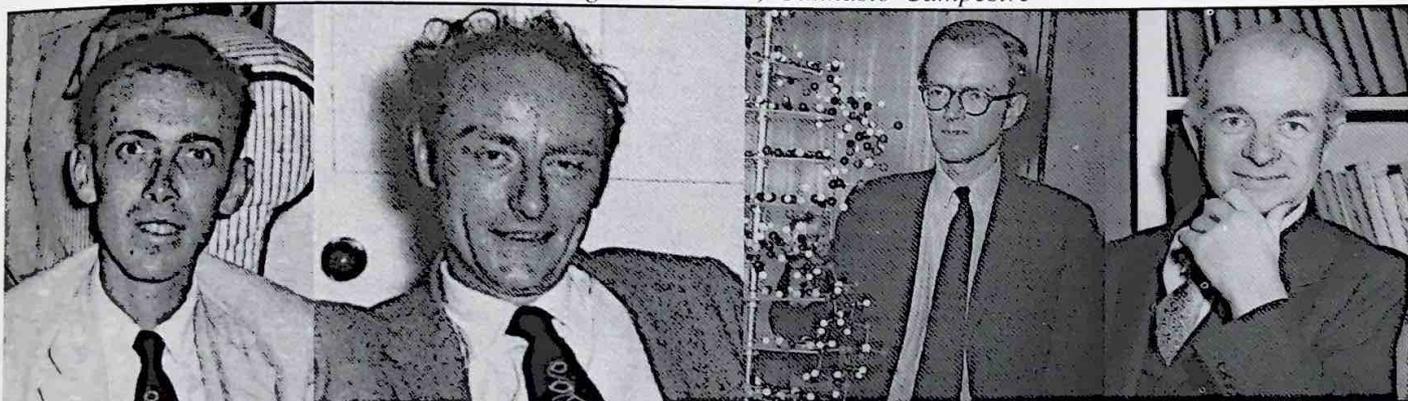


50 AÑOS DE LA DOBLE HÉLICE: EL DNA LA MOLÉCULA DE LA VIDA, UNA HISTORIA PARA RECORDAR

¿Si no hubieran sido Watson, Crick y Wilkins entonces quién?

Hernández J. y Bernal J.

Centro de Biología Molecular, Gimnasio Campestre



James Watson

Francis Crick

Maurice Wilkins

Linus Pauling

La publicación en 1953 del artículo en *Nature* por James Watson y Francis Crick sobre la estructura de la doble hélice del DNA (el material genético de la vida) marcó un momento grandioso en la historia científica moderna. Pocos descubrimientos individuales han llevado tan rápidamente a tantos avances fundamentales y en tal cantidad de campos de la ciencia. El trabajo de Watson y de Crick revolucionó la biología moderna, de hecho, muchos científicos concuerdan en que este descubrimiento particular es el logro intelectual más importante del siglo XX.

La historia de este descubrimiento tiene como principales protagonistas a Watson y Crick, dos investigadores decididos a darlo todo por descubrir la molécula del DNA, demasiado jóvenes e inexpertos en ese entonces para ser tomados en serio. Sin embargo, el jefe del Laboratorio de Cavendish (Inglaterra) Sir William Bragg apostó por estos dos neófitos científicos y los apoyó en todo. De otra parte, Linus Pauling, un científico de reconocida trayectoria de Caltech el principal químico estructural del mundo y el académico más dotado para solucionar la estructura del DNA. Guillermo Astbury quien en 1947

ya había publicado la radiografía de los ácidos nucleicos. Maurice Wilkins y Rosalind Franklin, una pareja estudiosa de la difracción de rayos X en proteínas y ácidos nucleicos, que produjeron una impresionante fotografía del DNA demostrando su forma helicoidal. Edwin Chargaff un químico habilidoso que había determinado la relación entre las bases nitrogenadas y su posible apareamiento, la Adenina con Timina y la Adenina con la Citosina, conocimiento sin el cual la carrera para dilucidar la estructura del DNA hubiera sido un fracaso. Edward Ronwin quien propuso una fórmula molecular para los ácidos nucleicos.

Antes de 1953 muy pocos investigadores se interesaron por la molécula de DNA, no pasaban de 10 científicos. Estaba claro desde los años 20 que los genes estaban situados en los cromosomas, los cuales estaban compuestos de proteínas y DNA. La mayoría de los investigadores creían fuertemente que eran las proteínas las que conformaban los genes, ya que estas, estaban constituidas por 20 diferentes bloques, llamados aminoácidos, por lo que podrían contener la variabilidad necesaria para construir la vida. En

cambio, los ácidos nucleicos estaban conformados apenas por cuatro bloques denominados nucleótidos, lo que llevó a pensar a unos y a otros como absurda la idea de que estos bloques constituyeran el material de la herencia.

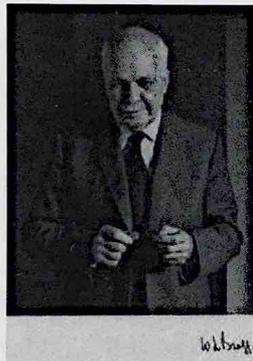
Linus Pauling, creía que los genes estaban compuestos de proteína. Él y Robert Corey, su principal auxiliar en Caltech, habían invertido muchos años estableciendo claramente la estructura molecular de los aminoácidos, y en 1951 ya habían publicado siete artículos que detallaban las estructuras de las proteínas a nivel molecular.

Al finalizar el trabajo con proteínas en 1951, Pauling que había menospreciado la importancia de los ácidos nucleicos, quiso retomar el trabajo sobre DNA. Entonces, le pidió a Maurice Wilkins (King's College en Londres) que le dejara ver las fotos de rayos X del DNA hechas en su laboratorio por Rosalind Franklin y R.G. Gosling; Pero Wilkins le dijo que esas fotos iban a ser publicadas y no se las cedió. Pauling utilizó como único recurso las fotos de rayos X realizadas por William Astbury y publicadas en 1947.

Este trabajo de Astbury no había logrado obtener ninguna foto con detalle que diera pistas sobre la forma y las medidas de las moléculas. Por esto Pauling se desmotivó y dejó el trabajo. Sin embargo, lo retomó al encontrar una publicación de Edward Ronwin en noviembre de 1951. Ronwin trabajaba en el Departamento de Bioquímica de la Escuela de Medicina en la Universidad de California en Berkeley y había publicado el artículo "A phospho-tri-anhydride formula for the Nucleic Acids". En la estructura propuesta Ronwin colocó los fosfatos debajo del centro de la molécula, con las bases planas pegándose hacia fuera. El análisis de Pauling concluyó que esa estructura no era posible y comentó *«el proponente de esta fórmula extraordinaria para los ácidos nucleicos no ha encontrado ninguna evidencia significativa para dilucidarla. La unión de cinco átomos de oxígeno sobre cada átomo de fósforo es una característica estructural tan inverosímil que la fórmula propuesta del tri-fosfato anhídrido para los ácidos nucleicos no merece ninguna consideración seria.»*



ERWIN CHARGAFF 1930



SIR WILLIAM BRAGG



ROSALIND FRANKLIN 1920 1958

Pauling no era el único que pensaba de la estructura del DNA. En ese mismo año (1951), James Watson había llegado a Europa con una beca postdoctoral e interés por profundizar en la bioquímica del metabolismo microbiano y los ácidos nucleicos. Asistiendo a un Congreso en Nápoles, pudo escuchar a Maurice Wilkins, quien reveló en su presentación algunas fotos de la radiografía del DNA. Esto condujo a Watson a aprender sobre cristalografía, porque al parecer no entendía las radiografías del DNA, lo que lo llevó

con John Kendrew al estudio de la difracción de rayos X de proteínas en los laboratorios de Cavendish. Después de lo cual corriendo con mucha suerte le asignaron una oficina con un estudiante graduado de Max Perutz que tenía excelentes conocimientos en cristalografía. Su nombre era Francis Crick. Después de algunos días y de conformar una buena pareja de trabajo Watson y Crick enfocaron su interés en el DNA. Convinieron rápidamente en un método de ataque. Como Watson lo propuso, «imitarían a Linus Pauling y lo retarían en su propio juego.»

Watson y Crick procuran solucionar la estructura del DNA a finales de 1951 y propusieron un modelo de tres filamentos de la molécula unidos alrededor de una hélice, con los grupos fosfatos en la base. Sin embargo, las evidencias teóricas rápidamente los hizo caer en cuenta de que su modelo era equivocado. Por lo que intentaron convencer a Wilkins y a Franklin que colaboraran con ellos para trabajar en el modelo de la molécula, pero Wilkins no aceptó.

Cuando las noticias del fracaso del trabajo desarrollado por Watson y Crick fueron conocidas por William Bragg, Director del Laboratorio, inmediatamente envió a Crick de nuevo al estudio de las proteínas y a Watson a estudiar a nivel cristalográfico el virus del mosaico del tabaco. Pero Watson no paró de pensar en los ácidos nucleicos. Para la Navidad de 1951, Crick le regaló a Watson una copia del libro de Linus Pauling, "The Nature of the Chemical Bond", libro que aclararía la mente de este joven y emprendedor científico.

En 1952 Wilkins no estaba interesado en un modelo, y Franklin no estaba de acuerdo con publicar antes de estar segura de tener la estructura correcta. En cambio en el King's College Bruce Fraser, candidato de Ph.D., había discutido el trabajo del DNA. Con Franklin y para él era importante formular un modelo basado en lo que había sido descubierto hasta el momento. Esto, dió lugar a una estructura elemental que predijo correctamente la forma helicoidal, las bases apiladas, y los fosfatos en el exterior. También predijo 3 cadenas, una característica de la que Wilkins y Rosalind estuvieron convencidos. Este fue el mismo error de Linus Pauling un año más tarde.

A finales de 1951 Pauling recibió una invitación de la Royal Society de Londres para tratar preguntas que los investigadores británicos tenían sobre las estructuras de las proteínas descifradas por él y Corey. La reunión se realizaría el 1 mayo de 1952. Pauling no pudo viajar ya que la señora Ruth B. Shipley, jefe de la División de Inmigración del Departamento de Estado le rechazó su petición de visa para el viaje. Pauling sabía que los pasaportes se habían convertido en una arma política y el era tildado de comunista

(sin serlo). Pauling era opositor de las bombas nucleares. Por no realizar este viaje, se dice que Pauling perdió la oportunidad de conocer las últimas fotos del DNA obtenidas por Franklin.

Esto tuvo grandes repercusiones políticas internacionales. Los científicos franceses produjeron tal alboroto contra la política de los Estados Unidos por la negación de la visa a Pauling, que para ayudarlo lo nombraron «Presidente Honorario» del Congreso Internacional de Bioquímica a celebrarse a mediados de Julio de 1952 en París. Su llegada a este Congreso causó sensación.

Una semana después del congreso, Pauling asistió al Coloquio Internacional de Fagos en la vieja abadía de Royaumont fuera de París. En esta reunión pudo escuchar a Alfred Hershey describir un experimento ingenioso sobre si era el DNA o las proteínas el material genético. Hershey y su compañera de trabajo Martha Chase, habían trabajado con el fago Lamda marcando radiactivamente el DNA y las proteínas del virus bacteriano separadamente. En este experimento, ellos demostraban que era el DNA, y no las proteínas, el material genético de los fagos. Pauling, concluyó que él se había equivocado y que estaba en la pista incorrecta. Ahora era claro que la molécula de la herencia era el DNA.

Sin embargo, Pauling que luego viajó a Londres, con la misma oportunidad diez semanas después, no prestó ninguna atención al DNA. Las proteínas seguían siendo para él el asunto de mayor importancia. Durante un mes en Inglaterra, pensó tan poco en el DNA que no hizo ningún esfuerzo por visitar el King's College para ver las fotografías cada vez más valiosas de la radiografía del DNA de Wilkins y Franklin. Él asumió que Wilkins no deseaba todavía compartir sus datos.

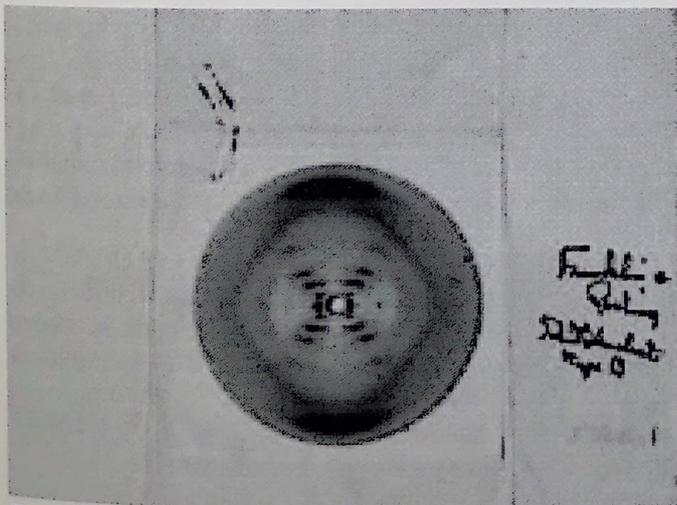


Figura 1. Estructura B del DNA, foto 51, tomada por Rosalind E. Franklin y R.G. Gosling. Mayo 2 de 1952. Artículo Publicado en Nature 23 Abril de 1953.

Fue un error histórico. Franklin tenía nuevas fotos, la 51 y 52, que demostraban claramente la doble simetría. Si Pauling hubiera visto éstas fotos, es muy probable que hubiera propuesto un modelo mucho antes que el de Watson y Crick.

Teniendo toda esa información en su mente Pauling regresó a Caltech en septiembre de 1952, y continuó trabajando casi exclusivamente en las proteínas de lo cual dijo: «*el campo de la estructura de las proteínas ahora está en una etapa muy emocionante*».

En noviembre del mismo año, tres meses después de volver de Inglaterra, Pauling finalmente retomó seriamente el trabajo sobre la estructura del DNA. El estímulo fue un seminario de Biología en Caltech dictado por Robley Williams, profesor de la Universidad de Berkeley, que había hecho un trabajo asombroso con un microscopio electrónico. Con una técnica complicada él podía conseguir imágenes de estructuras biológicas increíblemente pequeñas. Pauling estaba deslumbrado. Una de las fotos de Williams demostró detalles tridimensionales de la molécula del DNA, pero no eran claros. Pauling observó y analizó seriamente las fotos y propuso la idea de que el DNA era probablemente una hélice. Pauling estaba convencido de que las bases debían estar en el exterior de la molécula y los fosfatos en el interior. Sin embargo, él no contaba con una imagen clara de la radiografía del DNA, y ningún dato estructural serio sobre los tamaños y los ángulos exactos de la unión de los nucleótidos, la unión entre base-azúcar y fosfatos del DNA.

En menos de una semana Pauling escribió: «yo pienso que ahora hemos encontrado la estructura molecular completa de los ácidos nucleicos» (noviembre de 1952). Robert Corey, realizó los cálculos de las posiciones atómicas propuestas por Pauling, y encontró que los tamaños no coincidían. A principios de diciembre Pauling analizó la idea de que el sodio se unía fuertemente a la molécula del DNA, en la cual los iones positivos de sodio se unían a los fosfatos negativos. Pauling tuvo que admitir que los fosfatos no se encontraban hacia el interior de la molécula sino que estaban hacia fuera. Una semana antes de la Navidad en 1952, él escribió al químico orgánico Alex Todd en Cambridge: «*Nosotros al parecer hemos descubierto la estructura de los ácidos nucleicos. No tengo prácticamente ninguna duda. La estructura realmente es hermosa*». Y envió el artículo «A Proposed Structure for the Nucleic Acids», al Proceedings of the National Academy of Sciences. (Figura 2.)

Pero Pauling sabía que este modelo todavía tenía imperfecciones. Al leer este artículo Maurice Wilkins comentó: «*Es muy simple la idea que él pudo tener acerca de esto*» — Pauling apenas lo intentó. Él no pudo real-

NATURE

Macmillan & Co. Ltd., St. Martin's Street, London, W.C.2.

We trust you will be interested in
the attached cutting from our issue
for 23 FEB 1953

U R E February 21, 1953 VOL. 171

Structure of the Nucleic Acids

We have formulated a structure for the nucleic acids which is compatible with the main features of the X-ray diagram and with the general principles of molecular structure, and which accounts satisfactorily for some of the chemical properties of the substances. The structure involves three intertwined helical polynucleotide chains. Each chain, which is formed by phosphate di-ester groups and linking β -D-ribofuranose or β -D-deoxyribofuranose residues with 3', 5' linkages, has approximately twenty-four nucleotide residues in seven turns of the helix. The helixes have the sense of a right-handed screw. The phosphate groups are closely packed about the axis of the molecule, with the pentose residues surrounding them, and the purine and pyrimidine groups projecting radially, their planes being approximately perpendicular to the molecular axis. The operation that converts one residue to the next residue in the polynucleotide chain is rotation by about 105° and translation by 3.4 Å.

A detailed description of the structure is appearing in the February 1953 issue of the *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*.

LINUS PAULING
ROBERT B. COREY

Gates and Crellin Laboratories of Chemistry,
California Institute of Technology,
Pasadena 4, California.
Jan. 2.

Figura 2. Artículo de la estructura propuesta de los ácidos nucleicos por Linus Pauling y Robert Corey. Febrero de 1953.

mente haber pensado cinco minutos en el problema. Él no puede haber mirado cuidadosamente los detalles de lo que publicaron, del apareamiento de las moléculas; casi todos los detalles son simplemente incorrectos.»

Crick y Watson estaban abatidos por las noticias de que Pauling habría solucionado la molécula del DNA. Después de leer y analizar el modelo propuesto por Pauling y Corey Watson comentó: *«inmediatamente después de leer el artículo sentí que no tenían la razón. No podía establecer claramente el error, sin embargo, miré las ilustraciones por varios minutos. Entonces vi que los grupos fosfato en el modelo de Linus no estaban ionizados, y que cada grupo contenía un átomo de hidrógeno, y de esta forma no tenían ninguna carga neta. El ácido nucleico de Pauling en un sentido no era un ácido... un gigante como él se había olvidado de la química elemental de la universidad.»*(Figura 3).

Sin embargo, siguieron trabajando, ellos conocían a Erwin Chargaff, un bioquímico Austriaco que había utilizado la cromatografía para analizar la composición química de los ácidos nucleicos. Chargaff había determinado la relación entre las bases en el DNA. Cuestión que también había compartido con Pauling desde 1947. Este conocimiento diferenció el análisis de Watson y Crick, ya que esto los llevó a pensar que los grupos fosfatos estaban hacia el exterior de la molécula; y las bases en el interior. Comenzaron a pensar en las hélices en las cuales las bases purínicas (Adenina y Guanina) y las pirimidinas (Citosina y Timina) se alinearan de alguna manera.

Watson y Crick comenzaron a idear modelos. Jerry Donohue les colaboró, era un graduado con Suma Cum Laude de Dartmouth, que había trabajado y estudiado con Pauling en Caltech, por 10 años y tenía excelentes conocimientos de química estructural. Los enlaces puente de hidrógeno eran su especialidad y él sabía que Watson y Crick eran principiantes en este tema. Les dijo que habían estado jugando con las estructuras incorrectas para la guanina y la timina. Donohue fijó la molécula hacia la derecha, cambiando los átomos de hidrógeno esenciales para la unión entrecruzada de las bases, destruyendo de esta manera el "modelo bonito" de Watson y empujándolos hacia la solución correcta.

Con las correcciones de Donohue, Watson y Crick observaron los enlaces de hidrógeno formados correctamente entre los pares de bases específicos: adenina con timina y guanina con citosina. Bases en el centro, fosfatos hacia afuera. Dos filamentos. Emparejando bases grande con una base pequeña no solamente alisan el contorno de la estructura sino que también están de acuerdo con los resultados experimentales de Chargaff. Más que hermosa, la estructura tenía significado. Cada cadena era una imagen complementaria de la otra; si se separaban, cada cadena podía actuar como molde para formar una nueva hélice doble idéntica a la original. Esto proporcionó inmediatamente ideas sobre la réplica, lo que no tenía el modelo de Pauling.

El 12 de marzo de 1953 Watson envió a Max Delbrück una carta ilustrada con los bosquejos, discutiendo su nuevo modelo. Él le advirtió que no le mostrara a Pauling hasta que estuvieran más seguros de sus resultados, pero Delbrück, hizo caso omiso de esta petición y le pasó a Pauling el manuscrito. Él vio inmediatamente que la estructura de Cavendish era química y biológicamente razonable, lo cautivó la simplicidad de la complementariedad de las bases. De esta forma se había llegado a dilucidar la molécula de la vida, la doble hélice: el DNA.

would be attached to one of the two inner oxygen atoms, and presumably would be involved in hydrogen-bond formation with another of the inner oxygen atoms, of an adjoining phosphate group. The length of the O—H...O bond should be close to that observed in potassium dihydrogen phosphate, 2.55 Å. The angle P—O—H should be approximately the tetrahedral angle. It is found that the spacing 3.4 Å is not compatible with this bond angle, if the hydrogen bonds are formed between one phosphate group

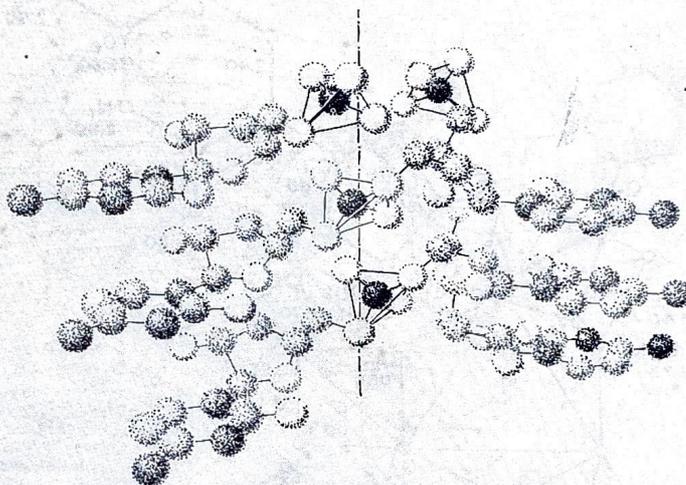


FIGURE 4

Perspective drawing of a portion of the nucleic acid structure, showing the phosphate tetrahedra near the axis of the molecule, the β -D-ribofuranose rings connecting the tetrahedra into chains, and the attached purine and pyrimidine rings (represented as purine rings in this drawing). The molecule is inverted with respect to the coordinates given in table 1.

and a group in the layer above or below it. Accordingly we assume that hydrogen bonds are formed between the oxygen atoms of the phosphate groups in the same basal plane, along outer edges of the octahedron in figure 1.

The maximum distance between the oxygen atoms 3' and 5' of a ribofuranose or deoxyribofuranose residue permitted by the accepted structural parameters (C—C = 1.54 Å, C—O = 2.43 Å, bond angles tetrahedral, with the minimum distortion required by the five-membered ring, one atom of

Figura 3.

Estructura molecular de los ácidos nucleicos propuesta por Linus Pauling y Robert Corey. Febrero de 1953.

Bibliografía

Este artículo se escribió basado en la historia del descubrimiento del DNA, con todas las cartas, fechas, documentos y biografías encontradas en la home page: «LINUX pauling and the race for DNA» de la Universidad del Estado de Oregon.
 «<http://osulibrary.orst.edu/specialcollections/coll/pauling/dna>»