

LA HERENCIA A NIVEL MOLECULAR Y CITOLÓGICO*

DR. RAÚL ONDARZA V.**

INTRODUCCIÓN

EL FENÓMENO de la herencia ocupa actualmente un lugar importante en el campo de la biología, particularmente en el de la genética y la bioquímica, debido a que las estructuras que regulan y mantienen la transmisión de las características hereditarias se encuentran ligadas directamente al estudio de los ácidos nucleicos. Es necesario por lo tanto de acuerdo con los criterios actuales, integrar los conocimientos de orden citológico con los alcanzados recientemente a un nivel molecular.

Para esto consideremos primeramente cómo se dividen las células y qué leyes son las que rigen la transmisión de las características genéticas.

Los organismos formados por un número variable de células, desde una sola hasta miles de millones según la especie de que se trate, utilizan dos tipos de división celular conocidos como de "mitosis" y "meiosis".

En el caso de algunas células somáticas o de las células huevo (digamos por ejemplo en la especie humana con 23 pares de cromosomas) se pueden producir dos, cuatro, ocho, diez y seis células, etc., hasta llegar a integrar un organismo completo (como en el caso de la célula-huevo) pero manteniéndose siempre el número específico de cromosomas en cada nueva generación de células. Para mantener ese número específico de cromosomas en cada célula será necesario asimismo que el material químico que forma parte de la cantidad cromosómica se duplique en algún momento, previamente a cada división celular (ver capítulo sobre la duplicación del material genético²¹). A este mecanismo de división celular indirecta, se le conoce como de mitosis. (Fig. 1).

Además de la división celular por mitosis, los organismos que se reproducen

* Trabajo leído por su autor en la sesión ordinaria del 11 de septiembre de 1963.

** Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina U.N.A.M.

sexualmente pueden formar células especializadas (como el espermatozoide y el óvulo en los animales) por un procedimiento diferente de "meiosis" donde las células germinales o gonias sufren dos divisiones sucesivas para producir cuatro células haploides, es decir con un número de cromosomas reducido a la mitad en razón del fenómeno de reducción cromática, presente en una de esas divisiones. (Fig. 2).

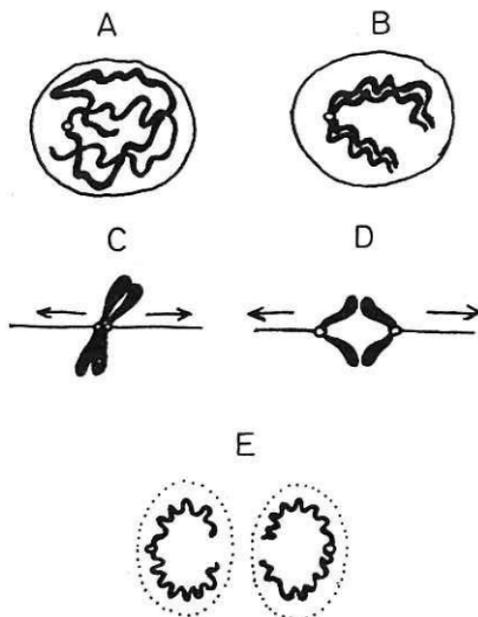


FIG. 1. División del material cromosómico por mitosis en la célula de cebolla. (En esta figura se representa sólo un cromosoma). La cebolla género *allium cepa* tiene 16 cromosomas: A, interfase; B, profase; C, metafase; D, anafase y E, telofase.

En este último ejemplo la reducción cromática asegura la conservación del número de cromosomas de la especie ya que al unirse las dos gametas para formar el huevo contribuyen solamente con la mitad del material cromosómico.

Mendel¹ en el año de 1865 fue el primero en encontrar las leyes que gobiernan el paso de las características hereditarias, aunque por espacio de 36 años pasaron inadvertidos sus estudios hasta que, Correns, Tschermarck y De Vries,¹ las redescubren en el año de 1901.

Estas leyes fueron estudiadas con vegetales que difieren en el color de sus

flores (rojas y blancas) como el chícharo de jardín. Se observó que en la primera generación llamada F1, todas las flores aparecían de color rojo, indicando un carácter dominante del rojo sobre el blanco, y que éste último resultaba recesivo. (Fig. 3).

Sin embargo, cuando se cruzaban plantas entre sí de flores rojas procedentes de la generación F1 (obtenidas por cruzamiento de una roja con una blanca), se encontraba que en la segunda generación llamada F2, solamente un cuarto

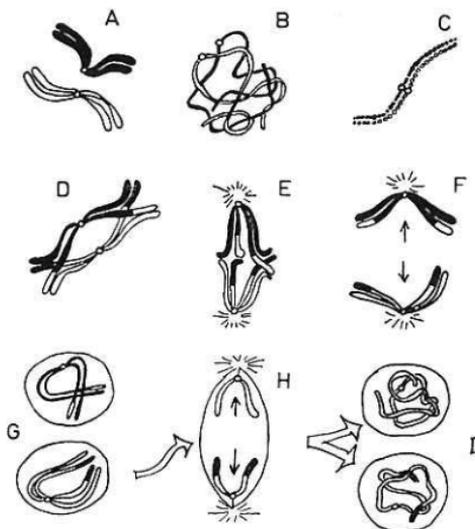


FIG. 2. Diseño esquemático de los estadios de la meiosis. (Se representa únicamente un par de cromosomas.) El cromosoma en negro en el paterno y el materno en blanco. Nótese en D el fenómeno del "crossing over". (Tomado de T. Dobzhansky, *Evolution, Genetic and Man*, Ed. J. Willey & Sons, 1955.)

de la población producía flores blancas y tres cuartas partes flores rojas. O sea que cualquier carácter particular, presente como una unidad hereditaria, no se mezcla sino que se mantiene individualizado durante la generación F1 y se separa más tarde en la siguiente generación. A este carácter o unidad se le llamó forma "alélica", y a las unidades hereditarias se les llamaron "genes" por Johansen, en 1911. A un organismo con ambas formas alélicas como en el caso de la generación F1 con caracteres de flores rojas y blancas, se le denomina "heterocigótico" y al que posee doble dosis de la misma forma alélica, rojo o blanco pero solamente una de las dos se le llama "homocigótico".

La primera ley se llama de la *segregación* y la frecuencia en los caracteres (de las plantas con flores rojas y blancas) es en la segunda generación de 3:1. De las plantas con flores rojas, una tercera parte es homocigótica y dos terceras son heterocigóticas.

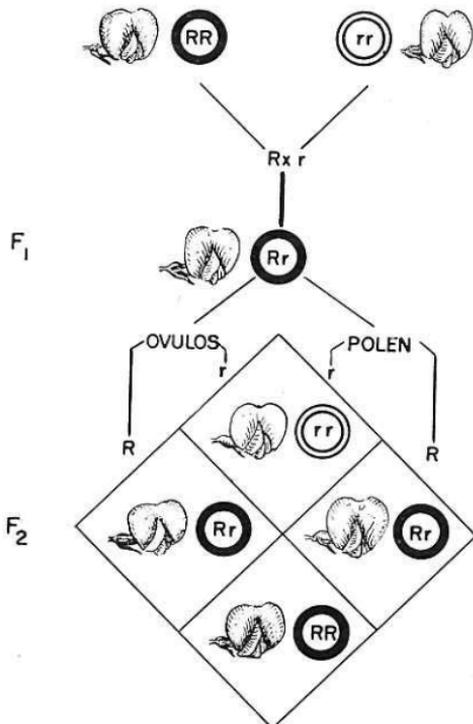


FIG. 3. Primera ley de Mendel o ley de la segregación, que muestra las características fenotípicas del chícharo de jardín cuando se cruzan variedades de flores rojas (R.R) con flores blancas (r.r.). El rojo es dominante sobre el carácter blanco. (Tomado de T. Dobzhansky, *Evolution Genetics and Man*. E. J. Wiley & Sons, 1955.)

La segunda ley la descubrió este mismo investigador trabajando con algunos chícharos que presentan dos o más características diferentes, como por ejemplo: plantas con semillas "amarillas" y "lisas" y otras de apariencia "rugosa" pero "verdes". El sabía de antemano que el carácter responsable del color "amarillo" así como el del carácter "liso" eran dominantes sobre los caracteres "verde" y

doble de las características recesivas. A esta segunda ley se le conoce también como de la *distribución independiente* de los rasgos genéticos.

En realidad Mendel tuvo la gran suerte de escoger grupos de caracteres que se segregan y recombinan para dar el cociente teórico de 3:1, ya que en varios casos este cociente no puede obtenerse, puesto que algunos genes se segregan en grupo como si estuvieran pegados o unidos, aunque en otras condiciones muestran también una segregación independiente. Esto lo demostró Morgan trabajando con la mosca *Drosophila* ya que en este organismo la separación es explicable por el intercambio que toma lugar entre los fragmentos de cromoso-

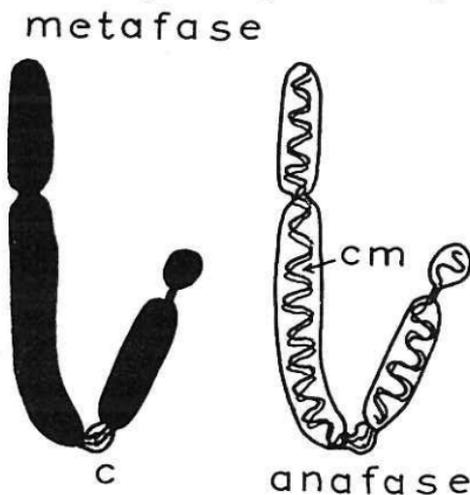


Fig. 5. Representación esquemática de la morfología de un cromosoma. (Según E. D. P. De Robertis y col., ref. 1.)

mas durante la formación de los chiasmas o entrecruzamientos. Según Morgan² la frecuencia en la separación o en la recombinación de los caracteres, es una función lineal de la distancia que los separa. Dicho de otra manera, la probabilidad de que se realice un "chiasma" entre dos genes distantes será mayor que la que se presente entre dos genes cercanos, de este modo se puede calcular aproximadamente la separación entre los genes.

ORGANIZACIÓN DEL CROMOSOMA

Morfología del cromosoma. Los cromosomas son estructuras biológicas organizadas que transmiten el material genético de una generación a otra. Son

asimismo las entidades responsables de los fenómenos de variación, mutación, evolución y control de la morfogénesis.

Son visibles al microscopio ordinario, durante la metafase y anafase, como cilindros compactos de tamaño y forma característica. Tienen una consistencia sólida y se tiñen intensamente por medio de colorantes básicos como la hematoxilina así como por el reactivo de Feulgen, además absorben fuertemente la luz ultravioleta en la región de los 260 $m\mu$.

Todo cromosoma se encuentra formado por dos brazos de dimensiones variables pero características de la especie. El lugar donde se reúnen estos brazos se encuentra ocupado dentro de una estrangulación, por el centrómero, el cual se relaciona con los movimientos del cromosoma durante la división celular. (Fig. 5). En algunos cromosomas es común encontrar a lo largo de éstos, diferenciaciones visibles al microscopio ordinario como una serie de bandas oscuras (teñibles con carmín acético) y claras, especialmente en los cromosomas gigantes politénicos y plumulados presentes en las glándulas salivales de insectos así como en ovocitos de vertebrados. Si se estudian estos cromosomas por técnicas especiales (acción de ácidos o del calor) se puede poner de manifiesto la presencia de un filamento enrollado en espiral y colocado a lo largo del cromosoma. A esta espiral se le denomina "cromonema". Su enrollamiento es helicoidal y de un grado variable que depende del estadio donde se encuentre la célula durante su ciclo de división.

Especialmente durante la profase de la meiosis se observan a lo largo del cromosoma unas pequeñas partículas que parecen las cuentas de un rosario. A estas pequeñas estructuras se les llama "cromómeros".

El cromosoma tal como lo hemos descrito presenta un aspecto diferente cuando se le estudia a un nivel molecular ya sea con el microscopio electrónico o por técnicas de difracción con rayos X. Desde finales del siglo XIX se sugirió que el cromosoma consiste de dos cromátidas y más recientemente que estas dos se encuentran formadas por medias cromátidas y cuartos de cromátida. De esta manera un cromosoma en sección transversal consistiría de ocho filamentos o bandas. En efecto se sugiere³ que antes de efectuarse la síntesis del ADRN, el cromosoma consiste de 8 bandas con un diámetro de 200 a 250 Å (Fig. 6) que se encontrarían integradas por fibras de 100 Å aproximadamente y éstas a su vez por pares de fibras de 35 a 40 Å.

Se cree que estas fibras corresponden cada una a la molécula de ADRN con una proteína unida a ella, o sea que en varios cromosomas de plantas y animales deben encontrarse 32 moléculas de ADRN antes de la síntesis y 64 después de esta síntesis en profase y metafase.

Trabajando con modelos a escala, Wilkins⁴ ha calculado que las moléculas de ADRN en los cromosomas de la porción cefálica del espermatozoide, se encuentran por pares y separadas 25 Å una de otra. La molécula tiene 20 Å

de diámetro tal como lo demuestra el estudio de difracción por rayos X y la microscopía electrónica, así que la fibrilla formada por dos moléculas de ADRN tiene un diámetro del orden de 70-75 Å. Se ha apreciado además por microscopio electrónico que los cromosomas vegetales y animales en la fase leptoténica tienen filamentos de 60-75 Å y que a medida que entran a la metafase se ensanchan hasta formar unidades de 100 Å; estas fibrillas son las que observa normalmente cualquier microscopista electrónico durante la mitosis. Aunque en las formas biológicas inferiores no se habla de un núcleo diferenciado, Marshak⁵ ha encontrado en las bacterias que sus "cromosomas"

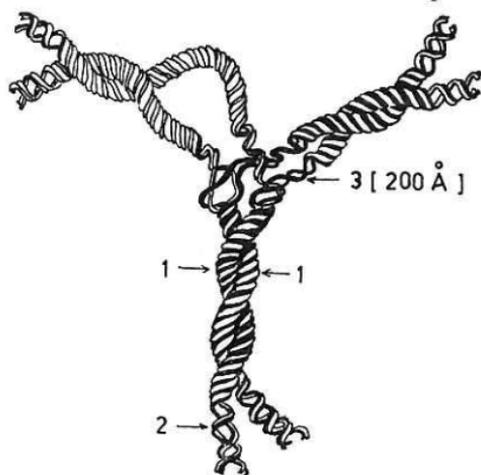


FIG. 6. Modelo teórico para mostrar la estructura multibandeada del cromosoma, según D. Steffensen. (Ver Ref. 3).

consisten de hélices de 60 Å en diámetro y que pueden separarse a su vez cada una en dos bandas. Según otros estudios⁶ puede aceptarse que el "cromosoma" de *E. coli* es un manojo formado por 8 moléculas de ADRN y en el fago T₂ según Levinthal⁷ por 4 moléculas de ADRN arregladas en un paquete con un peso de 50 millones.

Interpretación de la morfología. Pero ¿cómo se arreglan estas moléculas de ADRN y cómo se correlacionan las observaciones a nivel molecular con la conducta del cromosoma según la obtenemos por medio de pruebas estrictamente genéticas, o por observaciones directas al microscopio óptico? En realidad la estructura propuesta para el cromosoma como la de un elemento multibandeado no explica todos los problemas que surgen después de conocer el comportamiento de los genes durante la duplicación del material genético.

Consideremos primeramente algunos conceptos que deben tomarse en cuenta en la organización del cromosoma; aceptando por una parte que éstos son los que prácticamente contienen la información genética almacenada en la molécula del ADRN y de que por otra durante la mitosis se dividen uniformemente pasando la información a las dos células hijas.

1º Cada gene se encuentra representado una sola vez en cada cromosoma homólogo.

2º Los genes se ordenan linealmente y en un número fijo.

3º Un solo impacto de energía de radiación puede romper al cromosoma.

4º La acción de la desoxirribonucleasa seguida por una proteinasa disuelve al cromosoma, lo cual no es efectivo si actúan separadamente estas enzimas.

5º Antes de duplicarse, el cromosoma contiene el doble en cantidad de ADRN y esta cantidad se distribuye por partes iguales a las dos mitades cromosómicas.

6º El cromosoma varía de forma, siendo muy alargado en la interfase, menos largo en la profase y corto y grueso en la anafase.

Si aceptamos todos estos conceptos podemos eliminar varios modelos propuestos para la distribución espacial del ADRN en el cromosoma (Fig. 7). Como

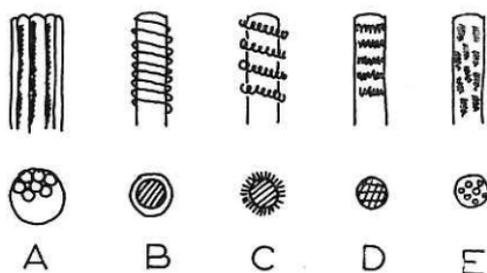


FIG. 7. Modelos propuestos para la distribución espacial del ADRN en el cromosoma. (Tomado de Ch. Kuyper, Ver Ref. 8.)

se sabe el cromosoma en la metafase tiene un tamaño de $4 \times 1\mu$; y si el grueso de la doble hélice de ADRN es de 30 \AA , entonces se podrían arreglar por cromosoma 1,300 vueltas cada una con una longitud de $(2\pi \times 0.5\mu) = 3\mu$ o sea 1 molécula de ADRN/vuelta. (véase modelo B). De esta manera no tendríamos suficientes cromosomas para almacenar el número calculado de 6×10^5 moléculas, considerando que la cantidad presente de ácido nucleico por célula es de $6 \times 10^{-12} \text{ g.}$ y el PM de 6×10^6 .

Si ahora tomamos una espiral pequeña con vueltas de 100 \AA de diámetro, la longitud del ADRN en cada vuelta sería alrededor de 300 \AA . Con un em-

paquetamiento cerrado se podrían arreglar en la circunferencia del cromosoma 1000 vueltas y en la longitud de 4μ se acomodarían 400 vueltas grandes. La longitud total del ADRN sería $400 \times 1000 \times 300 \text{ \AA} = 12 \times 10^7 \text{ \AA} = 4000$ ADRN moléculas/cromosoma, lo cual aún no satisface el número calculado. (Véase modelo C)

Los modelos D y E son muy improbables ya que de esta manera no se podría cumplir el enunciado 2º que dice que los genes se ordenan linealmente y en un número fijo.

Finalmente un modelo multibandeado como el descrito anteriormente (mo-

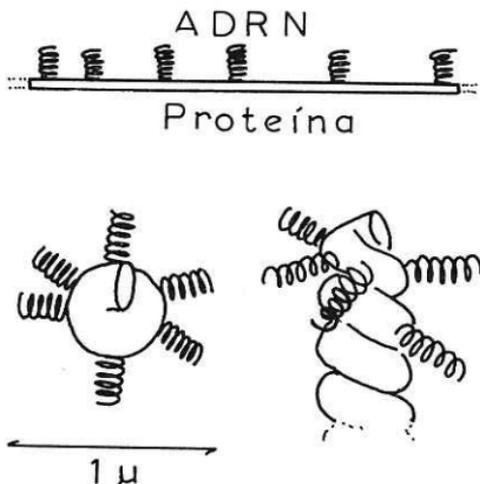


FIG. 8. Modelo propuesto para la distribución especial del ADRN en el cromosoma. (Según Kuyper, 1962.)

delo A) se contrapone con el concepto enunciado en el inciso 1º es decir que el gene se encuentra representado una sola vez en el cromosoma.

Según Kuyper⁸ el modelo más apropiado para acomodar la cantidad de ADRN calculado por célula y de acuerdo con el número y dimensiones de los cromosomas humanos sería el de una molécula proteica espiralizada sirviendo de sostén a las moléculas del ADRN. (Fig. 8).

Estas moléculas de ADRN estarían fijadas sobre una banda de proteína de 100 \AA de grueso formando asas de 0.4μ de diámetro. Cada banda de proteína tendría una circunferencia de 1.2μ y serviría para insertar a 120 moléculas de ADRN. Como el número de vueltas de la banda proteica en el cromosoma (de 4μ de largo) sería de 400, un número total de 48,000 moléculas por doceromo-

somas sería suficiente para acomodar todo el ADRN celular.* Otra pregunta de gran interés es la que se relaciona con la diferenciación longitudinal del cromosoma. ¿Qué significado tienen los cromómeros? Según Ris⁹ no hay interrupciones en la continuidad lineal de las fibras ya que él encuentra una estructura continua de las bandas cromosómicas. Entre otros autores concluye que los cromómeros visibles en cromosomas completamente extendidos (fase leptoténica) no son sino giros firmes del nuevo enrollamiento que aparece en la profase. Aun más en el microscopio electrónico se ven los cromómeros como conteniendo las mismas fibrillas presentes en los segmentos intercromoméricos. Así que por otra parte, ¿qué son entonces las bandas que se tiñen firmemente y las que no se tiñen en los cromosomas de la glándulas salivales de los dípteros? Nuevamente sucede lo mismo que en el caso anterior. Aunque el cromosoma puede estar separado en bandas más delgadas, la fotografía electrónica demuestra que las bandas consisten de microfibrillas como las presentes en los segmentos de las interbandas, pero grandemente torcidas y apretadas en paquetes muy juntos. Podríamos decir que la diferencia entre "eucromatina" y "heterocromatina" se establece en el grado de espiralización del cromosoma y que éste es continuo a través de ambas zonas que consisten de una misma fibrilla básica de 200 Å en diámetro. No se ha encontrado hasta ahora ninguna diferencia química entre las dos formas.

CONCEPTO Y FUNCIÓN DE LOS GENES

Tipos de genes. En el sentido clásico, el término "gene" tiene un significado puramente operacional y puede ser aplicado a *cualquier unidad hereditaria que al sufrir una mutación puede identificarse por un cambio en el fenotipo*. Sin embargo recientemente con los avances en el conocimiento de la bioquímica y la genética se han tenido que acuñar nuevos términos que expliquen más ampliamente sobre lo que debemos entender por "gene".

De acuerdo con el criterio de Benzer,¹⁰ el gene no es simplemente un concepto operacional sino que cuando menos implica a tres operaciones diferentes: *mutación, recombinación y función*, y estas tres unidades no son las mismas en los tres casos citados.

Tenemos así una "unidad funcional" que puede ser definida por medio de la prueba genética de *Cis-trans*. Es decir que si dos mutantes al encontrarse en la configuración *trans* dan un fenotipo mutante defectuoso, deberá concluirse que son defectuosas en la misma unidad funcional; mientras que las mutantes en un arreglo *cis* generalmente son normales, (Fig. 9). Las mutantes así identificadas pertenecen por lo tanto a la misma unidad funcional genética o *cistrón*. Lo anterior se aplica solamente a genes recesivos ya que los genes dominantes darán un

* Una célula de mamífero contiene alrededor de 6×10^{12} de g. de ADRN o sean 6×10^5 moléculas.

fenotipo mutante a pesar de estar en lugares genéticos diferentes. Ahora bien el nuevo término genético *cistrón* (unidad genética funcional) es a su vez subdivisible por pruebas genéticas en unidades más pequeñas denominadas *recones* y estos otros (el *recon*), son los elementos más pequeños dentro del arreglo unidimensional de las unidades genéticas que son intercambiables pero no divisibles por recombinación genética. Por último, se le denomina *muton* al elemento más pequeño que cuando se altera por algún mecanismo pueda dar origen a una forma mutante.

Otro aspecto importante que debe ser señalado para aclarar el concepto de gene es el que se relaciona a su tamaño ya que este dependerá de la sensibilidad en el método utilizado para determinar los entrecruzamientos extre-

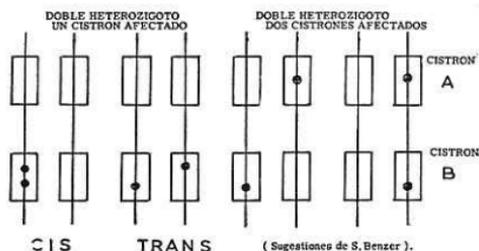
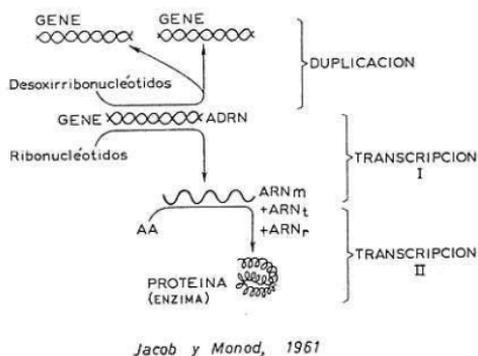


FIG. 9. En esta figura se representa la subdivisión de un gene funcional en "cistrones", los cuales deben cooperar para producir una expresión en el fenotipo. Tenemos así que cuando se presentan dos mutaciones en el mismo "cistrón" pero en posición *cis* el gene es normal, y cuando están en posición *trans* dentro del mismo cistrón, el gene no es funcional. Cuando las mutaciones están en diferentes cistrones, los genes son funcionales independientemente de que se encuentre la mutación en posición *cis* o *trans*. Estas sugerencias han sido hechas por S. Benzer después de trabajar con mutaciones en fagos T₂ cuando infectan a la bacteria del colon, *Escherichia coli*. (Tomado de S. Benzer, Ref. 10.)

madamente infrecuentes. Por ejemplo la medida obtenida por "crossing over" según Muller y Prokofyeva² de cuatro genes localizados en el cromosoma gigante de la glándula salival de la mosca *Drosophila*, se encuentra dentro de una distancia de 0.5 micras, o sea que cada gene no sobrepasa a la longitud de 1250 Å. Por otra parte, la medida que se obtiene utilizando el efecto de la radiación ionizante sobre la frecuencia de mutación, corresponde en el caso de un simple gene a un volumen de una esfera con un diámetro de 10 a 100 Å. Esta discrepancia entre los datos obtenidos por entrecruzamiento y los de radiación nos inclina a pensar que se están midiendo dos aspectos distintos

en la estructura del gene, (muton o recon) tal como lo ha sugerido Benzer. Es muy posible que en un futuro cercano se podrán identificar a los genes, que se conocen desde un punto de vista genético, con grupos definidos de nucleótidos arreglados a lo largo de la cadena del ácido desoxirribonucleico, ya que actualmente se tienen datos teóricos y experimentales que establecen los códigos genéticos en el ácido ribo y desoxirribonucleico en la síntesis de proteínas.

Función de los genes. Según los conceptos actuales, la secuencia de los desoxirribonucleótidos dentro de la molécula del ADRN es la que constituye al "gene", Crick).¹¹ Este gene o genes participan en dos procesos químicos fundamentales que se denominan según Jacob y Monod¹² como de: "duplicación" y "transcripción". (Fig. 10)



Jacob y Monod, 1961

FIG. 10. Esquema propuesto por Jacob y Monod (1961) para las funciones químicas del gene. (El modelo ha sido modificado ligeramente por el autor de este artículo.)

En el primer caso el ADRN se duplica, previo desenrollamiento de sus hélices o bandas, por síntesis de nuevo material a partir del molde previamente fijado por la secuencia de los desoxirribonucleótidos. (Este tema se trató en el último capítulo de "Las funciones biológicas de los ácidos nucleicos",²¹ (Ver Gaceta Médica de México, Noviembre, 1962) y en "Temas de la Biología Molecular",²²

En el segundo caso denominado de "transcripción" el gene realiza su actividad fisiológica, especificando o codificando los aminoácidos que forman la estructura de una proteína o de una cadena polipéptida. Este proceso, efectuado por el gene estructural, no es un proceso directo, es decir la proteína no se sintetiza a nivel de este gene sino que se utiliza un intermediario que lleva la información genética (ácido ribonucleico mensajero). La caracterización de este intermediario ha sido realizada por varios investigadores como Gross y col.¹³, en *E. coli*

normal e infectada con el fago T2 y por varios otros más recientemente, como Beljansky¹⁴ (1962) en *Alcaligenes faecalis* y por Hiatt¹⁵ (1963) en núcleos de células hepáticas. La etapa de la "transcripción" se efectúa cuando los aminoácidos quedan acomodados en cadena polipéptida con la participación de otros nucleicos como el ARN "soluble", el "microsomal", el "mensajero", energía (dada por el ATP con participación del GTP de una manera no bien conocida) y catalizadores apropiados (enzimas activadoras y otras).

Para abordar el problema de la transcripción debemos tomar en cuenta dos aspectos: a) el que se refiere a la manera como los genes regulan la velocidad de síntesis proteica o cuando la reprimen, y en segundo lugar b) el relativo a cómo el gene o los genes estructurales imparten la secuencia de los aminoácidos

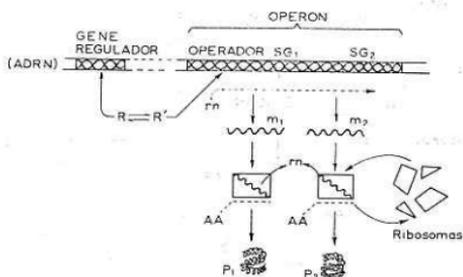


FIG. 11. Modelo propuesto por Jacob y Monod (1961) para la regulación de la síntesis enzimática durante la etapa de la transcripción. En esta figura SG, significa, gene estructural; m, mensajero; rn, ribonucleótidos; AA, aminoácidos, y P, proteína.

en la molécula proteica o en una cadena polipéptida. Es decir el problema llamado de la "codificación" y que ha sido abordado teóricamente por varios autores como Gamow¹⁶ y experimentalmente por otros, como Nirenberg y col.¹⁷ y Ochoa y col.¹⁸

De acuerdo con Jacob y Monod,¹² el proceso de la transcripción deberá efectuarse bajo los siguientes puntos: (Fig. 11)

- 1º El producto primario de los genes es el ARN "mensajero".
- 2º La síntesis del "mensajero" se efectúa en cierta región del ADRN llamada "operador" y en varias ocasiones este simple operador puede regular a varios genes adyacentes o estructurales. A este grupo se le llama "Operación" y viene a ser la unidad primaria de transcripción.
- 3º El material nuclear o genético contiene además de los genes "estructurales", genes "reguladores" que producen sustancias "represoras" de origen o distribución citoplásmica, que tienen afinidad por el *operador* y se asocian rever-

siblemente con éste bloqueando su función y previniendo así la síntesis del mensajero.

4º Los "represores" (R) tienen la propiedad de reaccionar con ciertas moléculas llamadas "efectores" (F) de la siguiente manera:



Tendremos así que en ciertos sistemas llamados *inducibles* (vg: Beta galactosidasa) solamente el represor (R) podrá asociarse con el "Operador" bloqueando la transcripción, pero que al combinarse el "efector" con el represor (R) quedará éste (represor natural) inactivo y por lo tanto se efectúa la transcripción al encontrarse el Operador libre.

En otros sistemas llamados represibles (vg: triptófano sintetasa) únicamente el represor modificado (R') es activo por lo que la transcripción del *Operón* que funciona normalmente en ausencia del efector se bloquea en presencia de éste.

El término regulador debe aplicarse únicamente a genes identificados por mutaciones constitutivas recesivas que afecten una proteína estructural controlada por otro gene.

Para hablar de codificación trataremos sobre la manera como se arreglan los desoxirribonucleótidos en la molécula del ADRN que almacena la información necesaria para sintetizar una proteína. Desde un punto de vista general nos interesa saber: ¿cómo se arreglan en el espacio estos nucleótidos? ¿cómo se lee el mensaje? ¿qué longitud tienen estas unidades genéticas codificantes? y ¿qué secuencia en esas bases es necesaria para codificar a cierto aminoácido?

Nos referiremos en particular a la hipótesis del físico Gamow¹⁶ sobre el problema de la codificación (Fig. 12). Este autor sugiere que si se tiene un grupo de cuatro bases como material único para codificar a veinte aminoácidos el número clave necesario será el triplete o tríada de bases que pueden codificar a 20 aminoácidos, combinando cuatro bases según las siguientes posibilidades $4 \times 4 \times 4 = 64$. Estas 64 combinaciones pueden arreglarse en veinte triángulos; cada uno de estos representa un aminoácido que está señalado por una letra, (A, B, C, D, etc.) y en los vértices de los triángulos un número que puede ser el 1, 2, 3 y 4 los que en este caso significan la base prúrica o pirimídica. Vemos así en la figura que hay cuatro triángulos (A, E, I, O) que pueden darnos un total de 24 combinaciones, 12 con 36 combinaciones (B, C, D, F, G, H, K, L, M, N, P, R) y 4 con una sola (S, T, U, V) lo que da un total de 64. De estos triángulos encontramos que unos se sobrepone es decir que se obtiene la misma secuencia que en otros lo que permite pensar: que todos los tripletes tienen significado, o sea que el código es del tipo "degenerado" ya que varios "codones" pueden codificar a un mismo aminoácido. Si cada banda complementaria del ADRN tiene significado, es igual por lo tanto leer el código desde un lado hacia el otro o viceversa.

El problema del código genético fue tratado experimentalmente por Crick¹¹ estudiando bacteriófagos T₄ que infectan al *Bacillus* del colon. Este material resulta de gran utilidad y permite al investigador avanzar rápidamente ya que la capacidad infectante del fago es muy grande: en 20 minutos puede fabricar 100 copias completas, constituidas por el material nucleico y una cubierta proteica formada por seis proteínas diferentes. Es decir que en un tiempo muy corto se pueden obtener millones de individuos y muchas generaciones de virus, de los

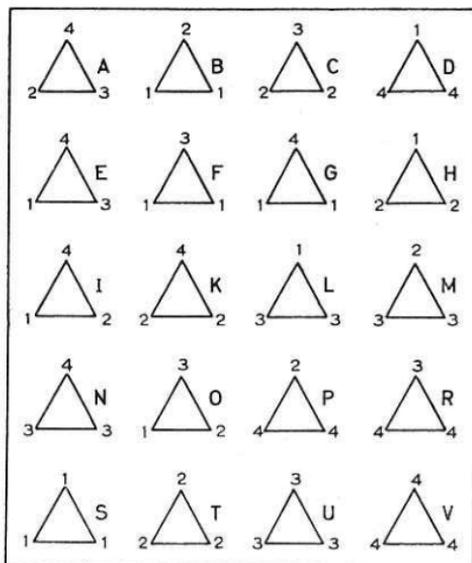


FIG. 12. Triadas del código de Gamow (1956).

cuales se aíslan los mutantes que aparecen como pequeñas placas circulares sobre el cultivo. A Benzer¹⁰ se debe el estudio del mapa genético del virus que se encuentra dividido en varias regiones: una de las más conocidas es la llamada *r* que contiene dos genes o "cistrones" denominados A y B (son genes funcionales de acuerdo con la clasificación actual).

Según este autor, cada gene que se encuentre dentro del "cromosoma" viral, consiste de un arreglo en orden lineal, de cientos de sitios o lugares correspondientes a un segmento de 500 a 1,000 bases, lo que significa de cualquier modo una dimensión pequeña comparada dentro de la molécula completa del cromosoma viral formado por alrededor de 200,000 pares de bases.

Se sabe que ciertas mutaciones afectan a uno o ambos genes de la región

A y B mientras que otras lo hacen solo parcialmente. Otras suprimen el efecto de ciertas mutaciones desfavorables al virus restaurando la función de ambos genes o la de uno, así que si se dejan desarrollar dos virus diferentes T_4 que presenten mutaciones a un distinto nivel cromosómico en un cultivo común, se puede lograr la recombinación de dos caracteres en un solo virus que se aísla como una doble mutante.

Además, si un fago tiene varios defectos, éstos pueden separarse cruzándolos con otro normal o "wild type" (que por definición no tienen defectos) por métodos genéticos. Estos cambios obtenidos al azar son el resultado de la adición o sustracción de una base o un grupo de bases en la molécula del ADRN provocada por la acción del "naranja de acridina" mediante un proceso no bien entendido.

Con las observaciones teóricas de Gamow¹⁶ y las conclusiones a las que llega Crick,¹¹ por métodos experimentales podemos decir lo siguiente:

1. El mensaje se puede leer en la molécula del ADRN desde un punto fijo en grupos de nucleótidos que no se sobreponen.

2. Los grupos que codifican a los aminoácidos son de un tamaño determinado, posiblemente de tres, aunque no deben descartarse los múltiplos de tres y los grupos de dos.

3. Y por último hay muy pocos tripletes que no tengan significado en los códigos, o sea que muy posiblemente, más de un triplete puede codificar a un solo aminoácido (código degenerado).

Los adelantos en el conocimiento de estos tripletes han sido grandes^{17, 18} trabajando con polinucleótidos sintéticos como el Poli U, Poli A, Poli C y mezclas incubadas en sistemas adecuados para la incorporación de aminoácidos radioactivos a la molécula protéica, o como en el caso de la Hemoglobina humana,¹⁹ (glutámico→ valina) y beta lacto-globulinas²⁰ de la vaca (aspártico→ valina, glicina→ alanina), donde ha sido posible encontrar cambios en la posición de un solo aminoácido en la cadena polipéptida debido con toda seguridad a un cambio en la secuencia del ADRN.

Tenemos en resumen que la secuencia de los nucleótidos en el ADRN (genes) y por consiguiente en los del ARN "mensajero" y el de traspaso son los que codifican la secuencia de los aminoácidos que forman una proteína o un polipéptido. El número mínimo de nucleótidos necesario para codificar a un aminoácido, es el de tres al cual se le llama "codon", aunque no debe descartarse un número de dos.

El número de "codones", que pueden codificar a un solo aminoácido pueden ser varios, (código degenerado) y el orden como deben leerse estos codones dentro del gene es importante ya que se debe comenzar desde un punto fijo y el correcto, para que la lectura tenga significado.

Debemos reconocer por otra parte sin embargo, que el problema sobre la or-

ganización del ADRN en el cromosoma no ha encontrado una solución a la fecha que pueda satisfacer a los citólogos, generistas y bioquímicos.

BIBLIOGRAFIA

1. Citado por E. D. P. De Robertis, W. W. Nowinski, y F. A. Sáez: *Citología General*. 1957.
2. Citado por Ch. B. Anfinsen: *The Molecular Basis of Evolution*. John Wiley & Sons, 1959.
3. D. Steffensen: *Structure and Function of Genetic Elements*. Págs. 103-118, 1959. No. 12. Brokhaveen Symposia in Biology.
4. M. H. F. Wilkins: *Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.* 21: 75, 1956.
5. A. Marshak: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.* 37: 38, 1951.
6. E. Kellenberger, A. Ryter y J. Sechaud: *J. Biophys. Biochemical Cytol.* 4: 671, 1958.
7. Citado por G. L. Brown et al.: *Brookhaven Symposia in Biology*. 12: 49, 1959.
8. Ch. M. A. Kuyper: *The Organization of Cellular Activity*. Elsevier Publishing, Co., 1962.
9. H. Ris, Chromosome: *Structure. The Chemical Basis of Heredity*. Págs. 23-62. Editado por W. D. McElroy y B. Glass, 1957.
10. S. Benzer: *The Elementary Units of Heredity. The Chemical Basis of Heredity*. Págs. 70-93. Editado por W. D. McElroy & B. Glass, 1957.
- 11^a F. H. Crick: *The Genetic Code I*. Scientific American, Octubre, 1962.
- 11^b F. H. Crick: *Progress in nucleic acid Research*. Editado por J. N. Davidson y W. E. Cohn, Vol. I, 1963, págs. 163-217. Academic Press.
12. F. Jacob y J. Monod: *On the Regulation of Gene Activity*. Cold Spring Harbor Symposia, Vol. XXVI, pág. 193, 1961.
13. F. Gross, W. G. Gilbert, H. H. Hiatt, G. A. Hardi, P. F. Spahr y J. D. Watson: *Molecular and Biological Characterization of Messenger RNA*, Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology Vol. XXVI, págs. 111-126, 1961.
14. M. Beljansky: *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 8: 5, 1962.
15. H. H. Hiatt, A.: *Rapidly Labeled RNA in Rat Liver Nuclei*, *J. Mol. Biology*. Vol. V, 217-229, 1962.
16. G. Gamow: *Nature*. 173, 38, 1954.
- 17^a M. W. Nirenberg: *The Genetic Code II*, *Scientific American*. Mayo, 1963.
- 17^b M. W. Nirenberg, J. H., Mattheaei, O. W. Jones, R. G. Martin y S. H. Barondes: *Aproximation of Genetic Code via cell free protein synthesis directed template RNA*. *Fed. Proc.* 22: 55, 1963.
18. S. Ochoa: *Synthetic Polynucleotides and the Genetic Code*. *Fed. Proc.* 22: 62, 1963.
19. V. M. Ingram: *A specific chemical difference between the globines of normal human blood and sickle cell anemia*. *Nature*. 178: 792, 1956.
20. R. A. Schaffenberg y J. Drewry: *Nature*. 176: 218, 1955.
21. R. N. Ondarza V.: *Las funciones biológicas de los ácidos nucleicos*. Gaceta Médica de México, 1962.
22. R. N. Ondarza, V.: *La herencia a nivel molecular*. Ciclo de Conferencias, 1963. *Temas de Biología molecular*. Editorial Fondo de Cultura Económica (en preparación), 1964.

COMENTARIO AL TRABAJO "LA HERENCIA
A NIVEL MOLECULAR Y CITOLÓGICO"*

DR. ANTONIO VILLASANA E.

EL SEÑOR Dr. Raúl Ondarza nos ha presentado un trabajo sobre un tema que juzgo es de interés para todos los señores Académicos por igual. En efecto, siempre será de interés el tema de la herencia para cualquier persona dedicada o interesada en las ciencias biológicas, máxime ahora que se han hecho tantos y tan importantes descubrimientos en este campo. Precisamente por la gran cantidad de datos nuevos que han sido publicados en los últimos años sobre asuntos del tema de la herencia, considero que tiene interés el escuchar, resumidos, algunos de los principales y más novedosos tópicos. Además, es importante señalar que este resumen está hecho por una persona, como el Dr. Ondarza, que conoce a fondo el aspecto medular del tema, o sea, la estructura química del material que forma el substrato de la herencia, las nucleoproteínas. En efecto, frecuentemente la información sobre asuntos técnicos es derivada, no de la fuente original sino de artículos de divulgación científica que, en su afán de simplificar, llegan a veces a dar una idea si no equivocada, sí alterada del tema.

Desde mi punto de vista de morfológo, otro de los puntos interesantes del trabajo del Dr. Ondarza es el que expresa en su introducción al decir que: "Es necesario... integrar los conocimientos de orden citológico con los alcanzados recientemente a un nivel molecular". Cuando el Dr. Ondarza dice integrar, entiendo que señala que en la actualidad se está estudiando la ultraestructura de la materia viva. No es otra cosa lo que hace hoy en día la microscopía con la ayuda del microscopio electrónico y la bioquímica al estudiar la organización molecular de los sistemas vivos y de igual modo el fisiólogo, el anatomopatólogo y el farmacólogo; es decir, la ultraestructura ha suministrado un campo común de reunión que permite comparar y utilizar los datos obtenidos de una variedad de disciplinas. Esto tiene para la docencia una importancia considerable. El

* Leído en la sesión ordinaria del 4 de septiembre de 1963.

morfólogo debe extender de modo prudencial su explicación hacia la química, la fisiología y la anatomía patológica y a la vez el bioquímico debe arrancar su explicación desde la morfología, haciendo hincapié por supuesto en la parte química.

Veamos ahora qué nos ha presentado el Dr. Ondarza: Después de hacer referencia a las dos maneras de dividirse de las células, nos recuerda brevemente y con claridad las leyes de "segregación" y de "distribución independiente" de Mendel. En seguida nos habla de los caracteres morfológicos del cromosoma, hablando así en general y no refiriéndose en concreto a los cromosomas humanos. Respecto al estudio cada vez más extendido de los cromosomas humanos y de la aplicación de este estudio de casos concretos a la clínica, ya hemos tenido oportunidad de escuchar la presentación de trabajos sobre este tema por varios señores Académicos en los últimos años. En realidad la microscopía electrónica no ha sido tan espectacular en este campo como se pensó que lo sería aunque ha proporcionado datos importantes. A continuación el Dr. Ondarza nos lleva de la mano señalando varios trabajos que le permitieron ir formando poco a poco con datos indirectos un esquema, un modelo de cómo deben estar dispuestos los componentes de las moléculas del grupo no prostático de las nucleoproteínas o sean los ácidos nucleicos, su tamaño y número dentro del cromosoma. Recordemos que en su trabajo de ingreso a la Academia, ya el Dr. Ondarza nos había hablado extensamente de la estructura de la molécula.

La segunda parte del trabajo hace referencia al moderno concepto que se tiene del gene. Esa estructura que comenzó siendo hipotética y que debería existir para explicar algunos de los fenómenos hereditarios y ahora ha sido substanciada y ampliada en su concepción. Finalmente, se trata la función de estas unidades. Esta función es derivación del conocimiento de la estructura de la molécula de las nucleoproteínas. La estructura de la molécula ha sido la "piedra de la roseta" de nuevos champoliones que van permitiendo descifrar la manera como este jeroglífico vivo transcribe en un código de sólo cuatro letras los distintos mensajes que va a tomar ese organito de la célula que es el ergastoplasma (los ribosomas o ribonucleoproteínas citoplasmáticas, si ustedes quieren) y hacer que sólo determinadas células puedan sintetizar sólo determinado compuesto de acción específica. Por otra parte, esto viene a arrojar luz sobre esos complicados procesos que se esconden detrás de las palabras vagas de "diferenciación celular". Asimismo, esto ha permitido comenzar a explicar ciertas enfermedades hereditarias conocidas y caer en la cuenta que otras pueden explicarse por esta base.

Repito que el trabajo del Dr. Ondarza nos resume con autoridad varios aspectos de gran novedad e interés general. Agradezco al Dr. Ondarza el que haya delegado en mí el comentario a su interesante trabajo.