



EL NACIMIENTO DE LA BIOLOGÍA MOLECULAR: EL DESCUBRIMIENTO DE LA ESTRUCTURA DEL ADN

El ADN y la biotecnología

Mucho se habla actualmente del ADN, incluso cada vez más se lo menciona en los medios de comunicación. Estudiar el ADN permite revelar relaciones familiares, resolver hechos delictivos, establecer relaciones evolutivas que datan de millones de años y desarrollar nuevos tratamientos o, posiblemente, la cura para algunos males. El ADN (ácido desoxiribonucleico) se encuentra dentro de cada célula, y contiene la información que determina, en interacción con componentes ambientales, las características que tendrá la célula y el organismo en su totalidad.

Desentrañar la estructura del ADN resultó esencial para comprender procesos celulares, y para desarrollar técnicas de biología molecular y de ingeniería genética, que contribuyeron al avance de la biotecnología moderna. Actualmente, mediante estas técnicas que emplea la biotecnología moderna, es posible transferir ADN de un organismo a otro y conferirle así nuevas características, diseñar nuevos fármacos o mejorar cultivos, entre otras aplicaciones.

Pero la historia del descubrimiento de la estructura y la función del ADN, comenzó hace algunos años atrás.

La historia del ADN

El ADN fue aislado por primera vez por el científico alemán Friedrich Miescher en 1869. Debido a que lo encontró en los núcleos de las células, denominó a este compuesto *nucleína*. A medida que se fue conociendo la estructura química de esta molécula, se lo llamó ácido nucleico y por último ácido desoxiribonucleico (ADN).

En 1914, el químico alemán Robert Feulgen describió un método para teñir el ADN por medio de un colorante llamado fucsina. Utilizando este método, descubrió que el ADN se encontraba formando parte de los cromosomas.

Seis años más tarde, el bioquímico P.A. Levene, analizó los componentes del ADN. Encontró que contenía cuatro bases nitrogenadas: citosina, timina, adenina y guanina; el azúcar desoxirribosa; y un grupo fosfato. Por medio de su descubrimiento concluyó que cada unidad básica del ADN, llamada *nucleótido*, está compuesta de una base nitrogenada unida a un azúcar y ésta unida a su vez a un grupo fosfato.

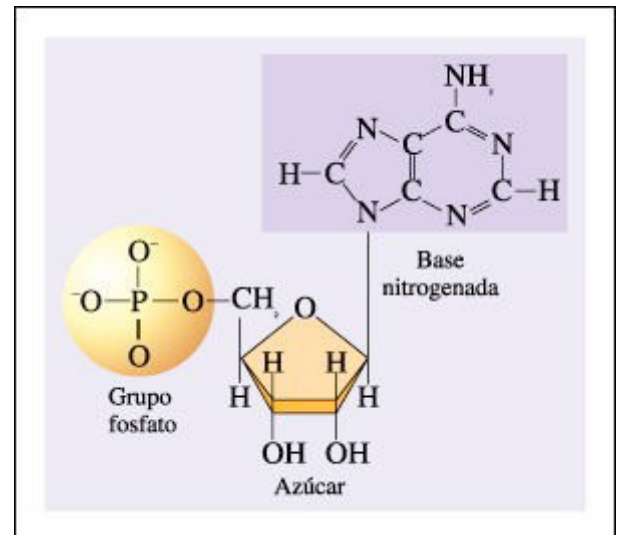
"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



Figura: Cada nucleótido se forma a partir de la unión de tres subunidades: un grupo fosfato, un azúcar de cinco carbonos y una base nitrogenada, que puede ser adenina, guanina, citosina o timina.

Fuente:

<http://www.bioq.unizar.es/EMvirtual/1agua/nucleotido.jpg>

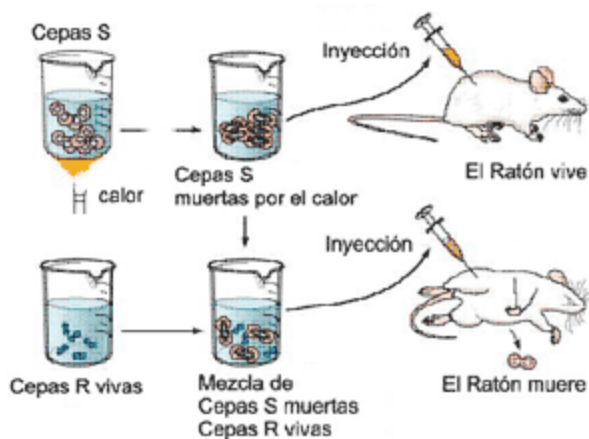


El factor de transformación

Ya en esos años, entre los científicos estaban planteadas algunas preguntas: ¿qué sustancia era la encargada de transmitir ciertos caracteres? ¿Cuál era la composición química de los genes?

La respuesta la trajo el estudio de una enfermedad infecciosa mortal: la neumonía. Durante la década de 1920, el médico inglés Frederick Griffith estudió las diferencias entre una cepa de la bacteria *Streptococcus pneumoniae* que producía la enfermedad y otra que no la causaba. La cepa que causaba la enfermedad estaba rodeada de una cápsula de polisacáridos que le daba a las colonias de estas bacterias en las placas de Petri un aspecto liso o suave, por lo cual se las denominó cepa S (*smooth*, en inglés). La otra cepa no tiene cápsula y no causa neumonía y se la denomina cepa R (rugosa) también por el aspecto de la colonia.

La siguiente ilustración representa la experiencia realizada por Griffith, y los resultados que obtuvo:



Explicación de experiencia. Griffith inyectó las diferentes cepas de la bacteria en ratones. La cepa S mataba a los ratones mientras que la cepa R no lo hacía. Luego comprobó que la cepa S muerta por calentamiento, no causaba neumonía cuando se la inyectaba. Sin embargo cuando inyectaba una combinación de la cepa S muerta con la cepa R viva, los ratones contraían neumonía y morían.

Aún más, en la sangre de estos ratones muertos Griffith encontró neumococos vivos de la cepa S. Es decir que en las bacterias S muertas había "algo" capaz de transformar a las bacterias R,

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



antes inocuas, en patógenas y este cambio era permanente y heredable.

¿Cómo podían las bacterias S muertas transmitirle a las bacterias R vivas la propiedad de enfermar y matar a los ratones? ¿Habría alguna sustancia capaz de pasar de una bacteria a la otra y transmitirle esa nueva propiedad?

¿Qué era el principio transformante?

Luego de los resultados publicados por Griffith, el bacteriólogo canadiense Oswald Avery se propuso descubrir la sustancia que él suponía era el factor responsable del fenómeno de transformación. Así fue como en 1944 junto a sus colegas de la Univ. de Rockefeller Colin MacLeod y Maclyn McCarty encontraron que podían eliminar las proteínas, los lípidos, los polisacáridos y el ARN extraídos de las bacterias S sin disminuir la propiedad de transformar a los neumococos R en S. Por otra parte, si purificaban el ADN de las bacterias y lo incubaban con las bacterias R, éstas se transformaban en S. Por lo tanto, concluyeron que era el ADN el principio transformante que hacía que los neumococos R se transformaran en S. En efecto, se descubrió que era el ADN el que llevaba la información necesaria para que la cepa R fuera capaz de sintetizar una cápsula de polisacáridos idéntica a la que poseían las bacterias S.

A pesar de esto, cuando Avery, MacLeod y McCarty publicaron sus resultados en 1944, fueron muy pocos los que creyeron que los genes eran parte del ADN. En esa época era difícil de imaginar que una molécula compuesta sólo de cuatro bases nitrogenadas diferentes pudiera llevar toda la información genética que precisaban los seres vivos. Se creía, entonces, que eran las proteínas las candidatas para tal función, debido a su gran complejidad y múltiples formas.

El material hereditario

Si bien al período entre 1900 y 1940 se lo consideraba la edad de oro de la genética, hasta ese momento, los científicos creían que el material hereditario eran las proteínas.

En 1952 Alfred D. Hershey y Martha Chase realizaron una serie de experimentos destinados a dilucidar si el ADN o las proteínas eran el material hereditario.

Trabajaron con bacteriófagos o fagos, que son virus que infectan bacterias. Debido a que los fagos están compuestos sólo por una cabeza proteica que guarda en su interior ADN, eran la herramienta ideal para resolver la naturaleza del material hereditario.

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



Figura: Los bacteriófagos son un tipo de virus que atacan a las bacterias. Están constituidos por ADN y una cubierta de proteínas. En la actualidad se sabe que los bacteriófagos infectan una célula inyectándole su ADN, el cual "desaparece" mientras toma control de la maquinaria de la bacteria que comienza a fabricar nuevos virus.

Fuente:

<http://www.biologia.edu.ar/adn/adntema0.htm>

Su experimento consistió en marcar el ADN y las proteínas, con alguna sustancia que los hiciera visibles, como los isótopos radioactivos, esto permitiría ver cuál de ellos entraba en la bacteria. Ese sería el factor transformador de Griffith.

Dado que el ADN contiene fósforo (P) en su grupo fosfato pero no azufre (S), ellos marcaron el ADN con Fósforo-32 radioactivo. Por otra parte, las proteínas no contienen P pero si S, y por lo tanto se marcaron con Azufre-35 radioactivo.

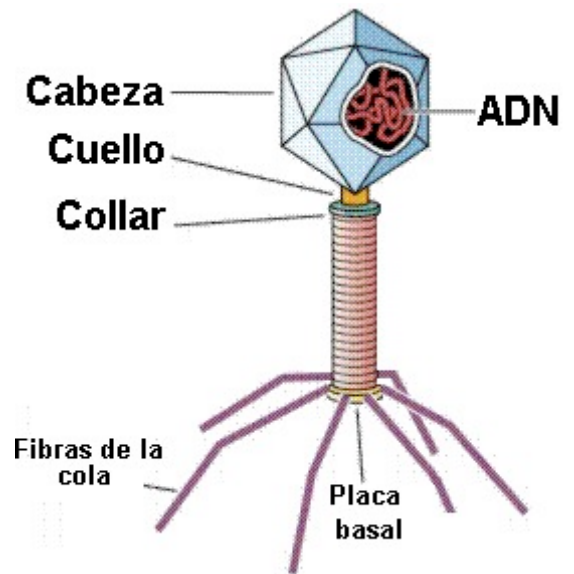
Hershey y Chase encontraron que el S-35 quedaba fuera de la célula mientras que el P-32 se lo encontraba en el interior. Por lo tanto, dedujeron que durante la infección el ADN del fago entra en la bacteria, dejando afuera la cabeza proteica. Es decir que el ADN lleva la información para hacer más fagos hijos dentro de la bacteria. En otras palabras, el experimento indicaba que era el ADN el portador de la información genética del fago.

Esta conclusión coincidía con la obtenida por Avery, MacLeod y McCarty, que indicaba que el ADN era el material genético de las bacterias. Sin embargo, fue el experimento de los fagos el que disipó las dudas sobre la composición química de los genes: eran parte del ADN y, por lo tanto, estaban integrados por los cuatro tipos de nucleótidos.

Las reglas de Chargaff

Como se mencionó anteriormente, para esa época prevalecía la idea de que el ADN era una molécula demasiado simple como para ser considerada portadora de la información genética. Esta idea fue desechada en 1950 por el científico checo Erwin Chargaff del Instituto Rockefeller, quien analizó en detalle la composición de bases del ADN extraído de diferentes organismos. Llegó a la sorprendente conclusión de que las cuatro bases nitrogenadas no se encontraban en proporciones exactamente iguales en las distintas especies, lo cual sugirió que el ADN no debía ser tan monótono como se pensaba.

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.





Chargaff demostró que, independientemente del origen del ADN, la proporción de purinas era igual a la de pirimidinas. Es decir, adenina (A) aparecía con tanta frecuencia como la timina (T) y la guanina (G), con tanta frecuencia como la citosina (C). Había dos juegos de equivalencias, A y T por un lado y G y C por otro.

Este resultado reflejaba por primera vez un aspecto estructural del ADN. Indicaba que, independientemente de la composición de A o de G en un ADN, siempre la concentración de A es igual a la de T y la de C igual a la de G. Sin embargo, en aquel momento Chargaff no sospechó las implicancias que podían tener estas reglas, denominadas más tarde “reglas de Chargaff”, en el esclarecimiento de la estructura del ADN.

El descubrimiento de la doble hélice

A principios de la década de 1950 existía un programa científico de investigación del ADN, sus propiedades, métodos de extracción y composición en las diferentes células. Tres grupos de investigadores trabajaban simultáneamente en la estructura del ADN. Uno de ellos, el del químico de Oregon Linus Pauling y sus colegas, formuló un modelo que resultó ser equivocado, en el cual la molécula de ADN debía estar formada por una triple hélice.

En el segundo equipo del King's College de Londres, liderado por Maurice Wilkins, trabajaba la cristalógrafa británica Rosalind Franklin. Ella fue la primera en obtener una excelente fotografía del ADN por difracción de rayos X, a partir de la cual podía deducirse la distribución y la distancia entre los átomos que formaban parte del ADN.

Fuente: “Los tres caminos hacia la doble hélice” de Miguel de Asúa. Revista Ciencia Hoy, Volumen 13 N° 76, Agosto -Setiembre 2003.

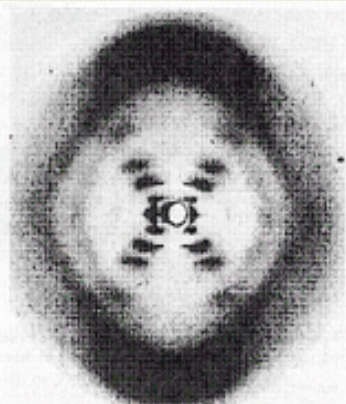


Figura: Rosalind Franklin y la fotografía del ADN por difracción de rayos X que lograra obtener en 1952. Los rayos X pueden difractarse -ser dispersados- al atravesar un cristal, ya que el cristal está formado por redes de átomos que actúan como tramas de difracción muy finas. Los diagramas resultantes pueden fotografiarse y analizarse para determinar la distancia entre los átomos del cristal. El estudio de fotografías obtenidas por esta técnica en cristales de macromoléculas biológicas fue fundamental en

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



El Cuaderno de PorquéBiotecnología

Edición N° 65 de 2005

el descubrimiento de la estructura del ADN..

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



Cuenta la historia que mientras Wilkins y Franklin intentaban traducir sus datos en una estructura probable, la fotografía fue vista por el biólogo estadounidense James Watson y el físico británico Francis Crick, los cuales formaban el tercer equipo que estaba investigando la estructura del ADN en la Univ. de Cambridge.

Watson y Crick tenían en mente una serie de posibles estructuras, pero al carecer de buenas fotografías no podían concluir sobre cuál era la correcta. Acceder a la fotografía de Franklin fue clave para lograrlo. De esta forma, Watson y Crick pudieron publicar en 1953, en el mismo número de la revista *Nature* en el que publicaron sus fotografías Wilkins y Franklin, la estructura de doble hélice del ADN. Watson y Crick inician su artículo original de esta manera:

“Deseamos sugerir una estructura para el ácido desoxirribonucleico (ADN). Esta estructura tiene características novedosas que son de considerable interés desde el punto de vista biológico”.

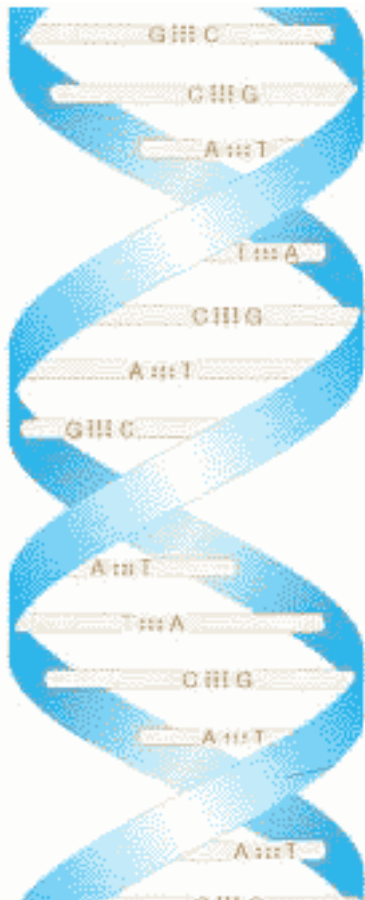


Figura. Según el modelo de Watson y Crick, el ADN es una doble hélice, con las bases nitrogenadas dirigidas hacia el centro, perpendiculares al eje de la molécula (como los peldaños de una escalera caracol) y las unidades azúcar-fosfato a lo largo de los lados de la hélice (como las barandas de la escalera). Las hebras que la conforman son complementarias (deducción realizada a partir de los datos de Chargaff), Adenina se aparea con Timina y Citosina con Guanina y el apareamiento se mantiene debido a la acción de los puentes hidrógeno entre ambas bases. Ellos calcularon las distancias exactas que debía haber entre las cadenas y entre los átomos que las componen.

La estructura de la doble hélice sin duda revolucionó la biología molecular y proporcionó respuestas a muchas preguntas que se tenían sobre la herencia. Predijo la autorreplicación del material genético y la idea de que la información genética estaba contenida en la secuencia de las bases.

La investigación siguió su curso. El bioquímico estadounidense Arthur Kornberg anunció la purificación parcial de una enzima, la ADN polimerasa, que cataliza (acelera) la síntesis del ADN.

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



Fuente: <http://www.argenbio.org/h/biotecnologia/03.php>

En 1962 James Watson, Francis Crick y Maurice Wilkins recibieron el premio Nobel en medicina por el descubrimiento de la estructura del ADN. Rosalind Franklin había fallecido en 1958, a los 37 años de edad.

Una línea en la historia de la biología molecular

La publicación de la estructura del ADN en 1953, sentó las bases para el desarrollo de nuevas áreas de investigación como la biología molecular y la biotecnología. Entre los aportes más importantes se pueden nombrar:

- ü **1956:** Vernon Ingram, del laboratorio de Estructura Molecular MRC, en Cambridge, descubre que la anemia falciforme era causada por el cambio de un aminoácido en la hemoglobina, la molécula que lleva el oxígeno en la sangre. Análisis posteriores revelaron que se debía a la mutación o cambio de un nucleótido en la secuencia de ADN que codifica para esa proteína.
- ü **1958:** Matthew Meselson (Univ. de Harvard) y Franklin Stahl (Univ. de Oregon) probaron la naturaleza semiconservadora de la replicación del ADN. Esto significa que cada una de las dos moléculas copiadas de ADN formadas durante la replicación de ADN están constituidas por una hebra de la molécula original y la nueva hebra sintetizada a partir de la hebra original.
- ü **1961-1966:** Francis Crick y el genetista británico de origen sudafricano Sydney Brenner descubren la forma en que se organizan las bases del ADN para producir aminoácidos. Su teoría es confirmada en 1966 por el biólogo norteamericano Marshall Nirenberg, Heinrich Mathaei y el bioquímico español Severo Ochoa, quienes descifraron el código genético para cada uno de los 20 aminoácidos.
- ü **1970-1973:** Nacimiento de la ingeniería genética. Científicos en diversas partes del mundo comienzan a experimentar cortando y uniendo segmentos de ADN para realizar distintas combinaciones (ADN recombinante). Los biólogos Paul Berg y Herb Boyer de la Univ. de Stanford y Univ. de California produjeron las primeras moléculas combinadas de ADN en 1972, y en 1973 S. Cohen y A. Chang demuestran que el ADN recombinante puede ser replicado y mantenido en la bacteria E. coli.
- ü **1975:** El doctor argentino César Milstein y el doctor alemán George Köhler, del Laboratorio de Biología Molecular de la Univ. de Cambridge descubrieron los anticuerpos, que son una de las armas que tiene el sistema inmune para luchar contra las enfermedades y son fabricados por células específicas. Estos científicos lograron

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



El Cuaderno de PorquéBiotecnología

Edición N° 65 de 2005

mantener anticuerpos en cultivo fuera del organismo y mezclarlos con células tumorales, con lo cual logró un mecanismo "artificial" de reproducción de anticuerpos en su forma más pura. Ese hallazgo, permitió el diagnóstico de enfermedades y simplificó testeos, como el del grupo sanguíneo, el HIV o el embarazo.

- ü **1975-1977:** Comienzan los análisis al genoma. Ed Southern de la Univ. de Edimburgo, desarrolla una prueba que comenzaría uno de los proyectos más ambiciosos de la ciencia moderna: la secuenciación del genoma humano. La prueba se conoce como "Southern Blotting" y permite que el investigador que trabaja con un segmento de ADN conozca el lugar en el que estaba ubicado dentro del genoma antes de que fuera fragmentado.
- ü **1977:** Fred Sanger (Univ. de Cambridge) desarrolló una técnica para leer el ADN "letra por letra" (nucleótido por nucleótido o base por base).
- ü **1984:** El investigador inglés Alec Jeffreys, del Laboratorio de Estructura Molecular de la Univ. de Cambridge descubrió una forma de leer las "huellas dactilares" del ADN, o "huellas genéticas" para cada individuo. De esta forma las personas pueden ser identificadas con tan sólo una muestra de su ADN. Sus pruebas han permitido avances en estudios forenses, criminología, en pruebas para determinar la paternidad y el parentesco entre individuos, y en estudios de evolución biológica.
- ü **1985:** K. Mullis describe su método de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que permite conseguir múltiples copias de una secuencia de ADN dada.
- ü **1990:** El Proyecto Genoma Humano es lanzado este año. El propósito era localizar cada gen en el genoma humano. En 1995, los estadounidenses Craig Venter, Claire Fraser, Hamilton Smith y otros investigadores de la empresa Celera Genomics, completaron la secuencia del primer genoma de un organismo vivo, la bacteria *Hemophilus influenzae*.
- ü **1991:** Nace Tracy, la primera oveja transgénica, que producía en su leche una proteína humana, la alfa-1-antitripsina.
- ü **1997:** Nace la oveja Dolly, el primer mamífero adulto clonado por Ian Wilmut y sus colegas en el Instituto Roslin en Bélgica.
- ü **1999-2001:** Se completa la primera secuencia del cromosoma humano número 22. El primer ensayo del genoma humano es anunciado en el año 2000 y otros genomas, de plantas y bacterias son secuenciados. En el 2001 se ensaya por primera vez la terapia genética donde los fallos en los genomas de los pacientes son tratados con copias saludables de los genes alterados.
- ü **2002:** Se publica el primer borrador completo de la secuencia del genoma humano.

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



El Cuaderno de PorquéBiotecnología

Edición N° 65 de 2005

- ü **2002:** Nace en Argentina Mansa, la primera ternera clonada y transgénica que produce la hormona de crecimiento humana en su leche. Este logro argentino fue concretado por la empresa de biotecnología Biosidus.
- ü **2004:** En Argentina nace Pampero, el primer ternero transgénico en el mundo que produce la hormona de crecimiento humana.

Como dicen los científicos argentinos Alberto Díaz y Diego Golombek en su libro “ADN, 50 años no es nada”:

“Desde que Watson y Crick descubrieron por primera vez la estructura del ADN que permitía, además, explicar los mecanismos de duplicación celular, comenzó esa gran aventura del conocimiento y del ingenio que es la biología molecular. Sin embargo han pasado cincuenta años y, por suerte, seguimos descubriendo el misterio; como decía César Milstein, la curiosidad seguirá abriendo caminos y resultados”.

ACTIVIDADES

OBJETIVOS:

1. Revisar los conceptos explicados en el texto.
2. Interpretar el tema abordado a partir del análisis de textos y de representaciones gráficas.
3. Elaborar textos de ciencia que favorezcan el aprendizaje de los conceptos estudiados.

DESTINATARIOS: las siguientes actividades se adaptan preferentemente al nivel EGB 3 y al Polimodal. Se puede establecer relaciones conceptuales con los siguientes contenidos:

- Estructura y función celular
- Biomoléculas: proteínas, polisacáridos, lípidos, ácidos nucleicos.
- Genética y herencia. Función del ADN. Reproducción.
- Síntesis de proteínas. Relación gen / proteína. Mutaciones.
- Ingeniería genética.

CONSIDERACIONES METODOLÓGICAS

Uno de los conceptos interesantes que se pueden remarcar a partir de este Cuaderno, es la idea del conocimiento científico como una producción histórica, social y colectiva. A diferencia de la imagen que suele transmitirse del científico encerrado en un laboratorio y aislado del mundo exterior, hoy en día se reconoce que los conocimientos científicos existentes son el resultado de los aportes de muchas generaciones de científicos, y que cada concepto tiene su significado dentro de una teoría que lo incluye. La idea que se propone a partir de este texto no es hacer una historia de la ciencia pero sí contextualizar los contenidos conceptuales en el momento histórico

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



en que fueron producidos, relacionarlos con las concepciones que han precedido al descubrimiento y con las preguntas que han intentado responder.

Se sugiere trabajar con los docentes de química aspectos vinculados con la estructura química de la molécula de ADN, así como de las otras biomoléculas, y relacionarlas con su función.

Asimismo, es interesante analizar con los alumnos los esquemas o simbolismos empleados para representar la molécula de ADN, por ejemplo, las letras que representan a las bases nitrogenadas.

Se recomienda a lo largo de las clases volver sobre la interpretación de los simbolismos para evaluar si los alumnos comprenden la relación entre las letras empleadas y las estructuras químicas que representan. Las representaciones gráficas, ya sea tablas, esquemas, cuadros, gráficos, etc., pueden resultar una herramienta útil para la comprensión de ideas y conceptos ya que permiten comprimir información, localizar ideas claves y establecer relaciones entre ellas.

Pero, en algunos casos, las representaciones gráficas resultan difíciles de interpretar por los alumnos.

Es recomendable dedicarle un tiempo al análisis de esquemas para favorecer su interpretación y, en consecuencia, la comprensión de los conceptos que se pretende transmitir a través de su utilización. Se sugiere explicitar los códigos y simbolismos que se emplean, construir equivalencias con otros lenguajes (traducir los textos en esquemas y los esquemas en textos). Por ejemplo, a diferencia de la letra C que representa el elemento carbono, en este caso la letra C representa una estructura más grande que es la base nitrogenada Citosina, conformada a partir de la unión de átomos de diversos elementos.

Para analizar la experiencia de Frederick Griffith, cuáles eran los conocimientos existentes en ese momento, el diseño de la experiencia, sus resultados y conclusiones, se sugiere retomar los conceptos trabajados en el Cuaderno N° 61 dedicado a *La ciencia y el método científico*.

Entre las actividades se sugiere una experiencia que consiste en la extracción de ADN vegetal. Las actividades experimentales se enriquecen cuando, en el transcurso de las mismas, se promueve la reflexión alrededor de un problema, la formulación de hipótesis, el diseño del experimento, la interpretación de los resultados, la elaboración de conclusiones, la producción de un informe experimental, etc. En el caso particular de la extracción del ADN, la experiencia consiste en una serie sucesiva de separaciones moleculares hasta la obtención de un mucus blanco y fibroso que el alumno "acepta" como evidencia de la obtención de ADN. El hecho de "ver" el ADN, una molécula de tamaño microscópico, plantea un conflicto en la comprensión que requiere de la reflexión y la interpretación de los resultados.

Actividad N°1: Comprensión de conceptos

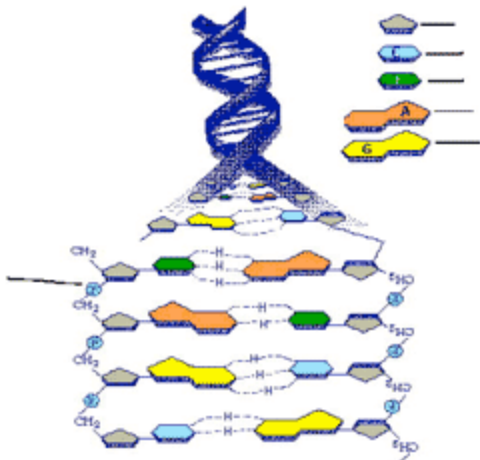
Se sugieren las siguientes preguntas para evaluar contenidos conceptuales trabajados en el Cuaderno.

1. ¿Qué significa la sigla ADN?
2. ¿Cuál es la función del ADN?
3. ¿Cuál fue la conclusión a la que llegó el investigador Frederick Griffith en 1920 a partir de sus experiencias con ratones?

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



4. ¿Cuál fue el aporte que realizó el microbiólogo Oswald Avery al descubrimiento realizado por Griffith?
5. Explicar cuál fue el experimento que permitió disipar las dudas acerca de la naturaleza del material genético, es decir que era el ADN y no las proteínas.
6. ¿Qué dato aportaban las denominadas “reglas de Chargaff” acerca de la composición química del ADN?
7. Analizar la siguiente representación gráfica y responder:



- a. cuál es la estructura representada
- b. indicar en las líneas señaladas las estructuras que correspondan.
- c. Redactar un breve texto (entre 5 y 8 líneas) en el cual se relacionen los conceptos *ADN*, *gen*, *nucleótidos* y *doble hélice*.

Actividad N°2: Línea de tiempo

Nota para el docente: para realizar esta actividad se puede consultar también los Cuadernos N°43, N° 52, y la sección Novedades en

http://www.porquebiotecnologia.com.ar/doc/reportes/result_indiv.asp?id=1923

Se propone que los alumnos, distribuidos en grupos, diseñen una línea de tiempo y que ubiquen en ella los principales hechos en la historia del descubrimiento del ADN y las posteriores investigaciones en las áreas de biología molecular y de biotecnología mencionadas en la sección teórica.

Se propone además, ubicar en la misma los años en que:

- i. se produjo la primera planta transgénica;
- ii. se sembró en la Argentina la primera soja transgénica resistente a glifosato,
- iii. se sembraron los primeros algodones y maíces Bt en la Argentina;
- iv. se aprobó la siembra de maíz resistente a glufosinato de amonio en Argentina.

Actividad N°3: Análisis de textos

Se propone analizar con los alumnos las siguientes frases para responder las preguntas sugeridas: "El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



El Cuaderno de PorquéBiotecnología

Edición N° 65 de 2005

1. Al discutir los resultados de la transformación, el microbiólogo Oswald Avery escribió: *“Si estamos en lo correcto, esto significa que los ácidos nucleicos no son meramente importantes desde el punto de vista estructural, sino sustancias funcionalmente que determinan las actividades bioquímicas y características específicas de las células, de tal forma que al conocer esta sustancia química es posible inducir cambios predecibles en las células.”*

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



Preguntas para el análisis del párrafo:

a. ¿A que se refiere el investigador cuando menciona que los ácidos nucleicos son sustancias que “....determinan las actividades bioquímicas y características específicas de las células”?
Respuesta: se hace referencia a la expresión de los genes, su replicación, la transcripción de éstos a ARN mensajero y la traducción en proteínas que derivaron en el “Dogma central” de la biología molecular.

b. Mencionar cuáles fueron las implicancias de la posibilidad de “inducir cambios predecibles en las células” para el desarrollo de las áreas de biología molecular y biotecnología. **Respuesta:** se hace referencia a la universalidad del código genético que permite transferir genes de un organismo a otro. La información que lleva dicho gen, hará que en el organismo en el cual se ha insertado (organismo genéticamente modificado) se produzca la misma proteína que en el organismo original.

2. *“Las técnicas del ADN recombinante han permitido la producción de muchos medicamentos en microorganismos modificados por ingeniería genética, es decir, transferencia de genes, como, por ejemplo, la hormona de crecimiento humana y bovina, la insulina, el factor antihemofílico, la eritropoyetina (EPO), la vacuna antihepatitis B, los interferones.”* Fuente: “ADN, 50 años no es nada”, A. Díaz y D. Golombek. p 20. Editorial Siglo veintiuno (2004)

Preguntas para el análisis del párrafo:

- a) ¿Cómo se relaciona la posibilidad de desarrollar organismos genéticamente modificados, con la estructura y la función del ADN?
- b) Investigar en qué organismos genéticamente modificados se producen la hormona de crecimiento humana, la insulina y la vacuna antihepatitis B y de dónde proviene el gen de origen.

Actividad N°4: Extracción de ADN vegetal. (Preparada por la Oficina de Biotecnología de la Univ. de Iowa)

Nota para el docente: se recomienda que el material vegetal utilizado sea con poca coloración para facilitar la observación de los resultados, como ser, bananas o cebollas. En este caso se hará extracción de ADN de banana. Al final de la guía práctica se sugiere una serie de preguntas para analizar con los alumnos los resultados de la experiencia.

Los estudiantes extraerán ADN de bananas licuadas con agua. Una parte de esta mezcla de banana, luego es tratada con shampoo y sal, mezclada durante 5-10 minutos, y luego escurrida a través de un filtro de café. A lo filtrado se le agrega alcohol frío y es éste el momento cuando el ADN de la solución de banana se precipita y se hace visible.

El detergente disuelve los lípidos (moléculas grasas) y las proteínas de la membrana celular, rompiendo las uniones que mantienen la integridad de la misma. De esta forma se libera el

“El Cuaderno de PorquéBiotecnología” es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



contenido celular. Luego, el detergente forma complejos con los lípidos y las proteínas, permitiendo que los mismos sean separados del ADN por filtración. Así se libera el ADN. La sal permite que el ADN precipite en una solución fría de alcohol y que las cadenas de ADN no se corten.

Materiales:

- ü 8 tazas o vasos de plástico
- ü Licuadora
- ü Una cuchara plástica para medir y mezclar
- ü 2 filtros de papel de café N° 2 (conos)
- ü 20 ml de agua destilada
- ü Shampoo de color claro
- ü 3 bananas
- ü Sal de mesa, con o sin Iodo
- ü 1 pipeta de transferencia plástica o un gotero médico
- ü 1 tubo de ensayo sellado que contenga 95% de etanol o 91% de alcohol isopropílico
- ü 1 conservadora con hielo para enfriar los tubos con alcohol
- ü 1 varilla de vidrio o 1 pipeta Pasteur

Procedimiento para la extracción del ADN

Preparar una solución de banana procesada con sal, agua destilada y shampoo (detergente) mediante los siguientes pasos:

1. En una licuadora, mezclar una banana por taza de agua destilada (250ml).
2. Licuar por 15-20 segundos, hasta que la solución se mezcle.
3. En una taza, preparar una solución consistente en una cucharadita de té de shampoo y dos pizcas de sal.
4. Agregar 20 ml (4 cucharaditas) de agua destilada o hasta que la taza esté llena en un tercio.
5. Disolver la sal y el shampoo revolviendo lentamente con la cuchara de plástico evitando formar espuma.
6. A la solución preparada en el paso 2, agregar tres cucharaditas de té de la mezcla de banana del paso 1.
7. Mezclar la solución con la cuchara por 5-10 minutos.
8. Mientras uno de los miembros del grupo mezcla la solución de banana, otro miembro pondrá el filtro N° 2 de café dentro de otra taza de plástico. Doblar el borde del filtro alrededor de la taza para que el filtro no toque el fondo de la taza.
9. Filtrar la mezcla vertiéndola dentro del filtro y dejar que la solución drene por algunos minutos hasta que sean 5 ml aproximadamente de filtrado para testear.
10. Tomar un tubo de ensayo con alcohol frío. Para mejores resultados el alcohol debe estar tan frío como sea posible.

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



11. Llenar la pipeta plástica con la solución de banana y agregarla al alcohol. El ADN no es soluble en alcohol. Cuando el alcohol se agrega a la mezcla, los componentes, excepto el ADN, permanecen en la solución mientras el ADN precipita en la capa de alcohol.
12. Dejar la solución reposar por 2 a 3 minutos sin mover. Es importante no batir el tubo de ensayo. Se puede observar el ADN blanco el cual precipita en la capa de alcohol.
13. Cuando se obtienen buenos resultados, habrá suficiente ADN para levantar con una varilla de vidrio (el ADN se enrolla a la varilla). O usando una pipeta de Pasteur que haya sido calentada en la punta para formar un gancho, se puede recuperar (tomar) algo de ADN. El ADN tiene la apariencia de mucus blanco y fibroso.

Preguntas para el análisis de la experiencia

- a. ¿Por qué se puede suponer que la banana contiene ADN? ¿Dónde se encuentra ese ADN?
- b. ¿Qué otro tipo de sustancias es posible encontrar entre los componentes de la banana?
- c. ¿Cuál es la función del detergente en la experiencia? **Nota:** según el nivel de los alumnos es posible profundizar en los fundamentos químicos en los que se basa la acción del detergente.
- d. ¿Cuál es la función de la sal en la experiencia? **Nota:** según el nivel de los alumnos es posible profundizar en los fundamentos químicos en los que se basa la acción de la sal.
- e. ¿Cuál es la función del alcohol en la experiencia? **Nota:** según el nivel de los alumnos es posible profundizar en los fundamentos químicos en los que se basa la acción del alcohol.
- f. Al finalizar la experiencia se obtiene un mucus blanco y fibroso que sería el ADN. ¿Es posible que la molécula de ADN se visualice a simple vista? ¿Por qué?
- g. A partir de la respuesta anterior, ¿qué creen que contiene “el ADN” obtenido en la experiencia?
- h. ¿Cómo se podría proceder si se quisiera obtener, a partir del ADN extraído, los nucleótidos que lo forman?
- i. Suponiendo que el ADN extraído tiene un gen de interés que aporta una característica deseable para otras plantas, ¿cuáles serían los pasos a seguir para aislar ese gen y transferirlo a la otra planta? Diseñen un esquema que resuma las etapas a seguir en el laboratorio. **Nota:** repasar las técnicas de ADN recombinante en el Cuadernos N° 49 (proteínas recombinantes) y en las actividades del Cuaderno N°18 (también se sugiere allí una experiencia para extraer ADN de cebolla).

Nota para el docente: Para finalizar la actividad experimental, se sugiere formular a los alumnos una pregunta que promueva la reflexión acerca de la presencia de ADN en los alimentos que consumimos.

1. ¿Se podría utilizar otros alimentos para extraer ADN? En tal caso, ¿cuáles podrían ser esos alimentos?
2. ¿Se podría decir, entonces, que comemos genes?

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



El Cuaderno de PorquéBiotecnología

Edición N° 65 de 2005

3. ¿Qué ocurre con el material genético que se consume? **Nota:** esta pregunta apunta a repasar conceptos vinculados con la nutrición, la degradación de los componentes de los alimentos y el aprovechamiento de las unidades constitutivas (nucleótidos, en este caso) para fabricar los componentes del propio cuerpo.

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



Actividad N°5: Análisis de un artículo periodístico

Artículo publicado en el diario Clarín el 14 de febrero de 2003, al cumplirse 50 años de la publicación de la estructura del ADN

Ciencia

Un hallazgo que revolucionó a la Biotecnología y el tratamiento de muchas enfermedades.

HACE 50 AÑOS FUE DESCUBIERTA LA ESTRUCTURA DE LA MOLÉCULA DEL ADN

Es el material que se encuentra en el núcleo de las células y que da las instrucciones vitales para el organismo humano. Sirvió para construir el mapa del genoma y conocer la identidad de las personas.

Por Valeria Román

En estos días, un caso policial puede darse vuelta a partir del ADN que dejó el asesino. Un hijo no reconocido puede recibir una herencia millonaria tras hacerse un test que identifica quién era su padre. O una pareja puede apenarse mucho al enterarse de que el bebé por nacer sufrirá una enfermedad incurable. Cincuenta años atrás, esas situaciones ni siquiera eran pensables para la vida cotidiana. Todo cambió por el “bendito” ADN (el ácido desoxirribonucleico), el material que está **en el núcleo de las células**.

El descubrimiento de su estructura con forma de doble hélice ocurrió “oficialmente” el **28 de febrero de 1953**. En este hallazgo participaron tres hombres y una mujer. Aunque a ella **casi no la reconocieron como codescubridora**.

En los próximos días empiezan más de una decena de actividades en todo el mundo (desde simposios hasta muestras de artistas plásticos) para recordar ese momento que, si bien cambió el rumbo de la biología, no estuvo exento de intriga y egoísmo. En Estados Unidos unirán este festejo con la secuenciación del **genoma humano**, y el 15 de abril será el “Día del ADN”.

¿Cómo es concretamente el ADN? La respuesta estuvo disponible recién 50 años atrás. Fueron cuatro científicos jóvenes los encargados de alcanzarla. El neocelandés Maurice Wilkins trabajaba a los 34 años en el King’s College de Londres y sabía hacer perfectas preparaciones de fichas de ADN. A este científico le incomodaba la presencia en el lugar de Rosalind Franklin, quien a los 32 años era considerada como la mejor cristalógrafa del mundo (una especialidad que usa los rayos X para ver moléculas). Wilkins sentía que Franklin pretendía trabajar en “su” proyecto. A principios de 1953, **ella descubrió primero que el ADN tenía una estructura helicoidal**. Obtuvo dos pruebas: una imagen y unas medidas del ADN. Pero no las publicó rápidamente.

Los otros dos personajes de este momento crucial de la ciencia fueron James Watson y Francis Crick. El primero, nacido en Chicago en 1928, había escuchado en Nápoles que la ciencia estaba detrás de la estructura del ADN. Dejó su interés por los pájaros y se concentró en la intimidad del ADN en un laboratorio de Cambridge, en Inglaterra. A los 23 años, Watson empezó a trabajar con Francis Crick, que tenía 35. Se cuenta que en enero de 1953 Wilkins le mostró “inocentemente” a Watson la original imagen del ADN que había capturado Franklin. Al mes siguiente, otro científico inglés le pasó una copia de las mediciones de la mujer. Watson y Crick pusieron toda su energía en refinar el descubrimiento. Construyeron modelos tridimensionales y al final publicaron el hallazgo de la estructura el 2 de abril de 1953 en la revista **Nature** aunque **no aclararon que habían utilizado el trabajo de Franklin**. Watson reconoció su aporte recién

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



en 1968 en su libro **La doble hélice**. Wilkins, Watson y Crick recibieron el Nobel en 1962, cuatro años después de la muerte de la joven Rosalind Franklin.

¿Qué cambió a partir de 1953? La opinión es de Alberto Kornblihtt, investigador principal del Conicet y de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la UBA: “El descubrimiento de la estructura del ADN no es solamente un punto de inflexión en la biología sino en la historia de la cultura humana. Permitió **descifrar el mecanismo de funcionamiento** de los seres vivos y de la perpetuación de la vida”. Antes de Watson y Crick ya se sabía que el ADN era el portador de la información genética, pero no se tenía ni la más remota idea de cómo se transmitía esta información de una célula a sus hijas y mucho menos de cuál era el lenguaje que usaban los genes para ordenar la fabricación de las proteínas.

Kornblihtt agregó: “Al saberse que la molécula de ADN era una doble hélice se pudo comprender por qué y cómo *...a menudo los hijos se nos parecen...*, como dice la canción de Serrat”. El hallazgo dio lógica a las **leyes de la herencia** de Mendel y a la teoría de la selección natural de Darwin.

El descubrimiento reafirmó – sostiene el investigador que trabaja en el área de la biología molecular – la naturaleza animal del hombre y dio por tierra con las teorías vitalistas que consideraban que los seres vivos estaban hechos de materiales con propiedades distintas a las del mundo físico no vivo. Confirmó que bacterias, plantas, hongos y animales somos parientes. Abrió el camino para la comprensión, el tratamiento, el diagnóstico y la prevención de las enfermedades que azotaron a la humanidad por milenios (como cáncer, infecciones virales o bacterianas) y posibilitó el desarrollo de poderosas biotecnologías que revolucionaron a la producción agropecuaria y a las industrias farmacéuticas y de la alimentación.

Preguntas para analizar el artículo:

1. ¿Cuál es el hecho científico – histórico que rememora este artículo periodístico? ¿En qué año ocurrió?
2. ¿Cuáles son los hechos de “intriga y egoísmo” a que hace referencia el artículo? **Nota para el docente:** esta pregunta apunta fundamentalmente a interpretar el carácter humano de la actividad científica que, como en otras áreas de la vida, no está exenta de rivalidades, búsqueda de gloria y de reconocimiento.
3. Si antes de 1953 ya se conocía que el ADN era el portador de la información genética, ¿cuál fue el aporte del descubrimiento de la estructura del ADN? **Nota para el docente:** la pregunta hace referencia a que se pudieron descifrar los mecanismos de replicación, transcripción y traducción que permiten comprender el mecanismo de funcionamiento del ADN en la determinación de los caracteres de los organismos y en su transmisión.



En el recuadro se muestra la histórica imagen de rayos X del ADN lograda por Rosalind Franklin del King's College en Londres en 1952.

La foto muestra a Watson (izquierda) y Crick (derecha) posando al lado del modelo de ADN que desarrollaron con la ayuda de la imagen del ADN de Rosalind Franklin.

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



4. ¿Qué relación hay entre este descubrimiento y la teoría de evolución a partir de un antepasado común desarrollada por Charles Darwin? Relacionar con la frase del artículo “Confirmó que bacterias, plantas, hongos y animales somos parientes”, y con el concepto de “código genético universal”
5. Explicar la frase del artículo: “El descubrimiento...dio por tierra con las teorías vitalistas que consideraban que los seres vivos estaban hechos de materiales con propiedades distintas a las del mundo físico no vivo”. ¿A qué “materiales” hace referencia esta frase? **Nota:** en este punto se puede trabajar el tema de *niveles de organización de la materia* a partir de considerar que los seres vivos y lo no vivo están constituidos por los mismos elementos (carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno), aunque uno es vivo y el otro no.
6. ¿Qué técnicas o investigaciones en la actualidad pueden desarrollarse gracias al conocimiento de la estructura y función del ADN, según este artículo?
7. El artículo menciona que el descubrimiento “posibilitó el desarrollo de poderosas biotecnologías que revolucionaron a la producción agropecuaria y a las industrias farmacéuticas y de la alimentación”. ¿A qué se refiere? Dar algunos ejemplos. **Nota:** los alumnos pueden repasar temas vistos en Cuadernos anteriores (por ejemplo, los N° 43 a 48, 51, 58, entre otros).

MATERIAL DE CONSULTA

1. *ADN, 50 años no es nada*. Díaz, Alberto; Golombek, Diego. Editorial Siglo veintiuno (2004)
2. “Los tres caminos hacia la doble hélice” de Miguel de Asúa. Revista Ciencia Hoy, Volumen 13 N° 76, Agosto -Setiembre 2003.
3. Artículo original publicado por Watson y Crick, en inglés y castellano.
<http://biocrs.biomed.brown.edu/Books/Chapters/Ch%208/DH-Paper.html>
4. El ADN como material genético (un poco de historia).
<http://www.argenbio.org/h/biotecnologia/03.php>
5. Biografías de los descubridores de la estructura del ADN.
<http://www.ukinspain.com/adn/biograf.asp>
6. *La doble hélice. Un relato autobiográfico sobre el descubrimiento del ADN*. Watson James. 1993. Salvat Editores.
7. ADN y síntesis proteica. Hipertextos del Área de la Biología. Univ. Nacional del Nordeste.
<http://www.efn.uncor.edu/dep/biologia/intrbiol/indadn.htm>
8. El desafío de enseñar ciencias naturales. Laura Fumagalli. Editorial Troquel. 1993.
9. Hipertextos del área de la biología. Univ. Nacional del Nordeste. Fac. de Agroindustrias, Saenz Peña, Chaco • Fac. Ciencias Agrarias, Corrientes. República Argentina.
<http://www.biologia.edu.ar/adn/>

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.



El Cuaderno de PorquéBiotecnología

Edición N° 65 de 2005

"El Cuaderno de PorquéBiotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo PorquéBiotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo PorquéBiotecnología.