

En la Era del Genoma

L. Antonio Vilaseca G.

Centro de Tecnología Agroindustrial
Universidad Mayor de San Simón, Cochabamba
e-mail: vilaseca@comteco.entelnet.bo

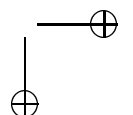
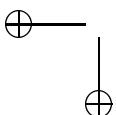
A comienzos de este nuevo siglo, la humanidad participa de una extraordinaria revolución científica en el campo de la biología, gracias principalmente a los avances de la genética, cuyo impacto cambiará sin duda la manera de comprender la vida sobre nuestro planeta.

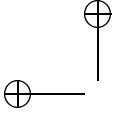
La genética estudia el rol y el comportamiento de los genes y puede explicar e intervenir en casi todas las funciones orgánicas de los seres vivientes.

La historia de la genética remonta a los orígenes de la humanidad en el momento en que los primitivos agricultores descubrieron que al elegir semillas de las plantas más productivas podían obtener mejores rendimientos en sus cosechas. Del mismo modo observaron que cruzando algunas familias de animales podían lograr obtener especies más fuertes, productivas y resistentes. Pero los fundamentos científicos de la genética no fueron establecidos sino hasta mediados del siglo XIX con los trabajos del monje austriaco Gregor Johann Mendel, quien después de realizar una serie de experimentos controlados con guisantes y analizar con rigor matemático sus resultados, procedió a enunciar las leyes biológicas de sus descubrimientos, formulando las leyes fundamentales de la herencia. Presentó sus resultados en febrero de 1865 ante un grupo de naturalistas y en 1866 fueron publicados bajo el título “Experimentos en la hibridación de las plantas”, publicación que lastimosamente fue ignorada por completo por el medio científico de la época.

Posteriormente en la década de 1880 el botánico alemán Hugo de Vries, a tiempo de realizar experimentos con el fin de comprender cómo ocurren las mutaciones que finalmente resultan en la evolución de las especies, redescubrió las leyes de la herencia de Mendel, a quien dio crédito por sus descubrimientos científicos ante la Sociedad Botánica Alemana el 24 de marzo de 1900 [5].

Mendel a lo largo de sus trabajos había llegado a la conclusión de que las características hereditarias están controladas por una combinación de unidades distintas de herencia. Estas unidades hereditarias se encuentran en las células reproductivas de los progenitores de cada especie, cada uno de los cuales transmite la mitad de estas unidades a su descendencia. Mendel sostenía de esta manera la hipótesis de la existencia de lo que hoy en día se denominan los genes, unidades físicas de la herencia. Sin embar-





go nunca los descubrió realmente ni utilizó el nombre de genes. Wilhelm Johannsen, biólogo alemán, fue el primero en utilizar en 1909 el nombre de genes para las unidades de la herencia.

A mediados del siglo XIX estaba claramente establecido que todos los organismos vivientes están constituidos por células. Las células son las unidades básicas más pequeñas de vida que pueden ser observadas al microscopio y que poseen, salvo en el caso de las bacterias, un núcleo al interior del cual se encuentran los cromosomas observados por primera vez en los años 1860.

En 1869, el bioquímico suizo Friedrich Miescher aisló del pus humano el ácido desoxirribonucleico (ADN), sustancia a la que llamó nucleína y que luego fue llamada ácido nucleico, identificado posteriormente como el constituyente esencial de los cromosomas. Más tarde se descubrió otro ácido nucleico ligeramente diferente del ADN que fue llamado ácido ribonucleico (ARN).

Muchos avances importantes en genética tuvieron lugar durante la primera mitad del siglo XX. En 1905 Nettie Stevens y Edmund Wilson, de la Universidad de Columbia, descubrieron la existencia de los cromosomas del sexo.

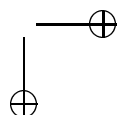
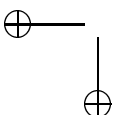
En 1909, Thomas Hunt Morgan eligió la mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*, para efectuar sus estudios genéticos. Morgan encontró que la mosca de la fruta posee únicamente cuatro cromosomas de gran tamaño, resultando ser un excelente organismo para realizar experimentos genéticos, resultados con los que sería posible obtener un “mapa” de los factores hereditarios. Morgan y un grupo de jóvenes científicos entusiastas hallaron, después de casi 17 años de trabajo, que existían regiones muy precisas de los cromosomas que controlaban características tales como la forma de las alas o el color del cuerpo de las moscas de la fruta. Se obtuvieron de esta manera mapas de cromosomas que describían las características físicas que determinan las unidades de los cromosomas llamadas genes [5]. Morgan pudo confirmar que algunos rasgos determinados genéticamente están ligados al sexo y por otro lado que los genes se encuentran realmente en los cromosomas. En 1933 recibió el premio Nobel de medicina por sus descubrimientos del rol que desempeñan los cromosomas en la herencia.

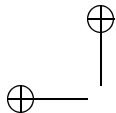
En 1926 Hermann Muller y Lewis Stadler descubrieron de manera independiente que los rayos X producen mutaciones en los genes, lo que se manifiesta en cambios morfológicos o fisiológicos en siguientes generaciones.

Entre los años 1940 y 1950 los progresos fueron lentos pero constantes, orientándose los trabajos sobre todo a identificar la ubicación de los genes en los cromosomas. Para los biólogos resultaba ya indudable que la forma y funcionamiento de la vida debía buscarse en la sustancia que compone los cromosomas, el ADN. Pero el más grande adelanto científico de la época fue sin duda la elucidación de la estructura del ADN [2].

Francis H.C. Crick y James D. Watson determinaron la estructura tridimensional de molécula de ADN como una doble hélice. En 1962 James Watson, Francis Crick y Maurice Wilkins fueron galardonados con el premio Nobel de medicina por su importante descubrimiento.

La molécula de ADN está constituida por dos largas cadenas formadas de pequeñas





unidades llamadas nucleótidos, los que están compuestos por un grupo fosfato, un grupo azúcar y una base purina o pirimidina. Estas bases son moléculas planas, monocíclicas o bicíclicas, conteniendo carbono y nitrógeno. Las bases purina que se encuentran en la molécula de ADN son la adenina (A) y la guanina (G) y las bases pirimidina son la citosina (C) y la timina (T). Cada una de las cadenas de la molécula de ADN está constituida por un gran número de nucleótidos, resultando en una cadena polinucleótida. Ambas se encuentran unidas en forma de hélice, gracias a los puentes hidrógeno que se establecen exclusivamente entre las bases adenina y timina y entre citosina y guanina debido a sus estructuras químicas. De esta manera la doble hélice se parece a una escalera en espiral cuyos peldaños están formados por las únicas uniones A-T o T-A y C-G o G-C, siempre de manera complementaria a lo largo de la molécula de ADN. La unión de dos bases se denomina un par de bases.

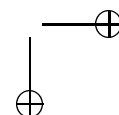
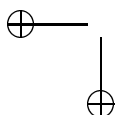
A lo largo de las cadenas polinucleótidas de la molécula de ADN, las bases siguen una determinada secuencia y esta secuencia resulta ser un código en el que se inscriben todas las características propias de una determinada especie viviente (Figura 1(a)).

El código genético está constituido de esta manera por cuatro bases (A, T, C y G) similares a cuatro letras, y una secuencia de tres de estas bases representa una información similar a una palabra. El conjunto de tres bases juntas se denomina codón existiendo 64 codones diferentes de los cuales 61 codifican los veinte aminoácidos que se encuentran en las estructuras de las proteínas, uno codifica una señal de inicio de proteína y tres codifican señales de terminación de proteína.

Las miles de proteínas diferentes que se encuentran en un organismo son sintetizadas en las células de acuerdo a las instrucciones contenidas en los genes, que en definitiva son conjuntos de codones. La síntesis de una proteína comienza con la traducción de la información contenida en un gen para construir primeramente una molécula de ácido ribonucleico (ARN). La molécula de ARN está formada por una sola cadena, muy similar a las de ADN, y esta cadena está constituida igualmente por un grupo fosfato, un grupo azúcar y una base purina o pirimidina. Las bases adenina, guanina y citosina se encuentran tanto en la molécula de ADN como en la de ARN mientras que la base timina se encuentra exclusivamente en la molécula de ADN y en la de ARN es reemplazada por la base uracilo.

Una vez que la molécula de ARN es sintetizada, en base a la información contenida en el ADN que actúa como molde, la molécula de ARN se traslada fuera del núcleo de la célula hacia los ribosomas, unidades que se encuentran en el citoplasma de la célula, donde se realiza efectivamente la síntesis de las diferentes proteínas. Tres formas de ARN intervienen en la síntesis de una determinada proteína, ARN ribosomal (rARN), ARN de transferencia (tARN) y ARN mensajero (mARN) [6].

Las proteínas son macromoléculas poliméricas formadas por la secuencia específica de aminoácidos. Cada una de ellas tiene su propia secuencia de aminoácidos y su propia función al interior de la célula pudiendo ser de dos tipos: elementos constitutivos de las células o enzimas que actúan como catalizadores de las diferentes reacciones químicas que suceden al interior de las células. Diferentes genes se activan en diferentes células para la síntesis de proteínas específicas que confieren a un tipo de células en particular



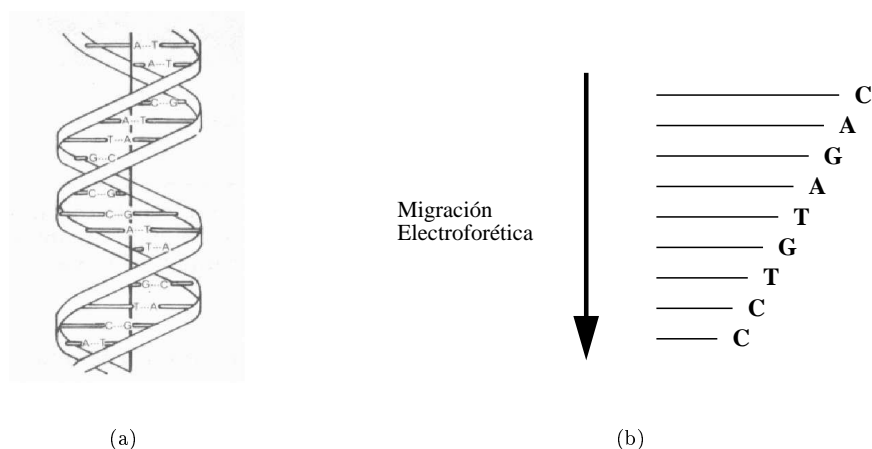


Figura 1: (a) Modelo de la estructura de la molécula de ADN. (b) Secuencia reconstruida: CCTGTAGAC.

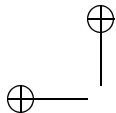
sus propias características.

Las células del organismo humano poseen al interior de su núcleo 23 pares de cromosomas, pares formados por un cromosoma heredado del padre y otro de la madre. Los cromosomas del par N° 23 son los que determinan el sexo. Todos los cromosomas están constituidos por largas moléculas de ADN que poseen un gran número de genes, se encuentran ligados a pequeñas proteínas y contienen toda la información necesaria para construir un ser humano.

El conocimiento completo del genoma humano constituye por lo tanto una extraordinaria fuente de información sobre el desarrollo, la fisiología y la evolución humana con impactos sumamente importantes en la medicina moderna.

Con esta perspectiva, a mediados de los años 1980 se dio inicio a un ambicioso proyecto de investigación denominado “Proyecto del genoma humano” cuyo objetivo central es principalmente obtener la secuencia completa de todos los pares de bases del genoma humano y lograr construir un mapa genético completo del ser humano. Este proyecto fue originado y financiado por un Consorcio Internacional con la participación de más de un millar de científicos y técnicos de diferentes laboratorios de Estados Unidos, Gran Bretaña, Francia, Canadá, Alemania, China y Japón. En 1998, Craig Venter abandonó el proyecto creando la empresa Celera Genomics que se convertiría en el rival científico del Consorcio Internacional.

La secuenciación del ADN es un proceso complejo que sigue rigurosamente una serie de etapas. Primeramente el ADN es extraído de individuos voluntarios y es conservado en nitrógeno líquido. Luego la molécula de ADN es fragmentada en sitios específicos por medio de enzimas llamadas enzimas de restricción, que provocarán cortes al azar pero sistemáticamente después de uno solo de los cuatro nucleótidos A, C, G o T de una secuencia específica. Cada uno de los diferentes fragmentos obtenidos de esta manera es incorporado en un plásmido (molécula de ADN circular) e inyectado en una bacteria



o una levadura. Estos organismos, al reproducirse y tener incorporado en su material genético el fragmento de ADN, permiten obtener una copia del mismo. Posteriormente, por medio de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa, es posible obtener millones de copias de cada fragmento original de ADN. Los fragmentos son teñidos por medio de un colorante fluorescente específico ligado al nucleótido donde se produjo el corte, de tal manera que cada uno de los cuatro nucleótidos se tiñe de un color diferente. Los fragmentos son transferidos luego a secuenciadores de ADN robotizados, donde se separan según su tamaño por migración electroforética capilar en un gel poroso que permite separar dos intermediarios consecutivos con una diferencia de tamaño de un solo nucleótido.

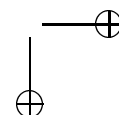
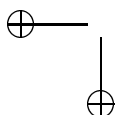
Al poder identificar el nucleótido del punto de corte sobre cada una de estas copias parciales, de la más pequeña a la más grande, es posible reconstituir la sucesión de nucleótidos.

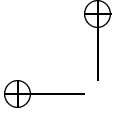
En la práctica, a medida que los fragmentos emergen del capilar de electroforesis, se detecta el color del tinte por medio de un rayo láser. La señal obtenida es interpretada por un programa informático que reconstituirá la secuencia (Figura 1(b)).

Más allá del principio general de la secuenciación, el Consorcio Internacional y la empresa Celera Genomics abordan la secuenciación del genoma de dos maneras diferentes y a la vez controvertidas. El Consorcio Internacional emplea la metodología de la secuenciación llamada clon por clon aplicada a fragmentos de ADN humano de 150000 pares de bases, uno a la vez. La secuencia entera de un cromosoma es luego reconstruida. Por otro lado, la empresa Celera Genomics emplea la metodología llamada escopetazo al azar, que simplemente se dirige directamente a la totalidad del ADN por medio de un secuenciamiento al azar.

El 2 de diciembre de 1999, la prestigiosa revista científica Nature publicó el artículo “The DNA sequence of human chromosome 22”, artículo que puede considerarse como uno de los hitos científicos más sobresalientes realizados durante el siglo XX [3]. Si bien el equipo de investigadores del Consorcio Internacional logró obtener la casi totalidad de la secuencia del ADN del cromosoma humano No° 22, elegido por ser el segundo cromosoma más pequeño, la siguiente etapa sería lógicamente obtener la secuencia de todos los cromosomas en su integridad. En ese momento se estimaba que esa tarea estaría completada aproximadamente para el año 2003, pero gracias a las tecnologías modernas de secuenciamiento del ADN y de tratamiento de la información, a mediados del año 2000 se anunció, tanto por parte del Consorcio como por parte de la empresa Celera Genomics, que se había concluido un primer borrador del genoma humano mucho antes de lo previsto.

El 15 de febrero de 2001, la revista británica Nature publicó el artículo “Initial sequencing and analysis of the human genome” por parte de los investigadores del Consorcio Internacional [1]. Por su parte la empresa Celera Genomics publicó el artículo “The Sequence of the Human Genome” en la prestigiosa revista científica Science el 16 de febrero de 2001 [4]. Por otro lado, después de una serie de debates sobre la propiedad intelectual de los resultados, éstos fueron puestos a la libre disposición de la comunidad científica en Internet.





Ambas versiones de la secuencia del genoma humano difieren escasamente e indican que éste comporta cerca de 30.000 genes. La publicación de estos resultados, logrados a lo largo de más de diez años de trabajo, resulta ser la culminación del gran desafío científico de conocer el genoma humano, creando un mapa detallado, tanto físico como genético, además de determinar la secuencia completa del ADN, estructura principal de los genes. Estas publicaciones marcan, de manera histórica, el inicio de una nueva era en el campo de la biología y las investigaciones del código genético: la era del genoma.

La genética molecular busca explicar cómo la información codificada en los genes es utilizada y controlada por las células y cómo es transmitida de una generación a otra. Por otro lado, se sabe que pequeñas alteraciones en la secuencia de bases de los genes pueden perturbar el desarrollo de un organismo o provocar una serie de enfermedades. Actualmente se conocen más de mil enfermedades originadas por desórdenes en los genes y algunos mapas genéticos han sido utilizados para determinar la ubicación exacta en los cromosomas de los genes responsables de enfermedades importantes que afectan a los seres humanos, como por ejemplo la fibrosis quística, el cáncer de mama, la esquizofrenia, la enfermedad de Alzheimer, la diabetes, la enfermedad de Huntington y la anemia hemolítica entre otras.

Las perspectivas que abre el conocimiento del genoma humano son innumerables, tanto en el campo del conocimiento de la biología humana como en el campo de la medicina. En el campo de la medicina, podrá conducir al mejor conocimiento de las enfermedades congénitas, al desarrollo de nuevos medicamentos dirigidos específicamente a desórdenes genéticos así como al desarrollo de la terapia genética, actualmente en fase experimental, que consiste en la cura de la enfermedad reemplazando los genes defectuosos por genes sanos.

Sin embargo todo este avance no representa más que el inicio de lo que los científicos califican como una gran revolución de la biología cuyos beneficios para la humanidad son aún insospechados.

Referencias

- [1] International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 409:860–921, 2001.
- [2] J. Davis. *Mapping the code*. John Wiley and Sons Inc, 1990.
- [3] I. Dunham *et al.* The DNA sequence of human chromosome 22. *Nature*, 402:489–495, 1999.
- [4] J.C. Venter *et al.* The sequence of the human genome. *Science*, 291:1304–1351, 2001.
- [5] R. Moore. *Evolución*. Time-Life International, 1969.
- [6] J.D. Watson, M. Gilman, J. Witkowski, and M. Zoller. *Recombinant DNA*. Scientific American Books, 1992.

