

Capítulo IV. El desarrollo de la Biotecnología.

PABLO INFUESTA MOLLEDA

La realización del PGH supuso la utilización de diversas técnicas de cartografiado y secuenciación del genoma, que por su gran complejidad no podemos detallar aquí¹²⁰. En términos muy generales, los mapas del genoma permiten identificar y aislar genes individuales, esto es, fragmentos de ADN que codifican una determinada cadena polipeptídica. Por su parte, la secuenciación consiste en la determinación del orden de las bases nitrogenadas del ADN. Las técnicas implicadas en ambos procesos, aunque plurales y heterogéneas, tienen su origen en el ámbito de la Biotecnología.

No resulta problemático localizar analíticamente en el seno del PGH un conjunto de elementos que aparecen como *aparatos, operadores y relatores*: por ejemplo, las enzimas de restricción utilizadas para cortar el ADN, secuenciadores automáticos como el ABI 373A, o los potentes ordenadores y programas informáticos utilizados para procesar la información obtenida. Sin embargo, dada la heterogeneidad de los elementos distinguidos, es necesario regresar hacia el curso en el cual se *configuran* y se organizan, estableciendo sus conexiones (y desconexiones) mutuas. Los *artefactos* que posibilitan la secuenciación del genoma humano son aquellos que permiten realizar operaciones quirúrgicas (de unión y separación) no sólo sobre el ADN, como se suele afirmar frecuentemente de manera reductiva, sino, en general, sobre los *trazos* que se constituyen en el ámbito de la Biología molecular y la Bioquímica, analizados en el capítulo anterior. Mediante la aplicación de este criterio, podemos circunscribir el curso que da razón del plano tecnológico del PGH a la génesis y el desarrollo de la Biotecnología, evitando así la confusión inherente a un *regressus* hacia técnicas anteriores dadas *a otra escala*, como pudieran ser las técnicas de selección artificial aplicadas sobre los organismos.

Además, queda establecido un nexo fundamental entre dos de los factores del contexto histórico determinante del PGH, que contribuye a clarificar su entramado.

Una descripción precisa puede consultarse en Peter Sudbery, *Genética Molecular Humana*, (Pearson Prentice Hall, Madrid, 2004, págs. 56-142).

1.- De la Biología molecular a la Biotecnología: la ingeniería genética.

La Biotecnología tiene su origen en la implementación de varios *operadores* que permitieron manipular directamente los *cuerpos* y los *fenómenos* establecidos en el campo de la Biología molecular. Los antecedentes inmediatos de la Biotecnología se encuentran en las técnicas utilizadas para descifrar el código genético. Como hemos visto, era posible fabricar mRNA con una secuencia determinada, e introducirlo en una solución líquida de componentes celulares donde interactuaba con los aminoácidos.

Sin embargo, no ocurría lo mismo con el ADN: en la década de 1950, el bioquímico Arthur Kornberg había identificado la ADN polimerasa, una enzima que replica el ADN mediante la formación de una copia complementaria a partir de una cadena desenrollada. Trabajando con ADN viral, pudo inducir la replicación artificial de su genoma, pero el resultado era biológicamente inerte. El motivo del fracaso de los experimentos de Kornberg no se conocería hasta 1967, cuando Martin Gellert y Bob Lehman identificaron simultáneamente la ADN ligasa, otra enzima que *unía* los extremos de la molécula de ADN formando enlaces covalentes. De este modo, Kornberg estuvo en disposición de completar con éxito sus experimentos iniciales, replicando el ADN del virus con el ADN polimerasa, y juntando los dos extremos mediante la ligasa, de modo que toda la molécula formaba un bucle continuo, como en el virus original. El ADN viral artificial presentaba las mismas propiedades que el original, multiplicándose en el organismo de su bacteria huésped, la *Escherichia Coli*¹

A finales de los años sesenta, Werner Arber, bioquímico y microbiólogo suizo, estudió el proceso en el cual, en ocasiones, los ADN virales se fragmentaban tras insertarse en bacterias huésped. La ruptura sólo se producía en aquellas células bacterianas que poseían una encima que restringía el crecimiento viral *separando* el ADN foráneo. El corte se produce como reacción a una secuencia específica de bases nitrogenadas: por ejemplo, la enzima de restricción *Eco R1* corta la secuencia GAATC. Arber descubrió, también, que las enzimas de restricción no cortan el ADN de sus propias células, porque las bacterias producen una segunda enzima que modifica las secuencias de bases susceptibles de ser cortadas²

A comienzos de la década de los 70, los principales *operadores* de la futura Biotecnología, esto es, la ADN ligasa que une fragmentos de ADN, y las enzimas de restricción que los separan, estaban ya identificados. Sin embargo, todavía no se había producido su implementación, y por tanto no estaban *configurados* como tales. Por

¹ Vid. James Watson, *ADN. El secreto de la vida*, Tauros, Madrid, 2003, pág. 88.

² Vid. Watson, *Op. Cit.*, pág. 89.

ejemplo, en el contexto de las investigaciones anteriores las enzimas de restricción eran, más bien, *cuerpos* que mantenían relaciones químicas de carácter necesario con una determinada secuencia de bases nitrogenadas; del mismo modo que tres uracilos se enlazan químicamente con la fenilalanina en la síntesis de proteínas.

En 1971, Stanley Cohen, en la Universidad de Stanford, desarrolló un método para que las células de la bacteria *E. Coli* pudieran incorporar «plásmidos» del exterior. Los plásmidos son pequeños bucles de ADN ubicados en el interior de la bacteria, mediante los cuáles ésta puede mutar su propio genoma. Mediante su técnica, Cohen podía *transformar* la bacteria con ADN ajeno, consiguiendo que una cepa susceptible a la acción de un antibiótico se convirtiese en inmune mediante la implantación de un plásmido tomado de una cepa resistente. Dado que la transformación era genética, la transmitía el nuevo carácter a las generaciones siguientes: el ADN de plásmido se transmitía intacto en todas las divisiones celulares³

Todas estas *configuraciones* estaban a punto de converger en el ámbito de la genética molecular, provocando la irrupción de la Biotecnología. En un congreso sobre plásmidos celebrado en Honolulu en 1972, Stanley Cohen trabajó contacto con Herb Boyer, un joven biólogo molecular de la Universidad de California. Boyer había identificado un año antes (junto con Robert Yoshimori) la enzima de restricción *Eco RI*, a la que antes aludíamos. Esta enzima tiene la peculiaridad de cortar la doble hélice del ADN en un lugar específico, entre la guanina y la citosina de los lados opuestos de la hélice. Aplicando la *Eco RI*, el ADN se separa del tal modo que en sus dos extremos presenta secuencias de nucleótidos complementarias, denominadas «extremos pegajosos» debido a que las secuencias complementarias pueden unirse fácilmente mediante enlaces de hidrógeno y ADN ligasa. Gracias a este hallazgo, desde el punto de vista bioquímico resultaba hipotéticamente posible combinar fragmentos de ADN de distintas especies. En el congreso de Honolulu, Boyer y Cohen pusieron en común los resultados de sus investigaciones, y comenzaron a perfeccionar la tecnología del ADN recombinante, que está en la base de la ingeniería genética⁴.

Unos meses después, los laboratorios de Cohen, en Palo Alto, y Boyer, en San Francisco, comenzaron a colaborar para producir un híbrido de dos plásmidos distintos, cada uno de los cuales otorgaba a la bacteria receptora resistencia frente a un medicamento en particular. El objetivo era lograr una cepa bacteriana con resistencia a los dos medicamentos. En primer lugar, los plásmidos fueron *cortados* mediante enzimas de restricción. A continuación, fueron mezclados en un tubo de ensayo, utilizando ADN ligasa para *unir* los extremos. Así, fue posible lograr plásmido compuesto por fragmentos de los originales, que, una vez transplantados a las bacterias mediante los métodos de Cohen, las convirtieron en inmunes a los medicamentos. El siguiente paso consistió en insertar fragmentos de genes de distintas especies: Boyer y Cohen introdujeron, mediante el mismo

³ Vid. Thomas F. Lee, *El Proyecto Genoma Humano. Rompiendo el código genético de la vida*, págs. 121-122.

⁴ Vid. Watson, *Op. Cit.*, pág. 91.

procedimiento, un gen del sapo con garras africano en un plásmido de *E. Coli*, introduciéndolo en una cepa bacteriana. Cada vez que se producía la división celular de las bacterias, el segmento insertado de ADN de sapo se replicaba. De este modo, no sólo era posible fabricar ADN recombinante, sino también *clonar* genes específicos de cualquier organismo. La ingeniería genética era ya una realidad⁵

En es este contexto donde las entidades que venimos exponiendo se *configuran* como *operadores*. Si repasamos el párrafo anterior, podremos constatar que las enzimas de restricción no aparecen ya como *cuerpos* con determinadas características bioquímicas que interactúan con otros cuerpos de su entorno, sino como *cuchillos moleculares* que los *actores* implicados en el origen de la ingeniería genética utilizan para separar fragmentos de ADN; del mismo modo que un minero utiliza el pico para separar trozos de carbón, a otra escala. Lo mismo ocurre con el resto de las configuraciones artefactuales examinadas.

Los *operadores* conformados en el contexto de la ingeniería genética desempeñarán un papel fundamental en el desciframiento de la secuencia del genoma humano. Las enzimas de restricción y la ligasa posibilitan las operaciones quirúrgicas sobre el material genético inherentes al proceso, y las técnicas de clonación permiten obtener un amplio catálogo de fragmentos específicos de ADN para ser estudiados.

2.- La tecnología de secuenciación.

A partir de la tecnología del ADN recombinante, comenzó a plantearse la posibilidad de establecer la secuencia de las bases nitrogenadas. La capacidad de fragmentar, unir y clonar el ADN era condición necesaria, pero no suficiente. No basta con realizar operaciones quirúrgicas sobre el material genético mediante *operadores* bioquímicos, sino que se requiere de algún tipo de *relator* capaz de fijar simbólicamente el orden de las bases nitrogenadas. Durante la década de los setenta se desarrollarían los primeros métodos de secuenciación, que servirán de modelo a toda la tecnología posterior utilizada en la consecución del desciframiento del genoma humano.

Fred Sanger, que ya había establecido la primera secuencia de aminoácidos de unaproteína completa en sus experimentos con la insulina, diseño en 1975 la primera técnica de secuenciación del ADN. El método de Sanger parte de la separación de un fragmento de ADN en cadenas simples. Los filamentos se colocan en cuatro tubos de ensayo, en los cuales se introducen todos los elementos necesarios para la formación de nuevas moléculas de ADN: los cuatro tipos de nucleótidos, la ADN polimerasa y un oligonucleótido marcado radiactivamente (una cadena corta de nucleótidos con una secuencia de bases determinada que puede fabricarse en el laboratorio). El oligo funciona como disparador, que inicia el proceso de ensamblaje, donde los nucleótidos sueltos se van asociando uno a uno a las nuevas cadenas formadas por la acción de la polimerasa, que reproduce la cadena original.

⁵ Vid. Watson, *Op. Cit.*, págs. 92-94.

Ahora bien: en cada uno de los tubos, Sanger introdujo uno de los cuatro tipos de «nucleótidos disesoxi», que tienen la propiedad de interrumpir el proceso de formación de la nueva cadena a la que se añaden. Los nucleótidos convencionales y los disesoxi se agregaban azarosamente, con lo cual en cada uno de los tubos de ensayo se formaban una gran cantidad de cadenas de distinta longitud, con la peculiaridad de que todas terminaban en la misma base nitrogenada (al ser detenidas por la incorporación por el mismo nucleótido disesoxi)⁶.

En este punto tenemos, por tanto, cuatro grupos de cadenas de ADN de longitud variable, diferenciados por la base en que finalizan (A, C, G, o T). Para establecer la secuencia, la mezcla de cadenas recién sintetizadas se separa según sus respectivas longitudes mediante gel-electroforesis de poliacrilamida: se disponen todas las cadenas en una placa impregnada con un gel bañado en una solución de poliacrilamida, que crea un tamaño de poro uniforme. La placa se coloca entonces en un campo eléctrico, que fuerza a las moléculas a desplazarse a través de los poros hacia el polo positivo (debido a la carga negativa de los grupos fosfato). La distancia recorrida es inversamente proporcional al tamaño de la cadena, de modo que, al final de proceso, los distintos fragmentos de ADN aparecen ordenados en función de su tamaño a lo largo de una línea en el gel. Mediante una autorradiografía, pueden observarse los *rastros* del ADN en la senda del gel, lo que permite *leer* directamente la secuencia de las nuevas cadenas. Así, la secuencia del ADN original puede ser deducida a partir de la secuencia complementaria obtenida mediante el examen de la longitud creciente de nucleótidos en las cadenas ordenadas⁷.

En 1977, el biólogo molecular Walter Gilbert, en colaboración con Alan Maxam, desarrolló un método alternativo para secuenciar el ADN. El punto de partida es, también, una colección de cadenas aisladas de ADN, pero, en este caso, se marca uno de los extremos de cada una de las cadenas con una forma radiactiva de fósforo (32P). Entonces, se aplican al ADN compuestos químicos que alteran uno de los cuatro tipos de bases nitrogenadas. Posteriormente, otro agente químico corta la cadena en el punto en el que el nucleótido ha sido alterado. No todas las cadenas se cortan en el mismo punto, con lo cual, al final del proceso, se obtienen cadenas de distinta longitud, que terminan en el mismo nucleótido (aquél que haya sido alterado con el compuesto químico inicial). Una vez se han obtenido fragmentos terminados en cada una de las bases nitrogenadas, se realiza el proceso de electroforesis, de modo que se obtienen los mismos resultados que en el método de Sanger. No obstante, los procedimientos químicos mediante los cuales se divide el ADN son muy dificultosos y peligrosos, con lo cual el método de Gilbert fue cayendo progresivamente en desuso⁸.

Es importante señalar aquí que, en el marco de las investigaciones de Gilbert, dos *morfologías* de gran importancia para el PGH recibieron su *conformación* actual: a principios de la década de 1970, Richard Roberts, Ph. Sharp y otros biólogos moleculares identificaron en muchos organismos tramos de

⁶ Vid. Lee, *Op. CU*, págs. 170-171

⁷ Vid. Lee, *Op. C it* págs. 140-141-172- y Sudbery, *Op. Cit* pág. 94.

⁸ Vid. Lee, *Op. Cit*. págs. 172-173; y Watson, *Op. Cit*. 107-108.

ADN que no codifican ningún aminoácido. Estos tramos se transcribe, pero el producto de su transcripción se elimina del mRNA maduro y funcional en la síntesis de proteínas. Gilbert definió estos segmentos de ADN aparentemente inútiles como «intrones», frente a los «exones» o genes responsables de la codificación de cadenas polipeptídicas. En el proceso de constitución de la Biotecnología no sólo adquieren su formato los componentes *artefactuales* del PGH, sino que, también, se *conforman* nuevos *trazos*; lo cual no debería resultar extraño, en tanto que las operaciones tecnológicas transforman objetos, dando lugar eventualmente a nuevas *configuraciones*. Como ya señalamos en su momento, los cursos no son puros y, aunque el *regressus* tenga como *terminus a quo* un tipo de configuraciones específico, en el *progressus* pueden encontrarse configuraciones de cualquier otro tipo.

Volviendo al plano estrictamente tecnológico, durante la década de los ochenta se produjo una innovación crucial: la secuenciación, que hasta entonces necesitaba del concurso de los investigadores para leer y registrar los datos, se automatizó gracias a la implementación de potentes computadores y programas informáticos. Las nuevas tecnologías tomaron como base el método de Sanger, aunque sustituyendo los marcadores isotópicos por cuatro colorantes fluorescentes que marcan cada uno de los nucleótidos didesoxi con un color diferente. El producto de estas reacciones se desplaza en un único surco de un gel de electroforesis de poliacrilamida. En el extremo inferior del gel, un láser excita los fluoróforos incorporados en las cadenas de ADN. El orden de los picos de color es registrado por un detector, y la información generada se almacena automáticamente como un archivo digital de secuencia de ADN. Posteriormente, el archivo de datos es analizado con programas informáticos capaces de ensamblar las distintas secuencias obtenidas⁹.

Estamos, en suma, ante un *relator*, que realiza operaciones sobre objetos para obtener *proposiciones* en las cuales quedan determinadas ciertas *relaciones abstractas* entre dichos objetos. En este caso, la secuencia de las bases nitrogenadas de un genoma determinado.

Así, por ejemplo, el ABI 373 A, desarrollado en 1986 por Michael Hunkapiller en *Applied Biosystems*, una división de la Perkin Elmer Corporation. El salto cuantitativo es considerable: la máquina de Hunkapiller podía analizar veinticuatro muestras simultáneas, con un rendimiento de doce mil bases de ADN al día¹⁰. Con el método manual, el desciframiento del genoma humano hubiera sido una tarea inacabable. Gracias a las tecnologías de la computación, la secuenciación del genoma se convirtió en un proyecto plausible.

En conclusión, hemos podido constatar cómo, en el curso del desarrollo de la Biotecnología, un conjunto de realidades heterogéneas se *configuran* como *artefactos*, *operadores* y *relatores*, en relación a otras configuraciones *circulares* y *radiales* con las que se codeterminan.

⁹ Vid. Sudbery, *Op. Cit.*, pág. 93.

¹⁰ Vid. Kevin Davies, *La conquista del genoma humano*. Craig Venter, Francis Collins, James Watson y la historia del mayor descubrimiento científico de nuestra época, Paidós, Barcelona, 2001, pág. 84.