

LAS FUNCIONES BIOLÓGICAS DE LOS ÁCIDOS NUCLEICOS*

DR. RAÚL ONDARZA V.

LOS CONOCIMIENTOS que se tienen actualmente sobre la estructura de los ácidos nucleicos permiten interpretar algunos de los distintos fenómenos biológicos a un nivel molecular.

Como se sabe, existen dos tipos fundamentales de ácido nucleico que reciben el nombre de desoxirribonucleico (ADRN) o ribonucleico (ARN), de acuerdo con la presencia en su estructura de uno de los dos azúcares correspondientes, desoxirribosa o ribosa. El ácido desoxirribonucleico representa el material genético característico de la especie, por lo tanto es el agente químico que almacena y distribuye la información necesaria para reproducir a un organismo. El ADRN manifiesta su acción indirectamente a través del ácido ribonucleico, el cual actúa a su vez como un transportador de información genética de tipo secundario encargándose de la síntesis directa de otros compuestos como las moléculas proteicas.

De acuerdo con lo anterior, debemos demostrar que "la morfología y la conducta de la célula así como la de sus distintos componentes, pueden basarse o encontrarse en estrecha relación con la función, el metabolismo y la estructura física y química de los ácidos nucleicos".

CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS Y FÍSICAS DE LOS ÁCIDOS NUCLEICOS

De los estudios más extraordinarios en el campo de la Bioquímica se encuentran sin lugar a duda los que se refieren a la estructura de los ácidos nucleicos tanto desde el punto de vista de su composición química como al orden que guardan sus partes integrantes, en las dimensiones del espacio.

La primera noticia que se tiene al respecto parte con el descubrimiento de la "nucleína", por Miescher¹ en 1869. Este investigador que trabajaba en el laboratorio de Hoppe-Seyler en Tubigen, Alemania, pudo demostrar la presencia de fósforo en este material aislado de núcleos de leucocitos, lo que para esa época significaba una novedad ya que la lecitina era la única sustancia conteniendo

* Trabajo de ingreso a la Academia Nacional de Medicina, leído por su autor en la sesión del 22 de agosto de 1962.

fósforo. Posteriormente, en 1874, gracias al trabajo de Piccard¹, se lograron obtener nuevos datos, como la presencia de las bases púricas, adenina y guanina, en ácido nucleico aislado de esperma de salmón.

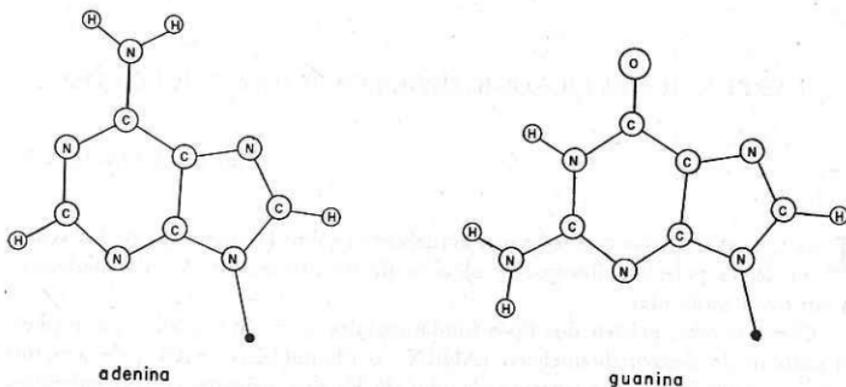


FIG. 1. Modelos estéricos de las bases púricas, adenina y guanina.

Mas tarde, Kossel¹ trabajando por espacio de 26 años solamente en este campo (1879-1905) ya que después cambió su interés a las proteínas asociadas a los nucleicos, descubrió un carbohidrato en nucleico de células de levadura (identificado por Hammarsten¹ en 1894 como pentosa) además de las bases pirimídicas, timina y citosina, en nucleico de la glándula de timo y uracilo en nucleico de levadura. (La desoxirribosa fue demostrada por Levene en 1930 en nucleico de timo).

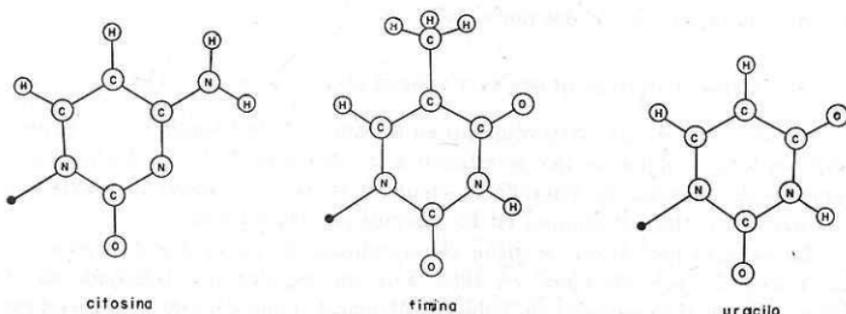


FIG. 2. Modelos estéricos de las bases pirimídicas, citosina, timina y uracilo.

Por un tiempo se pensó en la presencia de un ácido nucleico exclusivo de tejidos animales (ADRN) y otro de vegetales (ARN), prevaleciendo esta idea hasta el año de 1944 cuando por los estudios efectuados en el laboratorio del Dr.

Levene² utilizando técnicas enzimáticas y químicas para la degradación de los nucleicos, se logró demostrar la presencia de ambos tipos tanto en vegetales como en animales. La composición química fundamental quedó establecida en la siguiente forma: (Véase Tabla I)

TABLA I
COMPOSICION FUNDAMENTAL DE LOS ACIDOS NUCLEICOS

		<i>Acido desoxirribonucleico (ADRN)</i>	<i>Acido ribonucleico (ARN)</i>
BASES	a) Púricas	Adenina y guanina	Adenina y guanina
	b) Pirimídicas	Citosina y timina	Citosina y uracilo
AZÚCAR		D-2-desoxirribosa	D-ribosa
FÓSFORO (-H ₂ PO ₄)		una molécula de P/ molécula de azúcar	una molécula de P/ molécula de azúcar

Como puede apreciarse los ácidos nucleicos se encuentran formados por una base ya sea del tipo purina o pirimidina, un azúcar, ribosa o desoxirribosa y finalmente un radical fosfórico. La manera como se unen estos compuestos se especificará más adelante.

Como los datos analíticos obtenidos por esa época, indicaban cantidades parecidas en las cuatro bases, se propuso como unidad elemental para integrar un ácido nucleico a un "tetranucleótido", conteniendo a las cuatro bases conocidas. No fue sino hasta el año de 1947, cuando Vischer y Chargaff³ lograron modificar este concepto, ya que por técnicas cromatográficas demostraron que las bases no estaban presentes en cantidades equimolares. En realidad Chargaff⁴ sí pudo encontrar ciertas regularidades en los cocientes relativos de las bases púricas y pirimídicas, es decir Adenina-Timina y Guanina-Citosina. Por éstos y otros estudios se tuvo conocimiento además sobre la presencia, aunque en menores cantidades, de muchas otras derivadas de la adenina, guanina, citosina y uracilo. (Véase Tabla II)

Para complementar los estudios relacionados con la estructura primaria de los ácidos nucleicos, mencionaremos los que se refieren al tipo de enlace químico presente entre los tres componentes de cada nucleótido. Se han demostrado uno de tipo glucosídico entre la base púrica o pirimídica y el azúcar, el otro entre

el mismo azúcar y el radical fosfórico, pero de tipo ester. Lo anterior se aplica por igual a las estructuras de los dos nucleicos. (Véase Fig. 3)

TABLA II
NUEVAS BASES PURICAS Y PIRIMIDICAS PRESENTES EN
ACIDO RIBO Y DESOXIRRIBONUCLEICO

Bases	Estructura	Presente en	Referencias
PÚRICAS	6-metil-amino purina	ARN y ADRN de Escherichia coli	Dunn y Smith, ⁵ 1955. Littlefield y Dunn, ⁶ 1958.
	2-metil-adenina y 6-dimetil-amino purina	ARN de Escherichia coli, Aerobacter aerogenes y en microsomas de levadura e hígado de rata.	Littlefield y Dunn, ⁶ 1958.
	N ² -metil-guanina 1-metil-guanina	ARN de levadura	Adler, Weissman y Gutman ⁷ , 1958.
PIRIMÍDICAS	5-metil-citosina	ADRN de mamífero, peces, insectos y germen de trigo. ARN de E. coli	Wyatt, ⁸ 1950. Littlefield y Dunn, ⁶ 1958. Amos y Korn, ⁹ 1958.
	5-hidroxi-metil-citosina	ADRN de fagos T ₂ T ₄ y T ₆ de E. coli.	Wyatt y Cohen, ¹⁰ 1952, 1953.
	glucosa-5-hidroxi metil-citosina	ADRN de fagos de E. coli.	Sinsheimer, ¹¹ 1954. Volkin, ¹² 1954.
	'Pseudo-uridina' (uracilo-5-ribosa)	ARN de levadura y ARN de páncreas.	Davis y Allen, ¹³ 1957. Cohn, ¹⁴ 1960. Kemp y Allen, ¹⁵ 1958.

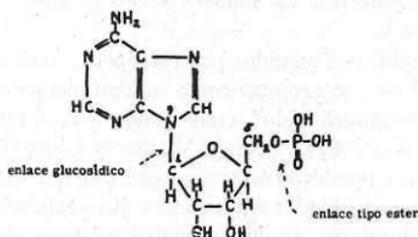


FIG. 3. Estructura química de un adenin nucleótido para señalar la posición de los enlaces químicos entre los componentes, base, azúcar y radical fosfórico.

Ahora bien, tan pronto como se pudieron preparar ambos tipos de nucleico en la forma de polímeros de alto peso molecular en estado nativo*, por medio de procedimientos adecuados como la extracción en solución salina, detergentes aniónicos, etc., se despertó el interés por conocer el modo de unión entre estos

* Los pesos moleculares varían de 2×10^6 para el ARN del virus del mosaico del tabaco, hasta 8×10^6 para el ADRN de la glándula del timo.

nucleótidos para formar la cadena polinucleotídica. Según los resultados por titulación, se pensó que la gran mayoría de los enlaces internucleotídicos podrían ser del tipo fosfodiéster, aceptándose la siguiente secuencia.

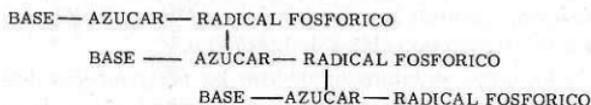


FIG. 4. Modo de unión entre los nucleótidos a través de los enlaces fosfodiéster.

Esta estructura se afinó aún más por medio de estudios enzimáticos¹⁶ utilizando desoxirribonucleasa y ribonucleasa de páncreas, fosfodiesterasa de veneno de serpiente y otras enzimas, hasta establecer que los enlaces internucleotídicos más probables debían ser del tipo fosfodiéster, entre el carbón 3' de la ribosa de un nucleótido con el carbón 5' de la ribosa del otro, según se muestra en la figura 5.

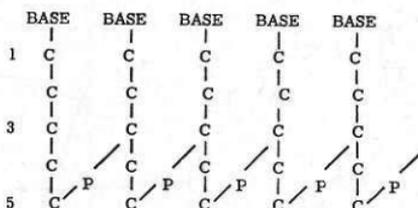


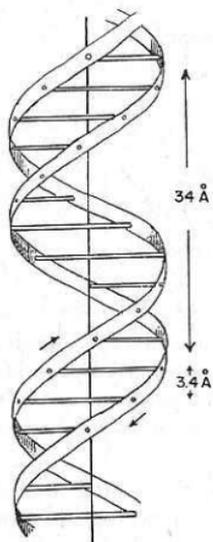
FIG. 5. Posición de los enlaces fosfodiéster entre los nucleótidos.

El campo de estudio sobre la estructura de los ácidos nucleicos se encontraba bien establecido cuando Watson y Crick¹⁷ en el año de 1953, propusieron la hipótesis de una "doble espiral" como la configuración espacial para la molécula del ácido desoxirribonucleico. Aunque por ahora nos parece muy obvia esta sugerión, debemos darnos cuenta que esta nueva idea tuvo que basarse en una serie de conocimientos previos.

Primeramente en 1938, Atsbury y Bell¹⁸ observaron que las fibras del ADRN, medidas por técnicas de difracción con rayos X, tenían un espacio repetido con cierta regularidad de 3.34 angstroms a lo largo del eje de la fibra. Este hecho se interpretó como una sucesión de nucleótidos de estructura planar, colocados perpendicularmente al eje longitudinal de la fibra. Más tarde entre 1949 y 1952, Furberg¹⁹ propuso que los planos del azúcar se encontraban paralelos al eje longitudinal del ADRN pero que las bases estaban colocadas en ángulo recto con respecto a los azúcares, por lo tanto al eje de la fibra que se orienta a manera de una espiral. Pauling y Corey²⁰ en 1953 sugirieron algo parecido, es decir una estructura helicoidal pero formada de tres cadenas de polinucleótido entre-

lazadas con los fosfatos colocados hacia adentro del eje de la molécula y las bases hacia afuera. Estos últimos datos estuvieron de inmediato en desacuerdo con los resultados titulométricos obtenidos desde 1947 por Gulland, Jordan y Taylor²¹ ya que estos autores dieron pruebas de que los fosfatos estaban accesibles a la titulación, mientras que los grupos $=NH$ y $C=O$ de las bases se comportaban como formando enlaces de hidrógeno.

Algunos de los datos anteriores junto con las observaciones de Chargaff referentes a los cocientes de adenina-timina y guanina-citosina, le permitieron a Watson y Crick proponer su modelo de la "doble espiral" formada por dos cadenas de polinucleótidos entrelazadas alrededor de un mismo eje pero con las bases púricas y pirimídicas orientadas hacia el interior y los fosfatos hacia el exterior. Como cada par de nucleótidos se presenta en la dirección del eje mayor en un espacio de 3.4 angstroms, la estructura se repetirá cada 10 pares de nucleótidos en 34 angstroms, lográndose de este modo un giro completo en la espiral de 360 grados. (Véase Fig. 6)



MODELO DE WATSON-CRICK.

FIG. 6. Estructura simplificada del modelo de Watson-Crick propuesto para la molécula de ácido desoxirribonucleico.

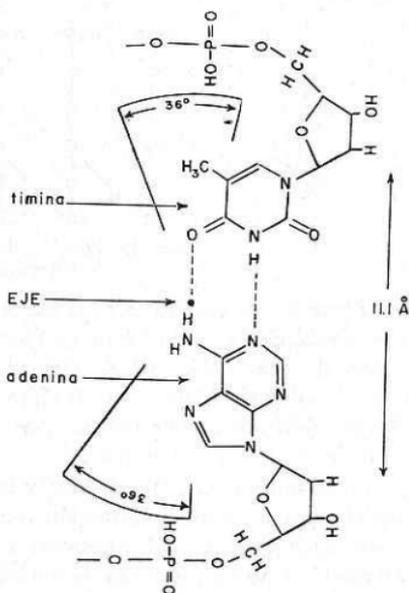


FIG. 7. Unión de dos bases, una púrica (adenina) y otra pirimídica (timina) por medio de dos puentes de hidrógeno.

Lo más notable de esta estructura son los enlaces de puente de hidrógeno que se establecen entre las bases púricas y pirimídicas lo que coincide perfecta-

mente con los datos de Chargaff. O sea que por cada timina (base pirimídica) presente en una cadena, debe existir una adenina (base púrica) exactamente enfrente pero perteneciendo a otra cadena. La unión entre estas bases se logra establecer por dos puentes de hidrógeno. (Véase Fig. 7)

Lo mismo sucede para la citosina que se encuentra unida a una guanina pero en este caso por medio de tres puentes de hidrógeno. (Véase Fig. 8)

En lo que se refiere a la estructura del ácido ribonucleico, podemos decir que en esta molécula se encuentra el uracilo en sustitución de la timina, y la ribosa en lugar de la desoxirribosa. Además, los cocientes en la molaridad de las bases púricas y pirimídicas varía grandemente desde 2.6 para el ARN de páncreas de cerdo hasta 0.66 para ARN de hígado de rata. Lo anterior es fácil de aceptar ya que en este caso la molécula se presenta como una sola espiral.

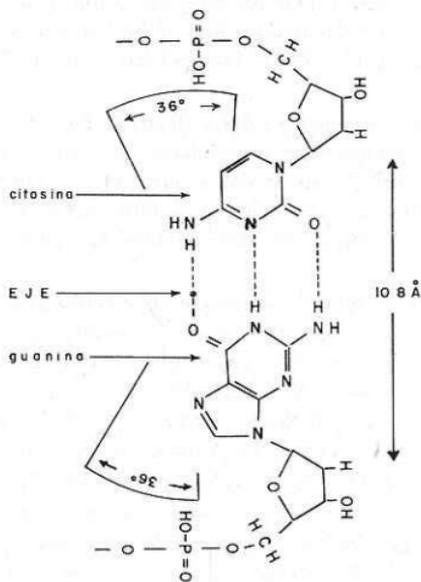


FIG. 8. Unión de dos bases, una púrica (guanina) y otra pirimídica (citosina) por medio de tres puentes de hidrógeno.

Mencionaremos que Kornberg²² y Ochoa²³ recientemente sintetizaron *in vitro* el ADRN y el ARN, respectivamente, utilizando nucleósidos trifosfatos y extractos de *Escherichia coli* y *Azotobacter vinelandii* que contienen una enzima llamada polinucleótido-fosforilasa. La estructura sintetizada por Kornberg se encontró, de acuerdo con lo establecido por Watson y Crick, sobre el apareamiento de las bases.

DISTRIBUCIÓN DE LOS NUCLEICOS EN LA CÉLULA

La distribución de los nucleicos en la célula se conoce por el estudio integrado de bioquímicos y citólogos, utilizando métodos microscópicos, autorradiográficos y de fraccionamiento celular. Mencionaremos a Brachet²⁴ quien logró relacionar la basofilia de varios tejidos afines a los colorantes como la hematoxilina con la presencia del ácido ribonucleico y a Davidson²⁵ con el empleo del reactivo de Feulgen para teñir específicamente las estructuras formadas por el ácido desoxirribonucleico. Un lugar importante ocupan asimismo los trabajos de Caspersson²⁶ con el microscopio de luz ultravioleta y los de Palade²⁷ en el microscopio electrónico, lográndose interpretar los datos químicos de fracciones celulares con la estructura morfológica obtenida a grandes aumentos. Con los estudios autorradiográficos de Howard y Pelc²⁸ utilizando ortofosfato radioactivo incorporado a cromosomas, se correlacionaron los cambios celulares en la división mitótica con la síntesis del ácido desoxirribonucleico y los de Prescott²⁹ en la del ribonucleico.

La técnica del fraccionamiento celular desarrollada por Schneider y Potter³⁰ permitió estudiar los componentes subcelulares sin pérdida de la actividad catalítica y a Schneider precisamente se deben los primeros estudios combinados sobre la actividad enzimática y contenido en ácidos nucleicos. Este autor asociado a Hogeboom y Palade³¹ logró asimismo mejorar la identificación y separación de mitocondrias.

Se ha llegado a saber que el núcleo contiene todo el ADRN de la célula*, encontrándose localizado en los cromosomas aislados por centrifugación diferencial. La cantidad es constante en células somáticas diploides según los estudios de Boivin, Vendrely y Vendrely,³² variando solamente de especie a especie. En el caso de células diploides humanas es del orden de 5-6 picogramos** y en células haploides como las sexuales se encuentra a la mitad.

Cuantitativamente el ARN en la célula es variable, localizándose en el nucleolo y cromosomas, aunque con actividades metabólicas distintas. Una gran parte se encuentra en la fracción microsomal derivada del retículo endoplásmico.

Por estudios más recientes se conocen además dos nuevos tipos de ácido ribonucleico denominados "soluble"³³ y "mensajeros"^{34a, 34b, 34c} En la Fig. 9 se muestra la distribución de estos materiales en una célula idealizada (según Siekevitz) y en un fago.

* Debemos mencionar que A. Lima de Faria, (Progress in Tritium Autoradiography, en Progress in Biophysics and Biophysical Chemistry, vol. 12, 282, 317, 1962), y otros autores han demostrado que la timidina tritiada se incorpora en gran cantidad al citoplasma de ciertas especies biológicas, indicando la presencia de ADRN en el citoplasma, pero que no puede reconocerse por el reactivo de Feulgen ni por espectrofotometría.

** 1 picograma = 1 X 10⁻¹² de gramo.

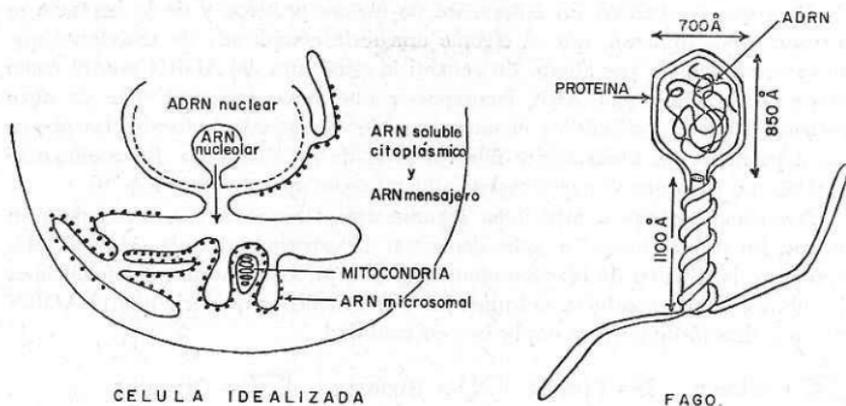


Fig. 9. Distribución de los diferentes ácidos nucleicos en la célula idealizada (según Siekevitz) y la presencia del ADRN en un fago.

FUNCIONES DE LOS ÁCIDOS NUCLEICOS

Los ácidos nucleicos desempeñan dos funciones biológicas fundamentales: la transmisión de las características genéticas y la formación de proteínas celulares.

Podemos asegurar que el ADRN es la sustancia responsable de: 1º Llevar la información genética de la especie, la que determina las características y la identidad de un sistema vivo. Esta información probablemente se encuentra escrita a manera de una clave que se lee por la secuencia precisa de las bases que integran el polinucleótido y 2º de la síntesis de moléculas proteicas a través de la formación de los ácidos ribonucleicos, mensajero y microsomal que sirven como transportadores de información genética de tipo secundario.

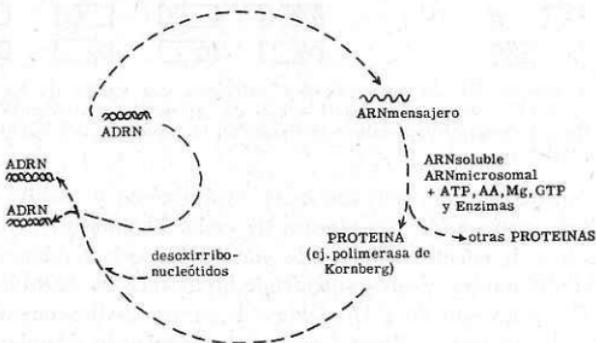


Fig. 10. Interrelaciones de los ácidos desoxirribonucleico, ribonucleico y proteínas.

Para que se realicen los fenómenos de síntesis proteica y de la herencia es necesario, por supuesto, que se efectúe una serie complicada de reacciones que no vamos a detallar por ahora. En general la estructura del ADRN servirá como molde en la síntesis del ARN mensajero y éste junto con una serie de otros nucleicos como el "soluble" y el microsomal se encargará de formar las proteínas a partir de los aminoácidos libres a nivel de los ribosomas. En resumen se establece un ciclo que se puede representar tal como aparece en la Fig. 10.

Nos concretaremos a mencionar algunos aspectos que consideramos de gran interés. En primer lugar "se debe demostrar la existencia de una estrecha relación entre la división de los cromosomas, que se presenta durante los fenómenos de mitosis, con la conducta del material cromosómico". Es decir que el ADRN también deberá dividirse y duplicarse en cantidad.

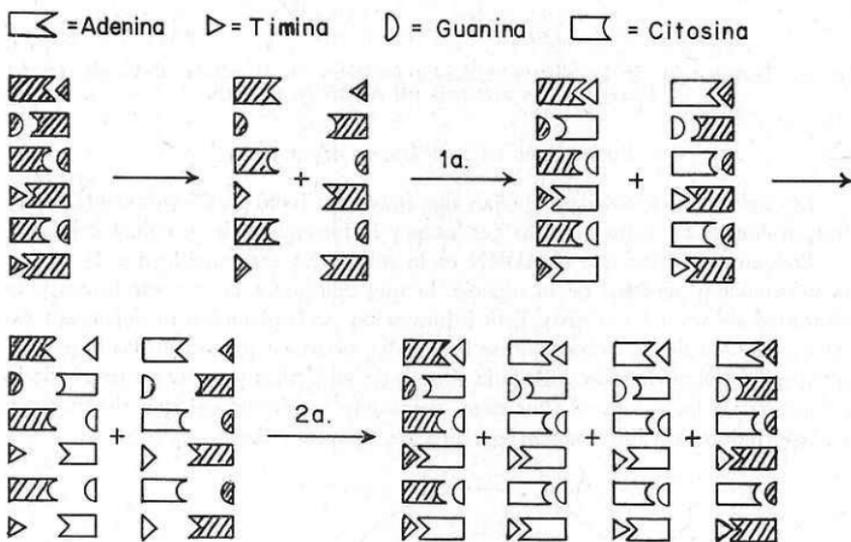


FIG. 11. Representación de los resultados obtenidos por medio de los experimentos de Meselson y Stahl,³⁵ creciendo *Escherichia coli* en un medio conteniendo nitrógeno de masa 15. Las figuras rayadas diagonalmente significan la presencia del isótopo de masa 15 en la base respectiva.

Un experimento a nivel molecular es el de Messelson y Stahl³⁵ quienes utilizaron la ultracentrifugación con cloruro de cesio. El nucleico podrá separarse en dos zonas si se le encuentra mezclado con otra especie similar, digamos por ejemplo un ADRN natural y otro conteniendo bromo-uracilo. Estos investigadores permitieron el crecimiento de *Escherichia coli* en un medio conteniendo nitrógeno de masa 15 así que pudiera obtenerse una población de microorganismos marcados totalmente con este isótopo. Después de transferir una parte del cultivo

cuando se encontraba en la fase logarítmica de crecimiento, a un medio con nitrógeno 14, se obtuvieron muestras al momento en que la población se había duplicado y después de efectuada la segunda división. Se prepararon los ácidos desoxirribonucleicos de las células totalmente marcadas con nitrógeno 15 así como de las de la primera y segunda división, se disolvieron los nucleicos en una solución fuerte de cloruro de cesio, centrifugándose hasta obtener un equilibrio en la densidad de los nucleicos con el medio. Se encontró que el ADRN totalmente marcado daba una banda sencilla con la densidad esperada para este tipo de material. Después de una generación esta banda desaparecía y era reemplazada por una nueva, con una densidad correspondiente a la mezcla de ADRN con nitrógeno 14 y nitrógeno 15. Después de dos generaciones se observaron dos bandas, una identificada como ADRN conteniendo nitrógeno 14 al 100% y otra en mezcla, con nitrógeno 14 y nitrógeno 15 en la proporción 1:1. Esta última banda disminuye si se permite al cultivo que continúe dividiéndose, aumentando en cambio la banda de ADRN con nitrógeno 14.

Los experimentos descritos hasta ahora se encuentran de acuerdo con el modelo propuesto por Watson y Crick, o sea que cada cinta o banda de polinucleótido que integra la doble espiral de la molécula, actúa como un molde para la formación de otra nueva, previa separación de las dos espirales originales. Sin embargo, no todos los datos están en favor de esta hipótesis ya que cuando tomamos en cuenta la relación entre el tamaño del ácido nucleico y el cromosoma organizado, podemos encontrar algunas diferencias. Por ejemplo el contenido en ADRN de una sola célula haploide en el vegetal *Lillium*³⁶ es del orden de 53×10^{-12} de gramo y aceptando que este material se encuentra en la forma de una doble espiral podemos calcular su longitud la cual será de 1.5×10^7 de micra o sea 15 metros, la estructura enrollada tendrá 4.4×10^9 vueltas alrededor de su eje, por lo tanto una molécula con estas dimensiones no podrá desenrollarse durante el proceso de duplicación celular.

A pesar de la observación anterior que va en contra de la hipótesis, experimentos recientes realizados por Taylor, Woods y Hughes³⁷ lograron demostrar una estrecha correlación entre los informes de orden químico con aquellos de tipo citológico. Estos investigadores ejecutaron experimentos equivalentes a los de Messelson y Stahl pero en este caso a un nivel celular utilizando timidina tritiada con la técnica de Howard y Pelc. A continuación se muestran esquemáticamente los resultados obtenidos por técnica autorradiográfica en cromosomas de *Vicia faba*. (Fig. 12)

Enterados de que el material nucleico se divide y distribuye durante los procesos de mitosis, veamos ahora "cómo se puede fundamentar el que este material sea el responsable de las características genéticas".

Aparte de conocer la localización del ADRN en el núcleo, específicamente en los cromosomas, sabemos desde hace mucho tiempo que este material se en-

por agentes llamados mutagénicos, tales como la radiación ultravioleta y ciertos compuestos químicos, agentes externos como la temperatura, el pH, etc.

Aunque no siempre podemos concluir sobre el modo de acción de estos agentes⁴⁴ es muy factible que cuando se altera la molécula del ADRN ya sea por radiación o por factores químicos se aumenta el índice o el grado de mutación de un organismo. En algunos casos ha sido demostrable la incorporación del factor químico dentro del ADRN y ocasionando una alteración en la secuencia de las bases de la cadena por mecanismos que se considerarán más adelante.

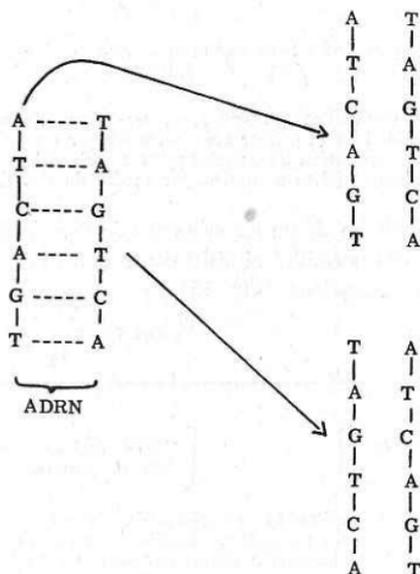


FIG. 16. Duplicación del ácido desoxirribonucleico, formando cada banda original de éste a su banda complementaria como una copia en negativo.

El término mutación se refiere al fenómeno celular, que se presenta como un cambio anatómico o fisiológico, el cual puede ser heredado. Los genetistas reconocen dos tipos de mutación, uno de ellos asociado a los cambios cromosómicos visibles y el otro al cambio en el fenotipo sin observarse una modificación visible en el material nuclear. Al primer tipo se le conoce también como "mutación cromosómica" y al otro como "mutación génica" por realizarse a nivel molecular. A este último caso podríamos llamarle también "mutación intragénica" y al otro "extragénica" por no implicar necesariamente una modificación

en la constitución química del cromosoma. Enfocaremos nuestro punto de vista a un nivel molecular, por estar interesados en varios compuestos preparados en nuestro laboratorio,⁴⁵ que tienen la posibilidad de ser agentes mutagénicos, en razón de su estructura química. Antes de entrar en detalles veamos lo siguiente: Podemos decir que si el ADRN controla la información genética y ésta reside en la secuencia de las bases distribuídas en dos bandas complementarias, tendremos entonces que cada cadena formará su banda complementaria como se indica en la figura 16.

Debemos aceptar que precisamente en la secuencia de las bases que forman la cadena, es donde se encuentra el mensaje genético. Así que si se sustituye a una de las bases de la cadena por otra, lógicamente se alterará la clave y por lo tanto el mensaje.

Este cambio o mutación a nivel molecular es muy factible y para citar un solo ejemplo teórico,⁴⁶ diremos que si a la guanina le introducimos un radical metilo o hidroxietilo en el nitrógeno 7 se producirá en mayor cantidad la forma tautomérica la cual ha perdido su protón del nitrógeno 1 y en este caso podrá aparearse con la timina en lugar de la citosina. El ejemplo anterior aparece en la siguiente figura. (Fig. 17)

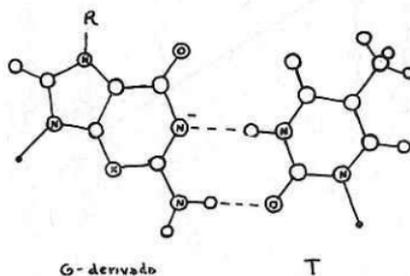


FIG. 17. Apareamiento erróneo de la guanina derivada (radical en el Nitrógeno 7) con la timina.

Si la metilación de la guanina, se efectúa directamente sobre ésta cuando se encuentra formando parte de la cadena del polinucleótido, inmediatamente después de haberse separado las dos bandas se producirá un cambio en la secuencia de la base. Es decir que la guanina derivada al asociarse con una timina de la cadena de enfrente habrá producido un cambio equivalente a la sustitución del par natural de bases guanina-citosina por uno completamente distinto, de adenina-timna. (Fig. 18).

Otro mecanismo que puede ser operante en las mutaciones a nivel molecular, será el producido por la incorporación de un nucleótido derivado. En este caso el nucleótido derivado se habrá de colocar enfrente de una base previamente

establecida en su secuencia natural pero las posibilidades de error se aumentarán al duplicarse la doble espiral.

En nuestro laboratorio⁴⁵ hemos preparado varios compuestos derivados de nucleótidos como el adenílico, guanílico, citidílico, inosínico y de distintas bases combinadas con el radical dinitrofenilo. A continuación mostramos una de las posibles estructuras del dinitrofenil-adenílico, después de separar este compuesto por distintas técnicas de cromatografía en papel y por ionoforesis. (Fig. 19)

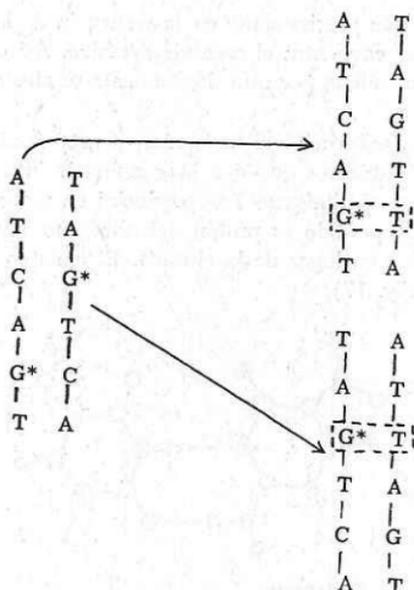


FIG. 18. Producción de una mutación a nivel molecular cuando la guanina derivada se incorpora al ácido desoxirribonucleico. El par natural de bases de citosina-guanina y guanina-citosina han sido sustituidas por el par anormal de guanina-timina.

Se piensa que el compuesto tiene esa configuración basándose en que el reactivo de Sanger (2, 4, - dinitro fluoro benceno) reacciona precisamente con los grupos amino de los aminoácidos, aunque no debe descartarse la posibilidad de que reaccione con otros átomos del anillo purínico o pirimídico.

De encontrarse el radical fenilo colocado en posición 6 del grupo amino del adenílico es muy posible que esta base derivada se aparee con la citosina (previa transformación de los grupos Nitro en NH_2 por acción de un sistema fisiológico)

DNP—AMP

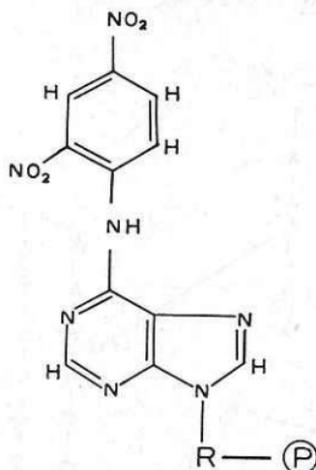


FIG. 19. Estructura posible de un dinitrofenil nucleótido.

formando tres puentes de hidrógeno, o con la guanina tal como se muestra en las figuras 20 y 21.

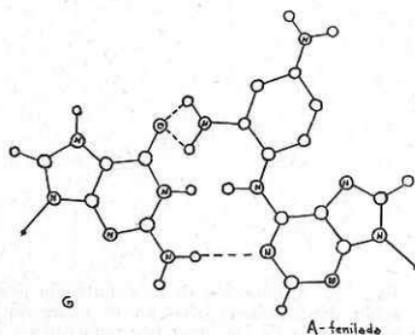
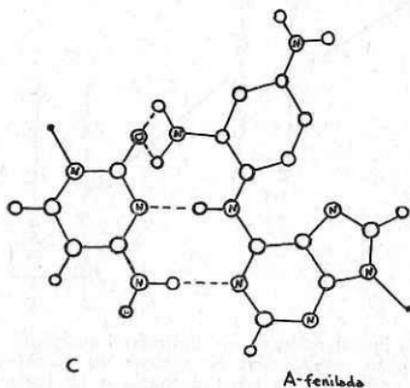


FIG. 20. Posible apareamiento entre la adenina dinitrofenilada (previa reducción de sus grupos nitro a grupos amino) con la citosina. Obsérvese la relación estérica para formar tres puentes de hidrógeno, entre estas bases.

FIG. 21. Posible apareamiento entre la adenina dinitrofenilada, (previa reducción de sus grupos nitro a grupos amino) con la guanina). Obsérvese la relación estérica para formar en este caso dos puentes de hidrógeno.

Habiéndose logrado la introducción de este nucleótido derivado dentro de una de las cadenas podrá producirse una mutación a nivel molecular de la manera que muestra la figura 22.

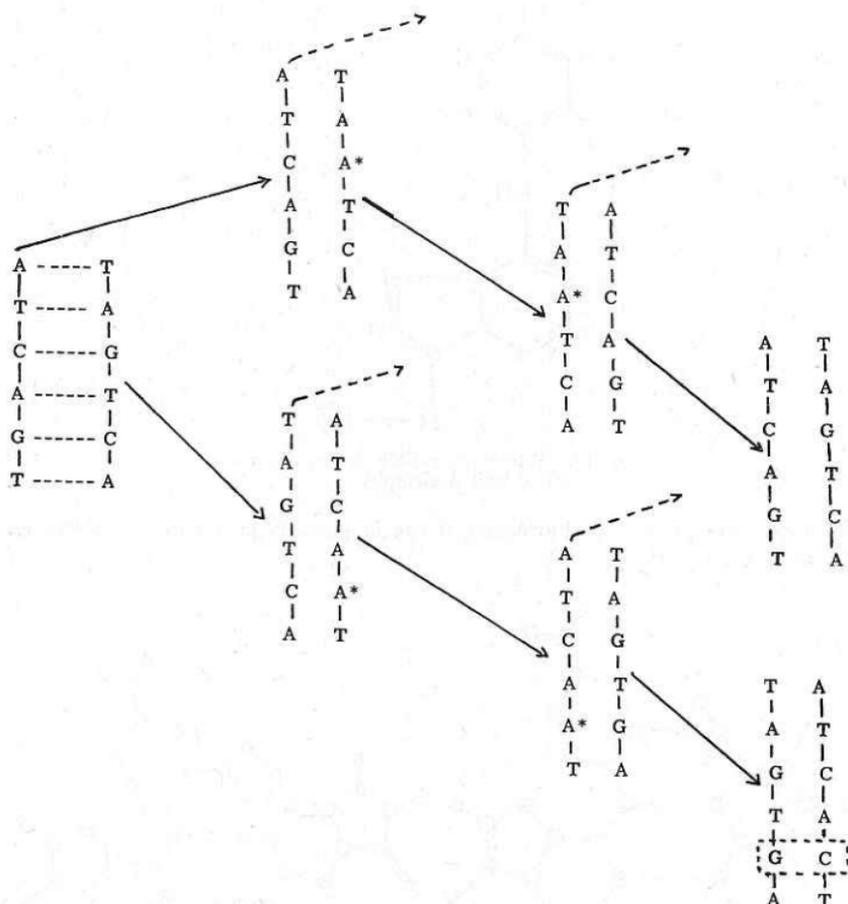


FIG. 22. Producción de una mutación por la introducción de un dinitrofenil-nucleótido al ácido desoxirribonucleico en el momento de su duplicación. Se obtiene un cambio en la secuencia de las bases por aumento en la posibilidad de error al aparearse las bases citosina o guanina con el dinitrofenil nucleótido (A*).

Actualmente se estudia la posibilidad en nuestro laboratorio para demostrar que estos compuestos puedan tener actividad mutagénica sobre algún material biológico como la mosca *Drosophila* o en bacteriófagos de *Escherichia coli*.

La estructura general de un nucleótido péptido se muestra a continuación. (Véase Fig. 24)

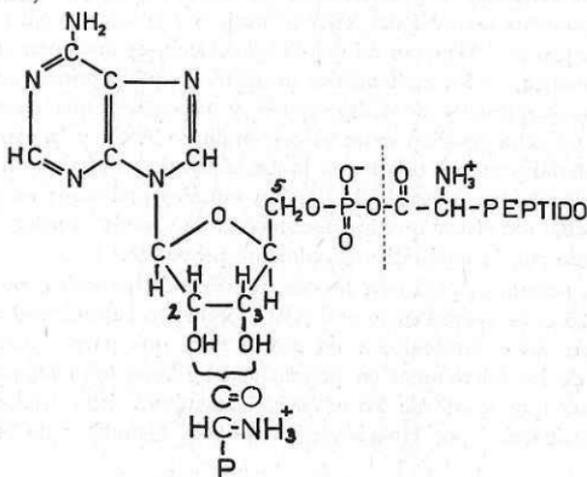


FIG. 24. Posibilidades de unión entre un péptido y un nucleótido.

La parte menos bien entendida del aspecto sobre la síntesis proteica y todavía en estado especulativo es: a) la que se refiere a la transferencia de la información genética a partir del ADRN hacia el ARN y b) de éste directamente a la molécula proteica. (Problema de codificación).

Se cree que el ADRN debe funcionar como molde así que al sintetizarse el ARN mensajero se encontrará éste parcial o totalmente asociado con el organizador inicial. Tomando en cuenta lo anterior, consideramos que un modelo de este tipo deberá llenar ciertas características de orden geométrico y energético. Referente al primer problema (a) Stent⁵³ ha sugerido un esquema para la síntesis del ARN que permite la integridad original del modelo de Watson-Crick y no requiere ninguna disociación de la doble espiral.

En este modelo la información genética se encuentra en clave por medio de la secuencia específica de los pares de bases y no por las bases individuales en cada banda primaria. Los tripletes de bases sugeridos por Stent son del siguiente tipo:

ADRN	ARN
citosina-guanina	guanina
guanina-citosina	citosina
timina-adenina	adenina
adenina-timina	uracilo

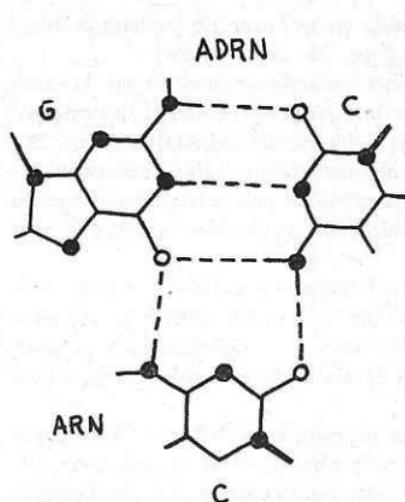


FIG. 25. Apareamiento entre los pares de base guanina-citosina del ADRN con una tercera base del ARN, según Stent.

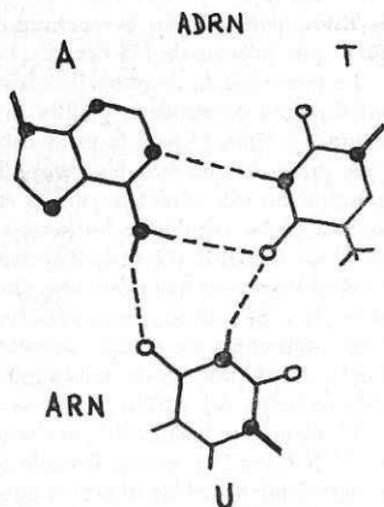


FIG. 26. Apareamiento entre los pares de base adenina-timina del ADRN con una tercera base del ARN, según Stent.⁵³

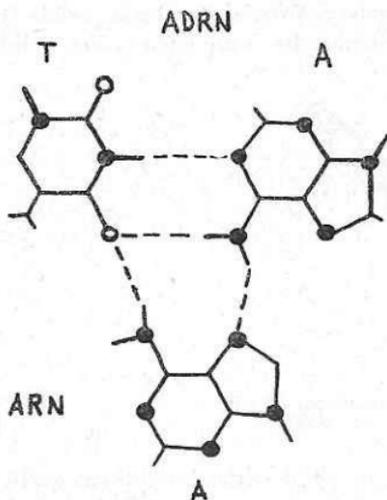


FIG. 27. Apareamiento entre los pares de base timina-adenina del ADRN con una tercera base del ARN, según Stent.⁵³

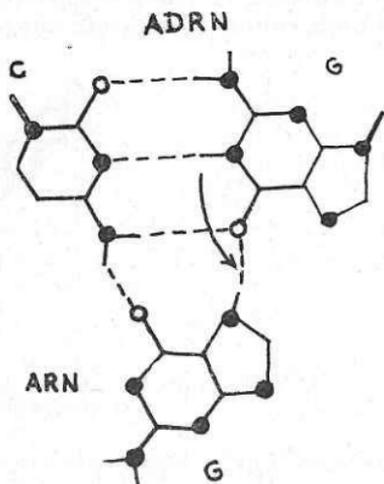


FIG. 28. Apareamiento entre los pares de base citosina-guanina del ADRN con una tercera base del ARN, según Stent.⁵³

Estos apareamientos se muestran enseguida en la forma de tripletes de bases unidos por puentes de hidrógeno. (Véanse Figs. 25, 26, 27 y 28)

La nueva banda de ribopolinucleótido sintetizada directamente sobre la doble espiral podría desenrollarse posiblemente por un mecanismo como el sugerido por Levinthal y Crane⁵⁴ para la separación de la doble espiral del ADRN. (Fig. 29).

A pesar de que esta hipótesis⁵³ tiene algunas características interesantes y atractivas ha sido criticada ya que en ese modelo se produciría una distorsión excesiva en los ángulos de los enlaces de hidrógeno adicionales, requeridos para estabilizar la banda del ribopolinucleótido.

Mencionaremos que existe otra alternativa⁵⁵ para la realización de este mecanismo, la cual sugiere que el carácter de doble espiral del ADRN permanezca intacto. Sin embargo, el apareamiento de las bases se modificaría para permitir el enlace de hidrógeno de ambos miembros de cada par de bases, con una base de la molécula del ARN.

El segundo problema (b), es decir, sobre el traspaso de información a partir del ARN hacia la proteína, llamado también "problema de la codificación", fue primeramente abordado desde un punto de vista puramente teórico por Gamow, Rich e Ycas.⁵⁶ Estos autores emitieron una hipótesis que plantea la posibilidad de que cuatro bases puedan regular la secuencia de veinte aminoácidos; o sea que el arreglo "lineal y secuencial de sólo cuatro bases" impartirá la especificidad en las proteínas por medio del arreglo que tienen los aminoácidos dentro de esta molécula. La distribución más adecuada según estos autores sería la de tripletes de nucleótidos, ya que las cuatro bases al cubo nos daría un arreglo posible de 64 combinaciones, número suficiente para gobernar los veinte aminoácidos. Sobre

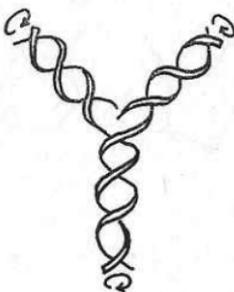


FIG. 29. Modelo de Levinthal-Crane⁵⁴ para el desenrollamiento del ADRN.

este asunto Crick⁵⁷ ha indicado recientemente que de todas las distintas posibilidades sugeridas para un código genético en la síntesis de proteínas, la más probable debe ser la que se encuentra formada por tripletes que no se sobrepongan estructuralmente. El trabajo experimental referente a la composición de

estos tripletes se encuentra actualmente en estudio y ya han comenzado a aparecer trabajos como los de Nirenberg⁵⁸ y Ochoa.⁵⁹

BIBLIOGRAFIA

1. Citado por Potter Van R.: *Nucleic Acid Outlines*. Vol. 1:10, 1960.
2. Levene, P. y Baas, L.: *Nucleic acids*. Chem. Catalog Co. New York, 1931. Citado por Steiner, R. F. y Beer, R. F.: *Polynucleotides*. Elsevier Publishing Co., 1961.
3. Vischer, E. y Chargaff, E.: *J. Biol. Chem.*, 168:781, 1947.
- 4a. Chargaff, E.: *Federation Proc.*, 10:654, 1951.
- 4b. Chargaff, E.: *Experientia*, 6:201, 1950.
- 5a. Dunn, D. B. y Smith, J. D.: *Nature*, 175:336, 1955.
- 5b. Dunn, D. B. y Smith, J. D.: *Biochem. J.*, 68:627, 1958.
6. Littlefield, J. N. y Dunn, D. B.: *Nature*, 181:254, 1958.
7. Adler, M., Weisman, B. y Gutman, A.: *J. Biol. Chem.*, 230:717, 1958.
- 8a. Wyatt, G. R.: *Nature*, 166:237, 1950.
- 8b. Wyatt, G. R.: *Biochem. J.*, 48:581, 1951.
9. Amos, H. y Korn, E. D.: *Biochem. Biophys. Acta*, 29:444, 1958.
10. Wyatt, G. R. y Cohen, S. S.: *Nature*, 170:1072, 1952.
11. Sinsheimer, R. L.: *Science*, 120:551, 1954.
12. Volkin, E.: *J. Am. Chem. Soc.*, 76:5892, 1954.
13. Davis, F. F. y Allen, F. W.: *J. Biol. Chem.*, 227:907, 1957.
14. Cohn, W. E.: *J. Biol. Chem.*, 235:1488, 1960.
15. Kemp y Allen, F. W.: *Biochem. Biophys. Acta*, 28:51, 1958.
16. Steiner, R. F. y Beers, R. F.: *Polynucleotides*, págs. 66-72. Elsevier Co., 1961.
- 17a. Watson, J. D. y Crick, F. H.: *Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.*, 18: 113, 1956.
- 17b. Watson, J. D. y Crick, F. H.: *Nature*, 171:737-964, 1953.
18. Atsburgy y Bell.: *Nature*, 141:747, 1938.
19. Furberg, S.: *Acta Chem. Scand.*, 6:634, 1952.
- 20a. Pauling, L. y Corey, R.: *Arch. Biochem. and Biophys.*, 65:164, 1956.
- 20b. Pauling, L. y Corey, R.: *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.*, 29:84, 1953.
21. Gulland, J., Jordan, D. y Taylor, J. D.: *J. Chem. Soc.*, pág. 113, 1947.
- 22a. Bessman, M. J., Lehman, I. R., Simms, E. S. y Kornberg, A.: *Fed. Proc.*, 16:153, 1958.
- 22b. Kornberg, A.: *A symposium on molecular Biology*. 31:46, 1959.
23. Ochoa, S.: *Fed. Proc.*, 15:832, 1956.
24. Brachet, J.: *The Nucleic Acids.*, Vol. II, pág. 475, 1955.
25. Davidson, J. N.: *Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.*, 1259, 1947.
26. Caspersson, T.: *Symp. Soc. Exptl. Biol.*, 1:127, 1947.
- 27a. Palade, G. E.: *J. Histochem. and Cytochem.*, 1:188, 1953.
- 27b. Palade, G. E.: *J. Biophys. Biochem. Citol.*, 1:59, 1955.
28. Howard, A. y Pelc, S. R.: *Exp. Cel. Res.*, 2:178, 1951.
29. Prescott, D.: *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 6:203, 1959.
30. Schneider, W. C. y Potter, V. R.: *J. Biol. Chem.*, 177:893, 1949.
31. Hogeboom, G. H., Schneider, W. C. y Pallade, G. E.: *J. Biol. Chem.*, 172:619, 1948.
32. Boivin, A., Vendrely, R. y Vendrely C.: *Comp. Rend.*, 226-1061, 1948.
33. Smellie, R. M. S., Chargaff, E. y Davidson, J. N.: *The nucleic acids*. Vol. 2, New York, Academic Press., 1955.
- 34a. Riley, M. Pardee, A. B., Jacob F. et Monod, J.: *J. Mol. Biol.*, 2:216, 1960.
- 34b. Brenner, S., Jacob, F. y Meselson, M.: *Nature*, 190:576, 1961.
- 34c. Gros, F. y Hiatt, H.: *Vth International Congress of Biochemistry Symposium N° 1*, reprint 218, Moscú, agosto, 1961.
35. Meselson, M. y Stahl, F. W.: *Proc. Soc. Nat. Acad. Sci. U.S.*, 44:671, 1958.
36. Citado por Anfinsen Christian, B.: *The molecular basis of evolution*, pág. 57, 1959.
37. Taylor, J. H., Woods, P. S. y Huges, W. L.: *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.*: 43:122, 1957.
38. Griffith, F.: *J. Hyg.*, 27-113, 1928. Citado por Steiner-Beers., *Polynucleotides*, pág. 322, 1961.

39. Avery, O., Macleod, C., McCarty, M.: J. Exp. Med., 79-137, 1944.
40. Marmur, J. y Hotchkiss, R. D.: J. Biol. Chem., 214, 383, 1955.
- 41a. Mills, G. T.: Fed. Proc. Vol. 19, N° 4, 991, 1960.
- 41b. Austrian, R., Bernheimer, H. P., Smith, E. E. B. y Mills, G. T.: Journal of Exp. Med. Vol. 110, N° 4, 585, 1959.
42. Mills, G. T., Ondarza, R. N., Smith, E. E. B.: Biochem. Biophys. Acta 14-159, 1954.
43. Hershey, A. y Chase, M.: J. Gen. Physiol. 36-39, 1952.
44. Freese, E.: International Congress of Biochemistry, Moscow. Symposium 1. Reprint 163, 10th-16th August, 1961.
- 45a. Ondarza, R. N.: V. Congreso Nal. de Ciencias Fisiológicas. U.N.A., S.L.P., 1962.
- 45b. Ondarza, R. N.: Octavo Congreso Latinoamericano de Química, Buenos Aires, Argentina, 16-22, Sep., 1962.
46. Lawley, P. D. y Brookes, P.: Nature, Vol. 192, N° 4807, pp. 1081-1082. December 16, 1961.
47. Caspersson, T.: Citado por Hultin, T. y von Der Decken, A.: Protein Biosynthesis, pág. 83, ed. Harris, R. J. C., 1961. Academic Press.
48. Brachet, P.: Citado por Hultin, T. y von Der Decken, A.: Protein Biosynthesis, pág. 83, ed. Harris, H. J. C., 1961. Academic Press.
49. Hoagland, M. B.: *Structure and Function of Genetic Elements Brookhaven Symposia in Biology*. Number 12, June, pág. 41, 1959.
50. Hoagland, M. B.: Biochem. Biophys. Acta, 16:288, 1955.
51. De Moss, J. A., Genuth, M. Saul y Novelli, G. David.: *Proceeding of the National Academy of Sciences*. Vol. 42, N° 61, pp. 325-332, June, 1956.
- 52a. Ondarza, R. N.: V International Congress of Biochemistry. Sección 3, pág. 77, Moscow, 1961.
- 52b. Ondarza, R. N. y Aubanel, M.: Biochem. Biophys. Acta. 44, 381-383, 1960.
- 52c. Ondarza, R. N.: Biochem. Biophys. Acta, 59:728-730, 1962.
53. Stent, G.: Advc. Virus Research 5:95, 1958.
54. Levinthal, C. y Crane, H.: Proc. Nat. Acad. Sci., 42:436, 1956.
55. Zubay, G.: Nature, 182:388, 1958.
- 56a. Gamow, G., Rich, A., Ycas, M.: *Advances in Biological and Medical Physics IV*. Lawrence J. H. and Lawrence, J. G., Editor. Academic Press, New York, 1955.
- 56b. Gamow, G.: Nature 173, 318, 1954.
- 57a. Crick, F. H. C.: Brookhaven Symposia in Biology. Number 12, 35, 1959.
- 57b. Crick, F. H. C.: Symp. Soc. Expl. Biol., 12, 138, 1958.
- 57c. Crick, F. H. C., 418th Meeting Proceed. of the Biochem. Soc. July, 1962 (Cambridge.)
58. Nirenberg, M. W. y Matthaei, J. H.: Proc. Nat. Acad. Sci., 47:1588, 1961.
59. Speyer, J. F., Lengyel, P., Basilio, C. y Ochoa, S.: Proc. Nat. Acad. Sci., 48:441, 1962.

Abreviaciones. ARN = ácido ribonucleico; = ADNR ácido desoxirribonucleico; ATP = trifosfato de adenosina; UTP = trifosfato de uridina; UDPG = uridin difosfato de glucosa; UDPGA = uridin difosfato de ácido glucourónico; UDPGaA = uridin difosfato de ácido galactourónico; A = adenina; G = guanina; C = citosina; T = timina; U = uracilo; DNP-AMP = dinitrofenil adenilico; AA = aminoácido; AA-AMP = aminoacil adenilato; E = enzima; P-O-P = pirofosfato; ARNS = ácido ribonucleico soluble; SI = neumococo capsulado tipo I; S-I₁ = neumococo no capsulado tipo I variedad 1; S-I₂ = neumococo no capsulado tipo I variedad 2; E₁ = uridil transferasa; E₂ = deshidrogenasa del UDPG; E₃ = epimerasa del UDPGA; E₄ = polimerasa.

COMENTARIO AL TRABAJO DEL DR. RAUL ONDARZA
"LAS FUNCIONES BIOLÓGICAS DE LOS
ACIDOS NUCLEICOS"*

DR. DANIEL NIETO ROARO

ES PARA mí un alto honor el haber sido comisionado para comentar el trabajo de un nuevo miembro de esta H. Corporación médica de México que representa el más alto valor académico dentro del país. Mi carácter de presidente de la Sección de Biología es lo que ha determinado que tuviera esa suerte y me siento orgulloso de ello.

El señor doctor Raúl Ondarza Vidaurreta es biólogo y doctor en Biología, egresado de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México, en donde yo he sido catedrático. El Dr. Ondarza fue también un trabajador del Instituto de Biología de esta Universidad en donde yo, asimismo, he pasado los mejores años de mi vida como investigador de esa institución. Es pues por todo eso que me siento complacido que por primera vez entre a esta Academia un hijo de la Facultad de Ciencias ya que los que aquí estamos somos derivados de dos escuelas: de la Facultad de Medicina y de la Facultad de Ciencias. Esta vez no es un médico el que se incorpora a nosotros, sino un biólogo dedicado exclusivamente al estudio de problemas bioquímicos.

Como trabajo de ingreso nos presenta el Dr. Ondarza un resumen de los conocimientos actuales sobre las funciones biológicas de los ácidos nucleicos y, realmente, no podía haber encontrado algo que interesara más a esta docta Academia que este aspecto químico de la ciencia biológica actual.

Toda una ciencia importantísima en estos tiempos, la Genética trata del estudio de la herencia y sus relaciones con los genes, o sea partículas localizadas en los cromosomas de las células. Proyecciones de gran alcance tiene esta ciencia hacia los estudios de la evolución de los seres vivos, o hacia la aplicación en la práctica de selección de especies. Esos genes ya anunciados por Gregorio Mendel en sus inolvidables estudios en los chícharos son la base actual de cualquier conocimiento que se tenga por serio sobre la herencia. El hecho de que Mendel los

* Leído en la sesión del día 22 de agosto de 1962.

llamara "Factores" en vez de genes, que los llamamos actualmente, no es más que un detalle. Todo aquel que se haya aventurado por el camino de las ciencias biológicas habrá tenido que luchar a brazo partido con las fórmulas para el estudio de la herencia.

Era natural que los químicos enfocaran sus baterías hacia resolver el problema, de la naturaleza química de esos genes. Existen varios procedimientos para ello. El sistema más directo es aislarlos y efectuar en ellos análisis químicos, y se han ideado métodos para lograrlo. Primeramente se rompen las células enteras cuidando bien que los núcleos queden intactos, por centrifugaciones y "lavados" esos núcleos quedan intactos y separados del resto protoplásmico. Luego se rompen los núcleos suavemente y quedan los cromosomas filiformes microscópicos libres. Así separados esos cromosomas vemos que están compuestos de nucleoproteínas. Estas nucleoproteínas son asociaciones no bien interpretadas todavía de una proteína y un ácido nucleico: el ácido desoxirribonucleico. Siendo las proteínas cadenas constituidas por varios centenares o miles de aminoácidos, los ácidos desoxirribonucleicos son a su vez cadenas de miles de unidades más pequeñas llamadas nucleótidos. Cada nucleótido consta de un azúcar de cinco carbonos (pentosa), un fosfato y una estructura en forma de anillo de purina o pirimidina que contiene nitrógeno y se llama base. Los nucleótidos del ácido desoxirribonucleico son de cuatro clases, que contienen una de las dos purinas, adenina o guanina, o una de las dos pirimidinas, citosina o tiamina. Hasta hace poco tiempo la teoría tetranucleotídica era universalmente aceptada (esta teoría aseguraba la regularidad de la distribución de los nucleótidos siempre en el mismo orden en una cadena larga). Como consecuencia de esto la especificidad del gene debía explicarse por la función de la substancia proteica. Pero en la actualidad se sostiene que las secuencias de los nucleótidos son ampliamente diferentes en las moléculas de ácido desoxirribonucleico y esto cambia por completo su significado biológico.

Interesante trabajo nos ha presentado en resumen el Dr. Ondarza a quien felicito y con toda cordialidad le doy la bienvenida a esta H. Academia Nacional de Medicina.