

49
2Ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

EL SISTEMA EXPERIMENTAL DE BEADLE Y TATUM.
LA IMPORTANCIA DE LA ELECCION DE UN ORGANISMO.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G A

P R E S E N T A :

MARIA MARTHA OLIVIA GARDUÑO PEREZ



DIRECTOR DE TESIS: DRA EDNA MARIA SUAREZ DIAZ

27000

1999



TESIS CON
FOLIO DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

M. en C. Virginia Abrín Batule
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis: El Sistema Experimental de Beadle y Tatum. La importancia de la elección de un organismo.

realizado por Maria Martha Olivia Garduño Pérez.
con número de cuenta 7212353-5 , pasante de la carrera de Biología.

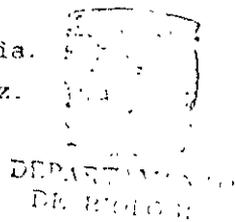
Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis

- Propietario Dra. Edna María Suárez Díaz. *Edna M. Suárez*
- Propietario Dra. Ana Barahona Echeverría. *Ana Barahona*
- Propietario Biol. María Alicia Villela González. *M. A. Villela*
- Suplente M. en C. Victor Manuel Valdés López. *Victor Manuel*
- Suplente Dra. Luisa Alvarina Alba Lois. *Luisa Alvarina*

Consejo Departamental de Biología.
Edna M. Suárez
Dra. Edna María Suárez Díaz.



A mis queridos Padres.

A mi hermana Dra. Adriana Maria de
Lourdes Garduño Pèrez, por el cariño
y apoyo incondicional que siempre me
ha brindado.

A mi hijo querido Eduardo
Javier Benavides Garduño,
por las horas de trabajo
conmigo en la realizaciòn
de esta tesis.

Al amado recuerdo de mi hijo Guillermo.

Con agradecimiento para
todos mis Maestros.

ÍNDICE

| | Pág. |
|--|------|
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| Capítulo I | |
| ANTECEDENTES | 6 |
| 1.1 Origen e institucionalización de la biología molecular..... | 6 |
| 1.1.1 <i>La gran depresión de los años treinta</i> | 7 |
| 1.1.2 La Guerra Fría..... | 16 |
| 1.2 Las primeras escuelas de investigación en la biología molecular..... | 20 |
| 1.2.1 La escuela estructuralista.- Escuela británica y escuela californiana..... | 21 |
| 1.2.2 La escuela informacional.- La escuela genética..... | 26 |
| 1.2.3 La escuela bioquímica.- Los experimentos de: Archibald Garrod, Oswald T. Avery y Erwin Chargaff..... | 28 |
| 1.3 La función de las escuelas de investigación en el desarrollo de la biología molecular..... | 38 |
| Capítulo II. | |
| LA FUNDACIÓN ROCKEFELLER Y EL INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CALIFORNIA | 42 |
| 2.1 Introducción..... | 42 |
| 2.2 La fundación Rockefeller..... | 47 |
| 2.3 El Instituto Tecnológico de California. Caltech..... | 53 |
| Capítulo III. | |
| LA VISIÓN GENÉTICA-BIOQUÍMICA DE LA VIDA | 60 |
| 3.1 Introducción..... | 60 |
| 3.2 La genética clásica y Thomas Hunt Morgan..... | 63 |

| | |
|---|------------|
| 3.2.1 Herman Muller y la mutagénesis..... | 69 |
| 3.3 La ruta bioquímica del genotipo al fenotipo..... | 71 |
| 3.3.1 Los primeros intentos: Beadle y Ephrussi..... | 73 |
| 3.3.2 El sistema experimental de Beadle y Tatum..... | 77 |
| 3.3.3 El por qué <u>Neurospora</u> | 78 |
| 3.3.4 Los experimentos de Beadle y Tatum con <u>Neurospora crassa</u> | 81 |
| 3.4 Beadle y la determinación genética. | |
| Capítulo IV. | |
| LA ACEPTACIÓN DEL TRABAJO DE BEADLE Y TATUM..... | 94 |
| 4.1 El slogan “un gen – una enzima”..... | 94 |
| 4.2 El contexto institucional y la ruptura de barreras disciplinarias..... | 98 |
| 4.3 Las repercusiones del trabajo en <u>Neurospora</u> : ciencia, industria y militarismo..... | 103 |
| CONCLUSIONES..... | 113 |
| Por qué <u>Neurospora</u> : la relevancia de un sistema biológico adecuado | 113 |
| APENDICE A. | 118 |
| BIBLIOGRAFÍA..... | 120 |

INTRODUCCION.

El presente trabajo de tesis se enfoca al análisis de un caso histórico en la construcción de la biología molecular: el desarrollo experimental de los trabajos que llevaron a la comprensión de las funciones bioquímicas del gen.

Dichos trabajos tuvieron un gran impacto en el camino que habría de unir a la genética clásica con los nuevos desarrollos de la biología molecular y la bioquímica. En particular, se les atribuye a esas investigaciones la generación de posibilidades para entender la relación genotipo-fenotipo. Ahora bien, como toda investigación experimental en las ciencias de la vida, en estos trabajos tuvo una importancia primordial la elección de un organismo adecuado, y de ahí el título de ésta tesis.

En efecto, durante el desarrollo histórico de la biología molecular como ciencia interdisciplinaria del siglo XX, podemos considerar que las investigaciones en genética bioquímica tuvieron su origen a partir de los años veinte con los trabajos que realizó el Dr. Archibald Garrod sobre el desorden metabólico denominado alcaptonuria, en donde estableció las bases de la relación entre la genética y la bioquímica. Sin embargo, es en las siguientes dos décadas cuando se publicaron trabajos, que por su trascendencia representaron un hito para el desarrollo de ésta disciplina, y que marcaron el camino a las investigaciones posteriores que culminaron con la dilucidación de la estructura tridimensional de la molécula del ADN por Francis Crick y James Watson en 1953, y del ARN mensajero por Francois Jacob y Jaques Monod en 1959.

De estos trabajos destacan las investigaciones realizadas por George Beadle y Boris Ephrussi con la mosca de la fruta Drosophila

melanogaster a finales de los treinta, y de Beadle y el bioquímico Edward Tatum con el hongo del pan Neurospora crassa a principio de los cuarenta.

El objetivo de esta tesis consiste no solo en señalar la importancia que las investigaciones de Beadle y Tatum tuvieron en el camino de elucidación del proceso de expresión de los genes, considerando que su realización implicó síntesis institucional y conceptual de diferentes maneras de llevar a cabo investigación, si no, además, ilustrar la importancia que para la investigación científica exitosa tiene el contar con un contexto favorable (en donde se incluyen soportes financieros, técnicos y humanos). Dentro de ese contexto en el que se realiza la investigación científica tiene un lugar esencial la elección del organismo usado como objeto de estudio.

Para satisfacer estos objetivos, he realizado una investigación histórica que pretende situar a los investigadores y a su obra dentro del marco histórico institucional, económico y político en el que fueron realizadas sus investigaciones, así como he tratado de detallar las dificultades experimentales a las que se enfrentaron durante el desarrollo de su trabajo

Para lo anterior he dividido la presente tesis en cuatro capítulos y un apéndice. Ya que las investigaciones de George Beadle y Boris Ephrussi se realizaron a finales de los años treinta, y las investigaciones de Beadle y Edward Tatum se llevaron a cabo a principio de los cuarenta, considero de primordial importancia ubicar en el primer capítulo las condiciones sociales, políticas, económicas y conceptuales de la cambiante situación internacional en la que emergió la biología molecular como ciencia interdisciplinaria líder de la segunda mitad del siglo veinte. Un hecho que debemos recalcar es el que las investigaciones realizadas por éstos científicos, de alguna u otra

manera, establecieron lazos que relacionaron estrechamente las concepciones intelectuales de dos formas de pensamiento hasta ése momento consideradas ajenas y por algunos, incluso, opuestas: la visión genetista y la bioquímica. La primera mitad del siglo veinte se caracterizó por ser una etapa profundamente conflictiva en la cual los asuntos de orden político y militar eran prioridades en las agendas de las grandes potencias mundiales. La ciencia no escapa a las múltiples presiones que el poder ejerce sobre cualquier actividad humana, y nuestro estudio es un ejemplo contundente de tal aseveración. Sucesos tales como la primera Guerra Mundial, la carrera armamentista, los constantes roces entre Oriente y Occidente y la Gran Depresión de los años treinta hicieron posible el inicio de la investigación en nuevos campos dentro de las ciencias de la vida, tendencia que fue revalorizada y revigorizada con el inminente principio de la Segunda Guerra Mundial, y que posteriormente tomó tintes realmente importantes con el inicio de la Guerra Fría.

En el segundo capítulo se analiza el papel que la Fundación Rockefeller desempeñó en el origen y desarrollo de la biología molecular como matriz generadora de proyectos interdisciplinarios de investigación científica, a través de la gran cantidad de dinero que aportó para la investigación, promoción y creación institucional de mecanismos de cooperación multidisciplinaria, cultivando acuerdos y contactos que involucraron, como en el caso de las investigaciones de Beadle, estrechamente a la ciencia con los intereses de la industria y el gobierno estadounidense.

La influencia de la Fundación Rockefeller en la ciencia a través de instituciones como el Instituto Tecnológico de California, es un caso que ilustra los fuertes lazos que existen entre el capital intelectual, la economía y las estructuras gubernamentales e institucionales, desde los años treinta hasta nuestros días.

En el capítulo III, titulado "La visión genética-bioquímica de la vida", se describen las aportaciones de Gregor Mendel como iniciador de la genética a finales del siglo XIX, ubicando la importancia que tiene la selección adecuada de un organismo a emplearse como objeto de estudio, a través del establecimiento de una analogía comparativa entre las investigaciones de dos científicos representantes de diferentes momentos históricos, como lo fueron Gregor Mendel y George Beadle. Asimismo, se estudian las aportaciones realizadas por los científicos pertenecientes a la denominada escuela morganiana, gracias a los cuales se consolidó el desarrollo de la genética postmendeliana, y que permitieron con el paso del tiempo mayor profundidad en las investigaciones en genética-bioquímica; en especial, en la relación entre el gene como unidad física y su medio. Prueba de lo anterior son los trabajos llevados a cabo por Beadle y Ephrussi con la mosca de la fruta Drosophila melanogaster, y por Beadle y Tatum con el hongo del pan Neurospora crassa, los cuales se hicieron posibles en gran medida gracias a las indagaciones que, dentro del campo de la genética, hicieron los científicos de la escuela morganiana. No podríamos concluir el estudio de este capítulo sin mencionar la obra del Dr. Archibald Garrod, ya que de hecho, puede considerarse a Garrod como el gran precursor de las investigaciones en genética bioquímica, debido al peso que su obra tuvo sobre investigadores posteriores (entre los cuales figura Beadle como ejemplo). Resulta irónico, que siendo Garrod el científico que abrió el sendero para la consecución de posteriores investigaciones en genética-bioquímica, no se le dé su justa trascendencia histórica en la "visión genética-bioquímica de la vida"

Para finalizar esta tesis, en el capítulo IV se discute la acogida que recibieron los experimentos de Beadle y Tatum dentro del medio científico de aquel entonces, incluyendo la repercusión que su trabajo tuvo en áreas como la industria y la maquinaria militar. Cabe señalar,

que dichas investigaciones culminaron con la formulación del "slogan", entonces novedoso, "UN GEN-UNA ENZIMA". Dicho "slogan" es toda una fórmula en sí, puesto que contempla la regulación enzimática de una reacción química por un gene sencillo, y establece de manera clara la búsqueda de una posición "dominadora" de la biología molecular sobre las otras disciplinas de la biología. Como intenta mostrar esta tesis, el caso de los trabajos de Beadle y Tatum ilustra de manera ejemplar la construcción de éste lugar privilegiado de la biología molecular en nuestro siglo.

Capítulo I.

ANTECEDENTES

1.1 Origen e Institucionalización de la Biología Molecular

La biología molecular trata de la estructura y función de las biomoléculas, además de los procesos evolutivos que han desembocado en niveles de organización moleculares y supramoleculares.

Desde sus inicios, a principios de los años treinta, hasta su institucionalización final como nueva disciplina transdisciplinaria durante los años sesenta, la biología molecular se ha establecido ella misma en un contexto internacional determinado por frecuentes encuentros entre científicos, constantes esfuerzos de colaboración y un continuo intercambio de información a través de redes de correspondencia entre varios países. (Abir-Am, 1985).

Cualquier investigación histórica acerca del desarrollo de la biología molecular como disciplina indicadora de la ciencia de la segunda mitad del siglo XX, debe tomar en cuenta las condiciones socio-políticas y conceptuales que interactuaron en la cambiante situación internacional de donde surgió la biología molecular como disciplina innovadora y revolucionaria. Los principales sucesos de la política internacional que tuvieron un gran impacto en las condiciones socio-políticas y conceptuales en las que emergió el universo transdisciplinario de esta ciencia fueron La Gran Depresión de los Años Treinta, La Guerra Fría y la bonanza del Post-Sputnik en la política científica de los años,

sesenta. (Abir-Am, 1987). Dado el tema de esta tesis que se desarrolla antes y después de la II Guerra Mundial, me referiré a continuación únicamente a los dos primeros aspectos.

1.1.1 *La gran depresión de los años treinta*

El surgimiento de la biología molecular como nueva disciplina transdisciplinaria dentro de las principales divisiones científico-naturales de la biología, de la física y de la química, puede rastrearse a dos congresos internacionales celebrados en Londres en el verano de 1931, y fueron: El Congreso Centenario de la Asociación Británica para el Avance de la Ciencia, y el Simposium especial que tuvo lugar en el Segundo Congreso Internacional para la Historia de la Ciencia. En ambos congresos se trató la entonces reciente idea de la "cientificidad no clásica" y su importancia inmediata en la reestructuración de la relación histórica, jerárquica y reduccionista entre las ciencias biológicas y físicas. (Abir-Am, 1985)

La legitimación resultante de un potencialmente nuevo espacio transdisciplinario común a la biología, la física y la química tuvo lugar en un contexto científico y socio-político interdependiente: por un lado, la rehabilitación de las proteínas como objetos macromoleculares a finales de los años veinte, centró la atención teórica y tecnológica en la estructura de las proteínas y en los ensamblajes macromoleculares relacionados. Por otro lado, el nuevo espacio transdisciplinario de la biología molecular se constituyó desde sus inicios interdependiente de un contexto internacional, en el cual el tema del progreso científico en el nivel biomolecular estaba conectado con las agencias internacionales en el sentido del despliegue de las operaciones del periodo entre las dos guerras a escala internacional, de los imperios Británico, Soviético

y Americano, y sus particulares ideologías y respectivas formas de capital político, científico y financiero.

La interdependencia del contexto sociopolítico internacional y científico de los años treinta es clara en la representación del problema de la estructura de las proteínas (que constituyó el primer y único discurso en biología molecular), como encarnación utópica de innovación colectiva de un grupo de científicos británicos de vanguardia promotores de los ideales socialistas soviéticos, quienes contaban a su vez con apoyo financiero norteamericano para su empresa científica en el área del progreso biomolecular.

El Segundo Congreso Internacional para la Historia de la Ciencia, celebrado en el Museo de la Ciencia en South Kensington, en Londres en 1931, fue conocido por la interpretación marxista de Boris Hessen acerca de los orígenes de la ciencia moderna, y por la introducción de toda una serie de propuestas metodológicas que sobre la historia y la filosofía de la ciencia hizo la delegación soviética, encabezada por el veterano ideólogo leninista Nikolai Bukharin.

En este Congreso, despertó un especial interés la presencia del conferencista soviético Boris Zavadovsky, quien participó en una serie de ocho conferencias sobre "Las relaciones históricas y contemporáneas entre la física y la biología", con una contribución sobre el reduccionismo como reflejo de las contradicciones del capital internacional, para después abogar por la complementariedad de las ciencias biológicas y físicas en la ciencia liberada del futuro. (Abir-Am, 1997).

Poco después de estos congresos internacionales, las drásticas condiciones socio-políticas que se acentuaron por el erróneo desempeño del segundo gobierno laborista en Gran Bretaña, por el

colapso simultáneo del patrón oro, por las marchas de personas hambrientas y el establecimiento de la rama de la Asociación de Trabajadores Científicos en instituciones tradicionales como la Universidad de Cambridge, ocasionaron que varios científicos dieran pasos concretos para investigar de manera sistemática los cambios que se presentaban. Joseph Needham, bioquímico; J. D. Bernal, biofísico convertido en cristalógrafo de rayos X; Conrad Hal Waddington, embriólogo y genetista; Joseph Henry Woodger, zoólogo convertido en filósofo de la biología; y Dorothy Wrinch, matemática y filósofa de la ciencia, establecieron la Unión Bioteórica, un foro vanguardista de discusión interdisciplinaria sobre las implicaciones de las nuevas perspectivas filosóficas de la ciencia, con el objeto de cambiar la relación reduccionista entre la física y la biología y conducirlos a un contacto intelectual más estrecho y paritario. Autoridades científicas y progresistas, especialmente el Premio Nobel descubridor de las vitaminas, Sir Frederick Gowland Hopkins, quien en ese tiempo era director de varias e importantes asociaciones científicas, empleó sus conferencias presidenciales en presentar a la biología como la ciencia del futuro, como una disciplina capaz de ofrecer inmensos beneficios científicos y sociales.

El mensaje de Hopkins fue aceptado por jóvenes científicos que eran ideológicamente sensibles, como los que fundaron la Unión Bioteórica, quienes consideraban que una revolución teórica en biología estaba en puerta y que esta revolución sería clave para los principales avances científicos y sociales.

Por otra parte, el mensaje de Hopkins fue incorporado a la retórica del nuevo esquema del progreso biológico de la Fundación Rockefeller, esquema que necesitaba justificar el apoyo a una disciplina concreta (frente a una política previa de excelencia dispersa) y que por lo tanto, encontró en las imprecisas y esperanzadoras palabras de Hopkins

sobre la importancia social de la biología, el más bienvenido factor legitimador de una política que contemplaba a la ciencia como un pacificador mundial del desasosiego social. El nuevo programa de la Fundación Rockefeller fue aprobado en 1933, y después fue desarrollado como una acción concertada de intercambio tecnológico de las ciencias físicas a las biológicas. (Needham, 1962).

El primer programa de investigación de biología molecular surgió en 1934 entre miembros de la Unión Bioteórica y empleados de la Fundación Rockefeller, después de que estos ubicaron a aquéllos como convenientes especialistas potenciales y solicitaron de ellos propuestas de investigación. En este momento la Unión Bioteórica estaba desplazando su curso, iniciado en 1932, de un planteamiento teórico a otro principalmente molecular en biología, respondiendo así al descubrimiento hecho por Bernal en 1934, de que las proteínas podían ser cristalizadas (al menos la pepsina), y que éstos cristales producían radiografías potencialmente descifrables.

Aunque no fue ampliamente reconocido en aquellos tiempos, el descubrimiento de Bernal marcó para muchos el origen de la biología molecular, y además constituyó un éxito para Bernal y sus compañeros de la Unión Bioteórica ya que por primera vez la capacidad única de las proteínas para realizar varias funciones biológicas podría ser explicada en los precisos términos físico-químicos de una estructura molecular unificadora.

En realidad su entusiasmo se debía a la creencia de que una posible solución al problema de la estructura de las proteínas era parte esencial del "secreto de la vida". De hecho, este tema siguió cautivando a muchos biólogos moleculares mucho después de que el ADN reemplazara a las proteínas como molécula "símbolo" de la biología molecular.

Dado que las prolongadas negociaciones sobre la propuesta presentada por la Unión Bioteórica a la Fundación Rockefeller implicaban a cinco científicos de la Gran Bretaña, a quince científicos árbitros de proyectos repartidos por Gran Bretaña, Alemania y Estados Unidos, a varios revisores informales de Estados Unidos y Europa, y a cinco empleados de la oficina Europea de la Fundación Rockefeller en París y de su oficina central en Nueva York, resulta obvio que el incipiente discurso en biología molecular emerge en un profundo contexto internacional. (Abir-Am, 1988).

El contexto internacional del naciente discurso de la biología molecular a finales de los años treinta fue agudamente manipulado por los empleados de la Fundación Rockefeller, no sólo a través de sus impresionantes viajes internacionales de promoción, sino principalmente como consecuencia del amenazador proceso de revisión de proyectos, que fracasó en su objetivo de producir un consenso para validar nuevos temas de investigación potencialmente polémicos, en donde se produjeron intentos de incluir al presidente de la Fundación Rockefeller en un proceso de toma de decisiones que creció más allá del control de la propia Fundación Rockefeller. (Abir-Am, 1982).

Con la preparación del plan del primer grupo de inversiones a largo plazo, para el Comité de Valoración de la Fundación Rockefeller se hizo obvio que el núcleo del progreso en biología no estaba basado en el intercambio de tecnología de las ciencias exactas a la biología (presumiblemente la tecnología era el único legado permanente de la física clásica una vez que sus bases teóricas fueran debilitadas por las revoluciones relativas y cuantitativas), sino que el suceso clave era el desplazamiento hacia un nivel molecular de organización biológica más básico, macromolecular o submolecular, nivel que resultó identificado con la estructura de proteínas.

El alcance internacional del discurso basado en la estructura de proteínas en los años treinta fue evidente en la consolidación de un programa de investigación en proteínas por cristalografía de rayos X, programa sin el cual la biología molecular hubiera sido inconcebible en cualquiera de sus fases: de proteína, ADN, o proteína-ADN.

Como ya se mencionó, en el laboratorio de Bragg el programa de cristalografía de rayos X comenzó en 1934, cuando Bernal obtuvo la primera fotografía de rayos X de la proteína, una proteína cristalina, globular y biológicamente activa como enzima digestiva. Esta radiografía además de demostrar la solubilidad de la estructura de las proteínas, fue el inicio de un acercamiento molecular a la función biológica. (Bernal, 1934).

Otras colaboraciones clave en el campo de la estructura de las proteínas incluían investigaciones llevadas a cabo entre el cristalógrafo británico y antiguo colega de Bernal, W. T. Atsbury, de la Universidad de Leeds y experto en proteínas fibrosas y el embriólogo americano Ross Harrison; y entre la bióloga teórica y molecular, antes matemática, Dorothy M. Wrinch, y el Premio Nobel en física y química, el americano Irving Langmuir. Los densos intercambios entre estos dos últimos investigadores y Felix Haurowitz en Praga, Kaj Linderstrom Lang en Copenhague, Svedberg en Uppsala, Max Bergmann en Nueva York, Linus Pauling en California, J. D. Bernal y W. H. Bragg en Londres; reflejan la intensidad del tráfico internacional de ideas que sobre la estructura de las proteínas se realiza en los años treinta. (Srinivasan, 1982).

De hecho, los colaboradores de Bernal en cristalografía de rayos X de proteínas globulares procedían en su mayor parte de fuentes internacionales. Incluían al americano Isidor Fankuchen, al austriaco Max Perutz y al sudafricano Aaron Klug. En esta época, el Laboratorio

de Bernal era conocido tanto por su ambiente como por su ideología internacional; esto último se consideraba como una interpretación "científica" del marxismo que coincidía con el propio espíritu internacional de la ciencia, y que empujó a Bernal al activismo en las sociedades científicas internacionales aparentemente inspiradas en la orientación internacional del Comintern. En 1939 con la publicación de "The Social Function of Science", Bernal fue pionero de los estudios de política científica, en este trabajo incluyó un capítulo sobre la ciencia internacional. (Bernal, 1939)

Finalmente, fue el estudiante de investigación de Bernal, Max Perutz, asentado en Gran Bretaña tras la anexión de Austria a Alemania, quien se convirtió en el principal especialista en cristalografía de rayos X de proteínas en la Universidad de Cambridge, tras la marcha de Bernal a Londres en 1938. El mejor trabajo de investigación de Perutz fue la resolución de la compleja estructura de la hemoglobina, trabajo por el cual recibió el Premio Nobel en 1962. Otra función clave de Max Perutz dentro del desarrollo de la biología molecular es el haber sido el mentor de Francis Crick, además del auge del Laboratorio de Biología Molecular del MRC. (Medical Reserach Council) en Cambridge, que bajo su dirección se constituyó en uno de los laboratorios internacionalmente reconocidos.

Otro aspecto de importancia para la consolidación de la biología molecular sobre el que se celebraron varias reuniones internacionales, tanto formales como informales, fue la mecánica de los cromosomas y la estructura de los genes. Las frecuentes reuniones en Francia (1937), en Estados Unidos (1938) y en Gran Bretaña (1939), reflejaban la actualidad internacional de este tema que proporcionó información clave para que surgiera la biología molecular. En las reuniones se trataron temas relacionados con enfoques físicos y químicos de problemas biológicos, incluyendo metabolismo y morfogénesis, los

efectos biológicos de la radiación y la estructura del gene y su mecanismo de acción.

Entre agosto y septiembre de 1939, se llevó a cabo en Edimburgo el Séptimo Congreso Internacional de Genética; este congreso al ser interrumpido por el comienzo de la Segunda Guerra Mundial ocasionó el abandono de varias delegaciones extranjeras, sin embargo, se dieron varias sesiones y charlas que reflejaban el naciente discurso internacional en biología molecular. La sesión más representativa del discurso de la biología molecular se tituló: "Estudios de proteínas y virus en relación con el problema del gen", y fue presidida por J.B.S. Haldane de Gran Bretaña.

Los temas tratados en el Séptimo Congreso Internacional de Genética se parecieron a los de una reunión informal de doce físicos, bioquímicos y citogenetistas celebrada en Klampenborg, Dinamarca, en 1938, con el apoyo de la Fundación Rockefeller. Esta reunión produjo la primera discusión de carácter internacional sobre aspectos estructurales moleculares de la genética, especialmente de los problemas citogenéticos, entre genetistas, físicos y bioquímicos. (Waddington, 1969).

La reunión de Klampenborg, fue organizada por Boris Ephrussi y Nikolai Timofeef-Ressovsky, ambos perfectos ejemplos de internacionalidad por ser científicos de nacionalidad rusa formados en Francia y Alemania respectivamente. Los participantes de esta reunión estaban implicados en colaboraciones interdisciplinarias e internacionales. Así, mientras Bernal y Astbury participaban en los intercambios entre investigadores de la estructura de las proteínas, el embriólogo C.H. Waddington colaboraba con científicos de media docena de países en morfología físico-química, y en 1938 realizó un viaje a los Estados Unidos con el

objeto de visitar centros de embriología y genética en la Universidad de Columbia, en Cold Spring Harbor y en el Tecnológico de California.

Boris Ephrussi era embriólogo experimental convertido en genetista fisiológico en el Instituto de Biología Físico-Química de París, había colaborado con el genetista americano George Beadle en Pasadena en 1934 y 1936, y en París en 1935. De este trabajo realizado en forma conjunta hablaré con detalle en el capítulo III, dada su importancia para el tema central de esta tesis. Por otra parte, el genetista ruso Timofeef-Ressovsky, trabajó en el Institute Kaiser Wilhem en Berlín durante el periodo de 1925 a 1945, colaboró con los físicos alemanes Karl Zimmer y Max Delbrück, y además mantuvo constantes contactos con el genetista americano H.J. Muller, quien trabajó en la Unión Soviética y en Escocia. (Burian, 1991).

Tal vez el más "internacional" de los participantes que asistieron a Klampenborg fue Louis Rapkine, investigador ruso nacido en Canadá, quien perteneció al Instituto de Biología Físico-Química de París hasta mediados de los años veinte. Hasta su temprana muerte a los 44 años, Rapkine desarrolló una excepcional carrera internacional en ciencias y en política científica. En los años treinta colaboró con los bioquímicos Joseph y Dorothy Needham, así como con el embriólogo experimental belga Jean Brachet. Durante la Segunda Guerra Mundial Rapkine surgió como un líder político internacional, ya que representaba los intereses del gobierno francés y de los científicos en el exilio, en círculos británicos y americanos.

La importancia de Rapkine en el futuro discurso de la biología molecular deriva de dos fuentes principales: la primera, su posición como informador informal y consejero de confianza de la Fundación Rockefeller, posición que obtuvo a mediados de los años veinte; la segunda, su especial influencia intelectual y moral sobre el joven

Jacques Monod, futuro líder intelectual y una personalidad internacional en biología molecular. (Abir-Am, 1982).

1.1.2 La Guerra Fría

Después de la Segunda Guerra Mundial hubo un fuerte incremento en las reuniones nacionales e internacionales de importancia para el desarrollo de la biología molecular. Este incremento ocurrió en parte para solucionar el abandono de la investigación biológica en general impuesto por la guerra, y en parte a causa del comienzo de la Guerra Fría y la era atómica en la estrategia política global, la cual puso en marcha amplias iniciativas en política científica en todos los países, pero especialmente en potencias de primer y segundo orden como Estados Unidos, la URSS y Gran Bretaña. Estas iniciativas de política científica, aunque centradas en el refuerzo de la ciencia como un activo estratégico nacional, culminando a finales de los cincuenta con la creación de las nuevas oficinas del consejero presidencial de ciencias y su comité en los Estados Unidos, también incluyeron, apoyos para viajes y becas de intercambio de larga duración que aumentaron el tráfico de científicos. (Smith, 1990).

Esta situación fue de especial importancia para un campo transdisciplinario como la biología molecular, que depende de una continua permeabilidad de barreras o límites disciplinarios, institucionales y nacionales.

En la postguerra, las reuniones internacionales claves para la consolidación de la biología molecular incluyeron: el Simposium de Microorganismos en Cold Spring Harbor efectuado en 1946; el Congreso Internacional de Microbiología celebrado en Copenhague en

1947; y el primer Congreso Internacional de Bioquímica, realizado en Cambridge en 1949. En el Symposium de Microorganismos se fijaron las bases para los contactos duraderos entre microbiólogos bioquímicos franceses (en especial Andre Lwoff y Jacques Monod), y norteamericanos, muchos de los cuales se convirtieron mas tarde en biólogos moleculares. Fue en el primer Congreso Internacional de Bioquímica, donde Erwin Chargaff presentó sus resultados sobre las proporciones de bases del ADN.

De especial importancia para la biología molecular y para el tema de este trabajo, fueron dos reuniones celebradas en París, sobre "Partículas biológicas dotadas de continuidad genética" en 1948, y sobre "Bacteriófagos y lisogenia" en 1952; y dos reuniones celebradas en Cold Spring Harbor, sobre "Herencia y microorganismos" en 1951, y "Virus" en 1953. En estas reuniones muchos de los futuros líderes de la biología molecular, especialmente los franceses y norteamericanos, intercambiaron puntos de vista sobre sus diversos enfoques en fisiología microbiana, bioquímica y genética. Los participantes establecieron una relación de complementariedad más que de competitividad, lo que dio lugar a numerosas visitas mutuas durante los años cincuenta. Este clima de continuo tráfico internacional constituyó el contexto social que permitió la colaboración transnacional en descubrimientos clave en biología molecular; entre ellos algunos de los más notables como aquellos que condujeron al modelo de doble hélice del ADN y ARN mensajero¹. Pero también a otros quizá de la misma

¹ De hecho, la decisión de James D. Watson para cambiar su beca postdoctoral desde el laboratorio de Kalckar en Copenhage (al que llegó con la intención de estudiar los ácidos nucleicos), al Laboratorio del Medical Research Council (MRC) de Cambridge (donde colaboró con Ole Maaloe en la replicación de fagos), fue tomada porque tuvo la oportunidad de observar una radiografía del ADN presentada por Maurice Wilkins, en una reunión internacional sobre "La Estructura Submicroscópica del Protoplasma", celebrada en Nápoles Italia, en mayo de 1951. (Watson, 1968).

Del mismo modo, la negativa del Departamento de Estado Norteamericano a la concesión de visado de Linus Pauling (quien había propuesto la estructura de alfa hélice para las proteínas), para acudir al Congreso de la Real Sociedad sobre estructura de proteínas en abril de 1952, hizo que éste no pudiera observar las más recientes radiografías del ADN tomadas por Rosalind Franklin y Maurice

importancia como el trabajo interdisciplinario e internacional desarrollado por Beadle y Ephrussi, y entre él y Tatum.

Además del visible carácter internacional del descubrimiento de la doble hélice gracias a investigaciones realizadas por coautores de distintas nacionalidades, no se deben olvidar, por ejemplo los continuos viajes de Watson por varios laboratorios y congresos británicos, daneses, suizos, franceses e italianos, en busca de información además de toda la obtenida en las Universidades de Chicago, Indiana, Caltech y Cold Spring Harbor. También es de gran importancia la continua presencia de visitantes extranjeros al Cavendish, lugar de estancia de Watson cuando no se encontraba a la búsqueda de información fuera de las Islas Británicas. De entre estas visitas, se pueden mencionar la del norteamericano Jack Donahue y la del centroeuropeo emigrado a los Estados Unidos, Erwin Chargaff.

Lo anterior ilustra el profundo espacio internacional en el que se inscribió el descubrimiento de la doble hélice como impulso único y como legado del clima de la Guerra Fría en las relaciones internacionales.

Wilkins; lo que dio lugar a la imposibilidad de que Pauling construyera algún modelo del ADN con éstos datos. El resultado de la decisión del Departamento de Estado Norteamericano en el curso del progreso científico, tomada en el nombre de una extrema preocupación por la seguridad nacional durante los días más sensibles de la Guerra Fría, ocasionó que el modelo del ADN de Pauling de principios de 1953 fuera tristemente desestimado. Al mismo tiempo, la entrada de Pauling en el campo del ADN cambió también las caballerosas reglas de competencia entre las instituciones británicas, ya que éstas no se aplicaban a los extranjeros. Más tarde, la prohibición de acceso a los trabajos sobre ADN en Cambridge, a la que estaban sujetos James Watson y Francis Crick, por el Director de Cavendish, Sir Lawrence Bragg (quién llegó a un acuerdo territorial sobre la partición del ADN y proteínas entre las Unidades del MRC de Biología Molecular en Londres y en Cambridge), fue retirada permitiéndose a Watson y a Crick introducirse en el campo del ADN.

Otra negación de visa del Departamento de Estado, pero ahora contra el que fue director de la tesis doctoral de James Watson, Salvador Luria (entonces en la Universidad de Illinois y políticamente activo, con inclinaciones izquierdistas), para presentar su trabajo ante la Reunión Internacional de la Sociedad Británica de Microbiología efectuada en 1952, no solo negó la oportunidad a Luria de aprender directamente los desarrollos europeos clave, sino que también ocasionó que Watson pasara por alto los trabajos de Luria y presentara en vez de ellos, los resultados, entonces aún no publicados, de Hershey y Chase, demostrando que el ADN y no las proteínas, era el componente del fago que se introducía y se replicaba en la bacteria.

Años después, y de manera similar, el descubrimiento del ARN mensajero en 1961 por dos equipos internacionales; uno compuesto por el británico Sydney Brenner, el francés Francois Jacob y el norteamericano Mathew Meselson, y el otro formado por los franceses Françoise y Francois Gros, el suizo Alfred Tissiere y los norteamericanos James Watson y Walter Gilbert, refleja también la importancia crucial de las redes internacionales de trabajo en el crecimiento y consolidación de la biología molecular.

De hecho, fue la existencia intercontinental errante del físico húngaro Leo Szilard (como resultado de los violentos cambios políticos de la guerra), a través de Hungría, Alemania, Gran Bretaña y Estados Unidos, unida a su sólida experiencia profesional, lo que convenció a Jacques Monod durante una de las frecuentes visitas de Szilard a París tras la Segunda Guerra Mundial, de la posibilidad de la existencia de un mecanismo represor que operase en la inducción enzimática. Esta idea se convirtió en un paso clave en la concepción de la hipótesis del ARN-M. Leo Szilard², convertido en consejero científico, cuya conciencia sobre la bomba atómica le hizo destinar su inigualable imaginación y energía a la biología, y más tarde crear instituciones clave de políticas científicas internacionales en biología y física, como el Centro Mundial de Investigación para la Salud y la Organización Europea de Biología Molecular; personificaba muy bien esta extensa, ingeniosa y a veces invisible unión entre la estrategia política internacional de la Guerra Fría y el crecimiento de la biología molecular en un nuevo espacio internacional. (Abir-Am, 1997).

² Leo Szilard fue el primer científico en considerar la posibilidad de que la fisión nuclear sostenida, una reacción en cadena, pudiera causar una explosión, y el primero en apremiar para que Estados Unidos intentara construir una bomba atómica. Fue Szilard quien escribió la carta alusiva que Einstein firmó y que leyó el entonces Presidente Roosevelt en 1939.

Un ejemplo no menos notable de este profundo carácter internacional de la biología molecular es la serie de investigaciones que finalmente condujeron a la comprensión bioquímica del funcionamiento de los genes. Es decir, los experimentos realizados por George Beadle y Boris Ephrussi en París y luego en el Caltech apoyados por la fundación Rockefeller; más adelante profundizaremos en esta investigación que es un ejemplo más de la biología que se insertaba en ese nuevo contexto.

1.2 *Las Primeras Escuelas de Investigación en la Biología Molecular*

En los orígenes de la biología molecular en los años treinta, existían profundas diferencias entre sus fundadores respecto a como llevar a cabo su investigación sobre la naturaleza de las biomoléculas. Estas posiciones en cierta manera se integraron en los años cincuenta con la elucidación de la estructura tridimensional del ADN; observándose a partir de este año un florecimiento de esta ciencia. Según Stent, básicamente antes de 1953, existían tres grandes escuelas de la biología molecular. (Stent, 1968).

El primer enfoque es estructuralista o tridimensional: se centraba en el estudio de las configuraciones físicas de las biomoléculas de cadena larga presentes en la célula, determinando con exactitud sus secuencias químicas y volviendo a construir su estructura tridimensional.

La segunda perspectiva, a la que Stent no valora en toda su amplitud, es informacionista o unidimensional: se enfocaba al estudio de los

organismos a través de la función del gen, siendo en su enfoque bioquímica y genética.

Un tercer enfoque, al que Stent no le dedica atención y que abordaré más adelante, es el bioquímico; del cual tomó mucho la biología molecular durante los años treinta y cuarenta.

Sin embargo, como se verá a lo largo de esta tesis (y en especial en el capítulo III) una tradición injustamente no reconocida como fundadora en la biología molecular es la genética, especialmente el enfoque iniciado por Morgan y Herman Muller.

1.2.1 La Escuela estructuralista.- Escuela británica

Escuela Británica

Tuvo su origen en los años veinte a partir de los trabajos de Lawrence Bragg y su padre Sir William Bragg. Los Bragg en 1912 inventaron la cristalografía de rayos X, o sea, el método para determinar las estructuras repetitivas de átomos dispuestos en conjunto en los cristales, analizando el modo como difractan los rayos X. Estos físicos experimentales fueron fundadores de la escuela de cristalografía que hizo de Inglaterra en esta época el hogar de la estructura molecular.

En la medida en que se fue determinando la estructura de las moléculas complejas, los Bragg emplearon sus cámaras de rayos X sobre biomoléculas de importancia, ellos creían que la fisiología de la célula sólo se podía comprender mediante el análisis tridimensional de sus partes (Stent y Watson, 1966).

W. T. Astbury y J. D. Bernal, a principios de los años treinta fueron adiestrados por Sir William Bragg en cristalografía y comenzaron a llevar a cabo el análisis estructural de las proteínas y los ácidos nucleicos.

En 1934 Bernal descubrió que si los cristales de la enzima pepsina se mantenían bañados en el líquido en el que habían precipitado, daban pautas de difracción de rayos X claras y características, y mostró que todas las moléculas de pepsina poseen exactamente la misma estructura. Dicho de otra manera, Bernal probó, que las proteínas tenían una estructura regular. En 1939 propuso un modelo de la estructura del virus del mosaico del tabaco, constituido por cientos de subunidades proteínicas idénticas, este físico-químico abrió el camino a la determinación directa y completa de la estructura de las proteínas. (Bernal, 1934).

En 1928 Astbury hacía investigación sobre fibras de tela en la Universidad de Leeds, su interés era la lana y la proteína queratina que forma a la lana y a otras muchas sustancias de los animales como pelo, cuernos y uñas. A principios de los años treinta, publicó imágenes de difracción que proporcionaban datos acerca de los límites a los que tenía que someterse cualquier estructura propuesta para la proteína. Así, Astbury señaló un cambio prolongado en la imagen de difracción y en la estructura de la queratina al pasar por la lana sin estirar a lana estirada; llamó a estas estructuras alfa y beta queratina.

Los datos le indicaron también que las cadenas polipeptídicas de la queratina sin estirar (la alfa), estaban enrolladas en hélices y la estructura molecular se repetía cada 5.1 angstroms. Si la cadena polipeptídica de la queratina sin estirar era una hélice, entonces los 5.1 angstroms tenían que ser la altura de cada una de sus vueltas.

Torbjorn Caspersson, bioquímico sueco, a principios de los cuarenta le envió a Astbury una muestra bien preparada de ADN de timo de ternera. Considerando que el ADN es también una sustancia fibrosa, Astbury emprendió una serie de estudios de difracción que lo llevaron a descubrir en 1945 en las moléculas de ADN las bases púricas y pirimídicas. Astbury observó una raya gruesa en el diagrama de la fibra que parecía revelar una estructura que se repetía cada 25 angstroms, y había señales que le hicieron concluir que las bases estaban acostadas, apiladas y separadas cada 3.4 angstroms. (Astbury, 1938).

Aunque las imágenes de difracción por fibras de ADN debidas a Astbury no eran exactas, habrían de ser por varios años las únicas que existían.

En 1938 Sir Lawrence Bragg se trasladó a Cambridge para ser profesor Cavendish de física experimental. En ese entonces Max Perutz y John Kendrew ya trabajaban en el Laboratorio de Bragg, en la investigación de la estructura de dos proteínas: la hemoglobina y la mioglobina. Después de un fracaso que compartieron con Bragg en la Primavera de 1950, la aplicación de las técnicas de reemplazo isomorfo de átomos pesados de proteínas estructurales y el análisis matemático computarizado de las fotografías de rayos X, le permitieron a Perutz y a Kendrew completar la estructura terciaria de sus respectivas proteínas. (Bragg, Kendrew y Perutz, 1950).

Es importante mencionar que cuando Francis Crick, físico de origen, se integró a la naciente biología molecular, lo hizo en el Laboratorio de Bragg, bajo la supervisión de Perutz y Kendrew.

Años mas tarde (en 1962) se encontrarían en la Ceremonia de entrega de los Premios Nobel (Kendrew y Perutz, obtuvieron el de química y Watson y Crick, el de fisiología)

Escuela Californiana

El gran triunfo de la biología molecular estructural no sólo fue debido a la Escuela británica, sino también a la Escuela Californiana en la persona de Linus Pauling, del California Institute of Technology en Pasadena.

El método de Pauling consistía en la construcción de modelos, al principio con papel y lápiz, después con representaciones físicas a escala de los átomos, rompecabezas tridimensionales abiertos cuyas piezas llevaban consigo limitaciones de ángulos, longitudes y tamaños.

Desde la Primavera de 1948 hasta la de 1951, la rivalidad fue creciendo entre el laboratorio de Pauling y el laboratorio de Bragg. En el Cavendish Laboratory, Bragg buscaba comprobar en la naturaleza una estructura tridimensional general para la cadena de polipéptidos; en cambio Pauling investigaba a partir de las estructuras más sencillas de los componentes, e incluso construía pequeños polipéptidos "artificiales".

En el invierno de 1950, Pauling impartió una conferencia en el Caltech, acerca de las estructuras proteínicas; a principios de 1951 Pauling y Corey propusieron a la alfa hélice como estructura secundaria de la cadena polipeptídica.

En el modelo de alfa hélice cada vuelta completa correspondía a 5.44 angstroms (no los 5.1 angstroms indicados por Astbury), el esqueleto forma una espiral que contiene 3.6 aminoácidos por vuelta, en una hélice hacia la derecha proyectándose hacia afuera, y la estructura se estabiliza por medio de puentes de hidrógeno intramoleculares. (Pauling y Corey, 1950)

El éxito de Linus Pauling tuvo un gran impacto en los biólogos moleculares y también el grupo de Cavendish reaccionó a la alfa hélice.

Al observar la influencia que la Escuela Estructural ejerció sobre la biología molecular, nos podemos percatar de la inquietud por la estructura más que por la información; esta actitud es el reflejo de la relación que en este momento histórico tenía la física con la biología. Tomando en consideración que los biólogos moleculares estructurales durante cerca de treinta años trabajaron con la creencia de que los fenómenos biológicos no importa cuál fuese su complejidad podían ser explicados en términos de leyes físico-químicas convencionales, estos científicos tenían la suposición de que la física podía hacer grandes contribuciones a la biología. En contraste, hacer investigación de física con base en información biológica se consideraba fuera de lugar.

Si se hace un esfuerzo para pensar cuál fue la influencia que esta escuela o perspectiva tuvo sobre lo que podría llamarse "genética-bioquímica" (el tema de esta tesis), podría pensarse que consistió en la profundización de la convicción de que los genes tanto si eran proteínas, como si no, debían tener una estructura física estable.

1.2.2 La Escuela Informacional, y sus nexos con La Escuela Genética

Para la Escuela Informacional el tema central de la biología molecular era la información biológica. En el momento en que el vitalismo estaba desapareciendo de los círculos intelectuales, la idea de que los fenómenos biológicos no podían comprenderse sólo bajo los términos de los conceptos físicos convencionales fue propuesta por Niels-Bohr. Esta idea básica fue retomada en especial por Max Delbrück³, físico de origen, quien junto con Salvador Luria y Alfred Hershey desarrollaron una nueva perspectiva analítica, cuantitativa y experimental para estudiar los procesos de transmisión de la información hereditaria.

Podemos decir que durante el surgimiento de la biología molecular, uno de los programas mejor articulados, fue el programa de la Escuela Informacional, que pese a su renuencia a aceptarlo, le debía mucho al desarrollo de la genética en las primeras décadas del siglo XX. Con su rigor existente, su insistencia en el estudio de los sistemas biológicos más sencillos, su desconfianza en los bioquímicos y su separación frente a otras perspectivas de investigación; representó uno de los movimientos intelectuales científicos más importantes en el desenvolvimiento de esta ciencia.

Un aspecto que caracterizó a esta escuela fue la adopción de la bacteria Escherichia coli y de los fagos de la serie T (T1 a T7), con el

³ Max Delbrück, investigador alemán con preparación de físico cuántico, formó su mente y su estilo inspirándose en Niels Bohr. Las ideas de Delbrück acerca de las propiedades físicas del gene, en un trabajo de 1935, impulsaron a Schrödinger a escribir What is Life?. Delbrück, fue acaso el primero de los físicos teóricos que se pasaron a la biología, Leo Szilard, Francis Crick y Maurice Wilkins han sido otros

objeto de estandarizar sus procedimientos. Entre los miembros más destacados de esta escuela tenemos a: Boris Ephrussi, George Beadle y el genetista ruso N. M. Timoféeff-Ressovsky⁴, además de los ya mencionados Max Delbrück, Salvador Luria y Alfred Hershey y demás investigadores del grupo estadounidense del "fago". (Watson y Luria, 1966). Todos ellos deben su formación, o al menos el planteamiento de sus problemas de investigación al trabajo pionero de T. H. Morgan y H. J. Muller.

Aunque al hablar de la Escuela Informacional y unidimensional, en gran parte nos referimos al grupo norteamericano del "fago", no podemos dejar de mencionar que también desde los orígenes de la biología molecular ha prosperado una escuela francesa de biología molecular. Esta escuela se ha caracterizado por usar las herramientas de la genética microbiana para sondear un tipo diferente de problema: un paso más allá de la expresión de la información del gen está la interacción y regulación de los sucesos determinados por él. En este contexto se ubica la investigación genético-bioquímica realizada por Beadle, el ruso naturalizado francés Ephrussi y el bioquímico Tatum. Sin embargo, este enfoque es más conocido por los trabajos posteriores de dos microbiólogos franceses, Francois Jacob y Jacques Monod, que en 1961 descubrieron un mecanismo de regulación y control de síntesis de proteínas en Escherichia coli al que dieron el nombre de operón. (Barahona y Piñero, 1994).

El trabajo de Jacob y Monod sería impensable sin las bases de genética-bioquímica (o sin la idea de un gen – una enzima) realizado por Beadle, Ephrussi y Tatum casi 20 años antes.

⁴ Genetista ruso que influyó de manera crucial en Max Delbrück para que se interesara en la biología. Timoféeff trabajó junto con Zimmer sobre la mutagénesis de los rayos X en la Drosophila. Como intervinieron varios investigadores en la confección de este trabajo, llegó a conocerse por el nombre de "Three-Man-Work".

1.2.3 La Escuela Bioquímica. Los experimentos de: Archibald Garrod, Oswald T. Avery y Erwin Chargaff

Frecuentemente se ha mencionado que hasta los años cuarenta en que se originó la genética bioquímica, los genetistas habían investigado dentro de un gran vacío; ya que aunque se disponía de conceptos tales como el carácter, el gene, el alelo, el locus y el mapa cromosómico, no se sabía qué era lo que se observaba en ese mapa, ¿serían los genes?, ¿o los loci?. De hecho se desconocía qué eran los genes y la secuencia casual que conecta al gene con el carácter que determina, y con razón en esta época Richard Goldschmidt, el crítico más destacado del concepto de gene, cuestionaba a quienes establecían correlaciones entre los mapas cromosómicos y las estadísticas de transmisión de caracteres y eludían la discusión del problema fisiológico de cómo actuaban los genes. (Olby, 1991)

Desde 1902, se trató de estudiar químicamente diferencias de caracteres mendelianos conocidos, con la idea de explicar tales diferencias desde el punto de vista químico. Así, se quería obtener de manera indirecta, a partir de un producto final, algún conocimiento de la naturaleza y acción de los genes. Lo que se deseaba, era partir del producto final del gene a ir retrocediendo en el eslabón de causas que llevarían finalmente a entender la función del gen. Sin embargo, esta estrategia enfrentaba dificultades técnicas propias de la determinación de compuestos desconocidos y el establecimiento de lo que parecían ser senderos metabólicos improbables, en los que se involucraban enzimas que no era posible purificar. Por lo anterior, podemos decir que lo que se tenía después de tres décadas de investigación mendeliana era que muchos genes conocidos controlaban diferencias de caracteres,

cuya causa parecía ser la presencia o ausencia de una reacción química específica, tal vez provocada por una enzima que a su vez era producto del gene. A menos, desde luego, que la enzima y el gene fueran la misma cosa (como muchos creían).

En lo que se refiere a la naturaleza del gen, la poca eficacia del método indirecto originó que el fenómeno de la transformación bacteriana jugara un papel central en la demostración de que el gene no era una proteína, sino un ácido nucleico. De hecho, tanto el estudio de los virus como la genética bacteriana condujeron a los genetistas en una dirección equivocada, de donde fueron rescatados por la labor de la escuela bioquímica, principalmente gracias a las investigaciones de: Archibald E. Garrod, Oswald T. Avery y Erwin Chargaff. (Olby, 1991)

La escuela bioquímica y los experimentos de Garrod

Desde principios de siglo se llevaban a cabo muchos experimentos sobre los llamados errores de nacimiento, como el albinismo, la alcaptonuria (errores que se deben a la ausencia de ciertas enzimas), etc., y algunas investigaciones sobre la pigmentación en las plantas y animales permitieron comenzar un estudio sistemático, que relacionara a los factores hereditarios o genes, con las enzimas. (Barahona y Piñero, 1994).

El médico inglés Archibald Garrod fue el primero en sugerir una conexión específica entre los genes y las enzimas. En 1902 descubrió el primer caso concreto de una enfermedad, la alcaptonuria, que se hereda de acuerdo con las leyes de Mendel

Los alcaptonúricos sufren de artritis y producen una orina que se torna negra cuando se pone en contacto con el aire. Garrod sugirió que la alcaptonuria se debía a un bloqueo bioquímico de un proceso

metabólico. Se ingenió para identificar el lugar del bloqueo observando que los alcaptonúricos excretan en la orina todo el ácido homogentísico que se les suministra. Los individuos normales pueden metabolizar el ácido homogentísico convirtiéndolos en sus productos de descomposición, pero los alcaptonúricos no. Por consiguiente, Garrod supuso que a los alcaptonúricos les debía faltar la enzima que metabolice el ácido homogentísico y que este carácter hereditario se debía a errores genéticos en la producción de la enzima, lo que llevaba a detener una cadena metabólica en algún punto específico. Así, Garrod fue el primero en reconocer la relación entre un gen y una enzima. Además, propuso una explicación semejante para otras tres condiciones humanas, incluyendo el albinismo, que sugirió se debía a un bloqueo metabólico en la vía que lleva de la tirosina a la melanina. (Ayala y Kiger, 1984).

Garrod llamó a estas enfermedades bioquímicas hereditarias "errores congénitos del metabolismo". Sus descubrimientos fueron posibles porque encontró que la posición del bloqueo metabólico se puede identificar por la acumulación en el cuerpo de la sustancia que precede inmediatamente al paso bloqueado⁵. Garrod no pudo avanzar más allá de este punto, pero estableció las bases de la relación entre la genética y la bioquímica.

Para que estos estudios pudiesen tener éxito se necesitó de otro tipo de organismos, más pequeños, con un ciclo de vida rápido y con un genoma lo suficientemente pequeño para manipularlo. Tal fue el caso de la bacteria Escherichia coli, del hongo Neurospora crassa, de la levadura de cerveza Saccharomyces cerevisiae, y los virus

⁵ Este principio simple llegaría a ser extremadamente importante en la investigación de las vías metabólicas. De hecho (aunque George Beadle no lo reconoció), este principio contenido en el trabajo de Garrod fue retomado por él y por Edward Tatum a principio de los cuarenta, en su investigación hecha con el hongo Neurospora crassa.

(bacteriófagos o fagos) que infectan a las bacterias. (Barahona y Piñero, 1994).

A pesar de que el ADN o ácido desoxirribonucleico había sido descubierto en 1869 por el químico suizo Friedrich Miescher, y que en 1914 Robert Fulgen inventó una técnica de tinción del ADN, conocida como tinción de Fulgen, gracias a la cual se pudo visualizar el material contenido en el núcleo; durante estos años no se pudo establecer con exactitud cuál era el material genético. Se sabía de la existencia de los ácidos nucleicos y de las proteínas, y de su presencia en los cromosomas, pero no se había logrado establecer cuál de éstos era el material hereditario. Paradójicamente, en las investigaciones sobre el ADN se descartó la posibilidad de que éste fuera el material hereditario, pues su composición era sencilla, comparada con la composición de una proteína. Se creía que la determinación de la vida debería estar contenida en moléculas complejas, ante esto, el ADN era un mal candidato. (Barahona y Piñero, 1994).

Pero entonces, ¿cuál era el material hereditario?. Fueron muchos los experimentos diseñados y las hipótesis propuestas para contestar a esta pregunta. Mencionaré sólo los trabajos de Oswald T. Avery y de Erwin Chargaff, que pueden considerarse como los experimentos bioquímicos que marcaron el camino para la dilucidación de la estructura del ADN, y por lo tanto abrieron la puerta a nuestra visión bioquímica actual de la genética, y de la acción de los genes.

La escuela bioquímica y los experimentos de Avery

En 1944, Oswald Avery y sus colaboradores del Instituto Rockefeller publicaron en el Journal of Experimental Medicine, la primera evidencia directa de que el gen es ADN y no proteína, al dar a conocer su trabajo acerca de las transformaciones hereditarias que se presentan en una

cepa de bacterias de la neumonía cuando se mezclan con ADN extraído de una cepa diferente. El trabajo de Avery, pese a todo, no fue ampliamente reconocido sino hasta años después, pero influyó de manera decisiva en Erwin Chargaff⁶.

Avery, se dedicaba a la investigación bioquímica en inmunología y microbiología. Trabajaba con las bacterias que causan la neumonía, con la esperanza de encontrar sueros para el tratamiento de casos agudos de esta enfermedad.

Los neumococos se dividen en ásperos ó "R" y lisos ó "S", las formas "S" son virulentas ya que matan a los animales de laboratorio; una bacteria "S" se rodea de una gruesa capa gelatinosa constituida de polisacáridos. La cápsula le proporciona una protección parcial contra las defensas del huésped. Se han detectado también variantes virulentos de "S", tipificados como I, II, y III.

Las bacterias "R", han perdido la capacidad de fabricar cápsula y de ocasionar infección, hoy se sabe que las formas "R" son mutantes que no elaboran la cápsula⁷.

Avery ensayó con el suero de la sangre de los conejos que sobrevivieron a la infección por formas "S" y que alcanzaron un alto grado de inmunidad, la proteína de los neumococos puso de manifiesto su presencia en diluciones de uno de cincuenta mil y la del azúcar

⁶ A pesar de que la oposición a cualquier identificación del ADN como el material del gene estaba muy concentrada, principalmente en el Instituto Rockefeller, el trabajo de Avery podría haber abierto espacio en la mente de los biólogos; sin embargo, su artículo sobre la transformación de los neumococos parece haber ejercido poco impacto durante largo tiempo. La explicación más común sobre esta poca influencia, es que Avery fue ignorado sobre todo debido a que no pertenecía al grupo de "fago" y a que su descubrimiento fue de alguna manera prematuro; ambas explicaciones son cuestionables, sin embargo.

⁷ Para obtener las formas "R", se cultivan neumococos en un medio que sea hostil a las formas "S". Las formas "R" y "S", fueron descubiertas en 1923, por Frederick Griffith, del Pathological Laboratory del Ministerio de Salubridad

capsular diluido a razón de una parte en seis millones. De esta manera descubrió en 1923 la reacción inmune al polisacárido capsular; que constituyó el primer testimonio de que los animales pueden producir anticuerpos contra algo que no sea proteína. En este mismo años, estableció las diferencias fijas entre los tipos "S" de neumococos. (Avery, MacLeod y McCarty, 1944).

Ahora bien, en 1928 Frederick Griffith había publicado en Londres un descubrimiento sorprendente. Inyectó a ratones dos preparados de neumococos al mismo tiempo: una pequeña cantidad de un cultivo viviente de la forma "R" tipo II demostradamente no virulenta, y una gran cantidad de cultivo muerto de la forma "S" tipo III matada por calor, libre de bacterias vivas y demostradamente no virulento por sí mismo. O sea dos tipos diferentes, un "R" vivo pero no virulento y otro "S" virulento pero muerto. Muchos de los ratones inoculados murieron, y en su sangre Griffith encontró neumococos de la forma "S" tipo III vivos y virulentos. El cambio era permanente y hereditable. (Griffith, 1928).

La publicación de Griffith despertó dudas acerca de la existencia de especies distintas genéticamente puras en las bacterias, planteó grandes problemas y originó un gran número de explicaciones especulativas, ya que en este momento, para los microbiólogos la transformación bacteriana era desconcertante⁸.

Avery, durante los diez años siguientes se ocupó cada vez más de la purificación gradual del agente transformador y de su identificación, por fin consiguió tomar un cultivo de neumococos de forma "R" que había sido atenuada a partir de una "S" del tipo II, treinta y seis generaciones atrás, y añadirle lo que sabía era un ADN altamente purificado extraído

⁸ Meses después que Griffith, James Lionell Alloway, también del laboratorio de Avery, encontró que la transformación de cepas no patógenas de neumococos en cepas patógenas puede efectuarse en cultivo de neumococos en tubos de ensayo.

de una forma "S" tipo III, y obtener a la siguiente generación grandes colonias mucoides cabalmente desarrolladas de una forma "S" tipo III, que permanecieron estables en las generaciones siguientes.

Ahora el objetivo de Avery ya no era la transformación misma, sino demostrar que ésta era causada por el ADN y nada más⁹. Las escasas bacterias transformadas, pudieron seleccionarse fácilmente a partir de células no transformadas, debido a su resistencia a la aglutinación por suero que contenía anticuerpos dirigidos contra células "R" tipo II. Las bacterias tipo II aglutinadas formaron una masa en el fondo del tubo del cultivo, mientras que las células transformadas estuvieron protegidas de la aglutinación y crecieron produciendo una suspensión turbia de células "S" tipo III. El desarrollo de este ensayo "in vitro" para detectar células transformadas fue un avance importante, ya que suministró el medio para investigar directamente la naturaleza del factor de transformación en células "S" tipo III muertas por calor

Así, de esta manera Oswald Avery, Colin MacLeod y Maclyn McCarty, demostraron que el factor de transformación era el ácido deoxirribonucleico (ADN), comprobando que la adición de ADN purificado de neumococos "S" tipo III a un cultivo en crecimiento de bacterias "R" tipo II aglutinadas por antisuero, era suficiente para hacer que algunas células "R" II adquirieran la habilidad para sintetizar el polisacárido capsular característico de las células "S" tipo III¹⁰. (Avery, MacLeod y McCarty, 1944).

⁹ Pese al hecho de que no se hubiera identificado al ADN en los neumococos y desafiando la creencia universal de que el ADN era una molécula monótona y que los genes eran proteína; Avery desde 1936 pensaba que el agente transformador era un ácido nucleico.

¹⁰ Posteriormente Avery y colaboradores, mostraron que el factor de transformación puede ser destruido por enzimas que degradan al ADN y mostraron también, que una bacteria de la forma "R" tipo II transformada por ADN a la forma "S" tipo III, adquiere la habilidad de transmitir a su progenie esta nueva capacidad biosintética adquinta

La importancia de esta brillante aportación, es el conocimiento de que la habilidad heredable de las bacterias para realizar una función biosintética, puede transferirse de una bacteria a otra por medio del ADN purificado. Estudios posteriores del mecanismo de transformación mostraron que fragmentos de ADN (algunos portadores de los genes requeridos para la síntesis de los polisacáridos), son liberados de las bacterias muertas por calor y capturados por las bacterias "R", en donde por recombinación pueden ser incorporados en el ADN de las bacterias de la forma "R".

El establecimiento por Avery, MacLeod y McCarty, de que el ADN es el material genético ocurría simultáneamente a los intentos de Beadle, Ephrussi y Tatum por conocer el funcionamiento bioquímico de los genes.

La escuela bioquímica y los experimentos de Chargaff

Erwin Chargaff, investigador del College of Physicians and Surgeons, de la Universidad de Columbia en Nueva York, y mordaz defensor de la gran tradición en bioquímica, después de leer el trabajo de Avery concentró toda la actividad de su laboratorio al estudio de los ácidos nucleicos. El reclutamiento de Chargaff está entre los efectos más importantes del artículo de Avery.

En el laboratorio de Chargaff se hacía investigación sobre lipoproteínas y ácidos nucleicos, pero Chargaff vislumbró el principio de una gramática de la biología.

Chargaff partió de la convicción de que si las diferentes especies de ADN exhibían actividades biológicas distintas, debería haber también

diferencias químicamente demostrables entre los ácidos desoxirribonucleicos; las diferencias tendrían que residir en las proporciones y disposiciones exactas de los nucleótidos.

Pero la química de esta época y sus técnicas de extracción y purificación, era un obstáculo que parecía invencible, Sin embargo, Chargaff, utilizando y desarrollando cromatografía en papel que era entonces una novedad técnica, la adaptó para usarla con los ácidos nucleicos, y así en mayo de 1950 publicó en "Experientia" su trabajo: "Especificidad química de los ácidos nucleicos y su mecanismo de degradación enzimática"; este trabajo fue, después del de Avery, el siguiente punto culminante en el perfilamiento bioquímico del gen. (Chargaff, 1950).

Este artículo, con el trabajo que representó, se considera como lo más destacado de la carrera científica de Chargaff, así como la culminación y el esplendor de la escuela de razonamiento bioquímico, que al igual que tantos florecimientos culturales, surgió cuando el impulso y la visión de que procedía comenzaba a ceder ante un ideal diferente.

Sin embargo, también fue una oportunidad perdida pues lo más significativo que encontró Chargaff en este tiempo concernía a una teoría ya débil y a punto de ser abandonada. Sus datos mostraban que las cuatro bases del ADN se presentan en proporciones muy variables en levadura, bacteria, res, carnero, cerdo y hombres.

Esto fue el comienzo del fin de la hipótesis del tetranucleótido, la idea de que el ADN era una rotación monótona de cuatro bases, una tras otra. Según las conclusiones de Chargaff, existen al contrario muchísimos ADN diferentes

Ahora había razón para pensar que los ácidos nucleicos eran tan ricos en variedad como las proteínas. Sin embargo, dentro de una especie, en cada órgano y en cada tejido la composición del ADN era fija y típica. Más aún, en los pocos casos en que se compararon espermatozoides con los núcleos de otras células de la misma persona, no se apreciaron diferencias en el ADN, aun cuando las proteínas de los núcleos no eran las mismas. De lo anterior, Chargaff pensó, que si las largas moléculas de ADN han de formar una parte esencial del proceso hereditario, entonces la especificidad que podrían portar diferentes sucesiones de nucleótidos encadenados sería verdaderamente enorme. (Chargaff, 1950).

Así Chargaff mostró la extraña uniformidad que surgía entre una asombrosa diversidad; la uniformidad que distingue a fin de cuentas a los ácidos nucleicos de las proteínas y todas las demás moléculas grandes: las simples equivalencias entre las bases A y T, G y C, o sea entre purinas y pirimidinas. La breve observación de Chargaff fue la primera enunciación del carácter principal del ADN: las equivalencias son estructurales, como Crick y Watson encontraron años más tarde, y funcionales, de manera que una vez que se conoció la estructura, empezaron a ser evidentes sus conexiones con los procesos genéticos básicos, como la replicación.

Ahora bien, en cuanto a su relación con el trabajo de Beadle, Ephrussi y Tatum, estos trabajos si bien fueron posteriores, constituyeron el contexto en el cual adquirieron un significado más preciso las conclusiones de estos. Esto lo veremos especialmente en el capítulo IV.

1.3 *La Función de las Escuelas de Investigación en el Desarrollo de la Biología Molecular*

Es evidente la función mediadora que han tenido las escuelas de investigación en el desarrollo de la biología molecular. Estas entidades sociales, intelectuales y políticas autodefinidas han funcionado como niveles intermedios de interacción social, combinando instituciones locales, tradiciones y prácticas nacionales con oportunidades de contactos y colaboraciones prolongadas con visitantes de otros países, quienes han aportado su propio y diferente sentido de localidad y contextualidad disciplinarias.

Por ejemplo, la escuela británica de biología molecular, situada en el laboratorio MCR de Cambridge y centrada completamente en estudios empíricos de cristalografía de proteínas por rayos X bajo la dirección de Bernal, W. L. Bragg y Perutz sucesivamente, recibió la influencia de otra tradición, la de la genética de fagos, introducida por el norteamericano en formación posdoctoral James D. Watson durante los años de estancia en su centro. La consiguiente colaboración entre Watson y Crick, los miembros profesionales más jóvenes de sus respectivas escuelas, les permitió a ambos distanciarse de los limitados legados de ambas. Dió como resultado el establecimiento del modelo de la doble hélice que trascendió a los legados de las dos escuelas de investigación. Uno ideológicamente limitado a lo empírico, los estudios de rayos X en el problema de la estructura de la proteína carente de datos genéticos; y el otro ideológicamente limitado a la genética clásica de fagos, carente de datos moleculares. Mientras que hay acuerdo en que el descubrimiento de la doble hélice no hubiera sido posible sin uno de sus dos coautores, o por cualquier otro miembro de sus respectivas escuelas en solitario, la función de estas escuelas de investigación en

la posterior recepción del descubrimiento en el espacio internacional y su concreción en forma de icono de la biología molecular se comprende mucho menos. Irónicamente, como ambos legados debieron ser trascendidos para que se produjera el descubrimiento, al mismo tiempo el capital de las dos escuelas, tanto el científico como el social, fue crucial para que ese descubrimiento emergiera como decisivo para la biología molecular porque llevaba sobre sí una objetividad transnacional. (Abir-Am, 1997)

Del mismo modo, la triple colaboración transnacional en el caso del ARN mensajero combinaba los legados locales e internacionales de tres escuelas de investigación y trascendía sus respectivas limitaciones: el colaborador del laboratorio MCR de Biología Molecular en Cambridge, Sidney Brenner, portador británico de conocimientos sobre manipulación de fagos mutantes para romper el código genético; el colaborador Francois Jacob, de la División de Fisiología Microbiana del Instituto Pasteur de París, quien aportó los últimos resultados experimentales y teóricos de la escuela francesa de biología molecular sobre la regulación celular de la expresión genética; mientras el colaborador Mathew Meselson del Caltech, aportó la experiencia local de una escuela norteamericana de biología molecular en la separación de moléculas grandes mediante sofisticados instrumentos como monitores de pulso radioactivo, y ultracentrifugas en las que generaban gradientes de cloruro de cesio. Las pruebas de que el ARN m era un intermediario del mensaje genético inestable, de corta vida, de importancia universal para la comprensión tanto de la síntesis de la proteína como del funcionamiento del código genético, obviamente a la vez requerían y trascendían los legados locales de las respectivas tradiciones y prácticas nacionales e internacionales de cada uno de los tres participantes. Como había ocurrido antes con la doble hélice, la intersección conceptual, social y política de las tres escuelas dieron credibilidad al ARN mensajero, objetivizándolo y asegurando una

recepción favorable a pesar de la resistencia lógica y experimental fuera de las escuelas. (Abir-Am, 1997)

Además, la unión entre investigadores pertenecientes a grupos disciplinarios diferentes caracterizados por conexiones institucionales fuertes jugaron un papel decisivo en el respaldo y estabilización de innovaciones. Un caso ilustrativo lo proporciona la relación entre el genetista norteamericano George Beadle del Instituto Tecnológico de California (Caltech), y el genetista francés Boris Ephrussi del Instituto de Biología Físico-química de París (IBPC); cuyas investigaciones favorecieron el estudio del problema de la acción de los genes y la renovación de la genética fisiológica. La interacción entre ambos investigadores se dio entre 1933 y 1937, desafortunadamente por incompatibilidad académica su relación se desintegró antes de la Segunda Guerra Mundial.

También, la intersección de los legados de varias escuelas dió lugar al estudio de nuevos temas y objetos, suspendiendo las aparentemente absolutas restricciones impuestas por la presencia rutinaria, aplastante y autoritaria de las tradiciones culturales locales o los prejuicios institucionalmente inducidos que denigran el trabajo disciplinas supuestamente "rívales", como por ejemplo, la absurda depreciación de la escuela bioquímica por los genetistas clásicos del "fago", hizo más plausible la decisión del bioquímico Edward Tatum de trabajar con George Beadle en su investigación con Neurospora crassa, a pesar de los riesgos profesionales que (dada la distancia que en este momento existía entre ambas escuelas), implicaban.

En conclusión, el espacio internacional dentro del cual se ha inscrito el desarrollo de la biología molecular, desde sus comienzos en los años treinta, hasta su objetivación en los sistemas de investigación en expansión nacional e internacional durante los años sesenta, tiene una

dimensión dual, esto es, tanto pragmática como legitimadora. La resultante objetividad transnacional de nuevas realidades teóricas y empíricas como la doble hélice, el ARN mensajero o el establecimiento del "slogan" "un gen-una enzima", entre otros muchos nuevos objetos de la biología molecular, dependieron así de una serie de oportunidades, moduladas por la política científica, de acceso estable y rutinario a tradiciones disciplinarias externas, de presuposiciones teóricas y prácticas disciplinares diferentes y posiblemente contradictorias, de resultados tácitos y de confianza en un nuevo mundo de profesionales interdisciplinarios socialmente internacionalizados. (Abir-Am, 1997).

Capítulo II.

LA FUNDACIÓN ROCKEFELLER Y EL INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CALIFORNIA

2.1 *Introducción*

Durante los años treinta y hasta los años cincuenta la biología molecular dotó a los científicos de un placer sin precedentes. En estas tres décadas que culminaron en la elucidación de los mecanismos de autoreplicación del ADN y en la expansión de esta acción en términos de un código informativo, se alcanzaron los fundamentos cognoscitivos de la ingeniería genética. Los científicos podrían ahora manipular genes en un nivel más fundamental e intentar controlar el curso de la evolución biológica y social, para ellos en esto consistía "el secreto de la vida". (Kay, 1993).

La biología molecular emergió como un nuevo y dominante vector en la investigación biológica, su visión molecular de la vida prometió funcionar como un parteaguas, a la par de las explicaciones ofrecidas por los campos de la biología tradicional. Mas adelante, el crecimiento de esta biología fue una expresión de los esfuerzos sistemáticos y cooperativos de la comunidad científica para dirigir el estudio del fenómeno animado a lo largo de caminos selectos a fin de lograr una visión más amplia de la ciencia y la sociedad.

En el ascenso de la biología molecular y, en particular en el desarrollo de las investigaciones que culminaron en la visión genética-bioquímica

de la vida (el objeto de esta tesis), dos instituciones jugaron papeles claves: La Fundación Rockefeller y el Instituto Tecnológico de California (Caltech). La Fundación Rockefeller fungió como el principal patrón de la biología molecular desde los años treinta hasta los años cincuenta; Caltech, por su parte constituyó un sitio primario para la implementación del proyecto de la Fundación Rockefeller, y llegó a ser el centro internacional más influyente en el entrenamiento y en la investigación en biología molecular.

¿Por qué la Fundación Rockefeller otorgó un soporte masivo al programa de la nueva biología en ese momento histórico?, ¿por qué los científicos y sus patrones privilegiaron y promovieron un estudio molecular de la vida?, ¿por qué el Caltech fue seleccionado como un sitio primario y qué acotó su notable influencia?. Estudiadas simultáneamente las respuestas revelan una sinergia entre el capital intelectual y las fuerzas económicas, una *potente convergencia* de los objetivos científicos y las agendas sociales, matizados inicialmente por los operativos del periodo interguerra y más tarde modificados por la Segunda Guerra Mundial. (Kay, 1993).

El término "biología molecular" y la auténtica novedad del campo es todavía o ha sido, sujeto de algunos debates entre científicos e historiadores. Acuñado en 1938 por Warren Weaver, el entonces director de la División de Ciencias Naturales de la Fundación Rockefeller, el termino intentó capturar la esencia del programa de la *fundación*: su énfasis en la minuciosidad de las entidades biológicas. De cualquier forma, si la biología molecular significa y simboliza el programa patrocinado por la Fundación Rockefeller, esta definición debería incluir varias prácticas de la ciencia de la vida, como por ejemplo, la biofísica y la inmuoquímica que no están asociadas típicamente con el término.

También comúnmente se tiende a igualar a la biología molecular con la genética molecular del ADN, una definición que podría excluir a la mayoría de las investigaciones de la ciencia molecular de la vida durante los años treinta y cuarenta.

De hecho, algunos científicos que nunca se identificaron como biólogos moleculares, ante el gran status de la biología molecular durante los años sesenta se arrepintieron, con el objeto de reconstruir sus carreras a partir del gran éxito de esta ciencia históricamente hablando. Otros científicos, especialmente bioquímicos, se resistieron a la extensión de sus disciplinas dentro de esta clasificación. (Kay, 1993).

A la luz de estas divergencias acerca del término "biología molecular", es interesante analizar algunos de los aspectos estructurales de esta ciencia, que aunque no eran novedad, se ensamblaron y amplificaron en un programa para constituirse en un campo de investigación institucional e intelectualmente coherente.

La biología molecular estrechó la unidad del fenómeno común de la vida de todos los organismos con la diversidad. Se concentró por ejemplo, en fenómenos como la respiración o la reproducción como problemas biológicos centrales.

Basándose en el razonamiento anterior, parecía ser conveniente, al menos a partir de los años treinta, el estudio del fenómeno vital en sus niveles mínimos o fundamentales. Así, esta nueva biología incrementa el empleo de sistemas biológicos simples (primariamente virus y bacterias), como controles o modelos fenomenológicos conceptuales

Separando los procesos vivos en los organismos, la biología molecular se propuso descubrir las leyes fisicoquímicas generales que gobiernan al fenómeno vital

En sus inicios, la biología molecular toma prestados métodos, no sólo provenientes de la física, la química y las matemáticas, sino también de otros campos de la biología, como la genética, embriología, fisiología, inmunología y microbiología. La nueva biología estrecha la trascendencia disciplinaria y el empleo de cualquier herramienta que el trabajo demande. Aunque la transferencia de técnicas entre ciencias no era del todo nueva, el diseño de un programa a gran escala basado en la investigación interdisciplinaria no tenía precedentes.

Por otra parte, la biología molecular de los años treinta a los años cincuenta estaba basada en el paradigma de las "proteínas" y en la premisa de que los siguientes aspectos de la vida: reproducción, crecimiento, función neuronal, inmunidad, podían ser explicados a través de la estructura y funciones proteínicas. De hecho, guiados por el paradigma de las proteínas, la investigación de los anticuerpos ocupó un lugar clave conjuntamente con la nueva biología. (Kay. 1993).

La biología molecular define el rango del fenómeno vivo principalmente como microscópico, en el rango de 10^{-6} y 10^{-7} cm. Este dominio podía ser investigado primariamente con un complejo y sofisticado grupo de aparatos específicamente diseñados o adaptados para investigar la vida a este rango de dimensiones. En donde un solo par de décadas antes la biología usaba microscopios, autoclaves y cajas de petri; los laboratorios de la nueva biología expandieron las imposiciones tecnológicas: microscopios electrónicos, ultracentrifugas, equipos de electroforesis, espectroscopios, equipos de difracción de rayos X, isótopos, etc., que llegaron a ser el quid o el signo de la investigación biológica.

El enfoque cognoscitivo en el nivel molecular modificó la estructura social de la investigación, en parte debido a la naturaleza interdisciplinaria de los problemas a investigar, y en parte por la

complejidad y el costo de la nueva instrumentación y la naturaleza misma de las técnicas, como veremos en los trabajos de colaboración entre George Beadle y Boris Ephrussi, y entre Beadle y Edward Tatum. Por otra parte, los problemas de investigación fueron definidos por los instrumentos diseñados para examinarlos y fueron reconocidos frecuentemente como proyectos de equipo. Todo ello, sin embargo, no fue capaz de eliminar ciertas problemáticas comunes a toda investigación biológica, en especial, la importancia que juega la elección de un buen sistema experimental.

Una consecuencia interdisciplinaria importante de estas características de la biología molecular, fue la pérdida de la tradicional supervisión de la medicina sobre la investigación biológica. Donde en el pasado la investigación biológica estaba al servicio de la medicina, la nueva biología se enfocó en las explicaciones fisicoquímicas fundamentales, microorganismos y procesos microscópicos; aspectos que tenían sólo lazos marginales con la medicina. En consecuencia, la conexión médica afectó el crecimiento de la biología molecular, pero sólo de manera limitada, ya que durante los años treinta, los diseñadores de esta ciencia lucharon por un espacio, un nicho libre de la medicina y en conjunción con la ecología disciplinaria de la ciencia viva. Ellos lograron crear una nueva ciencia de la vida, una ciencia cuyos atributos eventualmente convergieron con el estudio molecular del gen. (Kay, 1993).

El ejemplo de la investigación en torno a la relación entre los fenómenos genéticos y su expresión bioquímica es ampliamente ilustrativo de esta nueva relación entre la biología y la medicina.

2.2 La Fundación Rockefeller

La configuración cognoscitiva y estructural de la biología molecular fue notablemente facilitada por el poderoso soporte de la Fundación Rockefeller. Durante los años 1932 a 1959, la Fundación Rockefeller aportó unos 25 millones de dólares para el programa biológico en los Estados Unidos. Más de un cuarto del gasto total de la Fundación fue destinado a las ciencias biológicas fuera de la medicina. Durante la Segunda Guerra Mundial, la Fundación Rockefeller aportó a la biología molecular cerca del 2% del producto federal para la investigación y desarrollo; esto adquiere importancia cuando consideramos que el "fuerte" del soporte gubernamental a las ciencias vivas era destinado a la agricultura. Si incluimos los efectos indirectos a las aportaciones de la Fundación Rockefeller para el desarrollo de la biología molecular en Europa y su aporte masivo a la investigación biomédica, el soporte financiero que dio a la biología molecular es impresionante. La Fundación Rockefeller tuvo a cambio una fuerte posición en la estructuración de esta ciencia y redujo el dominio del gobierno federal sobre los aspectos científicos. (Kay, 1993).

El poder que tuvo la Fundación Rockefeller en el desarrollo de la biología molecular trascendió en la cantidad de dólares que aportó para la investigación; su eficacia descansa en la creación y promoción institucional de mecanismos de cooperación interdisciplinaria a través de sistemas extensivos de garantías y seguimientos, y sistemáticamente en la organización de proyectos biológicos orientados y basados en el desarrollo tecnológico. De los años treinta a los años cincuenta, los proyectos de la Fundación Rockefeller convergieron intensamente con la agenda científica de Universidades donde la Fundación había apoyado fuertemente el programa de biología

molecular. La Fundación Rockefeller permeaba su infraestructura académica y un número significativo de su gente ocupaba posiciones administrativas en las Universidades.

Los oficiales de la Fundación cultivaban acuerdos y contactos en cercanía con cada disciplina, y detallaban cómo se llevaba a cabo el tráfico académico; los oficiales de la Rockefeller llegaron a ser imprescindibles en su sistema de revisión informal. En la revisión de proyectos, los interesados eran invitados a participar en una reunión de conocimiento, en donde los oficiales intervenían dentro de los límites de la discreción profesional y la etiqueta de la filantropía; los oficiales se mostraban complacidos de su cercanía con varios niveles interactuantes de la empresa científica.

Uno de los principales motivos de la adecuación de la práctica académica fue la creación de mecanismos institucionales compatibles con el diseño de la Fundación Rockefeller para hacer posible la cooperación, un aspecto importante en la biología molecular. Cooperación no sólo significaba colaboración y actividad espontánea de los científicos creando herramientas teóricas y prácticas, "cooperación interdisciplinaria" significaba un énfasis en programas de grupo, lo que fue una estrategia a largo plazo y una filosofía. (Kay, 1993).

El programa de biología molecular era cooperativo en varios niveles: dentro de las disciplinas biológicas y entre éstas y las ciencias físicas. No era raro encontrar proyectos como "el grupo isótopo", "el grupo proteína", o "el grupo Neurospora", al que me referiré posteriormente. También se debe poner atención a lo que la Fundación Rockefeller denominaba como "individualistas cooperativos", hombres cuya empresa intelectual incluía un temperamento directivo (entre los cuales, como veremos, George Beadle constituye un ejemplo ilustrativo)

El término cooperación tenía incluso un significado extremo, era más que una estrategia institucional para una conjunción interdisciplinaria, una ideología política y económica que envolvía las estructuras corporativas después de la Primera guerra Mundial en Estados Unidos de Norteamérica, y que involucraba especialmente a la ciencia; la industria y el gobierno. La reorganización de la biología alrededor del estándar de cooperación se reflejó en la reorganización de la ciencia en Estados Unidos de Norteamérica durante la Gran Guerra y en la reestructuración de sus relaciones sociales corporativas. La nueva ciencia supeditó el desarrollo a un grupo de proyectos dirigidos a través de la cooperación interdisciplinaria.

Similarmente, la infusión de aparatos tecnológicos masivos y sofisticados a la nueva biología debe considerarse como significativa. Los instrumentos no son meros desarrollos para descubrir un objetivo, sino que implican procesos complejos que intervienen para representar a la naturaleza, proceso que nos acerca a la totalidad de los aspectos de la práctica científica. Las nuevas técnicas no sólo incrementaron el costo de la investigación, sino que trajeron nuevas oportunidades a la investigación. Antes de la Segunda Guerra Mundial, rara vez los nuevos instrumentos eran construidos "in situ". Fábricas y cuartos especiales tuvieron que diseñarse para construir el nuevo equipo y, por lo tanto, se expandió el espacio físico de los laboratorios biológicos. Esas tecnologías demandaban también una experiencia técnica que acercó a la biología a las ciencias físicas y a la ingeniería; según Abir-Am (1982), esta última era en realidad el objetivo de la Fundación Rockefeller.

La ubicación del nivel molecular como el nivel esencial de la vida y la respectiva reorientación de la práctica en el laboratorio, alteró el fundamento epistemológico de la investigación biológica, haciendo una representación de la vida contingente con la intervención técnica

Concebida en el crepúsculo de una era caracterizada por su fé en la tecnología y en los negocios, el diseño de la biología molecular no sólo reflejaba el camino particular de sus principales arquitectos –el físico Max Mason, y el matemático Warren Weaver–, sino que mostraba el camino general que impulsó a una élite tecnológica, la cual dominó la cultura norteamericana durante los años veinte.

El acertado manejo de Warren Weaver, Director del Área de Procesos Vitales (1932), rebautizada como Biología Experimental (1934), y luego Biología Molecular (1938), dio fuerza y reconocimiento al programa en biología molecular apoyado por la Fundación Rockefeller. El genetista del Caltech y Premio Nobel en 1958, George W. Beadle (importante protagonista en la historia que presentaré), observó que durante los doce años siguientes a 1953 (la elucidación de la estructura del ADN), los Premio Nobel fueron adjudicados a 18 estudiosos de la investigación en la biología molecular del gen, y que todos excepto uno, habían sido financiados por la Fundación Rockefeller bajo la guía de Weaver, quien evidentemente no sólo ayudo al desarrollo del proyecto científico de Beadle, sino que apoyó las carreras de cientos de científicos, dentro y fuera del campo de la biología molecular.

Los historiadores de la ciencia han ofrecido interpretaciones divergentes sobre la influencia persuasiva del programa de biología molecular y el papel influyente de Weaver. Unos lo han celebrado por considerarlo fructífero, innovador y un proceso de transferencia tecnológica. Otros lo han censurado por considerarlo elitista, conservador y un proceso de subversión del conocimiento y orden académico. Sin embargo, historiadores de la ciencia como Lily Kay (1993) y Pnina G. Abir-Am (1982), coinciden en que el programa tuvo un gran impacto en la ciencia viva.

Aunque se han examinado las estructuras, mecanismos y efectos del programa de biología molecular de la Fundación Rockefeller, poca ha sido la atención puesta en las fronteras intelectuales y en la agenda social con la cual el programa fue anidado. Poco se ha dicho acerca de la cultura inscrita y de las premisas ideológicas, o de la fuerza histórica que delineaba el desarrollo del trabajo molecular para el estudio del fenómeno animado. (Kay, 1993).

Según Lily Kay (1993), la motivación detrás de la enorme investidura de la nueva agenda, era el desarrollar las ciencias humanas como una labor comprensible y explicativa, a la vez que aplicable a un control social en las ciencias naturales, médicas y sociales. Concebida durante la última parte de los años veinte, la nueva agenda era articulada en términos de un nuevo discurso tecnocrático de la ingeniería humana, intentando hacer congruentes las relaciones humanas y el trabajo social con el capitalismo industrial. Así pues, según esta autora el soporte dado a la biología molecular debe ser visto como una larga inversión en las ciencias humanas, ya que la nueva biología fue erigida sobre el fundamento de las ciencias físicas, con el objeto de explicar rigurosamente y controlar eventualmente los mecanismos fundamentales que gobiernan el comportamiento humano, poniendo un particular énfasis en la herencia.

Esta conjunción de objetivos cognoscitivos y sociales tenían una fuerte conexión histórica con la eugenesia, con sus promesas y peligros. En 1930, la Fundación Rockefeller ya había financiado algunos proyectos de investigación con fines eugenésicos. En los orígenes de la biología molecular, el objetivo del control social atravesó severos altibajos. Como un programa intelectual, la eugenesia guiada por los crudos principios de Charles B. Davenport había perdido mucha fuerza, y había desencadenado un estigma de prejuicio racial y propaganda política. Sin embargo, la eugenesia llegó a ser un riesgo científico, la

interrogante acerca de la reproducción humana racionalizada, nunca perdió su intuitivo atractivo (incluso cuando fue modificada por la experiencia Nazi).

Los objetivos de la eugenesia jugaron un papel significativo en la concepción y en el diseño del programa de biología molecular, precisamente porque los viejos programas eugenésicos habían perdido su validez como ciencia, por lo que un espacio fue creado en el nuevo programa, que prometía un lugar para el estudio de la herencia y su comportamiento en términos rigurosos. El programa de la biología molecular, a través del estudio de sistemas biológicos simples y el análisis de las estructuras proteínicas, prometió una segura aunque lenta vereda a un plan social basado en los principios de la selección eugenésica. Sin embargo el tiempo no era un impedimento para los visionarios de la Fundación Rockefeller. De hecho, el financiamiento a las ciencias humanas por los filántropos de la Fundación Rockefeller no comenzó durante los primeros años de la década de los treinta con su "Agenda de la Ciencia del Hombre", ya que por entonces ellos tenían mas de 15 años de ser el principal soporte detrás del desarrollo de las ciencias sociales en América. Los estudiosos han coincidido generalmente en que los filántropos de la Fundación han desempeñado un papel líder en el desarrollo de las ciencias humanas, siendo sus proyectos una larga demostración del esfuerzo constructivo sobre la base de la experiencia técnica. (Kay, 1993).

También se deben revisar los objetivos sociales del sector privado – tanto individual como colectivamente-, que interactuaron con los objetivos de investigación de los científicos, en forma mutua y como un *proceso de formación consensual*. La estructura corporativa de la empresa filantrópica, de hecho, refleja la estructura de una corporación de negocios y la visión de los administradores de la Fundación Rockefeller, líderes en negocios e industria, reflejan su ideología y su

mundo social. En los niveles sociales e ideológicos no existía una separación fundamental del propósito entre las cabezas de las corporaciones, y el liderazgo de la Fundación Rockefeller. Delineadas primariamente por el sector empresarial, los agentes de la Fundación Rockefeller exteriorizaban su influencia ideológica y económica en políticas generales o por medio de contratos especiales.

Según Lily Kay (1993), en su búsqueda de patrocinador, la mayoría de los líderes de la ciencia norteamericana jugaron un papel servil. Sus excusas rara vez proyectaron conflictos y contradicciones, y aunque para ellos su trabajo era “ciencia pura y desinteresada”, en realidad ubicaron a la ciencia como una empresa de élite. Y como miembros de una élite nacional, con situaciones sociales, religiosas y educacionales muy similares, estos líderes de la ciencia y los agentes y oficiales de la Fundación Rockefeller facilitaron la existencia de un “bloque hegemónico”. Lo que es primordial, es que mediante su autoridad científica empujaron el programa de la Fundación Rockefeller, legitimando su propia empresa científica y validando los objetivos culturales de sus patrones. (Kay, 1993).

2.3 El Instituto Tecnológico de California. Caltech

El Instituto Tecnológico de California llegó a ser un lugar de formación nacional e internacional en biología molecular. Todo biólogo molecular que fue líder de los años cuarenta a los años sesenta, tuvo alguna conexión con el Caltech. George Beadle, como muchos otros científicos de la vida pasó por los laboratorios Kerckhoff y Gates, del Caltech, durante su periodo formativo y profesional en biología molecular, financiado por la Fundación Rockefeller.

Siendo el trabajo de Beadle y Tatum realizado en los cuarenta con Neurospora crassa el objeto de esta tesis, es de primordial importancia conocer el medio en el cual se desarrolló profesionalmente Beadle; por lo tanto debemos analizar las características y la historia de Caltech durante estos años:

El Caltech nació en 1891 como escuela local de artes llamada Throop Polytechnic Institute. Su administración era controlada por un Consejo Ejecutivo, el cual de 1911 a 1921 estuvo compuesto por cinco hombres: Alfred R. Millikan (presidente), Arthur Noyes, George Ellery Hale, y dos hombres de negocios de la localidad. Fue George Ellery Hale, quien en una reunión del Consejo de Administradores llevada a cabo en 1908, anticipó la creación de un instituto de ingeniería e investigación científica. En 1910 los administradores decidieron trasladar al College of Technology a un nuevo enclave en la zona sudoriental de la ciudad de Los Angeles.

Entre 1911 y 1921 el Instituto creció ininterrumpidamente. En 1919 Arthur Noyes, que ya era desde 1916 ayudante de investigación en el Throop, renunció a su plaza de profesor en el Instituto Tecnológico de Massachusetts para aceptar el cargo de director de investigación química en el nuevo instituto con dedicación exclusiva. De igual modo Millikan (Premio Nobel de Química en 1910), también fue convencido para sustituir su empleo de tiempo parcial por la dedicación exclusiva al Caltech en 1921. Entre 1919 y 1921, el instituto tomó el nombre de Instituto Tecnológico de California.

Este sistema de atraer a eminentes científicos para colaborar a tiempo parcial, asegurarse dotaciones para construirles laboratorios de investigación y después convencerlos para que aceptaran nombramientos con dedicación exclusiva, al parecer fue una idea magnífica que en Caltech funcionó de manera ideal. En la época del

Throop, siempre se había gastado más de lo que permitía el presupuesto; las finanzas del instituto eran cubiertas gracias a las aportaciones de los amigos del "Fondo de Déficit de Throop". Para 1920 las donaciones habían alcanzado la cifra de medio millón de dólares y aquel mismo año, en el mes de febrero, se llegaron a reunir 200,000 dólares más. La familia Gates, de Pasadena, aportó fondos para construir los dos primeros laboratorios de química en 1917 y 1927, y la familia Crellin, también de Pasadena, hizo posible el tercer laboratorio en 1937. Estas acaudaladas familias estaban orgullosas de un Instituto local y quisieron fomentar la docencia y la investigación en el oeste.

Hacia los últimos años de la década de los treinta, Arthur Noyes dejó de ser miembro del Consejo, pero éste había aumentado a nueve personas con la incorporación de Thomas Hunt Morgan, Richard C. Tolman, Max Mason, William Munro y un tercer hombre de negocios. Hasta 1946 el Consejo Ejecutivo fue sustituido por un presidente. (Olby, 1991).

Según Lily Kay (1993), ninguna institución ejemplifica la resonancia cultural entre patronato y ciencia mejor que Caltech, ninguna otra empresa académica expresa tan claramente la poderosa conjunción del capital intelectual, los recursos económicos y las estructuras institucionales. Un acercamiento a esta Institución, ofrece una excelente oportunidad para hacer un examen de estas relaciones y operaciones. Podemos examinar de manera fructífera el desarrollo de algunos de sus principales proyectos de investigación y orientaciones, como el acento en la genética fisicoquímica, el énfasis en los instrumentos, y la dominancia del paradigma proteína, con su acentuado énfasis en la inmunología. Un vistazo a Caltech durante los años treinta a los años cincuenta, revela que el Instituto formó a algunos de los más importantes investigadores "fundadores" de la biología molecular norteamericana, todos apoyados económicamente por la Fundación Rockefeller. Estos futuros laureados con el Premio

Nobel, construyeron escuelas de investigación en Caltech, basándose en el modelo cooperativo.

El genetista Thomas Hunt Morgan, fue contratado por Caltech en 1928 para guiar la nueva División Biológica; esta contratación se debió no sólo a su probada virtuosidad mendeliana con la mosca Drosophila, sino que sin ser extraño a los negocios y políticas de la Fundación Rockefeller, él fue propuesto por su manejo científico efectivo, con el cual dio impulso a la genética, transformándola de una disciplina marginal en una ciencia de vanguardia. En la nueva División de Biología, se hacía investigación en genética, bioquímica, biofísica, embriología y fisiología; los investigadores eran concebidos no sólo como los puentes entre estos campos biológicos, sino como los forjadores de lazos con la física y la química. (Morgan, 1928).

El físico alemán Max Delbrück formó algunos de los iniciales lazos entre la genética, la física y las matemáticas, estableciendo en Caltech durante los años treinta los fundamentos de la Escuela Informacional, a la que ya me referí, y que ha sido generalmente reconocida como uno de los más fructíferos acercamientos al problema del gen. Además de su alto nivel académico, la importancia del trabajo de Delbrück radica en haber establecido un programa social cohesivo y una cadena cooperativa extensiva a varias disciplinas, instituciones y países. (Delbrück, 1947).

La carrera de Linus Pauling presenta un patrón similar. Director de la División Química de Caltech, Pauling fue uno de los principales arquitectos de la biología molecular, actuando como coordinador tanto como científico. Sus investigaciones sobre enlaces químicos y la estructura de las proteínas, fueron centrales para la prominencia Norteamérica en cristalografía de rayos X. Su gran ambición intelectual

lo ubicó a él y a Caltech al frente del soporte de la Fundación Rockefeller y de la producción del conocimiento molecular.

El brillante genetista George Wells Beadle, fundador de la genética bioquímica norteamericana (aunque como ya mencionamos, existía un precedente en las investigaciones de Archibald Garrod), demostró de manera temprana en su carrera en Caltech, su gran flexibilidad interdisciplinaria. Habiendo hecho investigaciones en maíz con Bárbara McClintock en los años veinte, y en la mosca de la fruta con Boris Ephrussi a finales de los años treinta, en los años cuarenta fue coordinador del proyecto Neurospora en la Universidad de Stanford, en donde trabajó con Edward Tatum. Formado para el liderazgo por la Fundación Rockefeller a través de Caltech, Beadle retornó a la cabeza de la División de Biología después de la Segunda Guerra Mundial, con un récord de proyectos cooperativos extendido a la industria y a la milicia. (Beadle, 1967).

Caltech no fue un centro exclusivo para la nueva biología, sin embargo, el desarrollo de esta ciencia en el Instituto fue significativo desde el punto de vista comparativo tomando en cuenta el soporte que la Fundación Rockefeller dio al programa biológico en otras universidades. Un examen de los reportes anuales de la Fundación de 1930 a 1955, revela que financió proyectos de investigación en biología molecular en instituciones de élite, e invirtió grandes cantidades en seis de ellas en proyectos de larga permanencia; estas instituciones fueron: La Universidad de Chicago, Caltech, la Universidad de Stanford¹¹,

¹¹ En Stanford, una institución relativamente joven, dos tendencias se habían solidificado en 1930: la fuerte presencia de la escuela médica, y la carencia de la cooperación interdisciplinaria. Bajo la presidencia de Ray L. Wilbur, la medicina llegó a ocupar un lugar dominante tanto física como disciplinariamente, la escuela de las ciencias biológicas fue médicamente orientada, incluyendo departamentos como anatomía, bacteriología, fisiología, botánica y zoología. Hasta la llegada de Beadle en 1937, no había en esta Universidad investigación genética; de hecho, la carencia de cooperación entre química y biología fue uno de los motivos detrás de la salida de Beadle en 1946

Columbia¹², Harvard¹³ y la Universidad de Wisconsin¹⁴. De estas instituciones, la Fundación Rockefeller consideraba a la Universidad de Chicago¹⁵ y a Caltech¹⁶ como los centros promisorios para el desarrollo de un programa biológico molecular unificado.

¹² La Universidad de Columbia hizo contribuciones significativas a la biología molecular, sobre todo en investigaciones de química de proteínas. Resaltan, las investigaciones hechas bajo la dirección del físico Harol C. Urey acerca de los efectos biológicos del hidrógeno pesado; el trabajo sobre isótopos radioactivos de Rudolff Schoenheimer, y por supuesto, los estudios acerca de la composición de los ácidos nucleicos de Erwin Chargaff. Estas investigaciones eran conducidas principalmente por el departamento de bioquímica en el Colegio de Física y Cirugía, con una muy pequeña interacción con el departamento de zoología y genética. Bajo la dirección del genetista L. C. Dunn, el departamento de zoología emergió de un potencial estado de eclipse sólo al final de los años cuarenta. La zoología no poseía ya más, la capacidad de una relación interdisciplinaria con la medicina.

Los contratos que la Fundación Rockefeller hizo con le departamento de zoología, desde la mitad de los años cuarenta hasta la mitad de los años cincuenta, tenían el objetivo de restituir la eminencia de la Universidad de Columbia a través del financiamiento de programas en genética primariamente mamífera. Estas dinámicas institucionales e intelectuales fueron desfavorables para un posterior programa de biología molecular unificado.

¹³ En la Universidad de Harvard, la biología siempre estuvo a la sombra de la medicina. Por 1940, con los genetistas de Harvard casi extintos, los principales proyectos en biología fisicoquímica eran conducidos bajo la dirección de la escuela médica, por lo que en Harvard la nueva biología hubiera difícilmente desarrollado una identidad independiente a sus tradicionales roles de servicio.

¹⁴ La Universidad de Wisconsin disfrutó de un status especial, ya que Weaver y el Presidente de la Fundación Rockefeller Max Mason pasaron la mayor parte de su vida académica ahí. Las áreas principales del programa de biología molecular prosperaron en Wisconsin, especialmente las investigaciones en bioquímica, biofísica, endocrinología, microbiología y genética. Sin embargo, la influencia dominante de las industrias de comida y medicamentos tendieron a guiar los proyectos de investigación hacia estas áreas, principalmente hacia la agricultura, veterinaria y productos médicos.

¹⁵ La organización institucional en la Universidad de Chicago, estaba densamente asociada con la jerarquía de la Fundación Rockefeller. El financiamiento que la Fundación proporcionaba a esta Universidad era igual al aportado a Caltech. A través del enérgico liderazgo de Frank R. Lillie (asesor de la Fundación Rockefeller y Director del Laboratorio Biológico Marino en Woods Hole), el programa de la Universidad de Chicago durante los tempranos años treinta ejemplifica la tradición y la vanguardia de la biología norteamericana. De hecho, Lille jugó un papel decisivo en el grupo de trabajo en biología del sexo, junto con luminarias como Sewall Wright en genética, F. C. Koch en bioquímica, Karl Lashley en fisiología y más tarde con el biólogo Paul Weiss

Sin embargo, la división de biología había sido integrada al curriculum médico por tres décadas, y sus departamentos de fisiología, farmacología, bacteriología, anatomía y bioquímica fueron ubicados como campos preclínicos. La dirección de Lillie había sostenido la identidad biológica distintiva, pero con su reemplazo por el inmunólogo W. H. Taliaferro, la biología ganó una pesada influencia médica en los años cuarenta, tendiendo a orientar todo a la investigación clínica. Más adelante, la Universidad e Chicago tendría una fuerte tradición en biología evolutiva y en historia natural, fomentada por el formidable trabajo que se hacía en evolución progresiva. Este enfoque evolucionista fue fundamentalmente incompatible con la concepción mecanicista de la vida (generalmente asociada a la biología molecular). Los genetistas de la Universidad de Chicago ponían énfasis en el estudio de

Caltech se empezó a distinguir como una institución de élite desde la primera mitad de los años veinte, sus proyectos de investigación se basaron en la cooperación interdisciplinaria. Sus mecanismos institucionales fueron orientados desde el principio para un acercamiento con la ciencia, las estructuras fueron guiadas por modelos cooperativos de coordinación y fueron inspiradas en los proyectos cooperativos de la Primera Guerra Mundial. A finales de los años veinte, Caltech se tornó en el eje del establecimiento científico en América. Su ilustre liderazgo se coló a los corredores del poder y enlazó a la academia con la industria y las fundaciones filantrópicas, sus líderes forjaron también una formidable alianza con la élite de negocios de California.

Su comité científico situó a Caltech en el cuadro de la política económica y generó un enorme soporte comunitario, el cual estimuló el ofrecimiento de las fundaciones. Esta convergencia de estrategias institucionales y cognoscitivas en ausencia de la tradicional competencia, redundó en recursos sociales y económicos enormes. Caltech emergió como el centro líder de la biología molecular, en él, constatamos la notable resonancia de los significados y los fines entre científicos y patrones, la formación de un consenso en objetivos sociales y científicos basados en la primicia de la visión molecular de la vida. (Kay, 1993).

poblaciones y bajo el liderazgo del biólogo Paul Weiss la investigación biológica desarrolló perspectivas organicistas que atestiguaban la viabilidad de las viejas tradiciones de Chicago, tradiciones que competían con los objetivos de la nueva disciplina durante los años formativos del nuevo programa de biología molecular.

¹⁶ Caltech no tenía ninguna tradición de competencia disciplinaria, ni biología evolutiva, ni historia natural, ni mandato de agricultura y además no tenía escuela médica. Desafiar las presiones intermitentes desde los años veinte hasta los cercanos cincuenta para agregar la investigación médica a las ciencias de la vida, era el plan original de Morgan para resistir el imperativo de la medicina privilegiada (los intereses de la agricultura ya habían generado también tensiones). La nueva biología fue implementada dentro de una matriz disciplinaria que divergía de las otras instituciones. El programa de biología de Caltech ayudó a fragmentar las tradiciones biológicas establecidas, con el objeto de crear una nueva ciencia de la vida basada en la cooperación con las ciencias físicas y la ingeniería. Los nuevos lazos fueron formados, produciéndose después de una década una generación de biólogos con entrenamiento en las ciencias físicas.

Capítulo III.

LA VISIÓN GENÉTICA-BIOQUÍMICA DE LA VIDA

3.1 *Introducción*

La Genética estudia la forma como las características de los organismos vivos, sean éstas morfológicas, fisiológicas, bioquímicas o conductuales, se transmiten, se generan y se expresan de una generación a otra bajo diferentes condiciones ambientales. La genética estudia cómo estas características pasan de padres a hijos, a nietos, etc., y por qué a su vez, varían de generación en generación. (Barahona y Piñero, 1994).

Aunque la genética se ha desarrollado de manera vertiginosa durante el presente siglo, esta tuvo su origen en el siglo XIX, época en que los científicos intentaban contestar las cuestiones relativas a la variación y la herencia. Antes de que la genética existiera como ciencia, la herencia se estudiaba a partir de lo que se llama la hibridación o cruce de organismos entre sí para analizar su descendencia. Los investigadores de la hibridología, como se le llamaba a esta disciplina, empleaban el método del tanteo experimental: cruzar dos individuos y analizar su descendencia para obtener datos experimentales acerca de la herencia de ciertas características de los organismos. Este método proporcionó datos importantes acerca de la fertilidad o esterilidad de los descendientes, y también datos acerca de la imposibilidad de obtener cruces fértiles de organismos de diferentes especies. Sin

embargo, no permitieron obtener generalizaciones o principios que explicaran la herencia; primero, porque estos experimentos trataban con características complejas, lo cual imposibilitaba un análisis detallado y simple, y segundo, hacían falta datos numéricos y pruebas rigurosamente controladas que pudieran facilitar su análisis. Además, estas investigaciones se hacían al margen de los avances de otras ramas de la biología como la citología, y particularmente de aquellos hallazgos que identificaban a las partículas constitutivas de la célula que se multiplican y dividen durante las divisiones celulares, los cromosomas (Barahona y Piñero, 1994).

La genética moderna surge con los trabajos del monje austriaco Gregor Mendel, quien inició sus investigaciones hacia el año 1856, empleando chícharos para investigar cómo se heredaban los caracteres individuales. Mendel, quien se caracterizó por su meticulosidad, adoptó la idea de un método de análisis de poblaciones, en lugar de analizar a individuos en particular. Además, al igual que las investigaciones de Beadle y Tatum con Neurospora crassa que explicaré más adelante, el trabajo de Mendel ilustra la importancia que tiene la selección adecuada de un organismo como objeto de investigación. Esta selección le tomó dos años de cruzamientos controlados en las especies de chícharos Pisum sativum, Pisum quadratum y Pisum umbellatum, las cuales cumplían con ciertas condiciones que las hacían más prácticas que otras: flor grande, de fecundación cruzada y fáciles de emascular.

También Mendel eligió deliberadamente características simples con formas claramente perceptibles y no intermedias, como por ejemplo, el tipo de semilla era liso o rugoso, la planta tenía tallo alto o enano, etc. Haciendo estas cruces durante varias generaciones Mendel pudo explicar la forma de transmisión de los caracteres. Sus investigaciones lo llevaron a suponer la idea de la herencia en partes, es decir, que

cada progenitor contribuye con un elemento para determinado carácter, y por lo tanto la cría tiene pares de elementos. Mendel llamó a estos elementos "caracteres diferenciadores" porque diferenciaban a las plantas entre sí. (Barahona y Piñero, 1994).

Una de las primeras observaciones que hizo Mendel al cruzar sus plantas fue que diferían según el carácter; por ejemplo, al cruzar una planta de tallo alto con una de tallo corto, la primera generación presentaba una de las dos características de los padres, y la otra aparentemente desaparecía. Al cruzar a estos hijos entre sí para obtener una segunda generación, Mendel notó que el carácter que había desaparecido reaparecía en una proporción constante: por cada tres plantas de tallo largo aparecía una con tallo corto (3:1). De aquí Mendel sugirió que el carácter que aparecía en la primera generación de manera uniforme era "dominante" sobre aquél que desaparecía en apariencia, a este segundo carácter lo llamó "recesivo". (Barahona y Piñero, 1994).

La primera generalización que obtuvo de sus datos (conocida ahora como primera ley de Mendel), se refiere a la separación o segregación de los elementos durante la formación de los gametos. Su segunda generalización (segunda ley de Mendel), se refiere a la herencia independientemente de los pares de elementos, es decir, el que una planta tenga tallo largo o corto es independiente de si su semilla es lisa o rugosa, y a su vez, es independiente de si la flor es blanca o amarilla, etc. Fue a partir de estas leyes, conocidas ahora como las leyes de Mendel, que se construyó la genética moderna a principios de este siglo XX.

Las publicaciones de Mendel no recibieron ninguna atención por parte de los científicos de su época, probablemente debido a que su artículo apareció en 1866 en una revista científica a la que pocos

investigadores tenían acceso¹⁷, y también a que Mendel era un investigador poco conocido en su época. (Barahona y Piñero, 1994).

Los logros de Mendel fueron redescubiertos en 1900 por tres científicos de manera independiente, fueron Hugo de Vries en Holanda, Carl Correns en Alemania y Erich von Tschermack en Austria. Entonces se hizo patente el significado de los principios de Mendel, ahora el enigma de la herencia estaba abierto a una solución. (Ayala y Kiger, 1984).

3.2 La Genética Clásica y Thomas Hunt Morgan

En los años que siguieron a la publicación del trabajo de Mendel, no se conocía lo suficiente acerca del comportamiento de los cromosomas como para poder establecer una relación entre éstos y las leyes de Mendel, e interpretar estas leyes en términos de las divisiones celulares que tienen lugar durante el proceso de desarrollo de las células que constituyen los gametos. (Barahona y Piñero, 1994).

El razonamiento de que dos ramas de la ciencia aparentemente separadas están en realidad interrelacionadas de un modo casual, debido a que el conocimiento adquirido en cada campo suministra explicaciones para el otro, se ejemplifica cuando se demostró que la genética mendeliana y los procesos de la mitosis y la meiosis estaban relacionados. En 1902, dos investigadores –Walter S. Sutton en los Estados Unidos y Theodor Boveri en Alemania- de manera independiente sugirieron que los genes estaban contenidos en los cromosomas. Esta idea sentó las bases de lo que después sería la “teoría cromosómica de la herencia” Sus argumentos se basaron en el

¹⁷ Gregorio Mendel publicó sus resultados en 1866 en la Revista de la Sociedad de Historia Natural de Brno

comportamiento paralelo entre los cromosomas por un lado y los genes por el otro durante la meiosis y la fecundación. La existencia de dos alelos para un carácter dado, uno heredado de cada progenitor, está en correlación con la existencia de dos cromosomas, también derivados cada uno de un progenitor. Los dos alelos para un carácter se agregan en la formación de los gametos porque los dos cromosomas de cada par pasan a gametos diferentes durante la meiosis. Algunos genes para caracteres diferentes se transmiten independientemente, porque están en cromosomas no homólogos, y estos cromosomas a su vez se distribuyen en los gametos independientemente del progenitor del que provienen. (Ayala y Kiger, 1984).

El comportamiento paralelo de los cromosomas y de los genes en la formación de los gametos y en la fecundación sugirió que los genes están localizados en los cromosomas. Así, fueron Sutton y Boveri quienes primero reconocieron la individualidad de los cromosomas y los identificaron como las estructuras portadoras de los genes.

De esta manera, gracias al redescubrimiento de las leyes de Mendel y a su aplicabilidad para tratar los problemas de la herencia se comienza a desarrollar la genética moderna. Del establecimiento de líneas de investigación que utilizaban las leyes de Mendel y partían de la concepción de herencia en partes es que se pudo demostrar que este tipo de herencia, la mendeliana, es universal. (Barahona y Piñero, 1994)

Sin lugar a dudas, el desarrollo de la genética postmendeliana se consolidó debido a los trabajos de un grupo de genetistas que trabajaban con la mosca de la fruta Drosophila melanogaster, este grupo fue el que más dividendos dejó a la naciente ciencia de la genética; tanto por sus descubrimientos como por la introducción de

técnicas novedosas. Estas técnicas no sólo revolucionaron la manera de tratar los problemas de la herencia, sino que establecieron una nueva metodología experimental y una serie de principios fundamentales que permitieron resolver algunos de los enigmas que ya habían sido planteados anteriormente, lo cual significó un gran avance. Me refiero al "Grupo de las moscas", "Grupo Drosophila", o "escuela morganiana".

El nombre de "escuela morganiana" se debe a que fue fundada por Thomas Hunt Morgan¹⁸, y la designación como "Grupo Drosophila" o "Grupo de las moscas", se debe como ya se mencionó, a que trabajaron con la mosca Drosophila melanogaster. (Barahona y Piñero, 1994).

Cuando Morgan y sus estudiantes empezaron con sus investigaciones, se acostumbraba trabajar con plantas en los estudios de la herencia. Sin embargo, esta escuela introdujo a un animal, la mosca de la fruta, como objeto de estudio, y posteriormente como vehículo para el estudio de los efectos que causan en el material hereditario elementos externos como la radiación. Este organismo le permitió a Morgan observar los cambios generacionales mucho más rápidamente y de manera más sencilla que con las plantas, y también le simplificó su presupuesto, ya que a estas moscas las cultivó en frascos de vidrio alimentándolas con simples pedazos de plátano.

Morgan era la cabeza de un grupo de biología experimental del Departamento de Zoología de la Universidad de Columbia, N. Y. Sus estudiantes, Alfred Henry Sturtevant (1891-1970), Herman Joseph

¹⁸ Thomas Hunt Morgan (1866-1945) empezó a trabajar en el campo experimental hacia 1908 cuando, impresionado por los trabajos de botánicos famosos como Hugo de Vries (quien había propuesto la teoría de la mutación como la alternativa a la selección natural de Darwin a principios de siglo), quiso repetir sus experimentos en el reino animal (ya que él era zoólogo), y demostrar que los cambios drásticos en los organismos pueden hacer grandes modificaciones en las especies.

Muller¹⁹ (1890-1967) y Calvin Blackman Bridges (1889-1938), eran investigadores jóvenes que, bajo la tutela de Morgan, hacían su trabajo de tesis doctoral. Morgan permaneció en la Universidad de Columbia hasta 1928, cuando como ya se dijo, fue invitado a establecer el Departamento de Biología en el Instituto Tecnológico de California (Caltech), en donde permaneció hasta su muerte en 1945. O sea que él era el Director del Departamento de Biología cuando George Beadle se integró a Caltech a principios de los años treinta.

Dentro de las principales aportaciones que la “escuela morganiana” dio al campo de la genética experimental, podemos mencionar que gracias a esta escuela se pudo establecer que los factores elementales de los que Mendel hablaba (genes), formaban parte de los cromosomas (bastoncillos localizados en el núcleo de las células) y que, por lo tanto, los genes podían ser tratados como puntos específicos a lo largo de los cromosomas, y así saber, por ejemplo, su localización dentro de ellos. A esta teoría se le conoce como la teoría cromosómica de la herencia, y gracias a su establecimiento Morgan recibió en 1933 el Premio Nobel en fisiología y medicina, mismo que compartió con Sturtevant y Bridges (Barahona y Piñero, 1994).

La teoría cromosómica de la herencia establece que los genes forman parte de los cromosomas, lo cual explica las leyes de Mendel a través de la meiosis, y significaría la posibilidad de encontrar la localización de cada gene dentro de cada cromosoma. Esta idea de localizar a los genes dentro de lugares concretos en el cromosoma, era en este momento algo complicada, así que Morgan consideró el problema de la siguiente manera: si los cromosomas intercambian porciones de ellos durante la meiosis sería posible construir mapas genéticos, en donde se

¹⁹ Muller, en su tesis doctoral oficialmente era dirigido por el citólogo E. B. Wilson.

situarían los diferentes genes de acuerdo con su comportamiento durante la meiosis.

Este razonamiento se convirtió en la tesis doctoral de Sturtevant, y permitió abrir un campo de investigación novedoso. A la fecha los organismos mejor conocidos desde el punto de vista de la localización de sus genes son la Drosophila melanogaster y la bacteria Escherichia coli. (Barahona y Piñero, 1994).

Hemos mencionado que la segunda ley de Mendel se refiere a la herencia independientemente de los pares de caracteres, sin embargo, en algunas ocasiones esta ley no se cumple. Cuando ciertos pares de caracteres tienden a permanecer juntos en generaciones sucesivas se dice que están ligados. El ligamento ocurre cuando ciertos caracteres son transmitidos juntos con más frecuencia que otros y, por tanto, no siguen la segunda ley de Mendel. El ligamento tiene una aplicación restringida a los casos en los cuales no hay intercambio o entrecruzamiento entre porciones enteras de los cromosomas implicados. El ligamento y el encruzamiento son, por lo tanto, fenómenos correlativos y pueden expresarse con leyes numéricas bien definidas. Estos dos fenómenos forman parte del proceso de la herencia y tienen que tomarse en cuenta cuando se hacen análisis cuantitativos de los caracteres de los organismos.

El ligamento hace que dos caracteres sean transmitidos juntos, mientras que el encruzamiento o recombinación significa que pueden ser separados durante el curso de generaciones posteriores. Un caso de ligamento es lo que se conoce como herencia ligada al sexo y fue descubierta por Morgan. Este investigador descubrió que el factor que determina el color de los ojos en la mosca Drosophila se localiza en el cromosoma X o al menos lo acompaña en la segregación. Esto fue muy importante pues existen características cuyos genes al estar contenidos

en los cromosomas sexuales, aparecerán en correlación con la proporción de los sexos, hembra o macho. Por ello, estos experimentos demostraron también que los genes están en los cromosomas. (Barahona y Piñero, 1994).

El estudio de la recombinación fue hecho por Muller hacia 1916. Una vez establecido que los factores o genes están alineados en los cromosomas, Muller se preguntó si existía una correspondencia entre la frecuencia de la separación (recombinación) y la longitud del cromosoma. Efectivamente, si la recombinación indica cambio de secciones enteras de cromosomas durante la meiosis, la distancia que separa a los genes es importante para poder intercambiarse. Con estos trabajos de Muller se estableció que los genes están alineados en los cromosomas y que la recombinación es el método de intercambio.

A la escuela morganiana también se debe el estudio de la distribución anómala de piezas de cromosomas. En algunas ocasiones una pieza de un cromosoma se desprende y se agrega a otro cromosoma, es decir, sé transloca. El número de genes no se altera, pero sí su distribución. La pieza que se ha translocado se inserta junto al cromosoma normal, se dice que ha habido una duplicación. Un individuo portador de una duplicación tiene los genes por triplicado, un gene en el cromosoma normal y dos en el cromosoma donde se ha insertado la pieza translocada. También puede ocurrir que este trozo de cromosoma se pierda en las divisiones posteriores, entonces hablamos de una deficiencia. Estos individuos sólo tendrán un juego de ciertos genes que se localizan en el cromosoma normal. Obviamente estas distribuciones anómalas de piezas de cromosomas alteran los resultados obtenidos por Mendel. Se ha observado que si las translocaciones, duplicaciones y deficiencias son pequeñas, los individuos sobreviven, pero si éstas son grandes, por regla son letales. (Barahona y Piñero, 1994)

3.2.1 Herman Muller y la Mutagénesis

Después del establecimiento de la teoría cromosómica de la herencia se tuvo la idea de que ciertos factores externos, como la radiación, podían producir efectos sobre los cromosomas sin lesionar al resto de la célula en forma permanente. A esta nueva rama de la genética se le conoce como mutagénesis.

Recordemos que los trabajos de Mendel, y posteriormente los de Morgan, se basaban en la presencia de ciertas características a las cuales se les seguía generación tras generación para averiguar cómo se transmitían. La escuela morganiana tenía que esperar a que aparecieran nuevas características o mutantes de manera natural para poder analizar su comportamiento, esta nueva característica era estudiada posteriormente a través de la recombinación. Ahora sería posible inducir las mutaciones a conveniencia y estudiar al gen y su estructura de manera individual. Este trabajo de producción de mutaciones y caracterización de los genes lo desarrolló Herman Joseph Muller, y por ello le fue otorgado el Premio Nobel en 1947.

Muller hizo posible romper, agrupar o afectar a los cromosomas de la mosca de la fruta, exponiendo a los individuos en diferentes estados de desarrollo a radiaciones controladas en intensidad y en tiempo. El efecto de la radiación en los cromosomas y en los genes es heredado, de tal manera que es posible seguir su pista de generación en generación.

Muller observó que el esperma de Drosophila tratado con altas dosis de rayos X induce la aparición de mutaciones génicas en una alta frecuencia. De hecho, encontró varios cientos de mutantes, algunos de

los cuales (tal vez un ciento), fueron seguidas hasta por cuatro generaciones. Estas mutaciones eran estables en su herencia y se comportaban según las leyes de Mendel. El tipo de mutaciones producidas por Muller en la mosca de la fruta, iban desde ojos blancos, alas miniatura, cerdas bifurcadas, etc.

La naturaleza de las cruzas favoreció la detección de las mutaciones, ya que muchas de ellas se encontraban ligadas al sexo. Drosophila melanogaster tiene cuatro pares de cromosomas: I, II, III y IV. El primero (par sexual), es el cromosoma X, dos de los cuales los tiene la hembra (XX) y uno el macho (XY). El segundo par son cromosomas doblados, el tercero también pero más largos, y el cuarto son cromosomas diminutos, redondos o ligeramente alargados. Estos cromosomas contienen un gran número de genes marcadores, que son genes que permiten seguir con cierta seguridad los cambios o mutaciones ocurridas espontáneamente o por la acción de los rayos X. Gracias a la capacidad de producir marcadores en los cromosomas de la mosca se creó un "banco" de mutantes de Drosophila, que era utilizado en todos los laboratorios del mundo.

Así, la contribución más importante de Herman Muller fue el lograr establecer que los genes tienen una existencia física capaz de cambiar o alterarse (mutar) por agentes externos (como los rayos X), y que poseen la característica de que estas variaciones son heredables. (Barahona y Piñero, 1994).

3.3 La Ruta Bioquímica del Genotipo al Fenotipo

Así, gracias a las aportaciones de la escuela morganiana varias de las propiedades generales de los genes fueron conocidas. Primera, su capacidad para generar copias de ellos mismos (autorreplicación), durante la duplicación cromosómica en la meiosis. Segunda, se observó que los genes mutaban dando diferentes formas alélicas que también poseían la capacidad de la autorreplicación. Y tercera, se advirtió que los genes afectan de manera específica a los fenotipos de los organismos.

La expresión de los rasgos alternativos era en este momento esencial para identificar a los genes por observación de la segregación de los alelos en los entrecruzamientos. La transmisión estable de rasgos de generación en generación, alterada solamente por las mutaciones, planteaba entonces los siguientes interrogantes: ¿Cómo están determinados tales rasgos?, ¿cuál es la naturaleza física del gene que lo hace capaz de la autorreplicación, mutación y expresión fenotípica?

Tres de los mendelianos más destacados: Lucien Cuénot y Carl Correns en 1903 y William Bateson en 1906, habían propuesto la teoría de la "presencia y ausencia", según la cual la dominancia de una variedad sobre otras en el híbrido formado entre ambas no obedecía a las fuerzas relativas de las unidades genéticas implicadas (A y a), sino al simple hecho de que la forma recesiva carecía del gene que la forma dominante poseía. Incluso hacia 1910 Morgan había aceptado esta teoría, para refutarla después, cuando propuso la teoría cromosómica de la herencia, porque entonces se vio obligado a preguntarse cómo podía emparejarse en la meiosis el gen dominante (presencia), con su compañero recesivo (ausencia) (Olby, 1991).

La hipótesis de la presencia y ausencia fue relegada al olvido por la posición de los interrogantes de la escuela morganiana, y se perdió entonces todo vínculo con la química, ya que los genetistas avanzaban en base a mapas cromosómicos, análisis del efecto posicional e introducción de genes modificadores. Pero, ¿existían realmente todas estas unidades discretas?. Quizá la existencia de numerosas manifestaciones de un mismo carácter (alelismo múltiple), tenía alguna explicación fisiológica. Ya por 1930 existía un gran interés por dilucidar la secuencia de acontecimientos a través de la cual el gen determina su carácter, este interés se hizo más profundo cuando aparecieron dos casos de alelismo múltiple - el color del ojo de la mosca de la fruta y de la mariposa de la harina -, que brindaban una excelente oportunidad de acceso al estudio del mecanismo de la acción de los genes. Lo anterior, trajo como consecuencia la organización cada vez más activa de programas de investigación en el campo de la genética bioquímica. (Olby, 1991).

En los inicios del estudio de la genética bioquímica existieron factores que jugaron un papel fundamental para su desarrollo: La obra de Garrod (sobre todo su estudio de la alcaptonuria), los hechos concernientes a pigmentos animales y vegetales, la concepción de la función del gen como unidad auto y heterocatalítica, y la selección de organismos "simples" como objetos de investigación para el estudio de tales cuestiones.

Muchos de los conocimientos iniciales que sobre las bases bioquímicas de la herencia ahora se tiene, se han fundamentado entre otras, en las investigaciones realizadas por George Beadle y Boris Ephrussi en la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* (1935), y por Beadle y Edward Tatum en el hongo del pan *Neurospora crassa* (1941).

3.3.1 Los Primeros Intentos: Beadle y Ephrussi

Una gran tradición en genética vegetal, particularmente en maíz, fue desarrollada paralelamente a las investigaciones genéticas realizadas en la mosca de la fruta Drosophila melanogaster. Entre los grupos de genetistas del maíz, se encontraba el de Rollin Adams Emerson. Durante los años veinte a los años treinta, este grupo incluía estudiantes que más tarde llegarían a ser brillantes genetistas, como: Ernest G. Anderson, Bárbara McClintock²⁰, Milislav Demerec, Eugene W. Lindstrom, George W. Beadle y Marcus M. Rhoades entre otros. (Barahona, 1996).

George Beadle²¹ permaneció en el grupo del maíz (Cornell University) de 1920 a 1930, año en que obtuvo su grado de doctor. En 1931, a invitación de Thomas Morgan, se incorpora a la División de Biología del Instituto Tecnológico de California (Caltech), financiado con una beca postdoctoral bajo la tutela de T. H. Morgan. (Keller, 1983).

Boris Ephrussi²² llegó a Caltech en 1933 y coincidió con Beadle, quien entonces estudiaba cruzamientos de Drosophila. Ephrussi consideraba que el gen no autónomo responsable de la pigmentación ocular en Drosophila, ofrecía una excelente vía de acceso al misterio de la acción

²⁰ Bárbara McClintock (1902-1992), brillante citogenetista quien en 1948 descubrió un fenómeno genético hasta entonces no imaginado, la transposición o movilidad de los genes dentro de los cromosomas. Sus estudios pasaron inadvertidos para la comunidad científica de su época (durante cerca de 30 años). La historia le hizo justicia cuando en 1983 le fue entregado el Premio Nobel en fisiología y medicina por el descubrimiento y caracterización de los genes saltarines (o fenómeno de transposición), en la planta del maíz. (Barahona, 1996).

²¹ El biólogo George W. Beadle nació en Wahoo, Nebraska, U. S. A.

²² Boris Ephrussi (1901-), genetista originario de Rusia pero ciudadano francés por naturalización, estaba casado con la genetista norteamericana Hamet Taylor, quien trabajaba como postdoctora con Oswald Avery en el Instituto Rockefeller. Fue Ephrussi, quien a mediados de los años treinta introdujo al joven Jacques Monod en la genética (Freeland, 1987).

de los genes. Así, parece ser que fue Ephrussi quien estimuló el interés de Beadle por la acción de los genes (Beadle, 1958).

El plan de Beadle y Ephrussi era tratar de investigar más sobre la embriología de la Drosophila, y con esa idea Beadle se reunió con Ephrussi en 1935 en el Instituto de Biología Físicoquímica de París, en donde empezaron a cultivar tejidos de células de Drosophila.

Por aquel tiempo, en el Instituto Zoológico de Göttingen, Caspari había utilizado la técnica del transplante de órganos en el estudio genético de la Ephestia²³ (mariposa europea de la harina). Ephrussi le sugirió a Beadle que adoptaran esta técnica en la Drosophila.

Sturtevant, antiguo miembro del grupo de Morgan, había encontrado una excepción a la regla general de que los genes ligados al sexo en la Drosophila eran autónomos, es decir: en un organismo de constitución sexualmente mixta (ginandromorfo), los genes del segmento masculino *no se ven afectados por sus alelos del segmento femenino*. La excepción a lo anterior es el color de ojos bermellón, este color de rojo brillante se convierte en marrón (tipo silvestre) después del transplante, no por la constitución genética del pigmento ocular en sí, sino por la de alguna otra parte del cuerpo. Según Beadle, era como si alguna sustancia se difundiera desde el tejido del tipo silvestre hasta el ojo y lo pigmentara normalmente. (Sturtevant, 1920).

²³ En la mariposa europea de la harina, Ephestia, Kühn encontró una mutación recesiva (aa), que altera el tipo silvestre del color de los ojos de pardo oscuro a rojo y afecta también el tamaño y la composición química de los gránulos de pigmento formados en células de otras partes del cuerpo.

Caspari, transplantó testículos de larvas (AA) o (Aa) a larvas (aa), y los injertos conservaron su color pardo violeta y determinaron que los ojos del huésped desarrollara también color oscuro. Los testículos transplantados de larvas (aa) a (AA) se colorearon como los del huésped. Resultó patente que el gene determinante del tipo silvestre "A" es responsable de la producción de una sustancia difusible (conocida por A o a+), que entra en el torrente circulatorio y determina la producción del carácter A en los tejidos aa.

Con el objeto de estudiar la manifestación de los genes de un tipo sobre el fondo de otro y registrar la modificación en el carácter correspondiente, Beadle y Ephrussi transplantaron el disco imaginal del ojo compuesto del tipo bermellón a orugas del tipo silvestre, verificando los resultados de Sturtevant. Además, los dos investigadores encontraron otro color de ojos que se comporta de la misma manera, el cinabrio. (Figura N° 1).

Beadle y Ephrussi supieron que las moscas mutantes bermellón y cinabrio carecían ambas de cierta sustancia que constituiría un eslabón esencial de la cadena de reacciones que conducen a la formación del pigmento de los ojos del tipo salvaje, además pensaron que los discos de los ojos eran sensibles a esta sustancia, y que en los casos que se acaban de mencionar, los líquidos del cuerpo del huésped suministraban al disco la sustancia esencial.

Sin embargo, Beadle y Ephrussi se preguntaban si sería la misma sustancia difusible la que la originaba la producción del pigmento marrón en ambos mutantes o si eran sustancias diferentes. Si era la misma, ellos esperaban que los trasplantes recíprocos de mutantes darían colores de ojos de tipo mutante, pero si eran sustancias diferentes, al unirse los genes mutantes por recombinación se complementarían entre sí y producirían ojos del tipo silvestre.

Es importante hacer notar que en esta época (1935) ni Beadle, ni Ephrussi, tenían en mente el concepto de etapas secuenciales controladas por los genes. Por lo anterior, grande fue su sorpresa cuando no se cumplió ninguna de sus dos predicciones; el ojo bermellón no ejerció ninguna influencia sobre el trasplante cinabrio, pero el anfitrión cinabrio convirtió al trasplante bermellón en tipo silvestre.

Para explicar este resultado inesperado, Beadle y Ephrussi formularon la hipótesis de que debía de haber dos sustancias implicadas, una formada a partir de la otra según este esquema:

Precursor \rightarrow sustancia b^+ \rightarrow sustancia Cn^+ \rightarrow pigmento.

En el mutante bermellón la primera reacción se bloqueaba; el gen bermellón carecía de poder para efectuar esta reacción. El mutante cinabrio facilitaba la formación de la sustancia b^+ ,²⁴ pero bloqueaba la segunda reacción que conducía a la formación de la sustancia Cn^+ , sólo en presencia de esta sustancia y no en la de b^+ el mutante cinabrio podía producir el color de ojos del tipo silvestre. De esta manera, las sustancias llamadas b^+ y Cn^+ faltan en el mutante bermellón; la sustancia Cn^+ falta en el mutante cinabrio; y ambas sustancias b^+ y Cn^+ se encuentran en el tipo silvestre. Beadle, observó que la segunda de las sustancias (la que falta en el cinabrio), sólo se produce cuando se halla la primera; esto es, una sustancia actúa como precursora de la otra. Así, se manifestaron dos eslabones relacionados de una cadena de reacciones que conducen al desarrollo del color de los ojos del tipo silvestre; y esta cadena está interrumpida en un punto anterior en la mutación bermellón y en un punto más avanzado en la mutación cinabrió. (Sinnott, Dunn, Dobzhansky, 1977).

Había, pues, "dos sustancias difusibles", que formaban parte de una secuencia de reacciones dirigidas a la producción del pigmento del tipo silvestre y fueron descritas como hormonas. Beadle y Ephrussi en 1919 introdujeron la hipótesis de que si la producción hormonal se bloqueaba era debido a "un defecto del sistema enzimático implicado en la síntesis

²⁴ En 1940 Butenandt, del Instituto Kaiser Wilhem, identificó a la sustancia b^+ como quinurenina. Edward Tatum y Haagen Smith lo hicieron un años después, posteriormente se descubrió que la quinurenina estenficaba con la sucrosa

de la hormona en cuestión” Beadle añadió que a pesar de la ausencia de evidencia directa de esta intervención de enzimas en el sistema, podía darse por supuesta debido a que esta explicación aportaba un mecanismo sencillo gracias al cual los genes podrían controlar las reacciones. Esta hipótesis de trabajo se consolidaría más tarde en la hipótesis de un gen una enzima, de Beadle y Tatum. (Beadle, 1939).

En la actualidad se conoce que las sustancias b^+ y Cn^+ no son particulares de una especie. Extractos de sustancia A de Ephestia, provocan el desarrollo del color del ojo del tipo salvaje (silvestre) en el ojo cinabrio de Drosophila; es la misma sustancia b^+ de Drosophila. Los extractos de Ephestia aa, en cambio, no tienen efecto sobre cinabrio; por tanto, se supone que las mutaciones de “A” a “a” en Ephestia y de b^+ a b en Drosophila bloquean la cadena de reacciones de formación del pigmento de los ojos en el mismo punto, esto es, en una fase previa a la formación del precursor de las sustancias b^+ y Cn^+ . La sustancia b^+ , está ampliamente distribuida en muchos animales. Las mutaciones de b^+ a b o de “A” a “a” bloquean la producción de quinurenina y así impiden la formación de pigmento pardo; la mutación de Cn^+ a Cn impide la conversión de la quinurenina en oxiquinurenina, y por lo tanto, en los pigmentos homocrómicos pardos. (Figura N° 3).

3.3.2 El Sistema Experimental de Beadle y Tatum

En 1937 Beadle, al parecer por desacuerdos profesionales con Ephrussi, dejó Caltech, yéndose o marchándose a la Universidad de Stanford en California. En esta Universidad, fue nombrado profesor de

biología e invita al bioquímico Edward L. Tatum²⁵ a trabajar con él en la identificación de la hipotética sustancia b⁺. (Kay, 1993).

Las investigaciones que Beadle y Ephrussi habían hecho con Drosophila, habían ocasionado que Beadle tuviera la idea de una secuencia de reacciones controladas por genes que desembocaban en la síntesis del producto de tipo silvestre; además Beadle asumió en su modelo que cada una de esas reacciones era controlada por un gen único. Así, Beadle y Tatum, partiendo del concepto de que la total especificidad de una enzima derivaba de un solo gene decidieron "invertir" su diseño experimental seleccionando exigencias metabólicas conocidas e investigando su determinación genética. (Olby, 1970).

3.3.3 *El Por Qué Neurospora*

Beadle y Tatum descartaron a las plantas superiores y a los animales para su trabajo, debido a que sus requerimientos nutritivos no podían ser controlados por completo por el investigador. Descartaron asimismo a las bacterias y a las algas verde azules por desconocerse (en ese momento), su fase de reproducción sexual, y a los protozoarios porque sus necesidades nutritivas sólo se conocían en parte. En cambio, los hongos parecían más prometedores. Al hongo Neurospora crassa (moho común del pan), es posible cultivarlo en condiciones asépticas, su crecimiento no requiere enorme espacio, y además ya había sido estudiado ampliamente desde el punto de vista genético. (Beadle, 1945).

²⁵ El bioquímico Edward Tatum (1909-), había trabajado en la Universidad de Wisconsin estudiando los factores de crecimiento de los microorganismos. En Europa se había relacionado con F. Kogl, quien hacía poco tiempo había descubierto la vitamina "biotina". Tatum también había conocido a Neils Fries, micólogo sueco inventor del medio de cultivo empleado durante mucho tiempo para cultivar Neurospora. (Olby, 1991)

Cuando Beadle estudiaba en Cornell (durante los años veinte), había asistido al seminario sobre la herencia del hongo del pan Neurospora, que impartía el Dr. B. O. Dodge, del Jardín Botánico de Nueva York. A Dodge le interesaba la llamada segregación de la segunda división de los tipos apareados y del albinismo. Años después, Beadle, repasando los datos del entrecruzamiento de los cuatro cromosomas en la Drosophila, sugirió que este resultado se podría explicar por entrecruzamiento del centrómero y el gen responsable de la segregación.

Dodge era un entusiasta del uso de Neurospora para estudios genéticos, incluso insistía ante Thomas Morgan que Neurospora era un mejor organismo para investigación que la Drosophila. Finalmente Dodge convenció a Morgan de que le ayudara a traer una colección de cultivos de Neurospora desde la Universidad de Colombia a la nueva División de Biología del Instituto Tecnológico de California, creada por Morgan en 1928. Poco tiempo después Morgan le sugirió a uno de sus estudiantes de doctorado, Carl C. Lindegren, que trabajara en la genética de Neurospora como base de su tesis. Esta elección fue muy afortunada, ya que Lindegren enseguida averiguó muchos aspectos sobre la genética de Neurospora, tales como nuevos caracteres y elaboración de mapas cromosómicos. (Beadle, 1958).

Aunque en este momento no se conocían todavía con exactitud las necesidades nutritivas del moho del pan, Beadle y Tatum pensaban que éstas eran muy sencillas.

Durante los primeros años de la década de los treinta, Tatum se había dedicado a la bioquímica pura reflejada en sus investigaciones que sobre agricultura realizó en la Universidad de Wisconsin, en donde investigaba los diversos factores que intervienen en el crecimiento de los microorganismos, tales como hormonas, vitaminas, ácidos nucleicos

y otras sustancias. Tatum pensaba que el estudio de la alimentación no sólo podía clarificar las causas de las enfermedades de los animales y del hombre, sino que podía también prevenirlas.

El estudio de los factores de crecimiento de los organismos se extendió durante los años treinta al campo hasta entonces incógnito de la nutrición de los microorganismos. Tatum, en su trabajo de tesis había contribuido a la identificación de la vitamina B1 (tiamina), como un factor de crecimiento bacteriano; en su investigación de posgrado en la Universidad de Utrecht encontró evidencia de la necesidad universal que para el crecimiento de los microorganismos tiene algunas vitaminas. Hasta ahora la tendencia había sido considerar de manera individual las necesidades de los factores de crecimiento. (Tatum, 1977).

Fue hasta que Tatum conoció a Beadle en la Universidad de Stanford que pudo apreciar la enorme potencialidad de las técnicas genéticas; en cambio, Beadle ya había aquilatado el poder de los análisis metabólicos. Así, con la experiencia en bioquímica de Tatum con los factores de crecimiento, Beadle pudo explotar nuevos métodos analíticos en el campo de la nutrición. (Beadle. 1945).

Después de que Beadle obtuvo la cepa de Neurospora crassa de Carl Lindegren (que ahora trabajaba en la Universidad de Washington), Tatum se dedicó a la investigación de las características bioquímicas del metabolismo del hongo aplicando su experiencia en la nutrición bioquímica de los organismos. Trabajó durante meses investigando o determinando los requerimientos nutricionales normales de Neurospora crassa, y probó con dietas excesivamente frugales hasta que obtuvo el medio de cultivo mínimo del crecimiento de este organismo. Tatum descubrió que este medio mínimo de crecimiento requería, además de azúcar, sales y nitrógeno inorgánico, así como la vitamina "biotina"

Cuando completó su trabajo, el nuevo sistema estaba listo para probar en él nuevos conceptos y estrategias.

Por lo anterior, a consideración de estos investigadores, la ventaja del uso de Neurospora para su investigación era doble, ya que además de su fácil cultivo, constituía la vía más propicia para establecer la última correlación entre la constitución genética y la expresión bioquímica de los genes, en un medio que podía ser controlado experimentalmente.

Como veremos, con los trabajos de Beadle y Tatum ocurrió algo similar a lo que venía ocurriendo con toda la historia de la genética desde Gregorio Mendel, ya que el éxito de su sistema experimental dependió de la elección deliberada, hasta cierto punto "contingente", de un organismo adecuado para responder a una pregunta específica.

3.3.4 Los Experimentos de Beadle y Tatum con Neurospora crassa

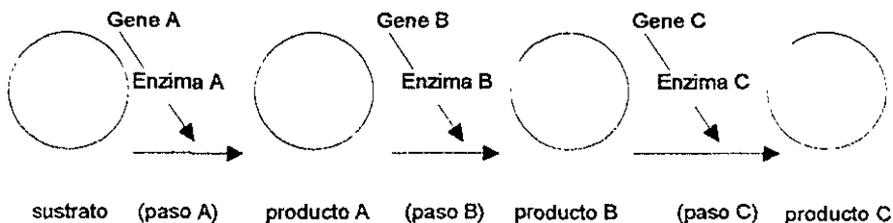
La relación entre genes y enzimas fue formulada por primera vez por Beadle y Tatum en 1945, y se le conoce como la hipótesis de "un gen – una enzima"; hallazgo por el cual ganaron el Premio Nobel en fisiología y medicina en 1958 (mismo que compartieron con Joshua Lederberg). Como señalé, el trabajo de Beadle y Tatum tenía como objetivo estudiar la expresión bioquímica de los genes, para lo cual seleccionaron al hongo del pan Neurospora crassa (ver Apéndice A) y diseñaron un sistema experimental sumamente original:

En primer lugar, Beadle y Tatum indujeron mutaciones en esporas asexuales del hongo (conidios) irradiándolas con rayos X, posteriormente a estas esporas las cruzaron con esporas de tipo

silvestre del tipo de apareamiento opuesto. Después de la reproducción sexual aislaron a las ascosporas y las cultivaron en medios adecuadamente enriquecidos o completos: con vitaminas (tiamina, riboflavina, piridoxina, niacina, etc.), y aminoácidos. Una vez hecho esto, las sometieron a prueba cultivándolas en medios mínimos o sin enriquecer; el no crecer en un medio mínimo indicaba un defecto de crecimiento.

Para investigar la naturaleza del defecto cultivaron a la capa deficiente en medios mínimos, cada uno de los cuales contenía un nutriente añadido: inositol, ácido pantoténico, piridoxina, riboflavina, tiamina, arginina, etc. Así, el medio que permitía el crecimiento que había sido suplementado por Beadle y Tatum, permitía inferir la naturaleza del defecto. (Figura No. 4).

Las tres primeras cepas mutantes aisladas por Beadle y Tatum, fueron designadas: *pab*, *pdx* y *thi*. Para poder crecer necesitaban el medio mínimo con un suplemento de ácido para-aminobenzoico, piridoxina y tiamina respectivamente. En cada caso había sido bloqueado un paso metabólico que conducía a la síntesis de un compuesto específicos, Beadle y Tatum infirieron que existía una correspondencia exacta entre la mutación genética y la falta de la enzima específica requerida en una vía bioquímica:



Beadle y Tatum supusieron que la síntesis de una enzima debía ser especificada por un tipo dado de gen mutante, pues, produce una enzima no funcional que bloquea la vía metabólica; una mutación en el

gen B bloquearía el paso del producto A al producto B. El producto A se acumularía, mientras que los productos B, C, D, etc... no se formarían: El sistema experimental de Beadle y Tatum tenían la ventaja de que la acumulación de un producto serviría para identificar la localización del paso bloqueado en la vía metabólica.

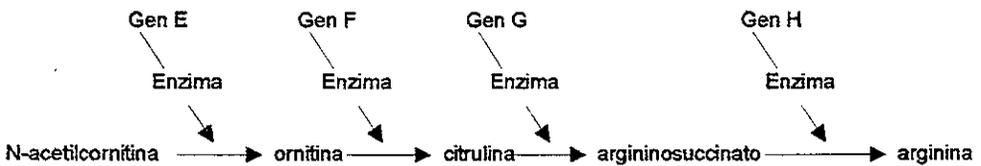
Ahora bien, Beadle y Tatum para confirmar que los organismos auxótrofos (que requerían compuestos suplementarios específicos para crecer) que aislaron eran producto de verdaderas mutaciones hereditarias, cruzaron una cepa de crecimiento deficiente (que requería ácido pantoténico por ejemplo), con el tipo silvestre. Obtuvieron esporas haploides (ascosporas), que colocaron luego por separado en medios mínimos, y observaron que cuatro esporas eran capaces de crecer y cuatro incapaces de hacerlo, lo cual confirmó que el defecto se debía a una mutación genética causada por rayos X. (Figura No. 5).

Gracias a estos experimentos, Beadle y Tatum concluyeron que las diferentes cepas auxótrofas aisladas capaces de crecer cuando el mismo componente se agrega al medio mínimo, no fueron necesariamente mutantes del mismo gene. Los tres mutantes de Neurospora que aparece en la siguiente tabla, por ejemplo, pudieron crecer cuando al medio mínimo se le añadió arginina.

Tres cepas mutantes de Neurospora crassa que requieren arginina.

| Mutante | Compuesto requerido |
|---------|--------------------------------|
| 1 | Arginina, citrulina y ornitina |
| 2 | Arginina y citrulina |
| 3 | arginina |

El segundo mutante pudo crecer también cuando se añadió citrulina, el primero pudo crecer con arginina, citrulina y ornitina; el segundo pudo producir su propia arginina al añadirle citrulina, mientras que el primero pudo también producir arginina a partir de ornitina. La inferencia de Beadle y Tatum a partir de esta evidencia fue que la producción de los tres compuestos es parte de la misma vía metabólica y tiene la siguiente secuencia:



Las mutaciones del gen E bloquean la vía antes de la síntesis de la ornitina, y el efecto de la mutación se puede superar al suministrar ornitina, a partir de la cual el organismo puede producir citrulina y luego arginina. Una mutación del gen F, bloquea el paso de la ornitina a la citrulina y la mutación no puede superarse al suministrar ornitina; pero el mutante puede crecer bien con citrulina o arginina. Los mutantes del gen H, pueden crecer cuando se les suministra arginina, pero no con cualquiera de los otros componentes. El señalamiento importante es que diferentes mutantes pueden crecer cuando se añade la misma sustancia; ello se explica si se supone que éstos deben tener bloqueos en pasos diferentes de la vía bioquímica que lleva a la síntesis de esta sustancia.

En el sistema experimental de Beadle y Tatum la implicación de diferentes genes en una secuencia bioquímica dada puede establecerse por la prueba de complementación, la cual tiene como objeto determinar si dos alelos recesivos son alelos funcionales o no. Una versión

modificada de la prueba de complementación se empleo en Neurospora. Cuando las hifas de diferentes cepas crecen en contacto mutuo, puede ocurrir la fusión nuclear y formarse un "heterocarionte": una célula híbrida que contiene núcleos de dos cepas en un citoplasma común. Un heterocarionte puede crecer en un medio mínimo cuando los dos núcleos contienen mutantes que afectan a genes diferentes. No obstante, cuando los dos mutantes lo son del mismo alelo la prueba de complementación no produce heterocariones de tipo salvaje, capaces de crecer en un medio mínimo. Las pruebas de complementación de varios mutantes de Neurospora que requieren arginina, han mostrado que siete genes diferentes están implicados en la vía bioquímica que conduce a la síntesis de la arginina. Por lo anterior, podemos decir que los estudios de los mutantes bioquímicos de Neurospora parecen confirmar que los genes controlan la actividad de las enzimas, y estas enzimas a su vez están asociadas con el metabolismo.

Así, el trabajo de Beadle y Tatum sugiere que la presencia de cada enzima en una secuencia bioquímica se encuentra determinada por un gen. De esta manera, la expresión (fenotipo) de un gen pudo por primera vez relacionarse con los factores hereditarios (genes).

3.4 Beadle y la Determinación Genética

Probablemente fue J. B. S. Haldane quien llamó la atención de Beadle sobre la obra de Archibald Garrod a través de un ensayo publicado en 1937. Beadle, en la conclusión de su trabajo: "Genetic Control to the Production and Utilization of Hormones", que leyó en el Congreso de Genética en Edimburgo en 1939, sostuvo que dicho trabajo era importante no porque dijera de manera específica lo que hacen los genes, sino porque sugería un método para abordar un problema y él

esperaba que el método llegara a tener gran utilidad tanto para los genetistas como para los bioquímicos.

Para 1945, Beadle tenía a sus espaldas el logro sustancial de los trabajos sobre el hongo Neurospira crassa, demostrando la estrechez de la relación entre los genes y el metabolismo. Ahora Beadle creía que podía especular sobre la manera en que los genes determinaban sus productos finales. El producto inmediato era una hormona, una enzima o sencillamente una proteína. ¿Cómo determinaba el gen este producto? Beadle proponía un modelo semejante al de especificidad antigénica. A este respecto, Beadle escribía: "dado que se conocen muchos casos en que las especificidades de antígenos y enzimas parecen guardar relación directa con las especificidades de los genes, también parece razonable suponer que la función primaria y posiblemente exclusiva del gene consista en dirigir las configuraciones finales de las moléculas proteínicas".

Beadle suponía que cada proteína específica del organismo poseía una configuración única que era copiada de la de un gen, toda enzima cuya especificidad dependa de una proteína estaría sujeta a modificaciones o inactivaciones según las mutaciones del gen. Esto significaría que la reacción normalmente catalizada por la enzima en cuestión sufriría modificaciones en su velocidad o en sus productos, o bien resultaría bloqueada por completo. (Beadle, 1945).

Para Beadle lo anterior no significaba que los genes "fabricaran" directamente a las proteínas. Independientemente de la precisión con que se sintetizaran las proteínas y de cuáles fueran sus componentes, esos componentes deberían ser sintetizados a través de reacciones enzimáticamente catalizadas y a su vez dependientes del funcionamiento de muchos genes. Así pues, en la síntesis de una sola molécula de proteína, probablemente intervendrían como mínimo varios

cientos de genes. Pero la molécula final corresponde a uno de ellos y éste es el gene que se podría visualizar como elemento de control primario. (Beadle, 1945).

David Bonner, colaborador de Beadle, en 1945 se expresaba de manera similar en una reunión en Cold Spring Harbor, diciendo: "actualmente existe el acuerdo prácticamente general de que la nucleoproteína es un componente fundamental de la estructura de los genes. Es de esperar por lo tanto, que los genes como otras proteínas, posean configuraciones específicas, correspondiendo sólo a un gene la configuración características del mismo. Estas consideraciones sugieren la idea de que el gene controla las reacciones bioquímicas imponiendo a las enzimas directa o indirectamente una configuración específica fundamental para las reacciones específicas". (Bonner, 1946).

Esta concepción de la función del gen, representaba a los genes actuando de manera específica, determinando la conformación de proteínas concretas (concepción de encaja todavía en la teoría de la síntesis de proteínas), porque el gen determina la secuencia de aminoácidos y esta secuencia determina la conformación.

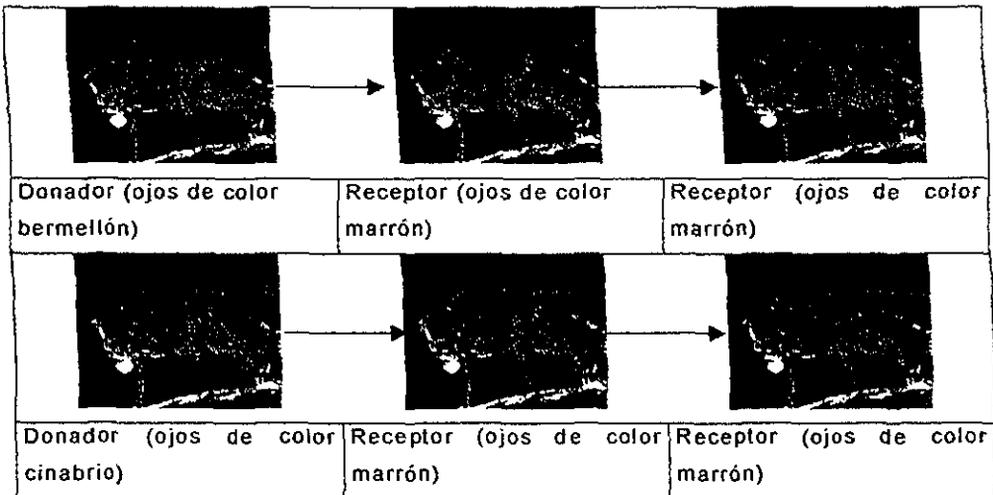
Pero hay que aclarar que en el análisis de Beadle de 1945, no aparece mención alguna de la secuencia de aminoácidos y la distinción entre el ensamblaje de subunidades y la conformación definitiva, tal y como hoy en día representamos este proceso. Beadle sostenía la conclusión (ahora considerada errónea), de que el gen es un tipo especial de enzima y, por lo tanto, que su acción específica residía en su componente proteínico.

En efecto, Beadle en 1945 escribía: "partiendo de diversas fuentes de evidencia se piensa que los genes están compuestos de

nucleoproteínas, o que al menos éstas se encuentran entre sus componentes fundamentales. Poseen la facultad de duplicarse a sí mismos, lo que desde luego hace en toda división celular. La forma en que se lleva a cabo esta autoduplicación constituye uno de los misterios de la biología sin resolver, pero se piensa que lleva consigo cierto mecanismo de copia gracias al cual el gene dirige el ensamblaje de los elementos componentes de los genes hijos. Si es verdad que se trata de un mecanismo así y que los genes tienen componentes proteínicos, entonces la reproducción del gene es un caso especial de la síntesis de proteínas". (Beadle, 1945, p. 660).

Figura No. 1

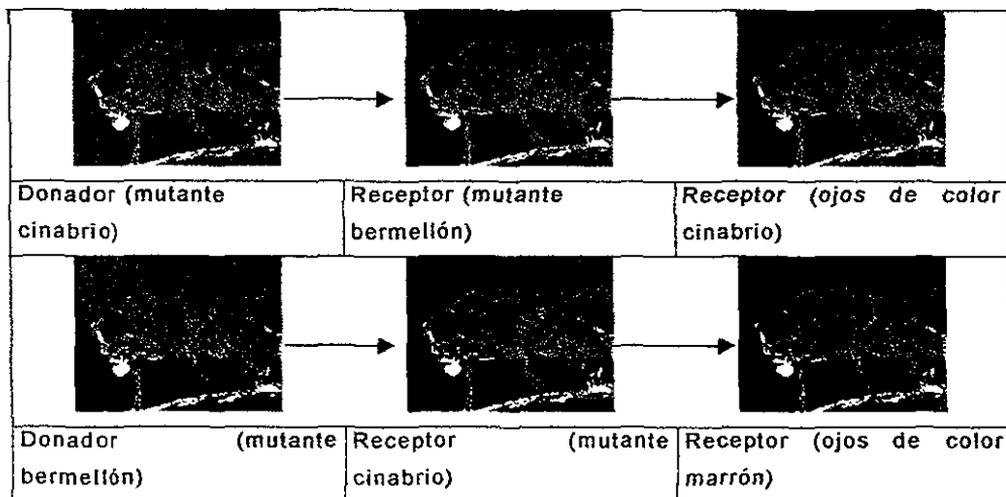
Transplante del disco imaginal de mutantes de Drosophila mela nogaster con ojos color bermellón y cinabrio a individuos silvestres con ojos marrones.



Al transplantar el disco imaginal del ojo compuesto de individuos de los tipos bermellón y cinabrio a individuos silvestres, se observó que el bermellón y el cinabrio se transformaban en color marrón (tipo silvestre)

Figura No. 2

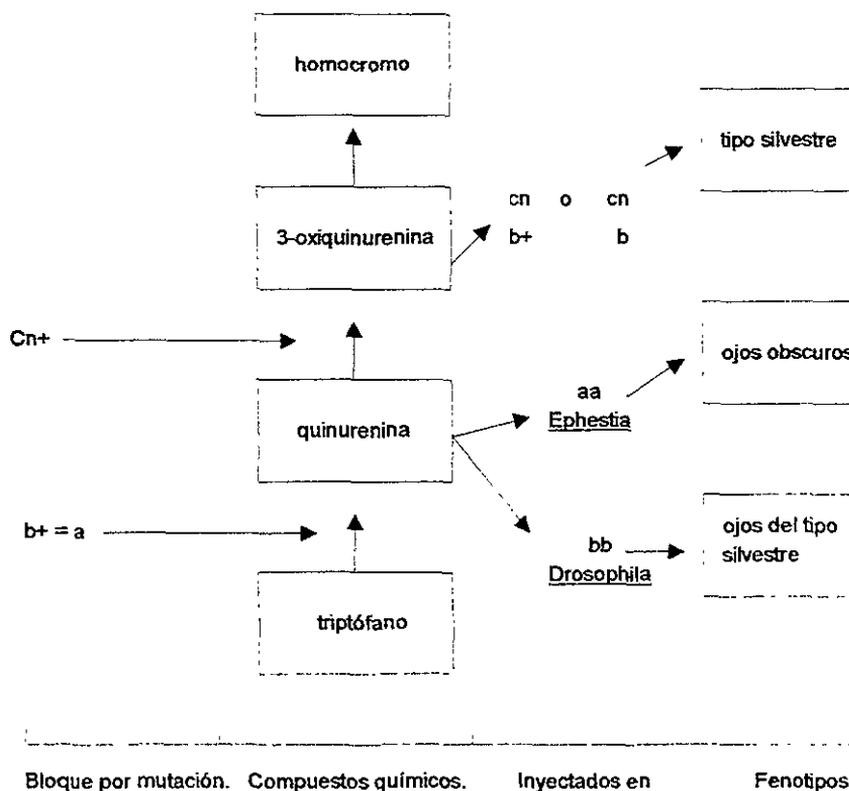
Transplante del disco imaginal de mutantes del tipo cinabrio a individuos del tipo bermellón, y de mutantes bermellón a individuos del tipo cinabrio.



En éste transplante recíproco, el ojo color bermellón no ejerce ninguna influencia sobre el tejido transplantado de color cinabrio; en cambio, el receptor cinabrio transformó al transplante bermellón en tipo silvestre.

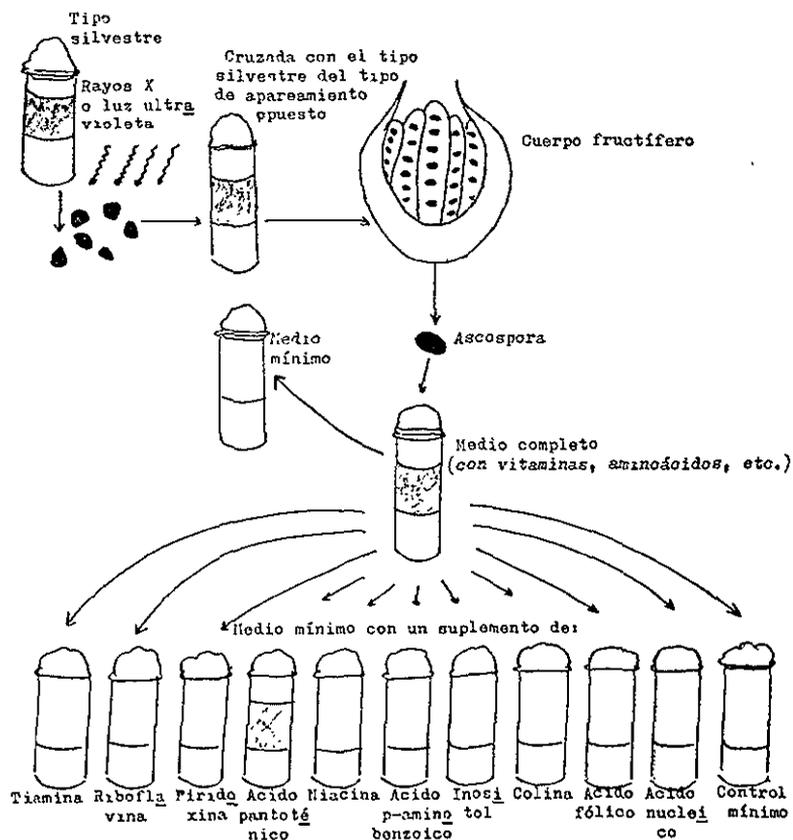
Figura No. 3

Interpretación de la acción de los genes mutantes bermellón y cinabrio en *Drosophila melanogaster* y en *Epehestia Kühniella*.



Los pasos metabólicos bloqueados en los mutantes se indican a la izquierda y los efectos en las dos especies a la derecha. (Sinnott, Dunn y Dobzhansky, 1977)

Figura No. 4.

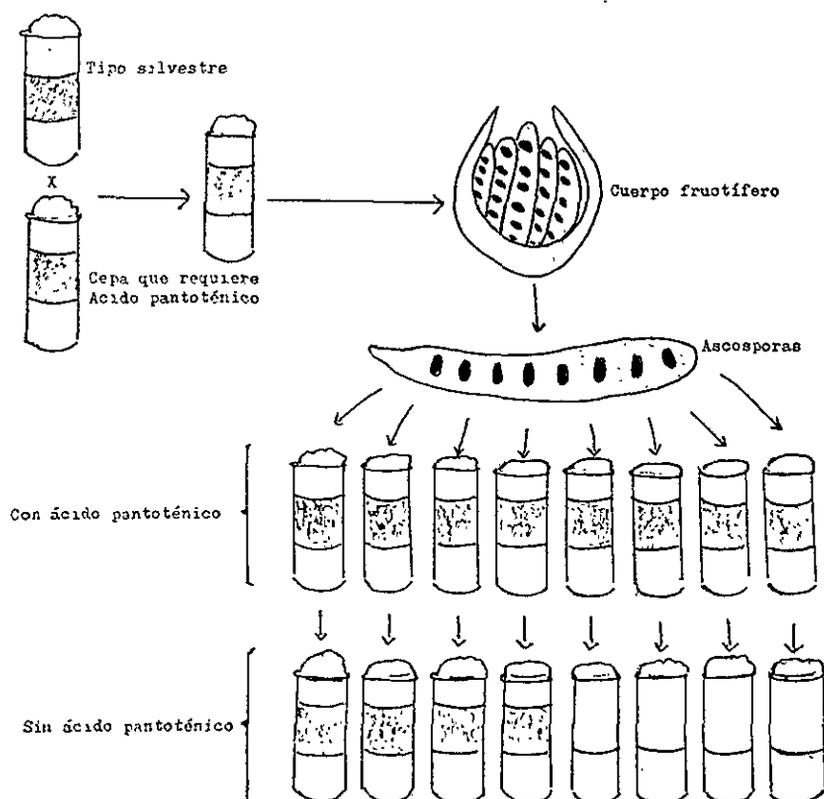
Método para detectar mutaciones nutricionales en Neurospora crassa.

Los conidios se exponen a mutágenos y se cruzan con el tipo silvestre. Las esporas haploides se cultivan entonces en un medio completo. El no crecer en un medio mínimo indica un defecto de crecimiento.

Se investiga la naturaleza del defecto haciendo crecer a la cepa deficiente en un medio mínimo con diversos nutrientes añadidos, tales como aminoácidos y vitaminas. En el ejemplo, la cepa puede crecer en un medio mínimo con un suplemento de ácido pantoténico. (Ayala y Kiger, 1984).

Figura No. 5

Método para confirmar el carácter genético de un defecto de crecimiento.



Una cepa de crecimiento deficiente aislada por el método mostrado en la figura No. 4, se cruza con el tipo silvestre. Sus esporas haploides se colocan luego en un medio mínimo. La observación de que cuatro esporas son capaces de crecer y cuatro incapaces de hacerlo, confirma que el defecto se debe a una mutación genética. (Ayala y Kiger, 1984).

Figura No. 6

Algunos de los mutantes nutritivos identificados en Neurospora crassa.

| Mutante | Grupo de enlace | Compuesto requerido | Compuesto acumulado |
|---------|-----------------|--|-------------------------------------|
| 37401 | V | Inositol | |
| 3416 | I | Acido nicotínico | Acido quinolínico |
| 5531 | IV | Acido pantoténico | |
| 1633 | IV | Acido <i>para</i> -aminobenzoico | |
| 7803 | II | Piridoxina | |
| 51602 | I | Riboflavina | |
| 18558 | III | Tiamina | Pirimidina |
| 9185 | I | Tiamina | Tiazol y Pirimidina |
| 30837 | | Arginina, citrulina, ornitina | |
| 33442 | | Arginina, citrulina | |
| 36703 | | Arginina | |
| C84 | | Histidina | Varios |
| 33757 | III | Leucina | |
| 15069 | I | Lisina | |
| 38706 | I | Metionina | |
| H98 | | Metionina, homocisteína | Cistationina |
| 36104 | V | Metionina, homocistina, cistanionina | |
| 9666 | IV | Metionina, homocistina, cistationina | Homoserina y treonina |
| 21863 | III | Prolina | |
| H605 | III | Serina, glicina | |
| 10575 | III | Triptófano, indol | Acido antranílico |
| 35203 | I | Adenina, hipoxantina | Pigmento púrpura |
| 39502 | IV | Uracilo, citidina | Acido orótico, orotidina |
| 37301 | IV | Uracilo, citidina | Acido pirúvico, fosfato ácido lábil |
| Y2492 | | Acido acético, alcohol etílico | |
| S-11 | | Acidos grasos oleico, linoleico y linolénico | |

Capítulo IV.

LA ACEPTACIÓN DEL TRABAJO DE BEADLE Y TATUM

4.1 *El slogan "un gen – una enzima"*

Beadle planteó una estrategia experimental con Neurospora crassa basándose en los conocimientos obtenidos en sus experimentos de transplante con Drosophila. Beadle razonaba que un gen mutante inducido con rayos X sería incapaz de sintetizar alguna sustancia esencial y no podría crecer en un medio mínimo sin suplementos, y se tenía que establecer una correlación entre el gen mutante y la incapacidad para sobrevivir del organismo como resultado del bloqueo de una síntesis particular de una ruta metabólica para poder hablar bioquímicamente de la incapacidad sintética del gen mutante. No cabe duda que Beadle planeó su experimento con elegancia y simplicidad. (Kay, 1989).

Con una excepcional buena suerte, meses después Beadle y Tatum aislaron mutantes de Neurospora crassa. En octubre de 1941, en los *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Beadle y Tatum reportaron haber aislado tres mutantes de Neurospora crassa. El primer mutante era incapaz de sintetizar vitamina B1, el segundo no sintetizaba vitamina B6 y el tercero no podía sintetizar el ácido paraaminobenzoico. Estos resultados le indicaron que además de que Neurospora crassa era un sistema efectivo para el análisis genético, este nuevo método podía introducirse para ser usado en el aislamiento

de mutantes no aptos para sintetizar una sustancia dada. Beadle predijo que al tratar con un gene que tiene como función la regulación de una reacción química específica, se podría conocer así el mecanismo de los genes para regular el desarrollo y las funciones fisiológicas. La importancia teórica de estos razonamientos fue considerada mucho después, al descubrir el potencial inmenso de este nuevo sistema experimental. De hecho, se pudo construir un enorme banco de mutantes de Neurospora crassa gracias al trabajo de Beadle y Tatum (Figura N° 6). (Beadle y Tatum, 1941).

Parecía que la hipótesis “un gen – una enzima”, se convertía en uno de los pilares del conocimiento de la naciente biología molecular.

Es interesante examinar el proceso de construcción de esta idea, así como su posterior validación. Beadle, dos décadas después de realizados estos experimentos, escribió que el trabajo que realizó en Neurospora crassa fue el responsable de la hipótesis de “un gen – una enzima”. Beadle no podía explicarse cómo él y Ephrussi, teniendo casi desarrollado este concepto durante el curso de su trabajo con el pigmento de los ojos de Drosophila, no lo hubieran podido entonces formular.

Sin embargo, es dudoso que durante los años treinta Beadle tuviera una visión clara de lo que era la relación entre genes y enzimas. Es verdad que el controversial tópico de los genes y las enzimas lo habían intrigado antes de los años cuarenta, llegando a interesarse de manera importante en la comprensión de la expresión fenotípica, pero también es cierto que los debates acerca de la acción química de los genes, en relación con la acción enzimática; asumieron en este momento mucha importancia, tornándose un asunto urgente que resolver.

Las conferencias en torno a la relación entre los genes y las enzimas, impartidas por J. B. S. Haldane durante su estadía en el Caltech en los años treinta, aportaban interesantes perspectivas. De hecho, Haldane tenía un aprecio profundo por el trabajo de Archibald Garrod, "Inborn Errors of Metabolism", publicado en 1909 ver (Capítulo 1.1.3); en donde el establecimiento de la relación "un gen – una enzima" ya estaba implícito. Ahora bien se desconoce con certeza si Haldane discutió con Beadle el trabajo de Garrod. Sin embargo, es indudable que las investigaciones de Garrod fueron la guía central del trabajo de Beadle cuando sus conclusiones experimentales convergieron en la hipótesis de que un gen sencillo regulaba una reacción química que era regulada a su vez por una enzima. (Kay, 1993).

A finales de 1944, en un largo reporte a la Fundación Rockefeller, en el que describía los aspectos conceptuales y técnicos de la investigación de Neurospora crassa, Beadle presentó dos conclusiones principales: la primera fue que la síntesis de los constituyentes esenciales de la materia viva estaba bajo control genético, y la segunda fue que los requerimientos de los animales evolucionados en cuanto a vitaminas y aminoácidos, son el resultado de mutaciones genéticas ocurridas durante la evolución de las especies. A este aspecto Beadle escribió: "sería ir más allá de nuestra presente información, intentar sugerir un mecanismo de este control". Además, Beadle afirmaba: "parece que la acción primaria del gen tiene que ver con la síntesis de las enzimas, las cuales dirigen la actividad química de la célula; existe además una correspondencia uno a uno entre el gen y la reacción química. Los estudios de los mutantes de Neurospora hacen esto posible al asignar series definitivas de reacciones a miembros individuales en una serie de genes monoalélicos". Como Beadle había predicho en 1941: "reducir el gen al efecto de una simple reacción química, era el primer paso para el análisis de las bases fisiológicas de la acción del gen"

Según Beadle, hasta esta etapa "pudo observar" la relevancia del trabajo de Garrod (el lazo entre el desorden metabólico llamado alkaptonuria y el carácter recesivo mendeliano, y además, la ausencia de una enzima específica reguladora en el rompimiento del aminoácido tirosina). En una carta dirigida a la Universidad de Cambridge en 1944, Beadle enfatiza el desconocimiento que hasta ese momento se tenía de Garrod, como descubridor de la genética bioquímica. (Kay 1989).

Después de Garrod, esta relación había sido propuesta también por Rose Scott Moncrieff en 1936 y Sewall Wright en 1941; si bien Beadle y Tatum fueron los primeros en aportar pruebas experimentales.

Aunque Beadle negó haber sido influenciado por el trabajo de Garrod durante los años treinta, lo más probable es que él conociera las investigaciones de este autor desde esa época. Aún así, Beadle afirmó que fue a principios de los años cuarenta cuando redescubrió el "olvidado" trabajo de Garrod. Sin embargo, de acuerdo a Kay (1993), al decir esto Beadle no hacía más que intentar legitimar sus propios descubrimientos de manera que al asentar un precedente tuviera un marco histórico para sus propias contribuciones a la genética bioquímica. En 1947, en un artículo titulado "Genes and Biological Enigmas" Beadle acomoda la idea de la teoría autocatalítica de la vida con las ideas de Morgan y Sturtevant respecto a que las enzimas son solamente productos de los genes. (Beadle, 1948).

Probablemente el trabajo de Beadle sea un ejemplo del uso exitoso de estrategias de investigación reduccionistas en la biología. Contrariamente a las estrategias de sus predecesores genetistas bioquímicos, que trabajaban con organismos más complejos, Beadle reflejó su interés en la biología molecular planteando problemas fisiológicos que se pudieran trabajar con microorganismos. Aún así,

dentro de su metodología reduccionista, Beadle no subestimó la inmensa complejidad del aparentemente sencillo Neurospora crassa. Precisamente gracias a este hongo, Beadle pudo hacer diversas síntesis e inferir que las vías metabólicas eran complejas e incluían la síntesis de un buen número de enzimas; él analizaba las estrictas correlaciones entre la función del gen y una mutación específica.

En su diseño experimental Beadle hizo a un lado también la necesidad de tomar una postura respecto del problema de la naturaleza química del gen. Él enfocó el problema de la relación entre los genes y las enzimas desde el punto de vista genético, y después, mediante el trabajo bioquímico, caracterizó un sistema relativamente simple. Beadle introdujo el concepto del intermediario químico en los pasos de la cadena del gen y sus productos y no se resistió a la tentación de reducir la expresión del gen a una reacción enzimática. (Kay, 1993).

Indudablemente Beadle conceptualizaba a los organismos como un biólogo, y sus esfuerzos para estudiar los sistemas biológicos mediante la experimentación y el uso de nuevas técnicas lo situaron en los años cuarenta en la vanguardia intelectual.

4.2 El Contexto Institucional y la Ruptura de Barreras Disciplinarias

Cuando Beadle invita a Edward Tatum a trabajar con él en la Universidad de Stanford, contra el pronóstico de sus colegas académicos de la Universidad de Wisconsin, Tatum acepta por considerar que su trabajo podía favorecer el desarrollo de la genética bioquímica. Es de señalar la valentía de la decisión de Tatum, ya que dada la distancia que en ese momento existía entre los genetistas y los

bioquímicos, reunir a estas dos formas de pensamiento no era una tarea fácil, y de hecho implicaba *correr riesgos profesionales*.

En la segunda parte de los años cuarenta, una vez que la guerra terminó, Beadle surgió como una autoridad en el nuevo campo de las reacciones bioquímicas en los procesos fisiológicos. Como un hábil constructor de una disciplina, fue muy cuidadoso de las innovaciones institucionales de su programa y tomó parte activa en ellas. En 1945, al ser invitado a la Harvey Lecture, preparó el discurso "The Genetic Control of Biochemical Reactions", en el cual promovió el rescate de su programa de investigación deplorando la falta de interacción entre la genética y la bioquímica. Para Beadle esta falta de interacción consistía en la más desafortunada consecuencia de las limitaciones de la mente humana y de la inflexible organización de las grandes instituciones de enseñanza; Beadle decía: "el gen no reconoce esta distinción en las formas del pensamiento, por lo menos no lo minimicemos".

A pesar de haber sido rechazado por la Sociedad Americana de Química, por no tener una preparación formal como químico, Beadle desarrolló una sólida preparación académica en esta área. Según el testimonio del oficial de la Fundación Rockefeller, quien asistió con Beadle a la Harvey Lecture en la Academia de Medicina en Nueva York, éste recibió una gran ovación. Beadle, concluyó su discurso diciendo: "hace poco tiempo unos estudiantes traspasaron una puerta en la cual estaba escrito "Laboratorio de Genética", y otros estudiantes traspasaron otra puerta en la que decía "Laboratorio de Bioquímica"; deseo que a partir de hoy sólo exista una puerta y que la genética y la bioquímica sean una sola materia. (Beadle, 1945).

Sin embargo, no todos los investigadores respondieron favorablemente a las innovaciones propuestas por Beadle, de hecho, la crítica que hizo a la separación institucional e intelectual entre la genética y la

bioquímica al parecer fue la razón de la tímida recepción que algunos investigadores dieron a sus innovaciones. (Kay, 1993).

Cuando en 1945 Beadle asistió a las Vigésimocuarta Sigma XI Lectures en los Estados Unidos, encontró a muchos investigadores que creían en la nueva interpretación de que los genes controlan a las enzimas que a su vez regulan las reacciones químicas. (Beadle, 1974).

Norman Horowitz recalca que muchos genetistas preferían la visión antigua del gene pleiotrópico, esto es, autosuficiente en sus acciones. Para ellos, limitar la influencia de la determinación hereditaria simplemente a la regulación de las reacciones químicas, era un intento de minimizar al gen. Algunos fisiólogos y bioquímicos consideraban que un *microorganismo* no era representativo de la fisiología humana, y estimaban que la química de Neurospora crassa era muy simple para establecer una regla general; también afirmaban que la hipótesis de Beadle y Tatum tanto en sus bases como en su metodología eran poco confiables. Max Delbrück, por su parte, afirmaba que las conclusiones de Beadle y Tatum estaban basadas únicamente en las mutaciones que soportaban la teoría.

De acuerdo con Horowitz, las críticas publicadas en este tiempo no eran nada comparadas con las objeciones no publicadas, pero dichas a fines de los cuarenta y principio de los cincuenta en el Symposium de Cold Spring Harbor. (Horowitz, 1979).

No todo fue negativo sin embargo, ya que algunos aspectos sobresalientes de la investigación de Beadle y Tatum fueron apreciados rápidamente. La importancia del descubrimiento de las mutaciones que bloquean la síntesis de vitaminas y aminoácidos era hasta este momento desconocida, y además, sus logros en el trabajo interdisciplinario y la combinación de teorías y técnicas de laboratorio

de genética y bioquímica fueron, asimismo, aplaudidas por muchos científicos, entre ellos los de la Fundación Rockefeller.

También, podemos afirmar que Beadle fue pionero de la óptica proteínica del gen, y estaba familiarizado con la correlación entre la mutagénesis y la absorción de rayos ultravioleta por los ácidos nucleicos; más aún él había revisado muy atentamente el trabajo Avery sobre "el principio transformador". (Hotchkiss, 1979).

En la última parte de los cuarenta, Beadle habla de moléculas proteínicas gigantes como la llave de la replicación genética y viral, de la síntesis de antibióticos y de la síntesis de enzimas; su postura de la óptica proteínica del gen concordaba muy bien con el programa de investigación de Linus Pauling.

En 1945, Pauling, quien era miembro del Institute Board of Trustees, discutía el futuro de la biología molecular del Caltech con los oficiales de la Fundación Rockefeller. Él jugaría un papel decisivo en el proceso que culminó con el liderazgo de Beadle en el área de la biología molecular en el Caltech, sustituyendo a Morgan.

No era tarea fácil traer de regreso a Beadle al Caltech a pesar de los lazos profesionales y personales que lo unían a varios miembros de la División de Biología. En ese entonces, Beadle lideraba un programa de genética bioquímica en la Universidad de Stanford que lo mantenía al margen de los problemas (sobre todo económicos) existentes en la División de Biología del Caltech.

En ese momento no sólo estaba en peligro la División de Biología, sino también la División de Química y la integridad del Caltech. Pauling y Millikan pensaban que con la División de Biología bajo el liderazgo de Beadle, y en cooperación con la División de Química que lidereaba

Pauling, la Fundación Rockefeller invertiría grandes cantidades de dinero en la investigación en biología molecular.

Contrariamente al Caltech, la Universidad de Stanford no tenía mecanismos de desarrollo y cooperación interdepartamentales. De hecho, el fuerte individualismo que operaba ahí se había transformado en un peligro institucional y las investigaciones en biología molecular se encontraban bajo la supervisión del Departamento de Bioquímica. La futura expansión de la genética biológica en la Universidad de Stanford estaba en peligro por la tensión generada entre los Departamentos de Genética y Bioquímica. Estos obstáculos, junto con los grandes estímulos económicos ofrecidos a Beadle por Caltech (con el apoyo financiero de la Fundación Rockefeller), lo decidieron a regresar a esta Institución en octubre de 1945. (Kay, 1993).

En el Caltech existían proyectos de colaboración entre genetistas, bioquímicos, biólogos y fisiólogos; había un espíritu de colaboración. Estudiantes de posgrado, postdoctorado y visitantes escolares trabajaban en cercanía con miembros de varios Departamentos, incluyendo el de Biología. En el Caltech no existían obstáculos institucionales para la cooperación interdisciplinaria; los graduados de Caltech como Bonner y Horowitz (quienes trabajaron con Beadle en la Universidad de Stanford), habían sido formados en la disciplina de la cooperación. De hecho, estos dos investigadores emigraron con Beadle al Caltech.

Beadle pensaba que con una entusiasta cooperación de Pauling, la oferta de dirigir la División de Biología y sustentados por los recursos de la Fundación Rockefeller, se podía crear un programa de biología molecular de nivel mundial. Así, considerando las oportunidades científicas de la postguerra, Beadle y Pauling pudieron diseñar un esquema cooperativo basado en la investigación de las moléculas

biológicas gigantes como genes, enzimas, anticuerpos y virus; un programa de biología molecular con un alcance sin precedentes. (Kay, 1993).

La historia contemporánea ignora los preceptos institucionales y sociales contenidos en el trabajo de Beadle y Tatum. La complejidad política detrás del desarrollo de su ciencia interdisciplinaria fue el punto central de su éxito. Beadle fue muy cuidadoso desde el principio con el potencial comercial de su trabajo e impulsó los lazos entre la genética bioquímica pura y la aplicada; este factor sin duda lo hizo el líder ideal para el programa de biología molecular en el Caltech.

4.3 Las Recuperaciones del Trabajo en *Neurospora*: Ciencia, Industria y Militarismo

Un elemento muy importante del contexto histórico en el cual se desarrolló el trabajo de Beadle, al que no me he referido, es el relativo a la importancia de la Segunda Guerra Mundial y al ambiente entre las dos guerras, que ciertamente tuvo una influencia en la determinación de prioridades tanto para las autoridades del Caltech como de la Fundación Rockefeller.

A finales de los años treinta se agudizaron los conflictos entre las grandes potencias, lo que conllevaría a la Segunda Guerra Mundial. En ese tiempo, en los Estados Unidos se vivía una etapa de preparación para la guerra; los laboratorios de las ciencias de la vida eran convertidos en verdaderos recintos fortificados por proyectos de guerra principalmente en las áreas de farmacología y bioquímica.

La producción de medicamentos (entre ellos la penicilina), estaba coordinada por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos en cooperación con firmas farmacéuticas comerciales, como Merck and Company, E. R. Squibb and Sons, Sharp and Dohme, y Lederle Laboratories. (Kay, 1993).

Mientras que la mayoría de las investigaciones en las ciencias físicas tenían que organizar sus proyectos de importancia para la guerra bajo el auspicio de la Office of Scientific Research and Development (OSRD), los investigadores de las ciencias de la vida se alineaban en el Committee on Medical Research (CMR). Estas instituciones incrementaban los contratos gubernamentales, los cuales eran planeados para seis a doce meses; sin embargo la investigación básica en las diversas áreas de las ciencias de la vida estaba siendo gradualmente reducida.

En octubre de 1941, Beadle y Tatum publicaron sus resultados preliminares sobre Neurospora. Tanto Beadle como Tatum siempre estuvieron preocupados por la importancia práctica de la genética bioquímica de este hongo, así como su utilidad práctica en otras áreas como la nutrición y la farmacología. Los métodos delineados por ellos en 1941, fueron la valoración de las técnicas con el objeto de descubrir sustancias adicionales de importancia fisiológica. De un medio de cultivo completo se puede obtener Neurospora normal silvestre, si bien al ocurrir una mutación la habilidad para sintetizar determinada sustancia se perdería, y esto era útil para el aislamiento de sustancias definidas. Por supuesto que estas sustancias podían no ser conocidas previamente, aunque fueran esenciales para el crecimiento del organismo, y esto sugería que se podrían descubrir incluso aminoácidos adicionales de los que ya estaban reportados. Indudablemente, el incremento de las necesidades comerciales y militares de esta época de

guerra, habían influenciado la estrategia de las investigaciones de Beadle. (Kay, 1993).

Para Beadle, en 1941 el programa de Neurospora apenas había comenzado. Él ambicionaba una investigación a gran escala del problema fundamental de la relación entre genes y enzimas. Este trabajo, sin embargo, era a largo plazo e implicaba un elevado costo económico. El trabajo de obtención de mutantes era muy laborioso, y la tarea de probar sistemáticamente el efecto de la deficiencia de varias vitaminas y aminoácidos requería de cooperación y del aporte de mucho material; por lo que el proyecto de investigación programado necesitaba de facilidades en cuanto a instalaciones y recursos económicos. En este año, Beadle explicaba a la American Philosophical Society que se habían obtenido y probado durante el año anterior 34000 cultivos de Neurospora crassa; de estos miles de cultivos, sólo se habían aislado 102 mutantes. Describió que se requerían 20000 intentos para encontrar un mutante sencillo adicional, y el alcance de cada mutante era complementado investigando la reacción química correspondiente, ya que cada mutante constituía una pieza fundamental en el rompecabezas biosintético. (Beadle, 1941).

Entonces Beadle recurrió a la Fundación Rockefeller con el objeto de obtener el soporte financiero para su investigación, reportando que desde su publicación inicial él y Tatum habían más que duplicado el número de mutantes que jugaban un papel en la síntesis biológica. Entre estos nuevos mutantes, uno tuvo la habilidad de sintetizar lo que aparentemente era un nuevo y desconocido aminoácido, al cual le dio el nombre de neurosporin (Beadle, 1941).

Además de la significación del trabajo, un número de mutantes aislados, al ser incapaces de sintetizar determinadas sustancias, provocaba la acumulación de vitaminas y aminoácidos de importancia

para la aplicación de bioensayos. El rango de crecimiento de cada mutante estaba en función de la concentración de la sustancia en la cual era deficiente. Ahora bien mediante la desecación del micelio se producía un periodo específico de crecimiento, y por seguimiento del rango de progresión de la frontera micelial sobre la superficie del agar, se obtenía un estimado de la concentración de la sustancia específica del micelio. De esta manera una de las ventajas de los métodos usados con Neurospora, era la eficiencia y la especificidad de la respuesta. Los ensayos con Neurospora eran entonces atractivos para las casas comerciales en la manufacturización de vitaminas y aminoácidos y, sobre todo, parecían especialmente atractivos para una situación de guerra en la producción de antibióticos y otros medicamentos. (Beadle, 1941).

Mientras progresaba en su investigación básica, Beadle había sido contactado por la industria de alimentación y de fármacos; para ellos no habían pasado inadvertidas las contribuciones que a estas áreas podría hacer esta investigación.

En 1941, Merck and Company le manifestó a Beadle su interés en financiar la búsqueda de mutantes de Neurospora debido a la eficacia de las nuevas técnicas de cultivo analítico y a la precisión de los métodos de ensayo para la obtención de vitaminas y aminoácidos. Aunque aparentemente Beadle no estaba de acuerdo con los proyectos de cooperación con las casas comerciales, visitó a Merck and Company en Nueva Jersey con el propósito de explorar sus posibilidades; y comprendió que Merck and Company no era capaz de apoyar el proyecto de Neurospora entero. Merck le propuso entonces darle fondos de asistencia sin intervenir en sus derechos de patente, a cambio de obtener información que les diera ventajas sobre sus competidores. (Kay, 1993)

Para la Fundación Rockefeller la relación entre la investigación básica y su aplicación práctica, además de los derechos de patente, eran asuntos potencialmente delicados. La Fundación le sugería a Beadle encontrar asistencia externa para poder impulsar su trabajo y darle rapidez. Beadle pensó que podría hacer un trato con la Fundación Rockefeller (con la que tendría libertad para trabajar en la publicación de sus resultados), su segunda opción era la Research Corporation y la tercera Merck and Company.

En 1942, Beadle se introdujo en un proyecto cooperativo con Merck and Company, mas tarde incluyo a Sharp and Dohme y a otras agencias comerciales. En 1943 la Research Corporation (que tenía lazos muy estrechos con la Office of Scientific Research and Development), que proporcionaba un gran financiamiento a las investigaciones en nutrición, le entregó a Beadle 10,000 dólares como apoyo para sus investigaciones. Beadle, además, recibió otros apoyos de la Research Corporation, consistentes en espacios de laboratorio y aporte de material y equipo. (Kay, 1993).

Los nuevos lazos entre la investigación de Neurospora y las industria de los alimentos y fármacos no sólo ampliaron las bases institucionales y financieras de Beadle, sino que también le dieron considerable peso al valor unitario de su programa. Estas conexiones no fueron sólo un testimonio de la importancia práctica de su programa, sino que al mismo tiempo impulsaron las áreas de la nutrición y la farmacología.

En 1942 la Fundación Rockefeller consideró que el programa de investigación de Beadle no sólo era importante para el futuro de la genética; sino que también tenía aplicaciones prácticas para la situación de guerra en que se vivía. El trato que Beadle hizo con la Fundación Rockefeller en ese año fue reforzado por un convenio con la American Philosophical Society y apuntalado por los diversos beneficios

de proyectos de colaboración con las industrias de comida y drogas; las cuales incluían a Merck and Company, The First Product Laboratory y The Western Regional of Agriculture. (Kay, 1993).

Aunque claramente Beadle se apegaba al peso práctico y comercial del trabajo de Neurospora, su principal interés personal y profesional era la correlación entre los genes mutantes y sus deficiencias bioquímicas. Al aprovechar la investigación pura y aplicada de Neurospora, Beadle sentó las bases que impulsaron la expansión de su trabajo. Su aplicación práctica tuvo gran demanda, y pronto varios laboratorios comenzaron a enviar gente a la Universidad de Stanford para que aprendiera las nuevas técnicas.

Beadle incorporó a su proyecto a varios estudiantes graduados de la Universidad de Stanford, a estudiantes del postdoctorado y a varios técnicos adicionales. Entre los nuevos investigadores que conformaron su grupo en 1942 destacan Norman Horowitz y David Bonner del Instituto Tecnológico de California, quienes fueron particularmente valiosos en el desarrollo de la nueva genética bioquímica. Habiendo estudiado durante los años treinta en la División interdisciplinaria de Morgan, Horowitz y Bonner fueron la primera generación de estadounidenses capacitados en la nueva biología fisicoquímica; ambos eran peritos en genética y bioquímica, y poseían una combinación única de preparación y talento, la cual brindaron a la investigación de Neurospora crassa. (Beadle, 1942).

Aunque en la primavera de 1942 Beadle seguía manifestando su interés primordial por la investigación básica, las presiones de relevancia militar comenzaban a manifestarse. Beadle preguntó a la Fundación Rockefeller si no tenía inconveniente para que la Nutrition Foundation Inc. (constituida por quince manufactureras nacionales y guiada por Karl T. Camton), costeara la estancia de sus investigadores en la

Universidad de Stanford por dos años. Al tener la aprobación de la Fundación Rockefeller, la Nutrition Foundation proporcionó a Beadle una suma sustancial de dinero para becas y equipamiento; este aporte facilitó el avance de la aplicación de algunos aspectos de su programa. Para mantener su equipo y asegurar la continuidad de su programa, Beadle recurría al argumento de considerar la importancia que la adecuada nutrición tenía durante los tiempos de escasez de alimentos; él escribía: "la cuestión del contenido vitamínico de productos deshidratados tendrá ciertamente importancia en nuestro futuro cercano desde el punto de vista civil y comercial, con los mutantes de Neurospora se investigarán y controlarán la producción de vitaminas y aminoácidos". Estos argumentos fueron efectivos para atraerle fuertes sumas de apoyo financiero hasta la primera mitad de 1942. (Kay, 1993).

Durante el verano de 1942, el Local Draft Board decidió suspender su ayuda a los investigadores graduados y a sus asistentes, al alejarlos del reclutamiento forzado, por lo que Beadle perdió a un par de colaboradores; así que, la investigación básica entorno a Neurospora dejaba de ser considerada de interés primordial como proyecto de utilidad para la guerra. Beadle solicitó a la Fundación Rockefeller que intercediera y usar su influencia con el Local Draft Board a fin de evitar la suspensión del subsidio, pero la Fundación Rockefeller decidió mantener su política de no intervención en los tribunales locales del Draft Board.

En los meses siguientes Beadle viajó al este, invitado por el Subcommittee on Medical Nutrition del CMR para investigar la posibilidad de usar las instalaciones de sus laboratorios para estudiar problemas de nutrición relacionados con proyectos de importancia para la guerra. Como resultado de estos encuentros, se acordó que el programa de Neurospora podría ser de ayuda para varios proyectos del CMR. Se concluyó que las técnicas y resultados de la investigación de Beadle

ayudarían al trabajo de R. J. Williams sobre el ácido paraminobencénico, además al proyecto de Harvard sobre tétanos y el proyecto de E. N. Ballantyne sobre el gas gangrena. En noviembre de 1942, los dirigentes del Committee on Medical Research, clasificaron al proyecto de Beadle sobre genética bioquímica como esencial para los esfuerzos de la guerra; aunque no recibió un contrato gubernamental formal, se le garantizó oficialmente la asistencia en cuanto a personal, material y equipo. (Kay, 1993).

Esta declaración oficial proveía la garantía de que el programa de Beadle sobre genética bioquímica se desarrollaría sin demoras. De hecho, por no tener un contrato formal Beadle ganó una ventaja: él recibiría las facilidades y el tiempo casi equivalente a una investigación con contrato, pero sin compromisos.

Durante los años de la guerra, el grupo de Beadle aisló cerca de 80,000 esporas sencillas, de las cuales aproximadamente 500 eran incapaces de realizar síntesis esenciales, se conocieron mas de 100 genes mutantes que controlaban síntesis vitales que ya habían sido descritas, se establecieron varios mutantes que intervenían en la síntesis del complejo vitamínico B y de doce aminoácidos, la mayoría de éstos esenciales para el metabolismo de las ratas, perros y humanos. Se usaron, además, los mutantes de Neurospora para trabajar en bioensayos con ácido paraaminobencénico, inosito, piridoxina y leucina.

Con ninguna restricción, por no existir un contrato clasificado, y sin obligaciones con la industria de patentes, Beadle y sus colaboradores fueron libres de publicar los resultados de su experimentos en publicaciones científicas normales. Numerosos artículos y reportes sobre las técnicas de cultivo necesarias para los mutantes y los bioensayos aparecieron en el "Journal of Biological Chemistry", "American Naturalist", "Physiological Reviews", "American Journal of

Botany", "Journal of Bacteriology", y "Proceedings of the Natural Academy of Science". Las publicaciones que Beadle hizo a estas revistas hicieron notable su trabajo durante la guerra. (Kay, 1993).

Sin embargo, no todo lo que Beadle tocaba se convertía en oro. Aparentemente, el nuevo aminoácido putativo aislado, denominado por ellos "neurosporín", tenía esencial importancia en el proyecto del CMR sobre la toxina tetánica. Pero después de establecer su estructura y su síntesis, Beadle tuvo que reportar que el "neurosporín" era una mezcla de valina, isoleucina y leucina, y que su utilidad en la preparación de la toxina tetánica sólo era marginal. El falso aminoácido sólo representó un tropiezo menor, la profundidad del programa de Beadle radicaba en la contribución que podía aportar al conocimiento biológico: "elucidar la relación de los genes individuales, las reacciones metabólicas individuales y las enzimas que regulan estas reacciones".

Sin excepción, cada procedimiento bioquímico enfocado a la síntesis de un producto final (ya sea una vitamina o un aminoácido), comprendía el trabajo de realizar una serie de reacciones químicas. En cada caso una mutación específica del gene bloquea sólo una reacción química sencilla a lo largo de la vía metabólica, y por inferencia, la vía metabólica depende de la deficiencia de una enzima específica. El detalle de analizar la secuencia de pasos bioquímicos en un procedimiento de síntesis era algo confuso, ya que era necesario un número determinado de mutantes de Neurospora, para un procedimiento sencillo. A pesar de ello, dos importantes secuencias bioquímicas y sus correspondientes mutantes habían sido bien caracterizados al final de la guerra. Horowitz estableció que la síntesis del aminoácido arginina en mutantes de Neurospora procedía de la síntesis de dos precursores: la ornitina y la citrulina, y que cada paso en la secuencia de las reacciones estaba bajo control genético, o lo que es lo mismo, bajo control de una enzima específica. Más tarde, trabajando en el ciclo de

reacción, Horowitz mostró que las reacciones bioquímicas eran idénticas a las que ocurren en mamíferos vivos. El mismo acercamiento experimental fue usado para la síntesis del aminoácido triptófano. Bonner, por su parte mostró que el ácido antranílico y el indol eran productos intermedios en el procedimiento de síntesis del triptófano en mutantes de Neurospora, y que cada uno estaba bajo control genético. Estos descubrimientos establecieron por vez primera un mecanismo de síntesis del triptófano en este organismo. (Beadle y Tatum, 1944).

En este periodo, durante el último año de la guerra, los militares demandaron algunas de las ganancias de los trabajos hechos por Beadle. En febrero de 1944, Beadle contactó con el War Production Board a través de la Fundación Rockefeller. El War Production Board propuso que el grupo de Beadle otorgara facilidades en sus laboratorios para inducir mutaciones en Penicillium, con el fin de incrementar la producción de penicilina. Beadle se involucró muy poco en este proyecto por considerar que tenía muy poca relación con el trabajo de Neurospora, y pensaba que se retrasaría el progreso de la investigación básica que él pensaba impulsar. A pesar de todo, en este año de 1944, el fundamento conceptual del proyecto Neurospora y el fundamento disciplinario de la genética bioquímica ya estaban firmes. (Kay, 1994).

CONCLUSIONES

¿Por qué Neurospora? La Relevancia de un Sistema Biológico Adecuado

La historia de la biología moderna ha mostrado que en el desarrollo de las ciencias de la vida, la elección de un organismo como objeto de investigación para la resolución de un problema es primordial; esta elección afecta el curso del proceso experimental e interviene de manera decisiva en la evaluación de cualquier teoría biológica.

Se han documentado numerosos casos en los que la elección de un organismo no adecuado ha llevado a los investigadores a conclusiones que hoy consideramos equivocadas. Como ejemplo de lo anterior, recordemos las dificultades que atravesó Gregory Mendel cuando intentó demostrar la "Ley de Pisum" a Carl von Nageli aplicándola en el organismo partenogenético Hieracium, y consideremos también el experimento de Hugo de Vries desperdició al no comprender la mutación obtenida del estudio de Oenothera en la primera década de este siglo. Y para mencionar un ejemplo en un animal, recordemos el comportamiento de los cromosomas del nemátodo Parascaris equorum, en los que según Teodoro Boveri había descubierto una reducción cromosómica, cuando en realidad los cromosomas se encontraban intactos al nivel de la membrana nuclear de las células. Seguramente existen numerosos casos como éstos, en los cuales una elección desafortunada extravía al investigador. Asimismo, los historiadores han documentado el caso contrario (Burian, 1993).

Las características conocidas o no conocidas de un organismo que se use como objeto de investigación pueden afectar significativamente la

efectividad y el desarrollo de la investigación. No se puede hablar de características que hagan capaces o no a los organismos de ser utilizados como objeto de estudio, pues tomando en cuenta que todos los organismos son producto de un proceso evolutivo y que la evolución es un proceso ramificado con muchos pasos irregulares, los científicos no pueden estar seguros de que los organismos que hayan escogido sean viables y significativos para investigar los problemas que se hayan planteado, especialmente si esos problemas son muy generales.

El uso de un organismo en un área experimental, requiere de un amplio y detallado conocimiento de las características especiales del organismo y de las técnicas experimentales que se vayan a aplicar. Y aún así, este conocimiento podría no ser suficiente para permitir un programa experimental exitoso, ya que el conocimiento acerca de los organismos empleados como objeto de investigación debe abarcar un contexto más abierto que incluya su relevancia evolutiva y sus relaciones filogenéticas. Lo anterior debido a que la evaluación del conocimiento en biología es profundamente dependientes de nuestros conocimientos acerca de las peculiaridades de diferentes organismos y sus mecanismos bioquímicos, ciclos de vida, formas de sobrevivencia, estrategias de reproducción, etc. Esto es una importante consecuencia del proceso evolutivo y del hecho de que los organismos y sus linajes, contrariamente a lo que ocurre con las prácticas fundamentales de la física, siempre difieren unos de otros de manera significativa.

Con la colaboración de Ephrussi entre 1933 y 1937, Beadle pudo establecer un relación entre la producción del pigmento bermellón en los ojos de Drosophila y la presencia de varios aminoácidos e la dieta. Estos experimentos establecieron una interesante línea positiva entre la producción del ojo bermellón y el metabolismo de la mosca, sin embargo los resultados delinearon patrones inconsistentes. Los promisorios nuevos métodos de nutrición y análisis metabólico que

Tatum introdujo en sus investigaciones con Neurospora crassa no pudieron ser utilizados con Drosophila.

Es verdad que los genetistas de la generación anterior habían escogido a la mosca Drosophila como el organismo clásico e investigación para esta ciencia, y de hecho, de las muchas especies de organismos que han atravesado el umbral de los laboratorios de investigación a través de los años, casi ninguna especie lo ha hecho de un modo tan exitoso como Drosophila. Muy pocas relaciones entre los investigadores y sus objetos de investigación han sido tan fructíferas y largas; muy pocas especies "estándar" de laboratorio se han desarrollado de manera tan vasta, diversa y extensa. Los trabajos contemporáneos en genética del maíz no fueron, en cambio, tan fructíferos.

A pesar de que Drosophila melanogaster ha sido un espécimen de cultivo con el que se ha probado nuevo material experimental y práctico en caminos inexplorados, y que se trata de una de las especies mejor adaptadas a las condiciones de producción experimental, ya que es fuerte, prolífica, fácil de manipular, fácil de alimentar, capaz de soportar medios hostiles y fácil de recuperar de algún desastre de laboratorio, no proporcionó los resultados experimentales esperados por Beadle y Tatum. Drosophila melanogaster poseía dos grandes desventajas a juicio de Beadle: el no tener delimitadas sus condiciones de cultivo y desconocerse (en ese momento histórico), la totalidad de sus procesos metabólicos.

Estas complicaciones planteaban la urgencia de encontrar un nuevo sistema biológico en el que se pudieran definir de manera precisa tanto sus requerimientos nutritivos como la bioquímica de su metabolismo; el problema era localizar a un organismo apropiado tanto para estudios de genética como de embriología.

Durante su investigación Beadle decidió realizar el procedimiento experimental de manera inversa, trabajando primero con el resultado bioquímico, es decir, con la reacción química conocida; y luego trabajó con el gene. Para lo anterior, necesitaba encontrar un sistema biológico bioquímicamente definido, con sus mecanismos genéticos bien caracterizados, que fueran además fáciles de razonar, de analizar y de controlar. Un sistema en el que se pudiera inducir mutaciones al azar de un bloque de reacciones bioquímicas en el metabolismo de un organismo, reacciones bioquímicas que pudieran ser fácilmente identificadas y asociadas con una mutación específica; Neurospora crassa cumplía con estas especificaciones excepcionalmente bien.

Sin duda la idea de Beadle de usar a Neurospora crassa para sus investigaciones en la genética bioquímica no fue un hecho casual, ya que él había trabajado con Neurospora anteriormente en sus días de estudiante en la Universidad de Cornell y también había seguido e cerca el proyecto de Carl Lindegren. Lindegren y su esposa, con el apoyo de Dodge, Anderson, Bridges y Sturtevant, habían investigado en los años treinta la genética de Neurospora. Sus investigaciones demostraron algunas de las ventajas de trabajar con este hongo: sus células haploides poseen un juego sencillo de genes, su ciclo de vida es relativamente corto (de diez días entre generaciones sexuales), y de la unión sexual de dos células haploides de tipos opuestos se producen cuatro esporas haploides, cada espora se divide por mitosis obteniéndose como resultado ocho esporas genéticamente idénticas en las cuales se puede hacer con facilidad un análisis ordenado de la secuencia de genes. Con el microscopio, se pueden separar las ocho esporas y sembrarlas en medios de cultivo en donde tienen una rápida reproducción asexual

La uniformidad y la rapidez de la reproducción de Neurospora se magnificaron a los ojos de Beadle, al compararla con la complicada reproducción de Drosophila.

Las ventajas de Neurospora crassa, señaladas por Lindergren en su trabajo, le indicaron a Beadle que este organismo constituía un sistema sumamente atractivo para probar sus investigaciones en la genética bioquímica.

Indudablemente para el sistema experimental de Beadle y Tatum la elección de Neurospora crassa como objeto de investigación fue exitosa y adecuada. De hecho el establecimiento de la hipótesis luego convertida en slogan, de "un gen – una enzima", fue consecuencia del uso de este organismo. Hasta qué punto esta investigación se hubiera visto atrasada o modificada por el uso de otro organismo, es algo que la historia de la ciencia no nos permite responder.

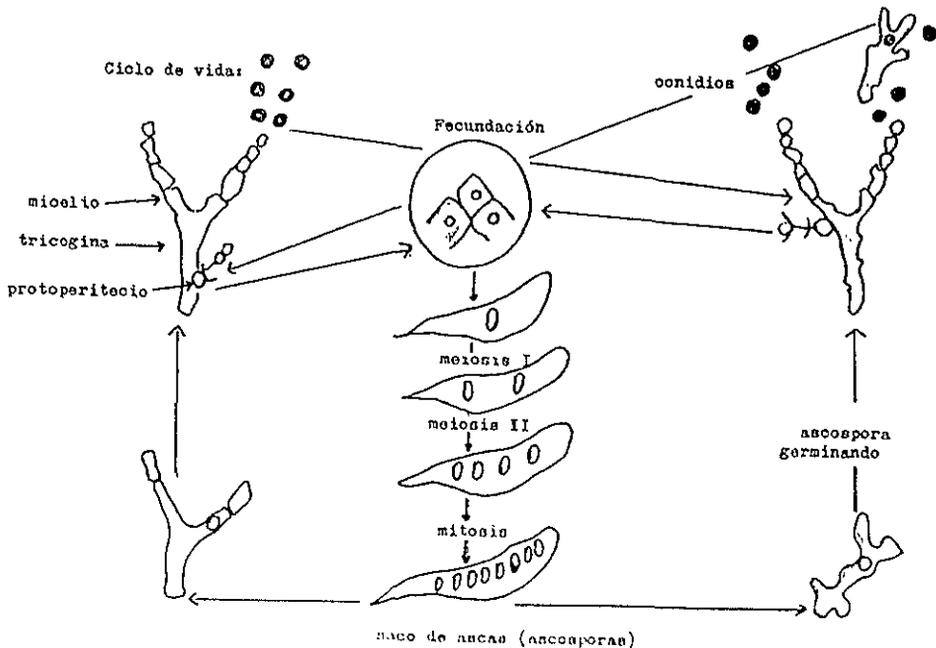
Sin embargo, es importante señalar, que el valor que tuvo Neurospora como herramienta de investigación para el modelo experimental y la estrategia de investigación de Beadle y Tatum se debió no sólo a las características propias de este organismo, sino también a su viabilidad con respecto a las técnicas experimentales empleadas; sin olvidar, por supuesto el gran soporte institucional con que Beadle contó para realizar su trabajo.

Apéndice A.

Clasificación: según Teófilo Herrera y Miguel Ulloa (1990)

- Reino: Fungi.
- División: Eumycota III.
- Subdivisión: Ascomycetes.
- Clase: Euascomycetes.
- Subclase: Pyrenomycetidae.
- Orden: Sphaeriales.
- Familia: Sordariaceae.
- Genero y especie: Neurospora crassa.

El ascomiceto *Neurospora crassa* es un hongo saprófito que crece sobre el pan, bajo la forma de pelusa blanca al principio, que luego se vuelve rosa al aparecer esporas asexuadas de éste color.



La reproducción asexual tiene lugar con producción de conidios, esporas que forman protusiones seriadas en las puntas de algunas hifas. Los conidios tienen un característico color rosa, y son medios para una rápida propagación de micelios nuevos; las esporas asexuadas se utilizan con frecuencia para estudios de genética y bioquímica.

La reproducción sexual solo tiene lugar entre dos hifas de tipos opuestos. Después de la reproducción sexual, la célula diploide se divide por meiosis para dar origen a ocho ascosporas haploides dentro del asca. En condiciones favorables cada ascospora germina y da lugar a un nuevo micelio. Es posible separar las ascosporas bajo el microscopio y lograr cepas puras, que también se emplean comúnmente para investigación genética y bioquímica. (Herrera y Ulloa, 1990).

BIBLIOGRAFIA

1. Abir-Am, P. G. "Themes, genres and orders of legitimation in the consolidation of new disciplines: Deconstructing the historiography of molecular biology", History of Science, 1985, 23: 73-117.
2. Abir-Am, P. G. "The Biotheoretical Gathering, transdisciplinary authority and the incipient legitimation of molecular biology in the 1903s: New perspective in the historical sociology of science", History of Science, 1987, 25: 1-70.
3. Abir-Am, P. G. De la colaboración multidisciplinar a la objetividad transnacional: el espacio internacional, constitutivo de la biología molecular (1930 – 1970), 1997. pp. 111-150.
4. Abir-Am, P. G. "The soth anniversary of the first protein x-ray photo and the origins of meolecular biology", Proceedings of the Anglo-american Conference in the History of Science, Manchester, julio 1988, pp. 110-117.
5. Abir-Am, P. G. British Journal for the History of Science, 1982, 15: 301-305
6. Abir-Am, P. G. The Discourse of Physical Power and Biological Knowledge in teh 1930s: A Reappraisae of the Rockefeller Foundation's "Policy" in Molecular Biology, Social Studies of Science, 1982, 12: 341-382, ibidem, 1984, 14 252-263; idem, "The assesment of interdisciplinary research in the 1930s: The Rockefeller Foundation and physico-chemical morphology", minerva, 1988, 26 153-176

7. Astbury, T. William y Florence Bell.: "Some Recent Developments in the x-ray Study of Proteins and Related Structures", Nature, 1938.
8. Avery, T. O., MacLeod, M. C. Y McCarty, M. Journal of Experimental Medicine 79 (Febrero, 1944), pp. 137-158.
9. Ayala, F. J. Y Kiger, J. A. 1984 Genética Moderna. Ediciones Omega, Barcelona, España.
10. Barahona, A. y Piñero, D. 1994. Genética: La continuidad de la vida., La Ciencia/125 desde México. SEP.
11. Barahona, A. Barbara Mc Clintock and Transposition Concept.: Archivos Internationales D'Histoire des Sciences. Estratto dal no. 137 vol/1996.
12. Beadle W. G., "Fareword" in Warren Weaver, Science and Imagination (New York: Basic Books, 1967), pp. VII-XIV.
13. Beadle, W. G.: "Genes and Chemical Reactions in Neurospora;" Nobel Lectures... Physiology or Medicine, 1942-62, Amsterdam, 1964, páginas 587-599.
14. Beadle, W. G.: (1939): "Genetic Control of the Production and Utilization of Hormones", Int. Con Genet., 7, págs. 58-61.
15. Beadle, W. G. (1945). "Genetics and Metabolism in Neurospora", Physiol Rev., 25, págs. 643-666.
16. Beadle, W. G. Y Tatum, E. (1941). "Genetic Control of Biochemical Reactions in Neurospora", Proc Natn Acad Sci U. S. A., 27, págs 499-506

17. Beadle, W. G. (1948): "Genes and Biological Enigmas", *Am. Scient.*, 36. Págs. 221-239.
18. Beadle, W. G. "Recollections", *Annual Review of Biochemistry*, 43. (1974), pp. 7-8.
19. CIT, Beadle Papers, Box 2. 53, Beadle to Emerson, March 14, 1942.
20. Beadle, W. G. y Tatum, E., Genetic Control of Biochemical Reactions in Neurospora. Pp. 1 11; and RAC, RG 1.1. 205 D, Box 10. 144 December 2, 1944.
21. Bernal, J. D. y Crowfoot, D.: "x-ray photographs of cristalline pepsin", Nature, 1934, 133: 794-795.
22. Bernal, J. D.: The Social Function of Science, Londres, 1939.
23. Bonner, D. (1946): "Biochemical Mutations in Neurospora", *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 11, págs. 14-24.
24. Bragg L., Kendrew y Perutz.: "Polypeptide Chain Configuration in Crystalline Proteins", "How Proteins Were not Solved", *Proceedings of the Royal Society*, 1950.
25. Burian, R. M.; Gayton, M. Y Zallen, D. T.: "Boris Ephrussi and the synthesis of genetics and embriology", en Gilbert, S. (eds), A Conceptual History of Modern Embriology (Plenum Press, Nueva York, 1991) pp 207-228

26. Burian, M. R. How the Choice of Experimental Organism Matters: Epistemological Reflections on an Aspect of Biological Practice *Journal of the History of Biology*, vol. 26 no. 2. (Summer 1993), pp. 351-367.
27. Crawford, E.: "The universe of international science, 1880-1939", en Frangsmuy, T. (ed.), *Solomon's House Revisited: The Organisation and Institutionalisation of Science*, (Science History Publications, Cauton, MA, 1990).
28. Chargaff, E.: Especificidad química de los ácidos nucleicos y su mecanismos de degradación enzimática. "Experientia" (mayo, 1950).
29. *Delbrück Papers*, Box 1-7, Delbrück to Bohr, January 11, 1947, See also Robert H. Kargon, *Science in Victorian Manchester* (Baltimore: Johns Hopkins University Press, 1977), pp. 1-3.
30. Horowitz, N. H., "Genetics and the Synthesis of Proteins", *Annals of the New York Academy of Sciences*, 325 (1979), p. 257.
31. Holchkiss, R. D. "The Identification of Nucleic Acids as Genetic Determinants", *Annals of the New York Academy of Sciences* 325 (1979) p 321.
32. Kay E. Lily (1993). The Molecular Vision of Life. Caltech, The Rockefeller Foundation and the Rise of the New Biology. Oxford University. Pp. 194-216.
33. Kay E. Lily. (1989). "Selling Pure in Wartime: The Biochemical Genetics of G W Beadle" *Journal of the History of Biology*, 22 (1989), pp. 85-98.

34. Keller, Evelyn Fox. 1983. A feeling for the organism. The life and Work of Barbara Mc Clintock. W. H. Freeman and Company. New York.
35. Kendrew, J.: Report of the working Group on Molecular Biology (HMSO, Londres, 1968).
36. Morgan, H. T. "Study and Research in Biology", Bulletin of the California Institute of Technology, 36 (1928) p. 87.
37. Needham, J.: "Frederick Gowland Hopkins, 1860-1947", Perspectives in Biology and Medicine, 1962. 6: 2-46.
38. Olby R. C.: Schrödinger's Problem: What is Life?, Department of Philosophy University of Leeds. Leeds, England (1971).
39. Olby, R. C. (1991) El camino hacia la doble hélice. Editorial Alianza. Madrid, España.
40. Olby, R. C. (1970): The Macromolecular Concept and the Origins of Molecular Biology, J. Chem Ed., 47 págs. 168-174.
41. Pauling L. y Corey R. B.: "Two Hydrogen Bonded Spiral Configurations of the Polypeptide Chain", Journal of the American Chemical Society 72 (1950).
42. Sinnott, W E., Dunn, C L y Dobzhansky T. (1977) Principios de Genética. Omega. Barcelona, España
43. Smith, B.. American Science Policy after 1945, Brookings Institutions Press, Washington DC. (1990).

44. Srinivasan, P. R.; Fruton, J. S. y Edsall, J. T. eds.: The Origins of Biochemistry, a Retrospect on Proteins. The New York Academy of Sciences Press, New York, 1979.
45. Stent Gunther S.: "That was the Molecular Biology That was". Science, 1968. 160: 390-395.
46. Stent Gunther S. y Watson J. D.: Phage and the Origins of Molecular Biology (Cold Spring Harbor Laboratory of Quantitative Biology, Cold Spring Harbor, New York, 1966).
47. Sturtevant, A. H. (1920): "The Vermilion Gene and Gynandromorphism", Proc. Soc. exp. Biol. Med., 17 págs. 70-71.
48. Tatum, L. E. "A Case History in Biological Reseach", Nobel Lectures in Molecular Biology (New York: Elsevier North-Holland, 1977) pp. 67-68.
49. Waddington, C. H.: "Some European contributions to the prehistory of molecular biology", Nature, (1969) 221:318-321.