

Aproximación histórica a la biología molecular a través de sus protagonistas, los conceptos y la terminología fundamental

Gonzalo Claros*

Desde el nacimiento de las ciencias hasta el establecimiento de distintas disciplinas a finales del siglo XIX la vida se concibe desde un punto de vista totalmente mecanicista, reduciendo la célula a sus partes constitutivas. Gracias a este planteamiento se esclarecieron muchos procesos elementales de la fisiología celular (enzimas, rutas metabólicas, localización intracelular de proteínas y orgánulos, etc). Sin embargo, se trata de una imagen puramente *in vitro* de un organismo viviente. Esta visión se ve favorecida por los estudios de la herencia y la bioquímica de finales del siglo XIX y principios del XX. Aunque ya Aristóteles había señalado que «la herencia biológica implicaba alguna forma de transmisión de padres a hijos», hubo que esperar varios siglos hasta que los sencillos trabajos en Brno (actual República Checa) de Johann Gregor Mendel (1822-1884), aparecidos en 1865, lo llevaran a postular la existencia de entes de naturaleza desconocida e inmutable (los **genes**) responsables de la transmisión de los caracteres hereditarios. Tal y como ocurre frecuentemente con los descubrimientos científicos, la importancia de esta aportación —irreconciliable en su enunciado inicial con la teorías de Darwin— no fue debidamente apreciada en su momento, sobre todo debido a que fue publicada en una revista de muy escasa difusión (*Journal of Brno Society of Natural Science*). Cuando Mendel muere, en 1884, se estaban descubriendo los cromosomas y el núcleo mediante microscopía. Dos años después, en 1886, August Weismann (1834-1914) publica su libro *El plasma germinal: una teoría de la herencia*, en el que idea un modelo donde se meten en el mismo saco la herencia y el desarrollo. Es curioso cómo los análisis de los biólogos celulares posteriores, como Edmund Beecher Wilson (1856-1939) y Nettie Maria Stevens (1861-1912) —descubridores de forma independiente de los cromosomas sexuales, en 1905—, y los que analizaban la mitosis, vieron que había una segregación de los cromosomas igual a la propuesta por Mendel. Pero no se asociarán ambas cosas hasta principios del siglo XX, con los trabajos del holandés Hugo de Vries (1848-1935), del alemán Karl Correns (1894-1933) y del austriaco Erich von Tschermak-Seysenegg (1871-1962). Los grupos de investigación de estos tres científicos redescubrieron independientemente las leyes de Mendel y asociaron los factores genéticos a los cromosomas. Fue un gesto noble por su parte devolver a Mendel la importancia de sus descubrimientos.

La naturaleza química de los cromosomas se estaba estudiando simultáneamente a la transferencia de los genes. En



Arriba: Mendel, Stevens, Wilson;
debajo: De Vries, Correns, Tschermak.

tre 1868 y 1869, el suizo Friedrich Miescher (1844-1895), siendo estudiante de postdoctorado en el laboratorio de Friedrich Hoppe-Seyler (el acuñador del término «bioquímica»), en Tubinga, aisló núcleos a partir del pus de los vendajes usados en el hospital. Tras un tratamiento simple, comprobó que estaban formados por una única sustancia química muy homogénea y no proteica, que denominó **nucleína** —el término «**ácido nucleico**» fue acuñado posteriormente, en 1889, por Richard Altman—. Según sus palabras, la nucleína son «sustancias ricas en fósforo localizadas exclusivamente en el núcleo celular». Era algo tan excepcional que Hoppe-Seyler decidió demorar hasta 1871 la publicación de estos resultados, a la espera de la confirmación definitiva. E. Zacharias caracterizó en 1881 la naturaleza química de los cromosomas, comprobando que se trataba de una nueva sustancia a la que denominó nucleína. Entre 1879 y 1882 Walther Flemming (1843-1905) y Robert Feulgen, independientemente, desarrollaron nuevas técnicas de tinción y lograron visualizar los cromosomas en división, lo que les permitió describir la manera en que se replican los cromosomas (la **mitosis**). En 1889 August Weissman (1834-1914) asoció de manera teórica, casi intuitiva, la herencia y los cromosomas, puesto que

* Universidad de Málaga (España). Dirección para correspondencia: claros@uma.es.

habría que esperar hasta 1902 para que Walter S. Sutton (1877-1916) realizase una serie de experimentos que le permitieron proponer que los genes de Mendel son unidades físicas que realmente se localizan en los cromosomas. Parte del trabajo que permitió a Sutton proponer ese modelo se debió a su descubrimiento de la **meiosis** junto con Theodor Boveri (1862-1915). A su vez, Thomas Hunt Morgan (1866-1945) realiza en la Universidad de Columbia (1909) los experimentos que hoy se consideran clásicos sobre los rasgos genéticos ligados al sexo, lo que le valió el Nobel en 1933. Por esa época se descubre que algunas enfermedades, como la **alcaptonuria**, tienen su origen en una enzima defectuosa —fenómeno ya descrito por el físico inglés Archibald Garrod en 1909—. En 1913, Calvin Bridges (1889-1938) demuestra que los genes están en los cromosomas, a la vez que Alfred Henry Sturtevant (1891-1970), alumno de Morgan, demuestra que algunos de ellos tienden a heredarse juntos, por lo que se deduce que se colocan de forma lineal sobre el cromosoma, y elabora el primer **mapa genético** de un organismo: *Drosophila melanogaster*. En 1915 quedan definitivamente establecidas las bases fundamentales de la herencia fenotípica al aparecer el libro *El mecanismo de la herencia mendeliana*, escrito por Thomas H. Morgan, Alfred Sturtevant, Hermann Muller y Calvin Bridges. En este contexto se inicia la **teoría cromosómica de la herencia**, a pesar de no conocer su naturaleza química. Se puede hablar de la edad de oro de la genética clásica.



Arriba: Miescher, Garrod, Morgan;
debajo: Muller, Sturtevant, Bridges.

El término **genética** fue propuesto en 1906 por el inglés William Bateson (1861-1926), ya que hasta entonces se venía utilizando el término «eugenética», acuñado por sir Francis Galton (1822-1911) en 1883. También fueron acuñados por Bateson los términos «alelomorfo», «cigoto», «homocigoto» y «heterocigoto». Hasta el momento la genética y la embriología se estudiaban mezcladas, sin diferenciar. Fue

Morgan quien se encontró con la necesidad de separar el análisis de la herencia (genética) del análisis del desarrollo embriológico (**embriología**); éste último fue plenamente desarrollado por el alemán Hans Speman (1869-1941), galardonado por ello con el Nobel en 1935. A partir de entonces, las investigaciones se iban a dedicar al análisis de las mutaciones, la bioquímica implicada en la transmisión de los caracteres y las bases moleculares de la herencia. Era el contexto adecuado para que, en 1926, Hermann Muller (1890-1967) y Lewis Stadler demostraran que la radiación X inducía mutaciones en los genes, aunque el reconocimiento tardara en llegar: el Nobel les fue concedido 20 años después, en 1946.

Volviendo al análisis de la naturaleza química de los cromosomas, en 1888 el bioquímico alemán Albrecht Kossel (1853-1927) había demostrado que la nucleína de Miescher contenía proteínas; también mostró que la parte no proteica de la nucleína contenía sustancias básicas ricas en nitrógeno, y así identificó las cinco bases nitrogenadas que hoy conocemos. Finalmente, presentó pruebas de la presencia de un glúcido de cinco átomos de carbono. Este trabajo, que dio acceso a Kossel al Nobel en 1910, fue continuado por su discípulo, el químico ruso-estadounidense Phoebus Aaron Theodor Levene (1869-1940), quien comprobó en 1900 que la nucleína se encontraba en todos los tipos de células animales analizadas. Más adelante, en 1909, mientras verificaba los experimentos de Kossel, puso de manifiesto que los ácidos nucleicos estaban compuestos de ácido fosfórico, una pentosa y las bases nitrogenadas. Levene demostró que la pentosa que aparecía en la nucleína de levadura era ribosa, pero tuvo que esperar hasta 1929 para identificar como desoxirribosa la pentosa aislada del timo de los animales. Esta diferencia le hizo proponer que la nucleína de los animales era el **nucleato de desoxirribosa** —hoy en día llamado «ácido desoxirribonucleico» o DNA—, mientras que los vegetales contenían **nucleato de ribosa** —ácido ribonucleico o RNA—. Levene tuvo mucho peso en la química de los ácidos nucleicos, a pesar de que pronto se demostrara que era incorrecta su propuesta de que los cromosomas vegetales eran de RNA y los animales de DNA. Fruto de sus trabajos, propuso en 1926 un modelo para la conformación de los ácidos nucleicos: el **tetranucleótido plano**. El modelo del tetranucleótido de Levene implicaba que los ácidos nucleicos estaban formados por planos apilados, que constaban de cuatro pentosas que exponían hacia el exterior las bases nitrogenadas (que van unidas por un enlace glucosídico a la pentosa); las pentosas se unen entre sí por fosfatos a través de enlaces fosfoéster. Esta estructura respondía a los resultados sobre la composición de los ácidos nucleicos y la naturaleza de los enlaces covalentes que los componen. En cambio, se deducía que los ácidos nucleicos eran moléculas muy monótonas, casi invariables, extremadamente rígidas. Por tanto, se descartaron rápidamente como el tipo de molécula capaz de transmitir la información genética, por lo que todo el mundo se centró en el estudio de las proteínas como moléculas portadoras de la herencia. Este error se consolidó en 1935, cuando Dorothy Wrinch observó que la información genética era lineal, por lo que se requería una molécula lineal (las proteínas) para trans-

mitirla, y no una molécula cíclica invariable (los ácidos nucleicos). El modelo del tetranucleótido plano fue un lastre en el desarrollo de la biología molecular similar a lo que fueron en su día las teorías del flogisto, la fuerza vital o la generación espontánea, ya que Levene era un científico muy influyente en su época, y su opinión era poco menos que indiscutible. De hecho, no pensaba que el modelo del DNA propuesto por Watson y Crick respondiese a la realidad. Quizá por eso se desarrollaron con más éxito la genética, la embriología y la bioquímica durante la primera mitad del siglo xx.



Kossel

Levene

Astbury

En 1938 sir William Thomas Astbury (1898-1961) y Florence Bell, de la Universidad de Leeds, proponen que el DNA debe de ser una de fibra periódica, al encontrar un espaciado regular de 0,33 nm a lo largo del DNA mediante estudios preliminares de difracción por rayos X. En aquel momento Astbury veía que las bases estaban apiladas a 0,33 nm unas de otras, y perpendiculares al eje de la molécula; de hecho, era la distancia que separaba los tetranucleótidos. Astbury siguió trabajando desde el punto de vista estructural sobre proteínas fibrosas, como las **queratinas**, en lana. Su preocupación por la estructura de las moléculas hizo que consiguiera en 1945 la primera cátedra de **Estructura Biomolecular**; además fue el primer científico en denominarse «biólogo molecular» aprovechando que el término **biología molecular** había sido acuñado en 1938 por Warren Weaver (1894-1978), matemático y director del departamento de ciencias naturales de la Fundación Rockefeller, que trabajaba sobre la «visión molecular de la vida». Estas coincidencias llevan a muchos autores a proponer que el nombramiento de Astbury marca el nacimiento de la biología molecular como área de conocimiento independiente, tal cual la conocemos hoy: «La biología molecular es el dominio de la biología que busca explicaciones a las células y organismos en términos de estructura y función de moléculas; las moléculas más frecuentemente analizadas son las macromoléculas del tipo proteínas, ácidos nucleicos y glúcidos, así como conjuntos moleculares del tipo membranas o virus» (H. Salter). Este concepto de biología molecular llevó a una tendencia reduccionista de los problemas biológicos, favoreciendo que lo que se desarrollase en primer lugar fuera su **vertiente estructuralista**, cuyo objetivo era el conocimiento de la estructura atómica de las macromoléculas antes mencionadas y que coincidía en buena parte con la bioquímica estructural. Más adelante veremos

cómo nace la **vertiente informacionista**, cuyo objetivo era estudiar cómo la información se transfiere entre generaciones. Puesto que estudia cómo la información biológica se traduce en moléculas específicas, se solapa con la genética en muchos aspectos.

Entre los estudios de Astbury y el final de la Segunda Guerra Mundial comienza a gestarse en el California Institute of Technology (Caltech) el grupo del físico nuclear alemán, y discípulo de Niels Bohr, Max Ludwig Henning Delbrück (1906-1981), que luego sería conocido como el «grupo del bacteriófago». El grupo tomó forma durante los años que Delbrück pasó en la Vanderbilt University, al coincidir con Salvador Edward Luria (1912-1991) y Alfred Day Hershey (1908-1997). El interés de estos investigadores se centraba en entender de qué manera las moléculas transmiten información de una generación a la siguiente. Para ello utilizaron el modelo más simple que conocían, los **bacteriófagos**, o simplemente **fagos**, posiblemente guiados por los experimentos del franco-canadiense Félix d'Hérelle (1873-1949), que en 1917 demostró que los bacteriófagos infectaban, mataban y disolvían las células bacterianas en poco más de media hora, así como el hecho de que las bacterias eran capaces de desarrollar de forma natural una resistencia al fago. Fue d'Hérelle quien acuñó el término «bacteriófago» para referirse al microorganismo antagonista del bacilo que causaba la disentería. El grupo del bacteriófago se dedicó a estudiar las mutaciones genéticas, la estructura de los genes, y los ciclos vitales de los fagos. Aunque su labor fue muy importante, tuvieron que esperar hasta 1969 para que fuera reconocida con la concesión del Nobel a Delbrück, Luria y Hershey. De hecho, sus trabajos son el origen de la vertiente informacionista de la biología molecular.

En 1941, George Wells Beadle (1903-1989) y Edward Lawrie Tatum (1909-1975), en la Universidad de Stanford, encontraron en el hongo *Neurospora crassa* sólidas evidencias de una correlación entre los genes y las enzimas mediante el estudio de rutas metabólicas implicadas en la síntesis de aminoácidos. Postularon por primera vez dicha correlación como «un gen, una enzima». El médico italiano Salvador E. Luria (conocido por el medio de cultivo para *E. coli*, el LB, que significa *Luria broth*) y Max Delbrück demostraron en 1943 que las mutaciones en *E. coli* ocurren al azar, sin necesidad de exposición a agentes mutagénicos, y que estas mutaciones se transmiten siguiendo las leyes de la herencia. En 1928 el microbiólogo Fred Griffith (1881-1941) había descubierto cómo el *Streptococcus pneumoniae* avirulento puede transformarse en virulento al infectar un ratón sano con la cepa avirulenta viva y la virulenta muerta. Empleando esta capacidad del estreptococo, Oswald Theodore Avery (1877-1955), Colin MacLeod y Maclyn McCarty intentan desentrañar la naturaleza del material genético en el Instituto Rockefeller, durante 1944. Dominados por el modelo del tetranucleótido plano, y en contra de sus propias expectativas, demostraron que las cepas avirulentas de Griffith se transformaban en virulentas con la exposición al DNA, pero no a las proteínas. Los experimentos de Avery, MacLeod y McCarty fueron puestos en entredicho, porque asociadas al

DNA podrían ir en cantidades ínfimas las proteínas portadoras de la información genética. Precisamente, uno de los más escépticos con estos resultados fue el propio Levene. Se necesitaron todavía unos años para que se demostrara claramente que el DNA era el único responsable del **principio transformante**. Siguiendo la línea de pensamiento abierto por Avery y sus colaboradores, en 1946 Joshua Lederberg (1925-*) y Edward Tatum demuestran en la Universidad de Yale que las bacterias también intercambian material genético en función de su sexo.

Estos experimentos han tenido una honda repercusión en la terminología biotecnológica actual. Así, al hecho de que la bacteria tome el DNA de una manera estable se lo denomina **transformación** —las bacterias avirulentas que no producían la neumonía se «transformaban» en virulentas al tomar el DNA de una virulenta—. En 1959, trabajando en Caltech, el italiano Renato Dulbecco (1914-*) introdujo también el concepto de transformación para explicar que mezclando in vitro células sanas con virus productores de polio y SV40 se pudieran obtener células de aspecto oncogénico; o sea,

chos físicos —sin ir más lejos, su ya mencionado discípulo Max Delbrück—, haciéndoles volverse hacia los problemas biológicos. Marie Curie, por su parte, empezó a probar sobre material biológico el efecto de las radiaciones. No olvidemos a los fundadores del grupo del bacteriófago: Delbrück era físico en Alemania antes de la Segunda Guerra Mundial, y Salvador Luria se inició estudiando la estructura de los virus en el Instituto Pasteur, junto al físico Fernand Holweck. El mismo año que Astbury fue nombrado profesor de Estructura Biomolecular (1945) el físico cuántico Erwin Schrödinger



Arriba: Lederberg, Beadle, Tatum;
debajo: Avery, MacLeod, McCarty.

que las células sanas se habían «transformado» en células cancerosas en contacto con los virus. Por esta dualidad de significado del término «transformación», se impuso el término **transfección** para hacer referencia a la entrada de DNA en células eucariotas. Los trabajos de Dulbecco sobre células cancerosas le valieron el Nobel en 1975.

Debido a que la mayoría de los problemas biológicos eran prácticamente inaccesibles a la experimentación directa, muchos físicos, sobre todo físicos nucleares, se interesaron por ellos, y su incorporación fue determinante para el desarrollo de la biología molecular. Por ejemplo, Niels Bohr (1885-1962) escribió en 1933 un ensayo titulado «Light and Life» que influyó directamente en la forma de pensar de mu-



Delbrück, Luria, Schrödinger.

(1887-1961) publica el libro *¿Qué es la vida?*, que para muchos autores es más importante para el desarrollo de la biología molecular que el nombramiento de Astbury. El libro de Schrödinger indica que las leyes de la física son inadecuadas para explicar las propiedades del material genético y, en particular, su estabilidad durante innumerables generaciones. La concepción vital expresada por el físico en su obra se basa en dos supuestos: en el primero se concibe al cromosoma como «un cristal aperiódico capaz de almacenar información y memoria». En el segundo, se establece que «los organismos mantienen su orden minimizando su entropía, alimentándose de entropía negativa o del orden preexistente en el entorno».

Una de las primeras consecuencias de que los físicos comiencen a considerar los problemas biológicos la tenemos en el desarrollo de la cristalografía mediante difracción de rayos X sobre material biológico. Esta técnica se había comenzado a aplicar a sustancias sencillas gracias a los trabajos de sir William Henry Bragg (1862-1942) y su hijo William Lawrence Bragg (1890-1971), lo que les valió el Nobel en 1915. Para interpretar los patrones resultantes propusieron un modelo matemático conocido como «transformada de Fourier», que se sigue utilizando hoy en día. La cristalografía daba buenos resultados con moléculas pequeñas, pero con macromoléculas biológicas los resultados eran todavía imprecisos, o bien tan complejos que supondrían un análisis que podría durar toda una vida de investigación. A comienzos de los años treinta, el bioquímico James Batcheller Sumner (1877-1955) había demostrado que era posible cristalizar proteínas. Su trabajo pasó desapercibido hasta que lo retomó otro bioquímico, John Howard Northrop (1891-1987), para obtener los primeros cristales de enzimas, lo que valió a ambos el Nobel en 1946. Esos trabajos permitieron que, como hemos visto, Astbury pudiera analizar por difracción proteínas y DNA. La cristalización animó en 1937 a Max Ferdinand Pe-

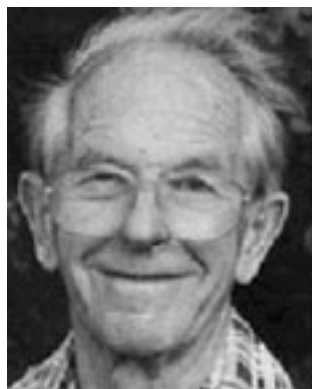
rutz (1914-*) a trabajar en la estructura de la hemoglobina con esta técnica, tarea que no logró culminar hasta 1959; por su parte, sir John Cowdery Kendrew (1917-1997) conoció a Perutz en 1946, lo que le animó a hacer lo mismo con la mioglobina desde entonces hasta 1959. Estos trabajos cristalográficos fueron premiados con el Nobel en 1962 a Perutz y Kendrew.

Pero esta vertiente estructuralista de la biología molecular llega a una de sus cumbres cuando la técnica se perfecciona, y en 1951, los físicos Linus Carl Pauling (1901-1994) y Robert B. Corey descubren en Caltech la estructura de la **hélice** α de las proteínas gracias a los análisis con difracción de rayos X. Pauling consiguió su primer Nobel en 1954 (el segundo sería el Nobel de la Paz, por su oposición a las armas nucleares) gracias a sus trabajos sobre la naturaleza de los enlaces químicos y su papel en la elucidación de las estructuras macromoleculares. En 1953, Fred Sanger (1918-*), trabajando en el Medical Research Council británico, consigue la primera secuencia de aminoácidos completa: la insulina. Así conseguirá su primer premio Nobel, en 1958.

El modelo del tetranucleótido plano empieza a ponerse en entredicho seriamente cuando en 1950 el checo Erwin Chargaff (1905-2002), de la Universidad de Columbia, descubre las leyes de complementariedad de bases de los ácidos nucleicos. Chargaff demuestra que la composición de los ácidos nucleicos de distintos organismos es muy diferente de lo que inicialmente se creía. La complementariedad y la composición variable eran difícilmente explicables con el modelo del tetranucleótido. Cuando poco después apareció el modelo de Watson y Crick, Chargaff se incomodó, con razón,



Pauling



Sanger

porque su trabajo —clave en ese modelo— no fue convenientemente agradecido; además, Chargaff no era partidario de construir modelos, técnica que usaron Watson y Crick para proponer la estructura del DNA. Mientras tanto (1951), Barbara McClintock (1902-1992) se adelantó a su época al proponer, en el Cold Spring Harbor Laboratory, la existencia de elementos genéticos móviles en el genoma del maíz: los **transposones**, que tantas aplicaciones han abierto después. Esto le valió el Nobel en 1983, con 32 años de retraso, ya que no se estimó que sus resultados fueran fiables hasta que en 1960 se descubrieran la transposición en bacterias, en 1970

se detectara la actividad «transposasa³» y Watson afirmara en un simposio en Cold Spring Harbor que los transposones son algo «virtualmente inevitable». Uno de los golpes definitivos al modelo del tetranucleótido lo asestó lord Alexander Robertus Todd en 1950 (1907-1997), al demostrar que los enlaces fosfoéster en el DNA son perfectamente normales, por lo que propuso una estructura lineal y no cíclica para el DNA. Estos trabajos y los que realizó sobre las coenzimas le valieron el Nobel en 1957.

En 1952 Luria y Weigle, en distintos laboratorios, descubren los sistemas de restricción a la infección viral, lo que permitirá más adelante descubrir las enzimas de restricción. A su vez, Joshua Lederberg y su esposa Esther M. Lederberg desarrollan un método a base de réplicas de placas para demostrar que las mutaciones aparecen de forma azarosa e independiente de los procedimientos de selección. Sus trabajos permitieron profundizar en la estructura genética y la recombinación en los microorganismos le valió a J. Lederberg el



Chargaff



McClintock



Todd

Nobel en 1958, junto a Beadle y Tatum. Fue él quien introdujo el término «**plásmido**», en 1952, para explicar la herencia extracromosómica. Ese mismo año, los trabajos realizados en el Cold Spring Harbor Laboratory por Alfred Hershey y Martha Chase (que provenían del grupo del bacteriófago) demostraron que el material genético que se transmite a la progenie del fago es DNA, mientras que las proteínas que hay en la cápsida no. Se empezaban a acumular demasiados resultados que el modelo del tetranucleótido no explicaba.

Sin que haya un registro histórico evidente, entre 1950 y 1953 la mayor parte de la comunidad científica empieza a admitir que el material genético es el DNA, por lo que comienza una nueva ola de experimentos dedicados a conocer su estructura real. A comienzos de los años cincuenta, la química-física Rosalind Elsie Franklin (1920-1958) abrió una línea de investigación en el laboratorio de sir John Turton Randall (1905-1984), en el King's College, sobre el estudio de la estructura del DNA mediante difracción de rayos X. Así encontró que el DNA podía hallarse en dos formas helicoidales distintas con los fosfatos hacia el exterior (las formas que hoy conocemos con DNA-A y DNA-B). Simultáneamente, Linus Pauling propuso un modelo de triple hélice con los fosfatos hacia el interior y las bases hacia fuera, clara herencia del modelo del tetranucleótido. Es difícil entender que el Nobel Pauling no reparara en que su propuesta era invia-



Chase

Hershey

ble, puesto que la repulsión electrostática entre los grupos fosfato desestabilizaría la estructura. Probablemente en esa época era más dificultoso encontrar una manera de colocar las bases nitrogenadas hacia el interior de la estructura sin que surgieran impedimentos estéricos a las posibles repulsiones entre las cargas de los fosfatos. La clave de la doble hélice del DNA la pusieron el bioquímico-genético americano James Dewey Watson (1928-*) y el biofísico inglés Francis Harry Compton Crick (1916-*) —trabajando en la Universidad de Cambridge, en el Reino Unido— mediante la recopilación de los resultados dispersos que sobre ácidos nucleicos existían, así como reuniendo información sin publicar del laboratorio de Randall. Inicialmente propusieron un modelo parecido al de Pauling, pero después, y gracias a una visión genial de las reglas de Chargaff, así como a las «inocentes confidencias» del neozelandés Maurice Wilkins (1916-*), también del laboratorio de Randall, lograron elaborar el conocido modelo de la **doble hélice**. En un breve artículo de 1953 en *Nature* describen lo que hoy se conoce como DNA-B, el posible modelo de replicación del DNA, y sus mutaciones. La elucidación de la estructura del DNA es uno de los descubrimientos esenciales para la biología molecular y, en general, para la ciencia de este siglo. Watson, Crick y Wilkins (Franklin había muerto de cáncer de ovario en 1958, a los 37 años) reciben el Nobel en 1962, ya que en el mismo número de la revista *Nature* habían aparecido el artículo sobre el modelo de Watson y Crick y los resultados cristalográficos que Wilkins, por un lado, y Franklin, por otro, tenían para apoyar el modelo. El Nobel a Watson y Crick fue objeto de controversia, porque se habían limitado a recopilar información de otros, sin aportar nuevos datos. A su favor está el que la doble hélice abrió un nuevo camino no sólo a la biología molecular, sino a toda la biología, y que su modelo luego ha sido confirmado plenamente por otros investigadores. Por su lado, Francis Crick ha demostrado ser un gran científico, ya que con el modelo de la doble hélice también propuso la existencia de la **tautomería** y la **replicación semiconservativa** del DNA; en 1955 propuso que para que el RNA sintetice proteínas debe existir una molécula acopladora de los aminoácidos a la secuencia de ácidos nu-

cleicos (lo que Paul Berg [1926-*) comprobó que era el tRNA al año siguiente: un RNA que «transfería» el aminoácido correcto, y de ahí el nombre de **RNA de transferencia**); en 1956 propuso el **dogma central** de la Biología Molecular: que, en palabras del propio Crick, «el DNA dirige su propia replicación y su transcripción para formar RNA complementario a su secuencia; el RNA es traducido a aminoácidos para formar una proteína»; en 1957 propone que el código genético ha de leerse en tripletes que no se solapan ni puntúan (lo demostró en 1961, junto a Sidney Brenner); y en 1966 propone la hipótesis del **títubeo** (*wobble*) del tRNA al leer el mRNA. Como vemos, toda una serie de hipótesis que se han validado posteriormente.

A comienzos de los años cincuenta, Paul Zamecnik (1912-*), trabajando en el Massachusetts General Hospital, demuestra que la síntesis de proteínas ocurría en unas partículas intracelulares compuestas de ácido ribonucleico y proteínas, por lo que posteriormente fueron bautizadas como **ribosomas**. En 1955, demuestra junto con Mahlon Hoagland que los aminoácidos tienen que activarse antes de unirse al ribosoma, y que esa activación incluye la unión covalente a



Arriba: Crick, Watson; debajo: Wilkins, Franklin.

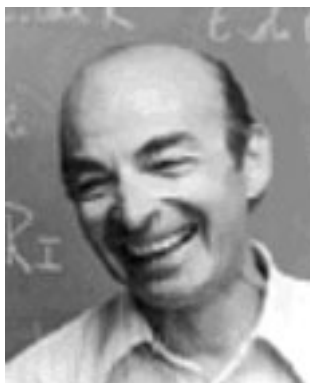
un RNA soluble estable. Este RNA fue denominado inicialmente «RNA soluble», pero los experimentos posteriores de Zamecnik y Paul Berg (1926-*) demostraron que este RNA soluble «transfería» el aminoácido correcto, por lo que hoy se le denomina **RNA de transferencia**.

A raíz de los estudios sobre los ácidos nucleicos como material genético, en 1955 el bioquímico español Severo Ochoa (1905-1993) y Marianne Grumberg-Manago, traba-

jando en la New York University, descubrieron la **polinucleótido fosforilasa**, que sirvió para sintetizar oligorribonucleótidos con los que otros autores descifraron el código genético. Se creía que era la enzima que sintetizaba el RNA sin usar una plantilla —posteriormente se ha comprobado que su actividad fisiológica es la de degradar RNA—. En 1957, en la Washington University, Arthur Kornberg (1918-*) purificó y caracterizó la **DNA polimerasa I** de *E. coli*. Kornberg y Ochoa compartieron el Nobel en 1959 por descubrir las enzimas que rigen la síntesis de los ácidos nucleicos. Sus estudios demostraron que la investigación enzimológica podía aplicarse al estudio de los genes y el importante papel que la bioquímica puede desempeñar en la biología molecular. En 1955, el polaco Heinz L. Fraenkel-Conrat (1910-*), autor de uno de los principales manuales de virología, trabajando en la sede de Berkeley de la Universidad de California demostró que la infectividad de algunos virus se encontraba en el RNA que contienen, con lo que se ponía de manifiesto que no sólo el DNA puede ser material genético. En 1956 Alfred Gierer demostró que el RNA aislado del virus del mosaico del tabaco es infeccioso en ausencia de proteínas. El avance era ya imparable, impulsado por los nuevos descubrimientos y porque empezaban a estar disponibles una serie de adelantos técnicos que permitirían abordar nuevos y más complejos trabajos. Por citar sólo unos pocos, se desarrollan nuevas técnicas de microscopía óptica, así como la electrónica, y aparecen la ultracentrifugación, los contadores de centelleo, las técnicas espectroscópicas y la resonancia magnética nuclear.



Ochoa



Kornberg

A mediados del siglo xx, y una vez que ya se conoce la naturaleza química del material genético, la investigación puramente mecanicista empieza a decaer, ya que ahora se prefiere explicar los procesos biológicos en el contexto del organismo entero (in vivo), a ser posible, en lugar de en condiciones artificiales (in vitro) o en cultivos de células. Es lo que se conoce como el **materialismo holístico** o materialismo integral. Por eso disminuye la importancia de los descubrimientos bioquímicos y se da más importancia a todo lo relacionado con la biología molecular y la genética molecular. Hasta entonces, todos los intentos por abordar los temas de forma generalista estaban cargados de elucubraciones, una visión vitalista de los seres vivos y ausencia de rigor científico. Pero los trabajos realizados por físicos y físico-químicos

que reorientaron sus investigaciones para resolver problemas biológicos a mediados de siglo imprimen un cambio a la forma de trabajar y a la actitud frente a los problemas biológicos. Se comienza a saber la naturaleza molecular del gen y el papel de los genes en el crecimiento, el desarrollo y la fisiología de los microorganismos. Se pone de manifiesto la adaptación enzimática de los microorganismos en cultivo.

Estudiando estos mecanismos de adaptación, en 1956, los franceses François Jacob (1920-*) y Jacques Lucien Monod (1910-1976) demuestran la existencia de genes estructurales y reguladores que se organizan en forma de **operones**. En 1959, Jacob acuña el término **episoma** para explicar una transferencia específica de algunos marcadores genéticos entre bacterias. Este término, hoy en día, se considera sinónimo del «plásmido» de Lederberg: una molécula de DNA circular extracromosómica que se replica autónomamente en la célula y no es esencial para la supervivencia de la especie, aunque en determinadas condiciones de cultivo puede ser imprescindible. Lo más destacable del trabajo de Jacob y Monod es que en 1960 dedujeron el modo de funcionamiento del operón de la lactosa de *E. coli* a base de mutaciones y fenotipos. También les debemos la terminología relacionada con los operones y su regulación. En sus estudios postularon la necesidad de una molécula intermediaria (el mRNA) entre el DNA y las proteínas —Meselson y Brenner demostraron en 1961 la existencia de esta molécula—. Por ello, Jacob y Monod obtuvieron el Nobel en 1965. Poco después, en 1968, Monod escribe el libro *El azar y la necesidad*, que revolucionó la filosofía de la vida: Monod argumentaba que la vida surge del azar y progresa como consecuencia necesaria de las presiones ejercidas por la selección natural. Apoyando los trabajos de Monod y Jacob, en 1967 Walter Gilbert (1932-*) aísla en la Universidad de Harvard el represor LacI, y Mark Ptashne aísla en el mismo centro el represor del fago lambda: se confirma molecularmente el modelo del operón.



Monod



Jacob

Al igual que en su día la aparición de la revista *The Journal of Biological Chemistry* supuso la consolidación de la bioquímica, la aparición en 1959 de *Journal of Molecular Biology* de la mano del sudafricano Sydney Brenner (1927-*), en la Universidad de Cambridge, supuso la confirmación de la biología molecular como un área de conocimiento e investigación independiente.

A partir de entonces, los conocimientos sobre la transferencia de información en los seres vivos se acumulan de forma exponencial. Así, en 1958 S. B. Weiss describe la síntesis del RNA por una **RNA polimerasa dirigida por DNA**. La replicación semiconservativa del DNA propuesta por Watson y Crick es confirmada experimentalmente por Matthew Stanley Meselson (1930-*) y Franklin Stahl (1910-*) en Caltech. En 1960 Stewart Linn y Werner Arber (1929-*), en Ginebra, descubren los sistemas de **restricción** de las bacterias. En 1961, en la Universidad Johns Hopkins, Howard Dintzis descubre que el mRNA se traduce en sentido 5' a 3', y que las proteínas de sintetizan desde el extremo amino al carboxilo; este descubrimiento es el que ha proporcionado la base para establecer por convenio que la ordenación del DNA siempre sea desde el extremo 5' al 3', y la de las proteínas desde el extremo amino al carboxilo. A su vez, Ben Hall y Sol Spiegelman hibridan DNA y RNA, lo que demuestra su complementariedad y sienta las bases de la **hibridación** de ácidos nucleicos —no confundir esta hibridación con la formación de DNA recombinante/híbrido/quimérico que veremos más adelante—.

En la década de 1960 se prestó especial interés al modo en que se descodificaba el RNA en aminoácidos. Así, en 1964, Charles Yanofsky comprueba en la Universidad de Stanford que la secuencia de nucleótidos del DNA se corresponde exactamente con la de aminoácidos. Ya vimos que en 1956 Berg demostró que el tRNA era el que descodificaba la información del mRNA y aseguraba la interpretación exacta de la información genética. Debido a su pequeño tamaño (de 73 a 93 nucleótidos), su disponibilidad y su función clave, fue el primer ácido nucleico sobre el que se intentó la secuenciación y la obtención de una estructura tridimensional. En 1965 Robert William Holley (1922-1993) obtuvo en la Cornell University la secuencia de nucleótidos completa del tRNA de la Ala en las levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*); obtuvo el Nobel en 1968. Marshall Warren Nirenberg (1927-*) y Har Gobind Khorana (1922-1993), en el National Heart Institute de los NIH, acababan de descifrar el código genético en junio de 1966 gracias a la aplicación de la polinucleótido fosforilasa de Ochoa, lo que fue recompensado en 1968 con el Nobel, compartido con Holley. Szybalski y Summers demostraron en 1967 que el RNA se transcribe a partir de DNA.

A comienzos de la década de 1970 ya está más que claro que los problemas biológicos pueden y deben ser explicados desde un punto de vista molecular. En esta época se incorpora por fin al modo de pensar de todos los biólogos el método experimental que venía aplicándose a la biología molecular: las únicas hipótesis válidas son las que se pueden verificar experimentalmente. Esto conllevó un olvido, al menos temporal, de los métodos de observación y descripción estructurales que habían sido prevalentes durante el siglo XIX y el comienzo del XX.

En 1970 Günther Blobel (1936-*) demuestra la existencia de secuencias señal y receptores para estas secuencias, que regulan el **tráfico de proteínas** dentro de la célula. Toda



Arriba: Meselson, Stahl; debajo: Nirenberg, Khorana.

una vida dedicada a conocer las reglas de este tráfico le valió el Nobel en 1999. También en 1970 Hamilton Smith (1931-*) descubre las **enzimas de restricción**, purificando la primera, que fue *HindII*, a partir de *Haemophilus influenzae*. Un año después, Daniel Nathans (1928-1999) elabora el primer mapa de restricción del DNA, y al año siguiente, Janet Mertz y Ron Davis demuestran que un fragmento de restricción podía ser insertado y ligado a otro DNA cortado por la misma enzima. Paul Berg (el mismo que demostró que el tRNA mediaba entre el mRNA y las proteínas) construye en 1972 la primera molécula de **DNA recombinante** o **quimera** entre DNA plasmídico de *E. coli* y DNA del fago I (le supondrá el Nobel en 1980). Esto sirvió para que un año más tarde (1973) Herbert Boyer (1936-*) y Stanley Norman Cohen (1922-*), de forma independiente, expresaran en una bacteria un plásmido que contenía un gen recombinante. Nace así la **clonación**. Smith y Nathans, junto con Arber (el descubridor de los sistemas de restricción), reciben el Nobel en 1978. A partir de entonces se empieza a dejar de purificar y caracterizar enzimas para empezar a clonar genes.

Howard Martin Temin (1934-1994) había demostrado la existencia de virus con RNA como material genético en cuyo ciclo vital no aparecía DNA en ningún momento. Posteriormente obtuvo indicios de que algunos virus RNA eran capaces de sintetizar DNA usando su RNA como plantilla. En 1970, Temin y David Baltimore (1938-*) demostraron que la copia de RNA en DNA durante la infección de algunos virus se debía a una nueva actividad catalítica que denominaron **transcriptasa inversa** o «retrotranscriptasa» (*reverse trans-*



Cohen



Boyer

criptase). Temin y Baltimore fueron galardonados por ello con el Nobel en 1975. En 1974 J. Schell y M. Van Montagu señalan que las enfermedades provocadas por *Agrobacterium* se deben a la existencia de plásmidos en las cepas que se denominan **Ti** (*tumor inducing*) y **Ri** (*root inducing*), sentando las bases de lo que luego será la transformación de plantas superiores al lograr transferir un gen quimérico al tabaco. En 1974 John Shine (1946-*) y Lynn Dalgarno (1935-*) presentan en Canberra (Australia) la secuencia consenso de fijación de los mRNA a los ribosomas procariotas. Ese mismo año se celebra un congreso internacional en Asilomar (California), donde se regula el uso de microorganismos modificados genéticamente y la tecnología del DNA recombinante. Todavía en 1974 se obtiene la estructura tridimensional del tRNA de Phe, demostrándose que tenía forma de L. La determinación de esta estructura es uno de los múltiples casos en los que dos laboratorios, el MIT americano y el MRC inglés, no compitieron limpiamente para ver quién publicaba primero los resultados. Como resultado de esta desafortunada carrera, poco más se ha avanzado hasta hoy sobre la estructura de estas moléculas.



Baltimore



Temin



Gilbert

En 1975 el alemán Georges J. F. Köhler (1946-1995) y el argentino César Milstein (1927-*), trabajando en el Medical Research Council británico, en Cambridge, fusionan células para producir anticuerpos monoclonales. En su breve artículo en *Nature* proponen que «tales células se pueden cultivar in vitro de forma masiva para obtener anticuerpos específicos. Tales cultivos podrán ser muy útiles en aplicaciones médicas e industriales». Es una clara evidencia de que comien-

zan a tomarse en serio las aplicaciones biotecnológicas de los resultados obtenidos por la ciencia básica; se les galardonó con el Nobel en 1984. Edward M. **Southern** (1938-*) desarrolla en Edimburgo la hibridación de ácidos nucleicos en soporte sólido. En este mismo año Walter Fiers, en la Universidad de Gante, publica la primera secuencia de nucleótidos larga, gracias a un sistema de secuenciación más-menos que ideó Fred Sanger; se trata del cromosoma de RNA del fago MS2. En 1977 Alan M. Maxam y Walter Gilbert (el mismo Gilbert que aisló el represor LacI y que acuñaría más adelante los términos «intrón» y «exón») describen la **secuenciación** química del DNA. Por su lado, Fred Sanger, el que secuenció por primera vez una proteína, perfeccionó su sistema más-menos y lo convirtió en el método de secuenciación basado en didesoxinucleótidos, con lo que la obtención de secuencias de DNA se convierte en una técnica accesible a cualquier laboratorio. Gilbert y Sanger reciben el Nobel por ello en 1980 (el segundo de Sanger). A partir de este momento, no basta con clonar los genes, sino que también hay que secuenciarlos.



Roberts



Sharp

En 1977 Richard John Roberts (1943-*) y Phillip Allen Sharp (1944-*) descubren, de forma independiente y gracias a su colaboración científica, que en los eucariotas, a diferencia de en los procariotas, los genes no son continuos; recordemos que fue Gilbert quien bautizó como **intrones** a las secuencias que no se encuentran en el RNA, y **exones** a las que sí. Los trabajos de Roberts permitieron que en la década de 1970 se purificaran y comercializaran más de 100 enzimas de restricción. En 1978 Tilghman visualiza al microscopio electrónico los intrones como lazos de DNA que no hibridan con el mRNA que producen. En 1993, Roberts y Sharp reciben el Nobel. Los trabajos que realizó Keith Backman en el laboratorio de Mark Ptashne en la Universidad de Harvard hasta 1978 demostraron que los elementos genéticos (promotores, sitios de unión al ribosoma, secuencias codificantes...) se podían reordenar en nuevas combinaciones funcionales. Es el nacimiento de la **ingeniería genética**.

En 1978 Cooper, Weinberg y Wigler descubren los oncogenes, y Alexander Rich descubre la estructura de DNA-Z al analizar la estructura de oligonucleótidos GC. Yuet Wai Kan y Andree-Marie Dozy desarrollan la técnica **RFLP** (polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción). Herbert

Boyer vuelve a revolucionar la biotecnología al conseguir que se comercialice en 1981 una insulina obtenida por expresión en *E. coli* del gen humano recombinante: la humulina. En 1980 Martin Cline consigue el primer ratón transgénico.

Entre 1978 y 1980, Christiane Nüsslein-Volhard (1942-*) y Eric Francis Wieschaus (1947-*) revolucionan el mundo de la genética del desarrollo desde el European Molecular Biology Laboratory, en Heidelberg: demuestran que una batería de genes afectaban a la segmentación de la mosca del vinagre. Por fin hay una respuesta molecular a un proceso ontogénico complejo —como es la segmentación de la mosca del vinagre—. Esto y sus posteriores descubrimientos les valieron el Nobel en 1995. Ese año compartieron el premio con Edward B. Lewis (1918-*), de Caltech, que fue el primero en encontrar los genes homeóticos encargados de regular la expresión de los genes que van a intervenir en el desarrollo y segmentación de *Drosophila*. Gracias a ello nace la **genética del desarrollo**, al aplicar métodos moleculares y de la genética clásica a un problema de desarrollo; es el resultado de la fusión de dos disciplinas: biología molecular y genética clásica.



Wieschaus

Nüsslein

Lewis

En 1981 Sidney Altman (1939-*) describe el primer RNA con actividad catalítica (**ribozima**): la RNasa P. Al año siguiente Thomas Robert Cech (1947-*) descubre la primera ribozima en un intrón del protozoo *Tetrahymena*. Ambos reciben el Nobel en 1989 por el descubrimiento de las ribozimas. También en 1982 Stanley B. Prusiner descubre que los **priones** son partículas infecciosas compuestas sólo por proteínas, sin ácidos nucleicos. Pero Prusiner tuvo que esperar hasta 1997 para ser laureado con el Nobel, porque nadie se creía que el prión pudiera ser una partícula infectiva sin contener ningún ácido nucleico. El mismo año 1982 Mariano Barbacid identifica el primer oncogén humano.

En 1983 Kary Banks Mullis (1944-*) describe una técnica que va a volver a revolucionar la investigación en biología molecular. Se trata de la **PCR** (reacción en cadena de la polimerasa). En 1993 fue premiado con el Nobel. En 1984, en la Universidad Británica de Leicester, sir Alec John Jeffreys (1950-*) desarrolla las **huellas genómicas** (*genome fingerprintings*) digiriendo DNA con enzimas de restricción e hibridándolo con sondas radiactivas para caracterizar e identificar individuos. Al año siguiente ya se estaban usando para investigaciones criminales. Todavía en 1984, Charles



Altman



Cech

Cantor y David Schwartz desarrollan la **electroforesis en campo pulsante** para separar moléculas de DNA de alto peso molecular. Esto supuso el mayor avance en las electroforesis desde que el sueco Arne Wilhelm Kaurin Tiselius (1902-1971) desarrollara en 1937 la primera electroforesis (por ello obtuvo el Nobel en 1948). En 1986, John Rosenberg cristalizó por primera vez una enzima de restricción (*EcoRI*) acomplejada a un oligonucleótido bicatenario que contenía la secuencia de reconocimiento.

En 1987, Maynard Olson, en la Universidad de Washington, construye los **YAC** (cromosomas artificiales de levaduras) para clonar grandes fragmentos de DNA. Con estas herramientas, en 1987 se inician casi simultáneamente el Proyecto genoma humano, de la mano de James Watson, y el Proyecto genoma de levadura, de la del belga André Goffeau. Este segundo fue subvencionado inicialmente sólo por la Unión Europea (pero después se adhirieron al proyecto investigadores americanos y japoneses con sus propias fuentes



Mullis



Tiselius

de financiación). El primer gen de humanos se clonó en 1977, pero habría que esperar hasta 1990 para que el Proyecto genoma humano comenzara formalmente. En cambio, en 1992 ya aparece terminada la secuencia del primer cromosoma de levaduras. En 1995 se describen muchas nuevas técnicas dedicadas al mapeo de genes. En 1996 ya está terminada la secuenciación de toda la levadura, un año después de que se publique el primer organismo no viral (*Haemophi-*

lus influenzae) secuenciado por J. Craig Venter (1946-*) en el centro que él mismo creó: The Institute for Genomic Research (TIGR). Ese mismo año, la compañía Affymetrix (California) presenta el primer **microchip** de genes, también llamado matriz o microordenamiento de DNA (*DNA array*). La secuenciación y la PCR han permitido que se pase de la secuenciación de genes a la secuenciación de genomas. Esto ha impulsado lo que se podría denominar una nueva revolución tecnológica sin parangón: los microchips de DNA (*microarray technology*), que consisten en inmovilizar de forma ordenada fragmentos de ácidos nucleicos que constituyen un panel de sondas con las que se puede analizar en pocas horas desde qué organismo está produciendo una infección hasta en qué momento del desarrollo y en qué tejido se expresa un gen. El primero en usarlos fue Patrick Henry Brown, en 1995, en la Universidad de Stanford, con la tecnología desarrollada previamente por Stephen Fodor. Ha nacido la **genómica** y está sembrándose el terreno para la aparición de las otras «-ómicas».

En 1997 Ian Wilmut consigue el primer organismo superior clonado, la oveja *Dolly*, en el Instituto Roslin de Edimburgo; un año después, *Dolly* dio a luz a *Bonnie*, demostrando que los clones pueden dar a luz individuos perfectamente normales. *Dolly* murió en el 2003 a causa de un envejecimiento prematuro. En 1998 apareció la secuencia completa del primer animal, el gusano *Caenorhabditis elegans*. El primer cromosoma humano secuenciado se publicó en 1999 (se trataba del cromosoma 22), aunque en el 2000 se elaboró el primer borrador del genoma, construido por Venter en el TIGR y Francis Sellers Collins (1950-*) en la empresa Celera Genomics. Comienza la era **postgenómica**.

Por último, podemos citar a French Anderson por conseguir la primera terapia génica en una niña de cuatro años con una enfermedad inmunitaria. En 1993 Daniel Cohen obtiene en París el primer mapa genético humano. John Michael Bishop y Harold Eliot Varmus, de la Universidad de California, reciben el Nobel en 1989 por descubrir los oncogenes retrovirales. En 1992 se concede este galardón a E. H. Fischer y E. G. Krebs por descubrir los mecanismos de fosforilación y desfosforilación reversibles de las proteínas. En 1993 se otorga el Nobel a M. Smith por la técnica de mutagénesis dirigida. En 1994 lo reciben A. G. Gilman y M. Rodbel por descubrir las proteínas G y su papel en la transducción de señales.

Hoy en día la metodología y la filosofía de la mayoría de los biólogos es casi indistinguible de unas áreas a otras. Si bien las distintas disciplinas existen y seguirán existiendo, la forma de trabajar y de abordar los problemas es muy parecida en cada una de ellas. Esto está favoreciendo extraordinariamente la comunicación entre biólogos de distintas áreas de conocimiento, con lo que se mezclan aún más las técnicas.

Bibliografía

Asimov I. Breve historia de la química. Madrid: Alianza; 1975.
Backman K. The advent of genetic engineering. Trends Biochem Sci, 2001; 26: 268-270.
Brabdt WN. Events in science, mathematics and technology. 1994. <<http://www.gsu.edu/other/timeline.html>>.

Brock WH. Historia de la química. Madrid: Alianza; 1998.
Bud R. History of biotechnology. En: Encyclopaedia of life sciences. Nature, 2002. <<http://www.els.net/>>.
Campos Ortega JA. La síntesis de las disciplinas biológicas. Boletín de la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular, 2002; 133: 7-13.
Coley NG. History of biochemistry. En: Encyclopaedia of life sciences. Nature, 2002. <<http://www.els.net/>>.
Comfort NC. From controlling elements to transposons: Barbara McClintock and the Nobel Prize. Trends Biochem Sci, 2001; 26: 454-457.
Clark BFC. The crystallization and structural determination of tRNA. Trends Biochem Sci, 2001; 26: 511-514.
Claros MG. Evolución histórica de la Biología (I): de los griegos al Renacimiento. Encuentros en la Biología, 2002; 76: 6-8. <<http://www.uma.es/estudios/centros/Ciencias/publicaciones/encuentros/encuentros76/historia.htm>>.
Claros MG. Evolución histórica de la Biología (II): nacimiento de la química y la «fuerza vital» de los seres vivos (siglos XVII y XVIII). Encuentros en la Biología, 2002; 78: 4-5. <<http://www.uma.es/estudios/centros/Ciencias/publicaciones/encuentros/encuentros78/historia2.htm>>.
Claros MG. Evolución histórica de la Biología (III): de la vida físico-química a la bioquímica (siglo XIX). Encuentros en la Biología, 2002; 80: 4-6. <<http://www.uma.es/estudios/centros/Ciencias/publicaciones/encuentros/encuentros80/historia3.htm>>.
Claros MG. Evolución histórica de la Biología (IV): la edad de oro de la bioquímica (siglo XX). Encuentros en la Biología, 2002; 83: 5-6. <<http://www.uma.es/estudios/centros/Ciencias/publicaciones/encuentros/encuentros83/histociencia.html>>.
Claros MG. Evolución histórica de la Biología (V): la naturaleza química del DNA (hasta el primer tercio del siglo XX). Encuentros en la Biología, 2003; 86: 6-8. <<http://www.uma.es/estudios/centros/Ciencias/publicaciones/encuentros/encuentros86/histobioq5.htm>>.
Gavilanes JG, Haro A, Vázquez D, Cárdenas J, Meléndez E, Salas M, Lacadena JR, García-Barreno P, Núñez de Castro I, Mato JM y Martín Municio Á. Historia de la Bioquímica. Madrid: Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales; 1985.
Kornberg A. Centenary of the birth of modern biochemistry. Trends Biochem Sci, 1997; 22: 282-283.
Moore R. La vida y su estructura. Barcelona: Labor; 1964.
Monod J. El azar y la necesidad. Ensayo sobre la filosofía natural de la biología moderna. Barcelona: Tusquets; 1981.
Mullis KB. Reacción en cadena de la polimerasa. Investigación y Ciencia, 1990; 165: 30-37.
Martín Municio Á. Contribución de la química al desarrollo de la bioquímica. En: Historia de la química. Madrid: Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales; 1981; 140-158.
Schrödinger E. ¿Qué es la vida? Barcelona: Orbis; 1986.
Seyre A. Rosalind Franklin y el ADN. Madrid: Horas y horas; 1997.
Summers WC. History of molecular biology. En: Encyclopaedia of life sciences. Nature, 2002. <<http://www.els.net/>>.
Sweeny B. Maurice Wilkins, DNA enabler. 1999. <<http://www.nzedge.com/heroes/wilkins.html>>.
Thieffry D, Sakar S. Forty years under the central dogma. Trends Biochem Sci, 1998; 23: 312.
Watson JD. The double helix. A Personal Account of the Discovery

of the Structure of DNA. Nueva York: Atheneum; 1968.

Watson JD, Tooze J, Kurtz DR. Recombinant DNA, a short course. Nueva York: Scientific American; 1983.

Watson JD, Hopkins NH, Roberts JW, Steitz JA, Weiner AM. Molecular biology of the gene. Menlo Park: Benjamin-Cummings; 1987.

Sin autor concreto

A concise history of molecular biology and genetics.

<<http://www.molecular-biologist.com/>>.

A turning point in the history of developmental genetics.

<http://www.embl-heidelberg.de/ExternalInfo/public_relations/TurningPoint.html>.

Abbreviated history of genetics.

<<http://www.mayo.edu/labgenet/history.html>>.

Access Excellence. <<http://www.accessexcellence.org/>>.

Biography.com. <<http://www.biography.com/>>.

DNA from the beginning. <<http://www.dnafb.org/dnafb/>>.

Eric Weisstein's World of Science.

<<http://scienceworld.wolfram.com/>>.

Evolution encyclopedia. <<http://evolution-facts.org/a10a.htm>>.

Felix d'Herelle and the discovery of bacteriophage.

<<http://www.mun.ca/biochem/courses/3107/Lectures/Topics/dHerelle.html>>.

History of Biology Web pages. <http://www.dartmouth.edu/~bio1/>.

La genética: la ciencia de la herencia.

<http://lectura.ilce.edu.mx:3000/sites/ciencia/volumen3/ciencia3/125/htm/sec_3.htm>.

The MAD Scientist library.

<http://www.madsci.org/libs/MAD_libs.html>.

Nobel e-Museum. <<http://www.nobel.se/>>.

Open Science: Biology. <<http://dmoz.org/Science/Biology/>>.

Today in Science History. <<http://www.todayinsci.com/>>.

Bibliografía adicional

Battaner E. Desarrollo histórico de la bioquímica. En: Herrera E, dir. Bioquímica. Madrid: Iberoamericana; 1986; 1-8.

Cohen SS. The biochemical origins of molecular biology: Introduction. Trends Biochem Sci, 1984; 9: 334.

Cohen SS. Finally the beginning of molecular biology. Trends Biochem Sci, 1985; 11: 1.

Cordón F. Historia de la bioquímica. Madrid: Compañía Literaria; 1996.

Florin M, Schultz EH. A history of biochemistry. En: Comprehensive Biochemistry (vol. 30). Amsterdam: Elsevier; 1972.

Grande-Covián F. La bioquímica. En: Laín Entralgo P. Director. Historia universal de la medicina (vol. 7). Barcelona: Salvat; 1975.

Hempel CG. Filosofía de la ciencia natural. Madrid: Alianza; 1977.

Krebs H. Reminiscences and reflections. Oxford: Clarendon; 1981.

Lafuente A, Saldaña JJ. Historia de las ciencias. Madrid: CSIC; 1987.

Leloir LF. Pasado, presente y futuro de la bioquímica y biología molecular. En: Ochoa S, Leloir LF, Oró J, Sols A. Directores. Temas de actualidad para graduados. Barcelona: Salvat; 1986.

Morange M. Histoire de la biologie moléculaire. París: La Découverte; 1994.

Ochoa S. De la bioquímica a la biología molecular. Madrid: McGraw-Hill Interamericana; 1995.

Orly R. Biochemical origins of molecular biology: a discussion. Trends Biochem Sci, 1986; 11: 303.

Rose S. Reflections on reductionism. Trends Biochem Sci, 1988; 13: 160.

Santasmases MJ. Establecimiento de la bioquímica y de la biología molecular en España. Madrid: Ramón Areces; 1997.

Sibatani A. Molecular biology: a paradox, illusion and myth. Trends Biochem Sci, 1981; 7: R6.

Slater EC. Is biochemistry irreducible to chemistry? Trends Biochem Sci, 1988; 13: 378.

Stent GS. That was the molecular biology that was. Science, 1968; 160: 390.

