

proponen el modo de acción de las enzimas alostéricas. El estudio de las membranas celulares y de los mecanismos de transporte de sustancias a través de las mismas culminarán en 1972 con el establecimiento por Singer y Nicholson del modelo del "mosaico fluido" como explicación molecular de la estructura de la membrana.

En estos años empiezan a decaer los estudios y caracterizaciones de enzimas o rutas metabólicas, ya que otra disciplina derivada de la Bioquímica está empezando demostrar que su forma de abordar los problemas es más funcional y rápida: la Biología Molecular. "Pero esto es otra historia" (M. Ende).

SI SHERLOCK HOLMES LEVANTARA LA CABEZA

Juan Carlos Codina Escobar

O mejor dicho, si su inefable autor Sir Arthur Conan Doyle volviese a retomar la pluma para deleitarnos con las perspicaces e ingeniosas aventuras de uno de los detectives más famosos a nivel mundial, seguramente tendría que realizar un curso intensivo de Biología Molecular. La técnica de identificación de DNA se ha convertido en un método rutinario en investigación criminal. A lo largo de los años, y en un intento de aplicar rigurosamente la ley, los investigadores han buscado cualquier tipo de evidencia que pudiese identificar de forma precisa y exclusiva la presencia de un individuo en la escena de un crimen. De hecho, ya han transcurrido 110 años desde que se empleasen por vez primera las huellas dactilares como identificador.

Sin embargo, en muchos crímenes no se dejan huellas dactilares. De manera que hubo que buscar otros marcadores, adquiriendo gran importancia los marcadores biológicos que pudiesen encontrarse en muestras de origen orgánico como semen, saliva, etc. Se produjo un importante avance, si bien limitado, con el estudio de diferencias proteínicas, diferencias en la superficie celular, complejo HLA y grupos sanguíneos. Pero las limitaciones de estos marcadores se vieron en parte superadas cuando fue posible "leer" el DNA. La secuencia de DNA de cualquier ser humano es única, salvedad hecha de los gemelos idénticos. Se trata de una "huella" exclusiva que es la misma para cualquier célula, tejido u órgano de la persona. La identificación de DNA es una forma rápida de comparar secuencias de DNA de dos o más seres vivos. El procedimiento de laboratorio para realizar una identificación de DNA requiere cinco pasos:

1.- Aislamiento del DNA. Se debe recuperar a partir de células o tejidos. Sólo es necesaria una pequeña cantidad de sangre, pelo o piel.

2.- Cortado, determinación del tamaño y clasificación de los fragmentos obtenidos tras el empleo de las enzimas de restricción. Las enzimas de restricción reconocen lugares característicos en la molécula de DNA, donde ejercen su acción de

corte. Los fragmentos de DNA obtenidos son clasificados de acuerdo con su tamaño, mediante electroforesis. Uno podría pensar en analizar el DNA en su totalidad, pero eso sería muy costoso y lento. Se trata tan sólo de examinar un pequeño grupo de sitios variables en la secuencia de DNA.

3.- Transferencia de DNA a membranas de nylon. Los fragmentos obtenidos se transfieren a una membrana de nylon, para lo que se coloca ésta sobre el gel y se deja "empapar" por capilaridad toda la noche.

4.- Análisis (*probing*). La adición de sondas radiactivas o cromáticas, permite la identificación de cada uno de los fragmentos de DNA, en base a la hibridación de secuencias homólogas.

5.- Identificación del DNA. La identificación final se consigue mediante el empleo de varias sondas (de cinco a diez o más) al mismo tiempo. Se obtiene una imagen que se asemeja a los códigos de barras de los productos alimenticios.

Esta técnica resulta útil para:

a) Diagnóstico de enfermedades hereditarias tanto en el período prenatal como en bebés recién nacidos. Entre tales enfermedades se incluyen la fibrosis quística, hemofilia, corea de Huntington, Alzheimer, etc.

b) Supone el punto de partida para un posterior desarrollo de procedimientos de terapia genética en el tratamiento de tales enfermedades hereditarias, mediante la comparación de grandes grupos de individuos que manifiesten la enfermedad y que no la presenten.

c) Prueba biológica a nivel judicial. Desde el año 1987, se viene empleando la técnica de identificación de DNA en casos criminales de EE.UU. como prueba de acusación. No sólo en este tipo de juicios, sino también en los casos de paternidad y de custodia de hijos.

d) Identificación personal. Muchos ejércitos comienzan a tomar "huellas" de DNA de sus soldados con vistas a su posible identificación en casos de bajas en acciones de guerra. No sólo resulta aplicable

en estos casos; también lo es en el caso de desaparecidos durante gobiernos dictatoriales, como ha sucedido en Argentina con la localización de los hijos de desaparecidos bajo las dictaduras militares.

Sin embargo, no hay que pensar que la técnica de identificación de DNA es la panacea que soluciona todos los problemas. Lógicamente tiene sus desventajas y limitaciones, que básicamente se refieren a cómo se realiza la prueba de forma práctica en el laboratorio y lo bien regulada que esté esa práctica. Otra controversia que surge es acerca de la interpretación de los resultados positivos. Que el DNA de un sospechoso se corresponda con la muestra encontrada en una escena de crimen, ¿significa ello que es la persona que dejó tal "huella" genética? ¿Con qué frecuencia se presenta tal patrón? ¿Cómo de raro es? En definitiva habría que hacer un estudio de genética de poblaciones para localizar los sitios que muestran mayor grado de variación en las moléculas de DNA y, por tanto, mayor precisión en la identificación. Esto supone realizar una base de datos, sobre la que muchas personas muestran un gran recelo.

En cuanto a las limitaciones técnicas éstas se centran en la obtención de suficiente cantidad de muestra de DNA para el análisis. La técnica de PCR viene a aportar la solución, permitiendo la obtención de múltiples copias de una región específica de DNA. De hecho es incluso posible obtener DNA a

partir de la saliva que uno puede emplear para sellar un sobre.

Limitaciones que resultan superadas por los muchos éxitos que presenta la técnica. Como por ejemplo, en la identificación personal. El grupo de la Dra. Mary Claire King (Universidad de Berkeley, California), en su ayuda a las abuelas de la Plaza de Mayo en la localización de sus nietos, centró el estudio en una porción de DNA particular, el DNA mitocondrial. Esta pequeña porción de DNA presenta la particularidad de que sólo es transmitido por vía materna. Las secuencias variables de DNA mitocondrial pueden permitir establecer la genealogía por vía materna de forma bastante precisa.

Pero la aplicación de la identificación de DNA en casos judiciales no se limita sólo a los seres humanos. Existen pleitos civiles en los que las plantas son las protagonistas. Se trata de casos de protección de patentes de variedades de maíz o tomate. Últimamente muchas compañías que trabajan con semillas realizan bases de datos con las "huellas" genéticas de estas variedades para poder demostrar su patente.

Queda claro que Sherlock Holmes vería facilitado su trabajo, aunque este método resulte más frío y menos atrayente que el perspicaz método deductivo que siempre ponía en juego el afamado detective. Pero a fin de cuentas, el siglo XIX era más romántico que nuestro tecnológico siglo XXI.

NMDA, UN RECEPTOR POLIFACÉTICO

José Carlos Dávila

Probablemente existen más estudios sobre los receptores de tipo NMDA que sobre cualquier otro receptor en el sistema nervioso. La razón es bien sencilla, los receptores NMDA además de ser muy abundantes en el sistema nervioso, están implicados en numerosas funciones, algunas de ellas tan importantes para el buen funcionamiento del cerebro como el aprendizaje o la memoria, mientras que en otras ocasiones están implicados en mecanismos de muerte neuronal o en enfermedades como la epilepsia. Sin lugar a dudas, estas razones, entre otras, han impulsado el estudio de estos receptores hasta cotas insospechadas.

Empecemos por el principio. El glutamato, uno de los neurotransmisores más abundantes en el sistema nervioso (se supone que es liberado en más de la mitad de las sinapsis del sistema nervioso), realiza su acción excitadora actuando sobre receptores específicos localizados en la membrana neuronal. Hasta el momento se han identificado varios tipos principales de receptores para el

glutamato, tres de ellos son canales iónicos regulados por ligando, mientras que otros tres, denominados receptores metabotrópicos de glutamato, no son canales iónicos aunque pueden actuar indirectamente sobre los canales iónicos. A los primeros se les denomina también receptores ionotrópicos ya que la unión del neurotransmisor con el receptor provoca la apertura del canal con el consiguiente paso de los iones. Los receptores ionotrópicos de glutamato se denominan según la molécula agonista que los activa: los receptores NMDA, por el N-metil-D-aspartato, los receptores de tipo AMPA, por α -amino-3-hidroxil-5-metil-4-isoxazol-propionato y los receptores de tipo kainato, por el ácido kaínico. Estos tres tipos de receptores forman canales catiónicos no selectivos, permeables tanto para el Na^+ como para el K^+ , de manera que la unión del glutamato sobre cualquiera de ellos provoca una despolarización de la membrana postsináptica (un potencial excitador postsináptico o EPSP). A diferencia de los otros dos