
5

Genes: ni huevo ni gallina sino todo lo contrario

En 1981, año en que T. R. Cech de la Universidad de Colorado en Boulder describía el RNA autocatalítico, Crick publicó su libro *Life Itself* donde constata su perplejidad ante la forma en que se organiza la materia viva:

El problema del origen de la vida sería mucho más fácil de resolver si hubiera sólo un tipo de macromoléculas, capaces de hacer ambas tareas, replicación y catálisis, pero la vida tal y como la conocemos emplea dos tipos. Esto bien pudiera ser por el hecho de que no existe una macromolécula que realice ambas funciones convenientemente debido a las limitaciones de la química orgánica; porque, en fin, así es la naturaleza de las cosas.

El descubrimiento de la catálisis por RNA ha desvanecido esta dificultad apuntada por Crick haciendo posible las conjeturas sobre un *mundo de RNA* -término acuñado por W. Gilbert en 1986-, una biosfera de seres que usarían RNA como material genético y como enzimas. Llegaremos, no obstante, a la conclusión que ese mundo que pudo preceder a la invención de la síntesis proteica ya era muy complejo y distante del origen de la vida. El RNA es una molécula desesperantemente complicada.

El huevo-ácido nucleico y la gallina-proteína

El problema de la naturaleza del material genético primitivo se ha planteado numerosas veces como una reformulación del enigma clásico: *¿qué fue antes, el huevo o la gallina?* No cabe duda que la organización de

las células actuales es muy complicada porque establece una interdependencia entre polímeros portadores de la información -ácidos nucleicos- y macromoléculas -enzimas proteicos- que la ejecutan. La información para la síntesis de una proteína está contenida en el DNA. Pero esta información sólo fluye si las propias proteínas existen previamente para catalizar cada uno de los pasos. Las discusiones teóricas en los años sesenta del propio Crick, de Orgel y Woese entre otros, llevaron a la idea de que la solución se daría si el RNA fuese capaz de catalizar reacciones. La puerta se abrió al principio de los ochenta con los descubrimientos de Cech y los de S. Altman en la Universidad de Yale que los hizo merecedores del Premio Nobel de Química de 1989. En eucariontes, la mayoría de los genes se encuentran interrumpidos por fragmentos sin significado aparente o intrones. Durante la elaboración de un mensaje genético funcional, o maduración de los RNA, los trozos con significado -o exones- han de ser escindidos y pegados en el orden adecuado. Cech y sus colaboradores demostraron que la escisión y empalme de los exones de un precursor de RNA ribosómico del eucarionte unicelular *Tetrahymena thermophila* ocurría en ausencia total de proteínas. Por su parte, el equipo de Altman probó que la subunidad catalítica de la RNasa P, un enzima encargado de la maduración de los precursores de los RNA de transferencia, es de naturaleza ribonucleica. En los años siguientes se describieron numerosas reacciones protagonizadas por *RNA catalíticos* o *ribozimas*, tanto naturales como artificiales. Siempre se trataba de procesos de síntesis o hidrólisis del enlace fosfodiéster que une dos nucleótidos contiguos en la cadena del ácido nucleico. Pero uno de los descubrimientos clave se dio en 1992 cuando H. Noller, de la Universidad de California en Santa Cruz, comunicó que hay buenas razones para pensar que la actividad responsable del engarce de un aminoácido con el siguiente durante la síntesis de una proteína -la peptidil transferasa- reside en el RNA del ribosoma y no en sus proteínas. Esta observación, apoyada por otros datos genéticos y bioquímicos, es trascendental porque nos permite imaginar un sistema de síntesis de polipéptidos en un mundo de RNA.

La investigación sobre la catálisis por RNA, tanto el diseño de actividades con aplicaciones biotecnológicas como el descubrimiento de ribozimas que actúan en el metabolismo de las células modernas, continúa tremendamente activa. A pesar de los progresos, hay que destacar que el RNA catalítico se muestra menos versátil que las proteínas. Aunque exhibe una especificidad y una eficacia similares, parece que el espectro de reacciones posibles es menor.

Un mundo de RNA

Aparte de la existencia de ribozimas y de la capacidad informativa de los polirribonucleótidos, claramente manifiesta por la existencia de virus como el del SIDA con genomas de RNA, hay otras observaciones circunstanciales que apoyan la idea de una vida primitiva basada en el RNA como precedente de la vida basada en el DNA. 1) *El RNA ocupa una posición central en las células actuales.* Por ejemplo, la replicación de los genomas de DNA se inicia con cebadores de RNA y los RNA mensajeros, de transferencia y ribosómicos son ingredientes indispensables de la traducción. La síntesis de proteínas puede tener lugar en ausencia de DNA pero no de RNA, lo cual es especialmente cierto ahora que sabemos que la peptidil transferasa es de naturaleza ribonucleica. 2) Numerosas *coenzimas*, reactivos esenciales que complementan la acción de las proteínas en multitud de procesos metabólicos, son *ribonucleótidos* o se *derivan de ellos*. Tal es el caso del coenzima A, del NAD o del propio ATP. 3) La *síntesis del aminoácido histidina*, cuyas propiedades lo convierten en un protagonista central de la catálisis enzimática, se efectúa a partir de ATP y de un derivado fosforilado de la ribosa. 4) En las células actuales la *síntesis de desoxirribonucleótidos* -precursores del DNA- se realiza a *partir de ribonucleótidos*. En particular, el ácido desoxitimidílico -un componente característico del DNA- se deriva del ácido desoxiuridílico -una base sólo presente en el RNA.

Algunos autores imaginan que el RNA con capacidad catalítica y autorreplicativa se habría formado a partir de reacciones de condensación al azar entre ribonucleótidos prebióticos. Los esfuerzos de Ferris y sus colaboradores van en esta dirección. Ellos han conseguido oligomerizaciones de ribonucleótidos y desoxirribonucleótidos catalizadas por minerales. Sin embargo los reactivos usados están activados químicamente para favorecer las reacciones de condensación y además son quiralmemente puros. El RNA no es una molécula prebiótica plausible. Los modelos de síntesis prebiótica de purinas son creíbles pero para las pirimidinas existen graves problemas. Lo que ya es un gran rompecabezas es la unión de las bases a la ribosa y la formación de nucleótidos. La presencia de ribosa plantea un enigma especial a pesar de que A. Eschenmoser del Instituto Federal Suizo de Tecnología de Zürich ha experimentado con variantes de la reacción de la formosa que tienen rendimientos notables de fosfatos de ribosa. No obstante, los productos siguen siendo mezclas racémicas. Como ya mencionamos en el capítulo 3, la polimerización no progresa si no se usan isómeros puros.

Los conocimientos actuales derivados de la química orgánica prebiótica nos indican, razonablemente, que es más que dudoso que la ribosa o el RNA mismo existieran en una sopa primordial. Basándose en la bioquímica comparada de los organismos actuales S. A. Benner del Instituto Federal Suizo de Tecnología de Zürich y a A. D. Ellington del Hospital General de Massachusetts en Boston han hecho una propuesta radical. Para estos autores los últimos organismos que basaban todas las catálisis en ribozimas, que fueron sede de la invención de la traducción, contenían ya incluso DNA y exhibían un complejísimo entramado metabólico. Si estos autores están en lo cierto los microfósiles de Warrawoona serían restos de riboorganismos. Sin necesidad de llegar a tales extremos, creo que no existió nunca lo que algunos autores han llamado un mundo de RNA *precelular*. Más bien al RNA y sus precursores habría que contemplarlos como el resultado evolutivo de sistemas protocelulares con un metabolismo energético que permitiera, a partir de materias primas y fuentes de energía asequibles, la formación de los monómeros, quiralmemente adecuados y convenientemente activados, para la síntesis de los polímeros. La vida no habría empezado con el RNA sino con sistemas replicativos más simples.

Mundos anteriores al de RNA

Orgel ha propuesto que el apareamiento de las bases nitrogenadas es la esencia de los sistemas replicativos biológicos:

Quizá a medida que ganemos conocimientos sobre las fases más y más tempranas en la evolución de la vida, las características estructurales familiares de la doble hélice de DNA se irán desvaneciendo una a una. Como el gato Cheshire, dejarán tras ellas una «sonrisa», el principio de la complementariedad estructural entre las subunidades monoméricas.

El material genético primordial debería cumplir cuatro requisitos generales: 1) tener *propiedades informacionales*, lo cual sugiere que debería ser una especie de heteropolímero con al menos dos tipos de subunidades monoméricas; 2) ser capaz de *dirigir la unión ordenada de los materiales monoméricos* de partida para poder formar copias adicionales de sí mismo; 3) construirse a partir de monómeros asequibles, es decir plausibles

prebiótica y geoquímicamente o que fuesen el producto razonable de un metabolismo primitivo; 4) ser lo suficientemente *estable* para que su velocidad de formación fuera mayor que la de descomposición. Además si a lo que hay que llegar es al mundo de RNA, habría que detallar la ruta evolutiva desde el primer tipo de molécula autorreplicativa hasta un sistema genético basado en el RNA.

Hay al menos tres alternativas que tratan de reducir las dificultades inherentes al mundo del RNA. En primer lugar, se contempla la posibilidad de que antes del origen de la autorreplicación hubiese un periodo de evolución química durante el cual una serie de procesos no instruidos genéticamente diese lugar a una alteración progresiva del ambiente. La modificación profunda del medio por parte de agregados polipeptídicos y otros componentes abióticos habría preparado la escena para la emergencia de un sistema autorreplicativo. A pesar de las dificultades que supone, algunos autores, como Shapiro, han salido en defensa de la gallina y han preferido la alternativa «*proteínas primero*». Tal sería también la propuesta que de Duve ha hecho con su *mundo del tioester*. Una red metabólica precelular catalizada por péptidos sintetizados al azar y basada en una bioenergética que explota las posibilidades del enlace tioester -fruto de la reacción de ácidos orgánicos con tioles- habría dado lugar al RNA antes de la aparición de la primera protocélula.

Una segunda posibilidad sería la intervención de *un sistema replicativo primitivo sin ninguna relación química con el RNA*, que ayudaría a modificar el entorno de forma que hiciese más probable el origen del RNA o de moléculas parecidas. La hipótesis más famosa y elaborada en esta dirección es la de las arcillas como material genético primitivo que ha propuesto Cairns-Smith y que ya mencionamos en el capítulo anterior. Los organismos minerales habrían desarrollado la capacidad de sintetizar RNA o algo similar, inicialmente como catalizador o cofactor pero que, finalmente, se convertiría en un material autorreplicativo que asumiría las tareas de material genético. La dificultad más importante es la de la discontinuidad química que supone explicar el relevo de los genes minerales por polímeros orgánicos.

En tercer lugar podemos razonar la ruta hacia el RNA postulando la existencia de un sistema químico autorreplicativo *similar al RNA pero más sencillo*, menos exigente para la química prebiótica. Por ejemplo se puede dar un rodeo a las dificultades asociadas con la síntesis prebiótica de pirimidinas suponiendo que el primer material genético estaba compuesto sólo de purinas. Algunos autores, como G. Zubay de la Universidad de

Columbia, Crick o Wächtershäuser, han sugerido ácidos nucleicos con sólo purinas y apareamientos de bases diferentes a los que se dan en el modelo clásico de Watson y Crick -es decir, adenina con timina y guanina con citosina- aunque nos faltan datos experimentales de que esas combinaciones sean adecuadas para la polimerización dirigida por molde. El esqueleto del polímero también podría haber sido más sencillo con algo diferente a la ribosa en su estructura. G. Joyce del Instituto Scripps en La Jolla junto con otros autores ha propuesto análogos de nucleótidos que son acíclicos. El más estudiado es un compuesto fácilmente sintetizable a partir de la condensación de formaldehído y glicerol seguido de la adición de una base. Esto produciría una mezcla de diferentes derivados del glicerol mucho más simple que la variedad de derivados de ribosa. Tanto la versión fosforilada como la correspondiente precursora sin fosforilar es una molécula aquiral, lo cual evita por completo los problemas de la polimerización en mezclas racémicas. A. Schwartz de la Universidad Nijmegen y Orgel consiguieron la polimerización, sobre un molde de policitidina, del bifosfato del análogo de glicerol con guanina unida.

Un sistema genético primitivo de estas características también se enfrenta a una serie de inconvenientes. No sabemos si un polímero de este tipo sería capaz de mostrar alguna actividad catalítica, con lo cual nos encontramos de nuevo con el viejo problema del huevo, aunque éste ya no sea de gallina. Precisamente en los análogos acíclicos falta el hidroxilo en posición 2' de la ribosa, que es un factor determinante en el establecimiento de estructuras tridimensionales variadas y posiblemente en la capacidad catalítica del RNA. Queda todavía por establecer cómo ocurriría la transición desde estos polímeros primitivos hasta el RNA.

La invención de la traducción y la aparición en escena del DNA

La transición hacia el RNA desde un mundo anterior más simple podría haberse favorecido precisamente por las dotes catalíticas del RNA. Al mismo tiempo, la catálisis por proteínas habría desplazado casi por completo de esta tarea al RNA. La mayoría de los autores, excepto casos extremos como el de Benner y Ellington, piensan que el DNA apareció después de la invención de la síntesis de proteínas en el mundo del RNA. La bioquímica actual nos brinda algunas claves. En todos los organismos los desoxirribonucleótidos se derivan de los ribonucleótidos. La reacción la

cataliza las ribonucleótido reductasas. Hay tres clases de reductasas que a pesar de su diversidad estructural guardan unas similitudes que hace sospechar en un origen común. Las tres clases usan variantes de un mecanismo basado en la participación de radicales químicos, algo único dentro del repertorio de mecanismos enzimáticos conocidos. Esta singularidad sugiere que la síntesis de desoxirribosa es químicamente difícil y está de acuerdo con las enormes dificultades a la hora de imaginar su origen prebiótico. Si la reducción de ribonucleótidos requiere un mecanismo que pasa por la generación de radicales químicos es sumamente improbable que la primera reductasa fuese un RNA. P. Reichard del Instituto Karolinska de Estocolmo ha señalado que el riesgo de autodestrucción de una reductasa ribonucleica es enorme. El RNA carece de la capacidad de las proteínas de formar bolsillos hidrofóbicos capaces de contener radicales químicos. Si la primera ribonucleótido reductasa tuvo que ser ya proteica y el enzima encargado de la síntesis del enlace peptídico sabemos que es un RNA, la secuencia lógica de aparición en escena sería, como se indica en la figura 7, primero RNA, después proteína y, por último, DNA.

Todavía queda, no obstante, el problema de la asignación del código genético o la equivalencia entre aminoácidos y secuencias de nucleótidos. Este código, salvo algunas modificaciones evolutivas, es universal. Y -aquí viene el problema- quien realmente vela y asigna las correspondencias son enzimas proteicos: las aminoacil-tRNA sintasas. Estos catalizadores reconocen cada aminoácido y los tRNA que les corresponden con una precisión espectacular: se equivocan menos de una vez cada diez mil. Esto es posible porque, como las polimerasas de DNA, disponen de mecanismos de corrección de errores. O sea, que el paso de RNA a proteína codificada no es tan obvio ya que, aunque primitivas y torpes, requeriría proteínas previas que establecieran el código.

La elección del DNA como molécula especializada en el almacenamiento de la información podría basarse en la mayor estabilidad de estos polímeros comparados con el RNA. Lazcano junto con Oró, R. Guerrero, de la Universidad de Barcelona, y L. Margulis de la Universidad de Massachusetts en Amherst, han discutido con detalle algunas de las razones que habrían determinado el tránsito del mundo de RNA y proteínas al mundo actual. En primer lugar el esqueleto azúcar-fosfato basado en la desoxirribosa es notablemente más estable en disolución acuosa que el basado en ribosa. De hecho el grupo hidroxilo en 2' de la ribosa es crítico durante la hidrólisis del RNA catalizada por álcali o

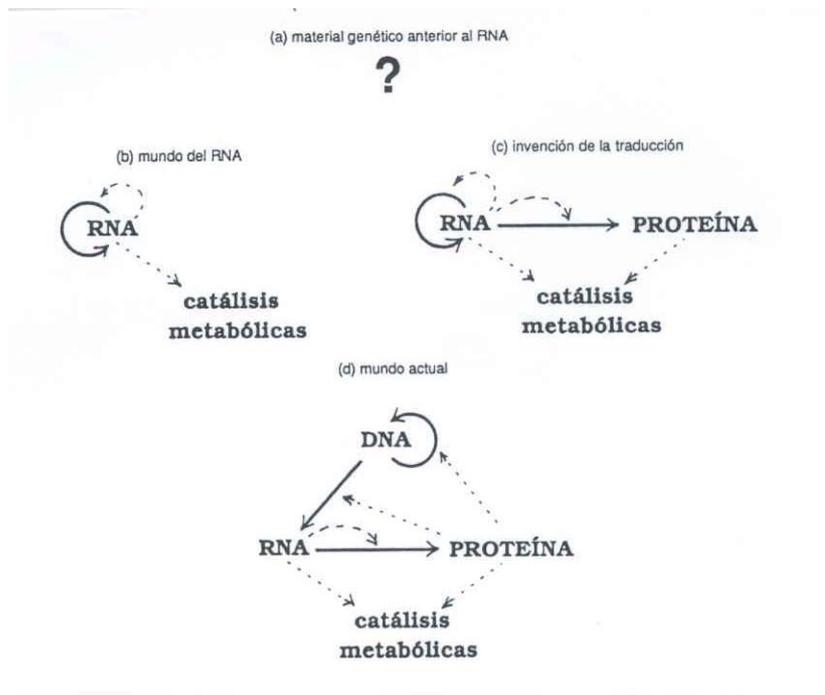


Figura 7. Una posible secuencia evolutiva desde un material genético primitivo de naturaleza desconocida (¿una arcilla como propone Cairns-Smith o un polímero orgánico parecido a un ácido nucleico como proponen Joyce y otros?) hasta el mundo actual. El interrogante en (a) también puede simbolizar la propuesta de algunos autores, como de Duvé o Shapiro, que postulan un protometabolismo catalizado por péptidos no instruidos genéticamente o la de Wächtershäuser de un metabolismo basado en la síntesis anaeróbica de pirita. Las líneas continuas indican flujo de información y las discontinuas catálisis por macromoléculas (ribozimas o enzimas proteicas), auxiliadas frecuentemente por moléculas pequeñas o coenzimas. La evolución desde un mundo de RNA razonablemente se daría en poblaciones de células con un metabolismo energético establecido (b), pasando por la fase de invención de la traducción o síntesis de proteínas catalizada por RNA (c), hasta la incorporación del DNA como material genético más ventajoso (d). La invención de la traducción significa el establecimiento del código genético universal (equivalencias del lenguaje de nucleótidos del RNA al de aminoácidos en los polipéptidos), que según Eigen y sus colaboradores se originó hace unos 3,8 Ga. La hipótesis esquematizada también implica que a lo largo de la evolución terrestre el «dogma central de la biología molecular» postulado por Crick (la información nunca fluye de proteínas a ácidos nucleicos) nunca fue violado.

metales de transición. En segundo lugar, la información contenida en RNA va decayendo espontáneamente con el tiempo debido a degradaciones químicas de las bases: despurinación, despirimidación y, en particular, desaminación de citosina para dar uracilo. El problema es que no existen sistemas enzimáticos de reparación del RNA que sufre este envejecimiento químico. Una dificultad es que el uracilo forma parte de la composición natural del RNA y no habría forma de distinguir los uracilos originales de los generados por desaminación de citosina. Sin embargo estos fenómenos son diez o cien veces más lentos en una estructura doble helicoidal de DNA. Además se han podido desarrollar mecanismos de reparación: los uracilos detectados son eliminados quedando la información de la hebra complementaria para regenerar la secuencia original. Por último, las moléculas de RNA son más sensibles a la degradación fotoquímica inducida por la radiación ultravioleta que un DNA de doble cadena. Este fenómeno podría ser clave en la Tierra arcaica. Se ha especulado muchísimo sobre las condiciones de vida en aquella época teniendo en cuenta que la capacidad de la atmósfera para filtrar la radiación muy energética sería menor que la actual. La práctica inexistencia de oxígeno molecular haría imposible la formación de una capa protectora de ozono. Aunque se han propuesto diferentes sistemas amortiguadores, como los gases elementales de azufre, lo cierto es que la luz del Sol joven sería más rica en radiación ultravioleta que la actual y los organismos tendrían que ingeniárselas para defenderse. El relevo del RNA por la doble hélice de DNA en la tarea de almacenar la información genética podría explicarse como una estrategia más para protegerse del daño fotoquímico.

«Parque Arcaico»

Se está realizando un esfuerzo considerable en diversos laboratorios para conseguir un RNA capaz de autorreplicarse. Esto es lo mismo que decir que estamos a punto de conseguir uno de los ingredientes esenciales para la síntesis de una protocélula que sirva de modelo de los primeros pasos de la evolución. La técnica utilizada consiste en hacer evolucionar en el tubo de ensayo a las moléculas de RNA, gracias a que estos polímeros resuelven la perplejidad de Crick: se pueden reproducir y a su vez manifiestan unas características definidas. La evolución dirigida o *ex vivo* consiste en buscar entre un grupo numeroso de secuencias de nucleótidos

–un subconjunto de todas las secuencias posibles o espacio de secuencias- aquel polímero que manifieste las características apetecidas, en este caso que sea capaz de copiarse a sí mismo.

Se trata de imitar a la evolución natural. Mediante procesos enzimáticos realizados *in vitro* se copian y multiplican las moléculas de RNA. Estos métodos, rutinarios en los laboratorios de biología molecular, hacen uso de polimerasas purificadas que, paradójicamente, son demasiado precisas para el uso que aquí se les da. Por ello se han ideado variantes de las condiciones experimentales que permiten introducir una tasa de error en la copia perfectamente controlable. Después del proceso de multiplicación con mutación se selecciona de entre la inmensa población generada aquella molécula que manifieste las características deseadas. Por ejemplo, la que es capaz de unirse específicamente a otra molécula o catalizar una reacción química concreta. Aquí es donde la imaginación del investigador se la juega. J. Szostak del Hospital General de Massachusetts consiguió seleccionar de entre una población de diez billones de secuencias aleatorias -por otra parte, una pequeña fracción de todas las posibles- un pequeño grupo de moléculas de RNA que tenía la habilidad de unirse a un colorante. Para ello fijó la molécula de colorante en una columna de cromatografía y pasó por ella la población de RNA. Sólo las moléculas capaces de reconocer y unirse al colorante quedaron retenidas y fueron purificadas. Como se muestra en la figura 8, este proceso de selección se puede repetir y añadiendo más diversidad de secuencias a partir de las moléculas que ya han manifestado su aptitud, mejorarlas. Joyce se propuso hacer evolucionar en el tubo de ensayo al ribozima de *Tetrahymena* para que fuese capaz de mejorar una actividad para la cual no está optimizado por la naturaleza: hidrolizar DNA. El objetivo es desarrollar toda una nueva estrategia terapéutica en la lucha contra los virus. De entre los diez billones de secuencias variantes del ribozima de los que se partió unas pocas moléculas de RNA fueron capaces de cortar DNA. Aquéllas que lo hacían se quedaban con parte del producto unido a ellas de manera que con este truco Joyce fue capaz de seleccionarlas, multiplicarlas con mutación y volverlas a seleccionar. Después de diez ciclos el ribozima evolucionado mostraba una capacidad de cortar DNA notablemente mejorada. Seleccionando muestras de las diferentes fases del experimento y analizando la estructura de los RNA es posible seguir en directo el proceso evolutivo. Se puede rastrear la historia evolutiva molecular de estos ribozimas.

Szostak y otros andan detrás de un ribozima autorreplicativo. Se ha demostrado que el ribozima de *Tetrahymena* puede copiar una secuencia

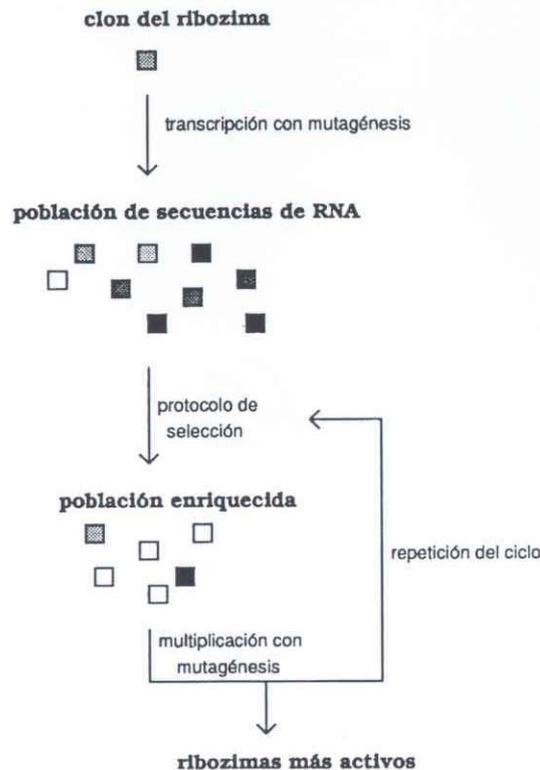


Figura 8. Esquema del procedimiento de mutagénesis, selección y multiplicación de ribozimas en experimentos de evolución en el tubo de ensayo (tomado con modificaciones de Szostak, J. W., 1993: «Evolution ex vivo», *Nature*, 361: 119-120).

usándola como molde en la unión de oligonucleótidos complementarios. Partiendo de una población de secuencias al azar Szostak ha conseguido en diez generaciones de multiplicación con error y selección un ribozima que cataliza la unión de oligonucleótidos siete millones de veces más rápidamente que sin catalizador. No hemos hecho más que empezar a recorrer los caminos de la optimización evolutiva. La estrategia de la evolución dirigida permite explorar el espacio de secuencias en busca de un RNA que exhiba mejores actividades de unión de oligonucleótidos para finalmente llegar al ribozima que se copie a sí mismo usando nucleótidos como sustratos o que, siendo capaz de reconocer diferentes coenzimas,

catalice reacciones metabólicas básicas. Entonces estaremos tocando con los dedos la simulación de procesos clave en el origen de la vida.

Estos métodos abren la puerta hacia una nueva estrategia biotecnológica. Pocos imaginaban hace unos años que la investigación nacida del interés sobre el origen de la vida pudiese llegar a tener aplicaciones industriales. Hoy en día se convocan reuniones y congresos sobre selección *anatural* o diseño *irracional* de fármacos. Se está iniciando una vía de desarrollo de nuevas armas terapéuticas que a diferencia de la aproximación clásica que consiste en introducir cambios «racionales» o de diseño en las estructuras forjadas por la evolución se deja operar a ésta en el laboratorio, en los confines del tubo de ensayo. El experimentador establece el tipo de selección pero el trabajo lo hacen unos procesos que son esencialmente los mismos que nos han moldeado durante los últimos cuatro mil millones de años. Y si, por ejemplo, el virus que pretendemos combatir evoluciona a su vez, no hay más que continuar la batalla poniendo a evolucionar también el arma.