

Biología molecular y estructura del ADN

José C. Illana

Resumen: Basados en la equivalencia de bases observadas por Chargaff y en los datos obtenidos mediante difracción de rayos X sobre fibras de ADN por Rosalind Franklin y Maurice Wilkins; en 1953 James Watson y Francis Crick postularon un modelo preciso para la estructura tridimensional del ADN en el que explicaban cómo la información genética podía replicarse con exactitud. En 1958, Meselson y Stahl confirman experimentalmente el modelo de Watson y Crick, de la replicación semiconservadora del ADN, marcando radiactivamente el ácido nucleico de *Escherichia coli* y comprobando la distribución isotópica en diversas replications.

Palabras clave: ADN, Francis Crick, James Watson, estructura de doble hélice.

Abstract: Based on the equivalence of bases observed by Chargaff and data obtained by X-ray diffraction of DNA fibers by Rosalind Franklin and Maurice Wilkins; in 1953 James Watson and Francis Crick postulated an accurate model for the three dimensional structure of DNA explaining how genetic information could replicate exactly. In 1958, Meselson and Stahl confirm experimentally the Watson-Crick model of semiconservative DNA replication, radioactively marked nucleic acid *Escherichia coli* and checking the isotopic distribution in various replications.

Keywords: DNA, Francis Crick, James Watson, double helical structure.

INICIO DE LA BIOLOGÍA MOLECULAR

La biología molecular tuvo sus primeras expresiones antes de 1950. Astbury empleó el término “molecular biologists” en 1939.^[1] Desde 1935 a 1953 puede considerarse el *periodo romántico* de esta disciplina científica.^[2] Diversos investigadores, procedentes de otras materias, generalmente físicos y químicos, se reunieron alrededor de Max Delbrück, (Figura 1) inspirados por Niels Bohr y Erwin Schrödinger.^[3] Asistieron al “Phage Course” organizado en Cold Spring Harbor, en la costa este de EE.UU., y constituyeron el “Phage group”. Buscaron el desarrollo de las leyes de la genética química a través del estudio de la constitución de los virus. Delbrück escribió una descripción de la situación en 1939:

[...] El primer estímulo que me hizo interesarme por cuestiones biológicas surgió de unos debates con Bohr en 1931 sobre la importancia de la mecánica cuántica en biología. Después de buscar por caminos tortuosos un proyecto de investigación que prometiera proyectar alguna luz sobre el problema fundamental en cuestión, me decidí al final por este tema (la autorreproducción de los fagos) donde encontramos el caso más sencillo de duplicación de moléculas altamente complejas, en condiciones que permiten realizar experimentos cuan-

titativos controlados. Desde que empecé este trabajo cada vez estoy más convencido de su importancia y sus grandes posibilidades experimentales.^[4]

La replicación del material genético del virus era el objeto de estudio de los primeros investigadores de la biología molecular. Delbrück fue ayudante de Lise Meitner en Berlín, y aunque trabajaba en radiaciones ionizantes mantuvo relaciones científicas con genetistas como Timofféef-Ressovsky e investigadores cerebrales como K. G. Zimmer. Fruto de estas incursiones interdisciplinarias fue el trabajo “*On the nature of Gene Mutation and Gene Structure*”, que tuvo una importancia notable en el inicio de la biología molecular.^[5] Delbrück se trasla-



José C. Illana

Catedrático de Física y Química. Inspector de Educación.
Doctor en Bioquímica. Universidad Complutense.
Dirección postal: C/ Ribadavia nº 6, 2º H, 28029
C-e: joscleirubeta@yahoo.es

Recibido: 08/05/2013. Aceptado: 15/09/2013.

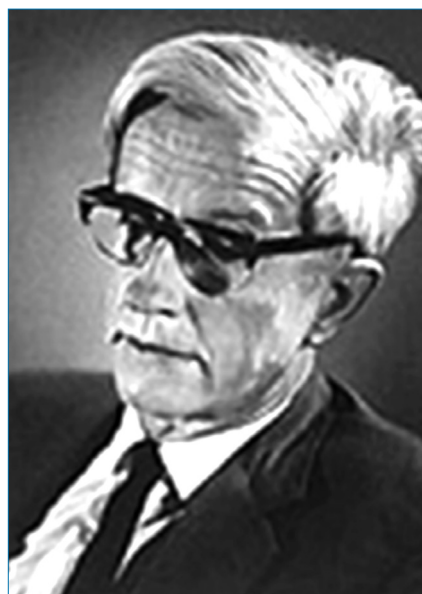


Figura 1. Delbrück

dó a USA en 1937 al Instituto Tecnológico de California (CALTECH) y trabajó con Salvador Luria en *infecciones mixtas por fagos replicantes en bacterias*.^[6]

James D. Watson inició sus primeros contactos con la genética y la biología molecular con Salvador Luria en la replicación de los fagos y en su reactivación con luz ultravioleta. Watson consideraba en 1950 lo siguiente:

[...] Es probable que causen daño parcial (al fago) agentes inactivadores diferentes de la luz ultravioleta. Más interesante aún es la posibilidad de que esos agentes originen diferentes tipos de daño, que bloqueen la reproducción de los virus en diferentes etapas. Por lo tanto podríamos conseguir reconstruir los pasos sucesivos de la interacción del virus con la célula anfitriona estudiando en qué etapas de la síntesis resulta bloqueada la multiplicación del fago inactivo. Para verificar estas posibilidades hemos empezado a estudiar bacteriófagos inactivados mediante rayos X.^[7]

EN BUSCA DE LA ESTRUCTURA DEL ADN

Watson (Figura 2) trabajó en Copenhague en el *metabolismo del ácido nucleico* con Herman Kalckar, científico danés que había asistido al "Phage Course". Su interés por la estructura química del ADN se inició en Nápoles cuando Maurice Wilkins le mostró una fotografía de difracción de la forma cristalina de este compuesto. Watson se trasladó posteriormente a Cambridge y se relacionó con Francis Crick y con el grupo de radiocristalógrafos ingleses del *Cavendish Laboratory*.

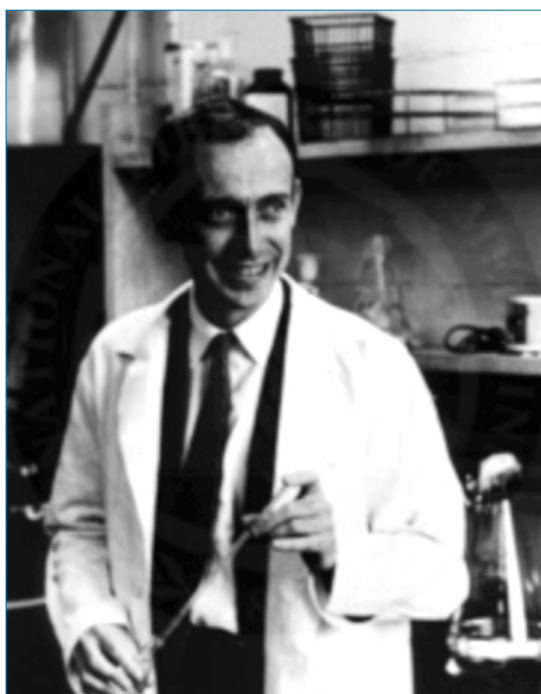


Figura 2. Watson



Figura 3. Wilkins

Francis Crick tenía una buena formación en física y cristalografía y había sido atraído a los estudios biológicos por la lectura del libro "What is Life" de Schrödinger. Cuando conoció a Watson coincidió con él en el interés por la estructura química de los genes. Crick consideraba que la búsqueda de la estructura del ADN era importante porque el ácido nucleico formaba parte del complejo nucleoproteínico considerado como el material hereditario. Watson buscaba razones biológicas más poderosas. Tenía el deseo de demostrar que el ADN era la sustancia hereditaria. En ese momento, Luria y otros destacados genetistas volvían a alejarse de esta idea fundamental.

Maurice Wilkins (Figura 3) trabajaba con John Randall y R. G. Gosling, en el King's College de Londres, en el estudio estructural de los cromosomas mediante técnicas de radiocristalografía. Sus últimas imágenes del ADN cristalino habían mejorado grandemente las primeras fotografías de Astbury y Bell. Wilkins escribió en 1968 al respecto lo siguiente:

[...] Por lo tanto era indudable que el ADN de hecho era cristalino. Hay que admitir que los patrones de Astbury no establecían esto de forma precisa, aunque ofrecían bastantes indicios. Hay varios ejemplos de puntos cristalinos superpuestos en un patrón difuso de material de origen biológico, debido a la impureza cristalina que a veces no necesita estar presente más que un porcentaje reducido.^[8]

Wilkins explicó el estado de su investigación sobre el ADN en la convención de la Estación Zoológica de Nápoles en 1951. Wilkins consideraba lo siguiente:

[...] Las propiedades de los cristales reflejan las propiedades de las moléculas que los componen. Por eso, cuando se pretende encontrar materia viva en estado cristalino, aumenta la posibilidad de interpretar desde el punto de vista molecular la estructura y los procesos

biológicos. Concretamente, el estudio de nucleoproteínas cristalinas en células vivas puede ser de gran ayuda para abordar más de cerca el problema de la estructura del gen.^[9]

En Nápoles, Wilkins había hablado de *empaquetamiento helicoidal de moléculas* en las fibras hidratadas de ADN. Watson pudo admirar las imágenes del ácido nucleico. En su libro *La Doble Hélice* escribió:

[...] Aunque los secos ademanes ingleses de Wilkins oscurecían cualquier entusiasmo, estas imágenes mostraban muchos más detalles que imágenes anteriores y, de hecho, podían ser consideradas procedentes de una sustancia cristalina. Antes de la exposición de Maurice me preocupaba la posibilidad de que el gen fuera fantásticamente irregular. Sin embargo, ahora sé que los genes pueden cristalizar, por eso deben tener una estructura regular que seguramente podrá resolverse de un modo directo.^[10]

Wilkins consideraba un *modelo helicoidal* de ADN de una sola hélice. A su laboratorio había llegado una nueva cristalografía, Rosalind Franklin (Figura 4). Siguió obteniendo más fotografías de difracción. Wilkins pidió a Stokes un desarrollo teórico de la difracción mediante el tratamiento matemático de las *transformadas de Fourier* con una aplicación gráfica de las *funciones de Bessel*. Se producía un desplazamiento de los máximos de difracción formando un ángulo con el meridiano, que podía presuponerse igual a la pendiente de la hélice. Wilkins le planteó a Franklin lo siguiente, en relación a estas consideraciones:

[...] Stokes ha aportado unas cuantas cosas buenas sobre las hélices y yo me he ocupado de dilatar y contraer más fibras. La sección transversal aumenta en un factor entre 3,7 y 4 al dilatarse al 100 por 100 de humedad. La longitud aumenta entre el 40 y el 30 por 100... La estructura podría ser una hélice única con un paso de 40°, uno por celdilla unitaria, estando marcadas las líneas de capa atómica por dicho paso de la hélice y los nucleótidos uniformemente espaciados a lo largo de la misma.^[11]

Wilkins visitó a Chargaff en USA y obtuvo ADN de *Escherichia coli*, de germen de trigo y de células de cerdo. Franklin había obtenido nuevas fotografías de una "estructura B" de ADN con una humedad del 90%. Los primeros cristales los habían denominado "estructura A". Sin embargo no lograron avanzar de forma significativa por las diferencias entre Wilkins y Franklin en la interpretación de los datos obtenidos.

Wilkins fue invitado a Cambridge por Crick (Figura 5) cuando volvió de USA. Consideraba en ese momento la posibilidad de una hélice triple para el ADN. Ese mismo planteamiento había sido propuesto por Pauling en California. Franklin había expuesto en un *Coloquio sobre la estructura del ácido nucleico* algunas conclusiones de sus últimos trabajos en noviembre de 1951. Entre ellas citamos la siguiente:



Figura 4. Franklin

[...] O bien la estructura es una gran hélice o bien una hélice más pequeña formada por varias cadenas. Los fosfatos se encuentran en la parte de fuera, de manera que los enlaces interhelicoidales fosfato-fosfato se ven rotos por el agua. En esta posición externa los fosfatos serían asequibles a las proteínas.^[12]

Los factores interpersonales fueron determinantes en la elucidación final de la estructura del ADN. La enemistad entre Wilkins y Franklin les impidió llegar a un planteamiento conjunto, que estuvieron muy cerca de conseguir. La amistad entre Crick y Wilkins también ayudó en las etapas intermedias del proceso. Pauling había postulado la hélice α en la estructura de las proteínas a partir de un conocimiento detallado de las características espaciales de los aminoácidos. Watson y Crick avanzaron en su desarrollo de una manera más errática.

El primer planteamiento de una triple hélice consideraba un esqueleto de azúcar-fosfato en el interior de la estructura. Las bases nitrogenadas debían quedar en la parte externa de la hélice. Las bases presentaban diversas modalidades tautoméricas interconvertibles entre sí por cambios de posición de un protón. Descartaron por ello inicialmente la posibilidad de uniones por enlaces de hidrógeno entre ellas. Crick explicó posteriormente su argumentación de esta manera:

[...] Sabíamos que la conexión de hidrógeno era importante en la hélice α . Me equivoqué del todo cuando supuse que cada base existía en más de una modalidad tautomérica. Aún cuando el tautómero menos correcto de cada base existiera únicamente entre el 5 y el 10 por 100 de los casos, esto dificultaría, pensaba yo, el empleo de los enlaces hidrógeno de las bases para construir una estructura regular. Por ello concluí, bastante

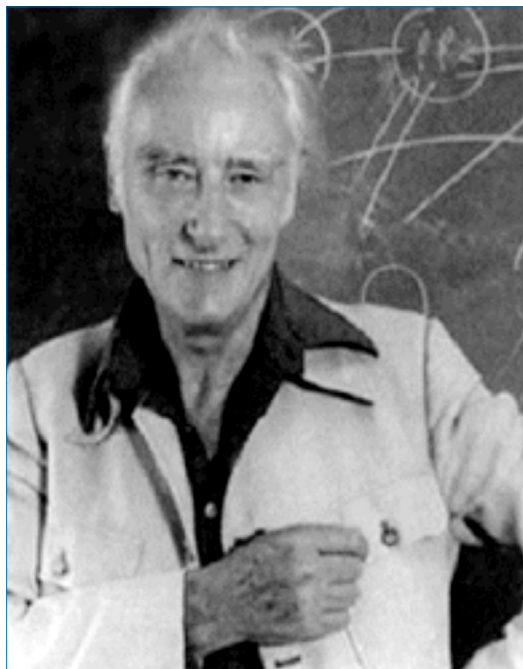


Figura 5. Crick

erróneamente, que los enlaces de hidrógeno desempeñaban un escaso papel, o ninguno, en la formación de la estructura.^[13]

El planteamiento posterior fue considerar que los grupos fosfato estaban en el exterior de la estructura interactuando por sus cargas negativas con las moléculas polares de agua y con los iones Na^+ de la forma salina del ácido nucleico. Crick supuso después que la causa de unión entre las hélices tendría que ser necesariamente la interacción entre las bases nitrogenadas, ya que no era posible entre los azúcares o los grupos fosfato. Consultó con John Griffith, (matemático de Cambridge), si era posible la interacción física de las bases. El resultado fue la comprobación de que la adenina atraía a la timina y la guanina a la citosina. Ello explicaba las *reglas de Chargaff* y la *autorreproducción complementaria*. Podría considerarse la posibilidad de unión por enlaces de hidrógeno de las bases nitrogenadas.

Pauling había publicado una *aproximación a la estructura del ácido nucleico* con un modelo de tres cadenas helicoidales. Watson, después de consultar a Wilkins, se decidió a probar con un modelo de doble hélice. Otra consideración importante obtenida de los datos cristalográficos sobre la simetría de los cristales era la necesidad de suponer que las dos cadenas del ácido nucleico eran antiparalelas, es decir que se unían con sentido opuesto. En relación al emparejamiento de las bases Watson escribió:

[...] El hecho de que la adenina siempre emparejara con la timina y la guanina con la citosina significaba que las secuencias de bases de las dos cadenas entrelazadas eran complementarias entre sí. Dada la secuencia de bases de una cadena, la de su compañera quedaba automáticamente determinada. Desde el punto de vista conceptual, era muy fácil visualizar cómo una sola cade-

na podía actuar como plantilla para la síntesis de otra cadena con la secuencia complementaria.^[14]

EL MODELO DE “DOBLE HÉLICE”

La estructura definitiva del modelo de *doble hélice* la explicaba Watson en una carta a Delbrück el día 12 de marzo de 1953, que decía:

[...] Las características más importantes de este modelo son las siguientes: 1) la estructura básica es helicoidal –consta de dos hélices que se entrecruzan–, el corazón de la hélice está ocupado por las bases purínicas y pirimidínicas –los grupos fosfato están en el exterior– y 2) las hélices no son idénticas, sino complementarias de manera que si una hélice contiene una base purínica la otra contiene una pirimidínica –esta característica es producto de nuestro intento de que los residuos sean equivalentes y, al mismo tiempo, de situar las bases purínicas y pirimidínicas en el centro. El apareamiento de las purinas con las pirimidinas es muy exacto y obedece a su deseo de formar enlaces de hidrógeno– la adenina formará pareja con la timina mientras que la guanina siempre lo hará con la citidina.^[15]

El modelo definitivo se publicó en la revista *Nature* el 25 de abril de 1953, junto a otros artículos de Wilkins, Stokes y Wilson, y de Franklin y Gosling, por especial acuerdo de todos ellos (Figura 6). Posteriormente, Watson y Crick escribieron un artículo de carácter más especulativo sobre las implicaciones genéticas de su estructura del ADN. Entre las líneas de su texto original conviene destacar lo siguiente:

[...] A pesar de estas incertidumbres pensamos que la estructura del ácido desoxirribonucleico que proponemos puede contribuir a resolver uno de los problemas biológicos fundamentales -la base molecular de la plantilla necesaria para la autorreproducción genética-. La hipótesis que sugerimos es que esta plantilla

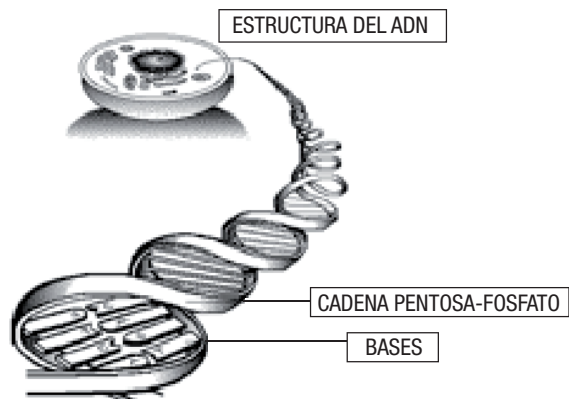


Figura 6. Estructura del ADN según Watson y Crick

es el patrón de bases formado por una cadena del ácido desoxirribonucleico y que el gen contiene un par complementario de estas plantillas.^[16]

Watson y Crick postularon un modelo preciso para la estructura tridimensional del ADN, en el que explicaban cómo la información genética podía replicarse con exactitud. El modelo proponía que dos cadenas o hebras de polinucleótidos se hallaban enrolladas en forma de hélice alrededor de un mismo eje, constituyendo así una doble hélice. El enrollamiento de ambas cadenas es tal que no pueden separarse sin desenrollarse.

Las bases se encuentran en el interior de la doble hélice, con sus planos paralelos entre sí, y perpendiculares al eje de la doble hélice. Las bases de una de las hebras están apareadas en los mismos planos con las bases de la otra hebra. El apareamiento de las bases es de tal forma que sólo encajan en la estructura determinados pares de bases que pueden ligarse entre sí, por enlaces de hidrógeno. Los pares permitidos son adenina-timina y guanina-citosina, precisamente los pares de bases que muestran equivalencia en el ADN.

El modelo de Watson y Crick (Figura 7) cumplió todas las condiciones para alcanzar la categoría de lo que T. S. Kuhn definió, en su libro *The structure of scientific revolutions*, como paradigma científico:

[...] Aquel logro, suficiente sin precedentes, capaz de atraer a un número de adictos alejándolos de otros modos de actividad científica competidora y, al mismo tiempo, suficientemente abierto para dejar toda clase de problemas que resolver al grupo redefinido de practicantes.^[17]

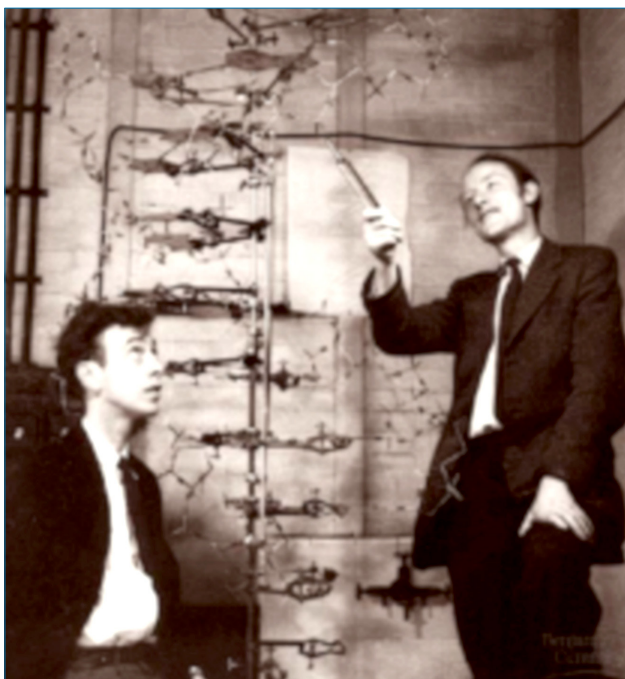


Figura 7. Watson y Crick con el modelo de doble hélice

El descubrimiento de la estructura del ADN constituye, sin duda, el acontecimiento más importante de la investigación biológica durante los últimos siglos. En primer lugar resalta la heterodoxia creativa y los geniales atajos experimentales que llevaron al resultado; con datos cristalográficos incompletos imaginaron un modelo estructural tan bello que tenía que ser real. Este elemento de realidad adivinada, de gran predicción, que no se había producido antes en la misma medida en toda la historia de la investigación biológica, fue una aportación tan extraordinaria que cambió los estudios sobre los procesos de los organismos vivos. Como dice François Jacob en *The Statue Within*:

[...] Esta estructura de doble hélice era de tal simplicidad, de tal belleza, y las ventajas biológicas manaban de ella con tal claridad y rigor que era difícil pensar que no fuese verdadera. Las dos cadenas, el alineamiento de las bases, la complementariedad de las dos secuencias, todo esto tenía la fuerza de lo necesario. Todo ello no podía ser falso... Fue el heraldo de un período excitante en biología.^[18]

Después del establecimiento del modelo de *doble hélice* por James Watson y Francis Crick, y con todas las aportaciones anteriores, y algunas posteriores, los ácidos nucleicos se consideran los constituyentes químicos de los genes y los que regulan la reproducción celular y la biosíntesis de proteínas. Los ácidos nucleicos son los portadores de la información genética celular. Hay dos tipos de ácidos nucleicos: el ácido desoxirribonucleico (ADN) y el ácido ribonucleico (ARN). Su diferencia química consiste en la existencia de desoxirribosa o ribosa, respectivamente. Ambos son azúcares de cinco carbonos, aunque el primero tiene un oxígeno menos en el carbono 2 de la estructura cíclica de estos compuestos. (Figura 8).

El ADN es el constituyente de los genes y por ello el portador de la información genética. Con la replicación del ADN en el proceso celular los caracteres genéticos pasan a las células descendientes que reproducen cadenas de ADN con una estructura complementaria de las originales, lo que permite la obtención de dobles cadenas de ADN en las células hijas, idénticas a las parentales de la célula original. Algunos virus utilizan ARN como material genético, aunque no es lo habitual. En estos casos el ARN forma una única cadena.

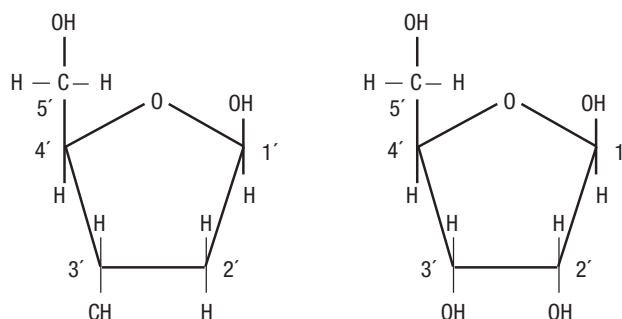


Figura 8. Estructura de la 2-desoxirribosa y la ribosa

El ARN tiene como misión fundamental ser intermediario en la biosíntesis de proteínas en dos procesos consecutivos. El primero es la transcripción del código genético (secuencia de bases nitrogenadas) del ADN celular a la secuencia de bases complementaria en el ARN formado a partir de la unión de nucleótidos sobre el molde de ADN. El segundo proceso es la traducción del código genético (secuencia de tres bases) del ADN, o su complementario en el ARN formado, a la secuencia de aminoácidos respectivos, en la biosíntesis de proteínas, como se indica a continuación.

AATTAGGGTGTCTGGCGGCTGTGGGATT... ADN
TTAATCCCACAGCCCGCCGACACCCTAA...

↓ TRANSCRIPCIÓN

AATTAGGGTGTCTGGCGGCTGTGGGATT... ARN

↓ TRADUCCIÓN

aa₁-aa₂-aa₃-aa₄-aa₅-aa₆-aa₇-aa₈-aa₉... PROTEÍNA

Las bases nitrogenadas se unen al carbono-1 (anomérico) del azúcar en ambos ácidos nucleicos. El ADN lleva adenina (A), guanina (G), timina (T) y citidina (C). El ARN lleva adenina (A), guanina (G), uracilo (U) y citidina (C). Las dos primeras bases tienen un doble anillo aromático y las dos últimas un solo anillo aromático (Figura 9). Las uniones de la cadena se hacen por enlaces fosfodiéster entre los azúcares (carbonos 3-5).

El modelo helicoidal de dos cadenas, según Watson y Crick corresponde a una de las variedades estructurales del ADN, la forma B-ADN. La forma de esta estructura, determinada más precisamente por difracción de rayos X, tiene pequeñas diferencias con la estructura teórica del modelo de Watson-Crick (curvamiento del eje de la hélice, ángulos de rotación distintos y desviación coplanar de algunas bases nitrogenadas).

Se conocen otras dos variedades estructurales de ADN: A-ADN y Z-ADN. La forma A-ADN es estable con menor contenido acuoso y está por ello más comprimida respecto al eje de la hélice. Las bases de la forma A-ADN están inclinadas respecto al eje de la hélice. Las formas

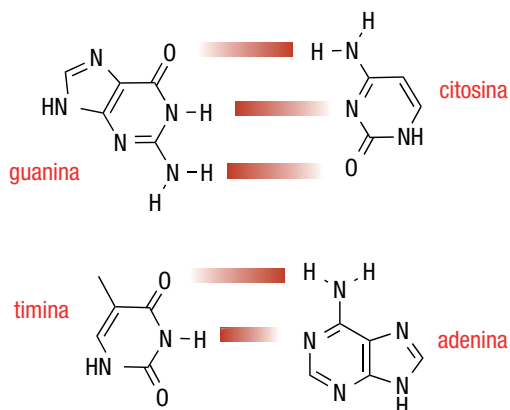


Figura 9. Estructura de Adenina, Guanina, Timina, y Citosina

A-ADN y B-ADN tienen un sentido de giro dextrógiro. La forma Z-ADN tiene el sentido de giro inverso a las formas anteriores (levógiro). Tiene además un diámetro de la fibra menor que las formas A y B. La mayor parte del ADN de los cromosomas se encuentra en la forma B-ADN, según el modelo de Watson-Crick.

PRUEBAS EXPERIMENTALES DEL MODELO DE "DOBLE HÉLICE"

Las pruebas experimentales del modelo de Watson-Crick requerían el acuerdo total de los datos obtenidos por difracción de rayos X con la estructura espacial propuesta. Wilkins utilizó los datos de difracción del ADN y el tratamiento matemático de Fourier en el análisis de esta estructura. Los primeros estudios experimentales realizados con monocristales de metilimina y metiladenina por Hoogstein no presuponian los apareamientos de bases A-T y G-C y con cristales de mononucleótidos no se mostraban emparejamientos de bases complementarias, sino afinidad entre bases iguales.^[19]

Donohue, uno de los colaboradores de Pauling, experto en cristalografía, proponía que otros posibles apareamientos de bases no podían quedar excluidos de los datos cristalográficos.^[20] La discrepancia entre ambas posiciones apareció en las columnas habituales de esta temática en las revistas *Science* y *Nature* durante algunos años.

Alexander Rich y sus colaboradores cristalizaron la sal sódica del fosfato dinucleósido de adenosina y uracilo y comprobaron que formaba una hélice antiparalela dextrógiro, con los esqueletos de ribosa-fosfato unidos mediante las bases adenina y uracilo por enlaces de hidrógeno, tal como habían propuesto Watson y Crick.^[21] Rosenberg denominó este hecho como:

[...] La primera estructura cristalina en la que pueden visualizarse los detalles atómicos de las hélices dobles de los ácidos nucleicos. Además esta es la primera estructura monocristalina que muestra el apareamiento de bases postulado por Watson y Crick entre la adenina y el uracilo.^[22]

Desde otros planteamientos Matthew Meselson y Franklin Sthal (Figura 10) determinaron experimentalmente que la replicación del ADN era semiconservativa, tal como proponían Watson y Crick en relación a la autorreproducción genética del ADN. Meselson y Sthal marcaron el ADN inicial con ¹⁵N para hacerlo más denso que el ADN ordinario, y observaron la distribución de ¹⁴N y ¹⁵N en las moléculas de ADN de la bacteria *Escherichia coli* después de varios ciclos de replicación. La distribución de las dos bandas de ambos ADN, por sedimentación en *equilibrio en gradiente de densidad*, en una disolución concentrada de cloruro de cesio permitió a Meselson y Sthal llegar a la conclusión siguiente:

[...] El nitrógeno de una molécula de ADN se divide en cantidades iguales entre dos subunidades físicamente



Figura 10. Meselson y Sthal

te continuas; que, en el proceso de duplicación, cada molécula hija recibe una de estas cantidades; y que las subunidades se mantienen a lo largo de muchas duplicaciones.^[23]

BIBLIOGRAFÍA

- [1] J. D. Bernal, *Biographical Mem. Fellows Roy. Soc.* **1963**, 9, pp. 1.
- [2] F. M. Portugal, J. S. Cohen, *Nature*. **1975**, 250, 791.
- [3] E. Schrödinger, *What is life? The Physical Aspect of the Living Cell*, Cambridge University Press. **1944**.
- [4] M. Delbrück, E. Ellis, *J. Gen. Physiol.* **1939**, 22, 365.
- [5] J. Cairns, et al. *Phage and the Origins of Molecular Biology*, Cold Spring Harbor Laboratory, **1966**.
- [6] M. Delbrück, *Adv. Enzymol.* **1942**, 2, 1.
- [7] J. Watson, *The Biological Properties of x-ray Inactivated Bacteriophage*, Bloomington. Indiana. (Tesis Doctoral), **1950**.
- [8] M. Wilkins, W. E. Seeds, *Nature*. **1949**, 164, 228.
- [9] M. Wilkins, *Publ. Stz. Zool. Napoli.* 23, 105. Simposio sobre la estructura submicroscopica del protoplasma. 22 a 25 de mayo de 1951.
- [10] J. Watson. *The Double Helix*. Atheneum, pp 33, **1968**.
- [11] M. Wilkins, *Carta a Rosalind Franklin*. Tomado de "El camino hacia la doble helice", de R. Olby. **1951**. Op. cit. pp 485.
- [12] R. Franklin, *Notas Coloquio noviembre sobre la estructura del ácido nucleico*. Tomado de "El camino hacia la doble helice". **1951**. Op. cit. pp 496.
- [13] F. Crick, J. Watson, *Proc. R. Soc.* **1954**, 223 A, 83.
- [14] J. Watson, *The Double Helix*, **1968**. Op cit. pp 195-196.
- [15] J. Watson, F. Crick. *Nature* **1953**, 171, 737.
- [16] J. Watson, F. Crick, *Nature* **1953**, 171, 964.
- [17] T. S. Kuhn, *The Structure of Scientific Revolutions*. Tomado de "La unidad de la vida". Op. cit. **1970**, pp 67-68.
- [18] F. Jacob, *The Statue Within*. Tomado de "La unidad de la vida". Op. cit. **1987**, pp 68.
- [19] K. Hoogstein, *Acta Crystallog.* **1959**, 12, 822.
- [20] J. Donohue, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **1956**, 42, 291.
- [21] A. Rich, N. Davidson, *Structural Chemistry and Molecular Biology*. W. H. Freeman and Co., San Francisco, **1968**.
- [22] J. M. Rosenberg et al. *Nature* **1973**, 243, 151.
- [23] M. Meselson, F. Sthal. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* **1958**, 44, 679.