

GENE Y MUTACION: UNA VISION HISTORICA

ANA BARAHONA ECHEVERRIA
Universidad Nacional Autónoma de México

RESUMEN

El problema de la variación ha sido, desde Darwin, uno de los más importantes en la historia de la Biología. Desde entonces, este problema ha sido debatido tanto en la teoría evolutiva como en la ciencia de la genética. El propósito de este trabajo es dar un panorama histórico del concepto de mutación durante el nacimiento y desarrollo de la genética. Como este concepto ha estado históricamente ligado al concepto de gene, se requiere el análisis del desarrollo de éste último para estudiar el concepto de mutación. En este trabajo se describe la relación histórica de ambos conceptos, gene y mutación, y se intenta mostrar cómo la noción de mutación ha evolucionado, desde que fue introducida como concepto en la biología por Hugo de Vries, hasta la noción de exón como unidad funcional y evolutiva.

ABSTRACT

The problem of variation has been, since Darwin, one of the most important ones in the history of biology. Since then, this problem has long been debated in evolution and in genetics. The aim of this paper is to give a brief account of the history of the concept of mutation during the rise and development of the science of genetics. As the concept of mutation has been historically linked to the concept of gene, an analysis of the development of the latter is necessary to further a study on the concept of mutation. This paper describes the historic bond between both concepts, gene and mutation, and it is intended to show how the notion of mutation has evolved, since it was introduced by Hugo de Vries, up to the notion of the exon as a functional and evolving unit.

Palabras clave: Evolución, Genética, Historiografía.

Introducción

El impacto de la genética en la teoría evolutiva ha sido de gran importancia, ya que ha permitido el estudio de la variación y su herencia. Entre los conceptos que la genética introdujo en la evolución cabe destacar el concepto de gene y con éste el concepto de mutación.

Existe una interdependencia en el desarrollo histórico de ambos conceptos. La preocupación fundamental de la genética ha sido la naturaleza del gene, su duplicación y mutación. En el desarrollo de la genética podemos notar que el gene ha sido definido de distintas formas, tales que han generado conceptos de mutación distintos y, más aún, se ha redefinido el término de mutación a connotaciones características ya se hable del gene como una unidad abstracta o como una secuencia de nucleótidos.

Este trabajo pretende mostrar cómo, durante el desarrollo de la genética, ambos conceptos están ligados y cómo nuevas definiciones de gene involucran nuevas definiciones de mutación.

Al hacer un análisis histórico de la genética, es notable que ambos conceptos han tenido un impacto fundamental en la teoría de la evolución en la actualidad.

En la primera sección de este trabajo se expone la introducción del mendelismo en la biología y la inauguración del concepto de mutación como formador de especies nuevas. En contraposición con lo anterior y haciendo valer el continuismo darwiniano, surgen también hipótesis acerca de la herencia poligénica y nacen también las teorías del gene y la cromosómica de la herencia que marcan el establecimiento de la genética clásica. Estas teorías explican cómo pueden superarse las principales objeciones a la teoría de la selección natural: la variación continua aparece a través de pequeños cambios en los genes (mutaciones) y su transmisión sigue las leyes de Mendel.

En las secciones dos y tres se trata el desarrollo de la teoría cromosómica de la herencia y de la teoría del gene y la mutación respectivamente. Aquí, la mutación es concebida como fuente de la diversidad orgánica y arma para atacar al gene y delimitar su tamaño, estructura y función. Es durante este período que surge la mutagénesis: se diseñan experimentos para probar la inducción de mutaciones por radiación. Este hecho ayudó al desarrollo de campos de radiación genética y proveyó, inmediatamente, oportunidades para el estudio de los genomas sin tener que esperar la aparición de mutaciones espontáneas poco frecuentes.

La mayor contribución de esta época es la idea de que los genes reproducen sus variaciones y de que el proceso de mutación altera la función del gene pero no su capacidad replicativa.

La última sección habla de la estructura del gene en la actualidad: estructura fina del gene y la explicación molecular de la mutación. Se introducen el uso de mutágenos químicos y el de los microorganismos. Son importantes las hipótesis acerca de la fisiología del gene en tanto que éste codifica para las proteínas. Al descubrirse que los genes están fragmentados se redefine la unidad funcional como aquella que codifica un dominio de una proteína. Se establece el modelo de la doble hélice que explica de una manera fisicoquímica la replicación y la mutación. También se redefine al gene partiendo de su fisiología, su recombinación y mutación como cistrón, recón y mutón, y se establecen los límites mínimos para cada uno de ellos.

El rápido desarrollo de la biología molecular y la evidencia cada vez mayor de los elementos móviles (secuencias de inserción, plasmidios, transposones, bacteriófagos, etc.) han hecho del gene y la mutación conceptos distintos de aquellos que maneja la genética clásica. La evidencia molecular y, antes de ésta, la evidencia surgida del uso de la radiación hacen de la mutación un evento cuya característica fundamental es su carencia de dirección adaptativa, es decir, la mutación es un evento fortuito en relación a la adaptación de los organismos.

I. Introducción de los conceptos de gene y de mutación

La introducción del término mutación a la biología se debe a Hugo de Vries, uno de los tres redescubridores de las leyes de Mendel. En 1901 publica el primer tomo de su *Teoría de la Mutación*¹. En este libro pretende demostrar que el mendelismo no explica la transformación de unas especies en otras, sino que éstas aparecen por grandes saltos, llamados mutaciones. De Vries detectó estas mutaciones trabajando con *Oenothera lamarckiana*, en la cual se veían ciertas discontinuidades entre las plantas parentales y su descendencia. Cada nueva unidad reflejaba un paso nuevo del proceso, separado completamente del anterior. Para de Vries, las especies aparecen de pronto, es decir, se originan de las especies parentales sin preparación alguna y sin formas transicionales. Esta teoría de la mutación, según de Vries, no sólo explica el origen de las especies, sino también los procesos de hibridación; hibridación y mutación que son, entonces, las causantes de la variación en la naturaleza.

De Vries equipara los sports de Darwin con la mutación y recalca que este fenómeno es aplicable a todos los seres vivos. Todos los caracteres de las plantas y los animales aparecen por mutación. Este tipo de variación no estará sujeto a la selección natural. En suma, llamó mutación al origen de una forma nueva a partir de otra.

El concepto de mutación tuvo tanta influencia en la genética como el mendelismo. La publicación, en 1901, del primer tomo de la *Teoría de la Mutación* tuvo gran impacto en la biología, ya que explicaba el problema general del mecanismo de la evolución, mientras que los principios mendelianos no tenían aún una aplicabilidad universal.

Fue precisamente la mutación, explicada como el modo por medio del cual se originan las especies, la que se opuso a la selección de variaciones pequeñas propuesta por el darwinismo y dió lugar a que muchos experimentalistas repitieran o extendieran los experimentos devresianos a otros campos.

Los efectos de esta aparición, tanto en genética teórica como experimental, son claros: el origen de nuevas características por pasos únicos hizo posible que la genética y la evolución fuesen tratadas experimentalmente.

El redescubrimiento de las leyes de Mendel planteó una herencia particulada, es decir, una herencia que sostiene que los elementos germinales transmiten los caracteres diferenciadores. En muchas teorías de la herencia fueron propuestas unidades particuladas que sirven de determinadores hereditarios. Tal es el caso de las unidades fisiológicas de Spencer, gémulas de Darwin, grupos micelares de Nägeli, pangenes de de Vries, plasomas de Weisner, idioplasma de Hertwig, bióforos de Weissmann, etc. Estas teorías, o se desarrollaron de las teorías de Darwin (pangénesis), o bien a partir de los estudios citológicos del núcleo y los cromosomas: ninguna a partir de descubrimientos experimentales.

Johannsen, en 1903², reemplazó la palabra de carácter unitario de estas teorías particuladas por la palabra gene, partiendo del término pangene de Darwin retomado por de Vries. Propuso este término para designar a aquellos elementos presentes en los gametos que determinan las diferentes características de los organismos. En 1909³ introduce tres conceptos básicos: fenotipo para el carácter de un organismo, genotipo para su base factorial y los factores mismos como genes.

Las introducción del concepto de gene, por una parte, pretende aclarar la confusión entre el carácter y la base de la transmisión, siendo el primero el

producto de la actividad del segundo. De este modo la mutación adquiere una connotación más precisa: cambios heredables en los genes. La mutación, así, se convierte en la fuente última de la variación. A través de la teoría cromosómica de la herencia y de la teoría del gene se puntualizará la mutación y su papel en la evolución.

Por otra parte planteó una pregunta importante: cuál es la base material de los factores mendelianos (genes). Sutton (1902) indicó la similitud entre la segregación mendeliana y la observación citológica de la separación de los cromosomas homólogos durante la mitosis y la meiosis, sugiriendo que los factores debían ser los cromosomas o parte de ellos. Esta idea tenía una objeción importante: se expresan más caracteres en el adulto que pares de cromosomas existentes. La resolución de esta problemática se debió principalmente al trabajo de Morgan y sus estudiantes en la Universidad de Columbia durante la segunda década del siglo XX.

II. La mutación en la genética y la evolución

T. H. Morgan y muchos otros investigadores de principios del siglo XX pensaban que la biología no podría convertirse en ciencia mientras no incorporara el método experimental a las investigaciones biológicas. De esta forma Morgan se ve positivamente influenciado por los trabajos del botánico Hugo de Vries, ya que éste último incorporaba la experimentación en los estudios evolutivos. Hacia 1908 su trabajo con *Drosophila melanogaster* tenía el propósito inicial de demostrar la existencia de las mutaciones devresianas en el reino animal⁴. Cuando sus resultados pudieron ser explicados por medio de la genética mendeliana, Morgan cambió sus puntos de vista con respecto a esta teoría y más tarde con respecto a la selección natural. Las objeciones principales de Morgan hacia la selección natural pueden resumirse en los siguientes puntos: la selección es sólo un factor negativo y no da cuenta de los estados incipientes de estructuras altamente especializadas; si la selección de variaciones individuales no produce nada nuevo, en tanto que no transgrede los límites de las especies, aun la selección más rigurosa no podrá explicar la evolución; pero si existen variaciones heredables dentro de los límites de las especies lineanas, que sean acumuladas en una misma dirección y capaces de establecerse, se habrá superado una de las críticas más serias a la selección natural.

Si bien Morgan inicialmente sólo considera heredables las mutaciones devresianas, más tarde también concibe que las variaciones individuales son el resultado de pequeñas diferencias heredables. A estas diferencias del tipo silvestre las llamó mutaciones.

Más explícitamente, Morgan afirma que los mutantes se consideran frecuentemente como aberraciones o modificaciones extremas, dando la impresión de que el cambio mutacional involucra una gran separación del tipo original (como los saltos de Darwin, los cuales siendo alteraciones grandes desarmonizan al individuo del ambiente al cual está adaptado). Sin embargo, los cambios pequeños son mutaciones tan características como los cambios gruesos.

Como las diferencias debidas a cambios en los genes son heredables, la evolución se dará a través de cambios en ellos.

El hecho de que Morgan conservase el término mutación para referirse a las variaciones mendelianas pequeñas confundió la variación de grandes pasos, que según de Vries formará una nueva especie, con la variación pequeña que ocurre dentro de los límites de una especie. Morgan incluyó dentro del término mutación variaciones de distintos tamaños y grados que se heredan de manera mendeliana.

Morgan, durante 1915⁵, cambia su actitud hacia la selección natural, abandonando la teoría mutacionista de de Vries como explicación evolutiva. Los trabajos de Davis [1912]⁶ sobre *Oenothera lamarckiana* demostraron que aquellas variaciones que de Vries tomó como mutaciones eran recombinaciones de caracteres híbridos de las formas parentales, las cuales estaban de acuerdo con las leyes mendelianas. Esto hizo que muchos investigadores, incluyendo a Morgan, abandonaran la posición devresiana. También el descubrimiento de *balance de letales* de Muller [1914]⁷ contribuyó a rechazar definitivamente la teoría de la mutación que sostenía de Vries. El concepto de balance de letales (genes letales que permanecen en una población porque su naturaleza letal solo es patente en condición homociga) estaba de acuerdo con la teoría mendeliana y parecía, entonces, que las variaciones devresianas no eran tan grandes como de Vries pensaba, es decir, no eran a nivel de especie. El decaimiento de la teoría mutacionista fue un factor importante en Morgan para tratar de explicar la selección natural en términos mendelianos.

Muchos descubrimientos durante estos años contribuyeron a la incorporación del mendelismo a la teoría cromosómica de la herencia. Algunos de ellos fueron el efecto de posición, interacción génica, recombinación y ligamiento, y sobre todo, la idea de genes modificadores. Estos genes modificadores son un conjunto de genes que pueden afectar el modo en el cual se expresan otro conjunto de genes, explicando la producción de pequeñas gradaciones entre los caracteres mendelianos. La fuerza de expresión de un carácter dependerá de los genes modificadores presentes. La selección podrá

incrementar o disminuir su número produciéndose infinidad de formas intermedias que explicarían la variación continua de la que Darwin hablaba.

La teoría cromosómica de la herencia, basándose en los estudios acerca de la ocurrencia de las mutaciones espontáneas estableció que: 1) éstas ocurren en un solo miembro del par de genes, no en ambos al mismo tiempo; 2) la misma mutación es recurrente, lo cual indica que el proceso es específico y ordenado; 3) también establece la existencia de la mutación reversa, la cual es importante como criterio genético para establecer que la mutación no significa la pérdida del gene original.

Con esta evidencia se derivó la idea de que las mutaciones son cambios en los genes. Según esta teoría, el tipo silvestre son genes específicos en los cromosomas, relativamente estables durante largos períodos de tiempo. Para Morgan no hay evidencia de que los genes aparezcan más que como cambios en la constitución de genes ya existentes, y no *de novo*. El número total de genes de cada especie permanecerá constante. Sin embargo, estos números podrán alterarse por poliploidía o por cambios en los cromosomas, incluyendo la unión de dos cromosomas para formar uno, o el rompimiento de uno para formar dos. Para Morgan estos últimos cambios también son mutaciones y se originan igual que las pequeñas variaciones individuales. El material de la evolución, queda claro, serán las mutaciones y las combinaciones nuevas de caracteres ya existentes.

Pero, ¿qué son los genes? Ya que se localizaron en los cromosomas, la pregunta siguiente era si tenían una base real, es decir, si eran cuerpos químicos o físicos. Es por esto que habría que estudiar al gene por sus efectos, ya que no era posible de manera química o física, enfoque que sería posible cuando Watson y Crick propusieron su modelo de la doble hélice en 1953⁸. Para Morgan, sin embargo, el problema será la transmisión del gene, no su fisiología.

Así, la teoría de la herencia que Morgan propone es la combinación de dos líneas: la teoría cromosómica, según la cual los cromosomas son los agentes transmisores hereditarios, y la teoría mendeliana, que postula factores hereditarios que se segregan y reúnen en la producción de huevos y espermias.

III. Gene y mutagénesis

Una de las grandes contribuciones de la genética morganiana consiste en la demostración de la existencia de los genes. Estos son pequeñas partículas ultramicroscópicas, cuyas influencias afectan a toda la célula, y tienen un papel muy importante en la determinación de las sustancias, estructuras y actividades celulares, afectando a todo el organismo.

La principal característica de los genes es su capacidad de autorreplicación y autopropropagación. A pesar de que el gene varía, es decir, que muta, no pierde esta capacidad; entonces, mutar es una característica general que tiene que ver con la estructura del gene mismo, y debe ser igual para todos ellos. Esto tendrá mucha importancia si se considera a los genes y su variación como las fuentes o raíces de la evolución orgánica.

H. J. Muller, alumno de Morgan, hizo un análisis conceptual de la mutación entre 1922 y 1932⁹. Originalmente, el término mutación incluía fenómenos distintos que no guardaban relación alguna entre ellos; se habían clasificado juntos sólo porque producían tipos nuevos de apariencia repentina (recombinación, distribución anormal de cromosomas y mutaciones puntuales). Sin embargo, según Muller, deberá considerarse mutación sólo a los cambios en el gene individual.

Esta definición estaría de acuerdo con el espíritu original, ya que la mutación era concebida como cambios fundamentales en la constitución hereditaria y nunca fueron intencionalmente incluidos casos de redistribución de las unidades hereditarias. En este sentido *mutación* será la alteración del gene, en donde alteración significa cambio transmisible o al menos propagable.

Para Muller la cuestión de si la evolución es, en última instancia, debida a la mutación deberá contestarse afirmativamente, ya que la definición de gene y de mutación designan al gene como unidad hereditaria y a la mutación como cambio transmisible que le ocurre. En este sentido el mecanismo de la evolución se transforma en el problema de la forma, frecuencia y modo de ocurrencia de las mutaciones.

Con este concepto de mutación, Muller indica las características principales acerca de la naturaleza del gene y de la mutación: el gene es estable; los genes tienen mutabilidad diferencial; algunos genes tienen una dirección preferencial en el tipo de mutación; la mutabilidad y dirección diferenciales pueden, a su vez, alterarse por mutación, es decir, la frecuencia de mutación está genéticamente controlada y puede alterarse por mutación en otros loci; la dominancia del gene normal es más completa que la expresada por los mutantes; muchas mutaciones tienen efectos deletéreos; las mutaciones con efectos pequeños son más frecuentes que las que producen efectos más marcados, es decir, son darwinianas en el sentido de que aquellos pequeños cambios que sean menos deletéreos podrán ser seleccionados.

Para Muller, estos puntos deberán servir para construir una nueva teoría de la mutación que guíe las investigaciones y que inevitablemente conduzca a la búsqueda de los agentes que las produzcan.

Con Muller se inaugura una nueva rama de la genética: la mutagénesis. El empieza sus estudios utilizando rayos X y encuentra que en las células germinales tratadas se producen mutaciones génicas verdaderas en una alta proporción. En sus experimentos obtuvo mutaciones letales, semi-letales, letales dominantes, mutaciones invisibles, etc. La tasa de mutación después de radiación es alta en proporción al número de genes y por esta razón resulta un arma perfecta para estudiar tanto el gene como la mutación.

Para Muller, las mutaciones producidas por rayos X son similares a las ocurridas de forma natural y su efecto no es único: produce, además de las mutaciones puntuales, translocaciones, deleciones e inversiones. Los resultados demostraron que el incremento en la dosis de rayos X causa un incremento proporcional en la producción de mutaciones.

En cuanto a las características de las mutaciones inducidas con respecto a las naturales Muller concluyó que: 1) la gran mayoría son letales, el resto reduce la viabilidad o la fertilidad; 2) hay más recesivas que dominantes; 3) muchos de los efectos visibles son relativamente inconspicuos; 4) aunque aparezcan nuevas mutaciones, éstas lo hacen con frecuencias de mutación repetidas; 5) se afectan todas las regiones de la cromatina, aunque las mutaciones inducidas se distribuyen en zonas preferenciales; 6) hay mutación reversa; 7) la regla son mutaciones puntuales.

El hecho de que existan zonas preferenciales de mutación llevó al descubrimiento, hecho por el mismo Muller, de zonas inertes y zonas activas, demostrando que las zonas inertes mutan con la misma frecuencia que las activas. Estas zonas inertes se asociaron con la heterocromatina cercana al núcleo y a los telómeros¹⁰.

En cuanto a las mutaciones puntuales, dos limitaciones conceptuales aparecieron al tratar de definirla. Primero, no existía una técnica que permitiera demostrar las modificaciones químicas del gene, y segundo, existía una clasificación ambigua de las mutaciones puntuales como aquellas que no eran ni reaarreglos pequeños ni gruesos. A partir de este conflicto se generó una confrontación entre los que defendían la existencia de las mutaciones genéticas y quienes creían en los reaarreglos por rompimiento. Con estas hipótesis pretendían dar una base para entender el significado evolutivo de las mutaciones.

Sólo en 1954¹¹ Stadler tratará de dar una definición del concepto de gene. Este concepto se derivaba de los estudios experimentales y teóricos con *Drosophila* y maíz y aún permanecía ambiguo. El término mutación genética depende del concepto de gene que se use. Para Stadler es claro que la

ambigüedad en el concepto de mutación se derivaba de la ambigüedad en el concepto de gene, es decir, cualquier definición de mutación presupone una definición de gene. Stadler propondría, entonces, una definición operativa de gene como el segmento más pequeño del hilo genético que se asocie consistentemente con la ocurrencia específica de un efecto fenotípico. La mutación genética sería entonces aquel cambio en el gene con efectos fenotípicos visibles y capaz de demostrar reversión. Es claro que, durante esta época, el concepto de gene y el de mutación asociado a él quedan poco claros.

IV. Estructura del gene y la mutación en la actualidad

El gene como unidad fisiológica

Hasta 1940 el gene era considerado como la unidad fundamental de la herencia, pero poco se sabía acerca de cómo funcionaba. Los genes sólo podían identificarse por mutaciones que producían aberraciones fenotípicas. Estas alteraciones variaban desde aberraciones simples (vgr. color de ojos), hasta cambios morfológicos drásticos.

Un estudio sistemático para asociar los genes con enzimas fue el de Beadle y Tatum durante la década de los treinta.

Beadle, inicialmente genetista de maíz, trabajó con Sturtevant en la pigmentación de los ojos en *Drosophila*. Encontró que el comportamiento de determinados trasplantes recíprocos de ciertos mutantes (vermilion, claret, cinnabar) estaban genéticamente relacionados. La hipótesis que explicaba este fenómeno fue la suposición de una cadena de reacciones, en donde un gene mutado produce la interrupción de la cadena (sustancia *ca* + sustancia *v* + sustancia *cn*), que produce la coloración normal de los ojos, siendo así apreciable fenotípicamente cualquier alteración en el proceso. A partir de esto Beadle y Tatum, en 1941¹², demostraron que cada paso en la cadena era responsabilidad de un gene individual. Estos genes actúan por medio de las enzimas catalizando los pasos. La especificidad de los genes corresponde a la especificidad de las enzimas habiendo una relación estrecha entre genes y enzimas.

Esta hipótesis de trabajo se llamó la hipótesis de un gene-una enzima. La idea original era revertir el procedimiento y buscar las mutaciones génicas que influyen las reacciones químicas conocidas.

Esta hipótesis propone que cada paso metabólico es catalizado por una enzima particular, cuyos productos son de la responsabilidad de un gene

simple. Una mutación en este gene puede abolir la actividad de la proteína de la cual es responsable. Ya que la mutación es un evento al azar en cuanto a la estructura del gene, existe una gran probabilidad de que dañe la función génica. Entonces, la mayoría de las mutaciones crean genes no-funcionales o producen la alteración de la función normal. Con esta hipótesis se explican las mutaciones recesivas. Estas representan una ausencia de función, ya que el gene mutado no produce la enzima deseada. La prueba directa de que los genes son los responsables de controlar la estructura de las proteínas no fue dada hasta 1957 por Ingram, quien demostró que el gene de la anemia falciforme producía un cambio en la composición de los aminoácidos de la hemoglobina. Con estos estudios se alteró la hipótesis original de un gene-una enzima por la más precisa de un gene-un polipéptido. Entonces, el gene sería aquella secuencia de nucleótidos que codifica para un polipéptido (o un dominio de una proteína), y la mutación aquel fenómeno que altera la expresión del gene, dando como resultado la alteración en la función de la proteína original.

Si antes el gene era concebido como carácter (de Vries, 1901), posteriormente como factor (Morgan, 1915), ahora era posible definirlo como aquella entidad capaz de producir una proteína con una función específica. El avance de la biología permitió caracterizar de manera más profunda la problemática fundamental del gene.

Estructura del gene

El descubrimiento de los alelos múltiples por Morgan planteó el problema del origen independiente de los alelos, y de si estos factores formaban una serie integrada en un segmento del cromosoma. East [1929]¹³ planteó que, efectivamente, estas series forman segmentos integrados de los cromosomas donde no ocurre la recombinación. Entonces, el origen de los alelos múltiples es el cambio en cada lugar en este fragmento lineal, produciéndose los distintos alelos de manera independiente.

Este problema fue abandonado temporalmente, ya que los experimentos no estaban planeados para detectar la recombinación entre alelos de una misma serie. A partir de un gran número de descubrimientos de *series alélicas* este problema fue retomado nuevamente.

En 1940, Oliver¹⁴ reportó una reversión al tipo silvestre asociada con la recombinación en *Drosophila melanogaster*. Esta reversión se puede deber a recombinación desigual o puede explicarse bajo la hipótesis de Bridges (1917), en la cual loci diferentes están involucrados en la expresión de dos mutantes. Esta hipótesis de la repetición de Bridges propuso la evolución de los genes por duplicaciones en tándem con su subsecuente evolución independiente.

Lewis, en 1941¹⁵, reportó otro caso con el mutante dominante Star y su alelo recesivo. Encontró dos tipos complementarios de recombinaciones y los fenotipos de los dos arreglos. Lewis llamó a estos alelos *seudoalelos de posición*, ya que existía una diferencia de acuerdo a los arreglos cis y trans. Es decir, los alelos son distinguibles por su expresión y por la diferencia cis-trans, interpretándose como si hubiesen aparecido por duplicación y estuviesen en proceso de cambio; su similitud de función estaría mantenida por un efecto de posición.

La presencia de una diferencia cis-trans indica la existencia de genes relacionados (seudoalelos de posición). En el caso trans cada cromosoma estará bloqueando el camino bioquímico en uno o dos de los puntos posibles, previniendo la formación de cierta sustancia. En el arreglo cis, un cromosoma con dos alelos normales complementa el paso bioquímico y por lo tanto ese arreglo tenderá a presentar un fenotipo más normal que el trans. Lewis, en su artículo de 1941, dijo:

"La posibilidad de que genes duplicados diverjan uno de otro en su funcionamiento en el sentido antes mencionado es atractiva, ya que ofrece un proceso conservativo y progresivo, el mismo que se requiere para una teoría general de la evolución génica. Más aún, el desarrollo de pasos secuenciales en este nivel sólo es posible en el caso de genes que alguna vez fueron idénticos".

Sin embargo Pontecorvo, en 1955¹⁶, hizo una distinción entre el efecto Lewis (seudoalelismo de posición) y la complementación. Para Pontecorvo, el gene debería ser definido en tres sentidos: unidad de recombinación, unidad de mutación y de acción fisiológica, y en este sentido debería explicarse el efecto Lewis como un fenómeno cis-trans que parecía ser un caso particular de la complementación.

Para Pontecorvo, la distinción entre efecto Lewis y complementación era consecuencia de la organización espacial, es decir, de la distancia. Sitios mutables muy cercanos dan origen a alelos con efecto Lewis, y sitios muy separados muestran complementación. Hay una relación entre la distancia de los alelos y su grado de complementación.

Uno de los dos modelos para analizar la estructura del gene era el que asumía la universalidad de la recombinación intragénica y la existencia de reacciones bioquímicas *milimicromolares* (modelo de Pontecorvo). Otro modelo asumía la duplicación ocasional de dos o más genes cuyas mutaciones independientes explicarían su relación bioquímica (modelo de Lewis). El modelo de Pontecorvo, sin embargo, sí predijo la probabilidad de recombinación entre alelos (recombinación intragénica), la cual fue rápidamente aceptada por los genetistas a partir de los descubrimientos de la estructura fina de virus y bacterias.

Estructura fina

En estudios bacterianos se obtienen mutaciones que pueden ser estudiadas bioquímicamente. Los primeros estudios en este campo datan de la década de los cincuenta en el organismo genéticamente mejor conocido hasta la fecha, *Escherichia coli*. Este organismo se utilizó para estudiar las mutaciones inducidas y las mutaciones espontáneas. El introducir estos microorganismos trajo, como una de sus consecuencias, utilizar el fenómeno de la *transducción* para determinar relaciones entre alelos o genes. La transducción es un fenómeno de recombinación genética en el cual la transferencia de material genético de una bacteria a otra es mediada por un plásmido, episoma o fago. Ya que los segmentos que se transfieren contienen varios loci o genes, las frecuencias de transducción pueden usarse para secuenciar los genes de dichos segmentos.

En genética bacteriana los mutantes que pierden la capacidad para crecer en un medio determinado, pero que de otra manera son viables en un medio suplementado, se llaman auxótrofos. En la prueba de transducción, los virus infectan bacterias normales y llevan fragmentos de los cromosomas del huésped. Estos fragmentos son parecidos a los fragmentos transformantes de ADN. Cuando se infectan cepas auxótrofas, las células son inmunes a los efectos del virus e incorporan el fragmento en su genoma. Si el fragmento lleva el alelo normal del mutante auxótrofo, la célula se transduce de manera análoga a la transformación. Estos auxótrofos pueden separarse por la prueba de transducción en grupos bien definidos. Entre miembros del mismo grupo, la transducción o no toma lugar o es menos frecuente que entre estos miembros y auxótrofos de otros grupos, o tipos silvestres. El reagrupamiento a través de la prueba de transducción coincide con los métodos bioquímicos que investigan bloqueos en las cadenas de reacción para la síntesis de compuestos requeridos por los auxótrofos. Esto quiere decir que los miembros de cada grupo son alélicos y la ocurrencia de la transducción dentro de un grupo se explica igual que la poca frecuencia de recombinación entre pseudoalelos. Esto ha sugerido que el locus se extiende sobre una sección del cromosoma y los cambios ocurridos en diferentes regiones de esta sección dan lugar a diferentes alelos. También indica que las regiones dentro de esta sección son separables y recombinables con regiones homólogas dentro de un locus de otro cromosoma.

Benzer, en 1955, estudiando la región rII del bacteriófago T4, planteó la pregunta de que hasta qué punto este nivel de resolución refleja los límites moleculares del material genético. El procedimiento de mapeo se basó en la frecuencia de recombinaciones de los diferentes cruces. A mayor distancia entre las mutaciones, mayor número de placas y, por extensión, se caracterizó, en

términos moleculares, el tamaño de las unidades de recombinación, mutación y función. En los primeros experimentos [BENZER, 1955]¹⁷ se calculó que el orden de magnitud de la unidad de recombinación era de una docena de pares de nucleótidos, y la unidad mutacional hasta de varios cientos de pares de nucleótidos.

Un análisis más detallado de la organización de la región rII de T4 describió que esta región está dividida en dos regiones (A y B) en donde los genes *clásicos* están ordenados en un arreglo dimensional en cromosomas divisibles por recombinación [BENZER, 1956]¹⁸, lo cual le permitió definir el gene de una manera novedosa: 1) recón, la unidad de recombinación más pequeña en un arreglo unidimensional que es intercambiable -pero no divisible- por recombinación genética; 2) mutón, la unidad de mutación entendida como el elemento más pequeño que, alterado, de lugar a una forma mutante del organismo; 3) cistrón, la unidad de función que podría definirse genéticamente, independientemente de la información bioquímica, por medio de la comparación cis-trans de Lewis, es decir, un grupo de mutantes no-complementarios que caigan dentro del segmento limitado del mapa genético.

De estos términos, el cistrón es el más ampliamente usado, especialmente en sistemas microbianos, como sinónimo de gene, pero con una clara connotación que hace referencia a la estructura fina encontrada por Benzer en la región rII del bacteriófago T4.

El gene, definido como unidad de función, de mutación y de recombinación, se convirtió, a partir de los estudios de Benzer sobre estructura fina, en obsoleto. La problemática acerca del fenómeno de la mutación era modificada, ya que entonces se sabía que un mutón podía involucrar sólo unos cuantos pares de bases de nucleótidos, lo cual sirvió de base para la explicación de las mutaciones puntuales.

Explicación molecular de la mutación

Muller reconoció y demostró la característica altamente localizada de las mutaciones puntuales y propuso que su origen era consecuencia de un cambio químico o físico del gene. El modelo de Watson y Crick (1953) y los estudios de Benzer (1955 y 56) sobre estructura fina en la región rII del bacteriófago T4 proveyeron las bases moleculares para las teorías de la mutagénesis que intentaba resolver la paradoja de Stadler (1954), según la cual, primero, la mutación es un cambio de naturaleza desconocida, y segundo, es imposible distinguir entre las mutaciones puntuales y los rearreglos.

El modelo de Watson y Crick sugirió que un par de nucleótidos, si era sustituido o sustraído (delección) causaría una mutación puntual. Benzer demostró que existe una relación entre la molécula de ADN y los sitios mutables en la estructura fina del mapa genético. Freese [1959]¹⁹ mapeó las mutaciones producidas en el fago T4 por una base análoga 5-bromouracil y observó que los agentes usados requerían que el ADN se replicase para producir una mutación. A partir de estas observaciones propuso dos clases diferentes de mutaciones: las transiciones y las transversiones.

Las transiciones las atribuyó a errores de apareamiento causantes del remplazo de una purina por otra purina o una pirimidina por otra semejante, causando una mutación *de sentido equivocado (missense)* para dar lugar a una proteína en la cual se ha sustituido un aminoácido. Las transversiones son el remplazo de una purina por una pirimidina y viceversa causadas por compuestos de acridinas. Sin embargo, Brenner y colaboradores [1958]²⁰ habían demostrado que las acridinas producían delecciones intragénicas minúsculas o duplicaciones no mayores de un par de nucleótidos. Brenner propuso que los compuestos de acridina se intercalan en la molécula de ADN causando una copia inexacta de la secuencia por la inserción de una o más bases. Este tipo de mutaciones se llamaron *mutaciones de corrimiento (frameshift mutations)* y los mutantes que aparecen tienen la característica de que no producen la proteína similar a la del tipo original o silvestre.

Existen dificultades en la interpretación de la actividad mutagénica de otros compuestos como ácido nítrico, formaldehído, o agentes alquilantes, cuyas reacciones con el ADN son complejas. Sin embargo, los estudios de Freese y Brenner sobre la explicación molecular de las mutaciones puntuales han servido de estímulo para la investigación de las mutaciones en organismos superiores.

Genes fragmentados

Uno de los descubrimientos más sobresalientes en la biología molecular es el hecho de que los genes están fragmentados en una serie de regiones alternantes que codifican para dominios discretos de las proteínas (exones) y regiones intercaladas (intrones), que no codifican pero que son transcritas junto con las anteriores formando una sola molécula de ARN. Por medio de un proceso llamado de *maduración del ARN* los intrones son removidos del ARN para generar un ARN mensajero funcional que contiene la información requerida para la síntesis proteica. De esta forma los exones son las unidades evolutivas y funcionales que codifican para las proteínas. Esta idea sugiere que muchos de los genes actuales pudieron haberse originado de la duplicación de un exón primordial. Entonces, la evolución de muchos multidominios de las

proteínas se puede explicar por duplicación de un exón original y la subsecuente divergencia del homólogo. Sin embargo, no todos los genes pueden tener funciones nuevas. Un gene duplicado puede acumular mutaciones deletéreas y convertirse en no funcional (seudogene). Un seudogene es un segmento de ADN que muestra gran homología con un gene funcional, pero que contiene defectos tales como mutaciones sin sentido o de corrimiento que evitan que se elabore el producto funcional (un péptido). La evidencia actual indica que los seudogenes tienen características que hacen pensar que éstos se derivan de la no-funcionalización de genes duplicados [LI, 1983]²¹. De esta manera los seudogenes aparecen como mutantes que generan codones de terminación entre los exones, cambios en el procesamiento del ARN o secuencias de interrupción que producen cambios en la lectura de las secuencias del ADN. Como la selección opera sobre exones funcionales y no sobre los seudogenes ni sobre los intrones, la unidad de selección es el exón. Este es el concepto actual de gene a nivel molecular.

Transposición

Otro descubrimiento importante durante el desarrollo de la biología molecular es la existencia de pequeños segmentos de material genético capaces de moverse en el genoma. Este descubrimiento fue hecho por Barbara McClintock, en 1947²², trabajando con maíz. Ella descubrió que las irregularidades en la coloración de las semillas de las mazorcas del maíz se debían a mutaciones ocurridas, ya fuera en época temprana o tardía, en el desarrollo. El número de estos mosaicos de coloración reflejaría la tasa a la cual estas mutaciones estarían ocurriendo. Cada semilla tenía su tasa característica de mutación, la cual no variaba durante el ciclo de vida. McClintock interpretó este hecho pensando que había algo que estaba controlando la tasa de mutación. Estas tasas regulares demostraban la regularidad del desarrollo ligada a eventos genéticos y no, como hasta entonces se pensaba, a eventos embriológicos, en donde la mutación tenía dos efectos directos. Primero, permitía seguir la historia de la diferenciación celular, y segundo, permitía establecer que estos patrones no se producían al azar.

La transposición o movimientos de pequeños segmentos de ADN es un proceso de dos pasos. La liberación de un elemento del cromosoma de su posición original (disociación) y su inserción en una nueva posición. Fue así como McClintock designó a la primera familia de elementos móviles (o controladores) como Familia Disociador-Activador (Ds-Ac).

El término genérico disociador se utilizó para designar elementos no autónomos y su nombre se derivó de las observaciones de que este elemento puede formar rompimientos o disociación en un sitio específico produciendo

dos fragmentos en el cromosoma. El nombre del elemento autónomo, activador, se derivó de su habilidad para activar el rompimiento en el sitio donde está el elemento disociador, el cual, a su vez, puede moverse o transponerse.

B. McClintock demostró que las mutaciones producidas por Ds alteran el nivel de expresión génica, la estructura del producto génico y el desarrollo de la expresión como consecuencia de cambios en la secuencia en y fuera de la unidad de transcripción en un locus. Estos estudios indican que las mutaciones por Ds alteran la estructura y expresión del locus de diversas formas: por ejemplo, pueden reducir el nivel de transcripción, mover los tiempos del desarrollo y alterar la estructura primaria de la unidad transcripcional. Esta capacidad de producir mutaciones se manifiesta en el maíz en el tamaño uniforme de los sectores somáticos provenientes de las células mutadas.

El problema que plantearon estos elementos móviles a la genética fue el siguiente: si los elementos genéticos están sujetos a regulación y control, incluyendo los rearrreglos y las mutaciones, qué significado tendría el gene como unidad hereditaria. Los elementos controladores, más tarde los transposones, secuencias de inserción, DNA extracromosomal o accesorio -plamidios y virus- y bacteriófagos demostraron la existencia de determinadores genéticos que cambian su posición en el genoma alterando la expresión del gene en el cual o junto al cual se han insertado.

En los últimos años se han llevado a cabo muchos estudios sobre transposición²³ y han emergido las similitudes de otros organismos, por ejemplo hongos y *Drosophila*, con el maíz.

Es ya aceptable la idea de que el genoma no es una entidad estática, sino una estructura compleja en estado de equilibrio dinámico en donde los elementos móviles, todos con una misma organización estructural, son una característica de los organismos superiores e inferiores.

Así, la transposición no resulta un fenómeno azaroso, ya que altera la naturaleza, frecuencia y desarrollo de manera heredable. Uno de los aspectos más interesantes de los elementos controladores es su habilidad para responder y controlar los parámetros del desarrollo. Pueden programar genes en tanto que la inserción de un elemento en un locus gobierna la expresión de ese locus dependiendo de las características del elemento y de la inserción misma. También, pueden inducir mutaciones que resulten en cambios complejos como macromutaciones, con implicaciones evolutivas inmediatas y en períodos de tiempo cortos.

Es superfluo decir que nuestro entendimiento es virtualmente nulo acerca de cómo está conectada la división celular con cualquier fenómeno regulatorio. Sin embargo, es ahora claro que tales conexiones existen y que los patrones bizarros en las semillas del maíz controlados por los elementos genéticos móviles son más bien casos típicos de desarrollo normal que procesos excepcionales.

Conclusiones

Desde el nacimiento de la genética se ha ido clarificando el concepto de gene. La localización del gene en el cromosoma y su modo de transmisión fueron los problemas inmediatos que atacaron los pioneros de la genética. Su modificación por mutación marcó una segunda fase, dando lugar al desarrollo de nuevas técnicas y al uso de nuevos organismos para explicar los problemas de estructura, tamaño y función. La fase molecular, con sus modelos de codificación y regulación ha hecho del gene un concepto preciso. Los resultados obtenidos por el conocimiento científico a través de la experimentación demostraron la posibilidad técnica de tratar viejos problemas y darles nuevas soluciones.

El gene ha sido considerado como una unidad indefinida, un carácter unitario, un factor, un punto abstracto en un mapa de recombinación, un segmento lineal en un cromosoma, una secuencia lineal que codifica para una proteína, un exón, un pseudoalelo, un gene móvil, una secuencia de nucleótidos que especifica un producto estructural o funcional, o como un cistrón en donde su estructura fina puede demostrarse.

A pesar de que se piensa que el gene es uno de los conceptos mejor establecidos en la genética moderna y en la biología molecular, es un concepto tal que tiene muchos significados, y estos significados no pueden aislarse de la teoría que les sirve de referente. El concepto de gene, desde su introducción por Johannsen en 1909, se desarrolló básicamente en dos direcciones: como entidad instrumental en el programa de investigación morganiano y como entidad corpuscular y material en el programa de investigación de Muller y la biología molecular. Ambos conceptos fueron competitivos y reflejaron la posición teórica de dos concepciones distintas basadas en la interpretación de los datos experimentales²⁴.

En suma, en la actualidad, el gene no sólo es una unidad material, sino que es, sencillamente, una unidad de función definida según las necesidades del investigador.

En cuanto al concepto de mutación se demostró que es ésta la fuente de la diversidad orgánica. El descubrimiento de los mutantes de *Drosophila*, muchos de los cuales son alelos de otros mutantes, fue la clave de las *mutaciones génicas*, el origen de nuevos alelos como la materia prima de la evolución. La pregunta acerca de si las mutaciones pueden ser deliberadamente inducidas y cuantificadas fue contestada afirmativamente. La intensa actividad en el estudio de la mutación trajo, como consecuencia, la creación de una nueva rama de la genética: la mutagénesis. Noción concebida como proceso sobre el cual se desconocen sus causas se convierte en teoría y en la explicación refinada de la evolución genética, confirmándose que la mutación es el proceso *responsable* de la generación de variantes nuevas en la evolución.

NOTAS

- 1 DE VRIES, H. (1901-1903) *Die Mutationstheorie*. Leipzig, Veit & Co.
- 2 JOHANNSEN, W. (1903) "Concerning Heredity in Populations and in Pure Lines". Trad. Harold Gall y Elga Putschar. En: *Selected Readings in Biology for Natural Sciences 3*. The Univ. of Chicago Press, pp. 172-215.
- 3 JOHANNSEN, W. (1909) *Elemente der Exakten Erblichkeitslehre*. Jena, G. Fisher.
- 4 Durante la primera década del siglo XX Morgan criticó las teorías prevaletentes acerca de la evolución y la herencia, a saber, la teoría mendeliana de la herencia, la teoría cromosómica de la determinación del sexo y la teoría de Darwin de la selección natural. Para un estudio detallado sobre Morgan y sus ideas véase:
 - ALLEN, G.E. (1985) "Thomas H. Morgan y el nacimiento de la Genética Moderna". *Mundo Científico*, 5(49), 726-733.
 - ALLEN, G.E. (1978) *Thomas Hunt Morgan. The man and the Science*. Princeton Univ. Press.
- 5 MORGAN, T.H.; STURTEVANT, A.H.; MULLER, H.J. y BRIDGES, C.B. (1915) *The Mechanism of Mendelian Heredity*. New York, Henry Holt & Co.
- 6 DAVIS, B.M. (1912) "Genetical Studies in *Oenothera liliiflora*". *American Naturalist*, 56(547), 377-427.
- 7 MULLER, H.J. (1914) "The Bearing of the Selection Experiments of Castle and Phillips on the Variability of Genes". *American Naturalist*, 48, 567-576.
- 8 WATSON, J. D. y CRICK, F. H. (1953) "Molecular Structure of Nucleic Acids". *Nature*, 171, 737-738.
- 9 MULLER, H. J. (1922) "Variation Due to Change in the Individual Gene". *American Naturalist*, 56, 32-50.
- MULLER, H. J. (1932) "Further Studies on the Nature and Causes of Gene Mutations". *Proceedings of the 6th. Int. Congress of Genetics*, 1, 213-255.
- 10 MULLER, H. J. y PROKOFYEVA, A. A. (1934) "The Individual Gene in Relation to the Chromomere and the Chromosome". *PNAS*, 21, 16-28.
- 11 STADLER, L. J. (1954) "The Gene". *Science*, 120, 811-819.

12 BEADLE, G. W. y TATUM, E. L. (1941) "Genetic Control of Biochemical Reactions in *Neurospora*". *PNAS*, 27, 499-506.

13 EAST, E. M. (1929) "The Concept of the Gene". *Proceedings of the Int. Congress of Plant Sci.*, 1, 889-895.

14 OLIVER, C. P. (1940) "A Reversion to Wild Type Associated with Crossing-over in *D. melanogaster*". *PNAS*, 26, 452-454.

15 LEWIS, E. B. (1941) "Another case of unequal crossing-over in *Drosophila melanogaster*". *PNAS*, 27, 31-34.

16 PONTECORVO, G. (1955) "Gene structure and action in relation to heterosis". *Proceedings of the Royal Society of Biology*, 144, 171-177.

17 BENZER, S. (1955) "Fine structure of a genetic region in bacteriophage". *PNAS*, 41, 862-863.

18 BENZER, S. (1956) "Genetic fine structure and its relation to the DNA molecule". *Brookhaven Symposia in Biology*, 8, 3-5.

19 FREESE, E. (1959) "On the molecular explanation of spontaneous and induced mutations". *Brookhaven Symposia in Biology*, 12, 63-75.

20 BRENNER, S. ; BENZER, S. y BARNETT, L. (1958). *Nature*, 182, 983.

21 LI, W.H. (1983) "Evolution of duplicate genes and pseudogenes". En: M. Nei y R.K. Kohn (eds.), *Evolution of genes and proteins*. Suderland, Mass, Sinover Ass. Inc.

22 McCLINTOCK, B. (1947) "Cytogenetic studies of Maize and *Neurospora*". *Carnegie Inst. Wash. Year book*, 46, 146-152.

McCLINTOCK, B. "Mutable loci in maize". *Carnegie Inst. Wash. Year Book*, 48, 142-154.

23 SHAPIRO, J. (1983) *Mobile Genetic Elements*. New York/London: Academic Press.

FEDOROFF, N. y BOTSTEIN, D. (eds.) (1992) *The Dynamic Genome. Barbara McClintock's Ideas in the Century of Genetics*. Cold Spring Harbor Lab. Press.

24 Un estudio detallado sobre este tema se puede ver en: FALK, R. (1986) "What is a gene?". *Stud. Hist. Phil. Sci.*, 12(2), 133-173.