermia Dirigida, me parece muy interesante el hecho de que un científico como Francis Crick la haya propuesto. Definitivamente vale la pena escuchar lo que tiene que decir y tener en cuenta que utiliza el código genético como un posible apoyo a su teoría, siendo una de las personas que más lo han estudiado.

diferentes conjuntos de neuronas. Insiste en que el problema de la conciencia debe tomarse seriamente. No ha dado una solución satisfactoria al problema, pero opina que lo que será útil es seguir el enfoque que propone, más que las sugerencias detalladas. Recalca que el estudio de la conciencia es un problema científico y que la ciencia no está separada del conocimiento de la misma por alguna barrera imposible de cruzar. Además, Crick habla de sus propias ideas, de lo que llama su "teoría del poder de elección" y propone una ubicación física en el cerebro para ello. Todas estas ideas las plasmó en un libro que escribió en 1994, llamado *The Astonishing Hypothesis* (La hipótesis sorprendente) y la finalidad de este libro es demostrar que ahora existen maneras de abordar el problema experimentalmente y que no hay justificación alguna que sostenga la visión de que sólo los filósofos pueden tratar de él.

Aún a sus casi 80 años, Crick es un científico lleno de entusiasmo que desea expandir el conocimiento científico y aplicar la investigación científica a problemas que aún no se han resuelto por completo.

2.1.1 Reacciones ante la estructura del ADN.

Cuando Watson y Crick propusieron su estructura del ADN en 1953, el apareamiento específico entre las bases les sugirió inmediatamente un posible mecanismo de replicación para el material genético. En el segundo artículo que publicaron en el mismo año, plantearon que era posible que la secuencia precisa de las bases fuera el código que lleva la información genética.

La idea de un código genético fue retomada del libro de Erwin Schrödinger de 1944 *What's Life? (¿Qué es la Vida?)*. Schrödinger a su vez parece haberla tomado del libro de Haldane de 1937, *New Paths on Genetics* (Sarkar, 1989).

Mucha gente leyó a Schrödinger y la fascinación de su libro se centraba en la claridad con la cual Schrödinger se acercó al gen, no como una unidad algebraica, sino como una sustancia física que tenía que ser casi perfectamente estable y al mismo tiempo expresar una inmensa variedad. Para Schrödinger el problema real que necesitaba explicarse en la biología era el de la herencia. Se preguntaba cómo resistían los genes las fluctuaciones a las que están sujetos en el metabolismo celular. Basándose en la propuesta de Delbrück en 1935 de que los genes eran estables porque sus átomos se mantenían en estados de energía similares a los estados cuánticos de un electrón, Schrödinger postuló que los genes eran capaces de preservar su estructura porque ésta consistía de un cristal aperiódico (idea, al parecer sugerida por primera vez por H. Muller, 1922). Sugirió que este largo cristal aperiódico estaba compuesto de una sucesión de un pequeño número de elementos isoméricos, y que la naturaleza exacta de la sucesión constituía un código hereditario. Schrödinger ilustró las enormes posibilidades de combinación de un código tal, mediante un ejemplo en el cual utilizó dos símbolos de la clave Morse como sus elementos isoméricos.

Así, después de 1953 los dos principales problemas a resolver en la naciente biología molecular eran: a) la bioquímica de la síntesis de proteínas y b) el problema del código genético, las cuales comenzaron a investigarse paralelamente (Judson, 1979).

Los bioquímicos se centraban principalmente en el primer problema es decir, el de la producción de proteínas biológicamente activas a partir de aminoácidos libres. Este proyecto de investigación (que parecía ignorar totalmente la idea de información y aun el papel del ADN) fue desarrollado hacia 1959 por Paul Zamecnik y su grupo en el Hospital General de Massachusetts, quienes descifraron ciertas reacciones bioquímicas de la síntesis de proteínas. Sin embargo, el problema del código y la bioquímica de la síntesis proteica eran dos aspectos del mismo problema, el de la *expresión de la información* contenida en el ADN. Así que, por supuesto, ninguno de los aspectos podía ser resuelto sin referirse constantemente al otro (Judson, 1979).

Para descifrar un código desconocido, la manera fácil de hacerlo es comparar el mensaje codificante – llamado “criptograma” – con su correspondiente texto conocido. El desciframiento del código genético significaba el establecimiento de una relación entre la secuencia de bases de la doble hélice del ADN, (criptograma) y la secuencia conocida de residuos de aminoácidos en una cadena polipeptídica (el texto conocido).

Esta relación comenzó a conocerse hasta principios de los años 60 gracias al trabajo *experimental* de J.H. Matthaei y M. Nirenberg (1961). Sin embargo, desde 1953 se realizó un gran número de investigaciones a nivel *teórico* llevadas a cabo por Gamow, Crick, Ycas, Golomb y muchos otros para descifrar el código; la mayoría de ellas resultaron ser incorrectas como se demostró posteriormente. También en este tiempo se iniciaron los estudios experimentales realizados por H. Whittmann, A. Tsugita, H. Fraenkel-Conrat, C. Yanofsky, R. Holley y otros.

2.2 Aproximaciones teóricas al problema del código genético.

Las consideraciones exclusivamente teóricas hacen explícito el concepto de información, en tanto que mantienen algunas ideas implícitas acerca del almacenamiento y transmisión eficientes de información. De acuerdo con Sarkar (1989), los investigadores que llevaron a cabo estas consideraciones teóricas formaban básicamente dos grupos: el compuesto por Gamow y sus colaboradores Ycas y Rich y el de Crick y sus colaboradores¹.

Los puntos más importantes a resolver sobre la idea del código genético eran:

- 1- Determinar el número máximo de aminoácidos codificados constituyentes de las proteínas;
- 2- Determinar el número de bases que codificaban un aminoácido;
- 3- Determinar la existencia del solapamiento de la lectura del código (Se consideraba solapado cuando en la lectura se encimaban dos bases y semi-solapado cuando se encimaba sólo una base) (Figura 1);
- 4- Determinar si la lectura comenzaba a partir de un punto fijo;
- 5- Determinar si la lectura era degenerada (esto es, que existieran codones o instrucciones sinónimas para codificar un aminoácido);
- 6- Determinar si el código era universal, es decir, que fuera el mismo para todos los seres vivos.

¹ En 1952 Alexander Dounce publicó un artículo en el que trataba la idea del código y los posibles mecanismos de la síntesis de proteínas. En él enunció algo similar a la Hipótesis de la Secuencia (a la que se hará referencia más adelante) y también sugirió que una molécula de ácido nucleico debía tener que ver con la transferencia de energía necesaria para la síntesis del enlace peptídico. A pesar de que sus ideas eran interesantes en ese momento, en general se pasaron por alto los mecanismos que propuso y, por varias razones (que aquí no es el propósito exponer), el código de Dounce no era muy factible.

Además del trabajo del grupo de Gamow se propusieron otros códigos teóricos como el de Edward Teller y el de Leslie Orgel, pero no se hará referencia a ellos pues fue el trabajo de G. Gamow el que realmente alentó a Crick a abordar el tema.

Figura 1. Código sobrelapado y código semi-sobrelapado (parcialmente sobrelapado)

La secuencia: ATC, CGA, ACC, TGG, CAT, ... se leería:

1 2 3, 4 5 6, 7 8 9, 10 11 12, 13 14 15, ...

En un código sobrelapado:

ATC, (123)
TCC, (234)
CCG, (345)
CGA, (456)
GAA, etc. (567) ...

En un código semi-sobrelapado:

ATC, (123)
CCG, (345)
GAA, (567)
ACC, (789)

(Las bases son A: adenina, T: timina, C: citosina y G: guanina)

2.2.1 El trabajo de George Gamow

George Gamow era un cosmólogo y físico teórico que en 1946 había propuesto la teoría del *Big Bang*. Sus ideas fueron la primera respuesta positiva a la estructura del ADN de Watson y Crick ya que al verla, se le ocurrió una posibilidad de almacenar la información en forma de código. Gamow reconoció la importancia de la estructura de Watson y Crick y se dispuso a trabajar en este programa de investigación científica. También

fue la primera persona en interesarse en la expresión genética como problema de código y en iniciar una exploración sistemática al respecto (Sarkar, 1989). Así, fue el primero en publicar un esquema formal para el código genético.

Gamow leyó el segundo artículo de Watson y Crick acerca del ADN (publicado en la revista *Nature*, el 30 de mayo de 1953) en el cual: 1) examinaban el significado genético de la estructura y 2) sugerían que "la secuencia precisa de las bases es el código que lleva la información genética". Gamow unió estos dos aspectos y propuso un esquema para explicar cómo la estructura secuencial del ADN podía ordenar directa y físicamente la estructura secuencial de las proteínas. Estas ideas las plasmó en una carta que dirigió a Watson y Crick, anexando una copia de su primer artículo de 1954 (publicado en *Nature*). Al leer este artículo, Crick se dio cuenta de los errores que cometía Gamow, sin embargo la idea de un código en conjunto le parecía muy sugerente. El esquema de Gamow fue decisivo para Crick porque lo indujo a pensar en el problema de la codificación (Judson, 1979).

Primeramente Gamow trató de encontrar una relación de tipo código entre la secuencia de ADN y una cadena de aminoácidos mediante el análisis estereoquímico y de otras interacciones atómicas que pudieran llevarse a cabo (Sarkar, 1989). En el artículo publicado en 1954 planteó que el problema era conocer la manera en que un sistema de cuatro dígitos (las bases nitrogenadas) podía ser traducido a "palabras" de un "alfabeto" de veinte letras (los aminoácidos). El mecanismo estereoquímico que proponía para explicar esta traducción consideraba una relación de tipo llave-cerradura entre varios aminoácidos y las "cavidades" romboides formadas por varios nucleótidos en la cadena del ADN. (Figs. 2 y 3)

En este código, dos diamantes adyacentes compartían dos vértices entre sí. Esta propiedad del código hacía que hubiera restricciones en cuanto a las posiciones adyacentes para los diferentes diamantes. Gamow proporcionó entonces una tabla de posiciones adyacentes compatibles y propuso su código de diamante cuando los bioquímicos empezaban a determinar las secuencias polipeptídicas de algunas proteínas sencillas

(por ejemplo F. Sanger con la insulina), y cualquier intento de establecer el código requeriría asignar diamantes específicos a cada secuencia de residuos de aminoácidos (Sarkar, 1989).

Dependiendo de las bases que conformaban el rombo (o cavidad en forma de diamante del código), éste tenía una forma diferente, y por lo tanto se acoplaba en él un aminoácido específico. Gamow dio así una lista de la codificación de 25 aminoácidos posibles. (En realidad lo que hizo fue escribir una lista de 25 aminoácidos en orden de abundancia en la naturaleza) (Judson, 1979).

Posteriormente Gamow contrastó experimentalmente su propuesta del código de diamantes con los residuos aminoacídicos de la proteína insulina (cuya secuencia fue determinada por F. Sanger en 1955). Sin embargo, considerando los primeros doce residuos de la primera secuencia se dio cuenta de que el código de diamante no era suficientemente bueno (Sarkar, 1989), a pesar de ello, no lo abandonó y, para intentar explicar las discrepancias entre las secuencias conocidas y el código, consideró la posibilidad de que algunos de los diamantes pudieran 'recibir' a más de un aminoácido. También sostuvo que la insulina no era una buena proteína con la cual probar la validez de la teoría, ya que ésta se aplicaba a "proteínas hereditarias" (proteínas cuya estructura está directa y completamente determinada por los genes en los cromosomas), la insulina, por el contrario, es una proteína que sufre modificaciones a las que hoy llamamos "post-traduccionales" (Sarkar, 1989).

En 1954 propuso la construcción de modelos moleculares del ADN (un enfoque desarrollado por L. Pauling), que podrían compararse con modelos de aminoácidos sin embargo nunca los llevó a cabo.

A pesar de tener serias dificultades, el código de diamante asume dos ideas que resultaron ser muy importantes. La primera es la de la uniformidad de la longitud de los bloques: el tamaño del complejo nucleotídico que codifica para un tipo de residuo de aminoácido es el mismo para todos los tipos. La segunda es la de la universalidad: el código genético es el mismo en todos los seres vivos (Sarkar, 1989).

Figura 2. Cavidades en forma de diamante en la doble hélice del ADN.

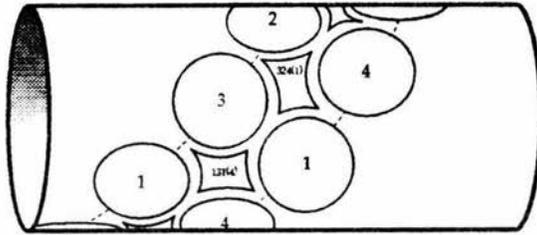


Figura 3. Esquema del código de síntesis de proteínas que dedujo Gamow a partir de su código de diamante. Las letras indican los diferentes aminoácidos asociados con cada diamante. (De Gamow, G. 1954)

	A		B		C		D
	E		F		G		H
	I		J		K		L
	M		N		O		P
	Q		R		S		T

Las "cavidades romboides" según Gamow, se formaban entre dos pares de residuos púricos y pirimídicos contiguos de la doble hélice del ADN, uno de cada cadena complementaria de polinucleótidos. Cada grupo de cuatro bases generaba una de las veinte clases específicas de "cavidades" en la superficie del ADN en la cual podía "acomodarse" sólo uno de los veinte aminoácidos proteicos. Llamó a este código "Código de Diamante" (publicado en *Nature* en 1954).

A fines de 1954 Gamow publicó en *Science*, junto con N. Metropolis, los estudios estadísticos que realizaron sobre residuos de aminoácidos en polipéptidos. Es en este tercer artículo donde aparece, como el "problema del código genético", la primera referencia clara de su investigación. Dado que el número de aminoácidos (20) sobrepasa con mucho al número de nucleótidos (4), los autores proponían que el código en cuestión debería ser extremadamente restrictivo y debería llevar una fuerte correlación entre los aminoácidos en secuencias conocidas de proteínas (Sarkar, 1989). En este artículo se desarrolla con claridad la diferencia entre el problema del desciframiento del código y el de la expresión de la información contenida en el material genético para la síntesis de proteínas, a lo que ya se hizo referencia anteriormente.

Gamow, Ycas y Rich propusieron en 1955 (en el artículo titulado *The Problem of Information Transfer from Nucleic Acid to Proteins* (El problema de la transferencia de información de ácidos nucleicos a proteínas) que la solución del código genético no sólo consistía en una descripción detallada en términos de la configuración de las cadenas, sino también en términos de fuerzas intermoleculares. En este artículo propusieron también que tanto el ADN como el ARN podrían funcionar como el templado para la formación de proteínas. Aceptaron la estructura helicoidal del ARN propuesta por Rich y Watson (1954) (idea que resultó errónea) la cual les sugirió un código triangular. Todas las secuencias de nucleótidos eran posibles tanto en el ADN como en el ARN sin ninguna restricción. En este artículo los autores eliminaron la posibilidad de la existencia del código de diamante.

Así pues, ellos mismos ofrecían un código alternativo, el "Código Triangular" (Fig. 4), que estaba basado en una molécula de ARN de cadena sencilla, con estructura helicoidal. Cada tres nucleótidos vecinos se formaba un triángulo isósceles o equilátero (Gamow *et al.*, 1955). Podían existir 20 triángulos diferentes que podían ser formados a partir de tres bases consecutivas, tomando en cuenta que el templado es invariable

respecto de su rotación y su reflexión. Este código puede ser considerado como lineal, sobrelapado, no degenerado y no ambiguo ya que cada uno de los 20 triángulos codifica un residuo de aminoácido diferente.

Discutían también el código "Mayor-Menor", desarrollado por Leslie Orgel, el cual era de tripletes, siendo el nucleótido central el más importante. El código presentaba un sobrelapamiento (de dos bases) y no era degenerado (Sarkar, 1989). Asimismo, analizaban el "Código Secuencial" del físico Edward Teller, que presentaba la idea de que un aminoácido se determinaba por dos bases y por el aminoácido previo. Podían presentarse todas las posibilidades secuenciales, no tenía restricciones a partir de consideraciones físicas (Sarkar, 1989).

Finalmente, Gamow y sus colaboradores presentaron tres conjuntos de consideraciones estadísticas con las cuales argumentaban en contra de todos los códigos discutidos. El primer conjunto de consideraciones explora la posible correlación entre la composición del ácido nucleico y de la proteína. El segundo incluye la utilización de curvas de saturación de aminoácidos vecinos. El tercero es un enlistado del número de veces que un residuo de aminoácido particular tiene como vecino a otro residuo (Gamow *et al.*, 1955).

Ya que con estos estudios estadísticos no llegaron a una estructura convincente de un código, Gamow e Ycas desecharon así todas sus propuestas de códigos. Sin embargo parecieron quedar convencidos de que era el ARN el que debía ser considerado como el ácido nucleico que participaba en la síntesis de proteínas. De hecho asumieron que el código muy probablemente era de tripletes, que el orden de los nucleótidos dentro del triplete no importaba y que no había sobrelapamiento entre los tripletes sucesivos. A este código no sobrelapado, degenerado, le llamaron "Código de Combinación" y fue el último intento publicado de Gamow para resolver el problema de la codificación.

2.2.2 El Grupo de Francis Crick.

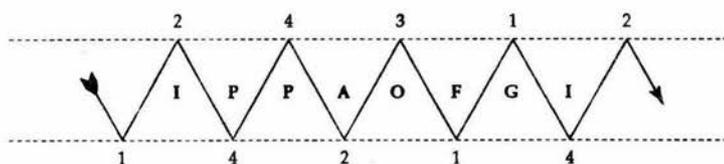
Crick y Watson detectaron las fallas del código de diamante de Gamow en cuanto comenzaron a analizarlo. Gamow no hablaba ni de la energía ni de las reacciones químicas necesarias para la unión del aminoácido a las cavidades del ADN. Obviamente en ese tiempo Gamow no estaba familiarizado con la presencia del ARN en la síntesis de proteínas [trabajo realizado separadamente por S. Brenner, M.S. Messelson, F. Gros, E. Volkin, L. Astrachan, M. Ycas, W.S. Vincent y muy claramente F. Jacob y J. Monod, entre 1953 y 1961 (D. Giacomino)], ni con la evidencia de que las proteínas se sintetizan en el citoplasma. Más aún, Gamow no explicaba cómo los aminoácidos reconocían las cavidades correctas, aunque la implicación era que lo hacían tridimensionalmente mediante sus cadenas laterales ajustándose en las ranuras. Tampoco se mencionaban las enzimas involucradas en el proceso (Judson, 1979).

Crick, como cristalógrafo de proteínas, no conocía ninguna razón por la cual las cavidades del código de diamante de Gamow en la hélice pudieran ofrecer la variedad y precisión de formas necesarias para diferenciar una o más muescas de objetos moleculares relativamente similares. Además Crick pensaba que la lista de aminoácidos de Gamow estaba en parte equivocada. Después de leer a Gamow, Watson y Crick se dispusieron a elaborar una lista de los 20 aminoácidos constituyentes de las proteínas, que más adelante resultó ser correcta.

2.2.2a La Hipótesis del Adaptador.

En 1956 Crick escribió un artículo que nunca fue publicado en una revista establecida, simplemente circuló entre los miembros del Club de la Corbata del ARN y, según el propio Crick, fue su artículo no publicado que tuvo mayor influencia.

Figura 4. Código Triangular.



La secuencia de números representa la secuencia de bases en una molécula de una sola hebra de ácido nucleico.

A	B	C	D
E	F	G	H
I	J	K	L
M	N	O	P
Q	R	S	T

20 posibles triadas del código triangular con su letra asignada correspondiente. (Simplificado de Gamow, G. et al., 1956).

La idea principal de este artículo, *On Degenerate Templates and the Adaptor Hypothesis* (Sobre templados degenerados y la hipótesis del adaptador), era que resultaba muy difícil considerar cómo el ADN o el ARN pudieran proporcionar un templado directo para los grupos laterales

de los veinte aminoácidos estándares. Muy probablemente, lo que cualquier estructura tendría sería un modelo específico de grupos atómicos que pudieran formar puentes de hidrógeno. Propuso entonces una teoría según la cual debían existir veinte adaptadores (uno para cada aminoácido), junto con veinte enzimas especiales. Cada enzima uniría a un aminoácido especial con su propio adaptador específico. Esta combinación se difundiría entonces al templado de ARN. Una molécula adaptadora encajaría sólo en aquellos sitios del templado de ácido nucleico en los que pudiera formar los puentes de hidrógeno necesarios para mantenerlo en su lugar. Detenido allí, habría llevado a su aminoácido justo al sitio correcto en el que se necesitaba (Crick, 1988).

Esta idea traía consigo varias implicaciones. Una de ellas era que el código genético podía tener *casi* cualquier estructura, pues sus detalles dependerían de qué aminoácido se uniera con qué adaptador. Esto tal vez habría sido decidido oportunamente en la evolución y posiblemente se debería al azar (Crick, 1988).

Aún quedaba por resolver, sin embargo, cómo, en el proceso de la síntesis de proteínas, un aminoácido podía acercarse a otro lo suficiente como para permitir que ambos se unieran, pues si sus tripletes no están sobrelapados, deben estar separados. S. Brenner sugirió que cada uno de los supuestos adaptadores podía tener una cola flexible, al final de la cual se unía el aminoácido correspondiente.

En ese momento ni Brenner ni Crick tomaron esta idea muy en serio, pues ambos estaban ocupados en otros asuntos. (Sin embargo, más tarde se probó que Brenner tenía razón, cada ARN de transferencia efectivamente tiene una pequeña cola flexible a la cual se une el aminoácido.) Otro aspecto de la misma cuestión a resolver era el siguiente: Dado que las moléculas de ARNm proporcionan la información para la síntesis de proteínas en los ribosomas, ¿Cuál es la forma en la que el mensajero ensambla los aminoácidos en una secuencia en el orden correcto predeterminado? (En 1958 Crick analizó este problema en su artículo *On Protein Synthesis*, Sobre la síntesis de las proteínas)

Sería fácil pensar ingenuamente que el ARN adoptaría una configuración capaz de formar veinte diferentes "cavidades", una para cada cadena lateral de los veinte aminoácidos. No obstante, en cuanto a los aspectos fisicoquímicos, la idea parecía más que improbable. Aparte del esqueleto de azúcar-fosfato que se había asumido como regular y que tal vez se encontrara unido a la proteína estructural de las partículas ribosomales, el ARN presentaba básicamente una secuencia de sitios en los cuales podrían formarse puentes de hidrógeno. Entonces se esperaba que cualquier molécula que se uniera con el templado de una forma específica, lo haría mediante el establecimiento de puentes de hidrógeno. Por lo tanto, parecía una hipótesis neutral que el aminoácido fuera llevado al templado mediante una molécula adaptadora, y que el adaptador fuera la parte que efectivamente encajaba en el ARN. En su forma más simple, esta hipótesis requeriría de veinte adaptadores, uno para cada aminoácido.

Crick se preguntaba qué clase de moléculas podrían ser estos adaptadores, la opción que resultaba más probable era que contuvieran nucleótidos. Esto les permitiría unirse al templado de ARN mediante el mismo apareamiento de bases que se encuentra en el ADN o en los polinucleótidos. También proponía que se requeriría de una enzima para unir a cada adaptador con su propio aminoácido y que la especificidad requerida para distinguir, digamos entre leucina, isoleucina y valina, sería provista por la enzima y no por cavidades del ARN. Las enzimas, al ser proteínas, probablemente pudieran hacer esas distinciones más fácilmente de lo que podrían hacerlo los ácidos nucleicos (Crick, 1988).

De esta manera, la hipótesis del adaptador llevaba una imagen del proceso de ensamblaje de aminoácidos en la que, antes de ser incorporado al polipéptido en formación, cada aminoácido se ajusta con un adaptador nucleotídico que contiene un triplete de nucleótidos, o *anticodón*, complementario en su secuencia nucleotídica al triplete de nucleótidos o *codón*, que codifica para el mismo aminoácido en el ARN mensajero. Los complejos aminoácido-nucleótido se difunden luego a los ribosomas donde son colocados en sus sitios en el templado mensajero por medio de puentes de hidrógeno entre las purinas y las pirimidinas complementarias

de las moléculas de ARN del adaptador y del mensajero. Una vez alineadas de esa manera a lo largo del mensajero de ARN en el orden correcto, los residuos aminoacídicos individuales se juntan entre sí mediante enlaces peptídicos, gracias a rearrreglos químicos que liberan simultáneamente al aminoácido de su enlace con el adaptador de nucleótidos y lo unen a la cadena polipeptídica en formación.

Mientras se discutían estas nociones, puramente especulativas, las investigaciones bioquímicas sobre enzimología de la síntesis de proteínas comenzaron a revelar grupos de reacciones específicas y componentes celulares que cada vez se parecían más al sistema postulado del adaptador. Así, en 1957 se descubrió un tipo de ARN desconocido hasta ese momento, primero en células eucariontes y pronto en bacterias, que, así como el ARN ribosomal (ARNr), era un compuesto celular *estable* pero que, a diferencia del ARNr, no era un miembro estructural de los ribosomas. Las cadenas de polinucleótidos de este nuevo tipo de ARN se vio que eran pequeñas (de alrededor de 80 nucleótidos de longitud) y se les llamó *ARN de transferencia* o ARNt porque, como se vio en el laboratorio de Paul Zamecnik, actuaban como agentes de transferencia de aminoácidos en la síntesis de proteínas (Stent, 1978).

Los estudios cuantitativos pronto demostraron que la reacción de unión de aminoácidos al ARNt era de una naturaleza muy específica, en cuanto a que, a todos y cada uno de los veinte aminoácidos estándares les corresponde al menos un tipo afín de ARNt que acepta ése y sólo ése aminoácido. Esta conclusión se obtuvo de la observación de que la cantidad máxima de un aminoácido dado que puede unirse al ARNt de un extracto celular es independiente de la presencia de los otros 19 aminoácidos. Esa cantidad máxima representa la *capacidad del receptor* para el aminoácido en cuestión y es una medida de la abundancia relativa de las moléculas de su ARNt afín de entre la mezcla del extracto celular (Stent, 1978).

En 1950, en la Universidad de Cornell, Robert W. Holley, otro de los descubridores del ARNt, comenzó a desarrollar métodos para aislar tipos especiales de ARNt a partir de la mezcla en el extracto celular. Estos

métodos dependían de un descubrimiento: las pequeñas diferencias químicas que distinguían un tipo de ARNt de otro, engendraban las ligeras diferencias en la distribución relativa de sus soluciones acuosas en los dos solventes inmiscibles: formamida y alcohol isopropílico. Después de múltiples extracciones se llegó a la conclusión de que a algunos de los 20 aminoácidos estándares les correspondía más de un tipo de ARNt afín (Stent, 1988).

Al mismo tiempo Paul Berg y su grupo lograron separar las enzimas activadoras de aminoácidos de *E. coli* en diversas fracciones, cada una de las cuales era capaz de catalizar la unión de un tipo particular de aminoácido a su tipo afín de ARNt. Encontraron, por ejemplo que la fracción de la enzima específica que une a la valina, cataliza la unión de la valina al ARNt más de 2500 veces más rápido que la unión de isoleucina, leucina o metionina. Pudieron concluir que la especificidad de la unión de un aminoácido a su tipo afín de ARNt dependía de la acción de una enzima activadora específica que consumara esta unión. Tan pronto se reconoció que ésta era su principal función fisiológica, se les llamó *aminoacil-tARN-sintetasas* a las enzimas activadoras de aminoácidos.

Estas pruebas demostraron que las moléculas de ARNt eran, en efecto, como los adaptadores supuestos por Crick, y que tres de los aproximadamente 80 nucleótidos que forman la cadena de ARNt representan el anticodón mediante el cual el aminoácido se reconoce por el codón de ARNm complementario en el proceso de formación del polipéptido en los ribosomas. Ya que las aminoacil-tARN-sintetasas logran unir a cada aminoácido con su adaptador correcto, representan el instrumento celular que descifra el código genético. Pero como la secuencia de aminoácidos de las tARN sintetasas, y por lo tanto la especificidad de su estructura, está a su vez inscrita en el ADN, el ADN, en un último análisis, contiene la información del código.

Una vez reunidas las pruebas indirectas en apoyo de estas ideas, en 1963, F. Chapeville, G. von Ehrenstein, B. Weisblum y S. Benzer aportaron una prueba experimental directa sobre la función adaptadora del ARNt. En este experimento la cisteína marcada con ^{14}C se unía a su ARNt afín en la

mezcla de reacción normal que contenía ATP y aminoacil-tARN-sintetasas. El complejo de ARNt-cisteína marcada era tratado con níquel hidrogenado a temperatura ambiente. Este procedimiento liberaba el grupo -SH de la cisteína y de esta forma, lo convertía en alanina. Así se producía el complejo que no se encontraría en la naturaleza entre la alanina marcada y las moléculas de ARNt afines a la cisteína.

Este complejo se agregaba a otra mezcla de reacción que contenía: polirribosomas extraídos de reticulocitos de conejo, ATP, el conjunto de aminoácidos sin marcar y más ARNt y aminoacil-ARNt-sintetasas. En tal mezcla, los polirribosomas que llevaban ARNm de hemoglobina, continuaron el ensamblaje de las cadenas polipeptídicas nacientes que estaban sintetizando en el momento de la extracción de la células sanguíneas de los reticulocitos. Los investigadores encontraron entonces que la alanina marcada con ^{14}C que habían agregado a la mezcla de reacción en forma del complejo, junto con el ARNt específico de cisteína, en efecto se estaba incorporando a las cadenas alfa de la hemoglobina *in vitro*. Posteriormente ubicaron las posiciones exactas de la cadena alfa en las cuales se ubicaba la ^{14}C -alanina y encontraron que había sido introducida en las posiciones en las cuales la cisteína (y no la alanina) está generalmente presente. De aquí pudo concluirse que, en total acuerdo con la hipótesis del adaptador de Crick, éste es reconocido (en el proceso de ensamblaje de polipéptidos) sólo por la especificidad estructural de ese ARNt adaptador y no por la naturaleza de su grupo lateral particular (Stent, 1978).

2.2.2b Códigos sin comas.

En febrero de 1957, F. Crick, J.S. Griffith y L. Orgel publicaron el artículo *Codes without commas* (Códigos sin comas) en el cual presentaron un avance en la solución al problema del código porque con él obtuvieron el "número mágico, 20". (Partieron de que la solución matemática debía ser veinte pues experimentalmente se habían obtenido 20 aminoácidos. Como en su "experimento matemático" Crick logró obtener este número, lo

calificó de mágico).^{*} Sabían que debían ser 20 los aminoácidos encontrados en la naturaleza pero no sabían qué tipo de relación matemática y física existiría entre ellos y las cuatro bases nitrogenadas, por lo que consideraron a este número como un "número mágico".

Plantearon que un código sobrelapado (de dos bases), como el de Gamow, resultaba inverosímil, y que un código parcialmente sobrelapado (sobrelapado de una base) no resultaría imposible; sin embargo el más probable parecía ser el no sobrelapado.

Dado que si un aminoácido estuviera codificado por dos bases sólo sería posible tener 16 aminoácidos diferentes, es natural que consideraran un código no sobrelapado en el cual tres bases codificaran un aminoácido. Al tener entonces 64 posibilidades (cuatro por cada posición de las tres bases, $4 \times 4 \times 4 = 64$), se plantearon las preguntas de por qué no había 64 tipos distintos de aminoácidos y de cómo decidir qué grupos de tres bases escoger. Esto último podría solucionarse si la lectura comenzara desde un extremo.

Por ejemplo, en la secuencia nucleotídica ABCDABCDABCDABCD ... conociendo el extremo (^) se tiene:

^ABC, DAB, CDA, BCD, ABC, ...

pero si no se tiene el extremo de la secuencia, la situación se complica:

... , ABC, DAB, CDA, BCD, ABC, ... ó

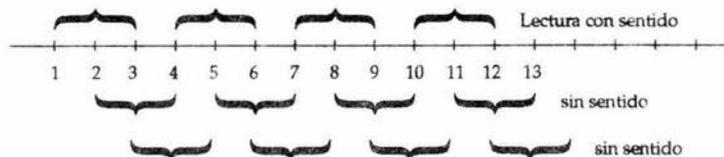
..A, BCD, ABC, DAB, CDA, BCD, ...

Asumieron entonces que había algunas secuencias de tres nucleótidos con las cuales un aminoácido podía asociarse y otras en las

^{*} En este tiempo, cada vez que los bioquímicos encontraban un aminoácido nuevo, éste se agregaba a la lista de aminoácidos conocidos, si bien se sabía que no todos se encontraban en los seres vivos y que algunos eran aminoácidos "modificados" a partir de otro "aminoácido base".

cuales esto no era posible, es decir, algunas tenían sentido y otras no (eran sin sentido). Cualquier secuencia posible de *aminoácidos* podía ocurrir. Dos tripletes cualesquiera que tuvieran sentido podían ser puestos lado a lado y, sin embargo, los tripletes sobrelapados así formados siempre debían ser sin sentido.

Figura 5.



Los números representan las posiciones que ocupan las cuatro bases (Crick, *et al.*, 1957).

Obviamente con estas restricciones no sería posible codificar 64 aminoácidos. El problema matemático era encontrar el número máximo que podía ser codificado. Como el número no podía ser mayor de 20, se consideraron primero las restricciones de tener un aminoácido junto a sí mismo. Con esto claramente el triplete AAA debía ser sin sentido, ya que dos de estos aminoácidos se encontrarían adyacentes (**BB**), lo cual implicaría la secuencia:

AAA AAA

(posiciones) 1 2 3, 4 5 6

El problema que surgía era que esta secuencia podría mal interpretarse al asociar el aminoácido con las bases segunda a cuarta o tercera a quinta.

..A, AAA, AA., ...	ó	.AA, AAA, A., ...
1. 2 3 4, 5 6		1 2, 3 4 5, 6

Así se rechazaron los tripletes AAA, BBB, CCC y DDD.

Los 60 tripletes restantes, podrían agruparse en 20 juegos de tres bases cada uno, cada juego de tres al estar formado por permutaciones cíclicas entre sí (con las tres bases A, B y C), éstas podrían ordenarse de las tres maneras cíclicas posibles:

ABC; BCA; CAB

(posiciones)

1 2 3; 2 3 1; 3 1 2)

Como había que escoger un triplete de cada grupo cíclico como máximo, no era posible elegir más de veinte. Realizaron las opciones de 20 secuencias permitidas de modo que no se produjeran tripletes sobrelapados que pertenecieran al mismo juego de permutaciones. Llegaron a un total de 288 posibles soluciones, producidas tanto por el intercambio de letras como por el reverso de la dirección del código.

Propusieron además que una cadena sencilla de ARN era el templado y que los intermediarios en la síntesis de proteínas eran veinte moléculas distintas, cada una integrada por un trinucleótido unido químicamente a un aminoácido. Estas moléculas intermediarias se combinaban – mediante puentes de hidrógeno entre bases – con el templado de ARN, y así aguardaban la polimerización. Si el aminoácido-trinucleótido (molécula intermediaria) se difundía a un sitio equivocado del templado, de modo que dos de sus bases estuvieran unidas por puentes de hidrógeno, la tercera no lo estaría. Esta unión incompleta sólo retendría poco tiempo al intermediario antes de que se soltara y difundiera en otro sitio. Pero si se encontraran en el lugar adecuado, las tres bases formarían puentes de hidrógeno y el intermediario se retendría por más tiempo. Así se aseguraba que la unión más duradera pudiera presentarse sólo en los puntos en que se necesitara el intermediario.

Si un intermediario se uniera en una posición mala, bloquearía el proceso de síntesis pero con este modelo ello no ocurriría ya que, al no formarse los puentes, la unión sería débil y no perduraría. Así se permitía que los intermediarios se acumularan en las posiciones correctas del

templado sin bloquear el proceso. Este ejemplo da la idea física detrás del concepto puramente teórico del código sin comas.

Crick y sus colaboradores previeron que se llegara a criticar su modelo por presentar ciertas dificultades estereoquímicas, debidas al hecho de que tres nucleótidos no sobrelapados codificaran un aminoácido. Estas dificultades se veían superadas si se asumía que la cadena polipeptídica, al momento de ser polimerizada, no se mantenía unida al templado ya que los grupos laterales de los aminoácidos entorpecerían la síntesis.

Concluyeron que las consideraciones del momento les resultaban demasiado precarias como para confiar en el código, pero lo presentaron porque con él obtenían el "número mágico: 20" (Crick *et al.*, 1957).

Algunas objeciones contra este código consistían en que sus codones no contenían sitios silenciosos, de modo que cualquier reemplazo de un nucleótido en los codones de este código produciría un cambio en la asignación de aminoácidos o un codón sin sentido. El 70% de las posibles sustituciones de un solo nucleótido producidas por mutaciones puntuales darían lugar a codones intraducibles. Esto no permitiría que se dieran cambios en el código. Esta objeción del código sin comas – el bloquear la variabilidad y por lo tanto la evolución – era tal vez su principal defecto.

Se terminó con este código gracias a una buena observación de S. Brenner (mencionada en el capítulo 3) y a la prueba de Nirenberg de que la secuencia de codones UUU codificaba para polifenilalanina y que el codón AUG es el codón de inicio (Osawa *et al.*, 1992).

2.2.2c Naturaleza del código genético.

En 1961, F. Crick trabajaba en el Laboratorio de Biología Molecular del Medical Research Council en Inglaterra junto con L. Barnett, S. Brenner y R.J. Watts-Tobins. En diciembre de este año publicaron en la revista *Nature* el artículo *General Nature of the Genetic Code for Proteins* (La naturaleza general del código genético para proteínas). En él se reportaban experimentos sobre genética que, junto con los experimentos de



Whittman, Tsugita, Fraenkel-Conrat, Brenner, Griffith y Orgel, sugerían que el código genético tenía las siguientes características:

a) Un grupo de tres bases (o menos probablemente un múltiplo de tres) codificaba para un aminoácido.

b) No era sobrelapado.

c) La secuencia de las bases se leía desde un punto de partida fijo. Si se desplazaba el punto de partida una base, entonces se desplazaba la lectura en tripletes y por eso mismo se volvía incorrecta.

d) Probablemente era degenerado, es decir, un cierto aminoácido podía ser codificado por uno o varios tripletes de bases.

2.3 El no sobrelapamiento del código.

Sydney Brenner había demostrado teóricamente que, si el código fuera universal (esto es, que fuera el mismo en todos los seres vivos) cualquier código sobrelapado sería imposible. Durante un tiempo se pensó que el código debía ser sobrelapado y, por lo tanto, continuaba la búsqueda de restricciones en la secuencia de aminoácidos. Conforme se fueron conociendo nuevas secuencias, se fueron agregando a las que ya se tenían, pero en gran parte se ignoraba cuáles podían ser las secuencias "prohibidas" (secuencias de bases que no pudieran estar una al lado de la otra). Los datos con que se contaba eran tan escasos que al principio no podían estar seguros de que faltaran algunas secuencias. La búsqueda se restringió sobre todo a aminoácidos adyacentes. Hay 400 (20x20) posibles dobletes de aminoácidos. Cualquier triplete sobrelapado podría codificar sólo 256 (64 tripletes posibles X 4 bases distintas) de estos, por lo que debía de haber restricciones si el código fuera de ese tipo. S. Brenner advirtió que este argumento podía ser reforzado: Cualquier triplete podría tener sólo cuatro tripletes distintos adyacentes de cada lado. Por ejemplo, si el triplete en cuestión fuera AAT, entonces los únicos tripletes que podrían precederlo serían: TAA, CAA, AAA y GAA, mientras que sólo ATT,

ATC, ATA y ATG podrían seguirlo, asumiendo como siempre que el código fuera sobrelapado.

Al triplete:	A A T	
Podrían	T A A	
precederlo:	C A A	
	A A A	
	G A A	
	A T T	: podrían
	A T C	seguirlo
	A T A	
	A T G	

Así, si en las secuencias conocidas, se hubiera visto que un aminoácido en especial tenía al menos nueve aminoácidos adyacentes diferentes siguiéndolo, tendría que tener al menos tres tripletes asociados a él, ya que dos tripletes podrían tener sólo ocho vecinos adyacentes. Brenner pudo demostrar que el número de tripletes necesarios excedía fácilmente los 64 y por esto concluyó que *todos* los códigos de tripletes sobrelapados eran imposibles. Esta prueba asumió que el código era universal.

La prueba de que el código no era sobrelapado la dieron Whittmann, Tsugita y Fraenkel-Conrat, quienes trabajaron con las mutantes del virus del mosaico del tabaco producidas con ácido nítrico. En un código de tripletes sobrelapados, una alteración en una base, en general cambiaría los tripletes aminoácidos adyacentes de la cadena polipeptídica. El trabajo de estos investigadores sobre las aclaraciones producidas en la proteína del virus mostró que, en general, cada vez se cambia sólo un aminoácido, como resultado de tratar al ácido ribonucleico del virus con ácido nítrico. En los casos más raros en los que eran dos los aminoácidos que se alteraban (posiblemente debido a que el ácido había producido dos

desaminaciones separadas en una pieza de ARN), los aminoácidos alterados no se encontraban en posiciones adyacentes en la cadena polipeptídica. Esta prueba apoyaba el *no* sobrelapamiento del código (Crick, *et al.*, 1961).

Si el código no era sobrelapado, debería haber ciertos arreglos que mostraran cómo debían seleccionarse los tripletes correctos de entre la secuencia continua de bases. Brenner y Crick trabajaron con el cistrón B de la región r II del bacteriófago T4 que infecta a *E. coli*. Utilizaron acridinas, mutágenos que deletan o agregan una base y casi siempre producen mutantes en las que la función del gen se ve totalmente afectada.

Si una mutante se había producido por una deleción, al agregar una base debería "regresarse" al tipo silvestre, causando otra mutación en un punto cercano del mapa genético. Esta segunda mutación funcionaría como supresora de la original. En la mayoría de los casos se volvía al tipo silvestre produciendo una mutante doble, así podían también producirse mutantes supresoras de supresoras (Fig. 6).

Cuando se producía una sola deleción, el gen no funcionaba, pero cuando había dos mutaciones presentes en el mismo segmento de ADN, a pesar de que la lectura entre las dos mutaciones era incorrecta, la lectura original sería restaurada para el resto del gen.

Los estudios con dobles mutantes (+ y -) presentaron la posibilidad de que unos de los tripletes no tuviera sentido o que representarían el fin de la cadena. El uso de triples mutantes del mismo tipo [(+, +, +) ó (-, -, -)] también restauraba la función del gen, lo que favorecía la idea de que el código se leía de tres en tres (o múltiplos de tres) bases.

2.4 Comienzo de la lectura en un punto fijo y tripletes con sentido.

En 1962 Crick experimentaba induciendo mutaciones en el fago T4. Trabajó con dos tipos de mutaciones:

1) mutaciones con corrimiento del marco de lectura: deleciones o inserciones en las cuales se ve afectado el número de bases, y tanto el

mensaje como la lectura se alteran; y 2) la sustitución de bases, en las cuales se da un cambio de una base por otra.

Al considerar que el código era de tripletes, se pensaba que si se escogía un juego de tripletes equivocado, la lectura no tendría sentido y la proteína no se formaría. El mensaje se leía comenzando en un punto fijo y se leía de tres en tres bases con lo cual se obtenía que sólo había una manera correcta de leerlo y dos erróneas (si no se empezaba en la base indicada del triplete correspondiente).

Los resultados de los experimentos de mutaciones con corrimiento de lectura fueron los siguientes:

De acuerdo con su propuesta de 1962, cuando existía una deleción o inserción, el gen resultante no podría funcionar y, del punto de la mutación en adelante, la lectura sería incorrecta. Cuando se presentaban varios pares de mutaciones juntas se podía devolver la actividad al gen y éste podía funcionar adecuadamente.

Crick y su grupo trabajaron con mutaciones a las que llamaron "más" (+) cuando había una inserción y "menos" (-) cuando había una deleción. En un experimento, al producir artificialmente dos mutaciones "menos" en un gen, éste no tenía función; cuando se producían dos mutaciones "más" tampoco tenía función y lo mismo ocurría cuando se producía una mutación "más" y una "menos" que se encontraran lejanas. En cambio, la función se restablecía si ambas mutaciones se encontraban cerca. En un código de tripletes no funcionaría nunca un gen con un par de mutaciones "más-más" ni un par "menos-menos".

Al tener los 64 tripletes posibles y sólo 20 aminoácidos, se observaba que debían existir dos o más tripletes por cada aminoácido. Al menos uno o dos de los posibles tripletes presentarían información diferente como "inicio" o "fin"; estos serían "tripletes sin sentido" (porque no codificarían para ningún aminoácido). Si entre una mutación "más" y una "menos" se presentara un triplete sin sentido, se codificaría para fin y el gen no tendría función.

Las dos formas de leer erróneamente el mensaje podían ser:

1. Si la mutación "más" estaba a la izquierda de la "menos"
2. Si la mutación "menos" estaba a la izquierda de la "más".

En uno de los experimentos obtenían que si había una "más" a la izquierda de una "menos", el gen funcionaba, pero cuando era la "menos" la que estaba a la izquierda de la "más", el gen no funcionaba. Explicaron esto proponiendo que en un caso gracias a la mutación se formaba un triplete sin sentido y en el otro no era así. Entonces realizaron el siguiente experimento:

Si cambiaban una base en el extremo izquierdo del gen B, éste resultaba activo (puesto que no era esencial) y el resto se leía bien. Algunas veces, sin embargo, el gen se volvía inactivo, por lo que supusieron que se trataba de un triplete sin sentido, pero pudieron abolir este sin sentido cambiando la lectura, esto es, añadiendo una mutación "menos" y una "más" alrededor del sin sentido.

Todos estos experimentos sugerían que el mensaje comenzaba en un punto fijo, de modo que surgió la pregunta de dónde se iniciaba un gen y cómo terminaba, dado que en el ADN no había nada que los separase y cada par de genes, A y B, era muy diferente (se podía medir su función separadamente). Sin importar qué mutación se produjera en el gen A, el gen B no se alteraba (y viceversa).

Por ello supusieron que debía haber algo en el ADN entre dos genes que los aislara entre sí. Trabajaron con una mutante que había perdido parte del gen A y parte del gen B; el gen B seguía funcionando. Más tarde se vio que era una deleción (que no era un hueco) y se supo al compararlo con el tipo silvestre. Con cierta mutación (la 1589) se veía afectado el gen A y también el gen B, por lo tanto se pensó que habían perdido su separación y se tenía aparentemente un solo gen. Esto indicó que la lectura venía desde un extremo.

En cuanto a los experimentos de mutaciones de sustitución de bases, los resultados fueron los siguientes:

En este tipo de mutaciones (cuando se da un cambio de una base por otra), algunas veces el gen funcionaba y otras no, en estas últimas se tenía

un triplete sin sentido. Se suponía que ambos genes no producían dos piezas separadas de ARNm, sino una sola, originando una proteína mixta sin (o poca) actividad del gen A y actividad del gen B.

Se habría llegado a lo mismo si se tratara de "cuadrupeles" o de grupos mayores de bases. Si se tenía la mutación original más otra (dos mutaciones "más"), la fase de lectura se cambiaba. Si se tenían estas dos mutaciones más otra, (tres mutaciones "más"), la fase de lectura se cambiaba (dando la segunda opción de lectura equivocada), y si se tenía la mutación original más otras tres mutaciones, se leía en la fase correcta, excepto en el espacio entre las mutaciones "más". Aunque lo más seguro era que las bases se leyeran de tres en tres, no se había descartado la posibilidad de que la lectura se llevara a cabo en grupos de múltiplos de tres bases.

Otro resultado relevante de estos experimentos era que la frecuencia de codones sin sentido era baja, lo cual indicaba que la mayoría de los 64 tripletes no eran sin sentido y, por lo tanto, codificaban aminoácidos. Así pues, el código era degenerado.

Se obtuvieron tres conclusiones generales de este trabajo:

- 1.- El mensaje es leído en grupos no sobrelapados a partir de un punto fijo, probablemente de un extremo; este punto determina la lectura correcta.
- 2.- El mensaje se lee en grupos de tamaño fijo, probablemente de tres.
- 3.- Hay pocos tripletes sin sentido; la mayoría de ellos representan aminoácidos.

Las ideas de Crick sobre el código genético en esta época se reflejan en un artículo publicado en *Scientific American* en 1966. Según Crick, el código genético no era el mensaje en sí, sino el **diccionario** utilizado por la célula para traducir de un lenguaje de cuatro letras de ácidos nucleicos a uno de veinte letras de proteína. La maquinaria de la célula sólo podía traducir en una dirección: de ácido nucleico a proteína y no en sentido opuesto. El mensaje contenido en el ADN primero se transcribía a un ARN mensajero (ARNm).

Para descifrar el código habría sido suficiente comparar ambas secuencias (de aminoácidos y de bases nitrogenadas), pero en este momento resultaba aún muy difícil determinar la secuencia de un ácido nucleico.

2.5 Sistemas *in vitro*.

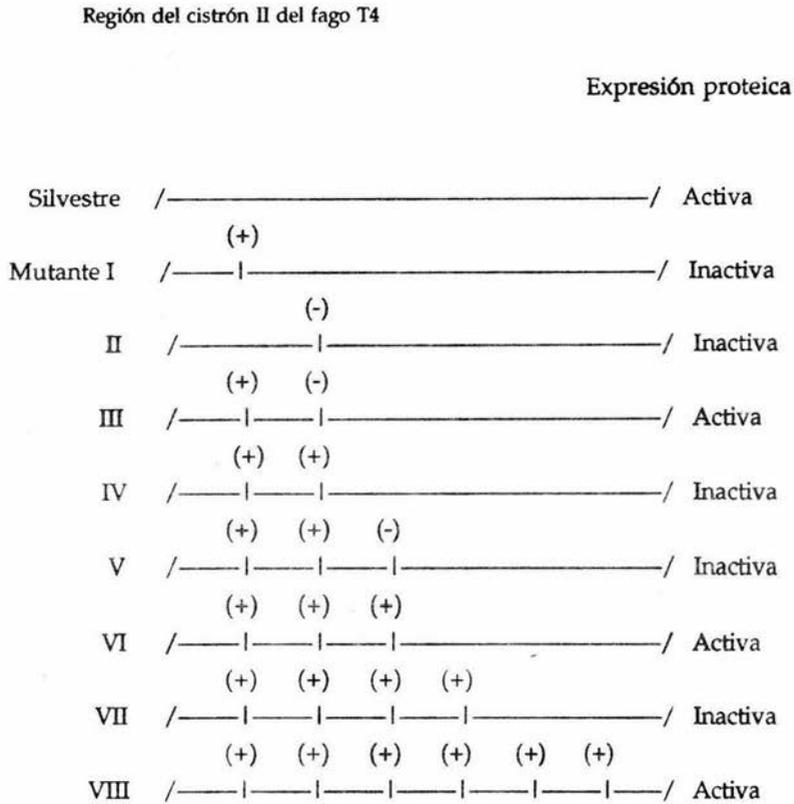
Una cosa fue probar, como lo hicieron Crick y Brenner en 1961, mediante sus experimentos con mutantes de corrimiento del marco de lectura del fago T4, que el código genético en efecto representa cada uno de los 20 aminoácidos estándar por codones tripletes de nucleótidos – y otra cosa totalmente diferente fue descifrar ese código y descubrir qué aminoácido estaba codificado por cuál de los 64 tripletes posibles de nucleótidos.

Algunos de los estudios experimentales para la asignación de significado de la mayoría de los codones son los de Marshal W. Nirenberg. Resume su trabajo en un artículo llamado *The Genetic Code: II* (El Código Genético: II), escrito como continuación del artículo de Crick del mismo nombre (*The Genetic Code*, 1962).

La estrategia de Nirenberg fue sintetizar cadenas polipeptídicas en un sistema *in vitro*. Generalmente se lisaban células de *E. coli*, se centrifugaba la mezcla para remover la pared celular y los fragmentos de membrana y se les extraía el aparato de la síntesis de proteínas. Para el experimento Nirenberg además agregó ATP como fuente de energía, los veinte tipos de aminoácidos y ARN sintético. Observó que cada tipo de ARNm dirigía la incorporación únicamente de ciertos aminoácidos. Con este método se conoció la *composición* de muchos codones, mas no su orden en el triplete.

Antes de Nirenberg otros habían logrado síntesis de proteínas *in vitro* utilizando aminoácidos marcados, ribosomas, ARNt, aminoacil ARNt sintetasa y ATP, pero siempre contenían un ARNm endógeno. Nirenberg tuvo éxito en destruir este ARNm endógeno, logrando así la síntesis de polipéptidos dependiente de la adición de ARNm exógeno.

Figura 6. Experimentos con mutantes del bacteriófago T4.



Prueba genética de un código de tripletes. Combinaciones de mutantes producidas por acridina. Se muestra el tipo de producto proteico en bacteriófagos mutantes crecidos en una bacteria huésped estándar. (+) y (-) se refieren a las clases diferenciales de mutaciones que surgen por la adición o la delección de un par de bases en el gen.

En una ocasión se agregó a la mezcla de reacción de lectura de cualquier ARNm, poli-U (poli-uracilo) y, sorprendentemente se obtuvo polifenilalanina. Por lo tanto se dedujo que el codón UUU codificaba para fenilalanina. (Más tarde se vio también que poli-C (CCC) codificaba para poliprolina.) Así el desciframiento del código genético se hizo accesible por métodos químicos directos.

Otra técnica desarrollada por Nirenberg y Philip Leder en 1964 fue la del "ensayo de unión al ribosoma" para asignar codones a secuencias. Utilizaban un trinucleótido para imitar a un codón particular, causando que el aminoacil-ARNt correspondiente se uniera al ribosoma. Pudieron aislar el triple complejo de trinucleótido-aminoacil-tARN- ribosoma aprovechando la habilidad del ribosoma de unirse a filtros de nitrocelulosa. El propio aminoacil-ARNt no se une a tales filtros, pero se retiene como parte del triple complejo – los ARNt libres pasaban a través del filtro. Su retención se puede seguir mediante marcaje radiactivo en el componente aminoácido (con ^{14}C y ^3H). Entonces pudieron determinar el significado de cada trinucleótido probando cuál de los veinte aminoacil-ARNt marcado se retenía en el filtro (Lewin, 1987). De esta forma sintetizaron los 64 tripletes y los probaron para sus propiedades de codificación. Únicamente tres tripletes dieron resultados ambiguos, pero Crick opinó que esto resultaba un artefacto del método, "La prueba de unión daba el significado de la mayoría de los tripletes, pero no establecía firmemente a todos" Crick, 1966.

Ambas técnicas, utilizadas en combinación, asignaron significado a 61 de los 64 codones *in vitro*. Desde entonces, la secuencia del ADN ha hecho posible la comparación directa de nucleótidos correspondientes y secuencias de aminoácidos. La secuencia de la hebra codificadora de ADN, leída en dirección 5' a 3', consta de tripletes que corresponden a la secuencia de aminoácidos de la proteína del extremo N-terminal al extremo C-terminal. Todo el código genético ha sido confirmado al detalle a partir de este tipo de análisis (Lewin, 1987).

Al analizar el código es fácil observar que los tripletes que codifican un aminoácido son frecuentemente similares entre sí. Un aminoácido es

seleccionado en gran medida por las primeras bases del triplete, en algunos sólo importan las dos primeras posiciones, no importa qué base sea la tercera, el aminoácido es el mismo.

2.6 Representación del código genético.

El resultado final de los esfuerzos por descifrar el código fue la tabla del código genético propuesta por Crick. El arreglo de ésta tuvo un significado para la biología que ha sido comparado al de la Tabla Periódica de los Elementos en la química. En esta tabla, cada uno de los veinte aminoácidos proteicos se representa por una abreviación de tres letras. El codón de triplete correspondiente a cualquier posición en la tabla se puede leer según las siguientes reglas: (Figura 7)

1.- La base del primer nucleótido del codón se da por la letra grande dada a la izquierda, que define una línea horizontal que contiene cuatro líneas.

2.- La base del segundo nucleótido se da por la letra mediana en la parte superior, que define una columna vertical correspondiente a 16 codones.

3.- La intersección de las líneas y columnas define una "caja" de cuatro codones, todos los cuales llevan las mismas bases en el primero y segundo nucleótidos.

4.- La base del tercer nucleótido está dada por la letra pequeña a la derecha, que define una línea dentro de cualquier horizontal.

Esta tabla revela las siguientes características importantes del código genético:

1.- El código contiene muchos *sinónimos*; casi todos los aminoácidos están representados por más de un codón.

2.- El código tiene una estructura definida, los sinónimos del mismo aminoácido no se encuentran dispersos al azar en la tabla. Los codones sinónimos casi siempre están en la misma caja y por lo tanto difieren entre sí sólo en el último de los tres nucleótidos. (Las excepciones,

Arg, Ser, Leu, tienen seis codones sinónimos y por lo tanto se encuentran dispersos en más de una caja.)

Existe un uso diferencial de codones sinónimos en distintos organismos en especies bacterianas. Cada especie "escoge" un sinónimo diferente y al analizar sus secuencias de proteínas se ve que tienen exactamente la misma información.

3.- El código contiene *codones sin sentido*; estos son UAG, UAA y UGA que codifican el término de cadena y no codifican para ningún aminoácido. Su existencia se infirió primero a partir del comportamiento en el crecimiento de algunas mutantes del fago T4 (Stent, 1987).

2.7 Comprobación del código.

Crick propuso diferentes formas para comprobar el código propuesto aprovechando la evidencia experimental de otros investigadores, labor considerada típicamente propia de un científico "teórico". Según él, el código se comprobaría al:

- 1.- Comparar un ARNm conocido con la secuencia de aminoácidos que se sintetizan.
- 2.- Con el uso de mutaciones: a) de sustitución de bases
b) corrimiento del marco de lectura
- 3.- Con la comparación de los anticodones del ARNt con codones específicos.

1- La primera forma de confirmar el código genético consistía en sintetizar una molécula de ARNm con una secuencia de bases estrictamente definida y luego encontrar la secuencia de aminoácidos del polipéptido así producido. Este tipo de trabajo fue realizado por H. Gobind Kohrana en 1965 en la Universidad de Wisconsin. Por ejemplo, se esperaba que un ARNm con tres bases ABC, ABC, ABC, diera lugar a un homopolipéptido que tuviera el aminoácido que es codificado por ABC, pero como el punto de partida no estaba bien definido, se obtuvieron los aminoácidos ABC, BCA y CAB.

No se sabía, por ejemplo, de los posibles tripletes compuestos por (U₂G), cuál dentro de UUG, UGU y GUU era valina (val), cisteína (cis) y leucina (leu); entonces había que utilizar ribopolinucleótidos de secuencianucleotídica *definida*, más que al azar. Khorana sintetizó directamente tales polinucleótidos. Logró sintetizar copolímeros como

UGUGUGUGUGUGU

y originó un polipéptido formado de: Val -Cis -Val -Cis- Val - Cis
por la secuencia: UGU- GUG - UGU - GUG - ...

Evidentemente leucina *no* era UGU (de los posibles U₂G); y dentro del grupo UG₂ triptofano ni glicina tampoco eran GUG. Tampoco era posible que valina y cisteína fueran sinónimos. Khorana logró obtener secuencias repetidas de trinucleótidos como:

UUGUUGUUGUUGUUG

y obtuvo polileucina, policisteína y polivalina, dependiendo del punto de inicio de la lectura: ya fuera UUG ó UGU ó GUU, y además confirmó que esos tres aminoácidos eran isómeros de (U₂G). Utilizando este método Khorana confirmaron al rededor de 25 tripletes (Stent, 1987).

Con esto se comprobó que definitivamente el codón está compuesto de un número non de nucleótidos, eliminando así la ligera posibilidad que dejaba la prueba de Crick y Brenner sobre la naturaleza de tripletes del código, de que el codón podía constar de seis - más que de tres - nucleótidos. De ese modo se demostró que efectivamente *el código se lee en tripletes*.

2- Pudieran criticarse estos métodos de no ser confiables al no trabajar *in vivo*. Para trabajar realmente con células, se utilizaron las mutaciones.

2a.- Para el caso de sustitución de bases se realizaron estudios:

- i) Por muchos grupos de investigación con mutantes de hemoglobina humana.
- ii) Por un lado Hans Whittmann del Max Planck Institute for Molecular Genetics en Tübingen y por el otro Akita Tsugita y Heinz Fraenkel-Conrat

de la Universidad de California en Berkley trabajaron con mutantes del virus del mosaico del tabaco. Realizaron diversos estudios, pero el hecho de que casi todos los reemplazos sólo tenían que ver con un residuo de aminoácido a la vez ofreció la primera prueba directa de la idea que ya se tenía desde hacía mucho tiempo de que el código genético *no* era sobrelapado, cada nucleótido formaba parte de *un* sólo codón.

iii) Por Charles Yanofsky y su grupo en la Universidad de Stanford, California. Trabajaron con mutantes de la proteína A de la enzima triptofano sintetasa de *E. coli*.

En casi todos los casos se vio que el cambio de un aminoácido de una proteína pudo ser causado por la sustitución de una base. El estudio de mutaciones reales ha confirmado muchos aspectos del código genético.

En muchos casos se sabía qué base se cambia por qué base con un cierto mutágeno. A pesar de que el código se dedujo principalmente a partir de experimentos con *E. coli*, parecía ser que lo mismo se aplicaba al hombre y a las plantas; entonces se tenía que el código era el mismo o muy similar en la mayoría de los organismos.

(En 1979 se encontró que el código de las mitocondrias de vertebrados difería del código universal pues utilizaba los codones AUA para codificar para metionina y UGA para triptofano, lo cual derrumbó la idea que se tenía del código universal estático, sin cambios. Más tarde se vio que el código ha cambiado en organismos como ciertos protozoarios ciliados. Esto prueba que el código genético sigue evolucionando, tanto en genomas mitocondriales como nucleares (Osawa *et al.*, 1992)).

2b.- Para el caso de mutaciones con corrimiento del marco de lectura, se tiene que la lectura en una fase puede corregirse si se provoca otra mutación (contraria) más adelante sobre el ADN. Se alteran así dos aminoácidos y todos aquellos aminoácidos que se encuentran entre las dos mutaciones. Esto fue confirmado por George Streisinger y su grupo de la Universidad de Oregon.

Streisinger construyó una doble mutante del gen de la lisosima del fago T4 con el marco de lectura corregido, llevaba dos mutaciones con

Figura 7. Tabla del Código Genético

	U	C	A	G	
U	UUU } UUC } _{Phe} UUA } UUG } _{Leu}	UCU } UCC } UCA } _{Ser} UCG }	UAU } UAC } _{Tyr} UAA * UAG *	UGU } UGC } _{Cys} UGA } UGG } _{Trp}	U C A G
C	CUU } CUC } CUA } _{Leu} CUG }	CCU } CCC } CCA } _{Pro} CCG }	CAU } CAC } _{His} CAA } CAG } _{Gln}	CGU } CGC } CGA } _{Arg} CGG }	U C A G
A	AUU } AUC } _{Ile} AUA } AUG } _{Met}	ACU } ACC } ACA } _{Thr} ACG }	AAU } AAC } _{Asn} AAG } AAG } _{Lys}	AGU } AGC } _{Ser} AGG } AGG } _{Arg}	U C G G
G	GUU } GUC } GUA } _{Val} GUG }	GCU } GCC } GCA } _{Ala} GCG }	GAU } GAC } _{Asp} GAA } GAG } _{Glu}	GGU } GGC } GGA } _{Gly} GGG }	U C A G

El código genético consta de 64 combinaciones de tripletes con sus aminoácidos correspondientes. Es muy clara la importancia de las dos primeras letras. Algunos codones no estaban aún resueltos con certeza.

* representa las cepas de bacterias que se utilizaron, llamadas "ocre y ámbar". UAA y UAG pueden ser señales de término. (Crick, 1966).

corrimiento del marco de lectura yuxtapuestas y de signo contrario. La lisosima formada por el fago mutante se aisló y su secuencia de aminoácidos se comparó con la de la lisosima formada por el fago T4 silvestre. Con este resultado se confirmó la propuesta puramente especulativa de Crick y Brenner acerca del efecto de una mutación con corrimiento del marco de lectura.

Los resultados de Streisinger confirmaron los codones dudosos (como UUA para leucina y AGU para serina) y se aclaró qué codones realmente se utilizaban en el mensaje genético. Por la dificultad de esta técnica no fue posible hacerlo en muchos casos. También probó que los dos lenguajes, en efecto, se traducían por la célula en la *misma* dirección y no en direcciones opuestas. (Esto ya había quedado establecido por Severo Ochoa de la New York University). Por convención, se tenía que el extremo amino terminal se colocaba del lado izquierdo de la proteína y el extremo 5' se colocaba en el extremo izquierdo del ácido nucléico.

3.- Otro método para comprobar el código genético era el del análisis de las tres bases del anticodón de un tipo particular de ARNt. Los investigadores tenían ya las secuencias de ciertos anticodones y los compararon entre sí. Robert W. Holley y colaboradores, de la Universidad de Cornell fueron los primeros en determinar la secuencia completa de un ARNt, el del alanina-ARNt obtenido de levaduras. Un anticodón posible en la mitad de la molécula tenía la secuencia IGC (donde I es inosina, base muy similar a la guanina). Más tarde Hans Zachau y su grupo de la Universidad de Colonia, Alemania, establecieron las secuencias de dos serina-ARNts muy relacionados, a partir de levaduras. James Madison y colaboradores del U.S. Plant, Soil and Nutrition Laboratory en Ithaca, N.Y. obtuvieron la secuencia del tirosina ARNt, también de levaduras. Una comparación detallada de estas tres secuencias indica casi ciertamente que los anticodones son alanina-IGC, serina-IGA, y tirosina-G δ A (δ : pseudo ácido uridílico que forma pares de bases como el uracilo).

Todos estos resultados estaban de acuerdo con la regla que: codón y anticodón se apareaban de modo antiparalelo. El apareamiento de las

primeras dos posiciones es estándar AU y GC; el caso de la tercera posición era más complicado. Se tuvo entonces prueba experimental tanto de parte de Nirenberg como de Khorana de que un ARNt puede reconocer varios codones siempre que sólo difieran en la última posición. Se sugirió que esto se debía a que había un bamboleo en el apareamiento de la última posición. Crick habla ya en 1966 de esta idea pero la califica de ser todavía especulativa. Propusieron, además, una tabla de qué bases del anticodón podrían ir con qué bases del codón.

Aún había muchas cosas por saber como, por ejemplo, no se sabía a qué aminoácido representaba el triplete UGA, no estaba especificado y que la puntuación sólo se conocía parcialmente. Los codones UAA y UAG terminaban la cadena polipeptídica, pero no se sabía qué triplete estaba al final del gen.

La iniciación en *E. coli* se lleva a cabo por la formilmetionina (aunque más tarde se le quita el grupo formilo y en algunas ocasiones también la metionina misma). No se sabe cómo se lleva a cabo la iniciación en mamíferos ni en otros individuos. Desafortunadamente era muy posible que muchos codones fueran ambiguos, es decir, que codificaran para más de un aminoácido.

La dilucidación del código genético confirma que la información genética se guarda en un mensaje unidimensional y que se expresa en una secuencia de aminoácidos unidimensional (estructura primaria) de una proteína (Crick, 1966).

2.8 Dirección del código.

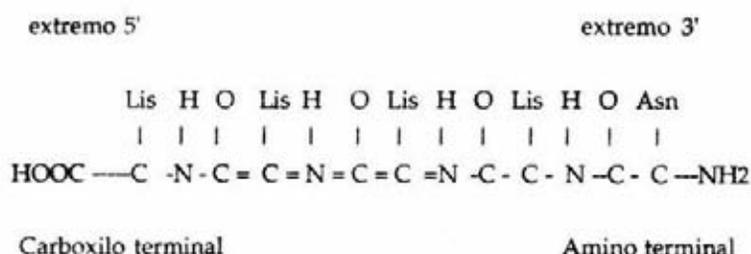
Severo Ochoa, de la Medical School de la Universidad de Nueva York, en 1965 llevó a cabo experimentos que probaron las siguientes ideas que se manejaban por convención:

-Las cadenas de ARN crecen desde el extremo 5' y las cadenas proteicas crecen desde su extremo amino terminal.

-De dos residuos de aminoácidos, el más cercano al amino terminal del polipéptido está representado por un codón más cercano al extremo 5' del ARNm correspondiente.

Ochoa sintetizó un polinucleótido de A y C (un poli-AC) *in vitro* con relación 20:1 (A:C). El polímero resultante se hidrolizó con ribonucleasa de páncreas, enzima que rompe el enlace internucleótido entre el grupo fosfato-3' de un nucleótido pirimídico, y el grupo hidroxilo-5' del nucleótido adyacente. Así se obtenían en promedio pequeñas cadenas de polinucleótidos de 21 nucleótidos. Todas estas cadenas únicamente tenían residuos de A, excepto por un residuo de C en su extremo 3'. Esto es, se trataba únicamente de codones AAA seguidos de un AAC. Estas cadenas se introducían como ARNm artificial en el sistema de síntesis de proteínas *in vitro* y se analizaban las cadenas polipeptídicas resultantes. Estas contenían lisina (AAA) y asparagina (AAC). En el análisis posterior de secuencias de aminoácidos se vio que contenían residuos de lisina en el extremo amino terminal y un solo residuo de asparagina en el extremo carboxilo terminal. Esto demostró que la traducción del mensajero artificial comenzaba en el extremo 5' con sus codones AAA y terminaba en el extremo 3' con el único codón AAC.

El polipéptido resultante era:



G. Streisinger y colaboradores realizaron estudios experimentales diferentes de los de Ochoa, que confirmaron que la traducción del ARNm

procedía del extremo 5' al 3'. Este trabajo se enfocó también en el efecto de las mutaciones con corrimiento del marco de lectura en el gen de la lisosima del fago T4 (como en los experimentos citados).

2.9 El ARN mensajero

En un principio se pensaba que la información genética estaba contenida en los ribosomas. Se había demostrado que la mayor parte del ARN celular estaba contenido en las partículas microsomales (ribosomas), por lo que era lógico que se pensara que si la información pasaba de ADN a ARN y de ARN a proteína, el mensaje estaba contenido en los ribosomas. En otras palabras, se pensaba que los ARN mensajeros eran los ribosomas, que la información transmitida del núcleo al citoplasma para la síntesis de proteínas estaba contenida en ellos.

A fines de los años 50 Crick y Brenner intentaban probar esta idea mediante el aislamiento de un ribosoma, agregando un suplemento con los precursores necesarios para mostrar que se producía un sólo tipo de proteína. Aislar un ribosoma y mostrar que codificaba una proteína específica involucraba procedimientos muy difíciles de llevar a cabo dadas las técnicas con las que se contaba entonces.

Como los ribosomas eran moléculas muy importantes, varios grupos trabajaban con ellos, inventando nuevas técnicas y produciendo, por lo tanto, resultados poco confiables. Sin embargo, se fueron obteniendo ideas que resultaban interesantes como que los ribosomas nunca variaran en su longitud, como se esperaba si produjeran diferentes proteínas, la composición del ribosoma variaba muy poco en las diferentes especies de bacterias con las que se trabajaba. Crick y Brenner intentaban comprender estas pruebas que parecían estar en contra de lo que se pensaba sobre esta molécula.

El experimento conocido como "PaJaMo" que se llevó a cabo en el Instituto Pasteur de Paris, (realizado por A. Pardee, F. Jacob y J. Monod) fue uno de los experimentos cruciales para reconocer la necesidad de una

nueva clase de ARNs y para aclarar que el ARN ribosomal no podía ser el mensaje. Para determinar el orden de los aminoácidos en las proteínas, otro tipo de señal tenía que viajar del ADN a los ribosomas, a esta señal más adelante se le llamó "ARN mensajero" (ARNm).

Crick y Jacob trabajaron juntos para intentar comprender este resultado. Se preguntaban por qué si el ARN mensajero *no* era la misma clase de ARN que los ribosomas, no lo habían detectado. Comprendieron, con la ayuda de Brenner, que no era necesario que el mensaje estuviera contenido en los ribosomas, pues estos eran sólo unidades de lectura y el ARNm, después de ser leído, era destruido.

Entonces, para 1960 con diversos análisis de cinética, se tenía claro que la señal que contenía la información para la construcción de proteínas nuevas, no estaba contenida en los ribosomas. Para llegar a él se requirió de un gran número de pruebas proveniente de distintos grupos de investigación. Los argumentos experimentales sobre esta entidad dependieron más de la acumulación de una gran variedad de información [que incluía el trabajo de muchos grupos con diferentes herramientas y diferentes tradiciones (sobre la acción del gen, rapidez de generación de señales, velocidad de procesamiento, etc.), que de un conjunto específico de experimentos.

2.10 La Hipótesis del Bamboleo

Según los experimentos de codificación, se comprobaba que, efectivamente, la tabla del código genético contenía codones sinónimos. Esto generó un gran interés por saber cómo los codones sinónimos se decodificaban en el proceso de ensamblaje de polipéptidos. Como se había demostrado que más de un tipo de ARNt podía ser afín al mismo aminoácido, parecía muy normal y razonable que cada codón estuviera en correspondencia con su propio tipo de ARNt – aquel que llevara el anticodón complementario.

La primera prueba de esta noción la dieron B. Weisblum, S. Benzer y R.W. Holley en 1962. Dividieron el ARNt de leucina en las fracciones I y II; añadieron una de las dos fracciones de ARNt a mezclas de reacción de síntesis de proteínas *in vitro* que contenían, ya fuera poli-UC o poli-UG como mensajeros artificiales y examinaron la incorporación de la ¹⁴C-leucina a los polipéptidos. El resultado fue que la leucina ARNt-I promovía la incorporación de ¹⁴C-leucina sólo en la mezcla de reacción que contenía poli-UC, mientras que la leucina-ARNt II promovía la incorporación de la ¹⁴C-leucina sólo en la mezcla de reacción que contenía poli-UG. Pudo concluirse entonces que los dos tipos de ARNt efectivamente llevaban diferentes anticodones, cada uno complementario a un sinónimo de leucina diferente (Stent, 1978).

Una vez que se obtuvo la tabla del código genético y se vio que de los 64 codones posibles, 61 representaban un aminoácido. Podía esperarse entonces que cada célula tuviera 61 tipos diferentes de ARNt, cada uno en relación con cada uno de los 61 anticodones. (Estudios con *E. coli* y con levaduras han demostrado que sí hay muchos tipos distintos de ARNt).

Por otra parte, M. Nirenberg estudiaba las propiedades codificadoras de estos tipos de ARNt con su prueba de unión de nucleótido-triplete-ARNt y, a partir de esto, se vio que muchos tipos individuales de ARNt reconocen más de un conjunto de codones sinónimos. Inclusive, de los diversos tipos de ARNt unidos al mismo aminoácido, muchos siguen el mismo modelo de reconocimiento del codón. El ARNt, por ejemplo, de alanina, reconoce a GCU, GCC y a GCA. (Sin embargo algunos tipos sólo reconocen a un sólo sinónimo de entre todos los posibles) (Stent, 1978).

Así, en 1965, Crick propuso algo que explicaba esta escala de diferencia en la respuesta de codones de varias clases de ARNt y que daba una idea de la estructura general del código. Llamó a esta idea la "Hipótesis del Bamboleo" y consistía en lo siguiente: En el ribosoma, sólo las dos primeras bases nucleotídicas del codón de ARNm están forzadas a formar los pares de bases estándares entre alanina y uracilo (A-U) y entre guanina y citosina (G-C), (así como entre inosina y citosina (I-C)) con las bases nucleotídicas correspondientes del anticodón de ARNt. (Muy

probablemente la inosina se forme enzimáticamente a partir de la adenina en los ARNt nacientes) (Crick, 1966). Sin embargo, puede haber un "bamboleo" o juego en la interacción codón-anticodón entre las terceras bases nucleotídicas. Esto es, el bamboleo hace posible la formación de diversos pares de bases en la tercera posición del codón.

A partir de consideraciones estructurales basadas en un estudio de modelos moleculares, Crick infirió que el bamboleo de la tercera posición permitiría la formación de pares de bases con estándares entre guanina y uracilo (G-U), entre inosina y uracilo (I-U) y entre inosina y alanina (I-A).

Pudo establecerse entonces la siguiente relación entre la base del anticodón del ARNt y la escala de bases en la tercera posición del codón del ARNm que reconoce. La U del anticodón reconoce a A ó G del codón correspondiente; C reconoce a G, A reconoce a U, G reconoce tanto a U como a C e I reconoce a U, C ó A.

Como en 1966 ya se conocía la mayor parte del código genético, Crick consideró los posibles apareamientos entre las bases de los codones del ARNm y los supuestos anticodones del ARNt. Lo más obvio era asumir que las moléculas de ARNt tuvieran ciertas características comunes entre sí y que los ribosomas se aseguraran de que las diferentes moléculas de ARNt se presentaran ante el ARNm de la misma manera. Es decir, que el apareamiento entre un par codón-anticodón fuera, en una primera aproximación, "equivalente" a aquel entre cualquier otro par de bases. Así, si esto se cumple, el apareamiento en cualquier posición del codón probablemente sería estándar, esto es: G-C y A-U, o algún apareamiento que permita que las cuatro bases se distingan de una forma estrictamente equivalente.

Para entonces se sabía lo suficiente acerca del código genético como para decir que en las dos primeras posiciones del codón se presentaban claramente las cuatro bases. Entonces Crick dedujo que los apareamientos en las primeras dos posiciones muy probablemente eran estándares, como ya se mencionó. Surgió, sin embargo, que en la tercera posición del codón, U era equivalente a C, y ambas codificaban para el mismo aminoácido (lo

que fue cierto para la mayoría de los casos) y que A era equivalente a G (lo que resultó ser cierto sólo en algunos casos).

La pregunta que surgió fue, ¿Una molécula de ARNt reconoce más de un codón, por ejemplo, tanto a UUU como a UUC? Nirenberg y Bernfield demostraron que todos los ARNts para fenilalanina podían unirse a poli-U, aunque este ARNt también reconoce al triplete UUC, al menos en parte. Se tenían más pruebas al respecto, pero lo que Crick se preguntaba era: Si un ARNt reconocía tanto XYU como XYC, ¿Cómo se lograba esto?

Sin tomar en cuenta la geometría de las bases, podríamos pensar que cualquier apareamiento fuera posible, ya que se sabía que las bases podían aparearse (formar al menos dos puentes de hidrógeno) de muchas formas distintas. Pero, si las dos primeras bases estaban apareadas de una manera estándar, el apareamiento en la tercera posición podría ser similar al tipo de apareamiento estándar.

Crick realizó un estudio de consideraciones estructurales con modelos moleculares sobre los posibles apareamientos entre las diferentes bases. Presentó como posibles soluciones (siempre que las bases se encontraran en sus formas tautoméricas normales) los apareamientos G-A, U-C, U-U, G-U, I-U e I-A. El apareamiento entre G-A no era muy factible que ocurriera porque los grupos NH_2 de las guaninas no pueden establecer uno de sus puentes de hidrógeno. En la unión U-C los grupos cetos se encontraban demasiado cerca y en U-U el enlace era muy cercano, las bases quedaban muy juntas. Entonces el código bamboleante sugería los apareamientos: G-U, I-U e I-A. Con esto postuló que en el apareamiento de bases de la tercera bases del codón se da un cierto bamboleo.

Existían siete posiciones posibles que podían obtenerse por bamboleo, no obstante esto no significaba que todas ellas fueran accesibles, ya que la estructura molecular podía imponer limitantes al bamboleo. Considerando todas las combinaciones de posiciones permitidas se obtuvieron 127. Pero si se adoptaba la regla de que las cuatro bases del codón (en la tercera posición) deben reconocerse (esto es, aparearse), nos quedamos con 51 combinaciones diferentes. Podemos eliminar muchas de

ellas si sólo aceptamos las combinaciones que no violen las características más generales del código. Esto es, si asumimos:

a) que las cuatro bases deben poder reconocerse

b) que el código en ciertos casos debe distinguir entre U y C y entre A y G, como parece hacerlo en los pares Phe-Leu (fenilalanina-leucina), Tyr-fin de cadena (tirosina), His-Gln (histidina-ácido glutámico), Asn-Lys (ácido aspártico-lisina) y Asp-Lys (asparagina-lisina), entonces debe usarse la posición estándar y las posiciones (U-U, U-C y C-U) no pueden usarse. Esto nos deja con sólo cuatro posibles sitios a considerar, uno de los cuales – el estándar – debe ser incluido (Crick, 1966).

Base de la 3a posición del anticodón	U	C	A	G	I
Base de la 1a posición del codón	A ó G	G	U	U ó C	U, C ó A

De estas reglas Crick derivaba las siguientes predicciones:

- 1) No es posible codificar ni para C sola ni para A sola (sí para G y U solas). La hipótesis del bamboleo establece que UGA puede:
 - a) codificar para cisteína, que tiene UGU y UGC; o
 - b) codificar para triptofano, que tiene UGG; o
 - c) no ser reconocido.

Sin embargo no permite que UGA codifique para cualquier aminoácido diferente de cisteína o triptofano.

- 2) Si un ARNt tiene inosina en la posición del anticodón que le permita aparearse con la tercera base del codón, entonces debe reconocer a

U, C y A en la tercera posición del codón. Al mismo tiempo, aquellos aminoácidos codificados sólo por XYU/C (como Phe, Tyr, His, etc (fenilalanina, tirosina, histidina)) no pueden tener inosina en ese sitio en su ARNt.

3) La teoría del bamboleo no establece exactamente cuántos tipos diferentes de ARNt efectivamente se encontrarán en cualquier aminoácido. Sin embargo, si un aminoácido es codificado por las cuatro bases en la tercera posición (como lo son Pro, Thr, Val, etc. (prolina, treonina, valina)), entonces la teoría del bamboleo predice que habrá al menos dos ARNts. Estos podrían seguir el modelo de reconocimiento: U,C con A,G ó U,C,A con G. (Se aclara que los grupos que realmente se usan para cualquier aminoácido pueden variar entre especies).

En cuanto a las pruebas experimentales respecto de los anticodones, trabajando con levaduras Holley *et al.* obtuvieron cierta secuencia para el ARNt de alanina en las posiciones 36, 37 y 38. Zachau y colaboradores obtuvieron la secuencia para el ARNt de valina, y Madison *et al.* para el ARNt de tirosina.

A partir de estos datos se obtuvo que los ARNts de levadura son:

Aminoácido	Anticodón	Codón
Alanina	IGC	GC?
Serina	IGA	UC?
Valina	IAC	GU?
Tirosina	G¥A	UA?

(¥: pseudo ácido uridílico; similar a U en cuanto a propiedades de apareamiento.) (Crick, 1966) (Debe recordarse que los apareamientos codón-anticodón son *anti*-paralelos.)

Así, Crick predijo con seguridad que: el anticodón era un triplete que se encontraba en (o cerca de) las posiciones 36-37-38 de todo ARNt y

que las *primeras dos bases* del codón se apareaban con él (de manera antiparalela) *mediante los pares de bases estándares*. (Sin embargo, la inosina

no se presentaba en todos los ARNt; Sanger demostró que había poca inosina en el ARNt total de *E. coli*) (Crick, 1966).

Del esquema anterior se puede explicar cómo el ARNt para alanina de levadura, cuyo anticodón lo integra el triplete de nucleótidos IGU, puede responder a los tres codones para alanina GCU, GCC y GCA. Para responder al cuarto codón de alanina, GCG, puede esperarse que la levadura contenga un segundo tipo de ARNt de alanina con el anticodón UGC ó CGC. La respuesta codificadora de ambos tipos de ARNt para valina de levadura indicarían que el anticodón del tipo que responde a GUU, GUC y GUA es IAC, y que el anticodón del otro tipo, que responde a GUA y GUG, es UAC. Finalmente, la respuesta restrictiva del ARN II para leucina de *E. coli* sólo a UUG sugiere que ese anticodón es CAA (Stent, 1978).

La hipótesis del bamboleo explica claramente por qué los codones sinónimos se encuentran en la misma "caja" de la tabla del código. Como ya se mencionó, de acuerdo con dicha hipótesis, ningún anticodón de ARNt puede dar una respuesta exclusiva ni a C ni a A en la tercera posición del codón. Por lo tanto, un codón de tipo XYC, *debe ser sinónimo* de XYU. Así, aunque la hipótesis del bamboleo contempla la respuesta exclusiva de una tercera posición de anticodón A a la tercera posición del codón U, y de este modo permite la existencia de un tipo de ARNt capaz de responder sólo al codón XYU, tal codón no puede representar un aminoácido diferente del representado por el codón XYC. De la misma manera, el tipo XYA debe ser sinónimo, ya sea de XYG o de XYU y XYC. Aquí sin embargo, la respuesta exclusiva de la tercera posición del anticodón C a la tercera posición del codón G, y su consecuente capacitación de un tipo de ARNt capaz de responder sólo al codón XYG, ofrece la posibilidad de que XYG sea la única representante de un aminoácido, pues esto significaría que XYA sería sinónimo de XYU y XYC, y sería reconocido en el proceso de decodificación por un tipo de ARNt

cuyo anticodón llevara I más que U en su tercera posición. Estas implicaciones de la hipótesis del bamboleo están, pues, de acuerdo con el descubrimiento de que AUG y UGG son los únicos codones de metionina y triptofano. Pero puesto que este razonamiento no concierne los codones sin sentido, la hipótesis del bamboleo no se ve viciada por el hecho de que el codón de término UGA no sea sinónimo ni de los codones de cisteína UGU/C ni del codón de triptofano UGG (Stent, 1978).

Una excepción importante a la regla de que el anticodón del ARNt es altamente selectivo con respecto a las primeras dos bases nucleotídicas del codón, pero más permisivo respecto a la tercera, es el ARNt de formilmetionina, que es responsable del inicio de la cadena polipeptídica en *E. coli*. Este ARNt puede iniciar el crecimiento de una cadena polipeptídica en respuesta tanto al codón de metionina AUG como al de valina GUG y parece tener cierta afinidad débil incluso por los codones de leucina UUG y CUG. De aquí que este tipo especial de anticodón parece ser tolerante respecto a la primera base nucleotídica del codón y selectiva respecto a la segunda y tercera bases (Stent, 1978).

La evidencia preliminar parecía favorable a la hipótesis, pero para probar definitivamente su hipótesis del bamboleo, Crick proponía, una vez más, las pruebas experimentales que se tenían que realizar. Estas eran las siguientes:

(1) Encontrar qué tripletes se unen mediante cualquier tipo especial de ARNt. Khorana y Nirenberg con sus grupos respectivos trabajaron sobre esto. La dificultad que se presentaba era asegurarse de que el ARNt estuviera puro y no en una mezcla.

(2) Descubrir sin ambigüedades la posición del anticodón en el ARNt y encontrar más anticodones. (Crick, 1966).

Como se vio en este capítulo, los planteamientos teóricos al problema del código genético estuvieron en relación con los enfoques experimentales, avanzando conjuntamente. La proposición de una teoría invitaba a su comprobación experimental y los nuevos datos obtenidos experimentalmente proporcionaban el sustrato necesario para la creación

de nuevas teorías. Se han resumido en este capítulo las aportaciones más importantes a la dilucidación del código genético por Francis Crick. La resolución total del código se logró gracias al trabajo de múltiples grupos de investigación desarrollando en diversos laboratorios con sus propias técnicas. La interacción fructífera entre los grupos permitió a llegar a conocer el código genético en un tiempo relativamente corto, desde que se concibió hasta que se dilucidó por completo. Sin embargo, como se verá en el próximo capítulo, estas interacciones entre investigadores de distintas tradiciones no siempre se dieron en el momento adecuado, duplicando innecesariamente los esfuerzos.

CAPITULO 3 Francis Crick como teórico

3.1 La teoría en la investigación científica.

Este trabajo pretende responder las siguientes preguntas: ¿Está bien fundamentada la frase "*Francis Crick teórico de la biología molecular*"? ¿Por qué se le considera un teórico en biología? ¿Es realmente teórico? ¿Qué significa ser un teórico en las ciencias naturales? Al estudiar el trabajo de Crick sobre el código genético y al analizar su papel dentro de la comunidad científica es posible responder a estas preguntas.

En una investigación, ya sea desde el marco de una teoría, o a partir de un resultado experimental, un científico detecta un problema, estudia la situación, e intenta desarrollar una estrategia de investigación concreta, consistente con las concepciones (teóricas) del momento. Al encontrarse con alguna inconsistencia, ésta se ve como un problema a resolver. Mantener la consistencia en la investigación es un buen principio regulador (Lakatos, 1975). La heurística que adopta el investigador lo lleva a reforzar o no su teoría, pues las hipótesis teóricas pueden ser verdaderas o falsas.

En la historia y la filosofía de la ciencia, la idea que actualmente se maneja de la división entre teoría y experimento, y entre un científico teórico y uno experimental proviene de la física, donde esta división se encuentra muy bien definida (ver Kuhn, 1977). En el caso de la biología, sin embargo, esta división no parece tan evidente e incluso muchos se cuestionan si es posible que haya una biología teórica, quizás no tan nítidamente como en la física.

Los teóricos en biología se podrían caracterizar por realizar dos tipos de actividad principalmente:

- 1) Proponer modelos matemáticos que permiten explicar una gran cantidad de evidencia empírica y predecir el comportamiento de un proceso tal y como se hace en la genética de poblaciones y en ciertos

aspectos de la ecología, por ejemplo. Estas áreas de la biología utilizan un lenguaje matemático para construir sus modelos.

2) Integrar datos experimentales aislados. Al integrar, el científico propone mecanismos explicativos causales, que expliquen los datos. Las teorías integradoras contestan a la pregunta ¿por qué? mediante mecanismos causales explicativos. En el caso del Dogma Central por ejemplo, el flujo de información en cierta dirección explica los fenómenos que unen y relacionan de cierto modo los datos que se tenían sobre el ADN, ARN y proteínas.

A pesar de que Francis Crick realizó modelos, su actividad integradora es definitivamente predominante, esto es porque su trabajo se desarrolló en biología molecular. En est tipo de disciplinas es donde se construyen estos mecanismos explicativos.

3.2 Papel del experimento en la investigación científica.

No es necesario convencer a los científicos de que el experimento tiene un papel esencial en la ciencia ya que (de acuerdo con la visión tradicional en la filosofía de la ciencia) proporciona la base para poder elegir una teoría entre distintas alternativas e incluso, algunas veces crea la necesidad de nuevas teorías. En la actualidad, la filosofía de la ciencia intenta una mayor comprensión de las llamadas tradiciones experimentales, en las que lo más importante es la producción de nuevos "fenómenos" (Hacking, 1983). Sin embargo, dado que este trabajo se refiere a Crick como "teórico", partiremos de las reflexiones "tradicionales" que le dan un peso específico a a teoría en la construcción de cualquier disciplina.

Así pues, cuando se busca confirmar o refutar una teoría, surgen preguntas a las que hay que responder con base en la evidencia experimental válida que se tenga, sin embargo, esta evidencia experimental es falible y susceptible de corrección. Es posible que los resultados experimentales estén equivocados, así como también los cálculos teóricos y la comparación entre teoría y experimento.

En general, teóricos y experimentalistas están al tanto del trabajo del otro y de la interacción fructífera entre teoría y experimento. Pero en ocasiones esto no ocurre. Más adelante se discutirá el caso del ARN de transferencia, en cuyo estudio ambas líneas corrían independientemente sin tener el intercambio que les habría sido útil a ambas. En otras ocasiones, resulta difícil la correcta articulación de una teoría para que pueda ser probada y experimentada. Rara vez los datos en bruto, obtenidos de un experimento pueden ser comparados directamente con una predicción teórica. Casi siempre se presenta la necesidad de analizar y realizar cálculos teóricos adicionales. Ahora bien, necesariamente la confirmación y refutación mismas también son falibles y susceptibles de corrección, puesto que se basan en resultados experimentales.

Casi siempre, se presentan dificultades experimentales y problemas con los análisis teóricos de los datos y con las comparaciones teóricas incorrectas. Si se detectan errores, se corrigen sin esperar a que desaparezcan por completo los postulados de la primera teoría. Las decisiones sin embargo, dependen al menos en parte de la mejor evidencia experimental disponible. Así, por ejemplo, Crick se dio cuenta de que su código sin comas, a pesar de parecer la solución al código, no era válido de acuerdo con los resultados experimentales que otros grupos estaban produciendo, por lo que continuó buscando explicaciones y soluciones alternativas.

Podemos decir que el experimento es una moneda de dos caras; una cara representa la labor que tiene el experimento de comprobar, confirmar o refutar teorías, mientras que la otra cara consiste en el acopio de datos que serán de utilidad en explicaciones teóricas futuras. (Según Hacking, en cambio, los experimentos tienen vida por sí mismos). El trabajo de Crick, como se ha visto, se basó sobre todo en el primer aspecto del experimento. Crick utilizó generalmente la primera cara de la moneda, se sirvió de los experimentos para comprobar sus teorías.

El experimento puede existir por sí mismo porque el fenómeno estudiado resulta interesante; así se adquieren datos que una teoría futura explicará. Sin embargo, el experimento comúnmente toma su significado e

importancia a partir de su relación con la teoría. Como ya se mencionó, el experimento puede confirmar o apoyar una teoría existente y también puede ayudar a la articulación de una teoría nueva. No obstante, no debemos olvidar que en cualquiera de estas funciones, el experimento puede no ser correcto y que la falibilidad y la susceptibilidad de corrección de los resultados experimentales necesariamente se extienden a la confirmación o refutación de teorías o hipótesis basadas en dichos resultados, lo que lleva a conclusiones posteriormente consideradas como equivocadas.

Resulta interesante el hecho de que los científicos comúnmente no confrontan *todas* las explicaciones lógicamente posibles de un resultado dado. Normalmente sólo hay un número pequeño de explicaciones alternativas interesantes que son posibles. En este caso, los científicos evalúan el costo de aceptar una de estas alternativas a la luz de toda evidencia, sabiendo que una de estas alternativas puede estar mucho mejor apoyada por la evidencia que cualquiera de las otras. Las alternativas mismas también pueden ser probadas, sujetas a las dificultades usuales y puede llegar a tenerse sólo una explicación.

Según las circunstancias, para poder continuar su investigación en la dirección que consideran adecuada, los científicos pueden juzgar más probable y más efectivo y fructífero, negar ya sea la teoría, el conocimiento de los antecedentes o condiciones experimentales, o los mismos resultados experimentales.

Según A. Franklin (1990), los científicos deben examinar las explicaciones alternativas a la luz de toda evidencia experimental, que pueda incluir el apoyo para la teoría e hipótesis auxiliares, así como la dificultad del experimento y la confianza de los resultados experimentales.

Según Rheinberger (1992, I) en cambio, el sistema experimental es un aparato para materializar preguntas y puede considerarse como la unidad funcional más pequeña de la investigación, *diseñada para dar respuestas a preguntas que aún no son muy claras*. Incluso Rheinberger habla (utilizando precisamente el trabajo sobre síntesis de proteínas del



grupo de Zamecnick), del sistema como una "caja para producir sorpresas".

De acuerdo con una visión más tradicional (como la de Franklin), quien lleva a cabo el diseño de un experimento, es un teórico o "la fase teórica de un experimentalista".

Es claro entonces, aunque existan visiones distintas del problema, que la teoría y la experimentación están íntimamente relacionadas y que se necesitan entre sí para obtener mejores resultados. En el mundo de la investigación biológica hay quienes llevan a cabo ambas 'funciones', pero generalmente los investigadores se colocan en la teoría o en la experimentación.

Francis Crick realizó múltiples experimentos a lo largo de su carrera, sin embargo se colocó la mayor parte del tiempo en el lado teórico de la balanza, diseñando teorías y también diseñando experimentos para probar sus ideas. Es importante resaltar que, a pesar de que Crick se ocupó más bien del aspecto teórico, en *ningún* momento le restó importancia a la parte experimental de una investigación, sino que, en todo caso la acentuó. Cabe ahora tan sólo preguntar si Crick se colocó en el 'lado teórico' de la balanza o si somos nosotros quienes, al analizar su trabajo en retrospectiva lo hemos encasillado allí.

3.3 El investigador teórico: Francis Crick

Ser un teórico requiere del dominio de un campo y esto, a su vez, implica una lectura y estudio constantes y una asimilación de conocimientos, generalmente aportados por otros investigadores para organizar una nueva idea. Un teórico toma los diferentes puntos de un problema y los conjunta dando lugar a un arreglo totalmente nuevo que resulta muy útil cuando se aplica a un estudio específico que pueda ser utilizado por otros científicos en sus problemas de investigación.

Existen teóricos en todas las áreas de la investigación, y la biología no es una excepción. Ser un teórico en biología implica tener un amplio

conocimiento de la biología, asimilar los nuevos descubrimientos y mantenerse al tanto de lo que sucede en el amplio mundo de la investigación. De esta forma el teórico puede aportar posibles formas de resolución de un problema, además de tener la posibilidad de guiar el camino que hay que tomar en una investigación. Estas guías resultan ser de gran importancia en la resolución de problemas, pues el experimentador se centra en un aspecto y no se distrae con elementos "secundarios" o externos a su investigación.

En este trabajo se ha tomado la figura de Francis Crick para analizar su papel como teórico de la biología. Se le considera como tal por su educación, su pensamiento y su manera de plantear los problemas biológicos. Su personalidad y su educación en física le permitieron simplificar problemas y concentrarse así en la médula de los problemas centrales de la biología molecular. Colocaba su punto de vista sobre los diferentes aspectos "contingentes" de un problema, adquiriendo una visión panorámica y con esto sintetizaba la información relevante para el caso particular, produciendo así un buen número de hipótesis. En la sección 4 de este capítulo se darán varios ejemplos concretos de estas características del trabajo de Crick.

Gracias a la pasión de Crick por dilucidar los límites entre lo vivo y lo no vivo, dejó las puertas abiertas a todo tipo de respuestas, a pesar de haberse topado con grandes barreras y de haber propuesto varias falsas soluciones. Otra característica de Crick es su fuerza para no apegarse a sus ideas al percatarse de que estaban equivocadas.

Según Crick, "los teóricos en biología se deben dar cuenta de que es poco probable que produzcan una teoría útil . . . solamente por tener una buena idea relacionada con lo que se imaginan que son los hechos, y aún es menos probable que la produzcan en su primer intento. Los aficionados se apegan a una idea y no la abandonan, en tanto que son los profesionales quienes saben que deben producir una teoría tras otra antes de llegar a ninguna conclusión definitiva. El proceso mismo de abandonar una teoría para adoptar otra les proporciona un grado de "despojo crítico" que es casi esencial para tener éxito" (Crick, 1988, 142).

Una idea incorrecta puede envolver el tema en una densa neblina que impide observar el problema con claridad. Si se tiene una idea que se considera adecuada, la investigación dará por hecho que se debe partir de ella en lo que se tiene que llevar a cabo. Para un investigador es difícil aceptar que la teoría que él inventó, y con la que ha vivido mucho tiempo, está totalmente equivocada. No es suficiente tener un conocimiento superficial de la prueba experimental, sino que además hay que tener un conocimiento profundo y crítico de los tantos tipos diferentes de evidencia que se requieren.

"Me parece que son pocos los biólogos teóricos que adoptan esta postura. Un investigador debe preguntarse acerca de la esencia del tipo de teoría que ha construido y cómo puede ser probada – aunque para ello necesite algún método experimental nuevo." Crick (1988, 141).

Crick pensaba que el trabajo de los teóricos, especialmente en biología, era sugerir nuevos experimentos, pues una buena teoría hace predicciones que resultan ser no sólo buenas sino verdaderas.*

"Lo más que se puede esperar de un teórico es que señale al experimentalista la dirección correcta, y esto se hace sugiriendo qué direcciones o qué planteamientos evitar" Crick (1988, 110).

Crick aconseja a los experimentalistas estar alertas, pero que no se dejen impresionar por argumentos negativos creados por ellos mismos, que de antemano eliminan posibles soluciones. Deben realizarse pruebas desde todos los puntos de vista posibles y analizar qué caminos vale o no vale la pena seguir, porque es muy alto el precio que se paga al perderse de un buen acercamiento (Crick, 1988).

Según él, es muy común concentrarse en un proceso menor – que evolucionó para mejorar el desempeño de un proceso más importante – en lugar de enfocarse en éste último. Si se cae en esta situación, se concluye erróneamente algo sobre el proceso mayor.

* En este trabajo no nos introduciremos en la larga discusión entre realistas y anti-realistas en torno a la *verdad* de nuestras teorías. Simplemente se reseña la postura – evidentemente realista – de Crick.

En biología a veces aquellos problemas básicos que parecen ser imposibles de resolver, son los que ceden más fácilmente. Esto se debe a que puede haber tan pocas soluciones posibles que uno finalmente llega inexorablemente a la solución. Los problemas biológicos que realmente son difíciles de resolver son aquellos en los que hay una infinidad de soluciones posibles (Crick, 1988).

Decía que para resolver un problema se requiere de una secuencia de pasos lógicos (la consecuencia de que habla Lakatos), y de procedimientos experimentales. Si uno de ellos está mal, uno sigue el camino equivocado, por lo que es muy importante tener la colaboración intelectual de otra persona para poder salir del error en el que se ha caído. Este tipo de colaboración lo tuvo Crick con James Watson mientras trabajaron juntos y, más tarde, con Sydney Brenner.

El código genético, en el que principalmente está basado este trabajo, era un problema que *no* iba a resolverse con enfoques puramente teóricos, pero esto no quería decir que un esqueleto teórico general no fuera útil, cuando menos para guiar la dirección que podrían tomar los experimentos (Crick, 1988).

Al principio de esta investigación, cuando Crick se encontraba haciendo la lista de los aminoácidos junto con Watson, dijo: "Esta complejidad de la naturaleza, producida por selección natural, muestra lo fácil que uno puede irse por el camino equivocado si se toma una visión cerrada sobre un problema biológico" (Crick, 1988, 92).

Gamow había hecho antes una lista de aminoácidos tomando en cuenta su abundancia en la naturaleza, pero no las pruebas experimentales de otros investigadores, ni las similitudes químicas entre las diferentes bases, de modo que incluyó como aminoácidos distintos aquellos que eran sólo variantes de uno mismo; los consideró como aminoácidos "independientes" y, por lo tanto, su lista fue incorrecta. Este es un ejemplo de cómo al tener una idea errada, se sigue un camino de investigación inadecuado y se obtienen conclusiones erróneas.

Acerca del papel de la teoría en la resolución del código genético, Crick decía que las teorías buenas, aun siendo incorrectas "nos permiten

estrechar nuestra lógica y escudriñar la evidencia experimental con cierto propósito...Aún queda por ver si la teoría puede ayudar sugiriendo la estructura general del código. Si el código efectivamente tiene una estructura lógica, su descubrimiento seguramente ayudaría en gran medida al trabajo experimental. En su defecto, el uso principal de la teoría puede sugerir formas nuevas de pruebas y aguzar el juicio crítico. En el análisis final lo que será decisivo será la calidad del trabajo experimental" (Crick, 1963, 213).

A fines de los años 50, Crick trabajaba con S. Brenner intentando comprender en qué molécula se encontraba el mensaje transmitido del ADN. Pensaba, al igual que todos los investigadores que trabajaban en este campo, que el mensaje estaba contenido en los ribosomas, pues eran las moléculas que contenían la mayor parte del ARN de la célula. Después de que experimentalmente se hizo evidente la necesidad de un nuevo tipo de ARN, Crick imaginó una molécula como el ARN mensajero (ARNm). Ahora puede parecernos muy lógico que una molécula como ésta debía existir para llevar a cabo la función de transmitir el mensaje, pero entonces *nunca* se había visto ni se había tenido prueba alguna de su existencia. Es muy interesante que, a pesar de la falta total de pruebas, Crick, junto con F. Jacob y S. Brenner, concibieron en sus mentes una molécula como el ARN mensajero.

Así se observa que Crick veía la posibilidad de obtener teóricamente una estructura para el código, pero consciente de que la última palabra la tendrán las pruebas experimentales. Esto resulta de gran interés al analizar el papel que como teórico asume Crick y nos demuestra que la simple teoría, sin el apoyo experimental, resulta insuficiente.

3.4 Ejemplos de la labor teórica de Crick.

A continuación me referiré a algunos de los artículos más importantes que escribió Crick sobre el código genético, como base para analizar su postura teórica.

3.4.1 El Adaptador.

En el otoño de 1956, Crick escribió el artículo *On Degenerate Templates and The Adaptor Hypothesis* (Sobre templados degenerados y la hipótesis del adaptador), que, como ya se mencionó, únicamente circuló entre los miembros del "Club de la Corbata del ARN". Definía en él las preguntas a resolver por la nascente biología molecular, y proponía una manera de tratar de responderlas. Dio por hecho que las cuestiones a aclarar eran espaciales, físicas, lógicas y fáciles de comprender y de tratar.

Las pruebas experimentales que se tenían le dieron la idea de que era necesaria una molécula que mediará los dos idiomas de la información genética y propuso una entidad cuya existencia no se conocía: el "adaptador", que hoy conocemos como el ARN de transferencia (ARNt). Para Crick esta entidad teórica surgió porque se necesitaba de una molécula que llevara a cabo la función de ser el vehículo que portara aminoácidos individuales al ribosoma para ser agregados a la hebra creciente de aminoácidos que allí se sintetizaba. Esta molécula era muy pequeña y tenía que ser muy específica para encontrar el aminoácido correcto y para promover el siguiente paso de la reacción. En esta hipótesis Crick generalizó el principio de complementaridad del apareamiento de las bases, extendiéndolo del ADN a este paso siguiente.

Al mismo tiempo que Crick se concentraba en esto, en Massachusetts, el grupo de P. Zamecnik y M. Hoagland, trabajaba experimentalmente con estas entidades bioquímicas y obtuvieron y aislaron la molécula de ARNt. Tanto Crick como el grupo de Zamecnik trabajaban paralela e independientemente con sus propias estrategias de investigación.

En muchos casos las ideas de Crick fueron aceptadas por los laboratorios y se abordaron experimentalmente, pero éste no fue el del *adaptador*. Zamecnik y Hoagland no sabían nada acerca del adaptador de Crick y él no estaba enterado del trabajo que se realizaba en Massachusetts. He aquí un ejemplo de las situaciones en las que las esferas teórica y

experimental no se tocan ni establecen contacto, aun cuando ambos aspectos se desarrollan contemporáneamente.

El ARNt (entonces llamado ARN soluble*), no se buscó experimentalmente a partir de la propuesta de Crick. Fue después de que Hoagland, M. L. Stephenson y Zamecnik lo obtuvieron cuando se enteraron de la idea del adaptador, aquella entidad teórica de Crick.

Crick postuló la molécula adaptadora, no como un intermediario en la cadena de reacciones de la síntesis de proteínas, sino como una molécula mediadora entre el lenguaje de los genes y el lenguaje de las proteínas. La imaginó como un trinucleótido, una molécula muy pequeña.

Cuando Hoagland supo de la idea de Crick, pensó que ésa tenía que ser la explicación de lo que él había encontrado experimentalmente, pero no tuvo conexión alguna con su investigación. Burian propone que esta independencia de caminos de investigación tiene que ver con que generalmente Crick evitó una orientación hacia la bioquímica, mientras que había una marcada orientación bioquímica en el grupo de Zamecnik. En este caso la hipótesis de Crick no sirvió de guía.

Esta situación es algo que vale la pena tener en mente cuando pensamos otra vez en la frase "*Francis Crick teórico de la biología molecular*". La situación está muy lejos de ser aquella en la cual el teórico simplemente emite sus ideas y los experimentadores se disponen a trabajar sobre ellas.

Crick tuvo ideas muy claras que resultaron efectivamente ser guías o caminos, les permitieron a otros asirse a ellas y resolver ciertos problemas, pero Crick no fue un emisor de teorías "verdaderas".

En la historia de la biología, como en tantas otras áreas, se tiende a la creación de mitos y de héroes, pero se debe ser extremadamente cuidadoso al aceptar estos matices y al llevar a cabo generalizaciones indiscriminadas.

* Se le llamó soluble a este tipo de RNA porque quedaba en solución en el sobrenadante a pH 5, después de que los ribosomas, fragmentos de retículo endoplásmico y material relacionado, se sedimentaban a 100,000g en una ultracentrifuga.

Crick ha sido considerado como un héroe de la biología molecular por las teorías tan claras que construyó, sin embargo también formuló, en más de una ocasión, hipótesis que se vieron refutadas.

3.4.2 Un código sin comas.

La idea de un código sin comas (planteada en el artículo *Codes without commas*, de 1957)*, aunque más adelante resultó errónea, sirvió para organizar de una forma más clara los conocimientos que se tenían sobre el código y los posibles experimentos futuros.

Crick califica el problema de la codificación como un problema *formal* y no le importa si el ácido nucleico es ADN o ARN, ni tampoco los detalles químicos. Lleva a cabo una gran simplificación del problema al no tomar en cuenta estos aspectos, pero de esta manera logra liberarse de los "extras" que pueden llegar a estorbarle en su análisis, para concentrarse totalmente en el problema que quiere atacar: el problema de la codificación.

Como ya se discutió en el capítulo 2, un código de dobletes no era suficiente para codificar los 20 aminoácidos y el siguiente paso más sencillo era asumir que se trataba de tripletes. Con esto surgió una pregunta: ¿Por qué entonces no hay 64 aminoácidos diferentes ($4 \times 4 \times 4$) y cómo, en el momento de la lectura, se escoge qué grupos de tres se deben leer?

A Crick se le ocurrió que debía existir sólo una manera de leer correctamente el código y ésta era teniendo sólo una lectura con sentido. Cualquier proceso que alterara esto (que comenzara en un punto diferente)

* Es importante recalcar que el código genético efectivamente carece de comas o de separaciones entre tripletes. Esto quiere decir que el código genético no tiene tripletes designados específicamente, ni separados entre sí, y es por esto que la alteración de una sola base, su adición o delección, altera la fase de lectura de la secuencia nucleotídica (a partir de ese punto) originando una cadena polipeptídica "defectuosa", generalmente sin función alguna. Aquí al calificar al código sin comas de incorrecto, me refiero a la idea que comprendía *El Código sin Comas* propuesto por Crick, Griffith y Orgel.

sería una lectura sin sentido. Pensó así, que lo que había que resolver era un problema matemático y responder a la pregunta de cuál es el mayor número posible de aminoácidos capaz de ser codificado. Con planteamientos matemáticos llegó a que:

- i) la solución no podía ser mayor de 20 y
- ii) propuso una solución igual a 20 (el número de aminoácidos encontrado experimentalmente por otros investigadores).

Debe reconocerse que Crick aclara que está asumiendo ideas que no se han comprobado y que es una propuesta precaria con bases puramente teóricas.

Este artículo es un excelente ejemplo de la labor teórica de Crick pues nos permite comprender cómo intentó resolver el problema del código únicamente con un razonamiento lógico que puede seguirse paso a paso.

Con el conocimiento que tenían Orgel, Griffith y Crick sobre el código - y únicamente con ello - echando mano de las matemáticas, produjeron una idea que les daba el resultado que buscaban, el mágico número veinte. Ni una sola pieza experimental se buscó para proporcionar apoyo de algún tipo a este código sin comas y se aceptó como una posible solución. (Únicamente Brenner se percató, posteriormente, de la consecuencia de este tipo de código: si la cadena polipeptídica no se quedaba sobre el templado hasta completarse, entonces, para que cada vez estuviera completa, su ensamblaje muy probablemente tendría que comenzar en un punto fijo a partir del cual se comenzaría después a separar). Aunque atractiva, esta solución estaba totalmente equivocada.

Los errores son esenciales en la ciencia y también inseparables de ella. Para Crick el código sin comas fue su teoría más elegante que se vio refutada, pero es un ejemplo que vale la pena no olvidar. "Lo bueno del código sin comas es que era una idea muy bella, y estaba equivocada -y siempre es bueno tener uno o dos ejemplos de ello, como precaución..." Crick (Judson, 1979, 318).

3.4.3 Sobre la síntesis de proteínas.

La forma ordenada de plantear y definir un problema y proponer posibles soluciones está excelentemente ejemplificada en el artículo de 1958 *On Protein Synthesis*, (Sobre la síntesis de proteínas) donde Crick presenta ideas que resultaron ser muy importantes y otras que estaban totalmente equivocadas. En él Crick plantea y aclara, por vez primera para muchos, la idea del flujo de información en los sistemas vivos.

"Por información me refiero a la especificación de la secuencia de aminoácidos de las proteínas. ... Los aminoácidos deben unirse en el debido orden" (llamado problema de la secuencialización) (Crick, 1958, p144).

Como se mencionó, en el artículo presenta ideas que resultaron de gran importancia y también ideas totalmente equivocadas sobre el mecanismo de la síntesis de proteínas y la identidad del templado. Crick hace referencia a la evidencia experimental (en virus del mosaico del tabaco, en el bacteriófago T4, en bacterias, en levaduras, etc.) que se tenía acerca de la relación entre el ARN y la síntesis de proteínas y, dándoles a los experimentos la importancia que tienen, plantea las siguientes preguntas: ¿Hay algo que apoye la idea de que la "secuencialización" de los aminoácidos *esté controlada* por el ARN? ¿Puede sintetizarse ARN sin que se sintetice proteína? Y además plantea preguntas a las que sería interesante contestar para aclarar otros aspectos del código genético como Los nucleótidos, ¿están libres?, ¿pueden aislarse?, etc.

El enfoque heurístico que adopta Crick es evidente al plantear claramente sus ideas sobre la síntesis de proteínas y proponer dos afirmaciones teóricas *muy* importantes: la Hipótesis de la Secuencia y el Dogma Central*. Crick mismo aclara que sus ideas no cuentan con la correspondiente prueba experimental, no pero que sirven para

* Cuando Crick le puso este nombre: "Dogma Central" a su idea, pensaba que la palabra *dogma* significaba "una idea para la cual no existía evidencia razonable y no algo que un creyente verdadero no pudiera dudar. ... Simplemente no sabía lo que significaba, pude haberla llamado la Hipótesis Central ... que es lo que quería decir. Dogma era sólo una palabra para llamar la atención" Crick (en Judson, 1979, 337).

comprender el proceso de la síntesis de proteínas. "Este espacio entre la teoría y la experimentación es un gran estímulo para la imaginación (Crick, 1958, 161). Su naturaleza especulativa se refleja en los mismos nombres que tienen las ideas.

La idea del dogma, surgida teóricamente, tiene un papel realmente "central" en la biología molecular. Según Crick, él solamente enunció lo que muchos ya daban por hecho, sin pensar. En realidad, es una hipótesis muy importante y es una hipótesis *negativa*, de modo que es muy difícil de probarse. Según él, es mucho más difícil comprobar lo que *no es*, que lo que *es*. Sostiene que ciertas transferencias de información *no* pueden llevarse a cabo, que la información nunca puede ir de proteína a proteína, de proteína a ARN o de proteína a ADN. (Esta idea es muy distinta de la Hipótesis de la Secuencia, que es mucho más explícita. Además en ella Crick nos muestra una actitud típicamente Popperiana, ya que asume los criterios de refutación de este programa filosófico.)

Sin embargo, a pesar de la casi imposibilidad de probar el Dogma Central, su utilidad es innegable. Si no se tuviera una idea como el Dogma, se podría formular un número ilimitado de teorías, mientras que teniéndola, se evita asumir transferencias de información inexistentes que distraerían el proceso de investigación.

En la parte final del artículo muestra su amplia visión proponiendo pasos a seguir y los caminos a tomar para conocer el código. Con esto vemos que Crick no sólo expone un problema, sino que lo ubica dentro del conjunto de conocimientos que se tienen y propone pasos a seguir en el futuro, actitud típica de un teórico. En cualquier tipo de investigación, cuando se propone una idea nueva, se debe ubicar en el cuerpo de conocimientos existente para realmente demostrar su valor. Si esto no se hace la idea pierde toda la fuerza que pueda tener. Es importante mencionar que en este artículo Crick aclara que hacen falta pruebas para comprobar sus ideas y que éstas son totalmente teóricas pero:

"Este espacio entre la teoría y la experimentación es un gran estímulo para la imaginación" (Crick, 1958, 161).

Le llama mucho la atención a Crick la posibilidad de la existencia de ideas que abarquen aspectos tan generales del problema, y se admira de la posibilidad de poder formular principios como la Hipótesis de la Secuencia y el Dogma Central, que explican muchos hechos notables para los cuales no hay prueba alguna. También recalca la gran cantidad de trabajo experimental que se estaba llevando a cabo en ese momento para intentar descifrar el código genético.

Es sumamente interesante ver cómo en medio de esta ebullición de experimentos (a los que cede la importancia debida e incluye en su artículo), Crick sigue absorbiendo información, procesándola y postulando ideas que aclaren los conceptos que se van obteniendo. Aquí tenemos un buen ejemplo de la capacidad de simplificar, observar desde un punto de vista panorámico y de englobar una gran cantidad de datos "aislados" en una idea tan general y clara como el Dogma Central.

En 1988 Crick escribió un libro y una de sus finalidades era ayudar a la realización de una buena teoría en biología. En este libro, *What Mad Pursuit*, (del mismo nombre que la plática que dio recién llegado al Cavendish) Crick habla sobre la utilidad de postular ideas tan generales como la Hipótesis de la Secuencia o el Dogma Central. Al ser postuladas, estas ideas obviamente eran especulativas y podían resultar erróneas, sin embargo, ayudarían a organizar hipótesis más positivas y más explícitas de lo que se tenía hasta entonces. Si estas ideas estaban bien formuladas, servirían de guía cuando se tuviera una confusión de teorías. Sin una guía tal, cualquier teoría resultaría ser posible. Cuando se tiene una guía de este tipo, se descartan muchas hipótesis y se puede discernir más claramente en qué hipótesis concentrarse. Si tal acercamiento todavía no es suficiente para aclarar las dudas, se debe volver a tratar con un nuevo dogma.

"Creo que esta es una de las funciones más importantes que puede llevar a cabo un teórico en biología. En la mayoría de los casos, es casi imposible llegar, con sólo el pensamiento, a la solución correcta de un problema biológico. Los mecanismos involucrados son, en general, muy accidentales y complejos puesto que se llegó a ellos por selección natural" (Crick, 1988, 109).

Crick encontró que en biología no era posible obtener leyes absolutas como en la física y que de esto se derivaba la dificultad de resolver un problema biológico sin más apoyo que el pensamiento. Sin embargo, entendemos que Crick, debido a su educación como físico, llevara a cabo este tipo de investigación.

3.4.4 La naturaleza del código genético.

En el artículo *General Nature of the Genetic Code for Proteins* (La naturaleza general del código genético para las proteínas, de 1961) Crick se planteó el conocimiento que se tenía hasta entonces sobre el código genético propuso preguntas que todavía no se respondían. Este enfoque heurístico de Crick trata de resolver los enigmas restantes del código, que para entonces eran todavía bastantes.

Para intentar aclarar el comportamiento de los ARNs, proporcionó un conjunto articulado de sugerencias sobre cómo tratar de resolver el problema, con el que también predijo las posibles refutaciones o argumentos en contra. Es claro ver que Crick eligió racionalmente ciertos problemas en los cuales enfocarse y tratar de aclarar las preguntas que se tenían sobre el código genético. Los problemas que escogió se centraban en el trabajo experimental con dobles mutantes. Utilizó mutágenos que deletan o insertan una base, produciendo mutantes cuyo gen normalmente no funciona adecuadamente (o no funciona del todo). Sin embargo, cuando se producían dos mutaciones en el mismo segmento del ADN, la lectura original se restauraba, a pesar de que la información traducida entre ambas mutaciones era incorrecta. Crick se cuestionaba cuál era el carácter de toda mutante doble y qué era lo que la hacía comportarse de tal manera.

Para transmitir su idea sobre la lectura del código dijo abiertamente que había asumido que la lectura era de tres en tres bases pero que se habrían obtenido los mismos resultados si la lectura se llevara a cabo, por

ejemplo, de cinco en cinco. Aquí nos resulta clara su capacidad simplificadora y de abstracción para poder resolver el problema de la lectura.

A partir de la teoría que se plantea en este artículo llegó a una predicción clara en la cual ya se estaba trabajando en otros laboratorios. Lo normal sería pensar que al causar dos mutaciones y analizar la secuencia de aminoácidos, se debían tener únicamente dos aminoácidos incorrectos, pero su teoría predijo con acierto que toda la secuencia de aminoácidos que se encontrara entre las dos mutaciones se vería alterada.

3.4.5 El bamboleo

En 1966 se tenía ya prueba de que un ARNt reconocía más de un codón, por ejemplo a UUU y a UUC. Entonces Crick, en su artículo llamado *The Wobble Hypothesis*, (La Hipótesis del Bamboleo) se preguntó si un ARNt reconocía tanto a XYU como a XYC, y ¿cómo lo hacía?

Para responder a esta pregunta realizó un análisis partiendo de la consideración de que los apareamientos estándares (A-T y G-C) eran normales. Entonces, si las dos primeras bases se apareaban en la forma normal (estándar), el apareamiento en la tercera posición podría ser parecido al estándar. La pregunta que surgió entonces fue, ¿cuáles serían estos apareamientos "parecidos" a los estándares? Crick entonces llevó a cabo un análisis en el cual enlistó todos los posibles apareamientos entre las diferentes bases y, una vez teniendo el conjunto de apareamientos, descartó aquéllos que resultaban estereoquímicamente "imposibles" o muy improbables. De este análisis propuso que en la tercera posición, la base tiene un cierto bamboleo, no hay un apareamiento fuerte equivalente al de las dos primeras posiciones. Esto lo hizo conociendo la estructura estereoquímica de las bases, mediante una serie de diagramas.

Al analizar la prueba experimental aportada por otros investigadores (como Holley *et al.*, Zachau, *et al.* e Ingram y Sjöquist), predijo con confianza que el anticodón era un triplete que se encontraba

en las bases con posiciones 36, 37 y 38 del ARNt, y que las dos primeras bases del codón se apareaban antiparalelamente con ellas mediante enlaces estándares.

Para comprobar esta hipótesis del bamboleo, propuso también las pruebas que se "imponían" y que se presentaban por sí mismas.

Este artículo es otro muy buen ejemplo en el cual Crick utiliza conocimientos de otros investigadores y teóricamente resuelve (o propone soluciones muy razonables) para un cierto problema, en este caso el reconocimiento múltiple de aminoácidos por un ARNt. Crick utiliza conocimientos que están al alcance de todos sus compañeros, pero es él quien los analiza y ordena en una forma única, produciendo una hipótesis no sólo interesante sino adecuada empíricamente (como más adelante se comprobó). La hipótesis del bamboleo surgió de supuestos teóricos y resultó ser correcta. Es otro ejemplo de la labor teórica de Crick en cuanto al problema del código genético y la síntesis de proteínas.

3.4.6 Una visión general.

El artículo llamado *The Genetic Code Yesterday, Today and Tomorrow* (El código genético ayer, hoy y mañana) de 1966, fue escrito para el Simposio de Cold Spring Harbor cuyo tema fue el código genético. Aquí Crick resume las aportaciones de los diversos investigadores que trabajaron sobre el código y recalca la importancia de las propuestas teóricas que funcionaron como guías para los experimentalistas. Tratar constantemente con el problema de la codificación hizo más accesible este problema a las personas que de otro modo lo habrían ignorado.

Crick se atrevió a plantear los asuntos que en ese momento faltaban por aclarar respecto al código genético, tales como si el ARNt afectaba la velocidad de la síntesis de proteínas y el origen del código. Afirmó que la teoría había podido contribuir con *poco* a la resolución del código.

"El código sin comas hoy sería probablemente aceptado si no hubiera tanta evidencia experimental en su contra, simplemente por que

se puede obtener de una forma muy elegante a partir de un postulado bastante sensato. Por lo tanto espero que cuando alguien proponga teorías detalladas sobre el origen del código genético, trate si es posible, de producirlas de modo que puedan ser probadas de alguna manera.

"[...] La dilucidación del código genético es un gran logro y en cierto sentido es la clave para la biología molecular pues muestra cómo los dos grandes lenguajes moleculares – el lenguaje de los ácidos nucleicos y el lenguaje de las proteínas – están unidos. Es importante no sólo conocer los detalles por sí mismos, sino porque al conocerlos podemos tener confianza en que nuestras ideas generales, como la Hipótesis de la Secuencia, efectivamente son correctas. Será difícil, después de esto, que quienes tengan dudas no acepten las bases fundamentales de la biología molecular que se han estado tratando de probar por tantos años" (Crick, 1966, 89).

Este artículo es un excelente recuento de los pasos que se dieron para dilucidar el código genético en los diferentes laboratorios. Aquí se ve también la importancia del trabajo de Gamow y su influencia en Crick como teórico, pues propuso una teoría de la codificación, abstracta, que no estaba repleta de detalles químicos innecesarios.

Este artículo es una "lista" de las etapas de la historia de la dilucidación del código y en ellas se ve, como lo hace notar Crick, que la teoría realmente contribuyó con muy poco.

3.5 Desempeño del trabajo teórico sobre el código genético.

Casi todos los investigadores que especulaban sobre el código genético en los años 50 asumieron muchas cosas que aún no estaban establecidas en cuanto a las propiedades que debería tener un sistema que tratara de tal información. También asumían que estas propiedades se podían descubrir de alguna forma mediante la especulación puramente teórica, sin preocuparse demasiado por los detalles de la maquinaria subyacente (acerca de las propiedades físicas, químicas y bioquímicas de las entidades involucradas), sino sólo considerando las propiedades "deseables" para los

sistemas que tienen que ver con información. El concepto de información que se manejaba era vago e informal, no era un concepto tomado de la física, química o bioquímica (Sarkar, 1989).

Algunos de los aspectos que se vieron simplificados y adoptados fueron:

- la uniformidad de la longitud de los bloques de lectura,
- la universalidad,
- la no degeneración del código y
- la colinealidad.

Crick restringió explícitamente el problema del código a uno de tipo formal. Lo que asumió fueron tanto ideas acerca de la manera en que la información se almacena y se transmite por el sistema genético, como la simplicidad de los medios de almacenaje de información como la uniformidad de la longitud de los bloques y que el codón fuera de tres bases.

En general, las ideas sobre el código se volvieron significativas al analizarse una respecto de las otras y no individualmente.

Los supuestos adoptados como la colinealidad, la no degeneración, la completa posibilidad de desciframiento y la universalidad también tienen que ver con la *simplicidad* de la información almacenada. Adoptando una estrategia parsimoniosa, los científicos asumieron que el código era universal. Para asumir este principio de la universalidad, es decir, que todos los organismos tuvieran el mismo código genético, se partía de la idea de que todos ellos habían evolucionado a partir de un ancestro común. Sólo después, cuando la universalidad del código fue un fenómeno demostrado, la relación se invirtió y entonces, la universalidad se convirtió en una evidencia más del origen único de los seres vivos.

Ahora bien, el concepto de simplicidad o parsimonia, está muy relacionado con el de eficacia; se piensa generalmente que un proceso simple es, en un cierto sentido (aunque no en todos), más eficaz que un proceso complicado. Entonces, el hecho de asumir que la información almacenada tenía las características de simplicidad que se mencionaron,

estaba de acuerdo con la gran eficacia de almacenaje y transmisión de información que se sabían propios del sistema genético (Sarkar, 1989).

Suponer que la lectura se llevaba a cabo por codones de tripletes también está directamente relacionado con la idea de la eficiencia, en el sentido que el codón utiliza el número mínimo de nucleótidos necesario para codificar 20 tipos de residuos de aminoácidos.

Al percatarnos de estas ideas podemos comprender mejor cómo se llevó a cabo la racionalización del problema del código genético. A pesar de que los sistemas biológicos en general no obedecen a leyes universales (en cuanto a que suponen que se aplican a todo, en el espacio y en el tiempo) y que son sistemas bastantes complejos, estos supuestos de simplicidad llevaron a ideas interesantes y adecuadas. Simplemente la determinación del número de bases en un codón o "unidad de lectura", es un buen ejemplo. Tener dos bases por codón no era suficiente para obtener todos los diferentes aminoácidos, entonces se pensó que se trataba de tres bases; este siguiente escalón de la simplicidad resultó ser el correcto.

En muchos artículos de Crick podríamos continuar esta búsqueda de aspectos teóricos en su manera de resolver los problemas del código genético, pero en general Crick siempre seguía una forma de trabajo: aclaraba la situación del terreno que iba a investigar, estaba al tanto de los últimos avances, decía qué faltaba por aclararse y procedía a plantear su solución. Por último, también proponía pruebas experimentales para comprobar su teoría.

CONCLUSIONES

Las ciencias biológicas necesitan para su desarrollo tanto de ideas como de experimentos, ambos son requisitos esenciales e igualmente importantes.

Francis Crick al proponer todas sus ideas acerca del problema de la codificación, lo hizo tan claramente que la historia de la resolución del código genético es mucho más fácil de comprender.

Algunas de las soluciones finales resultaron muy distintas de lo que él se imaginó en un principio, siendo bastante más inclinadas hacia la bioquímica y menos guiadas por la teoría de lo que él había anticipado.

Viéndolo retrospectivamente nos damos cuenta de que era más factible que el código se descubriera mediante pruebas bioquímicas experimentales, que mediante análisis teóricos sobre limitaciones de la codificación, como los que intentó Crick.

Dada la naturaleza del aparato de codificación que, evidentemente *no se conocía*, las soluciones estructurales y de principios teóricos al problema de la codificación difícilmente serían definitivas. El hecho de que el código en cierto sentido es arbitrario, sólo podía encontrarse experimentalmente (Burian, 1994, 402). Claro que nadie propondría una solución arbitraria a un problema, y si esto sucediera, se encontraría con una probabilidad mínima de tener éxito. La estrategia teórica de Crick para abordar el problema del código genético no fue siempre la mejor forma de resolverlo dada la arbitrariedad del código. Más aún, dado que las proteínas no se sintetizan directamente sobre un templado de ADN, para poder llegar a descifrar el código es necesario trabajar con el intermediario que lleva la información de la secuencia. Este intermediario, el ARNm, suele tener un tiempo de vida corto, es inestable y representa una pequeña proporción del ARN total de la célula, por lo que el procedimiento para aislarlo es bastante complicado. A partir de esto, resultaba sumamente difícil llegar al mecanismo de síntesis de proteínas y transferencia de información bajo supuestos teóricos únicamente. Esta afirmación, hecha

en retrospectiva, a su vez quiere decir que tampoco se podía saber *a priori*, que *no* podría llegarse a la solución teóricamente.

Crick no trabajó directamente con herramientas bioquímicas, pero siempre estuvo al tanto de los desarrollos que llevaron al problema del código a un nuevo terreno, el de la bioquímica. Es muy interesante también que el problema se vio llevado a un terreno nuevo en el cual ya había gente trabajando, pero que aún no habían reconocido la aptitud de sus herramientas para un problema que no habían considerado, y menos en el estilo de Crick. El grupo de Zamecnick siguió tratando el problema de la síntesis de proteínas como un problema de reacciones enzimáticas, sin preocuparse por conceptos centrales de la nueva biología molecular, como el de *información*.

En circunstancias como ésta vemos cómo la interacción entre grupos es crucial para la dinámica y desarrollo de las disciplinas y del conocimiento científico. Es mediante la interacción de las diferentes áreas del conocimiento que se llega a las soluciones aceptadas como adecuadas.

A pesar de lo que el mismo Crick opinó sobre lo poco que la teoría había aportado a la aclaración del código, él mismo aportó ideas muy valiosas, claras y que definitivamente fueron de gran utilidad para la organización del conocimiento.

Respondiendo a la pregunta del capítulo 3 acerca de la postura de Crick como teórico, no hemos sido los estudiosos de la ciencia quienes lo hemos calificado "de teórico" sin fundamentos. Francis Crick, efectivamente, es un teórico de la biología molecular, un teórico con una visión muy amplia del mundo de la investigación. La cita con la que comienza este trabajo nos habla del tipo de teórico que es Crick. Sabía que la teoría tiene que estar respaldada por experimentos, nunca les restó la importancia que tienen a pesar de no pasar gran parte de su tiempo llevándolos a cabo. Se dedicaba más bien a estudiar y contrastar los experimentos con el conjunto de conocimientos disponible y entonces, proponer soluciones.

Lo más importante de Crick es su actitud ante los problemas biológicos. Desde muy pronto en la definición del problema, echando

mano de la información disponible, podía trazar el camino que habría de seguirse para llegar a la solución. Muchos científicos que trabajaban sobre el código genético no tenían tan claro el panorama en su conjunto, sino que se concentraban tan sólo en un aspecto del problema (esta es la manera más común de llevar a cabo una investigación). Lo expuesto no va en detrimento, en lo más mínimo, de los científicos, y en cambio sí resalta la actitud de Crick ante la investigación.

La historia de la ciencia hace pública la historia de los científicos más destacados, de individuos de fuerte personalidad que aportaron mucho a su disciplina y que continuaron trabajando exitosamente a lo largo de su carrera. La divulgación de la biografía de un "científico héroe" le permite a la gente (especialmente a los científicos jóvenes, de quienes depende la empresa científica), aceptar e identificarse con la visión ideal de la manera en que trabaja la sociedad científica y que, de otro modo, sería muy abstracta y difícil de comprender.

Según Abir-am, la verdadera importancia de las representaciones de la ciencia llevadas a cabo por científicos, no se basa tanto en su contenido como en sus omisiones (1982, 283). Así, por ejemplo en la historia de Crick, a quien se ha representado como un héroe en la teoría de la biología molecular, se le ha restado importancia a su trabajo experimental para resaltar su trabajo teórico. En algunos casos esto puede exagerarse, llegando a ser un mito, por lo que se debe ser cuidadoso ante exposiciones que se concentran sólo en un lado de la balanza. Así, al estudiar el trabajo de Crick (y el de cualquier otra persona), lo debemos hacer con una visión amplia y sin predisposiciones. Crick insistió en que la experimentación era la que comprobaría o refutaría una teoría y utilizó el conocimiento generado por otros para llegar a sus ideas. Crick es un científico de gran inteligencia y claro pensamiento, digno de admiración tanto por sus contribuciones y su actitud ante la ciencia, como por su manera de llevar a cabo una investigación científica. Sin embargo, es importante que no por exaltar estas virtudes se trivialice el trabajo de otros y el papel de las instituciones sociales.

Francis Crick es un investigador teórico muy importante en el desarrollo tanto de la biología molecular como del pensamiento y propuestas teóricas sobre problemas biológicos. Al analizar su trabajo en torno al código genético podemos darnos cuenta de la manera en que planteó los problemas, los limpió de estorbos y pensó en cómo atacarlos. Crick ha simplificado mucho los problemas y hay quienes lo han criticado por eso, sin embargo es así como ha logrado sentar las bases para la realización de experimentos de parte de otros investigadores. Crick también ha sido criticado de ser reduccionista; en 1994 dijo al respecto: "Reduccionismo no es el proceso rígido de explicar un conjunto fijo de ideas en términos de otro conjunto fijo de ideas a un nivel más bajo, sino un proceso interactivo dinámico que modifica los conceptos en ambos niveles mientras se desarrolla el conocimiento. Después de todo el "reduccionismo" es el medio teórico que ha conducido el desarrollo de la física, química y biología molecular . . . Es la única manera sensata de proceder hasta que nos confrontemos con alguna prueba experimental determinante que requiera que modifiquemos nuestra actitud". Crick (1994,8).

Como se expuso en este trabajo, no todos los que se encontraban en su campo siguieron los caminos que él propuso y muchos de ellos realizaron sus propios experimentos a partir de iniciativa y estrategias propias, sin embargo, Crick estableció un camino atrayente para otros, pues sólo había que ver los resultados que el mismo Crick obtenía de sus planteamientos.

Como biólogos, una figura como la de Crick, nos resulta sumamente interesante, tanto por el hecho de ser un científico tan destacado en biología y haberse iniciado en el mundo de la ciencia a través de la física, como por su personalidad, su enorme interés y compromiso con la investigación, su perseverancia, su capacidad de abandonar ideas equivocadas y sus aportaciones al conocimiento de la biología molecular.

Las propuestas de Crick en los programas de investigación de biología molecular, constituyeron un fundamentado sólido, y crearon el espacio teórico a partir del cual las entidades centrales de la nueva ciencia se producirían, se moldearían y se utilizarían como herramientas de investigación.

BIBLIOGRAFIA:

- 1- Abir-Am, P.G. 1982. Essay Review: How Scientists View Their Heroes: Some Remarks on the Mechanism of Myth Construction. *J. Hist. Biol.* Summer. 15. No.2: 281-315.
- 2- Burian, R.M. 1994. Technique, Task Definition, and the Transition from Genetics to Molecular Genetics. Aspects of the Work on Protein Synthesis in the Laboratories of J. Monod and P. Zamecnik. *J. Hist. Biol.* Fall. 26. No.3: 387-407.
- 3- Clark, Brian F.C. 1984. *The Genetic Code and Protein Biosynthesis*. Edward Arnold Publ. London.
- 4- 1971. CODING. Selected papers in biochemistry: Vol.3 Coding. Susumu Nishimura. Univ. of Tokyo Press. Japan.
- 5- Crick, F., J.S. Griffith and L.Orgel. 1957. Codes Without Commas. *Proc. Natl. Acad. Sci.* Vol 43:416-421.
- 6- Crick, F. 1958. On Protein Synthesis. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 12: 138-163.
- 7- Crick, F. et al. 1961. General Nature of the Genetic Code for Proteins. *Nature*. 192. No. 4809: 1227-1232.
- 8- Crick, F. 1962. The Genetic Code. *Sci. Amer.*
- 9- Crick, F. 1963. The Recent Excitement in the Coding Problem. *Prog. Nucleic Ac. Res.* 1: 213:214.
- 10- Crick, F. 1966. Codon-Anticodon Pairing: The Wobble Hypothesis. *J. Mol. Biol.* 19: 548-555.
- 11- Crick, F. 1966. The Genetic Code III. *Sci. Amer.* 215. Oct. 55-62
- 12- Crick, F. 1968. The Origin of the Genetic Code. *J. Molec. Biol.* 38: 367-379.
- 13- Crick, F. 1981. *Life Itself*. Simon and Schuster's. New York.
- 14- Crick, F. 1988. *What Mad Pursuit*. Basic Books, Publ. USA.
- 15- Crick, F. 1994. *The Astonshing Hypothesis*. Charles Scriber's Sons. New York.
- 16- Franklin, A. 1990. *Experiment Right or Wrong*. Cambridge Univ. Press. USA.

- 17- Gamow, G. *et al.* 1956. The problem of Information Transfer from the Nucleic Acids to Proteins. *Advances in Biological and Medical Physics*. Vol.4
- 18- Gamow, G. y M. Ycas. 1961 Statistical Correlation of Protein and Ribonucleic Acid Composition. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 41. No. 12. Dic. 1011-1019.
- 19- Giacomini, D. 1993. The Origin of DNA:ARN Hybridization. *J. Hist. Biol.* Spring. 26. No. 1.
- 20- Hacking, I. 1983. *Representing and Intervening*. Cambridge Univ. Press. England.
- 21- Hamilton, L.D. 1968. Models and Reality. *Nature*. 218: 633-637.
- 22- Judson, H.F. 1979. *The Eighth Day of Creation*. Simon and Schuster's, New York.
- 23- Kuhn, T.S. 1962. *La Estructura de las Revoluciones Científicas*. Fondo de Cultura Económica. México.
- 24- Kuhn, T.S. 1977. *La Tensión Esencial*. Fondo de Cultura Económica. México.
- 25- Lakatos, I. y A. Musgrave. 1975. *La Crítica y el Desarrollo del Conocimiento*. Ed. Grijalbo. México.
- 26- Lewin, B. 1987. *Genes III*. John Wiley & Sons, Inc. Singapur.
- 27- Margolis, J. 1987. *Science without Unity*. Basil Blackwell, Inc. New York.
- 28- Muller, H.J. 1922. Variation due to the individual gene. *American Naturalist*. 56:32-50.
- 29- Nirenberg, M. y J. Matthaei. 1961. The Dependence of Cell-free Protein Synthesis in *E. coli* upon naturally occurring or Synthetic Poliribonucleotides. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 47: 1588-1602.
- 30- Olby, R. 1974. *The Path to the Double Helix*. Univ of Washington Press. USA.
- 31- Orgel. L.E. 1968. Evolution of the Genetic Apparatus. *J. Molec. Biol.* 38: 381-393.
- 32- Osawa, S. *et al.* 1992 Recent Evidence for Evolution of the Genetic Code. *Microbiol. Reviews*. Mar. 56. No.1: 229-264.

- 33- Rheinberger, H. 1992. Experiment, Difference, and Writing: I. Tracing Protein Synthesis. *Stud. Hist. Phil. Sci.* 23. No.2: 305-331.
- 34- Rheinberger, H. 1992. Experiment, Difference, and Writing: II. The Laboratory Production of Transfer RNA. *Stud. Hist. Phil. Sci.* 23. No.3: 389-422.
- 35- Sarkar, S. 1989. *Reductionism And Molecular Biology: A Reappraisal*. Tesis. Univ. of Chicago, Illinois.
- 36- Schrödinger, E. 1944. *¿Qué es la vida? Cuadernos infimos-Tusquets Editores*, 1983. Barcelona, España.
- 37- Smart, J.J.C. 1963. *Philosophy and Scientific Realism*. Routledge and Kegan Paul. London
- 38- Stent, G.S. and R. Calendar. 1978. *Molecular Genetics. An Introductory Narrative*. 2nd Ed. W.H. Freeman & Co. Sn. Francisco.
- 39- Stent, G.S. 1968. That Was the Molecular Biology That Was. *Science*. April. 160: 390-395.
- 40- Suárez, E.M. 1992. *Aplicación del modelo historiográfico de David Hull a los orígenes de la biología molecular. Contrastación de un modelo evolutivo del desarrollo de la ciencia*. Tesis de Maestría en Ciencias. Mayo. Universidad Nacional Autónoma de México.
- 41- Suárez, E.M. y A.Barahona. 1992. Física y biología en el nacimiento de la biología molecular: la determinación de la estructura del ADN. *LLULL*. 15: 395-414.
- 42- Watson, J. 1963. Involvement of ARN in the Synthesis of Proteins. *Science*. 140. No.3562: 17-26.
- 43- Woese, C.R. 1967. *The Genetic Code*. Harper & Row, Publ. New York.
- 44- Yanofsky, C. et al. 1964. On the Colinearity of Gene Structure and Protein Structure. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 51: 266-272.
- 45- Zallen, D.T. 1993. Redrawing the Boundaries of Molecular Biology: the Case of Photosynthesis. *J. Hist. Biol.* Spring. 26. No.1: 65-71.