

UN VIAJE POR LA QUÍMICA Y LA MEDICINA MOLECULAR

Palabras clave: Estructura del ARNm, Splicing; mecanismos y defectos genéticos, neurodegeneración, cooperación científica internacional.

Key words: Structure of mRNA, Splicing; mechanisms and genetic defects, neuro degeneration, international scientific cooperation.

■ Francisco E. Baralle

International Center for Genetic Engineering and
Biotechnology
Copernicus Visiting Professor Universidad de
Ferrara

baralle@icgeb.org

Algunos años atrás escribí un pequeño capítulo sobre mi experiencia formativa en Argentina durante los años 60 y mi subsiguiente trayectoria profesional para los volúmenes celebrativos de los 100 años de la Asociación Química Argentina. Hago esta mención para disculparme anticipadamente ya que será difícil no repetir algunos pasajes de esos capítulos, siendo que lo que estoy contando aquí es la misma experiencia de vida.

Nací en el barrio de Pompeya, hijo de un obrero del Frigorífico Wilson y un ama de casa. Junto a otras dos familias habitaban una casa clásica para la época con piezas que daban todas a un patio y tenían en común la cocina y el baño. Algunos años después mi padre fue promovido a vendedor y nos mudamos a Vicente López donde tenía su clientela de carniceros. Allí cursé mi escuela primaria y luego fui a la escuela secundaria. La inicié en la Escuela Industrial N° 3 de Barracas; en el tercer año me decidí a cambiar de la orientación Mecánica a Química y pasé a la Escuela Industrial Otto Krause (EIOK) donde completé mis estudios de Técnico Químico en 1961.

Al terminar la escuela secundaria, mi preferencia era en temas más relacionados con Biología y Medicina. En aquella época el ingreso a esta última Facultad era posible sólo si se había cursado la Escuela Nacional y no la Escuela Técnica. Hice una tímida prueba de dar las equivalencias entre las dos escuelas pero finalmente me decidí a intentar la Química. Así, durante mi último año en el EIOK hice el curso de ingreso a la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FCEN) de la Universidad de Buenos Aires (UBA) donde me recibí de Licenciado en Ciencias Químicas en 1966. Allí mismo hice el doctorado y como graduado de la UBA pude inscribirme a Medicina. Mi período de investigador novato y estudiante de Medicina fue muy intenso, productivo y fue la plataforma para toda mi futura carrera profesional.

Este pequeño resumen de los inicios de mi formación, que expandiré más adelante, tiene el objetivo de enfatizar las oportunidades que da un país como Argentina. He vivido más de la mitad de mi vida en el extranjero y he visto las dificultades de los padres para educar a sus hijos, esta experiencia hace que la gratitud

que siento hacia el país que me formó no tenga límites.

Tuve mucha suerte porque encontré grandes oportunidades y grandes maestros, lo cual en investigación es de suma importancia, ellos son fundamentales, no tanto para enseñarnos cómo usar un aparato o una pipeta, sino para darnos el criterio y el conocimiento para reconocer un buen resultado y para tener el sentido común para elegir la mejor estrategia, de reconocer un artefacto y de dudar de todo. Parece simple pero elegir la estrategias de investigación, el diseño de los experimentos, los controles adecuados e interpretar correctamente el resultado requiere un largo entrenamiento, una buena dosis de desconfianza en uno mismo y una cultura científica muy amplia que vaya más allá del campo de investigación específico y se extienda a otras áreas del conocimiento.

El trabajar en ciencia ofrece una oportunidad de vida estupenda. Es muy importante no perder de vista que la ciencia y la investigación deben ser dirigidas por la curiosidad intelectual y no por la ganancia comercial. Los mayores descubrimien-

tos que luego tuvieron aplicaciones prácticas fueron frutos de la curiosidad y no de un plan premeditado que ya conocía el punto final. Cuando las políticas científicas de subsidios limitan o evalúan la ciencia con lo que se percibe como "útil" limitan severamente el horizonte del investigador y el conocimiento no puede ir más allá de lo que podemos imaginarnos en ese momento. Esto no está bien, hay que buscar siempre la sorpresa, lo inimaginable y luego darle una explicación racional.

■ LA UNIVERSIDAD COMO ESTUDIANTE

Como mencioné previamente, en 1961 y en coincidencia con mi último año en la EIOK me inscribí en el curso de ingreso de la FCEN. Como me interesaban muchísimo los sistemas biológicos y sus bases bioquímicas más que la patología, me convencí que la química está conectada a todas las ciencias, los límites difusos con la Física y la Biología, me convencieron que era un camino que dejaba todas las puertas abiertas.

Me encontré durante el Curso de Ingreso con un ambiente cultural-científico muy afín y todos mis años en la FCEN, incluido el Doctorado, fueron excitantes y felices. El Curso de Ingreso era un filtro bastante estrecho, en mi grupo de problemas al inicio éramos alrededor de 70-80 y terminamos menos de 20. El Curso de Ingreso a Química era para mí extremadamente simple, más fácil que lo que veíamos en la EIOK, allí pude reafirmar mi gran interés por la Biología ya que en la escuela se enseñaba poquísimo, durante esos 4 meses se me presentó en una forma panorámica que me resultó fascinante.

En el primer año de los cursos de matemática (Análisis, Álgebra), a pe-

sar de ser una materia no muy de mi agrado, abrieron mi mente iniciándome al método científico, a la observación, generación de hipótesis para explicar lo observado, diseños experimentales que sirvieran para probar, refinar o descartar esas hipótesis y recomenzar con nuevos experimentos. Aprendí allí a no perder demasiado tiempo en generar teorías que un experimento podía confirmar o desechar inmediatamente.

En 1962 la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, en la vieja sede de Perú 222, hoy parte de la histórica Manzana de las Luces, era un hervidero de entusiasmo y actividades sea científicas que políticas. En el último quinquenio las Instituciones universitarias habían recuperado su vigor, los estatutos autónomos estaban en plena vigencia y se respiraba el deseo de crecer en excelencia y el entusiasmo por la ciencia.

Mi carrera tuvo una serie de pausas y aceleraciones debido a algunos problemas con las materias matemáticas y a distracciones, como en el periodo en que la otra pasión de mi vida, mi actual esposa Clara, comenzó a ocupar gran parte de mi tiempo, ya que la conocí menos de un año antes en el que con su familia retornaría a Italia.

A partir del tercer año retomé un ritmo acelerado y completé la licenciatura en los cinco años reglamentarios, incluso agregando cursos adicionales de corte más bien biológico, como Introducción a la Zoología y a la Botánica, que ampliaron aún más mi panorama y aumentaron mi entusiasmo por la Biología.

En ese periodo era muy instructivo observar y, dentro de ciertos límites, estar involucrado en el juego político en los centros de estudiantes. Se sentía que se participaba en el gobierno colegiado de la universi-

dad, era una sensación agradable y nueva después del verticalismo de la escuela primaria y secundaria.

Faltando solo un año de materias a cursar, se interpuso la intervención de la Universidad, efectuada por el gobierno de Onganía en 1966.

Como todos recordarán y a los más jóvenes les habrá sido contado, fue un evento traumático, aunque si se lo compara a lo que sucedió 10 años más tarde parecería "inocuo". La segunda mitad del 1966 transcurrió llena de incerteza, un número considerable de docentes dejaron la Universidad, muchas cátedras quedaron vacías y el impulso intelectual dado por los dirigentes de la Universidad sufrió una violenta interrupción. Con gran dificultad completé los cursos que me faltaban, Análisis Biológicos, Microbiología, Anatomía y Fisiología. Mis últimos exámenes de Anatomía y Microbiología fueron los únicos dos sobresalientes de mi carrera, lo que muestra otra vez mi afinidad por la Biología y la Bioquímica.

En este punto, de golpe, todo se acabó. Tenía la idea de dedicarme a hacer Análisis Clínicos pero sin mucho entusiasmo; recuerdo todavía estar sentado en el patio de la vieja sede de Perú 222 reflexionando sobre qué hacer cuando me encontré con mi compañero de los últimos tres años, Carlos Mammarella. Él estaba iniciando su Tesis Doctoral con el Dr. Jorge Comín en el Departamento de Química Orgánica que estaba dirigido por el Dr. Venancio Deulofeu, y ante mi falta de decisión y convicción sobre qué hacer con mi futuro, me sugirió hablar con el Dr. Eduardo Gros recién retornado de los EEUU que trabajaba en biosíntesis de alcaloides (algo "bio", para darme el gusto) y estaba buscando su primer becario para el doctorado.

■ LA TESIS DOCTORAL

Eduardo Gros me aceptó como tesista con la condición de que ganara el concurso de ayudante de primera en el Departamento de Química Orgánica. En el ínterin, durante el verano de 1967, comencé a trabajar en su laboratorio en experimentos preliminares del eventual proyecto de Tesis. Tenía bastantes antecedentes docentes porque desde mi segundo año había sido Ayudante del Curso de Ingreso y Ayudante de Segunda en Química General e Inorgánica. El concurso también incluía un tema que debía ser expuesto oralmente en el pizarrón sin apuntes y sin transparencias o diapositivas (¡imposible para mí hoy día!). La presentación oral fue muy bien y obtuve el puesto. Mi primer banco de trabajo fue en el Laboratorio

llamado cariñosamente “la perrera”, porque era un lugar de cohabitación de tesis bajo varios supervisores. Pronto descubrí que el “bio” de biosíntesis en mi proyecto era un prefijo lejano y que tenía que lidiar con Química Orgánica pura; por fortuna el trabajo en Orgánica me gustó inmediatamente. Preparé un alcaloide, la cuscohigrina, que había sido aislada de la planta *Atropa Belladonna* y cuya biosíntesis queríamos estudiar, puse a punto métodos de purificación y degradación para aislar los distintos carbonos de la molécula, operación que debía ser repetida cuando el precursor (acetato) marcado con C^{14} estuviera disponible. La inyección de acetato de sodio marcado en los C1 o C2 con C^{14} nos permitió identificar el origen de los distintos carbonos de la cuscohigrina. (Figura 1)

Las inyecciones del radioisótopo fueron un momento crucial con aspectos folklóricos como el vivero para las plantas que era una pequeña terraza dentro del intrincado edificio de Perú 222, que daba a los techos del Nacional Buenos Aires y usábamos a veces los doctorandos para los almuerzos-picnic. Las sucesivas inyecciones se hicieron en contextos más profesionales, en los campos del INTA de Castelar, cuyas autoridades tenían una óptima relación con el Dr. Gros.

En esos meses nuestro grupo se mudó a laboratorios ubicados en un edificio más nuevo sobre el patio central, mejor preparado para trabajar con isotopos radioactivos.

Mi trabajo de tesis se desarrolló en forma lineal y los resultados fue-



Figura 1: Grupo del Dr. Eduardo Gervasio Gros (1967/68). De izquierda a derecha F. Baralle, E. Gruñeiro, I. Mastronardi, E. Gros, A. Porto y A. Colonna.

ron publicados en cuatro artículos en las revistas *Phytochemistry*, *Journal of the Chemical Society* y *Anales de la Asociación Química Argentina*. La escritura de la tesis es el periodo que menos disfruté, en aquella época no existían computadoras y todo era hecho a mano o máquina de escribir, cada corrección implicaba rehacer las páginas y siendo su primer tesista, Gros no hacía concesiones y exigía perfección. Eventualmente defendí mi tesis en diciembre de 1969.

Todo mi periodo de doctorado fue hecho sin becas de CONICET u otras organizaciones; el sueldo lo ganaba como la mayor parte de mis compañeros en Orgánica, a través del cargo docente, dedicación exclusiva primero como ayudante de primera y luego como Jefe de Trabajos Prácticos. La docencia compren-

día supervisión de los trabajos prácticos y ocupaba 12 horas semanales.

Para tener más tiempo para la investigación tomé los turnos del viernes a la noche (18-22 hs) y sábado a la tarde y noche (14-18 y 18-22 hs). Los estudiantes que elegían estos turnos lo hacían casi siempre por razones laborales y frecuentemente eran muy motivados. Los sábados la ordenanza de turno compraba sándwiches que nos tenían de pie las ocho horas entre vapores de bromo o cloroformo, que nos llevábamos en el aliento a casa.

Fue un periodo de trabajo intenso y formativo del cual tengo un recuerdo muy agradable. Luego de mi tesis, durante el último año en el laboratorio de Gros participé en un proyecto que él había iniciado sobre biosíntesis de esteroides car-

diotónicos en el veneno secretado por las glándulas del sapo *Bufo paracnemis*. El coleccionar especies fue otra experiencia inusual para un químico orgánico. Junto a Gros y un becario de la OEA fuimos en una desvencijada vieja combi Volkswagen perteneciente al Departamento de Geología hasta el Chaco. En los alrededores de Resistencia, en yuyales cerca de cursos de agua cazamos sapos con nuestras manos y los trajimos a Bs.As. Los alimentábamos introduciendo pedazos de carne o hígado en la boca teniéndola abierta hasta que tragaban. El veneno era obtenido apretando las glándulas dorsales con los dedos, lo que provocaba la emisión, bastante violenta, del material que dirigíamos hacia una placa de vidrio. Una vez seco se rascaba el veneno del vidrio y se obtenía un polvo cristalino, que usábamos como material inicial en



Figura 2: El Dr. Israel Algranati y F. Baralle frente al retrato de Luis Leloir durante un ICGEB meeting efectuado en el Instituto Leloir en Noviembre 2015.

la purificación de los esteroides.

El proceso fue repetido luego de la inyección con precursores marcados con radioisótopos y el trabajo resultante fue publicado en el *Journal of Steroid Biochemistry*. Este trabajo me introdujo a los esteroides, moléculas fascinantes a las que acabo de volver, como contaré al final, con un trabajo apenas iniciado sobre hormonas esteroides, RNA *spllicing* y fertilidad.

La formación como Químico fue fundamental en mi carrera y me dio la necesaria habilidad y amplitud de objetivos para comunicarme con otras disciplinas. Mi tiempo en la FCEN fue crucial y me inculcó una adicción al aprendizaje constante y a la investigación.

■ INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOQUÍMICAS

Hacia fines de mi tesis seguía fuertemente interesado en la Bioquímica y la Medicina. Como Licenciado en Ciencias Químicas ahora sí pude inscribirme a Medicina, además convencí a Gros en la utilidad de hacer el curso de Química Biológica II en el Instituto de Investigaciones Bioquímicas (IIB) Fundación Campomar (hoy Instituto Leloir) para aprender técnicas aplicables al proyecto de cultivo de tejidos mencionado previamente. El curso *full-time* consistía de una parte general de un mes y luego tres meses de trabajo dentro de uno de los grupos. Tuve la fortuna de incorporarme al grupo del Dr. Israel D. Algranati (Figura 2), el único que estaba trabajando en biología molecular, particularmente en el ciclo del ribosoma en bacterias. El IIB y su ambiente fueron otra revelación para mí. Trabajé con gran entusiasmo e intensidad, corriendo gradientes de sacarosa para aislar ribosomas y polisomas y estudiar el efecto de antibióticos en su for-

mación/disociación. El trabajo en el curso me dio la satisfacción de ser incluido entre los autores de la publicación sobre el tema hecho por el grupo de Algranati. El trabajo en el IIB era intenso y todos se sentían participantes en todos los proyectos, se discutía en todo momento, se interaccionaba con todos los grupos y se aprendían los trucos de la bioquímica. De todas maneras, fue mi característica de químico orgánico la que me ofreció oportunidades únicas. El ser un colaborador directo del Dr. Leloir era, como se pueden imaginar, la ambición de todos mis compañeros de grupo, sin embargo yo realmente tenía más interés en los temas de Biología Molecular y los ribosomas. Sorprendentemente me ofrecieron incorporarme al grupo del "Dire", como llamaban a Leloir, porque en esa época estaban aislando el Dolicol Fosfato Glucosa y necesitaban un químico orgánico que se ocupara de la parte estructural del lípido y sobre todo de su purificación a partir de hígado de cerdo (que se compraba en el Mercado de Belgrano). La oferta era muy tentadora y como Algranati además tenía el laboratorio lleno acepté en principio y tuve el privilegio de trabajar por unos meses en ese grupo. No obstante que el trabajo me gustaba mucho, por diversas razones sobre todo económicas y familiares unos pocos meses después, acepté un trabajo en el Instituto Nacional de Farmacología y Bromatología (INFYB) que además me daba la oportunidad de pasar un año en Roma donde mi esposa tenía su familia.

■ INSTITUTO NACIONAL DE FARMACOLOGÍA Y BROMATOLOGÍA

El INFYB se puede considerar el embrión de la actual ANMAT, instituido en los años 60 por el Dr. Arturo Oñativía, Ministro de Salud Pública del Gobierno de Illia y continuado por el Ministro de Bienestar

Social del gobierno militar, Francisco Manrique. En ese momento el Director era el Dr. Marcelo Vernengo, quien conocía del Departamento de Química Orgánica. Vernengo con su característica energía y entusiasmo estaba tratando de establecer un verdadero control de la industria farmacéutica y crear al mismo tiempo grupos de investigación básica en el campo químico farmacológico. Nuestro grupo consistía en tres personas que continuamos trabajos de investigación sobre el aislamiento y estudio de la estructura de alcaloides de distintas plantas argentinas. También, como colaboradores secundarios, teníamos que leer *dossiers* de fármacos para su autorización, un proceso que con mucha eficiencia era llevada a cabo por un grupo de excelentes químicos, farmacólogos y médicos que Vernengo había reclutado. Recuerdo que en esa época inicial Vernengo no contenía su entusiasmo y participaba en la apertura de los empaques con los que llegaban los nuevos equipos usando martillo y tijeras. Pocos meses después tuve la oportunidad de pasar un año en el *Istituto Superiore di Sanità* (ISS) en Roma. En cierta forma el equivalente del Instituto Nacional de Farmacología y Bromatología, dirigido en la época por un Químico Orgánico, también del área de productos naturales el Dr. G. Marini Bettolo. Él había visitado nuestro departamento unos meses antes. Con la ayuda del INFYB obtuve una beca del Instituto Ítalo Latinoamericano para ir a Roma al ISS. Este centro muy importante en Italia y encargado de varias actividades de control depende del Ministerio de Salud Pública italiano. En la década del 60 tuvo un periodo brillante de investigación científica con dos premios nobeles trabajando en él, Daniel Bovet (farmacología) y Ernst Boris Chain (penicilina). Desafortunadamente a fines de la década del 60 la agitación política causó un éxodo de científicos (Chain a

Londres y Bovet en un Instituto italiano dependiente del Consejo de Investigaciones Científicas, CNR). Mi periodo en el ISS desde el punto de vista científico fue un sonoro fracaso; y mejor no cuento desde el punto de vista anímico, cuando cuatro meses más tarde fue anunciado el Premio Nobel al Dr. Leloir, mientras yo estaba en Roma debatiéndome en proyectos de mínimo interés y buscando continuamente lugares alternativos donde desarrollar una investigación sólida y donde pudiese transferir mi beca. En ese periodo visité pidiendo hospitalidad varios institutos en Roma, uno de ellos era el dirigido por Daniele Bovet que había puesto a punto sistemas de estudio del comportamiento de los ratones bajo condiciones y tratamientos distintos. Con la asesoría de otro argentino, Miguel Lucero, quien contaba con una beca del CONICET y con el Dr. Bovet, nos pusimos a hacer experimentos paralelos en el *Istituto Superiore di Sanità* que estudiaban un problema todavía hoy día no resuelto completamente, el efecto del sueño sobre la memoria y los cambios metabólicos que suceden en el cerebro si se le impedía la fase de sueño REM. El diseño experimental, merito de Miguel, era muy ingenioso y la privación de sueño muy efectiva y específica. Desafortunadamente la metodología bioquímica que usé (estudio global de la síntesis de proteínas) era muy primitiva y los resultados no fueron concluyentes.

A mi regreso a Buenos Aires en la primavera de 1971 la Argentina estaba en agitación (en realidad, ¡el estado natural de Argentina es en agitación!). El gobierno estaba en manos de Alejandro Lanusse que había decidido llamar a elecciones. El ganador fue el candidato del partido justicialista Héctor Campora. Aunque el INFYB se había mantenido neutral, esta nueva situación llevó a una serie de dificultades para

Vernengo que desafortunadamente culminaron con su abandono de la dirección del INFYB. Con la nueva administración la importancia de la investigación fue reducida en el Instituto de Farmacología y Bromatología y la tarea de leer *dossiers* pasó a ser la ocupación principal. Por fortuna poco después de mi regreso fui nuevamente en comisión al IIB. En colaboración con el grupo de Algranati, donde iba en los momentos "libres" que no eran muchos pero suficientes para refrescarme, estudiamos un tema de interés del INFYB, el efecto de un fármaco anti Chagas (Lempit) sobre la síntesis de proteína en el cerebro. Puse a punto la preparación de ribosomas de cerebro de rata y estudiamos sus variaciones. Este trabajo tenía potencial muy interesante ya que el fármaco causaba una pérdida transitoria de la memoria de corto plazo en algunos de los pacientes tratados. Los resultados iniciales eran muy prometedores porque parecía que los ratones tratados con Lempit tenían perfiles ribosómicos distintos pero no pude concluir mucho por falta de continuidad de mi parte ya que debía cubrir no solo el INFYB sino también cargos docentes *part-time* en Farmacia y Bioquímica y en Ingeniería. Además en los turnos de noche estaba terminando de cursar las materias del ciclo básico de Medicina.

El caos en la universidad era considerable, con cambios radicales en la modalidad de enseñanza y exámenes. Debo decir (con vergüenza) que aproveché de estos cambios para acelerar mi carrera de Medicina. De todas maneras, mantuve un poco de dignidad y solidaridad con los colegas docentes ya que en un examen coloquial (donde los estudiantes nos teníamos que poner la nota nosotros mismos) no aprobé a uno de mis compañeros, que había confundido ovario con corazón

en un examen histopatológico. En cambio en las Facultades de Farmacia e Ingeniería sufría como docente la otra cara de este sistema. En la primavera de 1973 en una de mis semanas "libres" en Campomar presencié una visita del British Council promoviendo sus becas para Inglaterra. Vi esto como una oportunidad única para salir de una situación bastante intrincada (en gran parte de mi fabricación propia) y me presenté al concurso. El comité de selección fue otro de los grandes golpes de fortuna que tuve en mi vida, uno de los miembros era el Dr. Jorge Brioux quien me conocía muy bien del Departamento de Química Orgánica y suplió durante la entrevista mi falta de capacidad auto promocional. Así fue que obtuve la beca para Inglaterra, muy escasa desde el punto de vista económico. Una funcionaria del British Council me dijo directamente: con este sueldo se puede vivir sin familia y sin cine. Después de esta advertencia, con mi característico "sentido común" vendí la casa que había comprado gracias al préstamo hipotecario para universitarios en 1972 y me fui a Inglaterra con mi esposa y mis tres hijos (la cuarta nació en Cambridge).

■ EL MRC LABORATORY OF MOLECULAR BIOLOGY DE CAMBRIDGE

El delegado del *British Council*, durante la presentación en Campomar, enfatizó que el mejor modo para obtener un lugar de trabajo en un prestigioso laboratorio británico era si ellos nos proponían a la institución, o sea que el Council se ocuparía de conseguir un lugar para sus becarios. En mi ingenuidad seguí este consejo e indiqué el grupo del Dr. John Gurdon, en el MRC, *Laboratory of Molecular Biology* (LMB) donde, sin alguna referencia científica, ni siquiera consideraron el pedido del British Council. Así lle-

gué a Inglaterra a fines de agosto de 1974 sin tener un lugar de trabajo y no habiendo sido considerado por el LMB, la Universidad de Edimburgo y la de Sussex.

Fue entonces, tardíamente, que empecé a entender cómo funcionaban las cosas. Mi mentor, el Dr. Algranati, me puso en contacto con Cesar Milstein quien trabajaba en el LMB y me ayudó a conseguir un lugar con el Dr. Andrew Travers en la división del LMB liderada por Francis Crick y Sidney Brenner.

En lo que el British Council tenía razón era que la paga era insuficiente y tuve que pagar mi poco sentido común. Durante el primer año en Cambridge agregué algunas actividades a la mañana temprano y

a la noche, trabajando por hora en la limpieza de oficinas y otros edificios para ganar algo más. Era interesante encontrarme en las tardes en el laboratorio con los encargados de la limpieza (principalmente españoles y portugueses) que eran mis colegas en las actividades de la mañana y la noche. Los lunes a la mañana tenía un trabajo que daba más satisfacción, respondí a un aviso que buscaba "*strong reliable man*" y con poca autocrítica fui a ver de qué se trataba. El trabajo consistía en ayudar a la madrugada en el transporte de *punts* (los botes a pértiga que se usan en el río Cam) desde los depósitos hacia el taller de reparación y pintura y viceversa, para prepararlos para la temporada de primavera. Era estupendo al amanecer hacer este trabajo físico (se necesitaban al me-

nos cuatro hombres para mover un *punt*) en el marco muy sugestivo de los "*backs*" de Cambridge. En Navidad estuve muy orgulloso de ¡un *bonus* de 5 '*pounds*' por mi trabajo! Todo esto no me pesaba porque durante el día trabajaba en lo que siempre había deseado.

El LMB era en los años 70 y posiblemente lo es aún hoy día el mejor lugar para aprender biología molecular. El ambiente era vibrante los corredores repletos de premios Nobel pasados o que lo serían en el futuro (Figura 3) Fred Sanger, Max Perutz, John Kendrew, Francis Crick, Aaron Klug, Sydney Brenner, y por supuesto Cesar Milstein. Entre los que eran '*post doc*' o apenas comenzando la Carrera como investigadores independientes recuerdo



Figura 3: Nucleo original del Laboratory of Molecular Biology: Hugh Huxley, John kendrew, Max Perutz, Francis Crick Fred Sanger and Sydney Brenner

otro reciente Nobel, John Walker con quien jugábamos a squash frecuentemente. En esa época también recuerdo otros futuros Nobel como Roger Kornberg, Bob Horvitz y John Sulston. En 2010 escribí unas líneas sobre este periodo para mi capítulo en el libro titulado: *Relatos sobre Químicas y Químicos en la Argentina* de la AQA y allí escribí esta frase: "Me siento que hay que agregar científicos de la talla de John Gurdon una inexplicable omisión del comité Nobel, al menos por ahora", con gran alegría corrijo esta afirmación ya que 2 años después en 2012, el merecido Nobel fue otorgado por su trabajo iniciado en los años 60 y que finalmente ha sido reconocido como el origen del actual furor sobre clonación de organismos (tipo oveja Dolly ya clonada en 1996 pero anticipada por Gurdon 34 años antes, en 1962 en el sapo) y la inducción de células madres partiendo de células adultas.

La motivación del Nobel fue: "for the discovery that mature cells can be reprogrammed to become pluripotent" o sea por descubrir el potencial de células adultas para diferenciarse y reiniciar el programa de desarrollo. Sin duda es muy cierto lo que dijo uno de los miembros del LMB: "acá es difícil fracasar o ir en bancarrota porque se tienen muchos tíos ricos", efectivamente observar grandes científicos como Max Perutz y Fred Sanger, que se parecían a nuestro Leloir en su sencillez y disponibilidad, desarrollar sus investigaciones era una experiencia impagable. Todo se hacía en un marco que dejaba gran independencia a los investigadores más jóvenes, dándoles la disponibilidad de usar todos los medios más avanzados de la época.

Una de las características que más me impresionó de la organización del laboratorio era el "Store

Room". Acostumbrado a las dificultades y lentitud de provisión de reactivos y equipos en Buenos Aires, era extraordinario poder descender al subsuelo y pedir en el *store room* lo que necesitaba al encargado de turno, equipos pequeños y reactivos estaban disponibles de inmediato, a lo sumo en algunas ocasiones era necesario esperar como máximo un día.

El jefe del servicio de compras era un personaje extraordinario, de una eficiencia asombrosa, le era indiferente si el pedido provenía del Director del Instituto (Max Perutz) o de un estudiante de doctorado apenas llegado. Mike conseguía todo, incluso me consiguió zapatos de fútbol para mi primer partido con el equipo del MRC.

No obstante todas estas facilidades, mi primer año no fue de lo más exitoso desde el punto de vista científico pero aprendí a moverme en este ambiente gracias a la ayuda de un colega chileno, Julio Celis, que trabajaba allí hacía ya varios años. Al terminar el primer año, de acuerdo con Andrew Travers, hablé con otros jefes de grupo y gracias a mi experiencia en la Química Orgánica, George Brownlee, de la división liderada por Frederick Sanger, me ofreció un lugar en su laboratorio. Esto fue una gran suerte para mí, esencialmente los proyectos que comencé entonces, en 1975, sobre la síntesis, estructura y función del RNA han proseguido en distintos sistemas hasta hoy en día.

El grupo de Brownlee transfería al RNA las técnicas que estaba desarrollando Sanger para el DNA. Mi misión era sintetizar los "primers" que la recientemente descubierta *Reverse Transcriptase Viral* debía usar para copiar el RNA en DNA, que a su vez podía ser secuenciado con las técnicas que estaba desa-

rollando Sanger. En 1975 no había "kits" ni máquinas automáticas de síntesis, ni siquiera transcriptasa reversa comercial, todo se preparaba a mano en el laboratorio. Decidimos sintetizar un oligonucleótido basado en un fragmento de secuencia de 15 nucleótidos del mensajero de beta globina de conejo cuya secuencia se conocía gracias al trabajo de un grupo de la *Rockefeller University* que la había aislado por protección con el ribosoma, y donde estaba presente la secuencia Adenina-Uridina-Guanina (AUG) que probablemente era el codón de iniciación que significa el amino ácido metionina y es común a todos los mensajeros celulares. La síntesis de un octanucleótido complementario a partir de esta secuencia duró 6 meses, hoy día una máquina lo hace automáticamente en unos pocos minutos.

Durante los años 1975 y 1976 teníamos que preparar nuestros propios nucleótidos protegidos en todos los grupos funcionales menos aquel donde se formaba la unión fosfodiéster.

Esto requería varias reacciones en medio anhidro y purificaciones en columnas casi siempre en cuarto frío (quién sabe no necesario pero esas eran las recetas de la época). Luego de sufridas semanas de preparar precursores protegidos y sucesivas condensaciones, llegué a purificar un hexanucleótido al cual, en el último paso, condensé el dinucleótido TpT (Timidina-fosfodiéster-Timidina) que era simple de preparar porque T no necesitaba protección.

Esta última condensación fue un parcial fracaso ya que obtuve solo 20% de rendimiento de octanucleótido, pero salvé el 80% de hexanucleótido. Paradójicamente este fracaso fue un golpe de fortuna ya que el octanucleótido era específico para beta globina de conejo, mien-

tras que después descubrimos que el hexanucleótido era complementario a todas las globinas de mamífero (alfa y beta de ratón, conejo y humana), lo que me permitió con una sola síntesis tener la oportunidad de secuenciar 6 mensajeros en su misteriosa región 5' no traducida (5' *untranslated region*, 5'UTR), hasta entonces nunca vista. Esto también nos permitió una publicación codo a codo con el grupo del Dr. Tom Maniatis y con mi amigo el Prof.

Nick Proudfoot. En ese número de la revista *Cell* yo publiqué el 5'UTR, Proudfoot el 3'UTR y Maniatis la región codificante. Poniendo estos 3 artículos juntos tuvimos la primera secuencia completa de un mensajero eucariótico, y la tapa de *Cell* en Abril 1977 (Figura 4).

Este trabajo me valió también mi primer viaje a EE.UU., invitado como orador a una *Gordon Conference*. Fue mi primer encuentro

con el mundo científico americano. Luego de la conferencia visité el laboratorio del Dr. W. Gilbert en Harvard, competidor de Sanger para el método de secuencia del DNA y coganador del Premio Nobel en 1980. La diferencia a favor de Sanger era enorme y efectivamente el método de Sanger es la base aún hoy de la secuencia automática que ha permitido completar varios genomas incluso el humano, y que hoy se usa rutinariamente en el diagnóstico clínico de enfermedades hereditarias, análisis forenses, etc.

Esta aventura químico-biológico molecular tuvo muchos efectos secundarios, en poco más de un año publiqué como único autor dos trabajos en *Nature* y dos en *Cell*, y en años sucesivos, varias publicaciones en revistas de primera clase. Además, y vale seguramente más, me gané un agradecimiento en el artículo que valió el segundo Premio Nobel a Frederick Sanger. Para desarrollar el método dideoxi de secuenciación de DNA, Sanger estaba preparando sus propios dideoxinucleótidos y tenía dificultad con dideoxi G. La guanosina es el nucleótido más delicado desde el punto de vista de grupos funcionales y me pidió una mano para hacerlo. Yo tenía abundante material de partida debido a los nucleótidos protegidos que había preparado para mis oligonucleótidos *primers*, realmente fue muy simple sintetizarlo y un honor inmenso hacerlo junto a Sanger.

■ LA SIR WILLIAM DUNN SCHOOL OF PATHOLOGY OXFORD:

Los seis años en MRC *Laboratory of Molecular Biology* fueron únicos y me marcaron para siempre, consolidaron el modo de enfocar el trabajo científico que había comenzado a aprender en la UBA. Esta sección la había comenzado con esta frase: "completé mi aprendizaje científi-

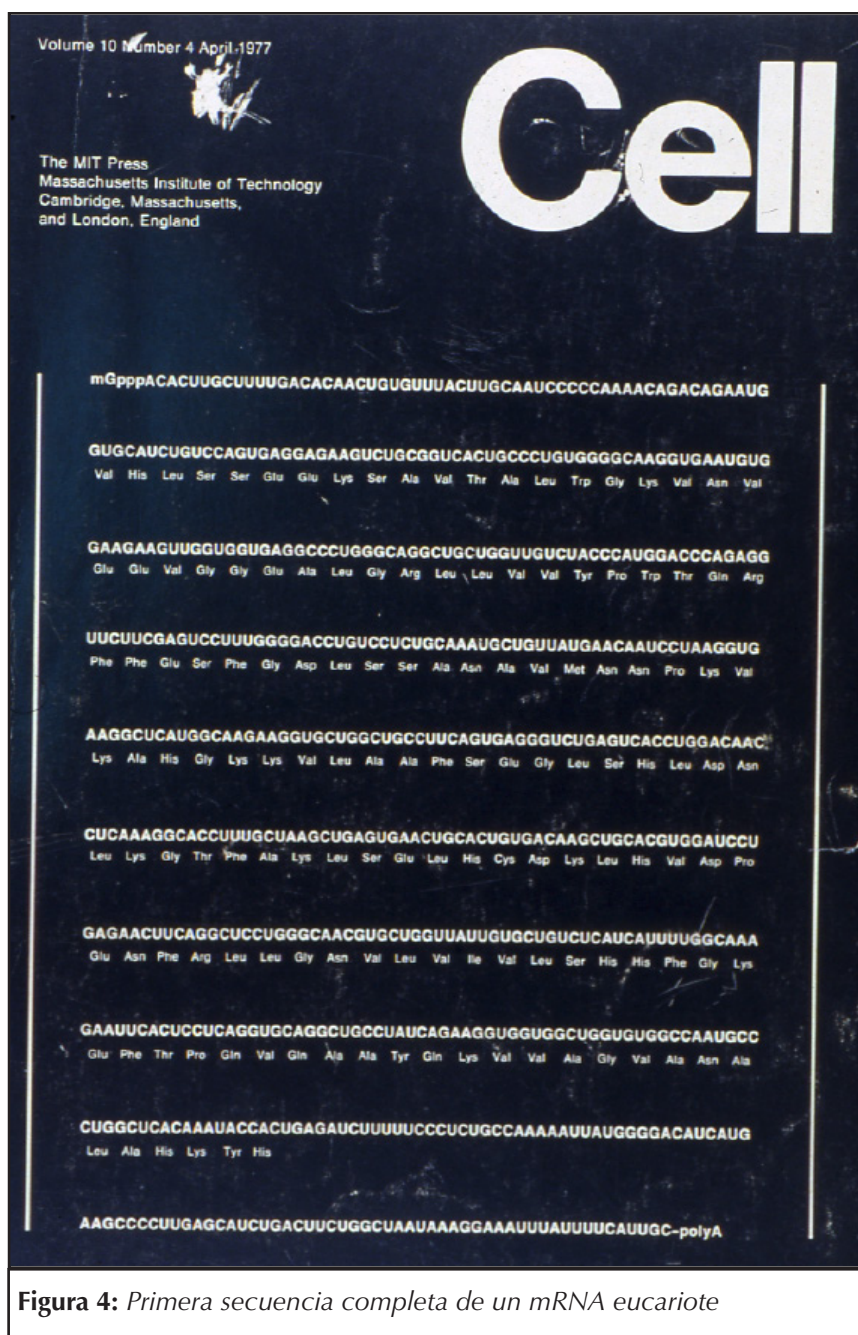


Figura 4: Primera secuencia completa de un mRNA eucariote

co" pero cambié por "consolidar" ya que en realidad en ciencia se sigue aprendiendo siempre y hacia el final veremos que en mi caso, en la vejez, hasta hay una regresión, que me gusta llamar rejuvenecimiento, a la condición de estudiante o recién graduado.

En los últimos dos años en el LMB se me renovaba el contrato año por año, y mis supervisores señalaban constantemente que a los 35 años debía tener un puesto autónomo e independiente. Tuve una oferta en la recientemente fundada *MRC Molecular Hematology Unit* en Oxford guiada por el Prof. David Weatherall y cuando las tratativas estaban prácticamente concluidas se me ofreció la oportunidad de quedarme un año más en Cambridge, lo cual yo acepté. Obviamente perdí el lugar en el MRC de Oxford y supongo que también, al menos en parte y temporalmente, el aprecio de David Weatherall. Ese año se concretó un llamado dentro de la Universidad de Oxford y en el año 1980 gané un concurso de *Lecturer* en la *Sir William Dunn School of Pathology* en Oxford; esta posición, creo equivalente a una de las categorías de Profesor en Argentina, venía unida a un puesto de tutor en Medicina (*Tutorial Fellow*) en el *Magdalen College*. Asimismo obtuve mis primeros subsidios ingleses del *Medical Research Council* y de la *British Heart Foundation*.

La vida universitaria en Oxford fue una gran sorpresa para mí. Obviamente no estaba preparado para este ambiente, lleno de antiguos rituales, compré mi primera (y única) toga de segunda mano porque era necesaria para todas las actividades en el *College* y también para los exámenes. Nunca dejé de sentirme ridículo vestido así cuando tomábamos exámenes a los futuros médicos y prefería largamente el laboratorio a la vida del *College*.

Antes de iniciar mi período en Oxford tuve la oportunidad de organizar un curso sobre técnicas de DNA recombinante en Buenos Aires. En aquella época estas técnicas (clonación y secuenciación de ácidos nucleicos) estaban poco difundidas en el mundo y que yo supiera nadie lo hacía en Argentina. Esto fue posible gracias a que el Dr. Algranati había pasado un año sabático en el laboratorio de Milstein en Cambridge, más o menos hacia el final de mi estadía en el LMB y discutimos con él la posibilidad de hacer algo en Buenos Aires. Así fue que alrededor de Julio de 1980 viajé por primera vez en seis años a Buenos Aires llevando conmigo todo lo necesario para el curso (reactivos, pequeño equipo, cepas de bacterias).

Trabajamos intensamente con un grupo de estudiantes seleccionados entre los doctorandos de la FCEN, el curso duró tres semanas y se trabajó de continuo. La gente del IIB me daba el apoyo infraestructural, soluciones, etc. Yo era el único docente tanto para las clases prácticas como para las lecciones teóricas, fue para mí una experiencia estupenda y creo que los estudiantes lo aprovecharon mucho.

En el periodo siguiente repetimos esta experiencia tres veces aproximadamente cada dos años, con enfoque similar. En la segunda vuelta en 1982 nos centramos en la clonación de cDNA, y en la de 1984, organizada con el Dr. Oscar Burroni, todo el grupo de estudiantes se concentró en diversas estrategias para clonar segmentos de rotavirus, un virus RNA doble hélice. Al final del curso conseguimos clonar uno de los segmentos del virus y hasta publicamos una nota con todos los estudiantes como autores en la revista *Medicina* de Buenos Aires.

En la ocasión del primer curso en 1980 uno de mis estudiantes era Alberto Kornblihtt que se encontraba haciendo su doctorado con el Dr. Héctor Torres. No fue difícil darse cuenta del valor de Alberto e inmediatamente le propuse que apenas terminara el doctorado viniera a Oxford a hacer el *post doc* conmigo. Para mi gran fortuna, él aceptó y un año después se unió a mi laboratorio iniciando una colaboración que continúa después de treinta años.

En Oxford cambié mi proyecto centrado en los genes de globina a los genes de apolipoproteínas, con un interés en enfermedades polifactoriales como la aterosclerosis, el síndrome polimetabólico, etc. Con la llegada de Alberto abrí una nueva línea sobre genes de la matriz extracelular, en particular la fibronectina que con su complejo proceso de *splicing* alternativo (que describimos con Alberto por primera vez en 1984) nos abrió la puerta para nuestra línea de investigación de las dos décadas sucesivas que todavía continúa hoy día. Efectivamente todavía hoy trabajo en *splicing* y he retomado el *splicing* alternativo de la fibronectina como control en mi nuevo proyecto de control hormonal del *splicing*. Sobrevivimos como argentinos viviendo en Inglaterra a la guerra de las Malvinas, la beca CONICET de Alberto fue cancelada, pero por fortuna mi Jefe de Departamento me permitió pagarlo de un subsidio mío, así que pudo continuar con nuestro proyecto. Por suerte a mí me habían perdido las trazas y no me congelaron la cuenta del banco, pero por varios años cada vez que tenía que salir de Inglaterra para dar una conferencia, aún para ir a Francia, era un trámite larguísimo con visa de reentrada.

Como estaba en un Departamento de Patología y trabajaba estrechamente con los colegas de Clínica

Médica y Hematología decidí revivir en Europa mis estudios de Medicina. El trámite era más simple en Italia que en Inglaterra así que luego de infinitos trámites y legalizaciones conseguí el reconocimiento en la Universidad de Nápoles, de casi todos los cursos hechos entre 1968 y 1974 en Buenos Aires. Siguió una época de exámenes que tenía que insertar en medio de mis obligaciones a Oxford y un período de trabajo clínico que conseguí hacer a lo largo de un año tomando mini sábaticos en Nápoles y trabajando con pacientes también en Oxford, aprovechando la buena voluntad de mis colaboradores clínicos. Me convertí en un discreto aprendiz de endocrinólogo, en 1984 completé los exámenes en Nápoles y di mi "examen de estado", un examen clínico necesario para la habilitación profesional en Italia.

Así que en 1984 era un Médico Patólogo, no cambió mucho, simplemente volví a mi laboratorio de Biología Molecular dándole más énfasis clínico y manteniendo una vez a la semana un consultorio con pacientes principalmente con proble-

mas de dislipidemia y aterosclerosis precoz.

Entre 1984 y 1985 empecé a tener ofertas de trabajo que eran tentadoras porque en Oxford la situación profesional estaba estancada. Sin embargo, tenía un puesto vitalicio ("tenure"), podía ser *Lecturer* hasta mi jubilación. La vida no era incómoda (Figura 5) pero los sueldos eran bajos en Inglaterra y algunas ofertas de Estados Unidos lo cuadruplicaban. Por razones familiares preferíamos quedarnos en Europa. Después de muchos cambios y consideraciones apareció la posibilidad de un instituto internacional en Trieste dentro del ámbito de las Naciones Unidas, el *International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology* (ICGEB).

■ INTERNATIONAL CENTRE FOR GENETIC ENGINEERING AND BIOTECHNOLOGY

Esta institución tiene una historia muy interesante, alrededor de los años 1982 y 1983 un grupo de científicos originarios de países en vías de desarrollo propuso a la ONU

(Organización de las Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial con base en Viena) la creación de una institución dedicada a la formación de científicos del "tercer mundo" en las nuevas técnicas de clonación y expresión génica en base a la naciente industria biotecnológica. Así se inició el proyecto del *International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology* (ICGEB). El Consejo Científico de este proyecto estaba integrado por figuras ilustres de la Bioquímica y la Biología de los países en vías de desarrollo y el Dr. Luis Leloir era parte del mismo. En la época en que en Argentina el Secretario de Ciencia y Técnica era el Dr. Manuel Sadosky (1984/1985) fui propuesto como director general de este instituto naciente pero el puesto fue otorgado primero a un americano (Irwin Gunsalus) y luego a un italiano, Arturo Falaschi. Este último en 1990 me propuso dirigir la sección de Trieste del ICGEB, en donde me integré como Director de Componente. En 2004 pasé a ser el Director General de esta organización que contaba con laboratorios en Trieste y Delhi.

En este periodo tuve el apoyo de grandes científicos latinoamericanos que eran parte del *Council of Scientific Advisors* (CSA) del ICGEB o del *Board of Governors*. Entre los argentinos debo nombrar al Dr. Héctor Torres que fue un consejero de gran fuerza y utilidad aportando su experiencia científica y de gobierno. Él me acompañó hasta que obtuve la dirección general del ICGEB. Su fallecimiento ha sido un gran golpe para todos nosotros.

Durante mi gestión como Director General tuve el apoyo invaluable como miembro del Consejo Científico de mi colega y amigo Alberto Kornblihtt. Recuerdo con gratitud el aporte de otros destacados miembros de distintos países en el Con-



Figura 5: La vida en Oxford no era particularmente incómoda y bicicletear 8 Km al trabajo era divertido aun con la nieve en primavera



Figura 6: Visita al ICGEB Delhi (India) del Presidente Italiano: De izquierda a derecha: F. Baralle, el Presidente Ciampi y el Director del ICGEB Delhi Virander Chauhan



Figura 6 bis: Visita a la ICGEB Delhi Malaria Research Unit.

elegida como sede, este tercer Componente fue inaugurado en 2007 con la participación del entonces Presidente de Sudáfrica Thabo Mbeki (Figura 7).

El programa de doctorado en el ICGEB fue iniciado en colaboración con universidades locales de sede Trieste, Delhi o Ciudad del Cabo pero fue también extendido a universidades de otros países, fueran miembros como la Universidad de Nova Gorica (UNG) en Eslovenia o no miembros como la *Open University* del Reino Unido. El trabajo con UNG dada la vecindad física de las dos ciudades ha dado impulso a múltiples colaboraciones y tuvo el honor de ser premiado con una medalla de oro a la cooperación internacional por la Universidad de Nova Gorica (Figura 8).

Otros honores que he obtenido por el trabajo de cooperación, por lo que me siento particularmente feliz, fue el otorgamiento del título Doctor en Medicina Honoris Causa por la Universidad de la República, Uruguay.

Recientemente hemos abierto un pequeño laboratorio ICGEB en colaboración con el MINCYT en el nuevo Polo Tecnológico de Giol. Tanto el Ministro Barañao como yo esperamos que eventualmente este laboratorio se convierta en un Componente Sudamericano del ICGEB.

sejo Científico y en el Consejo de Gobernadores: Jorge Allende (Chile), Luis Herrera Martínez (Cuba) y Rafael Radi (Uruguay) corrientemente miembro activo del Consejo científico.

Personalmente estoy muy satisfecho de mi gestión como Director del Componente de Trieste y luego como Director General del ICGEB, he tenido grandes alegrías científicas e institucionales. Entre estas

últimas menciono los sucesos del Componente de Delhi (India) del ICGEB que al inicio de mi mandato fue visitado por el entonces Presidente Italiano Carlo Azeglio Ciampi. (Figura 6) En aquella ocasión con la delegación italiana se discutió la posibilidad de abrir un nuevo Componente del ICGEB en África. Luego de largas negociaciones la Universidad de Ciudad del Cabo (UCT) que fue

Desde inicios de los años 90 introduje en el ICGEB una actividad que considero de importancia fundamental para la misión del Centro y esto es una plataforma transnacional dedicada a transferir tecnología a compañías o instituciones de los países miembros que facilite la producción de fármacos biosimilares (insulina eritropoyetina, interferones, factores de estimulación de los granulocitos). Aproveché mi expe-



Figura 7: El Presidente de Sudafrica Thabo Mbeke inaugura el Componente de Ciudad del Cabo del ICGEB



Figura 8: Entrega de la medalla de oro a la cooperación internacional por parte de la UNG.



Figura 8 bis: En la misma ceremonia fue premiado el ex primer ministro de Italia y ex Presidente de la Unión Europea Romano Prodi.

riencia en Oxford como asesor de una Compañía dedicada a la producción biotecnológica de factores de coagulación para establecer una

unidad dedicada a los biosimilares en el ICGEB. Ha tenido gran suceso, y biosimilares producidos con nuestra tecnología están en el mercado

en países como Irán, Emiratos Árabes Unidos, Bangladesh, Argentina, Venezuela, Cuba, Egipto India y China. El periodo de training de los

científicos provenientes de las empresas de los países miembros lleva de uno a dos meses y el ICGEB recoge un arancel por esta actividad que es reinvertido en investigación.

Al cumplir dos periodos como Director General los estatutos del ICGEB no prevén la reelección, en mi caso fui prorrogado por un año hasta la elección de mi sucesor en 2014. Me retiré de la Dirección dejando un instituto en óptima salud con un total de 500 personas dependientes y un programa de becas, cursos y subsidios en más de 60 países miembros.

El objetivo del Centro es aumentar la capacidad científica en los países miembros, lo que permite interactuar con científicos de *backgrounds* muy distintos, pero con la pasión común por la ciencia. Da muchísima satisfacción seguir el desarrollo de los becarios que reci-

bimos apenas egresados con preparación muy variada y luego de tres o cuatro años ubicarlos como precia- dos *post docs* en los mejores laboratorios del mundo. Aún más cuando regresan a su país, el Centro los ayuda con subsidios para facilitar su desarrollo en el país de origen. Obviamente, la mayor cercanía cultural la tengo con los argentinos de todos los niveles becarios *pre* y *post doc* e investigadores que pasaron, o aun trabajan en el Centro.

En el 2010 tuve la gran satisfacción de que mi actividad relacionada a la Argentina fue reconocida con el Premio Raíces (Figura 9).

Por suerte a pesar de que el cargo de Director General tenía una carga administrativa considerable conseguí no dejar la investigación. He continuado con el estudio de mecanismos de *splicing*, principalmente en el contexto de enfermedades he-

reditarias, incluyendo la promoción de metodologías diagnósticas para este tipo de mutación, que no son fácilmente distinguibles por simple secuencia genómica de polimorfismos inocuos. El grupo que dirijo se ha mantenido a la vanguardia de este campo y recientemente una proteína llamada TDP 43 que habíamos identificado y caracterizado por su rol en defectos de *splicing* en el gen de la fibrosis quística ha cobrado nueva importancia. Efectivamente esta proteína ha sido descripta como la molécula responsable de las inclusiones que se ven en las neuronas de pacientes con enfermedades neurodegenerativas como esclerosis lateral amiotrófica y algunas formas de demencia. Hasta 2006, el nuestro era el único laboratorio que se ocupaba de esta proteína y este descubrimiento nos catapultó al frente a la investigación de la patogénesis de la neurodegeneración. Como siempre creo que no debemos dejar la ciencia de base, nuestro laboratorio se está concentrando en las propiedades funcionales y estructurales de TDP 43. Con esto estoy gozando de un retorno a la Química porque estamos caracterizando en detalle la interacción entre la proteína y la secuencia de ARN que reconoce en complejos RNA-Proteína.

TDP 43 es una proteína estructural y funcionalmente conservada durante la evolución, hemos demostrado que las proteínas humanas y de *Drosophila* son intercambiables en células y tejidos de uno u otro organismo. Estamos modelando las consecuencias de la falta de funcionalidad de TDP 43 en un organismo como la mosca que es fácil de manipular genéticamente y tiene un tiempo generacional muy corto.

Hemos demostrado que los agregados citoplasmáticos de TDP 43 pueden ser inducidos por un péptido similar a secuencias de priones.



Figura 9: El Ministro de Ciencia Tecnología e Inovacion Productiva entrega del Premio Raices 2010.

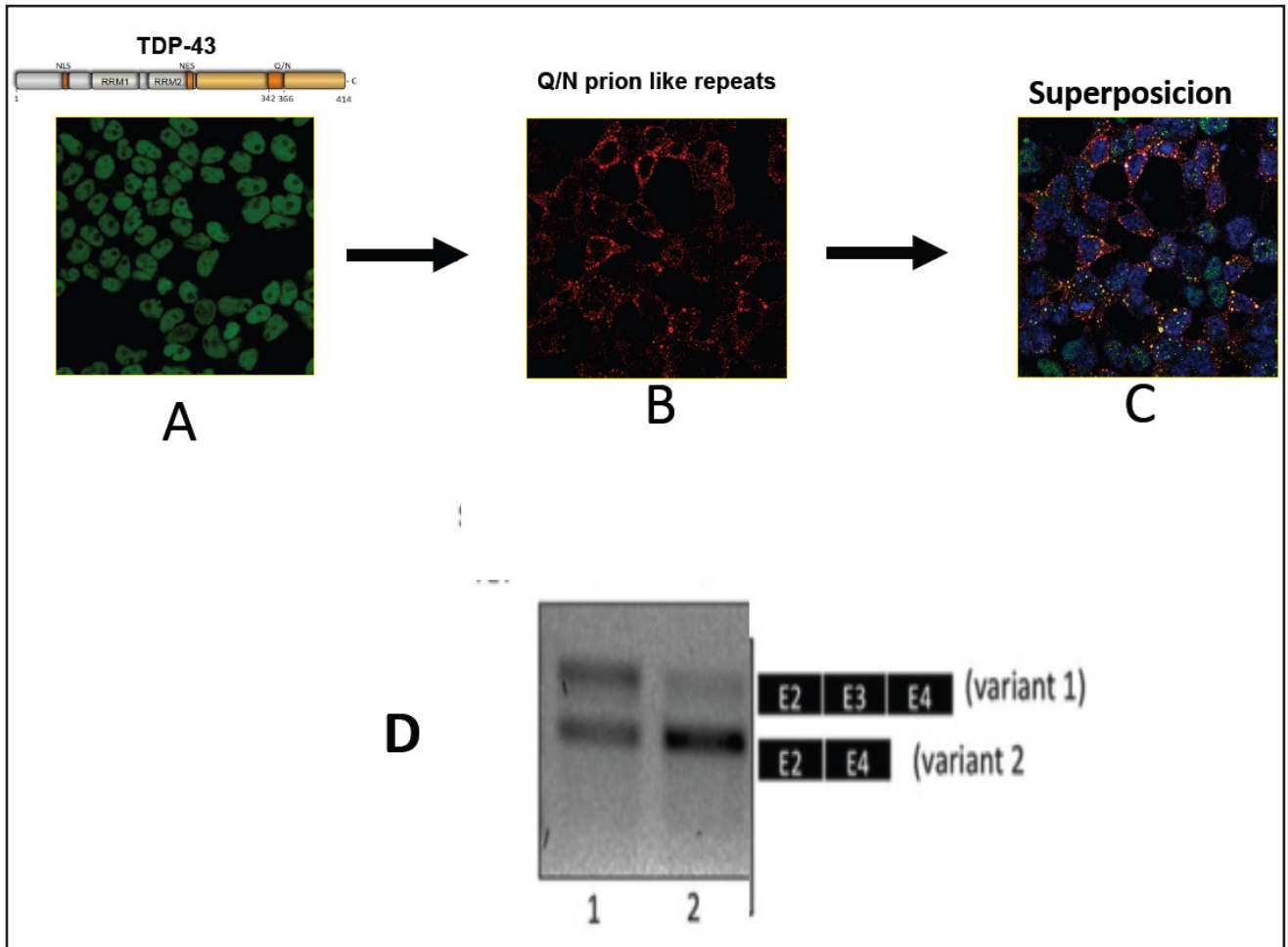


Figura 10: TDP 43 es una proteína que se expresa en casi todas las células del organismo, esta predominantemente localizada en el núcleo celular pero “shuttles” del núcleo al citoplasma. Se cree que su agregación en el citoplasma de las neuronas motoras en los pacientes con esclerosis lateral amiotrófica conduzca a una pérdida de función de TDP 43 probablemente en el *splicing* o transporte de mRNAs específicos de estas neuronas.

Hemos desarrollado un modelo celular que imita este proceso expresando en la célula un péptido que contiene 12 repeticiones de una secuencia de 30 amino ácidos de la región C-terminal de TDP 43 rica en asparagina (N) y glutamina (Q) con características similares a los priones (“prion like”). Este péptido Q/N agrega en el citoplasma de la célula y captura la TDP 43 durante su “shuttling”. Cuando los agregados son suficientemente numerosos y grandes capturan más TDP 43 de la que la célula puede producir y la concentra en el citoplasma causando un déficit en el núcleo celular que lleva a alteraciones de *splicing*. En la figura se ve en el panel A células normales en que la proteína TDP 43 es expresada y puede ser vista principalmente en el núcleo revelada por inmunofluorescencia verde. En el Panel B el péptido “prion like” ha sido inducido y se lo ve como agregados puntiformes revelados con inmunofluorescencia roja, se nota que son predominantemente citoplasmáticos y el perfil nuclear vacío. En el Panel C se ve una sobre posición de la inmunofluorescencia de TDP 43 y de los agregados, los núcleos han sido revelados con una coloración azul (DAPI) para mayor claridad. Se puede apreciar que casi no hay fluorescencia verde y que TDP 43 está ausente en los núcleos. Se pueden ver señales amarillas en el citoplasma que derivan de la colocalización de los agregados (rojo) con la TDP 43 (verde). En estas condiciones no hay TDP 43 funcionando y esto se confirma por la alteración del *splicing* de un gen endógeno llamado polidip 3 usado aquí como marcador de la disfunción. En el panel D se ve un fraccionamiento por gel electroforesis de una amplificación de un segmento de mRNA de polidip 3 comprendiendo exones 2, 3 y 4. El exón 3 es *spliced* alternativamente y en las células normales están presentes dos isoformas, una con y otra sin el exón 3 (canal 1 del gel), en cambio en las células con los agregados y por tanto sin TDP 43 nuclear hay solo una isoforma con el exón 3 ausente (canal 2).

Estos agregados citoplasmáticos de TDP 43 (una proteína prevalentemente nuclear) secuestran la nueva TDP 43 sintetizada por la célula no permitiendo que el núcleo tenga suficiente TDP 43 para una función normal, esto se ve claramente por cambios en suplican de genes que necesitan esta proteína. (Figura 9) En el modelo de *Drosophila* hemos demostrado que la presencia del "prion like peptide" constitutivamente desde el embrión causa pérdida de locomoción solo en la mosca adulta a mitad de su vida. Recientemente hemos visto que tanto en la mosca como en los mamíferos los niveles de proteína (TDP 43 en el ratón, TBPH en la mosca) se reducen con la edad y sólo cuando su nivel

es cuatro o cinco veces menor que al nacimiento se produce la pérdida de locomoción. Esta puede ser la razón por la cual la SLA se manifiesta usualmente entre los 50 y los 70 años.

También he retomado mi vieja pasión por la Medicina y estuve en el año 2015 como interno de un colega triestino Luigi Cattin en el reparto de Medicina Interna para sacar el óxido a mis conocimientos médicos (con poco suceso quizás) y actualmente he iniciado un nuevo proyecto que fusione la endocrinología, la obstetricia-ginecología en los aspectos de reproducción asistida y mi experiencia en el campo del *splicing* alternativo del pre mRNA.

En particular el enfoque es en los cambios de procesamiento del RNA que suceden durante los tratamientos hormonales para aumentar la receptividad del endometrio y facilitar el implante del embrión.

A esto me refería cuando dije antes que el aprendizaje no termina nunca y es un estímulo para la mente. Les contaré en los próximos dos o tres años como evoluciona esta nueva aventura, en la que me estoy divirtiendo mucho y espero abrirá nuevos caminos de investigación en lo que ahora se llama Biomedicina y me permita continuar la aventura de la investigación científica.

¡¡Oferta!!
Pipetas y
Artículos
Plásticos



ThermoForma

ThermoLabsystems



Nikon



ThermoSorvall



ThermoSorvall



Oferta promocional. Precios especiales de pipetas, frascos y artículos plásticos hasta el 30-6-2007.

Automáticamente publicidad

Para encontrar todas las soluciones
en instrumental, no hace falta investigar.

 **microlat**
instrumental científico

Carlos Pellegrini 755 - Piso 9 - Ciudad Autónoma de Buenos Aires - Tel./Fax: 4326 5205 - 4322 6341 - www.microlat.com.ar



Thermo

TMC



FOTODYNE

environ

HITACHI

TELEDYNE (CO)
A Tecon Technologies Company



Molecular Devices