

Hitos de la Genética: una síntesis

Tomás Naranjo

Departamento de Genética, Facultad de Biología, José Antonio Novais 2,
Universidad Complutense, 28040 Madrid, España
toranjo@bio.ucm.es

Resumen. Este trabajo trata de sintetizar los avances más significativos en el campo de la Genética desde su nacimiento, con los experimentos de Mendel, hasta el momento actual. La Genética es un área de la Biología cuyo objetivo es el estudio del material hereditario, y los genes que éste contiene. Mediante enfoques metodológicos diferentes, los estudios genéticos han tratado de dar respuesta a las siguientes preguntas: ¿qué es el material hereditario y cómo se organiza?, ¿cómo se replica y transmite su información?, ¿cómo y cuando se expresa esa información?, ¿cómo cambia dicha información?, y ¿cuál es su destino en el tiempo y en conjuntos de individuos?. Los descubrimientos más notables surgidos a lo largo del tiempo son referidos y estructurados en la medida en que han contribuido a perfilar la respuesta a cada una de dichas preguntas.

Palabras clave: Genética. Material hereditario. Transmisión. Mutación. Expresión génica. Desarrollo. Evolución.

INTRODUCCIÓN: LA INFORMACIÓN GENÉTICA

En el ensayo de WADDINTONG (1968) acerca de las ideas básicas en Biología, se recogen algunos puntos de vista que merecen ser considerados al tratar de establecer los principios o descubrimientos más influyentes en una ciencia en pleno desarrollo como la Genética. Este autor distingue dos tipos de materia en la naturaleza: animada e inanimada. La materia animada es aquella que está dotada de vida, siendo éste un término ambiguo que necesita ser especificado.

Waddington sostiene que los biólogos de comienzos del siglo XX vieron los fundamentos de la vida en los modos peculiares en que operan los organismos vivos. Argumentaban que un ser vivo recoge de su entorno un cierto número de entidades físico-químicas y moléculas relativamente simples (energía lumínica, agua, sales minerales, etc.) y construye con ellas su propia estructura en un proceso en el que se sintetizan estructuras moleculares más complejas que las absorbidas. Esta concepción condujo al estudio experimental de los organismos vivos como sistemas causalmente operativos.

Sin embargo, no pasó mucho tiempo sin que se cuestionase lo adecuado de la definición de vida como materia viviente. Esta observación fue hecha por los genéticos al indicar que un organismo viviente no se limita a sintetizar estructuras específicas a partir de moléculas más simples, sino que también se reproduce y se caracteriza por participar en el proceso de la evolución. La capacidad de reproducirse, es decir, de engendrar un organismo semejante al progenitor, requiere, además de una especificidad en la síntesis, la capacidad de transmitir esa especificidad del progenitor al descendiente. Para que la evolución sea posible es necesario que la especificidad de un organismo pueda sufrir cambios que sean a su vez transmisibles a la descendencia.

En los primeros años del siglo XX, los genéticos argüían que un sistema es viviente cuando es portador de una especificidad y es capaz de transmitirla a su descendencia tanto si se mantiene estable como si sufre algún cambio. Esta frase puede actualizarse sustituyendo el término especificidad por información hereditaria. Este concepto genético de la vida, que no asocia a la vida con los tipos particulares de materia viviente existentes en nuestro planeta, es el que ha proporcionado la clave unificadora de la Biología. El centro de atención se desplaza desde fenómenos particulares observables en cualquier tipo de organismo a la vida como fenómeno global y único en el espacio y en el tiempo.

El concepto de información hereditaria nace de la teoría evolucionista de Darwin y del concepto mendeliano de gen y se concreta y materializa con la identificación de la naturaleza química y estructura del material hereditario. El material hereditario es el objeto de la Genética y los hitos que marcan el desarrollo de esta ciencia han pretendido dar respuesta a las siguientes preguntas:

¿Qué es el material hereditario y cómo se organiza?

¿Cómo se replica y transmite su información?

¿Cómo y cuando se expresa su información?

¿Cómo cambia?

¿Cuál es su destino en el tiempo y en conjuntos de individuos?

NATURALEZA Y ORGANIZACION DEL MATERIAL HEREDITARIO

La información genética y su localización

El descubrimiento del material hereditario fue propiciado por el desarrollo del pensamiento genético que emerge con los experimentos de MENDEL, iniciados en 1854 y publicados en 1866. Analizando la transmisión de rasgos concretos mediante un estudio cuantitativo de las variantes que cada rasgo presentaba en sucesivas descendencias, Mendel propuso una explicación generalizada de la transmisión de

semejanzas y diferencias entre individuos en términos matemáticos, pero comprobable experimentalmente. Su punto esencial consistió en concebir la herencia como una transmisión independiente de elementos o partículas que no se mezclan y pueden adoptar formas alternativas. Cada individuo hereda de sus progenitores una partícula para cada rasgo externo. Estas partículas concebidas como elementos abstractos y representadas mediante símbolos las asoció con cada carácter pero sin especificar de manera clara si eran o no esencialmente diferentes del carácter.

Tras el redescubrimiento de los trabajos de MENDEL en 1900 por DE VRIES, CORRENS Y TSCHERMAK, mendelianos y biómetras entablaron un debate sobre lo que es hereditario entre la variabilidad de los organismos vivos. Esta disputa la zanjaron JOHANNSEN (1909), NILSON-EHLE (1909) y EAST (1910) al demostrar la base mendeliana de la variación continua. Además, para interpretar la ausencia de respuesta a la selección en sus líneas puras de judías, Johannsen introdujo los conceptos de genotipo y fenotipo que definen dos realidades esencialmente diferentes, inferible la primera y observable la segunda.

Los avances en Citología al final del siglo XIX llevaron a enunciar la teoría celular y a comprender la trascendencia del núcleo en la reproducción. En 1903, Sutton propuso a los cromosomas como el soporte físico de la herencia basándose en la correspondencia entre la transmisión de cromosomas y genes. MORGAN, en 1910, explicó la herencia del color del ojo en *Drosophila melanogaster* asumiendo que el gen que controla ese carácter está localizado en el cromosoma X. La localización cromosómica de otros genes, realizada por Morgan y su escuela en los años siguientes, permitió establecer la disposición lineal de los genes en los cromosomas. En 1931, CREIGHTON y McCLINTOCK, en maíz, y STERN, en *Drosophila*, demostraron la correspondencia entre intercambio cromosómico y recombinación genética.

Naturaleza y estructura del material hereditario

Basándose en el fenómeno de la transformación bacteriana descubierto por GRIFFITH (1928) en neumococos, AVERY, MACLEOD y McCARTY (1944) aportaron la primera prueba experimental de que el ADN es el material hereditario. Los neumococos no virulentos son capaces de adquirir y transmitir el carácter virulencia al ser transformados con extractos purificados de ADN de bacterias virulentas.

Sin embargo, este descubrimiento fue acogido con gran escepticismo porque casi nadie consideraba en ese momento que el ADN pudiera tener tal papel informativo. Aunque existía cierta sospecha de que el ADN desempeña alguna función en los procesos hereditarios, 20 años atrás FEULGEN había descubierto que es un componente principal de los cromosomas, la opinión más generalizada consideraba al ADN como una macromolécula monótonamente uniforme (hipótesis del tetranucleótido). En lugar de al ADN, era a las proteínas cromosómicas a quien se asignaba el papel informativo de los genes. Hasta 1952, cuando HERSHEY y CHASE demostraron que la información necesaria para la reproducción de los bacteriófagos reside en el ADN y no en la proteína, no fue definitivamente aceptado el ADN como el

material hereditario. Esta aceptación en parte fue motivada por la observación de que las cuatro bases nitrogenadas que forman parte del ADN no se encuentran en proporciones iguales y, por tanto, no puede tratarse de una molécula compuesta de una secuencia repetida indefinidamente (CHARGAFF, 1950). Si a esto se añade que cada molécula contiene un elevadísimo número de nucleótidos resulta evidente que el ADN es una molécula de gran complejidad capaz de almacenar la información en su secuencia de bases.

La regla de equivalencia molar de bases (A)=(T) y (G)=(C) demostrada por CHARGAFF (1950) y la aplicación con éxito de la cristalografía de rayos X por ATSBURY, WILKINS y FRANKLIN condujeron a WATSON y CRICK (1953 a, b) a proponer su modelo de doble hélice para la estructura del ADN. Este modelo admite una secuencia arbitraria de bases, requisito indispensable para ser portador de información. La complementariedad de bases de las dos hélices sugirió un mecanismo de copia del material genético, segunda propiedad esencial requerida para la transmisión de la información. Una tercera implicación biológica del modelo es admitir la posibilidad de alteración de la secuencia de nucleótidos por apareamientos anormales derivados de cambios tautoméricos en las bases y, por tanto, proporciona una explicación de la variabilidad genética existente en los seres vivos.

Aunque la estructura del ADN predominante en los sistemas biológicos es la propuesta por WATSON y CRICK (ADN-B) otras conformaciones alternativas han sido descritas. Así, secuencias que contienen bases púricas y pirimidínicas dispuestas alternativamente en la misma hélice sencilla pueden adoptar una configuración diferente, ADN-Z, en la que la doble hélice es levógira en lugar de dextrógira (WANG *et al.*, 1979). Otras secuencias con un eje de complementariedad en la misma hebra, palíndromos, pueden adoptar una forma en cruz dentro de la cadena de ADN. Se ha sugerido que tales conformaciones pueden intervenir en la regulación de la expresión génica (GILBERT, 1976). Cuatro cadenas sencillas y paralelas de ADN pueden también formar complejos tetraméricos mediante uniones entre nucleótidos de guanina (SON y GILBERT, 1988) y se especuló que este podría ser el modo por el que se unen los cromosomas en el apareamiento meiótico.

Organización del material hereditario

Las moléculas de ADN o ARN portadoras de la información genética están organizadas en estructuras denominadas cromosomas, que han adquirido un creciente grado de complejidad en la evolución. En muchos virus la información genética se concentra en un único cromosoma, lineal o circular, que no es otra cosa que una molécula desnuda de ADN o de ARN. Esta molécula es empaquetada en el interior de la cápsula proteica durante la morfogénesis del virus. En algunos virus, ciertas proteínas de bajo peso molecular (Vpg) unidas covalentemente a la molécula de ácido nucleico, parecen estar implicadas en su empaquetamiento en el interior de la partícula vírica. Las bacterias contienen un cromosoma formado por una doble hélice de ADN circular compactada en dominios que pueden conformarse interaccionando con pequeñas moléculas de ARN (PETTIJOHN, 1982). Proteínas como las H-NS, cuya

estructura es similar a la de las histonas (DAME *et al.*, 2006), son también capaces de interaccionar con el ADN y compactarlo. Los dinoflagelados presentan un tipo de organización del ADN intermedio entre procariotas y eucariotas, poseen un elevado número de cromosomas condensados permanentemente y encerrados dentro de un núcleo rodeado por la membrana nuclear, pero carecen de cromatina nucleosomal. Sin embargo, la organización de esos cromosomas no ha podido ser todavía desvelada (COSTAS y GOYANES, 2005).

En eucariotas, el material hereditario se condensa y descondensa cíclicamente para, respectivamente, dividirse y duplicarse o expresarse. En el núcleo en interfase, el ADN se encuentra asociado con histonas y proteínas no-histónicas configurando un complejo entramado de moléculas denominado cromatina cuya organización, al menos en parte, puede remodelarse según los requerimientos de la célula. Los nucleosomas constituyen el primer nivel de organización de la cromatina y se suceden linealmente formando una fibra de 10nm. Cada nucleosoma está constituido por un octámero de histonas (H2A-H2B + H2A-H2B + 2H3-H4) y un fragmento de ADN de unos 200 pares de bases que gira dando una vuelta y tres cuartos alrededor del octámero de histona y conecta un nucleosoma con otro (KORNBERG y KLUG, 1981; LUGGER *et al.*, 1997). Esta fibra, por la acción de la histona H1 y, posiblemente, de las colas de las histonas del octámero, se pliega en zig-zag y se comprime originando una fibra de 30 nm (BEDNAR *et al.*, 1998) que representa el segundo nivel de organización de la cromatina. LAEMLY *et al.* (1977) propusieron un modelo de organización del cromosoma metafásico en el que las proteínas no histónicas desempeñan un papel fundamental. Estas proteínas forman un eje o armazón cromosómico que discurre a lo largo de cada cromátida. Las fibras de cromatina quedan unidas a este armazón en diferentes puntos de anclaje que obligan al ADN a adoptar una organización en dominios o lazos observables en cromosomas desprovistos de histonas. Se ha propuesto que los lazos de cromatina, presentes ya en el núcleo en interfase, se corresponden con unidades estructurales asociadas con la replicación del ADN y la expresión génica. El gen de la distrofina humana está organizado en varios lazos, uno de los cuales pudo ser visualizado mediante hibridación *in situ* (IAROVAIA *et al.*, 2004), en la base de esos lazos se localizan los cuatro orígenes de replicación encontrados en ese gen.

La cromatina eucariótica fue clasificada inicialmente en dos categorías por su reacción a los colorantes: eucromatina, el componente principal, y heterocromatina, componente que difiere por su grado de tinción mayor (heteropicnosis positiva) o menor (heteropicnosis negativa) respecto al principal. Determinados tratamientos experimentales permiten revelar las zonas heterocromáticas de los cromosomas en muchos organismos originando el bandeo cromosómico, herramienta utilizada en la identificación cromosómica. Eucromatina y heterocromatina difieren, además de en el grado de picnosis, en su organización estructural, en su composición química y en el contenido en genes o en el grado de expresión de los mismos (VERMA, 1988).

La organización interna de la secuencia de ADN en los cromosomas eucarióticos empezó a desvelarse con el estudio de la cinética de renaturalización del ADN

(BRITTEN y KOHNE, 1968). Esta metodología evidenciaba la existencia de un componente de secuencia única, otro de secuencias moderadamente repetidas y otro de secuencias altamente repetidas. Por otra parte, la centrifugación en gradiente de densidad permitió separar secuencias con distinto contenido en pares G-C respecto al componente principal, que se denominaron ADN satélite. Con esta técnica se puso también de manifiesto la organización del ADN de células humanas y de mamífero en isocoras de distinto contenido en pares G-C que guardan relación con las bandas G y R reveladas con diferentes técnicas de bandeado cromosómico (BERNARDI, 1995).

El desarrollo de tecnologías capaces de obtener la secuencia de bases de genomas completos ha sido propiciado principalmente por los proyectos de secuenciación del genoma humano (INTERNATIONAL HUMAN GENOME SEQUENCING CONSORTIUM, 2001; VENTER *et al.*, 2001). La secuenciación del genoma de distintos organismos eucariotas ha puesto de manifiesto la distribución de los distintos tipos de secuencias (BROWN, 2007). Los genes no tienen una distribución uniforme a lo largo del cromosoma y es variable también su densidad de unos cromosomas a otros. Las partes codificantes de los genes representan una pequeña fracción del genoma, 1,5% en el caso del genoma humano frente a un 44% de ADN repetido. Organismos como *Saccharomyces cerevisiae* tienen un genoma más pequeño y más compacto con sólo un 3,4% del ADN repetido. Muchos genes están organizados en familias multigénicas como los genes del ARN ribosómico (ARNr) o los de las histonas. Otras familias son más complejas porque cada miembro tiene una función distintiva aunque sus secuencias sean similares, es el caso de las familias génicas de las globinas α y β humanas. Además de genes activos, los genomas eucariotas contienen secuencias de genes inactivos, denominadas pseudogenes, que pueden ser producto de la degradación causada por mutaciones, pseudogenes convencionales, o resultado de la síntesis de ADNc a partir de ARNm, pseudogenes procesados. Las regiones intergénicas, que en el caso del genoma humano constituyen el 62% del total, contienen principalmente secuencias repetidas, muchas con estructura de transposones, y pueden estar dispersas de manera aleatoria por todo el genoma, o repetidas en tándem y concentradas en dominios concretos como el centrómero.

Los avances experimentados en el conocimiento de los genomas en la última década, han posibilitado la creación de herramientas útiles para abordar un aspecto bastante oscuro de la investigación genética: el estudio de la organización interna de los núcleos en interfase. Dentro de los núcleos en interfase, los cromosomas tienen una disposición relacionada con su actividad génica. Cada cromosoma ocupa un territorio nuclear determinado en cuya periferia se sitúan los genes activos en un momento dado. Esa disposición facilita el acceso a esos genes de la maquinaria involucrada en los procesos de transcripción y procesamiento (splicing) del ARN, situada en los espacios intercromosómicos (CREMER y CREMER, 2001). La posición relativa de los cromosomas en el núcleo tampoco es aleatoria. Aunque los homólogos no ocupan territorios cromosómicos vecinos (CORNFOTH *et al.*, 2002; CORREDOR *et al.*, 2005) sí hay una ordenación de los cromosomas en el núcleo. BOLZER *et al.* (2005) han determinado el mapa tridimensional de los cromosomas humanos en rosetas en prometáfase y en núcleos en interfase de fibroblastos. Los cromosomas tienen una

disposición radial situándose los más pequeños en el interior del núcleo y los de mayor tamaño en la periferia. El orden está relacionado no sólo con el tamaño sino también con la densidad génica; entre cromosomas de tamaño similar, los más ricos en genes ocupan territorios interiores y los más pobres territorios periféricos.

Los genomas de mitocondrias y cloroplastos de células eucariotas son en su mayoría circulares, quizás multipartitos, con una cantidad de copias de 1.000 a 10.000 por célula (BROWN, 2007). Los genomas mitocondriales varían de tamaño: 6 Kb tiene el de *Plasmodium falciparum*, 16 Kb el de vertebrados, 75 Kb el de *S. cerevisiae* y 2.500 kb el de melón (*Cucurbita melo*). Las diferencias en tamaño pueden deberse al contenido en ADN intergénico o a la presencia o no de intrones, pero pueden contener también un número variable de genes comprendido entre 5 y 100. Entre estos genes se encuentran los que codifican para ARNr y ARNt (ARN de transferencia) y otros que codifican para proteínas mitocondriales, por ejemplo las del complejo respiratorio. Los genomas de cloroplastos tienen un tamaño menos variable comprendido entre 120 y 192 kb y una estructura similar con aproximadamente unos 200 genes que codifican ARNr, ARNt, proteínas ribosómicas y proteínas que participan en la fotosíntesis.

REPLICACIÓN Y TRANSMISIÓN DEL MATERIAL HEREDITARIO

La replicación del ADN es un requisito previo indispensable para conseguir un reparto equitativo de la información genética en la división celular o en la gametogénesis. El modelo de doble hélice de Watson y Crick permite un mecanismo de replicación consistente en la separación de las dos hélices sencillas y su participación como molde en la síntesis de las respectivas hebras complementarias. Ese modelo de replicación fue confirmado primero en eucariotas por TAYLOR *et al.* (1957) y seguidamente en bacterias por MESELSON y STAHL (1958).

La replicación del ADN tiene un único origen en procariotas, por la acción de un complejo proteico, que incluye la actividad ADN polimerasa, progresa bidireccionalmente, de forma continua en la cadena guía y discontinua en la cadena retardada, hasta completar el polinucleótido (KORNBERG, 1980). De gran trascendencia en su momento, fue el descubrimiento de la síntesis de ADN dirigida por ARN, en el virus del sarcoma de Rous, y el aislamiento de la enzima que cataliza el proceso (TEMIN, 1974).

El mecanismo de replicación del ADN se conserva en eucariotas en sus aspectos esenciales, con la diferencia de que existen numerosos orígenes de replicación (HUBERMAN y RIGGS, 1968). La activación de los orígenes de replicación sigue una secuencia temporal ordenada (LATT, 1976). Los controles que operan en el ciclo celular aseguran el acoplamiento entre síntesis y mitosis promoviendo la síntesis de ADN en su totalidad, y por una sola vez, antes de que la célula entre en mitosis (DIFFLEY y LABIB, 2002). De gran interés para entender la replicación del cromosoma eucariótico fue el descubrimiento de la estructura de sus extremos, los telómeros (SZOSTACK y

BLACKURN, 1982) y de la enzima telomerasa que interviene en su elongación (GREIDER y BLACKBURN, 1985, 1989).

Si en la mitosis el reparto de la información genética no supone variación del número cromosómico, en la meiosis el número cromosómico se reduce a la mitad. Esto sucede por la ocurrencia de dos divisiones entre las que no media síntesis de ADN. La formación de gametos con un solo juego cromosómico compensa la duplicación cromosómica resultante de la fecundación y asegura la estabilidad del número cromosómico con el paso de las generaciones. En la mayoría de los organismos con reproducción sexual, la reducción cromosómica está precedida del reconocimiento y emparejamiento de los cromosomas homólogos; seguidamente, se unen íntimamente a lo largo de su eje, por la formación del complejo sinaptonémico, e intercambian segmentos de magnitud variable en el proceso de la recombinación. Los quiasmas, expresión citológica del sobrecruzamiento, junto con la cohesión entre cromátidas hermanas mantienen unidos a los pares de homólogos hasta metafase I y facilitan la orientación de sus centrómeros a polos opuestos, lo que conduce a su segregación en anafase I. La formación de quiasmas tiene una segunda implicación biológica: incrementar la variabilidad genética de las poblaciones naturales al generar combinaciones genéticas nuevas. El control genético y los mecanismos moleculares responsables de los procesos de sinapsis y recombinación son bastante conocidos (PAGE y HAWLEY, 2004; GERTON y HAWLEY, 2005) pero permanece todavía muy oscuro el mecanismo que dirige la búsqueda e identificación de los cromosomas homólogos al inicio de la meiosis (NARANJO y CORREDOR, 2008).

Un aspecto importante de la recombinación genética es su utilización en la elaboración de mapas genéticos. El fundamento de los mapas de recombinación meiótica radica en que, para genes situados en el mismo cromosoma, genes ligados, las combinaciones genéticas parentales y las nuevas combinaciones producto del sobrecruzamiento tienen frecuencia distinta, excepto si siempre se da sobrecruzamiento entre los genes considerados. La frecuencia con que se produce recombinación, fracción de recombinación, permite estimar la distancia entre los genes, distancia genética, y, en función de esa distancia, deducir su orden en los cromosomas. Salvo en el caso de la herencia ligada al sexo, este método no permite asignar genes a cromosomas específicos, pero sí lo permite la utilización conjunta de marcadores genéticos y marcadores citológicos. Cuando el análisis genético se aplica a seres humanos, el escaso número de descendientes por familia impide determinar la existencia de ligamiento en un solo cruzamiento, recurriéndose a la utilización de varios cruzamientos idénticos para obtener estimas fiables. La forma usual de hacer estas estimas es mediante el cálculo de los valores Lod (MORTON, 1955). Los mapas elaborados por recombinación mitótica en algunos eucariotas básicamente tienen el mismo fundamento, y lo mismo se puede decir para los mapas genéticos construidos en bacterias y virus. La combinación de los mapas genéticos con el análisis de complementación en el fago T4 permitió a BENZER (1955) efectuar el primer análisis de la estructura fina del gen e identificarlo como la unidad de función, distinta de las unidades de mutación o recombinación equivalentes al nucleótido.

El empleo de nucleasas de restricción para formar moléculas de ADN recombinante desarrollado por los grupos de Berg y Cohen (COHEN, 1975; BERG 1981) abrió un enorme abanico de posibilidades en estudios genéticos básicos, en aplicaciones de la genética en medicina, o en la mejora de microorganismos, animales y plantas. En lo referente al estudio de la transmisión, esta tecnología potenció enormemente la obtención de marcadores moleculares y, por ende, la construcción de mapas genéticos con muchísima mayor resolución que los obtenidos hasta entonces. Tales mapas han representado el paso previo necesario para la localización y aislamiento de genes en numerosas especies, para la caracterización de genes responsables de diversas enfermedades humanas y su diagnóstico precoz, o para la selección de genotipos de interés en plantas cultivadas y animales domésticos.

LA EXPRESIÓN DE LA INFORMACIÓN GENÉTICA Y SU REGULACIÓN

Procesos de la expresión génica

Debemos a GARROD (1909) la primera evidencia de la relación entre genes y procesos metabólicos. Detectó que la alcaptonuria, trastorno metabólico consistente en la excreción en la orina de alcapción en lugar de urea, presenta herencia autosómica recesiva. El aislamiento y estudio de mutantes nutricionales de *Neurospora crassa* condujo a BEADLE y TATUM (1941) a formular la hipótesis de un gen-una enzima, que asume que cada gen controla la síntesis de una enzima catalizadora de una reacción bioquímica determinada.

Basándose en la estructura de proteínas y ácidos nucleicos, CRICK (1958) propuso la hipótesis de la secuencia, según la cual la secuencia de bases en el ácido nucleico especifica la secuencia de aminoácidos en la proteína. Seis años más tarde, en 1964, los equipos de YANOFSKY y SARABHAI aportaron la evidencia experimental de la colinealidad entre ácido nucleico y proteína. El planteamiento formulado por Crick representaba el enfoque idóneo para despejar las incógnitas más importantes de la expresión génica, a saber: la naturaleza del código genético y los mecanismos de la síntesis de proteínas. Ambas cuestiones encontraron respuesta en la década de los años 60 del pasado siglo gracias a los trabajos de muchos investigadores entre los que destacan Crick, Nirenberg, Khorama, Ochoa, Brenner, Jacob, etc. Las características de la clave genética (código de tripletes, código degenerado, lectura sin superposición y lectura sin comas) fueron establecidas principalmente por CRICK *et al.* (1961). El desciframiento de la clave se llevó a cabo utilizando mensajeros sintéticos en sistemas *in vitro* con todos los elementos necesarios para inducir la síntesis de polipéptidos. Este planteamiento experimental emanó de dos descubrimientos: el de la enzima polirribonucleótido fosforilasa (GRUNBERG-MANAGO y OCHOA, 1955) y la obtención de un sistema acelular estable donde inducir la síntesis de proteínas (MATTHAEI y NIRENBERG, 1961). Utilizando este sistema acelular, Nirenberg *et al.* sintetizaron distintos polipéptidos a partir de copolímeros aleatorios, pero la utilización de trinucleótidos, junto con ARNt unido a ribosomas, fue lo que proporcionó el significado de un mayor número de tripletes, más de 50 (NIRENBERG y LEDER, 1964). Los

restantes fueron descifrados por el grupo de Khorama mediante la utilización de moléculas de ARN sintético de secuencia conocida (KHORAMA et al., 1966).

El planteamiento de la hipótesis de la secuencia suscitó la idea de la existencia de un intermediario para transportar al citoplasma, lugar donde se sintetizan las proteínas, la información contenida en el ADN nuclear. Jacob *et al.* aportaron la evidencia experimental de una molécula de ARN con esa función y la denominaron ARN mensajero o ARNm (BRENNER *et al.*, 1961). De esta manera quedaba cerrado el circuito por el que fluye la información desde el ADN hasta las proteínas y que CRICK (1970) bautizó como Dogma Central de la Biología Molecular. La información genética contenida en la secuencia de bases del ADN se conserva gracias a su replicación. Esa información es exportada al citoplasma en una molécula de ARNm sintetizada en el proceso de la transcripción. En los ribosomas la información del ARNm se traduce en la síntesis de una proteína en el proceso de la traducción.

El concepto de colinealidad es aplicable a los genes bacterianos y de muchos virus, y en un principio se pensó que fuera válido también para los genes eucarióticos. Existían, sin embargo, indicios, tales como el contenido en ADN, mayor del necesario para codificar proteínas, o la presencia en el núcleo, pero no en el citoplasma, de moléculas de ARN de gran tamaño, que sugerían una estructura distinta para los genes eucarióticos. Constituyó una auténtica sorpresa el hallazgo, en 1977, de cuatro secuencias codificantes de un adenovirus que se encontraban interrumpidas por nucleótidos que no especificaban aminoácido alguno. La molécula híbrida que formaban el ADN y el ARNm contenía unos bucles monocatenarios, perfectamente observables al microscopio electrónico, que denotaban la interrupción de la secuencia codificadora del ADN (BERGET *et al.*, 1977; CHOW *et al.*, 1977). Muchos genes eucarióticos contienen esta organización discontinua con secuencias no codificadoras, intrones, intercaladas entre las regiones codificadoras, exones. Estudios posteriores analizaron la maquinaria responsable del mecanismo de corte y empalme de los transcritos primarios de ARN y revelaron la existencia de alternativas distintas en el procesamiento (*splicing*) de las moléculas de ARN de numerosos genes, e incluso la existencia de procesamiento en *trans* (*trans-splicing*).

Regulación de la expresión génica

El transcurso del ciclo vital de cualquier organismo supone la sucesión de una serie de procesos que ocurren de forma ordenada y que implican la activación o inactivación de genes concretos. Así, durante el tiempo que media entre la infección de una bacteria por un fago, por ejemplo el T4, y la liberación de los fagos descendientes suceden acontecimientos tales como la replicación del ADN del fago, la transcripción escalonada de diferentes moléculas de ARNm vírico, la síntesis ordenada de distintas proteínas que se ensamblan correctamente durante la morfogénesis de la partícula vírica y, finalmente, la liberación de las partículas maduras. Las bacterias sufren cambios como la inducción enzimática, la división celular, la esporulación, etc. Todos esos cambios celulares, que son la respuesta a estímulos internos o externos,

ponen de manifiesto una actividad génica diferencial sólo posible mediante la existencia de mecanismos reguladores de la expresión génica.

En procariotas, el control de la actividad génica recae fundamentalmente sobre la transcripción. Los primeros estudios sobre regulación de la expresión génica se realizaron en *Escherichia coli*, analizando la utilización de la lactosa por la bacteria. A partir de estos estudios JACOB y MONOD (1961) elaboraron el modelo del operón. Este modelo propone que los genes implicados en un determinado proceso metabólico están organizados en un operón y se transcriben en una misma molécula de ARNm. El que se produzca o no la transcripción depende de que la ARN polimerasa tenga libre acceso al lugar del ADN denominado promotor o, por el contrario, su acceso esté bloqueado por un represor dependiente de un gen regulador. Este control negativo puede estar asociado con un control positivo, como en el caso del operón *lac*, o modulado por una secuencia atenuadora como en el caso del operón *trp*.

Se han descrito en procariotas otros mecanismos reguladores de la expresión génica, como los que actúan controlando la traducción de mensajeros. Uno de estos sistemas de regulación implica la formación de un ARN (ARN antisentido) que tiene regiones complementarias con el ARNm y que puede asociarse con él impidiendo su traducción (GREEN *et al.*, 1986). Otro sistema es el de los interruptores ribosómicos, que según sea la conformación del ARNm permiten, o no, su acceso al ribosoma para llevar a cabo la traducción (VITRESCHAK *et al.*, 2003).

En eucariotas, donde la organización del material hereditario presenta un mayor grado de complejidad, los mecanismos de control son diferentes y más variados. Los genes eucarióticos no están organizados en operones y raramente se transcriben juntos en una misma molécula de ARN. Cada gen estructural tiene su propio promotor y se expresa por separado. El empaquetamiento del ADN mediante la asociación con histonas, la separación de los procesos de transcripción y traducción en el tiempo y en el espacio por la presencia de la membrana nuclear, y la existencia de intrones, son otros rasgos peculiares de eucariotas que influyen en la regulación de la expresión génica.

La asociación de ADN e histonas formando nucleosomas supone un obstáculo para que activadores, factores de transcripción y la ARN polimerasa puedan acceder al ADN. Para que el ADN sea más accesible es preciso un cambio previo en la organización de la cromatina. Ese cambio se percibe por el aumento de la sensibilidad a la DNAsa I en las regiones que flanquean a los genes activos y está precedido de la acetilación de las histonas del octámero en dichas regiones; la desacetilación de las histonas revierte la cromatina a su organización inactiva. Otras modificaciones de las histonas, como fosforilación o metilación, causan también modificaciones en la estructura de la cromatina e influyen en la actividad génica. Ciertas proteínas reguladoras y factores de transcripción son capaces de alterar la estructura de la cromatina y estimular la transcripción sin afectar directamente a la composición de las histonas. Estos complejos producen una remodelación de los nucleosomas facilitando la iniciación de la transcripción. La metilación de la citosina en las islas CG, cercanas a

los lugares de iniciación de la transcripción, es otra modificación de la estructura de la cromatina asociada con la represión de la transcripción. Estas modificaciones del ADN o de las histonas, denominadas modificaciones epigenéticas, pueden ser transmitidas de unas células a otras y contribuyen a su diferenciación en los organismos pluricelulares (JAENISCH y BIRD, 2003).

La regulación de la expresión génica a nivel transcripcional depende de la acción de elementos reguladores en *cis*, tales como promotores e intensificadores, que estimulan la transcripción, y aislantes, que la reprimen (BLACKWOOD y KADONAGA, 1998; GERASIMOVA y CORCES, 2001) y de elementos reguladores en *trans*, los cuales se asocian con los elementos en *cis* para desempeñar su función activadora o represora. La expresión puede regularse también mediante el control genético del procesamiento del ARN. Un ejemplo representativo de este nivel de control se produce en la diferenciación sexual en *Drosophila* (HODGKING, 1989). El silenciamiento del ARN es otro mecanismo de regulación de la expresión consistente en la degradación del ARNm tras unirse con pequeñas moléculas de ARN (siRNA o miRNA) complementarias de parte de su secuencia (MATZKE *et al.*, 2001). El estudio de la actividad reguladora del ARN está adquiriendo cada vez mayor peso en el conocimiento de la regulación génica en eucariotas, especialmente desde que se ha demostrado la gran dimensión de la transcripción de moléculas de ARN no-génicas. Tales moléculas pueden, en unos casos, ser el origen del silenciamiento de genes y, en otros, participar en la regulación de la transcripción de secuencias codificadoras (Amaral *et al.*, 2008). La traducción puede verse afectada por proteínas que se unen al extremo 5' del ARNm e impiden su asociación con el ribosoma, o por el grado de estabilidad de los ARNm. Finalmente, muchas proteínas sufren cambios postraduccionales que, de resultar alterados, pueden repercutir en la función de la proteína.

El desarrollo en organismos pluricelulares

El desarrollo de un organismo pluricelular se inicia con una única célula, el cigoto, que se multiplica originando miles o millones de células que, ubicadas en un solo cuerpo, se diferencian y especializan en distintos linajes para conformar tejidos y órganos con funciones diferentes. RIEGER *et al.* (1976) distinguen los siguientes componentes del desarrollo:

- Replicación genética, es el mecanismo por el que se duplica la información genética en las sucesivas generaciones celulares.
- Crecimiento, se refiere al incremento de la masa del organismo y está íntimamente asociado con la actividad metabólica celular.
- Diferenciación celular, proceso por el cual las células de origen común y, por tanto, genéticamente idénticas divergen en su estructura y función y dan lugar a líneas celulares fisiológica y morfológicamente diferentes.

- Histogénesis y organogénesis, procesos por los que las células diferenciadas se agregan para formar tejidos con funciones únicas. Estos tejidos se asocian después para formar órganos.

Respecto al primer punto cabe la consideración de que además de la replicación de la información genética y su transmisión, se produce también la transmisión de patrones de actividad o inactividad génica. Sirva de ejemplo ilustrativo la inactivación del cromosoma X en las hembras de mamíferos, que una vez producida se transmite a las células descendientes.

El fenómeno de la diferenciación celular se basa en una actividad génica diferencial que generalmente no implica alteración o reordenación de la secuencia de bases. Así en la diferenciación sexual en mamíferos, la formación del testículo depende de la información genética situada en el cromosoma Y concretamente del gen SRY (SINCLAIR *et al.*, 1990). Cuando este gen está presente la gónada indiferenciada se desarrolla como testículo, en su ausencia se forma ovario. Una vez establecido el sexo gonádico la diferenciación de espermatozoides u oocitos funcionales depende de la constitución cromosómica de las propias células. El desarrollo del oocito requiere dos cromosomas X igualmente activos, la espermatogénesis conlleva la inactivación del cromosoma X. El desarrollo sexual somático depende de la gónada diferenciada.

En determinados casos la diferenciación celular está asociada a reordenaciones del genoma. El caso más representativo es el del sistema inmunitario de los vertebrados. La enorme variedad de anticuerpos procede de un pequeño número de elementos genéticos que codifican para las regiones variables y constantes de sus cadenas ligeras y pesadas. Estos elementos se combinan de múltiples maneras por recombinación somática (LEDER, 1882). La naturaleza irreversible de las reordenaciones y la posibilidad de obtener híbridos celulares de crecimiento continuo, hibridomas, permite la obtención de anticuerpos monoclonales de interés en estudios de biología molecular y en el diagnóstico clínico.

El fenómeno del cáncer, que implica una profunda modificación de la biología celular, viene a ser un miniproceso de desarrollo y diferenciación celular peculiar y descontrolado. Las células de eucariotas superiores han desarrollado mecanismos que controlan su estructura y capacidad proliferativa. También han desarrollado otros mecanismos que evalúan su estado fisiológico y, si detectan alguna anomalía, inducen un programa de muerte celular denominado apoptosis. La coordinación de los mecanismos de control de proliferación celular y muerte celular programada mantiene el número de células en equilibrio en los distintos tejidos y órganos del organismo. Las células que se transforman en cancerosas escapan al control de estos mecanismos. No cabe duda de que el cáncer tiene una base genética consistente en la mutación de dos tipos de genes: protooncogenes y genes supresores de tumores (HANAHAN, 2000). Los protooncogenes presentes en el genoma, se conocen en torno a 100, por efecto de la mutación producen una oncoproteína constitutivamente activada, es decir descontrolada, o que se expresa en células equivocadas. Los genes supresores de tumores por efecto de la mutación sufren una pérdida de función.

La morfogénesis incluye las fases finales del desarrollo, histogénesis y organogénesis, y es el resultado de la actividad génica diferencial que acompaña a la diferenciación celular. Su estudio implica llevar a cabo un seguimiento de las líneas celulares que se van produciendo y diferenciando desde que se origina el cigoto. Esto se ha realizado principalmente en dos tipos de organismos: el nematodo *Caenorhabditis elegans* y *D. melanogaster*.

En *C. elegans*, los linajes celulares han sido identificados mediante observación microscópica (SULSTON y HORVITZ, 1977). Cada célula puede ser reconocida en cada etapa del desarrollo. Destruyendo células concretas y observando el efecto de su muerte se pudieron hacer inferencias sobre el significado de la posición y el destino de las células. El aislamiento y utilización de mutantes como los que afectan al desarrollo de la vulva (STERNBERG y HORVITZ, 1984) puso de manifiesto una activación secuencial de los genes en el tiempo.

En *Drosophila*, la asociación de técnicas embriológicas y genéticas (mapas de destino) demostró que las células blastodérmicas, indistinguibles por su morfología excepto las de la línea germinal, tienen ya determinado su destino, es decir, qué partes de la larva o del adulto originarán. El estudio de linajes celulares mediante análisis clonal y el estudio de mutaciones homeóticas condujeron a la teoría de los compartimentos propuesta por GARCÍA-BELLIDO *et al.* (1979). Según esta teoría, el organismo está constituido por compartimentos o unidades definidas por la acción de genes maestros que ejecutan decisiones que conducen a varios clones de células hacia una línea de desarrollo.

Los avances en biología molecular y el aislamiento de numerosos mutantes (NÜSSLEIN-VOLHARD y WIESCHAUS, 1980, LEWIS 1978) hicieron posible conocer los mecanismos por los que células procedentes del mismo cigoto siguen rutas de diferenciación diferentes en el desarrollo embrionario de *Drosophila* (INGHAM, 1988).

El origen de la progresiva diversificación celular en rutas de diferenciación se encuentra en la célula huevo. El citoplasma del óvulo almacena durante la oogénesis numerosas clases de ARNm y proteínas que van a desempeñar su función en las primeras fases del desarrollo embrionario; son los productos de los denominados genes maternos. Las hembras de genotipo mutante para estos genes tienen fenotipo normal pero sus huevos son incapaces de desarrollarse normalmente. Cuando el espermatozoide fecunda al óvulo, la distribución espacial de las moléculas en el citoplasma no es uniforme y tampoco lo es su concentración. De esta manera, las células descendientes del cigoto reciben señales citoplásmicas distintas, las señales recibidas provocan que en distintas células embrionarias se expresen genes diferentes, cuyos productos pueden a su vez condicionar la expresión de otros genes, produciéndose de esta forma la diversificación de distintas rutas de diferenciación celular.

La segmentación es un proceso controlado por una serie de genes que, según su función básica en el proceso organizativo de los segmentos, pueden agruparse en tres

categorías: genes de polaridad del embrión, genes de segmentación y genes de caracterización de cada segmento.

Los genes de polaridad global del embrión son genes de efecto materno cuyas mutaciones alteran el diseño corporal en cualquiera de sus dos ejes, anteroposterior o dorsoventral. Los que afectan a la polaridad anteroposterior son los implicados en la segmentación. Sus productos génicos se localizan antes de la fecundación en los polos del huevo, unos en el anterior y otros en el posterior, y después de la fecundación se difunden desde los polos hacia la zona central según un gradiente de concentración decreciente.

Los genes segmentarios llevan a cabo la transformación de la información posicional materna en los primordios segmentarios. Se agrupan en tres baterías de genes que actúan sucesivamente durante las fases del blastodermo sincitial y celular. Como resultado de su acción quedan definidos en el blastodermo celular el número y límites de los segmentos, así como sus mitades anterior y posterior.

Los genes que especifican la identidad de cada segmento son los genes homeóticos. Se caracterizan porque sus mutantes originan la transformación de estructuras de un segmento del insecto adulto en estructuras análogas de otro segmento. La mayoría de los que se conocen están integrados en dos complejos génicos *Antennapedia* (ANT-C) y *Bithorax* (BX-C). El primero especifica los rasgos de la cabeza, primer segmento torácico y mitad anterior del segundo, el BX-C especifica el resto del torax y el abdomen. Los dos complejos génicos ANT-C y BX-C se localizan muy próximos en el mismo cromosoma. Dentro de los complejos los genes están ordenados de acuerdo con la secuencia de expresión fenotípica. Una gran mayoría de los genes homeóticos y de segmentación tienen en común una secuencia que origina un dominio de la proteína con la capacidad de unirse al ADN, homeodominio, del que deriva su papel regulador en el desarrollo (LAWRENCE y MORATA, 1994). La unión proteína-ADN puede provocar la activación o inactivación génica.

En la última década se han llevado a cabo numerosos estudios que ponen de manifiesto la existencia de células madre en diferentes tejidos y órganos de individuos adultos que pueden dar lugar a células diferenciadas del mismo o de otros tejidos mediante una reprogramación de su actividad. Tales estudios abren la puerta a numerosas aplicaciones terapéuticas pero son también un avance importante en la comprensión de la base genética de la diferenciación celular. En este sentido cabe destacar el descubrimiento de la posibilidad de reactivar un gen llamado *Oct-4* que está activo en células embrionarias pero no en las del adulto y que es característico de células madre pluripotentes (BYRNE *et al.*, 2003).

Tal como señala LACADENA (1988) el comportamiento puede considerarse como una expresión del desarrollo, quizás la más difícil de analizar pero no por eso fuera del alcance del control genético. El comportamiento se puede entender como la reacción a un estímulo y puede manifestarse de muy diversas maneras dependiendo del tipo de organismos: tropismos, taxias, reflejos, instintos, aprendizaje, inteligencia. Las

dificultades con las que tropieza el análisis genético del comportamiento provienen de tres fuentes: la ambigüedad con la que se establece a veces el concepto de comportamiento, la distancia que media entre genotipo y fenotipo, y la influencia del ambiente en la manifestación del comportamiento.

CAMBIOS EN EL MATERIAL HEREDITARIO

El término mutación fue propuesto por DE VRIES (1901) para referirse a los cambios en el material hereditario, detectables y heredables, no debidos a recombinación, que se transmiten a las células hijas y, en su caso, a las generaciones sucesivas, dando lugar a células o individuos mutantes.

Las mutaciones que afectan a un gen concreto se denominan mutaciones génicas. Estas pueden deberse al cambio de uno o unos cuantos nucleótidos. Si el cambio afecta a segmentos cromosómicos de tamaño considerable o a cromosomas completos, se denomina mutación cromosómica.

La mutación es la fuente primaria de variación genética y por ello es un fenómeno esencial para la vida y la evolución. Por otra parte los mutantes son un instrumento imprescindible en el análisis genético. Una función genética determinada se pone de manifiesto cuando surge una mutación que conduce a una expresión diferente de la del alelo normal. Por esta razón el desarrollo de sistemas eficaces de detección de mutaciones en distintos organismos ha sido un objetivo básico en la investigación genética.

Durante años se intentaron producir mutaciones artificialmente. En 1927, MULLER demostró los efectos mutagénicos de los rayos X en *Drosophila* y seguidamente lo hizo STADLER (1928) en maíz y cebada; más tarde AUERBACH y ROBSON (1946) encontraron que el gas mostaza y sus derivados tenían gran poder mutagénico. Desde entonces se han encontrado diferentes agentes físicos y numerosas sustancias químicas capaces de producir mutaciones. La actividad humana, en muy distintas facetas, puede dejarnos expuestos a la acción de agentes mutagénicos, la mayoría de los cuales pueden ser también cancerígenos. Es importante evaluar la mutagenicidad de compuestos químicos que puedan afectarnos y, para ello, se han desarrollado protocolos experimentales como la prueba de Ames (DOVORET, 1979). Las mutaciones pueden ocurrir también de manera espontánea y un posible mecanismo, los cambios tautoméricos en las bases causantes de apareamientos erróneos, ya lo postularon WATSON y CRICK (1953 b). Otras alternativas son los errores en la replicación o las modificaciones de las bases producto de la actividad celular.

Los elementos genéticos móviles presentes en procariotas y eucariotas son secuencias de ADN generadoras de cambios en la información genética (McCLINTOCK, 1957). Entre sus efectos más conocidos como elementos genéticos productores de

mutaciones cabe señalar los siguientes: i) Se pueden insertar dentro de los genes causando pérdida de su función. ii) Con relativa frecuencia originan mutaciones en las secuencias diana o roturas causantes de variaciones estructurales. iii) Pueden sufrir transposición a otro lugar transportando consigo porciones o bloques de genes adyacentes a ellos.

La tecnología del ADN recombinante puede ser empleada para producir mutaciones en secuencias determinadas, es lo que se conoce como mutagénesis dirigida, se pueden producir cambios concretos en lugares determinados de la molécula de ADN y observar sus efectos. Con esta metodología se puede deducir la función que desempeñan secuencias específicas dentro de los genes.

La mutación se caracteriza por ser un fenómeno aleatorio o accidental. Esto puede entenderse en varios sentidos: en el sentido de que son excepciones dentro de la regularidad del proceso de replicación del ADN o surgen por lesiones accidentales en el ADN, en el sentido de que no se puede saber si un gen dado mutará en una célula o generación particular y, por último, en el sentido de que no están orientadas con respecto a la adaptación. El carácter preadaptativo de la mutación fue evidenciado experimentalmente por LURIA y DELBRÜCK (1943) y LEDERBERG y LEDERBERG (1952).

La mutación, como suceso estocástico que es, ocurre con una determinada probabilidad, pero no toda secuencia de ADN tiene la misma probabilidad de mutar. Hay sedes en las que se produce mutación con una frecuencia más elevada, son los denominados *puntos calientes* descubiertos por BENZER (1955) en su análisis de la estructura fina del gen. Estas zonas pueden estar relacionadas con la presencia de bases modificadas, más concretamente con la 5-metil-citosina (SMITH, 1985) que puede sufrir desaminación transformándose en timina.

Las células tienen mecanismos de reparación del daño genético, como el producido por la luz ultravioleta, radiación que ha estado presente desde el comienzo de la vida, o los producidos por otras causas. Entre las diversas modalidades de mecanismos de reparación cabe señalar: la eliminación directa de las lesiones, por ejemplo en la fotoreactivación, la reparación por escisión, la reparación postreplicativa de los apareamientos erróneos, o la reparación por recombinación. Estos mecanismos dependen de la acción de genes determinados que cuando están mutados dan lugar a un incremento considerable de la tasa de mutación.

EL DESTINO DEL MATERIAL HEREDITARIO

El material hereditario, al admitir un número potencialmente ilimitado de variantes genéticas, es la base del proceso evolutivo que ha originado las numerosas formas de vida que han habitado nuestro planeta desde la aparición de los primeros organismos. Desde el punto de vista de la Genética, la evolución biológica es el resultado de los cambios producidos en la constitución genética de las poblaciones a lo

largo del tiempo. La población mendeliana fue definida por Dobzhansky (1935) como una comunidad de individuos intercrucables ubicados en la misma localidad y que comparten un acervo genético común. La estructura de la población se configura por el conjunto de factores que afectan a la unión de gametos masculinos y femeninos producidos por los individuos que la componen.

Darwin, en su obra *El origen de las especies* (1859), aportó numerosas pruebas de la existencia de la evolución, a la vez que formuló la Teoría de la Selección Natural para explicar el fenómeno evolutivo. El punto de partida en el razonamiento de Darwin es la existencia de variabilidad hereditaria; su argumento, que algunas variantes naturales han de ser más ventajosas que otras en cuanto a la supervivencia y reproducción de los individuos que las presentan. Sólo puede existir selección natural si hay variabilidad hereditaria. Cuanto mayor sea la variabilidad genética de una población más oportunidades tiene la selección natural para actuar.

FISHER (1930) demostró matemáticamente que la tasa de cambios evolutivos provocados por la selección natural está directamente correlacionada con la cantidad de variabilidad genética concerniente a la eficacia biológica. Esta correlación queda establecida en el teorema fundamental de la selección natural: "La tasa de aumento de la eficacia biológica de la población en un momento determinado es igual a su variabilidad genética respecto a la eficacia biológica en ese momento". La contribución de Fisher y las casi simultáneas de WRIGHT y HALDANE coincidieron en aunar los principios sobre la herencia derivados del mendelismo y la teoría de la selección natural. Empleando métodos bioestadísticos, fueron los iniciadores del estudio de la Genética de Poblaciones que condujo a la teoría sintética de la evolución.

La Genética de Poblaciones tiene dos dimensiones: una espacial que se refiere a la descripción de la variabilidad genética en y entre poblaciones, y otra temporal o dinámica que se refiere a los cambios en la estructura genética de las poblaciones. Los cambios en la estructura de las poblaciones son el resultado de la combinación de una serie de sucesos: unos determinísticos, como son mutación, recombinación, migración y selección; y otros dispersivos, como son deriva genética y endogamia.

La detección y cuantificación de la variabilidad genética en las poblaciones, basada inicialmente en la observación de mutantes morfológicos, adquirió una mayor precisión con la aplicación de las técnicas electroforéticas de separación de proteínas que permitieron aumentar el número de variantes alélicas observables. Las técnicas de secuenciación de ADN hacen posible determinar directamente la variabilidad de la secuencia de bases. Para cuantificar la variabilidad genética se adoptan generalmente dos criterios: la proporción de loci polimórficos y la frecuencia media de heterocigotos en la población. Los valores obtenidos indican la existencia de un nivel de polimorfismo alto en todas las poblaciones naturales de las especies estudiadas.

En la década de los años 70 del pasado siglo surgieron dos maneras diferentes de interpretar la enorme variabilidad encontrada en las poblaciones naturales: la teoría neutralista y la teoría seleccionista. La teoría neutralista, propone que la mayoría de

los polimorfismos observables a nivel molecular incluyen alelos adaptativamente equivalentes cuya evolución se debe a efectos del azar. La frecuencia elevada de estos alelos estaría determinada más por procesos de deriva que por fuerzas de selección. Esta teoría no niega la relevancia de la selección natural en la evolución como responsable del proceso adaptativo, sino que argumenta que las mutaciones producidas en la naturaleza son generalmente neutrales. Por una parte, las que afectan a la eficacia biológica serían casi siempre deletéreas y, por tanto, eliminadas por la selección natural, y las que no la afectan, que se corresponden con la variación observada, son alelos sin efecto deletéreo sobre el organismo y por tanto neutrales (KIMURA, 1979).

La teoría seleccionista sostiene que la variabilidad genética se mantiene en las poblaciones fundamentalmente por efecto de la selección natural. Las fuerzas selectivas tenderían a mantener polimorfismos estables por mecanismos como la mayor eficacia biológica de los heterocigotos o la selección dependiente de frecuencia (DOBZHANSKY *et al.*, 1977).

Los resultados obtenidos a partir de la secuencia de bases del ADN indican que los cambios silenciosos son los más frecuentes y, además, entre los cambios que originan sustituciones de aminoácidos, los más frecuentes son aquéllos en que un aminoácido es sustituido por otro similar (RODRÍGUEZ y MEDINA, 1986). Las mutaciones en los pseudogenes son más frecuentes que las mutaciones silenciosas en genes funcionales, lo cual sugiere que estas últimas tampoco escapan totalmente al proceso de la selección natural. La comparación entre los genomas de doce especies de *Drosophila* ha puesto de manifiesto la existencia de cambios sometidos a selección positiva en un 33% de los genes estudiados (CLARK *et al.*, 2007). Este resultado demuestra que la selección natural desempeña una función en la divergencia de las especies más importante de lo que suponían los defensores de la evolución neutra.

La formación de nuevas especies requiere la segregación de grupos de individuos cuya diferenciación genética restringe la reproducción entre individuos de distinto grupo, pero no entre individuos del mismo grupo. La diferenciación genética de una población por selección diferenciadora o deriva genética puede verse obstaculizada por la introducción de genes de otras poblaciones. Por ello, la limitación del flujo genético por la aparición de barreras reproductivas es un requisito indispensable para la formación de una nueva especie.

El mecanismo de formación de nuevas especies es un problema no resuelto aún. El aislamiento geográfico de un grupo de individuos puede desembocar en un proceso de diferenciación genética que conduzca a la aparición de aislamiento reproductivo. Durante la mayor parte del siglo XX se creyó que el factor crítico en la aparición de aislamiento reproductivo era la deriva genética. Sin embargo, estudios recientes en genes que causan esterilidad o inviabilidad en los híbridos están poniendo de manifiesto que tal supuesto es erróneo y que la selección natural juega un papel decisivo en la especiación (ALLEN ORR, 2009). Las alteraciones cromosómicas numéricas y estructurales pueden conducir a especiación "instantánea" por reducir la

fertilidad de los híbridos entre individuos con constituciones cromosómicas diferentes; constituyen, por tanto, otra prueba del papel desempeñado por la selección natural en la aparición de nuevas especies.

Las sustituciones de unas variantes genéticas por otras pueden ser conocidas en detalle a partir de la secuencia de bases en distintos organismos. Las comparaciones efectuadas entre diferentes especies para genes con funciones análogas indican que la tasa de sustitución de nucleótidos, o de aminoácidos en la proteína, mantiene una cierta constancia sobre todo si se utilizan valores medios derivados de varios genes y en especies que cubren periodos de tiempo muy largos. Este es el fundamento de la construcción de árboles filogenéticos que permite reconstruir la historia de los distintos grupos taxonómicos.

Las sustituciones génicas no son los únicos cambios producidos en la evolución. Las diferencias entre especies están también acompañadas de cambios en el contenido de ADN. El grado de complejidad de los organismos vivos está, en cierta medida pero no exactamente, relacionado con la variación en el contenido en ADN. La aparición de nuevas funciones es fruto de la formación de nuevos genes. Tales genes pueden producirse por duplicaciones y posterior diferenciación. La poliploidía, muy frecuente en el reino vegetal, puede extender este proceso a todo el genoma. Pero este no es el único mecanismo de origen de nuevos genes ya que no explica el origen de los genes no duplicados. Por otra parte, hay genes como los de ARNr o los de las histonas que muestran un elevado conservadurismo a pesar de su carácter repetitivo. Una gran parte de la variación en el contenido de ADN se debe a secuencias repetidas que no portan información para proteínas celulares. Como en el caso de los genes de ARNr y de histonas, el ADN de secuencias repetidas mantiene una identidad entre las múltiples copias. La conservación de esa identidad requiere un mecanismo que puede ser la conversión génica, que da lugar a un modo peculiar de evolución del ADN denominado evolución concertada.

BIBLIOGRAFÍA

- Allen Orr, H. 2009. Testing natural selection. *Scientific American*, 300 (1): 44-50.
- Amaral, P.P.; Dinger, M.E. ; Mercer, T.R. y Mattick, J.S. 2008. The eukaryotic genome as an RNA machine. *Science*, 319: 1787-1789.
- Auerbach, C. y Robson, J.M. 1946. Chemical production of mutations. *Nature*, 157: 302.
- Avery, O.T. ; Macleod, C.M. y McCarty, M. 1944. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from *Pneumococcus* type III. *J. Exp. Med.*, 79: 137-158.

- Beadle, G.W. y Tatum, E.L. 1941. Genetic control of biochemical reactions in *Neurospora*. *PNAS*, 27: 499-506.
- Bednar, J. ; Horowitz, R.A. ; Grigoryev, S.A., *et al.* 1998. Nucleosomes, linker DNA, and linker histone form a unique structural motif that directs the higher-order folding and compaction of chromatin. *PNAS*, 95: 14173–14178.
- Benzer, S. 1955. Fine structure of a genetic region in bacteriophage. *PNAS*, 41: 344-354.
- Berg, P. 1981. Dissections and reconstructions of genes and chromosomes. *Science*, 213: 296-303.
- Berget, S.M. ; Moore, C.M. y Sharp, P.A. 1977. Spliced segments at the 5' terminus of adenovirus 2 late mRNA. *PNAS*, 74: 3171-3175.
- Bernardi, G. 1995. The human genome: Organization and evolutionary history. *Annu. Rev Genet.*, 29: 445-476.
- Blackwood, E.M. y Kadonaga, J.T. 1998. Going the distance: a current view of enhancer action. *Science*, 281: 60-63.
- Bolzer, A. ; Kreth, G. ; Solovej, I., *et al.* 2005. Three-dimensional maps of all chromosomes in human male fibroblast nuclei and prometaphase rosettes. *PLoS Biol.*, 3: 826-842.
- Brenner, S. ; Jacob, F. y Meselson, M. 1961. An unstable intermediate carrying information from gene to ribosomes for protein synthesis. *Nature*, 190: 576-580.
- Britten, R.J. y Kohne, D.E. 1968. Repeated sequences in DNA. *Science*, 161: 529-540.
- Brown, T.A. 2007, *Genomes*, 3rd ed. Garland Science Publishing. Oxford.
- Byrne, J.A. ; Simonsson, S. ; Western, P.S. y Gurdon, J.B. 2003. Nuclei of adult mammalian somatic cells are directly reprogrammed to oct-4 stem cells gene expression by amphibian oocytes. *Current Biol.*, 13: 1206-1213.
- Chargaff, E. 1950. Chemical specificity of nucleic acids and mechanism of their enzymatic degradation. *Experientia*, 6: 201-209.
- Chow, L.T. ; Gelinas, R.E. ; Broker, T.R. y Roberts, R.J. 1977. An amazing sequence arrangement at the 5' ends of adenovirus 2 messenger mRNA. *Cell*, 12: 1-8.
- Clark, G.A. ; Eisen, M.B. ; Smith, D.R., *et al.* 2007. Evolution of genes and genomes in *Drosophila* phylogeny. *Nature*, 450: 203-218.

- Cohen, S.N. 1975. The manipulation of genes. *Scientific American*, 233 (1): 25-33.
- Cornforth, M.N. ; Greulich-Bode, K.M. ; Loucas, B.D., *et al.* 2002. Chromosomes are predominantly located randomly with respect to each other in interphase human cells. *J. Cell Biol.*, 159: 237-244.
- Corredor, E. ; Díez, M. ; Shepherd, K. y Naranjo, T. 2005. The positioning of rye homologous chromosomes added to wheat through the cell cycle in somatic cells untreated and treated with colchicine. *Cytogenet. Genome Res.*, 109: 112-119.
- Costas, E. y Goyanes, V. 2005. Architecture and evolution of dinoflagellate chromosomes: an enigmatic origin. *Cytogenet. Genome Res.*, 109: 268-275.
- Creighton, H.B. y McClintock, B. 1931. A correlation of cytological and genetical crossing-over in *Zea mays*. *PNAS*, 17: 492-497.
- Cremer, T. y Cremer, C. 2001. Chromosome territories, nuclear architecture and gene regulation in mammalian cells. *Nature Rev. Genet.*, 2: 292-301.
- Crick, F.H.C. 1958. On protein synthesis. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 12: 138-163.
- Crick, F.H.C. 1970. Central dogma of Molecular Biology. *Nature*, 227: 561-563.
- Crick F.H.C., Barnett, L., Brenner, S. y Watts-Tobin, J.R. 1961. General nature of the genetic code for proteins. *Nature*, 192: 1227-1232.
- Dame, R.T. ; Noom, M.C. y Wuite, G.J.L. 2006. Bacterial chromatin organization by H-NS protein unravelled using dual DNA manipulation. *Nature*, 444: 387-390.
- Darwin, C. 1859. *On the origin of species by means of natural selection*. John Murray, London.
- de Vries, H. 1901. *Die mutationstheorie*. Bd I Veit and Comp., Leipzig.
- Diffley, J.F.X. y Labib, K. 2002. The chromosome replication cycle. *J. Cell Sci.*, 115: 869-872.
- Dobzhansky, T. 1935. A critique of the species concept in Biology. *Phil. Sci.*, 2: 344.
- Dobzhansky, T. ; Ayala, F.J. ; Stebbins, G.L. y Valentine, J.V. 1977. *Evolution*. Freeman and Co., San Francisco.
- Dovoret, R. 1979. Bacterial tests for potential carcinogens. *Scientific American*, 241 (1): 40-49.
- East, E.M. 1910. A mendelian interpretation of variation that is apparently continuous. *Amer. Nat.*, 44: 65-82.

- Fisher, R.A. 1930. *The genetical theory of natural selection*. Clarendon Press, Oxford.
- García-Bellido, A. ; Lawrence, P.A. y Morata, G. 1979. Compartments in animal development. *Scientific American*, 241 (2): 90-98.
- Garrod, A.E. 1909. *Inborn errors of metabolism*. Oxford University Press, London.
- Gerasimova, T.I. y Corces, V.G. 2001. Chromatin insulators and boundaries: effects on transcription and nuclear organization. *Annu. Rev. Genet.*, 35: 193-208.
- Gerton, J.L. y Hawley, R.S. 2005. Homologous chromosome interactions in meiosis: Diversity amidst conservation. *Nature Rev. Genet.*, 6: 477-487.
- Gilbert, W. 1976. Starting and stopping sequences for the RNA polymerase. En: *RNA polymerase*, Losick, R, y Chamberlin, M. eds., Cold Spring Harbor Lab., New York, pp. 193-206.
- Green, P.J. ; Pines, O. y Inouye, M. 1986. The role of antisense RNA in gene regulation. *Ann. Rev. Biochem.*, 55: 569-597.
- Greider, C.W. y Blackburn, E.H. 1985. Identification of a specific telomere terminal transferase activity in Tetrahymena extracts. *Cell*, 43: 405-413.
- Greider, C.W. y Blackburn, E.H. 1989. A telomeric sequence in the RNA of *Tetrahymena* telomerase required for telomere repeat synthesis. *Nature*, 337: 331-337.
- Griffith, F. 1928. Significance of pneumococcal types. *J. Hyg. Camb.* 27:113-159.
- Grunberg-Manago, M. y Ochoa, S. 1955. Enzymatic synthesis and breakdown of polynucleotides: Polynucleotide phosphorylase. *J. Am. Chem. Soc.* 77: 3165-3166.
- Hanahan, D. y Weinberg, R.A. 2000. The hallmarks of cancer. *Cell*, 100: 57-70.
- Hershey, A.D. y Chase, M. 1952. Independent functions of viral protein and nucleic acid in grow of bacteriophage. *J. Gen. Physiol.*, 36: 39-56.
- Hodgkin, J. 1989. *Drosophila* sex determination: a cascade of regulated splicing. *Cell*, 56: 905-906.
- Huberman, J.A. y Riggs, A.D. 1968. On the mechanism of DNA replication in mammalian chromosomes. *J. Mol. Biol.*, 3: 318-358.
- Iarovaia, O.V. ; Bystritskiy, A. ; Ravcheev, D., et al. 2004. Visualization of individual DNA loops and a map of loop domains in the human dystrophin gene. *Nucleic Acids Res.*, 32: 2079-2086.

- Ingham, P.W. 1988. The molecular genetics of embryonic pattern formation in *Drosophila*. *Nature*, 335: 25-34.
- International Human Genome Sequencing Consortium. 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 409: 860-921.
- Jacob, F. y Monod, J. 1961. Genetic regulatory mechanism in the synthesis of proteins. *J. Mol. Biol.* 3: 318-358.
- Jaenisch, R. y Bird, A. 2003. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nature Genet.*, 33: 245-254.
- Johanssen, W. 1909. *Elements der exakten Erblchkeitslere*. Fisher, Jena.
- Khorama, H.G. ; Buchi, H. ; Ghos, H., *et al.* 1966. Polynucleotide synthesis and the genetic code. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 31: 39-49.
- Kimura, M. 1979. The neutral theory of molecular evolution. *Scientific American*, 241 (5): 94-103.
- Kornberg, A. 1980. *DNA synthesis*. W.H. Freeman and Company, San Francisco.
- Kornberg, R.D. y Klug, A. 1981. The nucleosome. *Scientific American*, 344 (2): 48-60.
- Laemmli, U.K. ; Cheng, S.M. ; Adolphi, K.W., *et al.* 1977. Metaphase chromosome structure: the role of non-histone proteins. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 42: 351-360.
- Latt, S. 1976. Longitudinal and lateral differentiation of metaphase chromosomes based on the detection of DNA synthesis by fluorescence microscopy. In: *Chromosomes Today 5*, Pearson, P.L. and Lewis, K.R. eds, John Wiley and Sons, pp 367-394.
- Lawrence, P.A. y Morata, G. 1994. Homeobox genes: Their function in *Drosophila* segmentation and pattern formation. *Cell*, 78: 181-189.
- Leder, P. 1982. The genetics of antibody diversity. *Scientific American*, 246 (5): 72-81.
- Lederberg, J. y Lederberg, E.M. 1952. Replica plating and indirect selection of bacterial mutants. *J. Bact.* 63: 393-406.
- Lewis, E.B. 1978. A gene complex controlling segmentation in *Drosophila*. *Nature*, 276: 565-570.
- Lugger, K. ; Mader, A.W. ; Richmond, R.K., *et al.* 1997. Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature*, 389: 251-260.

- Luria, S.E. y Delbruck, M. 1943. Mutations of bacteria from virus sensitivity to virus resistance. *Genetics*, 28: 491-511.
- Mathaei, J.H. y Nirenberg, M.W. 1961. Characteristic and stabilization of DNase-sensitive protein synthesis in *E. coli* extracts. *PNAS*, 47: 1580-1588.
- Matzke, M.A. ; Matzke, J.M. y Kooter, J.M. 2001. RNA: guiding gene silencing. *Science*, 29: 1080-1083.
- McClintock, B. 1950. The origin and behavior of mutable loci in maize. *PNAS*, 36: 344-355.
- Mendel. G. 1866. Versuche uber Pflanzenhybriden. *Ver des Naturf. Vereines in Brúnn (Abhandlungen)* 4: 3-47.
- Meselson, M. y Stahl, F.W. 1958. The replication of DNA in *Escherichia coli*. *PNAS*, 44: 671-682.
- Morgan, T.H. 1910. Sex-linked inheritance in *Drosophila*. *Science*, 32:120-122.
- Morton, N.E. 1955. Sequential tests for the detection of linkage. *Am. J. Hum. Genet.*, 7: 277-318.
- Naranjo, T. y Corredor, E. 2008. Nuclear architecture and chromosome dynamics in the search of the pairing partner in meiosis in plants. *Cytogenet. Genome Res.* 20: 320-330.
- Muller, H.J. 1927. Artificial transmutation of the gene. *Science*, 66: 84-87.
- Nirenberg, M.W. ; Jones, O.W. ; Leder, B.F.C., *et al.* 1963. On the coding of genetic information. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 28: 549-557.
- Nirenberg, M.W. y Leder, B.F.C. 1964. RNA code words and protein synthesis I: the effect of trinucleotides upon the binding of sRNA to ribosomes. *Science*, 145: 1399-1407.
- Nilson-Ehle, H. 1909. Kreuzungsuntersucungen and Hafer un Welzen. Lunds Univ. Arsskrift. 5, n.2.
- Nüsslein-Volhard, C. y Wieschaus, E. 1980. Mutation affecting segment number and polarity in *Drosophila*. *Nature*, 287: 795-801.
- Page, S.L. y Hawley, R.S. 2004. The genetic and molecular biology of the synaptonemal complex. *Annu. Rev. Cell Dev.*, 20: 525-558.

- Pettijohn, D.E. 1982. Structure and properties of the bacterial nucleoid. *Cell*, 30: 667-669.
- Sarabhai, A.S.; Stretton, A.O.W. ; Brenner, S. y Boller, A. 1964. Colinearity of the gene with the polypeptide chain. *Nature*, 201: 13-17.
- Rieger, L. ; Michaelis, A. y Green, M.M. 1976. *Glossary of Genetics and Cytogenetics Classical and Molecular*. Fourth edition. Springer Verlag, Berlin.
- Rodríguez, F. y Medina, J.R. 1986. Sustitución de nucleótidos en la evolución del ADN. *Investigación y Ciencia*, 119: 8-15.
- Sinclair, A.H., Berta, F., Palmer, M.S., et al. 1990. A gene from the human sex determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature*, 346: 240-244.
- Son, D. y Gilbert, W. 1988. Formation of parallel four stranded complexes by guanine-rich motifs and its implications for meiosis. *Nature*, 334: 364-366.
- Stadler, L.J. 1928 a. Genetic effect of X-rays in maize. *PNAS*, 14: 69-75.
- Stadler, L.J. 1928 b. Mutations in barley induced by X-rays and radium. *Science*, 68: 186-187.
- Stern, C. 1931. Zytologisch-genetische untersuchungen als beweis für die Morgansche theorie des faktorenaustauschs. *Biol. Zentralbiol.*, 51: 547-587.
- Smith, M. 1985. *In vitro* mutagenesis. *Annu. Rev. Genet.*, 19: 423-462.
- Sternberg, P.W. y Horvitz, H.R. 1984. Genetic control of cell lineage during nematode development. *Annu. Rev. Genet.*, 18: 489-524.
- Sulston, J.E. y Horvitz, H.R. 1977. Post-embryonic cell lineages of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Dev. Biol.*, 56: 110-156.
- Sutton, W.S. 1903. The chromosomes in heredity. *Dev. Biol.*, 56: 110-156.
- Szostack, J.W. y Blackburn, E.H. 1982. Cloning yeast telomeres on linear plasmid vectors. *Cell*, 29: 245-255.
- Taylor, J.H. ; Woods, P.S. y Hughes, W.L. 1957. The organization and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium-labeled thymidine. *PNAS*, 43:12-128.
- Temin, H.M. 1974. On the origin of RNA tumor viruses. *Annu. Rev. Genet.* 8: 155-177.

- Verma, S.R. 1988. *Heterochromatin: molecular and structural aspects*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Venter, J.C. ; Adams, M.D. ; Myers, E.V., *et al.*, 2001. The sequence of the human genome. *Science*, 291: 1304-1351.
- Vitreschak, A.G. ; Rodionov, D.A. ; Mironov, A.A. y Gelfand, M.S. 2003. Riboswitches the oldest mechanism for the regulation of gene expression. *Trends Genet.*, 20: 44-50.
- Wang, A.H.J. ; Quigley, G.J., ; Kolpak, F.J., *et al.* 1979. Molecular structure of a left-handed double helical DNA fragment at atomic resolution. *Nature*, 282: 680-686.
- Watson, J.D. y Crick, F.C. 1953a. Molecular structure of nucleic acids. *Nature*, 171: 737-738.
- Watson, J.D. y Crick, F.C. 1953b. Genetical implications of the structure of DNA. *Nature*, 171: 964-967.
- Waddington, C.H. *et al.* (1968) *Towards a theoretical biology*. Edinburgh University Press. (Edición en español de Alianza editorial S.A., 1976).
- Yanofsky, C. ; Carlton, B.C. ; Guest, J.R. *et al.* 1964. On the colinearity of gene structure and protein structure. *PNAS*, 51: 266-272.

Recibido: 19 noviembre 2009.

Aceptado: 25 de marzo 2010.