

Encuentros en la **b**iología



1cm

Técnicas de detección de
SARS-CoV-2

¿Vacunar o no vacunar?

Olivos vs. virus

Vol XIII | No 174
VERANO | 2020

ENCUENTROS EN LA BIOLOGÍA

Revista de divulgación científica

Indexada en *Dialnet*

Entidad editora:

Universidad de Málaga. EDITADA CON LA COLABORACIÓN DE LA UNIDAD DE IGUALDAD DE GÉNERO DE LA UMA, DEL INSTITUTO DE HORTOFRUTICULTURA SUBTROPICAL Y MEDITERRÁNEA "LA MAYORA" (IHSM-UMA-CSIC) Y EL DECANATO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS

Depósito legal: MA-1.133/94

ISSN (versión electrónica): 2254-0296

ISSN (versión impresa): 1134-8496

Periodicidad:

4 NÚMEROS ORDINARIOS (TRIMESTRALES) Y AL MENOS
1 NÚMERO EXTRAORDINARIO MONOGRÁFICO AL AÑO

Correspondencia a:

JUAN ANTONIO PÉREZ CLAROS
DEPARTAMENTO DE ECOLOGÍA
FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE MÁLAGA
29071 - MÁLAGA
JOHNNY@UMA.ES

EQUIPO EDITORIAL

COMITÉ EDITORIAL EJECUTIVO

- Juan A. Pérez Claros
johnny@uma.es
Paleontología
Director.
- Ramón Muñoz-Chápuli
chapuli@uma.es
Biología del desarrollo y cardiovascular
*Director adjunto:
Coordinación de la edición electrónica, foros de la ciencia*
- Elena Rojano Rivera
elenarojano@uma.es
Bioinformática y biología de sistemas.
*Directora adjunta:
Maquetación*

COMITÉ EDITORIAL ASOCIADO

- Ana Grande Pérez
agrande@uma.es
Genética-virología,
Patogénesis virales.
Jóvenes científicos
- Antonio Diéguez
dieguez@uma.es

Filosofía de la ciencia

A debate, reseñaciones

- Beatriz Martínez Poveda
bmpoveda@uma.es
Biología molecular del cáncer y enfermedades cardiovasculares
- Enrique Viguera
eviguera@uma.es
Genética y genómica
Eventos especiales
- Francisco José Villena
francis.villena@icloud.com
Jóvenes científicos
- José M^a Pérez Pomares
jmperezp@uma.es
Biología del desarrollo y cardiovascular
Entrevistas
- M. Gonzalo Claros
claros@uma.es
Bioquímica, biología molecular y bioinformática.
Escribir bien no cuesta trabajo
- Miguel Á. Medina Torres
medina@uma.es

Biología molecular y de sistemas, biofísica y bioquímica
Monitor

- Belén Delgado Martín
belendm@uma.es
Bioquímica y biología molecular. *Maquetación*
- Jesús Olivero
jesusolivero@uma.es
Zoogeografía y biodiversidad animal
- Juan Antonio Guadix Domínguez
jaguadix@uma.es
Desarrollo embrionario, diferenciación celular y biología de células madre
- Juan Carlos Codina
jccodina@uma.es
Microbiología, educación secundaria
- Luis Rodríguez Caso
caso@eelm.csic.es
Técnicas de laboratorio
- María Rosa López Ramírez
mrlopez@uma.es
Química física,

astronomía

- Rafael Antonio Cañas Pendón
rcanas@uma.es
Biología Molecular de plantas
- A. Victoria de Andrés Fernández
deandres@uma.es
Biología animal aplicada
Directora de Ciencia Sin Límites
- Héctor Valverde Pareja
hvalverde@uma.es
Biología evolutiva molecular
Maquetación y difusión

COMITÉ EDITORIAL DE HONOR

- Salvador Guirado Hidalgo
guirado@uma.es
Biología Celular
- Esteban Domingo
edomingo@cbm.uam.es
Evolución de virus
- Gonzalo Álvarez Jurado
g.alvarez@usc.es
Genética

La portada



Esta ilustración surgió como parte de mi trabajo fin de grado (TFG), necesario para finalizar mi grado en Biología por la Universidad de Santiago de Compostela (USC). El trabajo, titulado «Técnicas de Ilustración Científica en Historia Natural. As colecciones malacológicas da USC como modelo de estudo», sería publicado posteriormente en la revista «Nova Acta Científica Compostelana» (NACC). Para la realización de esta ilustración digital, que terminaría formando parte de una lámina donde se representaban diferentes vistas de esta especie (*Arca noae*), se utilizaron como modelo los ejemplares recogidos en la «Colección malacológica Emilio Rolán», depositada en el Museo de Historia Natural de la USC. Mediante el estudio de dichos ejemplares, así como también de otras fuentes bibliográficas (fotografías, artículos publicados que contaban con descripciones de la especie e ilustraciones realizadas previamente por otros autores), se pudo llevar a cabo la creación de un arquetipo de *A. noae*, donde se representan sus características más importantes, y que muestra el aspecto ideal de esta especie. En este caso, lo que se ha representado es la concha, pues éstas son de gran importancia a nivel taxonómico. Durante la elaboración del trabajo, decidí presentar esta ilustración al I Concurso de Ilustración Científica de la Universidad de Málaga, donde le fue concedida una mención especial.

Sarela Lorenzo Robledo

Índice

Editorial	4
La imagen comentada	5
Técnicas de detección del SARS-CoV-2	6
Compuestos bioactivos del olivo para combatir a los virus	13
Métodos de secuenciación: segunda generación	17
¿Vacunar o no vacunar?	24
Estabilidad genómica en Chondrichthyes	28
Visión personal sobre Manfred Eigen	31
Consumiéndonos más allá de nuestra propia naturaleza	39
Jóvenes científicos	43
Mujeres STEM@UMA	46

Editorial

En este 20 de septiembre, último día del verano, nuestra revista está de nuevo de vuelta. Dejamos atrás este extraño verano posconfinamiento y nos adentramos, no sin cierta incertidumbre, en el nuevo año académico. No obstante, algunas de nuestras dudas anteriores se han ido disipando. Ahora podemos confirmar que la COVID-19 no se atenuó con el verano, que en España ya se ha alcanzado el medio millón de casos según la OMS (la cifra más alta de Europa) y, que tras un mínimo de casos detectados en región europea por la OMS a principios de junio, ya se han superado en algunos miles el número de nuevos casos diarios, rompiendo la barrera situada a principios de abril de 2020. No, querido lector, no te confíes. El que no estemos confinados no significa que este proceso haya sido superado y que puedas bajar la guardia. A pesar de ello, los resultados de las primeras vacunas empiezan a rendir cuentas ante la comunidad científica. El trabajo liderado por Denis Y. Logunov que acaba de publicarse en *The Lancet* indica que la vacuna rusa, estratégicamente bautizada como Sputnik V, es segura. Como es innato a cualquier tema científico, es habitual que se alcen voces cuestionando los nuevos hallazgos, pero quizás no lo es tanto que las tales voces no adopten la forma de artículos revisados

por pares, sino de artículos sobre novedades, que mejor merecen ser llamados de opinión, los cuales también parecen tener cabida en *The Lancet*. Creo que esta pandemia nos manifiesta claramente una realidad, que no por conocida resulta menos incómoda para el hombre de ciencia honesto: que la actividad científica no es inmune al bamboleo de las esferas bastardas de los intereses políticos y económicos. No nos engañemos tampoco, quien zarandea el árbol a menudo son los propios científicos instigados por esos poderes. La ciencia tiene sus métodos, sus plazos, y, cómo no, sus límites, pero al igual que un Sócrates entre sofistas, siempre que ha habido un mínimo clima de libertad, la verdad científica se ha impuesto a la «verdad política». Por ello creo que esta pandemia se superará más pronto que tarde, que en breve habrá resultados y que finalmente la humanidad recibirá el fruto del trabajo de todos los que la están combatiendo. Quizás más lenta de lo que quisiéramos, la luz de la esperanza se va abriendo camino entre las tinieblas que, al día de hoy, nos siguen acechando.

Juan Antonio Pérez Claros

La imagen comentada



Crédito de la imagen: Juan Antonio Pérez Claros

¿NUESTRO ÚLTIMO ANTEPASADO COMÚN CON EL CHIMPANCÉ?

Contrariamente a cómo la iconografía popular representaba el debate a finales del s. XIX entre el paradigma evolucionista frente al creacionista, los defensores del primero no planteaban la manida frase que «el hombre proviene del mono», al menos entendido como algún mono de los actuales. El origen de la frase posiblemente se remonte a los primeros críticos de la evolución, en un intento de menoscabar las tesis darwinistas. Lo que realmente proponían los partidarios de la evolución es que todos los seres vivos compartimos una serie de antepasados comunes, tanto más cercanos conforme mayor sea la proximidad filogenética. Resultaría más que sorprendente, por no decir imposible, que alguna especie de primate actual fuese antepasado del *Homo sapiens*, dado que ello implicaría que no ha cambiado en nada desde que el conjunto que dio origen al linaje humano se escindió de ella.

De lo que sí estamos seguros es que nuestros parientes vivos más próximos son los bonobos (*Pan paniscus*),

con los cuales compartimos un 99 % de la secuencia del ADN^[1]. En esta figura se presentan el cráneo de un chimpancé común (*Pan troglodytes*), a la izquierda, y el de un humano actual, a la derecha. Entre ambos se sitúa el que es probablemente el primer fósil conocido de homínido, *Sahelanthropus tchadensis*. Dado que la antigüedad de dicho taxón se estima entre 6 y 7 millones de años, la cual según el reloj molecular se corresponde con la edad del último antepasado común a los humanos y chimpancés^[2]... ¿podría tratarse de nuestro último antepasado común con los simios actuales?

Referencias

- [1] Prüfer, K., Munch, K., Hellmann, I. y otros. The bonobo genome compared with the chimpanzee and human genomes. *Nature* 486, 527–531, 2012.
- [2] Steiper ME y Young NM. Primate molecular divergence dates. *Molecular phylogenetics and evolution* 41: 384–394, 2006.

TÉCNICAS DE DETECCIÓN DEL SARS-CoV-2

por ROCÍO BAUTISTA MORENO^(1,2), MACARENA ARROYO VARELA⁽³⁾ Y M. GONZALO CLAROS^(2,4)⁽¹⁾PLATAFORMA ANDALUZA DE BIOINFORMÁTICA. CENTRO DE SUPERCOMPUTACIÓN Y BIOINNOVACIÓN. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA.⁽²⁾INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS DE MÁLAGA (IBIMA).⁽³⁾UGC DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS. HOSPITAL REGIONAL UNIVERSITARIO DE MÁLAGA.⁽⁴⁾DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOQUÍMICA, UNIVERSIDAD DE MÁLAGA; CIBER DE ENFERMEDADES RARAS (CIBERER); INSTITUTO DE HORTOFRUTICULTURA SUBTROPICAL Y MEDITERRÁNEA (IHSM-UMA-CSIC).

ROCIOBM@UMA.ES, MACARROYO@UMA.ES, CLAROS@UMA.ES

Enviado: 19/05/2020

Aceptado: 01/10/2020

Los biomarcadores son moléculas biológicas ampliamente utilizadas para determinar el estado de una enfermedad y están siendo la base de las pruebas de diagnóstico clínico, tanto directas como indirectas, de la infección por SARS-CoV-2. Los biomarcadores directos se basan en la identificación de secuencias del genoma del virus, como los diagnósticos por RT-qPCR, por CRISPR-Cas9, o por secuenciación directa del genoma del virus en nanoporos (LampPORE). Las determinaciones indirectas se basan en la identificación de biomarcadores en respuesta a la enfermedad, como las pruebas serológicas, donde se identifican las IgM e IgG. Un nuevo paradigma de detección aparece con el desarrollo de nuevas pruebas basadas en biosensores, en las diferencias en el estado metabólico del tejido, en el estudio de imágenes radiológicas asistido por ordenador, o incluso en tomar muestras de saliva. Tener pruebas de diagnóstico más rápidas permitirá dibujar un mapa de la evolución de la enfermedad en la población, por lo que su uso es esencial.

Biomarkers are biological molecules widely used to determine disease stages. Clinical diagnostic tests in the SARS-CoV-2 infection, both direct and indirect, rely on biomarkers. Direct biomarkers are based on the identification of viral genome sequences, such as RT-qPCR diagnostics, those based on CRISPR-Cas9 systems, or direct sequencing of the viral genome by nanopores (LampPORE). Indirect tests are based on the identification of biomarkers in response to the disease, such as serological tests, where IgM and IgG are identified. Ongoing, new test based on biosensors, differences in the metabolic status of the tissue, computer-assisted study of radiological images, or salivary sampling, become a new paradigm. Having faster diagnostic tests will enable to trace the evolution of the disease in the population, so its use is essential.

Biomarcadores diagnósticos:

Desde épocas muy antiguas, la humanidad ha tenido mucho interés por entender por qué enfermamos y qué medidas debemos tomar para determinar exactamente cuál es el mal que nos aqueja. En muchas ocasiones, ese mal se creía causado más por una mano divina que por un causante biológico o un cambio fisiológico. Por suerte, esos tiempos los dejamos atrás hace muchos lustros.

Antes del siglo XIX, el mecanismo para identificar una enfermedad se limitaba a la observación de los síntomas externos de los trastornos internos. El austríaco austriaco Joseph Leopold Auenbrugger introdujo el método de la percusión torácica en 1761, que el francés René Théophile Héophile Hacinthe Laennec convirtió en auscultación de tórax con un cilindro de madera con un conducto interno y una

pieza en forma de embudo que denominó estetoscopio. Otra innovación diagnóstica fueron los rayos X para ver los huesos en 1895. Pero además de la observación, se empezó a plantear que también era necesario medir parámetros físicos, y el primero que aportó números fue el artillero publicado por Wexleder en 1946^[1], capaz de determinar la longitud del cuello del útero (parámetro muy importante en ciertas afecciones ginecológicas). Estábamos en la antesala de una medicina más precisa. En pocos años se pasó de poder realizar mediciones físicas, a realizar mediciones biológicas que nos marcaban ciertos parámetros importantes para determinar el estado de salud. Como ejemplo, podemos nombrar el primer glucómetro, inventado por Anton Hubert Clemens en 1968, que era capaz de medir la concentración aproximada de glucosa en la sangre (glucemia) al detectar la luz emitida por una tira reactiva (Dextrostix) y así controlar la diabetes tipo 1.

El desarrollo de nuevas técnicas y la adquisición de conocimiento hizo que en pocos años fuéramos capaces de medir una gran cantidad de parámetros biológicos, los llamados «biomarcadores». Así, en el año 1999, un grupo de expertos de los Institutos Estadounidenses de la Salud (NIH) definió en 2001 los biomarcadores como *elementos con unas características biológicas, bioquímicas, antropométricas, fisiológicas, etc., objetivamente mensurables, capaces de identificar procesos fisiológicos o patológicos, o bien de identificar una respuesta farmacológica a una intervención terapéutica*^[2]. Desde entonces, muchos han sido los elementos utilizados como biomarcadores con los que se pueden medir procesos biológicos (frecuencia cardíaca, tensión arterial, temperatura), procesos patológicos (presencia o ausencia de un patógeno o la fase de una enfermedad) o la respuesta de una persona a un tratamiento o medicamento (intolerancias o alergias). Pero hay que tener en cuenta que el riesgo de tener falsos positivos o falsos negativos en la detección de biomarcadores está presente en todas las pruebas de diagnóstico, puesto que ninguno llega al 100 % de acierto.

El SARS-CoV-2 y la COVID-19:

Como ya es sabido, a finales de diciembre, la Comisión Municipal de Salud y Sanidad de la provincia de Hubei (China) informó a la Organización Mundial de la Salud (OMS) de que habían identificado una serie de pacientes con un cuadro de neumonía desconocida. Desde entonces, muchos han sido los estudios realizados que finalmente han derivado en la identificación de un nuevo virus perteneciente a la familia de los coronavirus. Ha sido bautizado como SARS-CoV-2 porque se parece al coronavirus SARS-CoV-1 que provocaba el síndrome agudo respiratorio y severo (SARS). Su material genético es un ARN monocatenario extremadamente largo (unas 29 900 bases) para ser un virus de ARN. El cuadro clínico asociado al SARS-CoV-2, en cambio, es muy diferente al SARS y la OMS lo ha denominado COVID-19 (la **coronavirosis de 2019**, o bien la enfermedad por coronavirus de 2019¹). En unos casos cursa con síntomas leves, pero en otros deriva en una neumonía atípica grave. Desde ese momento, el virus no ha parado de extenderse por todos los países del mundo, con lo que ha provocado una pandemia que está poniendo en jaque los sistemas sanitarios, con miles y miles de muertos en todos los países.

Durante el confinamiento se ha hablado mucho de los distintos métodos que existen para confirmar

la infección por SARS-CoV-2 en los pacientes, todos ellos basados en la identificación de ciertos biomarcadores que muestran el estado patológico en el que se encuentran los enfermos. Se les denomina **test (pruebas) de diagnóstico**, y vamos a intentar explicar cuáles son los fundamentos y las diferencias de cada uno de ellos. De paso, comentaremos cómo les afectan los falsos negativos (que nos hacen creer que el paciente está sano con consecuencias graves para el paciente y para la comunidad) y los falsos positivos (que nos dan una percepción erróneamente alta de la inmunidad colectiva).

Diagnóstico directo: la PCR:

Este método utiliza como biomarcador parte de la secuencia del ácido nucleico del genoma del virus sobre el que se aplica una prueba denominada **PCR** (*polymerase chain reaction* → «reacción en cadena de la polimerasa»), diseñada por Kary B. Mullis en 1983 y que revolucionó el mundo de la genética y la biología molecular. Mullis recibió por este descubrimiento el Nobel de Química en 1993. Esta técnica es capaz de realizar millones de copias de un ácido nucleico, por lo que su sensibilidad suele ser muy elevada. En el campo del diagnóstico se suelen emplear robots automatizados con kits estandarizados, dado que poner a punto la PCR para cada diagnóstico necesita que el personal tenga una formación específica.

La PCR se utiliza para amplificar el material genético del SARS-CoV-2, cuando esté presente. Por eso, el primer paso consiste en extraer el ARN de las muestras de los pacientes. Dichas muestras proceden de la parte posterior de la garganta. Entre los últimos avances está el que no sea necesario purificar el ARN, sino que baste con lisar las células y desnaturalizar las proteínas durante 5 a 10 min a 95 °C porque este virus no sintetiza en ningún momento un ADN intermedio como sí hacen los retrovirus. Como la PCR solo sabe amplificar ADN, el ARN vírico hay que transformarlo antes en ADN mediante una enzima denominada retrotranscriptasa o transcriptasa inversa. Con este ADN complementario ya podemos realizar una RT-qPCR que se denomina así por ser «cuantitativa» (q: *quantitative*) en «tiempo real» (RT: *real time*, como si hubiera un tiempo 'irreal'). La ventaja es que la acumulación de los millones de copias del material genético del virus, si está presente en la muestra, se observa en directo (o sea, en lo que está de moda llamar «tiempo real»; **Figura 1A**). Para el diagnóstico del SARS-CoV-2 se suelen usar sondas TaqMan, lo

¹<http://mgclaros.blogspot.com/2020/03/covid-19-es-femenino-queridos-mios.html>

que permite detectar varias secuencias (dos del virus más un control de carga de una secuencia humana) en el mismo pocillo). La reacción de PCR no debería ocupar más de dos horas para garantizar la detección del ARN del virus aunque sea en baja cantidad (el umbral está situado en unas 5,2 copias del genoma en la reacción). Como puede colegirse, se trata de una prueba muy específica (> 96 %) y muy sensible (> 93 %), pero también reviste cierta complejidad técnica, pues depende mucho de la correcta toma, del transporte y del procesamiento de la muestra (desde la inactivación del virus en una sala P3 hasta la amplificación, pasando por la extracción del ARN). Por tanto, el proceso completo puede demorarse hasta doce horas (se tardaban varios días en los momentos más graves al comienzo de la pandemia). Los laboratorios de referencia bien automatizados no superaban las 700 PCR al día, pero la cesión de máquinas de 384 pocillos de los laboratorios veterinarios y de investigación, e incluso la donación de robots como el que acaban de prometer al Hospital Regional de Málaga, capaz de hacer 2,400 pruebas al día¹, ha servido para acelerar el proceso. Los falsos negativos suelen venir de que se tomó la muestra de un lugar donde no había virus. En cambio, los falsos positivos suelen deberse a que la persona que manipula la muestra está contagiada y ha contaminado involuntariamente el hisopo o torunda de muestreo, o a que el laboratorio la contamine en algún momento del proceso. Los casos de teórica reinfección realmente se deben a que la PCR detecta el ARN del genoma del virus, sea o no infectivo.

Hasta ahora, las muestras se han venido tomando de la laringe con un hisopo, un proceso bastante invasivo que tensa tanto en el paciente como en el personal sanitario, porque aunque dura unos segundos, puede parecer eterno cuando provoca náuseas e incluso dolor. Además se suele realizar también un hisopado orofaríngeo que es menos invasivo, pero igual de desagradable para el paciente. Todas estas molestias podrían desaparecer desde que sabemos que el coronavirus está en el 87-100 % de las muestras de saliva de los contagiados. Por tanto, escupir en un tubo estéril permite detectar el SARS-CoV-2 de forma simple (no hace falta conservar la muestra en frío ni extraer el ARN), no invasiva (no se usan hisopos), flexible (se ha validado con reactivos, material fungible y equipos de distintos proveedores), barata (menos de 5 \$ de fungibles por muestra) y segura, además de reducir el estrés y ahorrar equipos

de protección individual. El pasado 15 de agosto, la FDA ha aprobado el método **SalivaDirect**², cuyos resultados concuerdan en un 94 % con los obtenidos con el hisopado habitual, y un límite de detección de 6 a 12 copias del ARN del coronavirus por mililitro de muestra. La descripción se puede encontrar en una prepublicación y el protocolo ya es de dominio público en la plataforma protocols.io³, por lo que no hay que pagar para usarlo.

DetECCIÓN POR CRISPR-CAS Y RT-LAMP:

Las bacterias tienen una especie de sistema inmunitario que les permite defenderse frente a patógenos víricos gracias a que almacenan en su genoma, a modo de memoria, parte de la secuencia de cada virus que la infecta. Este mecanismo de defensa actúa mediante un complejo denominado CRISPR-Cas (*clustered regularly interspaced short palindromic repeats* → «grupos de repeticiones palindrómicas cortas a intervalos regulares»⁴), donde Cas es una endonucleasa imprescindible para su funcionamiento. Este complejo, ante una segunda infección de un virus, es capaz de reconocerle la secuencia y defenderse cortando el ADN invasor.

Los científicos han aprovechando esta funcionalidad para desarrollar una prueba de detección rápida denominada **DETECTR** (*SARS-CoV-2 DNA endonuclease-targeted CRISPR trans reporter*)^[3] capaz de reconocer, a través de un ARN guía con secuencias coronavíricas, partes del genoma del SARS-CoV-2, con lo que lo corta como si actuaran unas tijeras (Figura 1B). El sistema es tan sensible como la RT-qPCR, pero con la gran ventaja de que tarda mucho menos, tan solo unos 40 minutos. Es tan reciente que aún no ha sido homologado como test de diagnóstico en nuestro país.

En este sistema, el ARN del virus necesita una amplificación isotérmica previa acoplada a retrotranscripción: una RT-LAMP (*reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification*) basada en la «amplificación isotérmica mediada por bucles» (LAMP: *loop-mediated isothermal amplification*). La LAMP es una alternativa a la PCR, más simple y de bajo coste, que se realiza a una temperatura constante entre 60 y 65 °C con hasta cuatro cebadores para amplificar seis regiones diferentes del molde^[4]. No ha desplazado a la PCR para la clonación ni otras aplicaciones moleculares, pero sí para el diagnóstico y la detección de virus, bacterias, tumores, etc.

¹https://www.malagahoy.es/malaga/desescalada-Malaga-robot-Hospital-Regional-PCR_0_1467753428.html

²<https://covidtrackerct.com/about-salivadirect/>

³<https://www.protocols.io/view/salivadirect-rna-extraction-free-sars-cov-2-diagno-bjswkfn6>

⁴<https://mgclaros.blogspot.com/2015/12/que-significa-cripr-en-espanol.html>

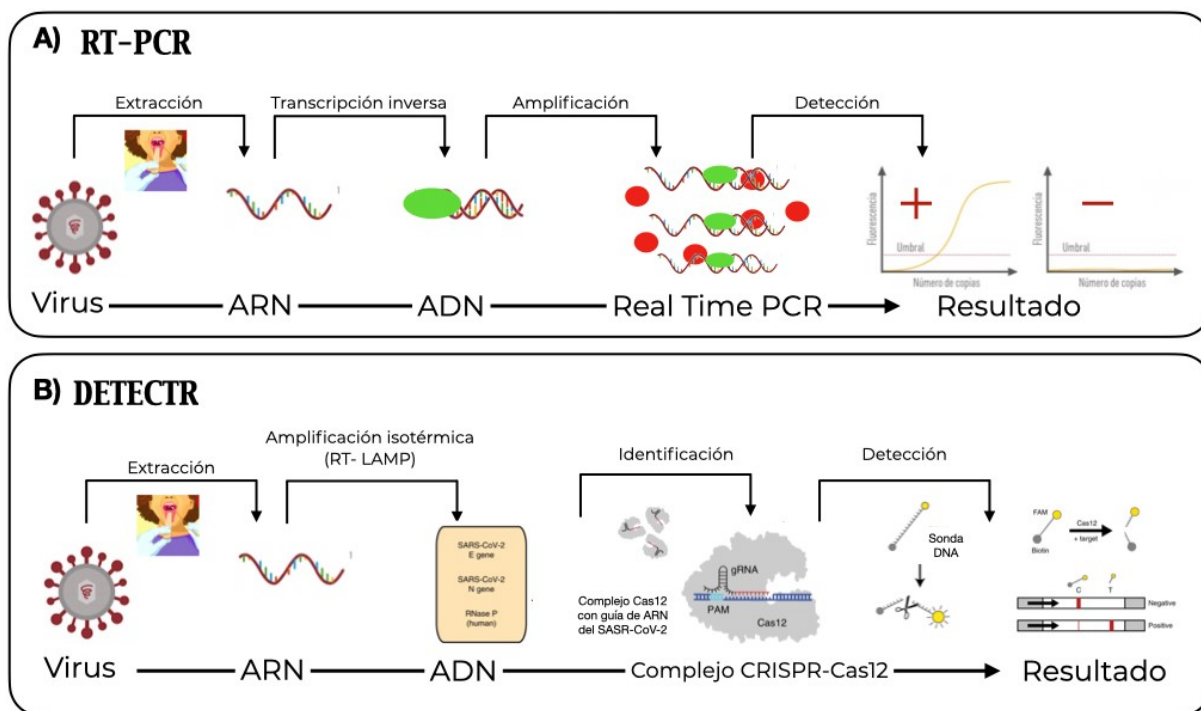


Figura 1: Identificación del virus SARS-CoV-2 a través de su ARN. A) Por PCR en tiempo real. B) Por CRISPR-Cas (modificada de [3]).

Como se puede combinar con la retrotranscripción (RT-LAMP), se han empezado a idear kits basados en esta técnica en los que la detección es colorimétrica. Parecen ser igual de sensibles, más baratos y más rápidos que los anteriores de CRISPR y RT-qPCR, como el que tiene en estudio la empresa New England Biolabs^[5].

Secuenciación rápida por nanoporos:

La secuenciación por nanoporos¹ es una reciente tecnología que se viene utilizando cada vez más en la investigación. Tiene la gran ventaja de que basta un instrumento portátil y poco costoso que cabe en la palma de la mano, al que no suele añadirse ningún reactivo, sino la muestra. De hecho, la mayor complicación reside en la preparación de dicha muestra para que la hebra de ARN consiga atravesar el poro de una proteína sintética cuyo un diámetro interior mide 1 nm (de ahí lo de «nanoporo»). Esta proteína está colocada sobre una membrana de polímero de baja conductividad, por lo que el paso del ácido nucleico crea una alteración característica en la corriente eléctrica que permite identificar cada nucleótido cuando pasa por el nanoporo. Como no hay límite de tamaño para los fragmentos secuenciados, se puede obtener todo el ARN del virus en un solo fragmento (lo que facilita el análisis bioin-

formático posterior con respecto a la tecnología de lecturas cortas de Illumina y SOLiD). Así pues, en tan solo 8 horas consigue secuenciar los casi 29 900 nt del genoma del SARS-CoV-2. Ya se había experimentado este ensayo en con los brotes del virus del Ébola y el del Zika. Para la pandemia de COVID-19, el pasado mes de mayo se ha propuesto **LampPORE**², una modificación que simplifica y abarata la prueba todavía más al realizarla en tan solo 4-5 horas, con lo se aumenta además la vida útil de cada cubeta de lectura (*flow cell*). A pesar del ahorro en reactivos, de ser portátil, de devolver el genoma como uno o muy pocos fragmentos, y de ser fácil de utilizar, es la más cara de todas las mencionadas, pero lo compensa con el aporte de la secuencia del virus y la detección de nuevas cuasiespecies. Por eso, debería plantearse su introducción en los hospitales para establecer un sistema de diagnóstico y seguimiento de la COVID-19 o cualquier otra infección que requiera seguimiento. Por desgracia, en España aún no está muy implantada esta tecnología, si bien muchos grupos que la usan están optimizando el protocolo con la mente puesta en su futura aplicación en el entorno clínico.

Diagnósticos serológicos:

En los diagnósticos serológicos, los biomarcadores que se utilizan se basan en la respuesta inmunitaria

¹<https://nanoporetech.com/applications/dna-nanopore-sequencing>

²<https://nanoporetech.com/covid-19/lampore>

de nuestro organismo a la infección, por lo que no se detecta de forma directa la presencia del material genético del virus, sino otro tipo de moléculas: los antígenos (elementos extraños) y los anticuerpos (proteínas de tipo inmunoglobulina que reconocen los antígenos), dos moléculas que se reconocen de forma específica. En este caso, se dice que la prueba es una **inmuncromatografía** lateral. A diferencia de las anteriores, tiene la gran ventaja de que puede realizarse a domicilio y no necesita ninguna formación especial. Hay dos tipos principales: los que detectan antígenos del virus, y los que detectan anticuerpos contra el virus.

En los **test de antígenos**, lo que detectamos es la proteína S vírica, la proteína que se proyecta hacia el exterior del virus en forma las espículas (*spikes*) o peplómeros, y que le dan el aspecto de corona solar que les da su nombre. Estas proteínas se obtienen de muestras respiratorias de exudado nasofaríngeo. La prueba se realiza sobre un soporte sólido que lleva adheridos anticuerpos específicos que reconocen su antígeno específico (la proteína S). El resultado es muy rápido, en minutos, donde un valor positivo nos muestra que en ese momento estamos infectados porque tenemos partículas víricas. El problema principal

de estas pruebas es su baja sensibilidad y especificidad en comparación con la detección directa del genoma vírico por RT-qPCR.

Los **test de anticuerpos** utilizan un sistema de detección muy parecido al de los antígenos, pero se basan en la respuesta inmunitaria de nuestro organismo ante la presencia del coronavirus. El sistema inmunitario sintetiza inmunoglobulinas (anticuerpos) de distintos isotipos para defenderse, isotipos que van cambiando en función de la etapa de la enfermedad. En la primera respuesta, la rápida, se secretan más inmunoglobulinas M (IgM). En la segunda oleada de defensa se sintetizarán (y se guardarán como memoria) las inmunoglobulinas G (IgG). En el test de anticuerpos se fijan al soporte sólido las proteínas víricas, normalmente la proteína S. La muestra de partida ya no es nasofaríngea, sino de sangre. Según la Sociedad Española de Inmunología y el Instituto de Salud Carlos III^[6], las primeras IgM que aparecen no se acumulan en suficiente cantidad hasta los 5 o 7 días de la infección, unos 2-4 días después de la aparición de los síntomas, por lo que este tipo de diagnóstico no es tan eficaz en la etapa asintomática de la infección. La respuesta importante con IgG es más tardía: este isotipo de anticuerpos no se

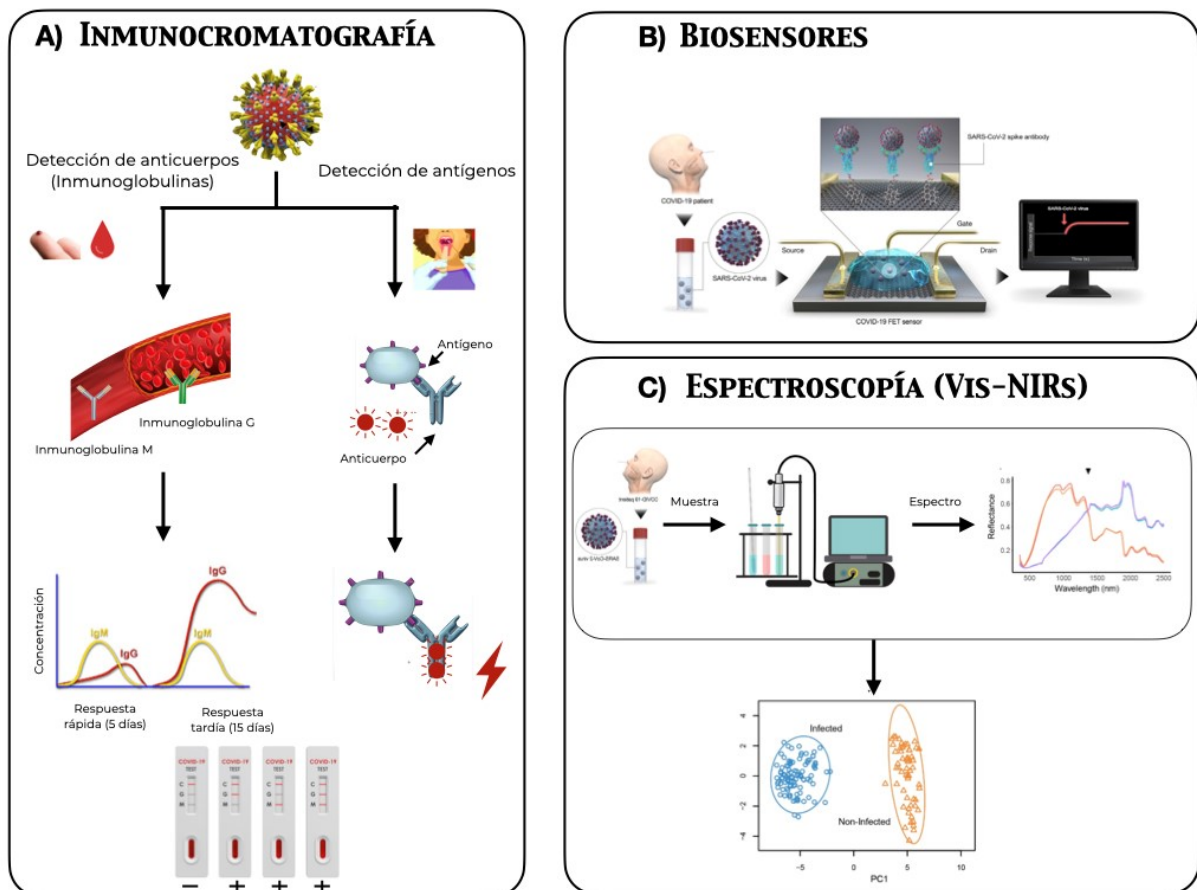


Figura 2: Otras formas de detección del SARS-CoV-2. A) Test serológicos. B) Biosensores (imagen tomada de^[7]). C) Espectroscopía (imagen tomada de <http://boscalia.org/covinirs>)

acumula en gran cantidad antes de los 15 días de la infección (Figura 2A), por lo que darán resultados muy fiables a partir de ese momento. La detección de ambas en el mismo test nos puede dar una idea de la fase de la enfermedad en la que nos encontramos: al principio (solo IgM), en plena infección (están las dos) o ya la hemos pasado (solo IgG). Sin embargo, aunque la detección solo tarde unos minutos y no se necesite personal especializado, vuelve a ser menos sensible y específica (se acerca al 80%) que la detección directa con el test de RT-qPCR. Si por algún motivo se quieren detectar las IgA, habría que acudir a técnicas más laboriosas basadas en inmunoensayos enzimáticos con cambio de color (ELISA) o emisión de luz (CLIA). Cualquier experto interpretará que un ELISA o un CLIA serán más precisos que los test rápidos, pero dado que estos análisis no son portátiles y necesitan más cantidad de muestra de sangre venosa central (sangre extraída con jeringuilla, que es donde los anticuerpos están más concentrados), no son los preferentes. Lo sorprendente ha sido la coincidencia entre los ELISA y las inmunocromatografía laterales, que oscila entre el 90% y el 97%, lo que respalda el uso de los test rápidos, que son más fáciles, baratos, rápidos y, sobre todo, menos cruentos para el paciente. No obstante, cualquiera de estas técnicas dará falsos negativos, que oscilan entre el 20 y el 30% debido a que el umbral de detección requiere una cantidad relativamente alta de anticuerpos.

Biosensores:

Por otro lado, se están desarrollando otros tipos de técnicas que no se basan en una reacción enzimática, sino que utilizan unos dispositivos integrados y autónomos constituidos por un chip sensor (de ahí que se denominen «biosensores») que, en contacto con los biomarcadores (antígenos, anticuerpos o fragmentos del genoma vírico) producen una reacción. El biosensor contiene un transductor que detecta las reacciones y las convierte inmediatamente en un valor numérico cuantificable. Su principal ventaja es que se pueden realizar sin grandes ni costosas infraestructuras de laboratorio. Además, según el tipo de biosensor, se pueden ofrecer medidas inmediatas, en directo (o como les gusta a otros, en ‘tiempo real’), sin que haya que amplificar señales ni usar marcajes (ya sean de fluorescencia o colorimétricos). Entre los biosensores que se están desarrollando hasta el momento cabe destacar el **COVID-19 FET**^[7], aunque como sus propios desarrolladores indican, es de dos a

cuatro veces menos sensible que la PCR (Figura 2B).

Nuevo paradigma de detección:

Hasta el momento, todas las técnicas descritas están basadas en la identificación, de una forma u otra, de algún biomarcador que determine la presencia del virus en el organismo a través de sus proteínas o su ácido nucleico, o en la percepción la huella dejada en el sistema inmunitario. Sin embargo, el nuevo paradigma lo conforman las técnicas que no se basan en la detección de un único biomarcador.

La técnica de **espectroscopía del infrarrojo cercano (Vis-NIRs)** se plantea el estudio del estado metabólico completo de una muestra para detectar el SARS-CoV-2 en una muestra de exudado nasofaríngeo sin necesidad de más modificaciones. Se basa en su capacidad para registrar las propiedades de la materia mediante pulsos de energía aplicados en el espectro de absorción, que se extiende desde el visible (780 nm) hasta los 2500 nm. Los pulsos de energía lumínica aplicados atraviesan su superficie y provocan la vibración de las moléculas, que luego se dispersan en todas las direcciones en función de la composición de la muestra. Las vibraciones se corresponden con los diferentes enlaces moleculares y grupos reactivos de las sustancias en el exudado, correlacionadas directamente con el metaboloma. Un espectro infectivo con el SARS-Cov-2 será significativamente diferente de un espectro no infectivo (Figura 2C). Se trata de una técnica precisa, rápida y económica que ofrece el resultados en menos de un minuto sin que se necesiten otros reactivos, por lo que es, además, sostenible¹.

Otra de las técnicas que se están poniendo en marcha sin necesidad de identificar moléculas es el **examen médico por imágenes**, mediante el estudio exhaustivo de las radiografías de rayos X tradicionales o de las tac². En este sentido, han surgido varias iniciativas en las que participan hospitales y centros de investigación de toda Europa, como por ejemplo la apoyada por la Sociedad Europea de Informática de Imágenes Médicas (EuSoMII) y coordinada por el Instituto del Cáncer de los Países Bajos, denominada Imaging COVID-19 AI³. El objetivo principal es el desarrollo de algoritmos que apliquen la **inteligencia artificial** al análisis de imágenes, de tal forma que se permita un diagnóstico preciso y rápido de la infección. El estudio se ha puesto en marcha a partir de miles de imágenes de pacientes de distinta gravedad y ha alcanzado una fiabilidad del 80%.

¹<http://boscalia.org/covinirs>

²<https://dle.rae.es/tac>

³<https://imagingcovid19ai.eu/>

Como veis, disponemos de pruebas diagnósticas lo que su uso, así como el aumento de la sensibilidad cada vez más rápidas que nos pueden dibujar un mapa de evolución de la enfermedad en la población, por y especificidad, se hacen completamente necesarios.

Para saber más:

- [1] D. J. Wexler. A simple uterine sound marker. *Am J Surg.* 1946. 72(5), 767. DOI: 10.1016/0002-9610(46)90361-3
 - [2] Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clinical Pharmacology and Therapeutics.* 2001. 69(3), 89-95. DOI: 10.1067/mcp.2001.113989
 - [3] James P. Broughton, Xianding Deng, Guixia Yu, Clare L. Fasching, Venice Servellita, Jasmeet Singh, Xin Miao, Jessica A. Streithorst, Andrea Granados, Alicia Sotomayor-Gonzalez, Kelsey Zorn, Allan Gopez, Elaine Hsu, Wei Gu, Steve Miller, Chao-Yang Pan, Hugo Guevara, Debra A. Wadford, Janice S. Chen, Charles Y. Chiu . CRISPR–Cas12-based detection of SARS-CoV-2. *Nat Biotechnol.* 2020. DOI: 10.1038/s41587-020-0513-4.
 - [4] Tsugunori Notomi, Hiroto Okayama, Harumi Masubuchi, Toshihiro Yonekawa, Keiko Watanabe, Nobuyuki Amino, Tetsu Hase, Loop-mediated isothermal amplification of DNA, *Nucleic Acids Research.* 2000. 28(12), e63, DOI: 10.1093/nar/28.12.e63.
 - [5] Yinhua Zhang, Nelson Odiwuor, Jin Xiong, Luo Sun, Raphael Ohuru Nyaruaba, Hongping Wei, Nathan A Tanner. Rapid Molecular Detection of SARS-CoV-2 (COVID-19) Virus RNA Using Colorimetric LAMP. *medRxiv* 2020.02.26.20028373.
 - [6] Instituto de Salud Carlos III. Interpretación de las pruebas diagnósticas frente a SARS-CoV-2. 2020. <https://www.mscbs.gob.es/> [consulta 20-5-20]
 - [7] Giwan Seo, Geonhee Lee, Mi Jeong Kim, Seung-Hwa Baek, Minsuk Choi, Keun Bon Ku, Chang-Seop Lee, Sangmi Jun, Daeui Park, Hong Gi Kim, Seong-Jun Kim, Jeong-O Lee, Bum Tae Kim, Edmond Changkyun Park, and Seung Il Kim. Rapid Detection of COVID-19 Causative Virus (SARS-CoV-2) in Human Nasopharyngeal Swab Specimens Using Field-Effect Transistor-Based Biosensor. *ACS Nano.* 2020. 14(4), 5135-5142. DOI: 10.1021/acsnano.0c02823.
-
-

LAS HOJAS DE OLIVO, FUENTE DE COMPUESTOS BIOACTIVOS QUE PODRÍAN AYUDARNOS A COMBATIR LOS CORONAVIRUS ADEMÁS DE AL VIH

OLIVE LEAVES AS SOURCE OF BIOACTIVE COMPOUNDS THAT COULD HELP US AGAINST CORONAVIRUSES AND HIV

por CAROLINA VALLE PIQUERAS

LICENCIADA EN BIOLOGÍA POR LA UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. FUNDADORA DE OLIHOJAS

OLIHOJAS@GMAIL.COM

Se presentan en este estudio tres razones por las cuales se propone que las hojas de olivo quizás nos podrían ayudar a hacer frente a las infecciones por VIH y por coronavirus tales como SARS-CoV y SARS-CoV-2 (COVID-19):

1. Hay estudios que demuestran que ciertos componentes en las hojas de olivo, tales como los polifenoles hidroxitirosol (HT) y oleuropeína (Ole), son capaces de actuar efectivamente frente a un amplio espectro de microorganismos (bacterias, virus y hongos), muchos de ellos responsables de complicaciones nosocomiales^[1,2,3]. Podría ser interesante estudiar científicamente si las hojas de olivo podrían ayudarnos no solo a actuar directamente sobre virus como los coronavirus y el VIH^[4] sino también a reducir las posibilidades de complicaciones por microorganismos oportunistas, pudiéndose utilizar como medida profiláctica.
2. Otro motivo por el que las hojas de olivo podrían ayudarnos sería por la probada capacidad de hidroxitirosol y oleuropeína para generar el bloqueo de la glucoproteína implicada en el reconocimiento y posterior fusión y entrada del virus en su hospedador^[4,5,6,7].
3. Otra posible vía de acción sería mediante el impedimento de unión de los virus tipo coronavirus al receptor ACE2 de las células hospedadoras al no dejarle a los virus dicho receptor disponible^[8]. Gracias quizás a la oleuropeína^[9] y a ciertos péptidos presentes en el aceite de oliva, que también podrían encontrarse en las hojas^[10].

Veamos de forma más detallada cada una de estas tres vías o motivos por los que merecería la pena demostrar experimentalmente si las hojas de olivo podrían ayudarnos contra SARS-CoV-2 (COVID-19), SARS-CoV y VIH entre otros virus.

1. El potente y amplio espectro de acción antimicrobiana de las hojas de olivo podría atacar directamente a estos virus o bien servir de profilaxis:

Hay estudios que demuestran que hay componentes en las hojas de olivo, tales como los polifenoles Ole y HT, capaces de actuar frente a un amplio espectro de microorganismos (bacterias, virus y hongos)^[1,2,3]. Entre los virus en los que se ha visto efectividad están el herpes de la mononucleosis, el virus de la hepatitis, el rotavirus, el rinovirus bovino, el parvovirus canino, el virus de la leucemia felina, el virus

respiratorio sincitial, el virus parainfluenza tipo 3, así como el virus VIH, que comparte similitudes (de las que hablaremos) con los coronavirus^[1,4]. También ha sido demostrada una potente acción frente a bacterias como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*^[3], muchas veces causantes de complicaciones por infección nosocomial cuando presentan resistencia a los antibióticos más comúnmente utilizados. Así pues, por su acción antimicrobiana, se plantea desde aquí la posibilidad de utilizar de algún modo y concentración, las hojas de olivo tanto para actuar directamente sobre virus como los coronavirus y el VIH^[4], así como para reducir las posibilidades de complicaciones debidas a microorganismos oportunistas en los pacientes, por su amplio espectro de acción. Obviamente, esta propuesta debería ser previamente contrastada de forma experimental.

2. Las hojas de olivo presentan componentes que se podrían unir al virus (coronavirus y VIH), evitando la fusión con las células hospedadoras del paciente:

Los coronavirus son virus de ARN, envueltos y de cadena positiva, con los genomas más grandes dentro del grupo de virus ARN. Se caracterizan por poseer una glucoproteína incrustada en su superficie^[11,12] muy similar en estructura entre distintos tipos de coronavirus, y a su vez con similitudes a la de otros virus^[4]. El coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV) surgió hacia 2013 en el Sudeste asiático^[13] y comparte con el recientemente emergido SARS-CoV-2, que causa la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19), un 80 % de su ARN^[8]. SARS-CoV-2 además comparte un 96 % con el coronavirus de murciélago Bat-SARSr-CoV RaTG13^[14]. Pues bien, a fin de buscar terapias conocidas que pudieran servir para hacer frente a SARS-CoV-2, nos podemos centrar en una estructura similar que comparte, con otros tipos de virus, la glucoproteína de su envuelta, la cual es esencial para la entrada viral en las células hospedadoras. A esta glucoproteína se le llama proteína *spike*, espicular o S^[12] y pertenece a un grupo de proteínas de fusión llamado clase I. Las proteínas de esta clase, poseen dos regiones que forman una conformación activa de fusión similar entre distintos tipos de virus llamadas regiones de repetición HR (HR1 y HR2). Así pues, la proteína de hemaglutinina del virus de la gripe, el gp160 del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), la glucoproteína del virus del ébola y la proteína de fusión (proteína F) del paramyxovirus^[4], son todas glucoproteínas transmembranarias de clase I que se encuentran en la superficie de la membrana viral como oligómeros. La mayoría de estas glucoproteínas se sintetizan como precursores de una sola cadena que contienen un sitio de escisión para una proteasa; la escisión divide a los precursores en dos subunidades: S1 y S2 en coronavirus, hemaglutinina 1 y 2 en el virus de la gripe, gp120 y gp41 en el virus de inmunodeficiencia VIH, glucoproteína-1 y -2 en el virus del ébola, y F1 y F2 en el paramyxovirus^[4].

Todas estas proteínas incluidas en la clase I presentan como hemos mencionado, unas regiones de repetición llamadas HR1 y HR2 en la zona responsable de la fusión del virus con la membrana del hospedador (HR1 y HR2 de coronavirus se encuentran en la subunidad S2)^[4,8]. Las regiones HR1 y HR2 forman una estructura de horquilla capaz de yuxtaponer las superficies virales y celulares, facilitando así la fusión con la membrana celular y la posterior entrada viral^[4].

Ahora bien, centrándonos en la glucoproteína S

de los coronavirus y comparándola con la del VIH, podemos explicar, al analizar su estructura y función, cómo diversos componentes presentes en las hojas de olivo podrían ayudarnos a combatir a estos virus:

La subunidad distal (S1) de la proteína S contiene el dominio de unión al receptor. El dominio se llama RBD y el receptor ha sido demostrado ser la proteína ACE2^[8]. La subunidad anclada a la membrana (S2) contiene un posible péptido de fusión y dos regiones de repetición HR (HR1 y HR2)^[4,8]. Se espera que los agentes que previenen cambios conformacionales en la proteína de fusión (mediante la estabilización del estado intermedio) impidan la activación de la fusión y, por lo tanto, inhiban la entrada viral. Así es el caso de los péptidos como el T-20 (enfuvirtida), que en el caso del VIH pueden inhibir eficazmente la infección de manera dominante-negativa mediante la unión a ciertas regiones de la proteína encargada de la fusión viral, concretamente en regiones de gp41 que podría ser el equivalente a S2 en coronavirus^[4].

Pues bien, los trabajos de investigación de Lee-Huang y colaboradores^[5] identificaron la oleuropeína (Ole) y el hidroxitirosol (HT) como una clase única de inhibidores del VIH, a partir de extractos de hojas de olivo, eficaces contra la fusión viral y la integración. Encontraron que Ole y HT se unen al bolsillo hidrófobo conservado en la superficie del dominio de fusión de gp41 del VIH. Y es que desde antes venían informando que el extracto de hoja de olivo es potente contra este virus^[6]. El grupo de Lee-Huang no solo demostró que Ole y HT son activos inhibiendo la transmisión de VIH de célula a célula si no que también actúan inhibiendo la producción del antígeno núcleo viral p24.

Ole y HT son moléculas pequeñas con pesos moleculares de 539 Da y 153 Da, respectivamente. Su unión a gp41, provocando un redoblamiento que en definitiva impide la fusión del virus con la célula hospedadora, es un excelente ejemplo de cómo las moléculas pequeñas pueden bloquear la formación de complejos proteína-proteína. Lee-Huang y colaboradores ya en un artículo de 2007^[5] sugerían que Ole y HT pueden ser útiles contra otros virus con glucoproteína transmembranaria clase I, incluyendo coronavirus asociados al síndrome respiratorio agudo grave^[4,15], virus respiratorio sincitial, virus del ébola^[16], virus del sarampión^[17] y gripe aviar^[18,19].

Fuzeon (T-20 o enfuvirtida) es el único inhibidor de fusión del VIH aprobado por la FDA^[20,21]. Fuzeon se produce comercialmente por síntesis química. Debido a su gran tamaño, su proceso de fabricación es muy complejo, con 106 pasos químicos^[22,23]. Mientras que la Ole y el HT se pueden preparar fácilmente a partir de extracto de hoja de olivo natural en solo dos

pasos: desglucosilación y oxidación. Además, añade el grupo de investigación de Lee-Huang, que el hecho de que Ole y HT actúen tanto fuera como dentro de los ambientes celulares en la entrada e integración viral, ofrece beneficios únicos a estas pequeñas moléculas contra la resistencia viral.

Así que desde aquí animamos a que se considere la posibilidad de comprobar científicamente si el extracto de hojas de olivo o bien los componentes Ole y HT pudieran tener utilidad en el tratamiento de enfermedades virales.

3. Ciertos componentes de las hojas de olivo podrían unirse al receptor de coronavirus, entorpeciendo así la unión del virus con su receptor en la membrana celular:

Un estudio con humanos de 2011 concede al extracto de hojas de olivo (500 mg, 2 veces al día durante 8 semanas) un efecto similar al del fármaco antihipertensivo captopril (12,5 mg)^[9]. El captopril pertenece a una clase de medicamentos llamados inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (ACE). Otros estudios demuestran que hay péptidos en el aceite de oliva capaces de unirse a ACE para inhibirla^[10], aunque no se especifica a qué tipos de ACE se unirían ni si realmente estos péptidos también se encuentran en las hojas de olivo. Pues bien, se ha demostrado que la glucoproteína S de los coronavirus SARS-CoV y SARS-CoV-2 tienen en ambos casos gran afinidad por el receptor ACE2^[8].

La función biológica de la proteína ACE2 es la maduración de la angiotensina 2, una hormona que controla la vasoconstricción y la presión arterial. ACE2 es una proteína de membrana que se expresa en pulmones, el corazón, los riñones y el intestino^[24].

El reconocimiento de los receptores por los coronavirus es el primer paso esencial para infectar las células huésped^[11,12]. La glucoproteína trimérica anclada en la superficie de los coronavirus (S) media la unión de estos a ACE2 humano. La glucoproteína S es cortada por la proteasa del huésped en dos polipéptidos separados: S1, que contiene el dominio de unión al receptor (RBD), y S2, que media la fusión del virión con las membranas celulares^[4] (en la estrategia que hemos mencionado en el apartado 2, Ole y HT sería sobre S2 donde actuarían). El motivo de unión al receptor en RBD, situado en S1, es responsable de la unión directa a ACE2 y su afinidad de unión puede afectar directamente a la infectividad del virus y a la transmisibilidad^[8].

Por lo tanto, dado que hay componentes en el extracto de hojas de olivo que podrían unirse a ACE2^[9,10], igual que los coronavirus, cabe pensar

en que podría haber una competencia entre los componentes del extracto de hojas de olivo y coronavirus por unirse a ACE2, lo que reduciría las posibilidades de fusión y por lo tanto de infección de las células hospedadoras. Aunque habría que demostrar a qué tipo de ACE se unen los componentes presentes en las hojas de olivo (oleuropeína y posibles péptidos). Posiblemente tanto a ACE1 como a ACE2 pues existen péptidos capaces de unirse igualmente a ACE1 como a ACE2^[25].

En resumen, hemos visto tres grandes frentes, motivos o vías por los que aquí se sugiere que puede merecer la pena estudiar científicamente si las hojas de olivo podrían ayudarnos a combatir la pandemia provocada por SARS-CoV-2 entre otras. Bien por su efecto antimicrobiano en general, sirviendo de profilaxis (apartado 1), por inhibición de la fusión virus-membrana del hospedador (apartado 2) o bien reduciendo las posibilidades de que el virus encuentre, en las células hospedadoras, receptores ACE2 disponibles a los que unirse (apartado 3). Los dos últimos apartados comparten el hecho de que impedirían al fin y al cabo la entrada del virus en las células hospedadoras, evitándose así la infección.

Los investigadores interesados tendrían que realizar los estudios pertinentes para comprobar todas las hipótesis aquí planteadas. Habría que determinar si la mayor efectividad la darían sus principales componentes activos (Ole y HT) por separado o bien el extracto más o menos concentrado por la grandiosa sinergia que tantas veces la naturaleza nos ofrece. Animo desde este artículo a que grupos de investigación se lancen a estudiar el potencial de las hojas de olivo (o de sus compuestos bioactivos) para el tratamiento de enfermedades virales.

Referencias

- [1] Bertelli M y otros. Hydroxytyrosol: A natural compound with promising pharmacological activities. *J Biotechnol.* 10;309:29-33, 2020.
- [2] Syed Haris Omar. Oleuropein in olive and its pharmacological effects. *Sci Pharm* 78(2):133-54, 2010.
- [3] Himour S, Yahia A y Belattar H. Oleuropein and Antibacterial Activities of *Olea europaea* L. Leaf Extract. *European Scientific Journal* vol.13, No.6, 2017.
- [4] Xu Y y otros. Crystal structure of severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein fusion core. *J Biol Chem.* 19;279(47):49414-9, 2004.
- [5] Lee-Huang S y otros. Discovery of Small-Molecule HIV-1 Fusion and Integrase Inhibitors Oleuropein and Hydroxytyrosol: I. Fusion Inhibition. *Biochem Biophys Res Commun* 23; 354(4): 872-878, 2007.
- [6] Lee-Huang S y otros. Anti-HIV activity of olive leaf extract (OLE) and modulation of host cell gene expression by HIV-1 infection and OLE treatment. *Biochem Biophys Res Commun* 8;307(4):1029-37, 2003.

- [7] Bao J, Zhang DW, Zhang JZ, Huang PL, Huang PL, Lee-Huang S. Computational study of bindings of olive leaf extract (OLE) to HIV-1 fusion protein gp41. *FEBS Lett* 12;581(14):2737-42, 2007.
- [8] Chunyun Sun y otros. SARS-CoV-2 and SARS-CoV Spike-RBD Structure and Receptor Binding Comparison and Potential Implications on Neutralizing Antibody and Vaccine Development. *BioRxiv*, 2020. DOI: 10.1101/2020.02.16.951723
- [9] Susalit E y otros. Olive (*Olea europaea*) leaf extract effective in patients with stage-1 hypertension: comparison with Captopril. *Phytomedicine* 15;18(4):251-8, 2011.
- [10] Alcaide-Hidalgo JM, Romero M, Duarte J, López-Huertas E. Antihypertensive Effects of Virgin Olive Oil (Unfiltered) Low Molecular Weight Peptides with ACE Inhibitory Activity in Spontaneously Hypertensive Rats. *Nutrients* 20;12(1), pii: E271, 2020.
- [11] Siddell S, Wege H, Ter Meulen V. The biology of coronaviruses. *J Gen Virol* 64 (Pt 4):761-76, 1983.
- [12] Cavanagh D. Coronavirus IBV: structural characterization of the spike protein. *J Gen Virol* 64 (Pt 12):2577-83, 1983.
- [13] Tsang KW, Mok TY, Wong PC, Ooi GC. Severe acute respiratory syndrome (SARS) in Hong Kong. *Respirology* 8(3):259-65, 2003.
- [14] Longxian Lv, Gaolei Li, Jinhui Chen, Xinle Liang, Yudong Li, Cao y otros. Comparative genomic analysis revealed specific mutation pattern between human coronavirus SARS-CoV-2 and Bat-SARSr-CoV RaTG13. *Cell Discovery* 6:11, 2020.
- [15] Tripet B, Howard MW, Jobling M, Holmes RK, Holmes KV, Hodges RS. Structural characterization of the SARS-coronavirus spike S fusion protein core. *J Biol Chem* 279:20836, 2004.
- [16] Weissenhorn W y otros. Crystal structure of the Ebola virus membrane fusion subunit, GP2, from the envelope glycoprotein ectodomain. *Mol Cell* 2:605-616, 1998.
- [17] Lambert DM y otros. Peptides from conserved regions of paramyxovirus fusion (F) proteins are potent inhibitors of viral fusion. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:2186-2191, 1996.
- [18] Normile D. Avian influenza. New H5N1 strain emerges in southern China. *Science* 314:742, 2006.
- [19] Wei DQ, Du QS, Sun H, Chou KC. Insights from modeling the 3D structure of H5N1 influenza virus neuraminidase and its binding interactions with ligands. *Biochem Biophys Res Commun* 344:1048-1055, 2006.
- [20] Oldfield V, Keating GM, Plosker G. Enfuvirtide: a review of its use in the management of HIV infection. *Drugs* 65:1139-1160, 2005.
- [21] Robertson D. US FDA approves new class of HIV therapeutics. *Nat Biotechnol* 21:470-471, 2003.
- [22] Bray BL. Large-scale manufacture of peptide therapeutics by chemical synthesis. *Nat Rev Drug Discov* 2:587-593, 2003.
- [23] Castagna A, Biswas P, Beretta A, Lazzarin A. The appealing story of HIV entry inhibitors: from discovery of biological mechanisms to drug development. *Drugs* 65:879-904, 2005.
- [24] Keiji Kuba y otros. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. *Nature Medicine* 11: 875-879, 2005.
- [25] Luhtala S y otros. Activities of angiotensin-converting enzymes ACE1 and ACE2 and inhibition by bioactive peptides in porcine ocular tissues. *J Ocul Pharmacol Ther* 25(1):23-8, 2009.

MÉTODOS DE SECUENCIACIÓN: SEGUNDA GENERACIÓN

por JOSÉ MIGUEL VALDERRAMA MARTÍN*, FRANCISCO ORTIGOSA* Y RAFAEL A. CAÑAS⁺

*ESTUDIANTE DEL PROGRAMA DE DOCTORADO EN BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR, 4^A PLANTA EDIFICIO I+D, FACULTAD DE CIENCIAS, UNIVERSIDAD DE MÁLAGA, 29071.

⁺PROFESOR TITULAR DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOQUÍMICA, 4^A PLANTA EDIFICIO I+D, FACULTAD DE CIENCIAS, UNIVERSIDAD DE MÁLAGA, 29071.

JMVALDERRAMA@UMA.ES, FORTIGOSA@UMA.ES, RCANAS@UMA.ES

Durante el desarrollo del Proyecto Genoma Humano fueron introducidos muchos avances técnicos al método de secuenciación de Sanger. Estos permitieron la paralelización y la automatización de este método y sirvieron como preludio de la revolución que supuso la aparición de una segunda generación de métodos de secuenciación. Con ellos se ha conseguido una reducción espectacular de los costes de secuenciación y la producción de grandes cantidades de información a partir de una muestra de ácido nucleico. Esto ha permitido realizar estudios masivos sobre los genomas y los transcriptomas, dando lugar a la era de las ciencias ómicas, durante la cual se han secuenciado múltiples genomas de diferentes especies y se ha estudiado su dinámica funcional a nivel genético, epigenético y transcripcional.

During the Human Genome Project, many technical advances were introduced to the Sanger sequencing method. Those advances allowed the parallelization and the automation of this method, acting as a prelude for the revolution that led to the appearance of a second generation of sequencing methods. With them, it has been achieved a dramatic reduction in the sequencing cost and the production of large amounts of information from a single nucleic acid sample. This fact has allowed to perform massive studies on genomes and transcriptomes leading to the omics sciences era, in which multiple genomes from different species have been sequenced, and their functional dynamics have been studied at the genetic, epigenetic and transcriptional level.

Palabras clave: secuenciación, segunda generación, NGS, pirosecuenciación, 454, IonTorrent, Illumina. Enviado: 05/05/2020
Keywords: sequencing, second generation, NGS, pyrosequencing, 454, IonTorrent, Illumina. Aceptado: 31/08/2020

De los dos primeros métodos de secuenciación realmente eficaces y extendidos fue el diseñado por Frederick Sanger el que terminó triunfando y permitiendo la secuenciación de genomas completos^[1]. El impulso para el desarrollo definitivo de la secuenciación Sanger lo constituyó el Proyecto Genoma Humano durante la década de los años 90 del siglo XX. Durante su transcurso, esta técnica fue refinada con la introducción de numerosos avances con respecto a su paralelización y automatización, mejorando así la eficiencia y rendimiento del método. Además, estos avances asentaron las bases conceptuales que permitieron el desarrollo de nuevos métodos de secuenciación que se extendieron durante la primera década del siglo XXI y que están actualmente consolidados. La genómica como disciplina científica requería de nuevos métodos e instrumentos para una evolución adecuada. Los costes y rendimiento del método de Sanger hacían prohibitiva la expansión de la genómica, incluyendo las ideas subyacentes al Proyecto Genoma Humano como la medicina personalizada. Aunque el coste final del proyecto fueron 2.700 millones de dólares^[2], el coste real de secuen-

ciación de un genoma humano completo en el año 2001, cuando se disponía de su primer borrador, era de 100 millones de dólares^[3], algo fuera del alcance económico de cualquier laboratorio individual.

Se hizo evidente la necesidad de nuevos métodos de secuenciación masiva de ácidos nucleicos. El desarrollo definitivo y la implantación de estos métodos transcurrieron durante las dos primeras décadas del siglo XXI, revolucionando las Ciencias Biológicas hasta el punto en el que actualmente existen ramas científicas que no se pueden entender sin esta metodología. El principal objetivo de estos métodos es la secuenciación simultánea de miles o millones de fragmentos de ADN, reducir extraordinariamente el coste por base secuenciada y abordar de una forma más rápida problemas complejos como la secuenciación de grandes genomas eucariotas o la búsqueda de mutaciones causantes de enfermedades raras^[4]. Además, la gran cantidad de secuencias generadas por estas tecnologías permiten realizar estudios de expresión génica o de interacción proteína-ácidos nucleicos mediante una aproximación estadística a los datos. En muchos casos, esto ha permitido sustituir técnicas

basadas en la hibridación como las micromatrices (*microarrays*) de ADN por la secuenciación e incluso generar nuevas aproximaciones para el estudio de variantes alélicas o el ajuste alternativo (*splicing*). Sin embargo, esto ha requerido un gran desarrollo en el campo de la bioinformática que permitiese la manipulación de la ingente cantidad de datos que se generan. A pesar de ello, han aparecido nuevos problemas, como la dificultad a la hora de ensamblar las secuencias de genomas eucariotas grandes y complejos (con multitud de secuencias repetitivas) (figura 1).

A la primera ola de métodos de secuenciación masiva se la ha denominado secuenciación de 2.^a generación y se engloban bajo las siglas NGS (*Next Generation Sequencing*). La mayor parte de ellos se basan en la síntesis de moléculas de ADN al igual que el método de Sanger, aunque algunos tienen su base en la ligación de oligonucleótidos como el caso de SOLiD (Thermo). Las NGS presentan claras innovaciones en la forma en la que se produce la paralelización, determinación de los resultados de la secuenciación y en el aprovechamiento de la amplificación de ácidos nucleicos mediante PCR (*Polimerase Chain Reaction*) lo que permite tener una cantidad suficiente de ácidos nucleicos de partida para la secuenciación masiva^[4,5]. Son en estos puntos donde radica el avance respecto a las técnicas precedentes. Esta revisión realizará un repaso a los principales métodos de secuenciación de 2.^a generación teniendo en cuenta su importancia histórica y la extensión de su uso en investigación, y excluyendo los métodos de secuenciación poco extendidos o aquellos no basados

en la síntesis de moléculas de ADN.

Pirosecuenciación (Roche 454) e Ion Torrent (Thermo Fisher)

La pirosecuenciación fue desarrollada durante los años 90 del siglo XX, aunque no fue hasta 2005 que apareció en el mercado el primer equipo que usaba la pirosecuenciación de forma masiva (Pirosecuenciador 454 GS20) por parte de la empresa de Jonathan Rothberg, 454 Life Sciences. Posteriormente, la empresa fue adquirida por Roche que abandonó esta tecnología a mediados de 2016^[6]. La importancia de este método de secuenciación radica en que fue la primera tecnología de 2.^a generación disponible. Además, la tecnología 454 presentaba principios comunes con otras tecnologías de secuenciación que se encuentran todavía disponibles.

La paralelización y amplificación clonal de las muestras para la secuenciación se logra gracias a la realización de PCR en emulsión (emPCR). En primer lugar, el ADN es fragmentado y a los fragmentos resultantes se les añaden dos adaptadores distintos a ambos extremos de las secuencias. Posteriormente, se generan micelas que contienen todos los reactivos necesarios para realizar la PCR de forma individual en cada gota. Esto incluye una partícula esférica recubierta de oligonucleótidos complementarios de una de las secuencias adaptadoras que han sido añadidas previamente a los fragmentos de ADN a secuenciar. En este proceso se intenta conseguir que exista una única molécula de ADN por micela para que el resultado de la emPCR sea una amplificación clonal. Esto

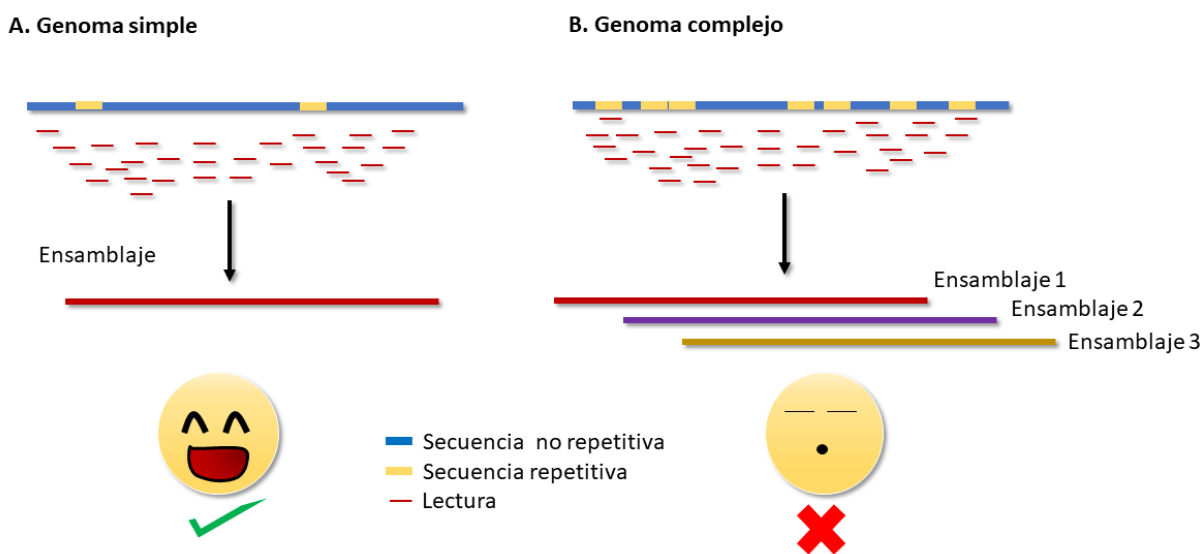


Figura 1: Ilustración del principal inconveniente de las técnicas de secuenciación de 2.^a generación en la genómica estructural. El principal problema de esta tecnología se da en el ensamblaje de genomas complejos, donde el tamaño y la cantidad de secuencias repetitivas son muy grandes, de manera que se puede obtener más de un posible ensamblaje a partir del mismo conjunto de secuencias cortas.

se lleva a cabo ajustando las diluciones y proporciones de la cantidad de partículas y de fragmentos de ADN. En las emPCR las copias del fragmento de ADN se sintetizan sobre la partícula a partir de los oligonucleótidos anclados a ella. Al final del proceso las partículas deben quedar envueltas por moléculas clonales de ADN de hebra simple. Finalmente, la paralelización de la secuenciación se logra introduciendo de forma individual las partículas con el ADN clonal en los pocillos de una placa de microtitulación (microtiter plate). La reacción y detección de la secuenciación ocurre de forma individual y en paralelo en cada pocillo de la placa. Por tanto, el número máximo de lecturas que se pueden obtener está limitado por el número de pocillos en la placa. En un procedimiento con buenos resultados el número de lecturas sería cercano a los 1,5 millones.

En la secuenciación se utiliza un oligonucleótido complementario al adaptador del extremo de las secuencias que no se encuentra unido a la partícula. A partir de este cebador la polimerasa puede ir añadiendo los nucleótidos para sintetizar una hebra complementaria al fragmento clonal de la partícula. Debido al sistema de detección usado, los nucleótidos se añaden de forma individual y cíclica. Por cada nucleótido que sea incorporado se libera un pirofosfato (PPi), que es utilizado por la ATP sulfurilasa

(EC 2.7.7.4) para la producción de ATP a partir de fosfoadenilsulfato. Entonces la enzima luciferasa (EC 1.13.12.7) emplea el ATP producido junto a luciferina añadida para producir luz y oxiluciferina. Esta luz es detectada por una cámara CCD (dispositivo de carga acoplada) de forma individual en cada pocillo y se interpreta como la adición de un nucleótido a la secuencia, puesto que en cada ciclo de adición solamente se suministra un tipo de nucleótido se puede ir siguiendo la secuencia de la hebra que se sintetiza^[7]. Además, se detecta la emisión de luz para cada pocillo de la placa de forma independiente, por lo que el proceso se realiza en paralelo sobre más de un millón de fragmentos distintos de ADN (figura 2A). El sistema en su máximo desarrollo permitía obtener una media de lecturas de unos 700 pares de bases (pb) por ejecución, siendo muy cercana a la secuenciación de Sanger en este sentido^[5]. Sin embargo, tenía el inconveniente de ser muy costosa (en torno a 9.000 euros por gigabase, Gb 10), puesto que se debían gastar grandes cantidades de reactivos debido a los ciclos de adición de nucleótidos. Adicionalmente, las zonas donde existen más de 6/8 nucleótidos iguales (homopolímeros) suponían un problema puesto que producían un exceso de emisión de luz al incorporarse los nucleótidos y causaban la saturación del equipo CCD conllevando errores en las lecturas.

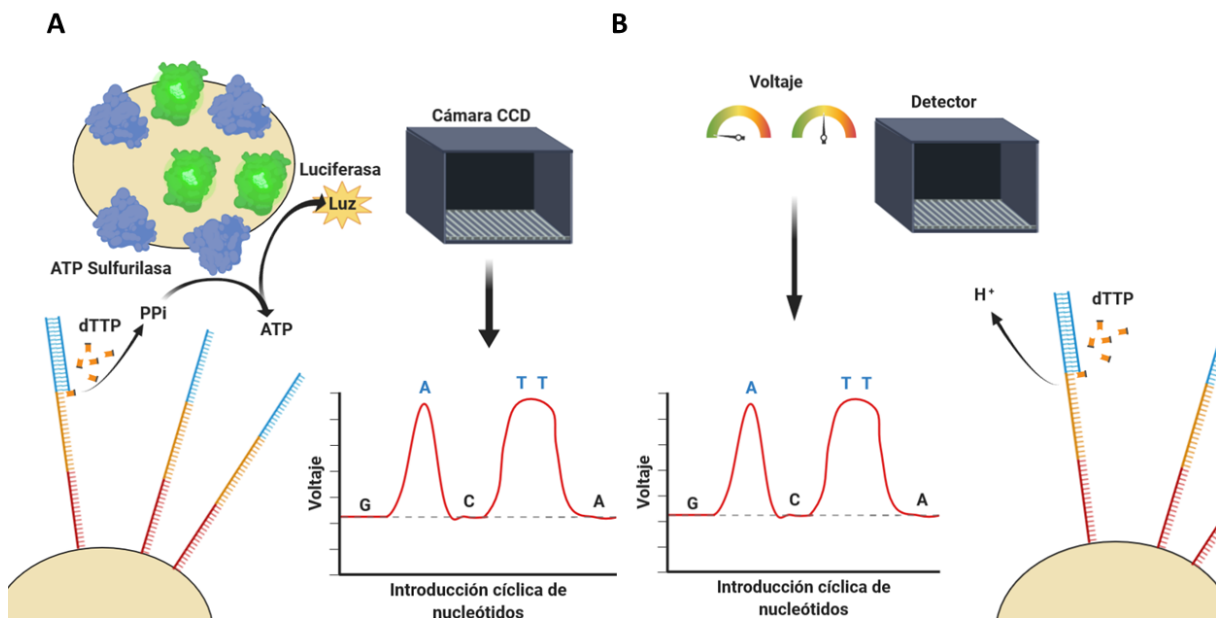


Figura 2: Principios básicos de la secuenciación en los sistemas 454 e Ion Torrent. A) El sistema de secuenciación 454 se sirve de las actividades enzimáticas de la ATP sulfurilasa y luciferasa para producir una señal lumínica cada vez que se introduce un nuevo nucleótido en la hebra que se está sintetizando. Dado que los nucleótidos se añaden de forma cíclica en cada pocillo es posible determinar la secuencia de la hebra que se está sintetizando. B) Ion Torrent permite la detección de la incorporación de un nucleótido mediante el cambio en el voltaje que se produce por la liberación de un protón en la incorporación de un nucleótido. Al igual que con el sistema 454, la adición de nucleótidos es cíclica permitiendo así la determinación de las secuencias. Imagen diseñada con Biorender.

El sistema Ion Torrent usa buena parte de los principios técnicos de la secuenciación 454: se trata de un método de secuenciación por síntesis, para la amplificación clonal del ADN se usa emPCR, las placas de microtitulación permiten alojar partículas con fragmentos clonales en cada pocillo para la paralelización de la secuenciación y la adición de nucleótidos es cíclica. Esto se explica porque también fue ideado por Jonathan Rothberg y desarrollado por la empresa que fundó y que comparte nombre con la tecnología, Ion Torrent, aunque luego fue adquirida por Thermo Fisher. Esta tecnología se diferencia de la 454 en que la detección de la incorporación de los nucleótidos se realiza mediante la detección de los cambios en el voltaje provocados por la liberación de un protón (H^+) que ocurre cuando se añade un nucleótido a la cadena de ADN que se sintetiza por parte de la ADN-polimerasa^[8] (figura 2B). Al contar con los mismos principios técnicos que el sistema de secuenciación 454, también presenta problemas con la saturación de señal en la secuenciación de regiones homopoliméricas: la adición de 6-8 moléculas del mismo nucleótido de forma consecutiva en la secuencia causa un exce-

so de liberación de protones que termina saturando la capacidad del sensor. No obstante, las placas de microtitulación tienen mayor capacidad que las de 454: cuentan con millones de pocillos y de sensores capaces de detectar los cambios eléctricos causados por la liberación de los protones, lo que hace que haya equipos capaces de generar en torno a 130 millones de lecturas y 50 Gb de secuenciación. El tamaño medio de las lecturas es inferior al sistema 454 siendo de unas 200 pb, pero el precio por Gb secuenciada es muy inferior al requerir una cantidad mucho menor de reactivos (40 euros aproximadamente). La capacidad de obtener un gran número de lecturas y el bajo coste de secuenciación han permitido la subsistencia de esta tecnología.

Illumina-Solexa y GeneReader (Qiagen)

Otro tipo de sistemas de secuenciación de 2.^a generación que se basan en la síntesis de ADN usan como base la terminación cíclica reversible donde se emplean nucleótidos terminadores marcados que son regenerados para que pueda continuarse con la

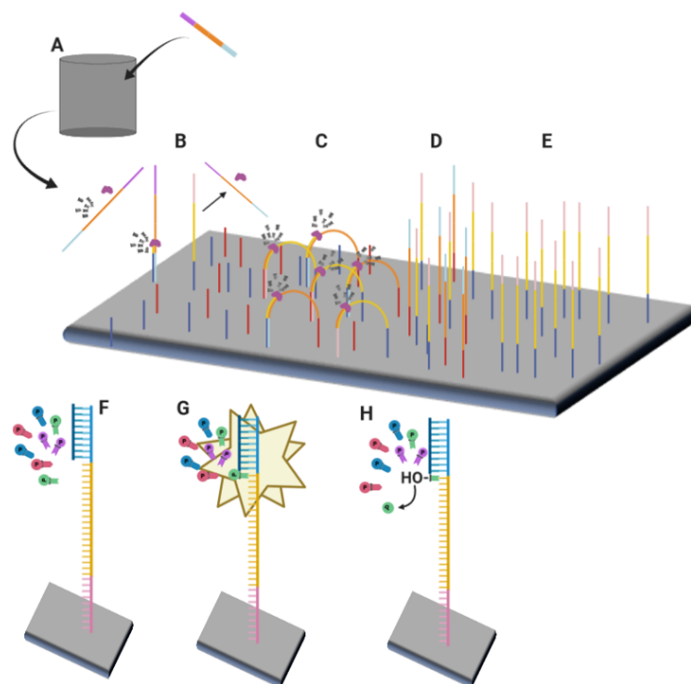


Figura 3: Sistema de secuenciación Illumina. Sólo un fragmento de ADN entra en cada micropocillo o región clonal (A), se une a los adaptadores del fondo de dicho micropocillo y, por acción de una polimerasa, este fragmento es duplicado y queda unido al fondo por un adaptador (B). El adaptador libre de este fragmento se une a otro adaptador complementario del fondo del micropocillo permitiendo la amplificación, conocida como PCR puente (C) y originando multitud de fragmentos clonales (D), seleccionándose de ellos sólo una de sus hebras (E). Posteriormente, estos fragmentos se secuenciarán gracias a nucleótidos terminadores reversibles y marcados con distintos fluoróforos para cada base nitrogenada (F). Al incorporar la ADN polimerasa un nucleótido a la secuencia se determina la señal de fluorescencia de cada región clonal para componer cada una de las secuencias (G), posteriormente se eliminan los fluoróforos de los nucleótidos añadidos y se regeneran sus extremos 3'-OH por eliminación del 3'-O-azidometilo para poder continuar con la siguiente ronda incorporación de nucleótidos (H). Imagen diseñada con Biorender.

síntesis. El caso más representativo y de mayor éxito comercial hasta la fecha, marcando el estándar para numerosas aplicaciones, es el de Illumina-Solexa. La compañía Solexa desarrolló la tecnología al final del siglo XX y comienzos del siglo XXI lanzando su primer secuenciador comercial en 2006 (Genome Analyzer). Ante su éxito, fue adquirida por la compañía Illumina en 2007 y desde entonces se ha convertido en la plataforma NGS de mayor implantación a nivel mundial.

Esta plataforma utiliza la técnica de PCR puente en placas conocidas como celdas de flujo (*flow cell*) para la amplificación clonal y paralelización del proceso. Su tecnología miniaturizada permite la generación de miles de millones de regiones clonales en los micropocillos de las placas de los aparatos más avanzados (NovaSeq 6000). Para realizar la PCR puente los fragmentos de ADN han de ser seleccionados por tamaños y a cada extremo ha de unirse un adaptador distinto (3' o 5'). En los micropocillos se encuentran dos tipos de oligonucleótidos unidos a la placa siendo cada uno específicamente complementario de uno de los adaptadores que tienen los fragmentos de ADN de la librería en sus extremos. Este oligonucleótido es usado como cebador para la amplificación y el ADN como cadena molde para realizar la síntesis de una hebra de ADN que quedará unida a la placa por el cebador. Posteriormente se dejará hibridar el adaptador del extremo libre de la cadena con su oligonucleótido complementario unido a la placa, generando una estructura en forma de puente. A partir de ella se realizará la síntesis de la hebra complementaria. Estos ciclos de PCR se repetirán hasta formar una masa clonal suficiente en el micropocillo. Finalmente, únicamente se seleccionan las moléculas pertenecientes a una hebra del fragmento de ADN de partida para comenzar la secuenciación^[5] (figura 3A-E).

Una vez realizadas las amplificaciones clonales la secuenciación se realiza utilizando nucleótidos con terminadores reversibles y marcados con fluoróforos (diferentes para cada base nitrogenada). A cada ciclo de síntesis se incorpora a la hebra naciente un nucleótido terminador y se registra el tipo de emisión de luz que emite cada micropocillo, lo que indica cuál es el nucleótido añadido a la secuencia. Posteriormente se elimina el fluoróforo de los terminadores, para evitar interferencias en la señal durante el siguiente ciclo de adición, y se regenera el grupo hidroxilo en el carbono 3' de la desoxirribosa eliminando el grupo de bloqueo 3'-*O*-azidometilo (figura 3F-H). Esto se hace mediante el uso de agentes químicos reductores como la tris(2-carboxietil)fosfina. Este sistema de secuenciación permite que todos los grupos clo-

nales se secuencien al mismo tiempo generando un gran número de lecturas (hasta 20.000 millones) y abaratando mucho los costes por Gb secuenciada, menos de 6 euros. El gran número de lecturas que se obtienen permite la realización de análisis estadísticos que suministran datos que van más allá de la simple secuencia de los ácidos nucleicos. Por ejemplo, se pueden determinar el nivel de expresión génica de cada uno de los genes de un genoma completo (RNA-Seq)^[5] o los sitios de interacción de proteínas con el ADN de un genoma (ChIP-Seq)^[5]. El problema de este sistema es que el tamaño de las lecturas que se obtienen es pequeño, entre 50 y 300 pb, debido a los ciclos de regeneración de los terminadores reversibles que no son totalmente eficaces. Esta característica dificulta mucho el ensamblaje de genomas eucariotas grandes y repetitivos mediante técnicas computacionales. Aun así, sigue siendo el sistema más usado en la actualidad, precisamente por su gran capacidad de secuenciación (alto número de lecturas y hasta 6.000 Gb).

Otro sistema de secuenciación que utiliza terminadores reversibles marcados con fluoróforos es el GeneReader de Qiagen. Fue desarrollado en primer lugar por la empresa Intelligent BioSystems que en 2012 fue adquirida por Qiagen, que relanzó el equipo en 2015 unido a otros equipos propios de la marca para crear una plataforma de tipo «todo en uno» (desde la preparación de las muestras hasta el análisis de los resultados), con un claro enfoque biomédico y clínico^[5]. En este caso la amplificación clonal que se utiliza es mediante emPCR, pero la secuenciación al igual que la de Illumina se basa en el uso de nucleótidos terminadores reversibles marcados con fluoróforos. Sin embargo, en el sistema GeneReader no todos los terminadores que se incorporan tienen marcaje fluorescente, solamente una porción de ellos. Se trata de tener una señal suficiente durante la secuenciación al contrario de Illumina que pretende asegurar que todos los terminadores incorporados emitan fluorescencia^[5]. La ventaja de esto es que se reducen los problemas derivados de la efectividad de eliminar los fluoróforos. Debido al uso tan específico con el que se pretende comercializar no es una plataforma muy extendida. Además, tiene una baja capacidad de generar lecturas (máximo de 50 millones) y con longitudes pequeñas (100-150 pb).

Problemas con el tamaño de las lecturas

Uno de los principales inconvenientes de las tecnologías de secuenciación de 2.^a generación es el tamaño de las lecturas que se producen. Esto es una gran desventaja para los trabajos de genómica estructural

o para ver dinámicas de ajuste alternativo (*alternative splicing*). Esto se debe a que las herramientas bioinformáticas no consiguen generar ensamblajes de novo con gran calidad a partir de estas secuencias cortas en el caso de tratarse de genomas grandes y complejos, con multitud de secuencias repetitivas. Con el objetivo de sortear estas dificultades se han planteado diversas estrategias. Debido a la extensión del uso de la tecnología de Illumina la mayor parte se han centrado en realizar ajustes técnicos de la secuenciación que permitan un ensamblaje más sencillo de las lecturas obtenidas. Estos métodos consisten en el marcaje previo de los fragmentos de ADN con etiquetas o códigos de barra (*tags*, oligonucleótidos de secuencia conocida) que ayudan a reconocer las lecturas como miembros de una misma región genómica. A esta aproximación se la ha llamado «secuenciación de lecturas largas sintéticas»^[5]. Esta estrategia ha sido desarrollada por la misma Illumina apoyándose en la infraestructura de la que ya disponen.

Por otro lado, en este tipo de aproximaciones también cabe destacar a la compañía 10X-Genomics que ha desarrollado su propio método para la generación de «lecturas enlazadas» usando la secuenciación Illumina^[9]. Entre las capacidades del equipo conocido como *Chromium* se encuentra la de realizar una amplificación isotérmica de fragmentos de ADN genómico de alto peso molecular dentro de micelas generadas por emulsión. En primer lugar, se fragmenta el ADN genómico en moléculas de alto peso molecular. Gracias a un sistema de microfluídica se crean micelas que contienen una molécula de ADN de alto peso molecular y una partícula que contiene en su superficie las etiquetas o códigos de barra necesarios para la amplificación clonal y marcaje de las moléculas de ADN. Posteriormente, se realiza la amplificación isotérmica^[10] y los fragmentos de ADN se

pueden secuenciar en cualquier plataforma de secuenciación, siendo principalmente utilizada la plataforma de Illumina (figura 4). Sin embargo, el recorrido de esta aproximación no parece que vaya a prolongarse mucho en el tiempo. De hecho, algunas compañías especialistas en servicios de secuenciación han dejado de ofrecerla en sus catálogos. La mayor extensión de las tecnologías de secuenciación de tercera generación está claramente disminuyendo la utilidad de estas aproximaciones para la secuenciación genómica. Las tecnologías de secuenciación de 2.^a generación se encuentran actualmente en su mayor apogeo, permitiendo realizar análisis avanzados tanto de genómica estructural como funcional. La fiabilidad de las lecturas resultantes de estos métodos es muy alta como la capacidad de generar lecturas y la cantidad de nucleótidos que se secuencian en cada proceso. No obstante, estas tecnologías presentan limitaciones que han empujado a nuevos desarrollos tecnológicos, siendo algunos de ellos el pequeño tamaño de las lecturas y la necesidad de amplificar el ADN de la muestra a secuenciar. Esta última característica hace que siempre se secuencien copias de las moléculas originales, perdiéndose las marcas epigenéticas o modificaciones químicas del ADN y el ARN, lo que ha impulsado el desarrollo de la 3.^a generación de los métodos de secuenciación de ácidos nucleicos.

Referencias

- [1] Valderrama-Martín J.M. y otros. Métodos de secuenciación de ácidos nucleicos: Primera generación. *Encuentros en la Biología* 173: 19-25, 2020.
- [2] NIH, Coste de la secuenciación de un genoma humano. <https://www.genome.gov/about-genomics/fact-sheets/Sequencing-Human-Genome-cost>, último acceso 7 de septiembre de 2020.
- [3] NIH, Coste de la secuenciación. <https://www.genome.gov/>

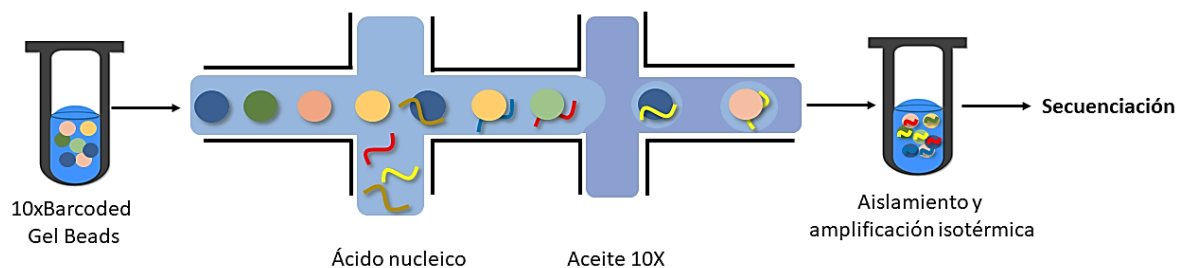


Figura 4: Representación esquemática del funcionamiento de la tecnología basada en microfluídica de 10XGenomics. Las partículas marcadas que contienen todo lo necesario para la amplificación isotérmica pasan al sistema microfluídico donde entran en contacto con fragmentos de ADN de alto peso molecular. Tras la formación del complejo partícula-fragmento, con la ayuda de un aceite altamente concentrado, se procede al aislamiento de los fragmentos de ADN unidos a las partículas y su amplificación isotérmica. Tras la amplificación isotérmica se procede a la secuenciación mediante la plataforma Illumina.

-
- [about-genomics/fact-sheets/DNA-Sequencing-Costs-Data](#), último acceso 7 de septiembre de 2020.
- [4] Mardis E. A decade's perspective on DNA sequencing technology. *Nature* 470: 198-203, 2011.
- [5] Goodwin S. y otros. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nat. Rev. Genet.* 17: 333-351, 2016.
- [6] GenomeWeb. Roche shutting down 454 sequencing business. *GenomeWeb* [online], <https://www.genomeweb.com/sequencing/roche-shutting-down-454-sequencing-business>, 2015, último acceso 7 de septiembre de 2020.
- [7] Margulies M. y otros. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature* 437: 376-380, 2005.
- [8] Rothberg J.M. y otros. An integrated semiconductor device enabling non-optical genome sequencing. *Nature* 475: 348-352, 2011.
- [9] Mostovoy Y. y otros. A hybrid approach for de novo human genome sequence assembly and phasing. *Nature Methods* 13: 587-590, 2016.
- [10] Ma Z. y otros. Isothermal amplification method for next-generation sequencing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110: 14320-14322, 2013.
-

¿VACUNAR O NO VACUNAR? HE AHÍ LA CUESTIÓN TO VACCINATE OR NOT TO VACCINATE? THAT IS THE QUESTION

por JUAN CARLOS CODINA ESCOBAR.

COLABORADOR HONORARIO DEL DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA DE LA UMA. PROFESOR DE EESS EN EL IES SIERRA
BERMEJA, AVENIDA RAMÓN Y CAJAL, 113. 29014-MÁLAGA

Las vacunas son las más importantes y poderosas armas en la lucha contra las enfermedades infecciosas. A la primera vacuna desarrollada por Jenner contra la viruela, siguieron múltiples vacunas frente a diferentes enfermedades infecciosas que han permitido evitar la muerte de incontables seres humanos, particularmente en edades tempranas. Sin embargo, en los últimos años ha existido una corriente de escepticismo y temor de muchos padres frente a las vacunas, que ha conllevado a una disminución en la tasa de vacunaciones en la población infantil con los riesgos asociados de este comportamiento. Corriente a la que hay que combatir con información veraz sobre la importancia de las vacunas.

Vaccines are the most important and powerful weapons in the fight against infectious diseases. After the first vaccine, developed by Jenner against smallpox many vaccines against different infectious diseases have been developed allowing the prevention of death of many human beings, especially during infancy. However, in the last years there has been a current of scepticism and fear against vaccines that has produced a decrease in the vaccination of the infant population with the associated risks of this behaviour. This current must be contrasted with true information about the importance of vaccines.

Palabras clave: Inmunización, vacuna, enfermedad infecciosa, vacuna triple vírica.

Keywords: Immunization, vaccine, infectious disease, MMR vaccine.

Madrid, treintaiuno de agosto de mil setecientos veinticuatro. El rey Luis I agoniza aquejado de viruela que lo llevará a la tumba ese mismo día al correr el mismo destino que Moctezuma y no disfrutar de la suerte que tendrán Mozart, Washington o Lincoln. Entre esa muerte y otras muchas que le precedieron, y la de Janet Parker, última víctima de la temida viruela, mediarán más de doscientos cincuenta años. Esta última muerte resultó más trágica que la del jovencísimo rey dado que por aquel año de 1978, la vacuna contra la viruela estaba ampliamente extendida.

Las vacunas han resultado ser un arma extraordinaria en la lucha contra las enfermedades infecciosas, especialmente contra las de etiología vírica. En palabras de Stanley A. Plotkin, los tres grandes descubrimientos de la medicina en los últimos 200 años han sido la antisepsia, los antibióticos y las vacunas^[1]. La vacunación permite la inmunización activa, es decir, la protección de seres humanos y animales domésticos frente a enfermedades transmisibles. Una vacuna es un preparado de un agente infeccioso, que administrado a humanos y otros animales, induce una inmunidad protectora. La vacuna puede consistir en un preparado de microorganismos muertos; microorganismos vivos, pero atenuados; toxinas bacterianas

inactivadas (toxoides); macromoléculas purificadas o vectores recombinantes, que administrados a un ser humano le confieren una inmunidad obtenida de forma artificial^[2].

En el año 1798, el médico inglés Edward Jenner llevó a cabo las primeras inmunizaciones artificiales por lo que se considera este año como el del inicio de la era moderna de las vacunas. Desde tiempos antiguos, diferentes culturas habían observado y registrado que pacientes que sobrevivían a enfermedades infecciosas rara vez contraían de nuevo la enfermedad. En la época que le tocó vivir a Jenner, la viruela producía epidemias recurrentes. La viruela es una enfermedad viral grave caracterizada por lesiones en órganos internos y en la piel. En ésta, las lesiones consistían en vesículas epidérmicas, llenas de un líquido, que se rompían, ulceraban y cicatrizaban dejando en muchos casos marcas que producían una notable desfiguración. En aquel tiempo, existía una técnica para evitar la viruela que había sido importada a Inglaterra desde Turquía por la mujer del cónsul inglés en dicho país. Se denominaba variolización y consistía en inocular el líquido infeccioso de las lesiones producidas por el virus de la viruela en un individuo con la intención de que se produjera una infección limitada y no intensa.

El problema era que dicha técnica tenía un éxito bastante limitado ya que resultaba difícil el control del grado de infección, por lo que con bastante frecuencia el individuo al que se le administraba terminaba contrayendo la enfermedad intensa^[1].

Con toda esta información, a la que se añadió los comentarios de una joven campesina en el sentido de que ella, al igual que la mayoría de las chicas que se dedicaban a ordeñar las vacas, no contraían la viruela humana, dado que habían ya contraído la viruela bovina, más leve en humanos, Jenner llevó a cabo los primeros intentos de inmunización artificial. El catorce de mayo de mil setecientos noventa y seis, Jenner extrajo el líquido de una pústula del brazo de Sarah Nelmes, una joven ordeñadora infectada de viruela bovina; líquido que inyectó a continuación en el brazo del joven de dieciocho años James Phipps, esperando que la inmunización con el virus de la viruela bovina sólo le produjera leves síntomas, cosa que efectivamente ocurrió. A continuación, en un experimento que actualmente se consideraría poco ético, inoculó a Phipps con el virus de la viruela. El joven no desarrolló síntomas de la enfermedad. Así nació la primera vacuna^[1].

La técnica de Jenner fue seguida por otros médicos en Inglaterra y en el continente europeo, donde el propio Napoleón Bonaparte ordenó que todos sus soldados fuesen vacunados. También en la década de 1800, la vacunación había llegado a América. Histórica resultó la expedición de Francisco Xavier de Balmis para extender el uso de la vacuna para la viruela en las colonias españolas en América y en las Filipinas. La dificultad para transportar el fluido necesario para la vacunación llevó a una medida controvertida, como queda reflejada en la Real Orden del ministro de Gracia y Justicia, José Caballero, publicada en la *Gaceta de Madrid* (el BOE de la época):

[...] Siendo lo más esencial y difícil de esta empresa la conservación del fluido vacuno con toda su actividad en tan dilatados viajes, ha resuelto Su Majestad que lleven los facultativos un número proporcionado de niños expósitos que no hayan pasado la viruela para que así arribe a América la primera operación de brazo a brazo continuando después por los cuatro virreinos e instruyendo a todos para practicarla^[3].

A estos primeros intentos de extender el uso de las vacunas siguieron años de investigación de nuevas vacunas y de su implementación para la protección de la mayor parte de la población mundial. La introducción de las vacunas conllevó en muchos casos una gran disminución en la incidencia de las enfermedades

para cuya prevención se empleaban. Es lo que sucedió con la introducción de las vacunas contra la polio de Salk y Sabin, con un descenso de la incidencia de esta enfermedad de un 96 % tras siete años desde su empleo^[4].

Por lo que respecta a la historia de la vacunación en España, el comienzo de tal actividad se remonta a 1800 con la vacunación frente a la viruela. Sin embargo, la obligatoriedad de esta no llegó a plasmarse a lo largo del siglo XIX, siendo en 1921, tras varios brotes cuando se implantó la obligatoriedad de la administración de dicha vacuna. La Guerra Civil determinó un nuevo resurgimiento del problema que se solucionó con las medidas de intervención puestas en marcha al finalizar la contienda. Posteriormente, la Ley de Bases de Sanidad de 1944 determinó la obligatoriedad de la vacunación frente a la difteria y a la viruela, declarándose el 9 de diciembre de 1979 la erradicación de esta última, recomendándose la suspensión de la vacunación, que tuvo lugar en 1980. La vacunación frente a la poliomielitis comenzó en España en el año 1959 con la administración de la vacuna de Salk, de forma restringida, y posteriormente a partir de 1963 con la vacuna oral de Sabin, de una forma más extendida. En 1968 se llevó a cabo una campaña de vacunación frente al sarampión en once provincias españolas con la cepa Beckenham 31, siendo sustituida en 1975 por la cepa Schwarz, que mostraba una mejor calidad de respuesta frente a la enfermedad. En 1981 se sustituye por la denominada triple vírica, frente al sarampión, rubeola y parotiditis (las conocidas paperas), modificándose con ello el llamado calendario oficial de vacunación infantil. Calendario que ha ido sufriendo modificaciones sucesivas hasta el actual y válido para el año 2020 que se presenta en la figura adjunta^[5].

En los últimos años, sin embargo, ha existido un descenso en el uso de la vacunación debido a diferentes aspectos controvertidos, principalmente el escepticismo de muchos padres con respecto a la validez y eficacia de las vacunas en la prevención de enfermedades. El informe publicado en 1998, que sugería la existencia de una relación entre vacunas y autismo, a través de un conservante derivado del mercurio usado en las mismas y la escasa confianza en la industria farmacéutica y en los gobiernos fueron el caldo de cultivo para una disminución importante en las tasas de vacunación. Con una mayor población de individuos sin vacunar, mayor es también la posibilidad de infección y transmisión de determinadas enfermedades infecciosas, así como de la posible evolución del agente causal. El resultado ha sido un aumento en la morbilidad y mortalidad de ciertas enfermedades a las que se consideraba en vías de erradicación, al

menos en los países desarrollados. Resulta llamativo el caso del sarampión, una enfermedad para la cual existe una vacuna segura y económica, cuyo empleo entre 2000 y 2017 produjo una disminución en la cifra de defunciones de un 80 % en todo el mundo. A pesar de que en ese mismo período la vacuna contra el sarampión evitó unos 21,1 millones de muertes, durante el año 2017 y como consecuencia de la no vacunación, la enfermedad causó 110.000 defunciones en todo el mundo, la mayoría niños menores de cinco años^[4].

Que la vacunación presenta sus riesgos es algo que no está en discusión. Sin embargo, los riesgos asociados a la vacunación son extremadamente bajos, en particular en proporción a sus beneficios para la salud. Así la posibilidad de desarrollar una encefalitis tras la administración de la vacuna triple vírica es de una entre un millón, siendo mil veces menor que el riesgo de desarrollarla pasando el sarampión. Conseguir derribar esos mitos negativos que se han erigido en contra de la vacunación e imbuir en los padres un sentido razonable al respecto resulta una tarea ardua. Frente a la posibilidad de obligar a los padres de manera forzada a la vacunación de sus hijos, medida que quizás ocasionaría un amplio rechazo, se antepone las medidas que mejoren la educación de los padres con relación al conocimiento de riesgos y

beneficios de la vacunación. Y en este punto, deberían aunarse los esfuerzos de científicos, ofreciendo una información veraz; de docentes, enseñando de forma razonada las ventajas de la vacunación; y de los medios de comunicación de toda índole que deberían implicarse permitiendo una difusión de información contrastada sobre las vacunas y la importancia de estas en la lucha contra las enfermedades infecciosas. En este sentido resulta interesante el desarrollo por parte de la *Vienna Vaccine Safety Initiative* de una *App*, denominada *VAccApp* que permite a los padres conocer el estado de vacunación de sus hijos, incluyendo las vacunas que serían necesarias en caso de determinados viajes^[6].

William Shakespeare plantea en el famoso monólogo de *Hamlet, príncipe de Dinamarca*, la duda y la indecisión. Que ninguna de ellas consiga vencer en esta lucha por conseguir que las vacunas sigan siendo potentes armas de prevención frente a las enfermedades infecciosas y, en particular, de protección sanitaria muy eficaz de la población infantil, lo que redobla el carácter de decisión social y colectiva frente a la libre elección individual.

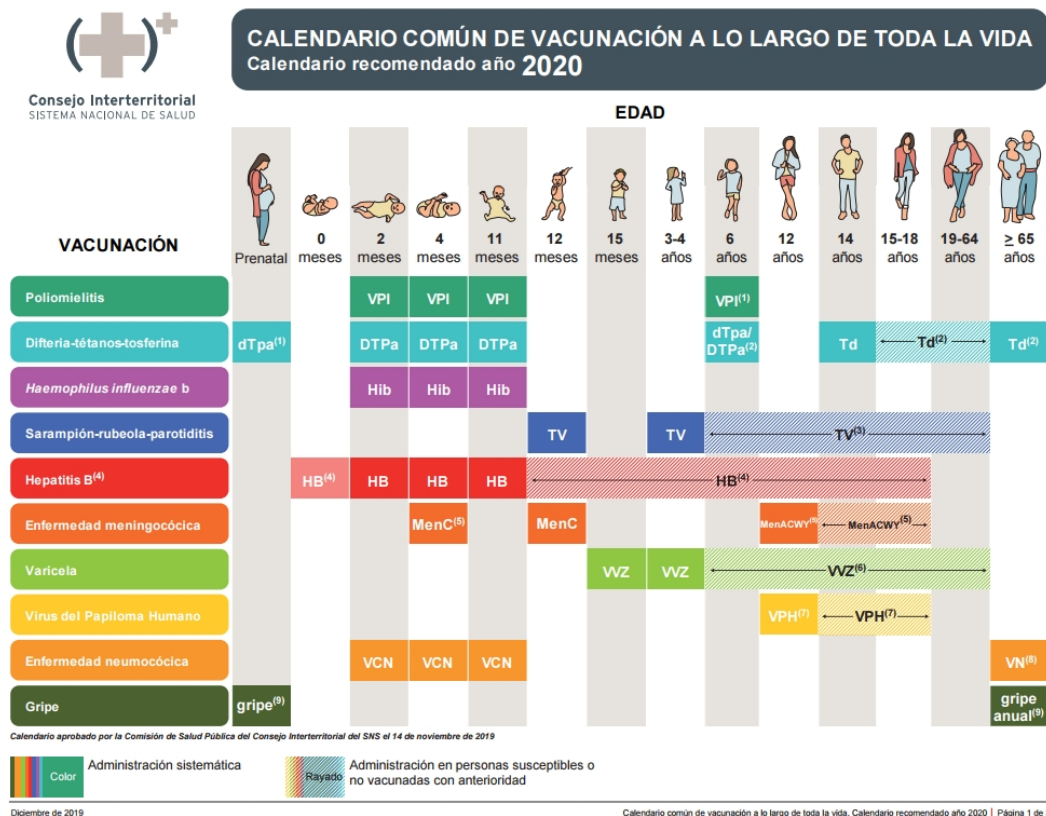


Figura 1: Calendario de vacunación válido para el año 2020.

Referencias

- [1] Prescott LM. Microbiología. *Editorial McGraw Hill*. 5ª edición, 2002.
- [2] Benacerraf B y Unanue ER. Inmunología. *Editorial Médica Panamericana*. 2ª ed., 1986.
- [3] de Arteaga A. Ángeles custodios. *Editorial Zeta Maxi*, 2016.
- [4] Editorial Science. The necessity of vaccines. *Science* 8, 2010.
- [5] Álvarez García FJ, Cilleruelo Ortega MJ, Álvarez Aldeán J, Garcés Sánchez M, García Sánchez N, Garrote Llanos E y cols. Calendario de vacunaciones de la Asociación Española de Pediatría: recomendaciones 2020. *An. Pediatr.* 92:52.e1-10, 2019.
- [6] Seeber L, Conrad T, Hoppe C, Obermeier P, Chen X, Karsch K, Muehlhans S, Tief F, Boettcher S, Diedrich S, Schweiger B y Rath B. Educating parents about the vaccination status of their children: A user-centered mobile application. *Prev. Med. Reports.* 5:241-250, 2017.
-
-

ESTABILIDAD GENÓMICA EN CHONDRICHTHYES, IMPLICACIONES EN SU EVOLUCIÓN

por JOSÉ CARLOS BÁEZ.

INST. ESPAÑOL DE OCEANOGRAFÍA (IEO), CENTRO OCEANOGRÁFICO DE MÁLAGA, PUERTO PESQUERO DE FUENGIROLA S/N, 29640.

GRANBAEZ_29@HOTMAIL.COM

Nuevas técnicas de secuenciación molecular han permitido recientemente la secuenciación genética de cinco especies de Chondrichthyes: tiburón elefante (*Callorhynchus milii*), tiburón ballena (*Rhincodon typus*), tiburón bambú de bandas marrones (*Chiloscyllium punctatum*), tiburón gato (*Scyliorhinus torazame*) y tiburón blanco (*Carcharodon carcharias*). Estos estudios han puesto de manifiesto que los Chondrichthyes presentan una elevada estabilidad genómica, por lo que presentan tasas evolutivas moleculares reducidas. Esta alta estabilidad genómica contrasta significativamente con la elevada variedad de ciclos biológicos, morfológicos, ecológicos y ecofisiológicos del grupo. El presente trabajo discute el papel de la estabilidad genómica en la evolución de los Chondrichthyes.

Currently, new molecular sequencing techniques have allowed the total genetic sequencing of five Chondrichthyes species: elephant shark (Callorhynchus milii), whale shark (Rhincodon typus), brown banded bamboo shark (Chiloscyllium punctatum), cat shark (Scyliorhinus torazame) and white shark (Carcharodon carcharias). These studies have shown that Chondrichthyes, in general have high genomic stability, and therefore have low molecular evolutionary rates. This high genomic stability contrasts significantly with the high variety of biological, morphological, ecological and ecophysiological cycles of the group. Current paper discusses the role of genomic stability in the evolution of the Chondrichthyes.

Palabras clave: Macroevolución, quimeras, tiburones, rayas.

La clase Chondrichthyes es un grupo monofilético^[1] que incluye Elasmobranchii (Batoidea —rayas—, y Selachimorpha —tiburones—), y Holocephali (quimeras); y que, en la actualidad, presenta un número relativamente bajo de especies, en torno a 1.200. Sin embargo, a pesar de este bajo número de especies, los Chondrichthyes, dentro de los vertebrados, son uno de los grupos con mayor variedad de ciclos biológicos (oviparismo, viviparismo lecitotrófico y viviparismo matrotrofico), morfológicos (desde las formas aplanadas de las rayas, a las formas fusiformes de los tiburones pelágicos), ecológicos, y ecofisiológicos (ectotérmicos y mesotérmicos)^[2].

El origen de este grupo se remonta a hace 450 m.a. (Ordovícico), mientras que los primeros Elasmobranchii se remontan a hace 250 m.a. (Triásico). Los primeros tiburones mesotérmicos aparecieron durante el Jurásico (200 m.a.), seguidos por los primeros Lamniformes modernos durante el Cretáceo (145 m.a.)^[3].

Nuevas técnicas de secuenciación molecular han permitido avances significativos en la comprensión de la genómica de los Chondrichthyes (para una revisión sobre estos avances consultar Johri y otros^[2]). Estos estudios han puesto de manifiesto que los Chon-

drichthyes muestran tasas evolutivas moleculares reducidas. Así, tras secuenciar 20 genes del genoma nuclear codificantes de proteínas (de 8 especies diferentes de Chondrichthyes), un estudio concluyó que la tasa de sustitución molecular en este grupo es un factor 2,4 menor que en los linajes de tetrápodos^[4].



Estas nuevas técnicas genéticas, además, han permitido la secuenciación completa de cinco especies de esta clase: el Holocéfalo tiburón elefante (*Callorhin-*

chus milii)^[5], tiburón ballena (*Rhincodon typus*)^[6], tiburón bambú de bandas marrones (*Chiloscyllium punctatum*)^[7], tiburón gato (*Scyliorhinus torazame*)^[7] y tiburón blanco (*Carcharodon carcharias*)^[8]. Estos estudios inciden en la elevada estabilidad genómica del grupo, la cual contrasta significativamente con su elevada diversidad de adaptaciones, y plantea una paradoja evolutiva. Así, en la actualidad se desconoce los mecanismos evolutivos que han favorecido la alta diversificación del grupo, a pesar de las bajas tasas de sustitución molecular que presentan; y al hecho que los tiburones pelágicos mantienen estructuras metapoblacionales complejas^[9], sin fronteras claras entre océanos, y donde los individuos se aparecen sin restricciones y al azar (lo que se denomina panmixia), manteniendo un alto flujo genético a gran escala, lo que hace difícil la delimitación de stock y su gestión pesquera^[10,11]. Aunque no sucede lo mismo con especies de hábitos más costeros, como el cazón (*Galeorhinus galeus*)^[12], para la que se han identificado genéticamente tres clados en el hemisferio sur, aunque interconectados.

Las principales peculiaridades de la estabilidad genómica de Chondrichthyes podrían ser el gran tamaño de su genoma, la presencia de un elevado número de genes implicados en el mecanismo de reparación, y un porcentaje alto de genoma repetido^[8]. Así, los Chondrichthyes, comparados con el resto de vertebrados, tienen un genoma relativamente grande^[8]. La tabla 1 muestra una comparativa del tamaño del genoma de los principales grupos de vertebrados.

La estabilidad genómica podría ser un mecanismo de defensa para contrarrestar daños perjudiciales en el genoma, debido a agentes exógenos al organismo

(tales como rayos-X, luz ultravioleta (UV) y compuestos químicos)^[13], endógenos o celulares (los cuales incluyen procesos genómicos)^[13], así como mejorar el sistema de cicatrización e inmunitario^[2,8,14]. Es por ello que una característica de la mayoría de los cánceres es la inestabilidad genómica, debido a la acumulación de una alta frecuencia de mutaciones genómicas. Así, a lo largo de la vida de un organismo, su genoma se encuentra bajo la amenaza de procesos ambientales y celulares que pueden infligir daño en el ADN, y comprometer la integridad del genoma. Teóricamente, el riesgo de desarrollar cáncer es mayor en animales grandes y longevos, ya que éstos tienen un mayor número de células, y los riesgos de acumulación de mutaciones a lo largo del tiempo es mayor^[8]. Sin embargo, existen estudios que señalan la existencia de una baja tasa de cánceres en Chondrichthyes, aunque no se han realizado estudios sistemáticos que puedan zanjar la cuestión^[8,15]. No obstante, el tiburón ballena, por ejemplo, es sin duda grande y longevo, pudiendo alcanzar los 10 m de longitud y los 130 años de vida^[16], y no se han descrito cánceres asociados a esta especie. En un artículo de **Encuentros de la Biología (Envejecimiento animal por R. Carmona y otros)**^[17] se recoge que el tiburón de Groenlandia (*Somniosus microcephalus*) ostenta el récord de longevidad en vertebrados, con una media de edad de 272 años, y edades máximas de 335 y 392 años. Por tanto, ante estas presiones selectivas se han debido desarrollar mecanismos de defensa para contrarrestar estos efectos perjudiciales y salvaguardar su genoma, las cuales han podido actuar como motor de la evolución en el grupo^[8].

Cuadro 1: Tamaño comparativo del genoma los vertebrados. Siglas: Gbp, del inglés Giga base pairs, y equivale a 1000.000.000 pares de bases.

Taxa	Gbp	Referencias
Peces óseos	Aprox. 2,7	Marra y otros ^[8]
Anfibios	1,3-2,5	Suna y otros ^[19]
Squamata	1,3-2,8	Pasquesi y otros ^[18]
Aves	1-2,1	Pasquesi y otros ^[18]
Mamíferos	2,3-6	Pasquesi y otros ^[18]
tiburón elefante (<i>Callorhynchus milii</i>)	1	Venkatesh y otros ^[18]
tiburón ballena (<i>Rhincodon typus</i>)	3	Marra y otros ^[8]
tiburón blanco (<i>Carcharodon carcharias</i>)	4,63	Marra y otros ^[8]
tiburón bambú de bandas marrones (<i>Chiloscyllium punctatum</i>)	4,7	Hara y otros ^[9]
tiburón gato (<i>Scyliorhinus torazame</i>)	6,7	Hara y otros ^[8]

Algunos genes implicados en la reparación del ADN, encontrados al menos en el tiburón blanco son: *SIRT7*, *DICER1*, *CENPS*, *FEM1B*, *POLD3*, *DTL*,

INO80B, *RFL5* y *CHEK2*. El gen *PDCD2*, probablemente presente en todos los Chondrichthyes, está implicado en la regulación de la proliferación de célu-

las madre. Otros genes supresores tumorales presentes en elasmobranchios son: *FBXO45*, *PDC4* y *RRS1*.

Los recientes resultados, derivados de la secuenciación completa de cinco especies de Chondrichthyes, evidencian una paradoja no resuelta. Se hacen necesarios nuevos estudios que puedan arrojar luz, tanto para resolver dicha paradoja, como para detectar los procesos evolutivos que puedan explicar la alta diversificación que se observa en Chondrichthyes. Por último, aún siguen sin resolver, hitos tan importantes en la evolución de los Chondrichthyes, como son el origen de las rayas (Batoideos), y el origen del gigantismo recurrente en el grupo a lo largo de la evolución^[1,3].

Referencias

- [1] Cunha DB y otros. A Review of the Mitogenomic Phylogeny of the Chondrichthyes. En: *Chondrichthyes Multidisciplinary Approach Rodrigues-Filho* (LF y de Luna Sales JB). Ed. Intech, pp 114-126, 2017.
- [2] Johri S y otros. Taking Advantage of the Genomics Revolution for Monitoring and Conservation of Chondrichthyan Populations. *Diversity* 11:49, 2019. <https://doi.org/10.3390/d11040049>
- [3] Pimiento C y otros. Evolutionary pathways toward gigantism in sharks and rays. *Evolution* 73(3):588-599, 2019.
- [4] Renz AJ y otros. Revealing Less Derived Nature of Cartilaginous Fish Genomes with Their Evolutionary Time Scale Inferred with Nuclear Genes. *PLoS ONE* 8(6):e66400, 2013. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0066400>
- [5] Venkatesh B y otros. Elephant shark genome provides unique insights into gnathostome evolution. *Nature* 505:174-179, 2014.
- [6] Read TD y otros. Draft sequencing and assembly of the genome of the world's largest fish, the whale shark: *Rhincodon typus* Smith 1828. *BMC Genomics* 18:532, 2017. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3926-9>
- [7] Hara Y y otros. Shark genomes provide insights into elasmobranch evolution and the origin of vertebrates. *Nat Ecol Evol* 2:1761-1771, 2018. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0673-5>
- [8] Marra NJ y otros. White shark genome reveals ancient elasmobranch adaptations associated with wound healing and the maintenance of genome stability. *Proc Natl Acad Sci USA* 116(10):4446-4455, 2019. <https://doi.org/10.1073/pnas.1819778116>
- [9] Verissimo A y otros. World without borders—genetic population structure of a highly migratory marine predator, the blue shark (*Prionace glauca*). *Ecol Evol* 7: 4768-4781, 2017. <https://doi.org/10.1002/ece3.2987>
- [10] Bailleul D y otros. Large-scale genetic panmixia in the blue shark (*Prionace glauca*): A single worldwide population, or a genetic lag-time effect of the «grey zone» of differentiation? *Evol Appl* 11:614-630, 2018. <https://doi.org/10.1111/eva.12591>
- [11] Camhi MD y otros. Sharks of the Open Ocean: Biology, Fisheries and Conservation. Ed. Wiley-Blackwell, 2008.
- [12] Bester-van der Merwe AE y otros. Population genetics of Southern Hemisphere tope shark (*Galeorhinus galeus*): Inter-continental divergence and constrained gene flow at different geographical scales. *PLoS ONE* 12(9): e0184481, 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184481>
- [13] Tubbs A y Nussenzweig A. Endogenous DNA Damage as a Source of Genomic Instability in Cancer. *Cell* 168(4): 644-656, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.01.002>
- [14] Chin A y otros. Blacktip reef sharks (*Carcharhinus melanopterus*) show high capacity for wound healing and recovery following injury. *Conserv Physiol* 3, 2015. <https://doi.org/10.1093/conphys/cov062>
- [15] Ostrand GK y otros. Shark cartilage, cancer and the growing threat of pseudoscience. *Cancer Res* 64, 8485-8491, 2004.
- [16] Perry CT y otros. Comparing length-measurement methods and estimating growth parameters of free-swimming whale sharks (*Rhincodon typus*) near the South Ari Atoll, Maldives. *Mar Freshwater Res* 69(10):1487-1495, 2018. <https://doi.org/10.1071/MF17393>
- [17] Carmona R. y otros. Envejecimiento animal. *Encuentros de la Biología* 160: 152-156.
- [18] Pasquesi GLM y otros. Squamate reptiles challenge paradigms of genomic repeat element evolution set by birds and mammals. *Nat Commun* 9: 2774, 2018. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05279-1>.
- [19] Suna YB y otros. Whole-genome sequence of the Tibetan frog *Nanorana parkeri* and the comparative evolution of tetrapod genomes. *Proc Natl Acad Sci USA* 112(11):E1257-E1262, 2015. <https://doi.org/10.1073/pnas.1501764112>



MANFRED EIGEN (1927-2019): UNA VISIÓN PERSONAL por MIGUEL ÁNGEL MEDINA TORRES

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOQUÍMICA, UNIVERSIDAD DE MÁLAGA

MEDINA@UMA.ES

En el obituario que la revista *Science* dedicó el pasado 5 de abril de 2019 a Manfred Eigen, los autores del texto fueron Israel Pecht y Thomas Jovin, quienes compartieron estancia postdoctoral a partir de 1967 en el laboratorio de Eigen en Gotinga (Baja Sajonia, Alemania). Pecht fue el primer postdoctoral israelí que realizó una estancia de investigación en Alemania después del Holocausto. Jovin venía de una anterior estancia postdoctoral en Stanford. Ambos coincidieron al mismo tiempo con Rudolf Rigler, discípulo de Eigen, en el año en que le concedieron el Nobel de Química. Pecht y Jovin, que conocieron bien y trataron durante el resto de su vida a Manfred Eigen, resaltan su humanidad, su calidez y su altura intelectual, no dudando en calificarlo de un individuo extraordinario y de incluirlo en el «panteón histórico de los grandes científicos».

Para todo ser humano conocido o célebre por el motivo que fuere, hay una historia oficial y múltiples historias personales matizadas por el ángulo desde el cual otros individuos lo conocieron. Este artículo pretende ser una remembranza del extraordinario científico que fue Manfred Eigen, aportando de forma resumida algunos datos de su 'historia oficial'; pero, ante todo, este pretende aportar mi visión personal del personaje desde que lo 'descubrí' en 1981.

La historia oficial nos cuenta que Manfred Eigen nació en Bochum, una de las ciudades de la conurbación de la cuenca minero-industrial del Ruhr en Renania del Norte-Westfalia (Alemania) el 9 de mayo de 1927. Su padre, un violonchelista profesional, le transmitió su pasión por la música, de forma que con sólo 15 años ya era un pianista de muy buen nivel al que se le abría la posibilidad de desarrollar una

carrera profesional como solista. De hecho, en una entrevista que le hicieron en 2000, el propio Manfred Eigen recordaba que a la edad de 12 años ya tocaba en conciertos ante el público. La Segunda Guerra Mundial truncó ese camino para el futuro. En 1942, como tantos otros jóvenes de su edad, fue reclutado forzosamente y destinado a las baterías antiaéreas de defensa de su ciudad. En 1944 pasó a la fuerza aérea alemana. El día de la rendición alemana, el 7 de mayo de 1945, se encontraba en el aeropuerto de Salzburgo cuando fue ocupado por tropas americanas, pasando así a la condición de prisionero de guerra. Sin embargo, en lo que daría para un guión de película de aventuras, él y otro prisionero consiguieron escapar y, tras recorrer a pie más de 1000 kilómetros en un mes, regresó a Bochum. Es en estos primeros momentos de la postguerra cuando decide abandonar definitivamente el camino de la dedicación profesional a la música y apuesta por seguir una carrera en el campo de la ciencia, retomando así su segunda pasión de infancia y adolescencia, del tiempo feliz en que hacía experimentos de química en un laboratorio casero. Para alguien que quisiera seguir unos estudios de ciencias naturales en aquellos tiempos de inmediata postguerra la Universidad de Gotinga era una elección lógica. Sin embargo, era tal la afluencia de antiguos estudiantes que querían retomar sus estudios tras la guerra que las autoridades académicas trataban de convencer a los más jóvenes para que siguieran por más tiempo en el instituto. Con la determinación que siempre le caracterizó cuando tomaba una decisión, Eigen preguntó si le admitirían en caso de superar un examen de ingreso. Y así lo hizo, siendo finalmente admitido como estudiante de geofísica, la única rama

de la física con plazas disponibles para estudiantes de nuevo ingreso. Allí tuvo la enorme fortuna de contar con profesores de primerísimo nivel científico. Fue alumno de Werner Heisenberg y Richard Becker en física general, de Hans Kopfermann y Wolfgang Pauli en física experimental y de Arnold Eucken en química física. Precisamente con Eucken empezó a trabajar de forma casi fortuita en su tesis de máster a partir de 1947. Su objetivo era determinar con la máxima precisión posible el calor específico del agua pesada o deuterada (D₂O) en un amplio rango de temperaturas. Para sus experimentos, Eucken puso en manos de Eigen 450 g de agua pesada, de un valor incalculable en aquellos tiempos de la posguerra alemana. Tras algunos desencuentros y reencuentros y ciertas vicisitudes, incluyendo una gran explosión durante una de las determinaciones experimentales, Eucken le propuso a Eigen que se olvidara del máster porque si llevaba a término sus experimentos el trabajo daba para una tesis doctoral. Y así fue cómo Manfred Eigen se examinó de su tesis doctoral y alcanzó el título de doctor... ¡con sólo 22 años, apenas 4 años después de iniciar sus estudios universitarios!

En 1953 Eigen conseguía su primer contrato como profesor de investigación asistente de Karl Friedrich Bonhoeffer, primer director del recién creado Max Planck Institut de Química Física, también en Gotinga. Y así comienza la historia de su carrera hacia el premio Nobel.

La conferencia Nobel que Manfred Eigen pronunció el 11 de diciembre de 1967 comienza con el siguiente párrafo:

«The rate of true neutralization reactions has proved to be immeasurably fast». I found this quotation in Eucken's *Lehrbuch der Chemischen Physik* while I was preparing for my doctor's examination. Although as a student of Eucken, this book was for me the «bible of physical chemistry», I was then at the age when one accepts practically nothing unquestioned, and so I started to reflect on just how fast an «immeasurably fast» reaction might be.

[Traducción: «Se ha demostrado que las velocidades de las reacciones reales de neutralización son inmensurablemente rápidas». Encontré esta cita en el *Manual de Química Física* de Eucken cuando estaba preparando mi examen de doctorado. Aunque como estudiante de Eucken este libro era para mí la «biblia de la química física», me encontraba en la edad en uno no acepta prácticamente nada sin cuestionárselo. Así que empecé a reflexionar cómo

de rápida una reacción «inmensurablemente rápida» podría ser].

La racionalidad científica de la mente de Eigen no podía aceptar que no se pudiera medir la velocidad de una reacción por rápida que ella fuese. Indagando en las perturbaciones periódicas de los equilibrios químicos y confrontando la pregunta entonces no resuelta de cómo se produce la alta absorción del sonido por el agua de mar, llegó a la conclusión de que la dispersión y la absorción del sonido por el agua del mar eran el resultado de un proceso de relajación química. Este punto de partida le llevó al convencimiento de que la velocidad de las reacciones hasta entonces identificadas como «inmensurablemente rápidas» deberían poder medirse perturbando el equilibrio químico mediante pulsos ultracortos de energía. Este elegante y conceptualmente sencillo *método de la relajación* fue el que propuso Eigen a Bonhoeffer para estudiar la velocidad de las reacciones de neutralización cuando éste lo reclutó como asistente suyo en el Max Planck Institut de Química Física. El cuerpo teórico y el aparato matemático ya estaban definidos en 1954 y entre dicho año y 1955 se realizaron los famosos experimentos y mediciones que permitieron determinar con una precisión sin precedentes la velocidad de la reacción de neutralización en el sistema amonio-agua en estado de equilibrio. En una entrevista que Hans Jörnvall le hizo a Manfred Eigen durante la reunión de Laureados Nobel en Lindau (Alemania) en el año 2000 (véase en la **figura 1** una fotografía de Eigen a los 73 años tomada durante la entrevista), Eigen rememora vívidamente el momento en que su método fue «presentado en sociedad». Fue en una reunión científica de la *Faraday Society* en 1954. Allí se habló mucho de reacciones rápidas y cómo medirlas. H. Hartidge y F. Roughton hablaron del método de flujo y el aparato de mezcla de reactivos que propusieron en 1923 para garantizar la mezcla de los mismos en el rango de los milisegundos y así hacer posible la determinación de velocidades «muy rápidas» dentro de ese rango temporal de los milisegundos. Posteriormente, Ronald Norrish y George Porter comentaron sus estudios sobre fotólisis que les permitía acceder a reacciones «extremadamente rápidas», en el rango de los microsegundos. Eigen recuerda que, cuando le tocó el turno de presentar su trabajo, se disculpó por no disponer de un conocimiento suficientemente bueno de la lengua inglesa como para denominar a las reacciones que, como la de neutralización, tienen velocidades en el rango del nanosegundo al picosegundo. Alguien le recomendó que denominase a dichas reacciones como «condenadamente rápidas». Una vez explicados su procedimiento y presentadas y publica-

das sus determinaciones experimentales, empezaron a decirle que eso valía un premio Nobel. Y así fue: en octubre de 1967 se hacía pública la concesión del premio Nobel de Química repartido entre Manfred Eigen (que se llevó la mitad de su dotación económica) y Norrish y Porter (que compartieron a partes iguales la otra mitad). Véanse en la **figura 2** las fotografías de los premiados publicadas por la Fundación Nobel. La motivación del jurado fue que la concesión se hacía «for their studies of extremely fast chemical reactions, effected by disturbing the equilibrium by means of very short pluses of energy». [Traducción: por sus estudios de reacciones químicas extremadamente rápidas efectuadas alterando el equilibrio mediante la aplicación de pulsos de energía muy cortos]. En la entrevista arriba mencionada, Eigen recuerda que muy pronto las aplicaciones de su método se multiplicaron en diversos ámbitos. Primero fueron químicos inorgánicos los que solicitaron su colaboración para estudiar las velocidades de las reacciones de formación de complejos; les siguieron los químicos orgánicos que demandaban medir las velocidades de reacción en catálisis ácido-base de todo tipo de reacciones orgánicas. Finalmente, surgió la oportunidad de colaborar con bioquímicos para hacer los primeros estudios sobre enzimas alostéricas para medir el control de las mismas.

Estos primeros contactos con los bioquímicos abrieron a la inquieta mente de Eigen un nuevo y vastísimo campo que explorar: el de la compleja red de interacciones químicas que tienen lugar en los seres vivos. Su acercamiento al área de conocimiento de la bioquímica (que incluye la biofísica) tuvo dos consecuencias a corto plazo de enorme trascendencia en su carrera profesional y para las ciencias biológicas. Por una parte, su convencimiento de que la comprensión del funcionamiento de los organismos a nivel de sus interacciones químico-físicas demandaba un necesario *enfoque interdisciplinar* le llevó a iniciar y desarrollar una campaña de *lobby* con la que consiguió que la *Max Planck Gesellschaft* aprobase en 1971 la creación del MPI de Química Biofísica (MPIBPC), en la falda de una colina (Faßberg) en las afueras de Gotinga (véase **figura 3**). El propio Eigen supervisó la elección del sitio y la definición de los espacios arquitectónicos del centro, creado para aprovechar las sinergias de investigación en física, química y biología. También él inspiró los principios fundadores del nuevo centro, donde «no es el área de investigación lo que cuenta, sino la excelencia de los individuos». Sin embargo, renunció a dirigir «su» centro al no aceptar el cargo de Director Perpetuo que le ofrecieron y optó por simplemente dirigir su propio Departamento de Cinética Bioquímica, pues-

to que mantuvo hasta su jubilación oficial en 1995. Después de esta fecha, permaneció activo casi hasta el final de su vida, repartiendo su tiempo entre el MPIBPC y el *Scripps Research Institute* de La Jolla (California, Estados Unidos). Menos conocido es que Eigen también trató de conseguir (esta vez sin éxito) la creación de un *MPI für Musik* con el compositor Pierre Boulez como director.

La segunda consecuencia que tuvo su acercamiento a la bioquímica fue su formulación de una *teoría de la evolución molecular* que puede formularse elegantemente en precisos términos matemáticos. Su artículo «Molecular self-organization and the early stages of evolution», publicado en 1971 en *Quarterly Reviews of Biophysics* es considerado todo un clásico. Eigen desarrolló novedosos conceptos para explicar un plausible escenario de evolución prebiológica. En 1971 estableció lo que se conoce como *paradoja de Eigen*: en ausencia de enzimas polimerasas con capacidad de corregir errores, la longitud de un ácido nucleico estaría muy limitada pues en moléculas de un tamaño mayor a un umbral bajo dado las mutaciones acumuladas al azar destruirían la información genética contenida en sus secuencias tras pocos ciclos de replicación, un fenómeno conocido hoy día como *catástrofe de error*; pero ese tamaño umbral máximo (conocido como *umbral de error*) es demasiado pequeño como para codificar una enzima polimerasa con actividad correctora de errores. A fecha de hoy, la paradoja de Eigen sigue siendo un reto no resuelto por los biólogos teóricos.

Es en este punto de la teoría de evolución prebiológica de Eigen cuando comienza la pequeña historia personal de mi conocimiento del personaje, al que —como queda dicho más arriba— empecé a conocer en 1981. Junio de 1981 fue el mes de los exámenes finales en mi primer curso de la Licenciatura de Ciencias Biológicas en la Facultad de Ciencias de la Universidad de Málaga. Entre examen y examen, como todos los meses desde enero de 1977 cumplí mi ceremonia de visita a «mi kiosco favorito» para adquirir el número mensual de *Investigación y Ciencia*, la edición en español que empezó a publicarse en octubre de 1976, de la revista norteamericana *Scientific American*, sin duda alguna la mejor revista de divulgación científica del mundo. El número de junio de 1981, a un precio de 250 pesetas, lleva en portada una ilustración de naves de guerra a remo. Su índice de contenido incluía (como era norma en la revista en aquellos tiempos) 8 artículos de divulgación sobre temas científicos diversos, como el trabajo sobre «Naves de guerra a remo en la antigüedad» al que aludía la imagen de portada, un estudio sobre la «Proteólisis intracelular» confirmado por el profesor Santiago Gri-

solía, un trabajo sobre el «Reconocimiento del habla por medio de ordenadores» o un ensayo de astronomía acerca de «Las envolturas de las novas», entre otros. Era un número repleto de artículos realmente interesantes, pero el que más llamó mi atención en un primer momento y, tras su lectura reposada, me subyugó fue el más extenso de todos los artículos (con el tiempo, pude comprobar que, de hecho, es el artículo más extenso publicado en toda la historia de *Investigación y Ciencia*): «Origen de la información genética», un artículo de veinte páginas (se extiende entre las páginas 62 y 81) firmado (en este orden) por Manfred Eigen, William Gardiner, Peter Schuster y Ruthild Winkler-Oswatitsch (hace pocos meses, leyendo el obituario publicado en *Science*, he sabido que Ruthild Winkler-Oswatitsch fue compañera de aventuras científicas de Eigen durante más de 50 años y ha sido su segunda mujer, que le ha sobrevivido). La **figura 4** reproduce la reseña sobre los autores de este artículo, tal como aparece en la página 3 del número de junio de 1981 de *Investigación y Ciencia*. Con la ayuda de las excelentes figuras que son seña de la revista y gracias a las clarísimas explicaciones de los autores, pude entender la trascendencia de lo que ahí se explicaba. Dos «recuadros fuera de texto» (también «marca de la casa») presentaban de forma sencilla los modelos de las *cuasiespecies* y de los *hiperciclos* en los que se sustenta su teoría de evolución prebiológica. Años después volvería a encontrarme con brillantes contribuciones de Manfred Eigen publicadas en *Investigación y Ciencia*: en el número de septiembre de 1993 (a un precio ya de 700 pesetas) se publicó su artículo «Cuasiespecies víricas», donde explica la evolución de virus extremadamente mutables y adaptables (tales como el virus de la gripe o el VIH) dentro del marco conceptual de su modelo de evolución prebiológica; y en el número de julio de 2001 la imagen de portada estaba dedicada a su artículo sobre «Priones y encefalopatía espongiiforme bovina». Pero fue, sin duda, la lectura de «Origen de la información genética» la que una huella más profunda y duradera dejó en mí.

En 1984, siendo todavía estudiante de Biológicas, en una de mis frecuentes visitas a las Librerías Proteo-Prometeo me encontré entre sus anaqueles el libro *Biophysics* de Mijail Volkenshtein, una versión en inglés de la edición revisada de 1981 en ruso que acababa de publicar en 1983 la editorial soviética MIR. Inmediatamente decidí comprarla, convirtiéndose en mi primer manual de biofísica. Su capítulo 17 y último está dedicado a los «Problemas de la evolución biológica» y en sus apartados 17.2 y 17.4 expone detalladamente el modelo de evolución prebiológica basado en la teoría de la auto-organización

de las moléculas (Eigen, 1971) y los hiperciclos. Por aquel entonces, yo llevaba ya dos años participando como alumno interno en el grupo de investigación del profesor Ignacio Núñez de Castro (en lo que actualmente es el Departamento de Biología Molecular y Bioquímica de la Universidad de Málaga) y durante los cursos 1983-84 y 1984-85 disfruté de una *beca-colaboración* del Ministerio de Educación que me permitió realizar los estudios que me iniciaron en la ciencia y condujeron a la presentación de mi Memoria de Licenciatura «Glutamina y glucosa como sustratos energéticos en células de tumor ascítico de Ehrlich» en octubre de 1985. En la biblioteca del departamento contábamos con una edición en alemán de la *Biophysik* de Hoppe, Lohmann, Markl y Zeigler editada por *Springer Verlag* en 1982. Me congratulé constatar que también este manual universitario dedicaba un capítulo (curiosamente, también el número 17 y último) al tema de la evolución y que su sección 17.2, escrita por Peter Schuster (discípulo de Eigen y coautor del artículo de 1981) y Karl Sigmund, y titulada «Von Makromolekül zur primitiven Zelle. Das Prinzip der früher Evolution», también incluía una descripción del modelo de Eigen.

Cuando en 1994 acepté el reto de conformar los contenidos de la asignatura «Biofísica», optativa de la Licenciatura en Biología asignada al departamento pero nunca antes ofertada, tuve claro que un bloque temático debería dedicarlo al estudio de la evolución molecular, prebiológica y biológica. Durante años, hasta que se extinguieron las antiguas licenciaturas para dar paso a los actuales grados, dicha asignatura y su sucesora, «Biofísica de membranas», se ofertaron como optativa par los estudiantes de biología y como asignaturas de libre configuración a alumnos de química y de ingeniería química. Durante esos años el puñado de alumnos que escogieron esas asignaturas fueron los únicos de toda la universidad malagueña que tuvieron la oportunidad de conocer el modelo de Eigen en el contexto de la evolución prebiológica, de la que poco o nada sabían antes de cursar la asignatura. Quedan en mi recuerdo magníficos productos colectivos de mis alumnos, como un divertidísimo (pero, al mismo tiempo, riguroso) vídeo casero titulado «Evoluciona como puedas».

La segunda etapa de la historia de mi conocimiento personal de la figura y la obra de Manfred Eigen acaeció en 2001. Ese año, Carlos Rodríguez Caso, un doctorando FPU (compartido con Francisca Sánchez Jiménez), consiguió una ayuda para estancia breve de tres meses en el laboratorio de Vinod Subramanian en el MPIBPC para realizar una serie de mediciones de dicroísmo circular con proteína histidina descarboxilasa purificada. Habían pasado

9 años desde 1992, año en que disfruté de una estancia postdoctoral en la Universidad de Heidelberg con una beca de la *Alexandre von Humboldt Stiftung* (AVHS). Las prestigiosas becas postdoctorales AVHS posibilitan estancias de investigación de hasta dos años en la República Federal de Alemania. Cuando un becario no agota todo ese tiempo en una estancia, puede posteriormente ‘reasumir’ la beca (antes de cumplir 42 años) hasta agotar el máximo de 24 meses. Yo me planteé la posibilidad de acompañar a mi becario y aprovechar 3 de los 12 meses que me restaban de mi beca AVHS. Hice una búsqueda de los grupos de investigación en Gotinga y me enteré de que en el MPIBPC estaban trabajando dos premios Nobel: Erwin Näher y el propio Manfred Eigen. Indagué algo más y supe que Eigen estaba como Emérito en el Departamento que él dirigió hasta su jubilación y que en aquel entonces dirigía una jovencísima Petra Schwille, discípula y última doctoranda dirigida personalmente por Manfred Eigen. Para terminar de convencerme, supe que el grupo en aquel momento se dedicaba a implementar mejoras y nuevas aplicaciones a una tecnología puntera con la máxima resolución posible, la de detección de moléculas individuales [véase «Técnicas de detección y análisis de biomoléculas individuales» en *Encuentros en la Biología* 78: 3-4, 2002]. La técnica en cuestión es la *espectroscopía de correlación de fluorescencia*, FCS [véase «Espectroscopía de correlación de fluorescencia» en *Encuentros en la Biología* 81: 3-4, 2002]. La FCS es un análisis de fluctuaciones de pequeños conjuntos moleculares que combina la máxima sensibilidad teóricamente posible con un alto nivel de confianza estadística. Aunque sus fundamentos teóricos habían sido introducidos en la primera mitad de los años 70 del pasado siglo, su desarrollo práctico no fue posible hasta bien entrados los años 90, gracias al esquema de detección confocal introducido por Rigler, otro discípulo de Eigen mencionado más arriba. Contacté con Petra Schwille, nos pusimos de acuerdo en un plan de trabajo y la AVHS me concedió la reasunción de mi beca, con lo que disfruté de una intensa estancia en Gotinga entre octubre y diciembre de 2001. Cuando llegué al Departamento, me encontré con que la «estrella» del momento era el primer microscopio ConfoCor del mundo, un prototipo montado por la empresa Carl Zeiss a partir del diseño salido del propio laboratorio de Schwille. La microscopía ConfoCor además de aportar todas las ventajas de la microscopía confocal convencional posibilita los análisis de fluctuaciones de la FCS con la misma resolución de análisis y detección de molécula individual, convirtiéndose así en una excepcional tecnología con capacidad para «single molecule imaging». Además, en aquellos momentos el

laboratorio trabajaba en la mejora de la instrumentación diseñada para hacer posible una espectroscopía de correlación cruzada de fluorescencia basada en dos colores, DC-FCCS, cuyas bases conceptuales habían sido propuestas por Eigen y Rigler en 1994 y cuya primera instrumentación fue diseñada y usada para realizar los primeros experimentos de DC-FCCS por Petra Schwille en 1997. Durante mi estancia en Gotinga, tuve ocasión de conocer en persona y saludar al Dr. Eigen, recién reincorporado después de una estancia veraniega en *Scripps Institute*, pude conocer de primera mano su cualificación como músico aficionado altamente competente y tuve la fortuna de asistir a su última conferencia plenaria en el extraordinario salón de actos del centro que él contribuyó decisivamente a crear. Supe también en aquel tiempo que Eigen había ayudado a fundar la compañía biotecnológica *Evotec Biosystems* (actualmente, *Evotec AG*). En el obituario que Georgina Ferry escribió en *Nature*, publicado el 7 de marzo de 2019, he conocido que Eigen contribuyó decisivamente a la creación de una segunda compañía biotecnológica, *DIREVO Biotech*, y que ésta fue comprada por *Bayer Healthcare* en 2008. En ese mismo obituario, se califica a Manfred Eigen como una persona con una gran elegancia personal, con un especial gusto por las corbatas llamativas (véase la **figura 5**, que es la foto acompañante al obituario y obsérvese la corbata que porta un elegante Eigen dando explicaciones delante de una pizarra), que siempre persiguió encontrar soluciones igualmente elegantes a preguntas centrales y relevantes de la ciencia. Doy fe de ello y añado que en los tres meses que permanecí en el MPIBPC jamás vi ni una sola muestra de ‘divismo’ por su parte; al contrario, siempre supo mantenerse elegantemente en segundo plano, sin hacer sombra a su discípula.

Mi tercer acercamiento a la figura de Eigen como uno de los auténticos gigantes de la ciencia del siglo veinte llegó con el lanzamiento de su monumental obra «From Strange Simplicity to Complex Familiarity» (Oxford University Press, 2013), un tratado en el que estuvo trabajando durante más de 15 años (la **figura 6** muestra su portada). Su subtítulo («A Treatise on Matter, Information, Life and Thought») deja constancia de la profundidad y amplitud de miras del este tratado acerca de la naturaleza física de la información y de su papel en los procesos biológicos. Esta ambiciosísima obra, producida por un lúcido octogenario, retrata a modo de gran pintura el grado actual de comprensión científica de todo el mundo físico y los principios que lo gobiernan. Con igual solvencia presenta los fundamentos físicos del mundo material, que el siempre resbaladizo concepto científico de información, que el abordaje científico de

preguntas fundamentales sobre la auto-organización molecular, el origen de la vida y la evolución con un enfoque genuinamente *transdisciplinar*. En sus más de 700 páginas, Eigen supo conjugar unos contenidos científicos del máximo nivel y rigor con gran cantidad de anécdotas de enorme interés, incluyendo sus recuerdos personales de muchos otros eminentes científicos. La lectura de este libro impresionante abría las puertas a un anunciado segundo volumen, en el que con un enfoque ‘más biológico’ se abordaría el estudio de niveles de organización más complejos: la vida, el pensamiento, la cultura y el futuro. Desconozco si, en los casi seis años que le restaron de vida

después de la publicación de este libro, a Manfred Eigen le dio tiempo de trabajar en ese anunciado segundo volumen, que —me temo— la ciencia y los científicos nos hemos perdido.

Y así hasta hoy. Cuando me enteré del fallecimiento de Eigen en febrero de 2019 decidí que tenía que escribir esta semblanza para la sección «*Vida y obra*» de *Encuentros en la Biología* y escogí escribirla desde mi particular visión personal. La búsqueda de información y materiales para la preparación de este texto que aquí acaba ha constituido la última fase de mi conocimiento personal de Manfred Eigen, de su vida y de su obra.



Figura 1: Fotografía tomada a Manfred Eigen a la edad de 73 años durante una entrevista en la reunión de Laureados Nobel de Lindau en 2000.

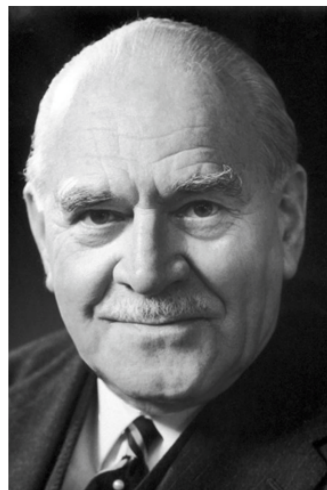


Figura 2: Fotografías de los premiados con el Nobel de Química en 1967 recogidas por la Fundación Nobel. De izquierda a derecha: Manfred Eigen, Roland George Wreyford Norrish y George Porter.

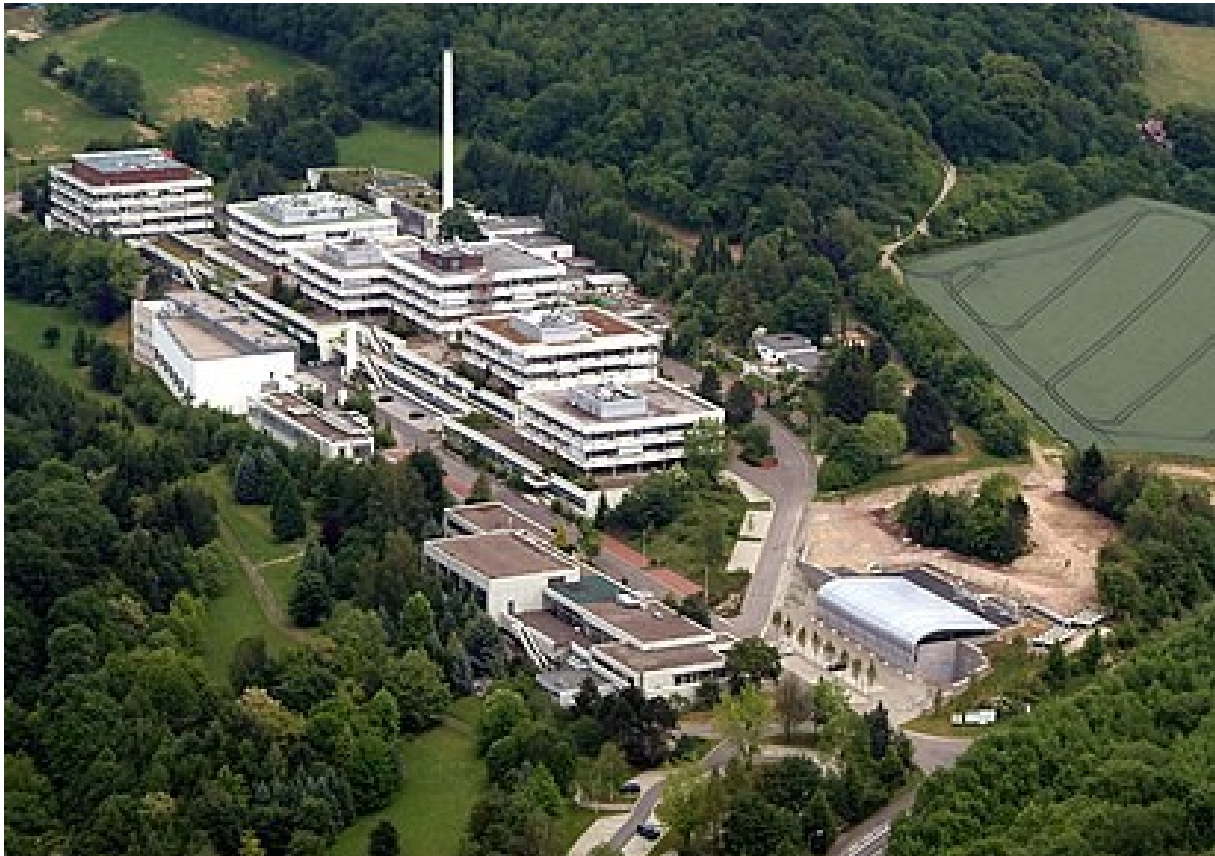


Figura 3: *Vista aérea del Max Planck Institut für biophysikalisches Chemie, en la falda de la colina Faßberg, en las afueras de Gotinga.*

MANFRED EIGEN, WILLIAM GARDINER, P. SCHUSTER y RUTHILD WINKLER-OSWATITSCH (“El origen de la información genética”) prepararon su artículo en el Instituto Max Planck de Química Biofísica en Göttingen, donde Eigen dirige el departamento de cinética bioquímica. Además de su trabajo teórico sobre evolución molecular, Eigen continúa su investigación experimental sobre diversos problemas de la cinética de las reacciones, empleando los métodos de relajación química que le valieron el Nobel en 1967. Gardiner, profesor de química en la Universidad de Texas en Austin, llegó al campo de la evolución molecular tras estudios experimentales

y simulación en ordenador de cinética de gases y explosiones. Schuster, doctorado por la Universidad de Viena en 1967, es profesor y director del Instituto de Química Teórica y Radioquímica de esa universidad. Combina su interés por la dinámica de las reacciones con estudios de los puentes de hidrógeno. Winkler-Oswatitsch adquirió su doctorado en la Universidad Técnica de Viena en 1969. Sus intereses como investigadora van desde la cinética de las reacciones de iones con antibióticos hasta problemas evolutivos y el análisis filogenético del ARN.

Figura 4: *Reseña sobre los autores del artículo «Origen de la información genética», tal como aparece en la página 3 del número de junio de 1981 de Investigación y Ciencia.*

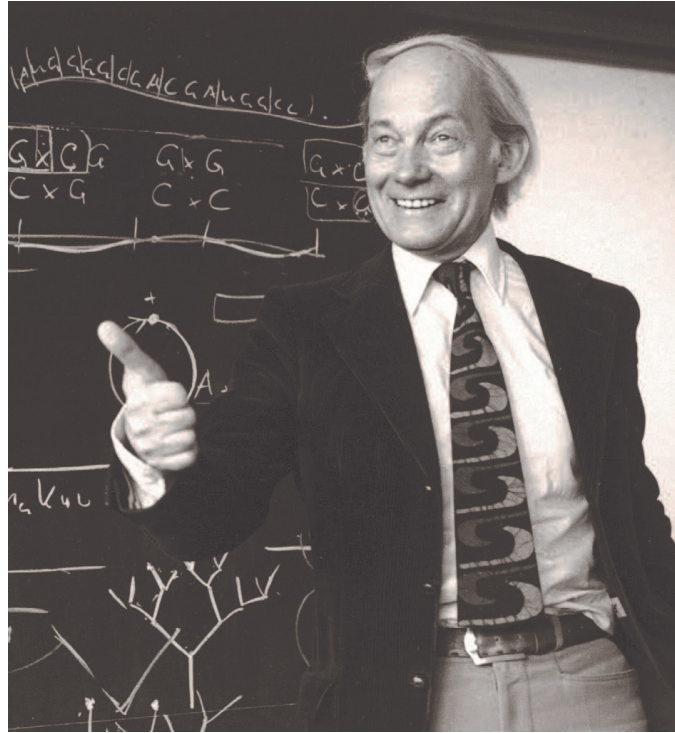


Figura 5: El siempre elegante Manfred Eigen con una llamativa corbata dando explicaciones delante de una pizarra. Foto que acompaña al obituario publicado en la revista Nature el 7 de marzo de 2019.

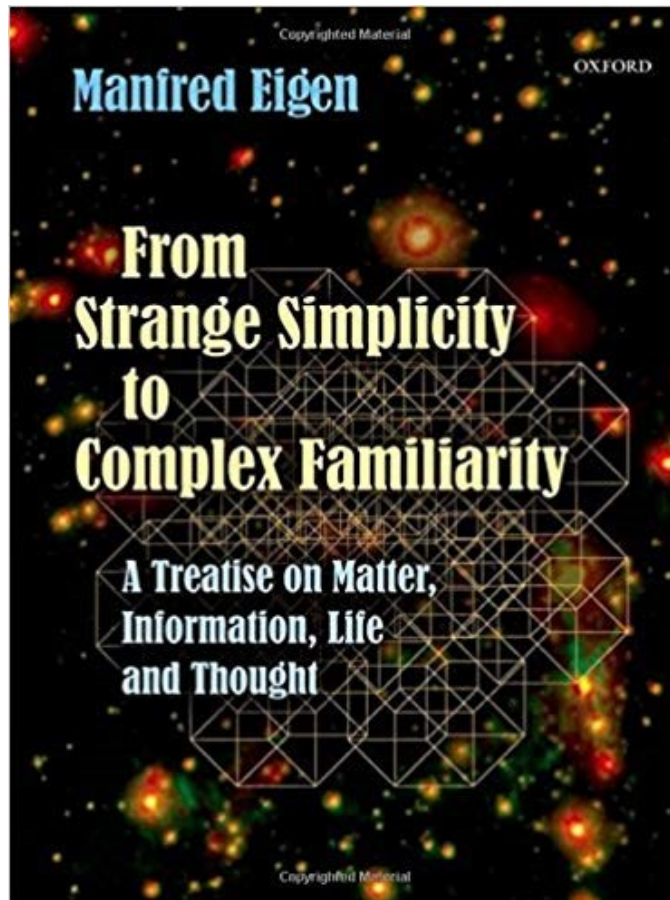


Figura 6: Portada del monumental tratado «From Strange Simplicity to Complex Familiarity» (Manfred Eigen, publicado en Oxford University Press en 2013).

CONSUMIÉNDONOS MÁS ALLÁ DE NUESTRA PROPIA NATURALEZA

por LUIS RODRÍGUEZ CASO

AYUDANTE DE INVESTIGACIÓN DE OPI, ESTACIÓN EXPERIMENTAL LA MAYORA (CSIC), ALGARROBO COSTA (MÁLAGA).

CASO@EELM.CSIC.ES

Naciones Unidas lleva casi cinco décadas trabajando en la elaboración de una agenda medioambiental que comprometa a los países del mundo. La actual emergencia climática y medioambiental había sido anunciada por los científicos de la década de los 70, y ya se advertía entonces que la concepción social, económica y medioambiental del mundo no iba por buen camino. Pese a todas las advertencias, el aparato administrativo, tratados, conferencias, protocolos e informes, a día de hoy la humanidad todavía sigue consumiéndose más allá de su propia naturaleza. En el actual mundo de la información, saturados de esta, poco sabemos de la labor administrativa ni de las referencias científicas que arrastra la agenda climática mundial. En este artículo se presenta un breve archivo histórico de la agenda climática, recuperando en su encuentro parte del espíritu académico y científico que lo impulsó.

For almost five decades The United Nations have been working on the development of an environmental agenda that engages the countries of the world. The current climatic and environmental emergency had been announced by the scientists of the 70s, and it was already noted at that time that the social, economic and environmental conception of the world was not going well. Despite all the warnings, the administrative apparatus, treaties, conferences, protocols and reports, humanity is still consuming itself beyond its own nature to this day. In the current world of information, we, saturated with it, know little about the administrative work or the scientific references that drag the global climate agenda. This article presents a brief historical archive of the climate agenda, recovering part of the academic and the scientific spirit it has promoted.

Naciones Unidas, medioambiente, cambio climático, ecología, ecología global, ecología profunda.

Empezando por el final...

El pasado 1 de noviembre, Naciones Unidas aceptó la propuesta del gobierno de Chile para que España celebrase en Madrid, del 2 al 13 de diciembre, la 25.^a Conferencia de las Partes de la Convención Marco de Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (COP25). De forma conjunta, se le unieron el 15.^o periodo de sesiones de la Conferencia de las Partes para el Protocolo de Kyoto (CP15), el segundo periodo de sesiones de la Conferencia de las Partes para el Acuerdo de París (CP/RA2), el 51.^o periodo de sesiones del Órgano Subsidiario de Asesoramiento Científico y Tecnológico (OSACT51) y del Órgano Subsidiario de Ejecución (OSE51).

Reconstruyendo una concepción burócrata del mundo...

«Reunida en Estocolmo del 5 al 16 de junio de 1972, y atenta a la necesidad de

un criterio y unos principios comunes que ofrezcan a los pueblos del mundo inspiración y guía para preservar y mejorar el medio humano...»

Así daba comienzo el Informe de la Conferencia de Naciones Unidas sobre el Medio Ambiente Humano^[1], seguramente la primera gran conferencia a nivel internacional organizada en torno al capítulo medioambiental. El resultado de la que fue llamada Cumbre de la Tierra produjo 26 principios que serían el punto de partida a posteriores iniciativas internacionales, tales como el Protocolo de Montreal en 1986, centrado en las sustancias que agotan la capa de ozono y el Grupo Intergubernamental de Expertos sobre Cambio Climático, creado este en 1988 para ofrecer a los legisladores evaluaciones periódicas de carácter científico sobre el tema.

Desde Estocolmo, quedó patente que la contaminación era un proceso transfronterizo que no reconocía fronteras y que afectaba a los países, regiones y pueblos más allá de su punto de origen. Esta concepción abarcó, en las décadas siguientes, los temas medioambientales que en aquel momento requerían

de la acción conjunta de todas regiones del mundo, temas tan importantes como el cambio climático, la reducción de la capa de ozono, el uso y la administración del agua transoceánica y continental, la excesiva deforestación del planeta, la desertificación, la degradación de la tierra, los vertidos peligrosos y la disminución de la diversidad biológica. En este tiempo, se reconoció que los problemas ambientales estaban íntimamente ligados al consumo de recursos naturales, y que su acción llegaba a extenderse a temas tan importantes como la justicia social y la seguridad de los países.

La reafirmación de la Declaración de la Conferencia de las Naciones Unidas sobre el Medio Ambiente (CNUMAD) aprobada en Estocolmo se hizo veinte años después, en una nueva cumbre de la tierra, con sede en Río de Janeiro. A través del Informe Brundtland^[2] la conferencia recogió e hizo suya la definición de «desarrollo sostenible» que unos años antes, en 1987, había planteado la Comisión del Medio Ambiente y del Desarrollo:

«El desarrollo que satisface las necesidades del presente sin comprometer la habilidad de las generaciones futuras para satisfacer sus propias necesidades»

Esta nueva cumbre marcó un hito importante que reconocía y conciliaba, a través del término «desarrollo sostenible», dos aspectos fundamentales y enfrentados en el medio humano: el desarrollo económico y el medio ambiente. Además de los 27 principios recogidos en la Declaración de Río de Janeiro, la CNUMAD desarrolló una serie de acuerdos legalmente vinculantes: La Convención Marco sobre el Cambio Climático, el Convenio sobre Diversidad Biológica y la Declaración de Principios Forestales. Con todo, uno de los mayores logros de CNUMAD fue la elaboración del Programa 21, un extenso y minucioso programa que exigía nuevas formas de inversión para un desarrollo sostenible en el siglo XXI. Dicho programa se volvió a actualizar en 2002, en la cumbre de Johannesburgo, y su resolución se aprobó por la Asamblea General el 24 de diciembre de 2009^[4].

Por su parte, el proceso encaminado a reducir de manera específica el calentamiento global se consolidó en 1994 con el nacimiento de la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (CMNUCC). Desde entonces, los países firmantes se reúnen anualmente en las Conferencias de las Partes (COP) para establecer obligaciones vinculantes de los países miembros y, entre otros temas, reducir sus emisiones de gases de efecto invernadero. La COP 21, de diciembre de 2015, fue el preludio de la firma

de París que establece un plan para limitar el calentamiento global por debajo de los 2 °C. Allí también se reunió la 11ª Conferencia de las Partes para el Protocolo de Kioto (COP 21 / CMP 11), que establece un protocolo para reducir la emisión de gases de efecto invernadero. Desde 1995 en Berlín, hasta 2019 en Madrid, se han sucedido 25 conferencias sobre el cambio climático, y a día de hoy, y tras casi 50 años de asambleas, conferencias y resoluciones, nos encontramos en un contexto de «emergencia climática» que el sistema de desarrollo económico todavía no es capaz de conciliar. Por su lado, el sistema natural sigue su propio curso y puede ser que, llegados a este punto, ya no cuente entre sus planes el mantener la red de vida que incluye al ser humano. En España, comenzamos ahora a plantearnos si es posible un cambio en el sistema energético, quizás un poco en lo que atañe al sistema social y seguramente nada en el ámbito económico.

Recuperando una concepción ecológica del mundo...

Hace casi 30 años, el científico Fritjof Capra recuperaba una manera diferente de ver las cosas. Para él, una visión sistémica de la vida debía ser «El punto crucial»^[5] que ha de marcar el cambio hacia un nuevo paradigma, una mirada de lo vivo que nos traslada desde un modelo mecanicista hasta una concepción ecológica del mundo. Fruto de años de investigación y entrevistas con destacados científicos, nació, unos años más tarde, su obra «La trama de la vida»^[6], y con ella el concepto de «ecología global»: una visión holista del mundo, representada más como un todo integrado que como la discontinua suma de sus partes; una percepción ecológica que enfatiza las relaciones de interdependencia que conforman el mundo natural.

El término *ökologie* (ecología), propuesto por el zoólogo Ernst Haeckel en la segunda mitad del siglo XIX, señalaba la importancia que tienen, en el estudio de los sistemas vivos, las relaciones que se dan entre los organismos y su entorno. Un siglo más tarde, en 1973, el filósofo Arne Naess ampliará este significado para poner de manifiesto, frente a una visión más superficial y antropocéntrica, el alcance y la profundidad que ha de tener esta nueva concepción. El término se denominó entonces «ecología profunda». Con esta perspectiva, se tenía en cuenta la totalidad de la vida, presentándola como una compleja red de relaciones intrínsecas entre seres vivos —*the relational, total-field image*—^[7]. La conectividad y la diversidad son propiedades que emergen en esta visión sistémica, enfatizando el hecho de que cada

organismo posee, en dicha red, un valor en sí mismo, y no como parte u objeto del ser humano. Con este valor, la ecología adquiriría además un marco de reivindicación medioambiental que nos co-responsabilizaba del cuidado y mantenimiento del planeta; una morada, un entorno vivo y común que había que proteger y cuidar entre todos. En este sentido, a principios de los años 70, James Lovelock proponía la hipótesis «Gaia» [8], que nos presentaba la superficie del planeta Tierra no como un medio para los seres vivos, sino como parte de la vida misma, un sistema vivo con capacidad para autorregularse y mantener relaciones de retroalimentación con su entorno planetario. Esto representó una visión global que se añadía así a esta profunda concepción ecológica de la vida.

Para Capra, además de la ecología profunda, existían otras concepciones a tener en cuenta en el contexto de este nuevo paradigma. Una de ellas era la «ecología social», la cual añadía al modelo científico y al activismo medioambiental todas aquellas características socio-culturales que con el tiempo van determinando lo que denominaba «crisis de percepción». Junto con esta desconexión y deterioro medioambiental producido por el ser humano, ligado a este, el sistema social a menudo desarrolla ciertos patrones de dominación que distorsionan la percepción del daño que nos hacemos. Ejemplos de ello son el imperialismo, el fascismo, el capitalismo, el racismo, el patriarcado; en su conjunto, lo que Riane Eisler llamó «el sistema dominador» [4].

Cuando en el paradigma de la ecología global adquirimos una visión «ecocéntrica» del mundo, y esta se vuelve parte de nuestra vida cotidiana, nuestro sistema ético funciona de otra manera y cambia profundamente nuestra percepción dominante. De esta manera, somos capaces de corresponsabilizarnos y respetar la vida que nos rodea. Con todo, la ecología global ha de reconocer, para esta nueva forma de entendimiento, un equilibrio nuevo: aquel que desplaza y no rechaza nuestro pensamiento desde lo excesivamente racional hasta lo intuitivo, desde lo analítico hasta lo sintético, desde lo lineal hacia lo no-lineal, desde lo extremadamente reduccionista hacia una visión más holista de la vida. Y en la misma medida traslada nuestros valores antropocéntricos, desde una perspectiva expansionista, hacia otra más conservadora; desde un plano competitivo, hacia otro cooperativo, teniendo en cuenta más la calidad que la cantidad y reduciendo la dominación en favor de la asociación. En definitiva, relajando la asertiva puntualización que, desde el «hombre», ejercemos sobre el «mundo-objeto» en pos de una acción más integradora en nuestra «vida-naturaleza». Esta percepción nos ofrece así un sentido nuevo de conexión que am-

plía nuestra propia visión cosmológica del mundo. Se trata de una espiritualidad que nos hace conscientes de la conectividad en la que vivimos; un sentimiento de pertenencia que nos devuelve nuestra propia humanidad en un contexto determinado: «la trama de la vida» [5].

Creando un nuevo compromiso...

«Estamos resueltos a poner fin a la pobreza y el hambre en todo el mundo de aquí a 2030, a combatir las desigualdades dentro de los países y entre ellos, a construir sociedades pacíficas, justas e inclusivas, a proteger los derechos humanos y promover la igualdad entre los géneros y el empoderamiento de las mujeres y las niñas, y a garantizar una protección duradera del planeta y sus recursos naturales»

En 2015 la Asamblea General de Naciones Unidas aprobó la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible. Una hoja de ruta para un nuevo paradigma de desarrollo que incluye 17 objetivos y 169 metas que rempazan los anteriores Objetivos de Desarrollo del Milenio. Veremos entonces si, desconectados ahora de nuestra propia naturaleza, seguimos destruyéndonos o, por el contrario, empezamos a cuidar de la comunidad viva a la que pertenecemos. Aun así, la pregunta que subyace a todo este periplo tiene resonancias de advertencia: ¿semejante esfuerzo será suficiente?

Referencias

- [1] Informe de la conferencia de las naciones unidas sobre el medio humano. Naciones Unidas. Nueva York, 1973.
- [2] Informe de la Comisión Mundial sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo. Digitized by Dag Hammarskjöld Library, 1987.
- [3] Informe de la Cumbre Mundial sobre el Desarrollo Sostenible. Naciones Unidas. Nueva York, 2002.
- [4] Resolución aprobada por la Asamblea General el 24 de diciembre de 2009. Ejecución del Programa 21 y del Plan para su ulterior ejecución, y aplicación de los resultados de la Cumbre Mundial sobre el Desarrollo Sostenible. Nueva York, 2010.
- [5] El punto crucial, *Editorial Troquel*. Fritjof Capra, 1992.
- [6] La trama de la vida. *Editorial Anagrama*. Fritjof Capra, 1998.
- [7] The shallow and the deep, long-range ecology movement. A summary. Naess, Arne vol.:16 núm.:1 pág.:95 -100, 1973.
- [8] Gaia, *Oxford University Press*, Nueva York, James Lovelock, 1979.

Webgrafía de interés:

- CMNUCC (<https://unfccc.int/es/cop25>)

-
- CNUMAD (<https://www.un.org/>)
 - Agenda 2030 (<https://www.un.org/>)
 - Riane Eisler (<https://rianeeisler.com/>)
-
-

Jóvenes científicos

Entrevista a Jordi Díaz García

Hola, soy Antonio Soria Moreno y estoy cursando el Grado en Biología de la Universidad de Málaga. Muchos me preguntan: ¿Por qué estudias Biología? y yo les respondo: ¿Hay algo más bonito que la vida? Me fascina esta Ciencia porque me da las herramientas necesarias para poder comprender todo lo que abarca la palabra VIDA, desde una célula sencilla y pequeña hasta el organismo más grande que habita la Tierra. Esta Ciencia tiene muchas disciplinas, en mi caso siento mayor atracción por el campo de la biología vegetal, es por eso que me encantó el proyecto de mi compañero Jordi Díaz, con él realizaré una entrevista que ahonda en esta disciplina, nos ayudará a comprender muchas más cosas y de seguro será muy interesante.



Antonio Soria Moreno

Jordi Díaz es Graduado en Biología por la Universidad de Málaga en el año 2017 y cursó el Máster en Biotecnología Avanzada en la misma Universidad en 2018. Parte de los resultados de su trabajo fin de máster, en el que llevó a cabo la caracterización molecular de un transportador de nitrato de alta afinidad de la fanerógama marina *Zostera marina* L., fueron publicados en la revista científica *International Journal of Molecular Sciences* (DOI: [10.3390/ijms20153650](https://doi.org/10.3390/ijms20153650)). En la actualidad cursa el segundo año del programa de doctorado de Biotecnología Avanzada de la UMA. Desde 2019 es becario predoctoral FPU adscrito al Área de Fisiología Vegetal donde desarrolla su proyecto de tesis doctoral en el Grupo RNM176 «Ecofisiología de Sistemas Acuáticos» bajo la supervisión del Dr. José A. Fernández y la Dra. Lourdes Rubio, combinando técnicas electrofisiológicas y moleculares al objeto de caracterizar el impacto del aumento de CO₂ atmosférico sobre la homeostasis de nutrientes en fanerógamas marinas.

Antonio Soria Moreno (ASM): Buenos días Jordi, en primer lugar decirte enhorabuena por todo lo que llevas conseguido en tu carrera como investigador y en segundo lugar darte las gracias por aceptar esta entrevista, la cual servirá para trasladar a más gente tu estudio.

1. El contenido de nitrógeno a elevado CO₂ disminuye en general en una serie de plantas, ¿afecta ya a nuestra alimentación?, ¿afectará en un futuro?

Jordi Díaz García (JDG): El empobrecimiento de nitrógeno (N) en los tejidos vegetales conlleva la disminución del flujo metabólico de este nutriente y de manera concomitante la de aminoácidos y proteínas en la biomasa vegetal, lo que puede ser crítico en la dieta. Hasta ahora, este efecto de empobrecimiento de N en variedades agrícolas, como consecuencia del aumento de CO₂ en la atmósfera, se ha intentado mitigar aplicando más fertilizantes nitrogenados, con el consiguiente

aumento del coste de producción para agricultores y el riesgo de contaminación de ríos y aguas subterráneas. Sin embargo, en aquellas regiones donde se aplica una agricultura más convencional el contenido proteico de estos alimentos se verá reducido en futuros escenarios de elevado CO₂, al igual que la cantidad de minerales esenciales y vitaminas, como se ha comprobado en recientes estudios. Por ello, la pérdida del valor nutricional en variedades agrícolas podría tener un impacto en la salud humana, incluso llegar a causar malnutrición, a pesar de consumir suficientes calorías, sobre todo, en países donde basan su dieta en un número limitado de cultivos básicos. Por ejemplo, se ha visto un empobrecimiento de N muy acusado en cereales como el arroz y trigo. Ambos cereales suponen el 40% de las calorías consumidas en todo el mundo, y las regiones de Asia y África Subsahariana tienen una alimentación altamente dependiente de arroz que pueden suponer hasta el 50% de las calorías consumidas y la fuente del 40% de proteínas en la dieta. Por tanto, es en estas regiones,

generalmente desfavorecidas, donde más sufrirían un desequilibrio nutricional por el déficit de proteínas y aminoácidos de origen vegetal.

2. *Zostera marina* es una angiosperma cercana a plantas terrestres, ¿Por qué habéis elegido esta especie modelo para tu investigación? ¿Hay mucho grado de extrapolación de resultados a especies terrestres?

JDG: Las angiospermas marinas tienen una relación filogenética muy cercana con las plantas monocotiledóneas terrestres, de hecho, colonizaron el medio marino hace millones de años desde ancestros terrestres. Se engloban dentro del grupo de las gramíneas, muchas de ellas son importantes especies agrícolas como el trigo, arroz, cebada, centeno, maíz, y otras muchas especies forrajeras dedicadas a alimentar el ganado. De modo que, se tratan de especies con un alto impacto en la economía de muchos países y en la alimentación humana y ganadera, lo que conlleva un interés científico y biotecnológico muy elevado a nivel global. El grupo en el que desarrollo mi trabajo es pionero en la aplicación de técnicas electrofisiológicas en este tipo de plantas desde hace más de 20 años, habiendo caracterizado diferentes sistemas de transporte y homeostasis de nutrientes, que resultan ser clave para explicar la adaptación funcional de estas plantas vasculares a un medio tan complejo como el medio marino. Por otra parte, tenemos la ventaja de disponer del genoma secuenciado de la especie que más se ha estudiado, *Zostera marina*, y parte del genoma de una de las especies más importantes en el Mediterráneo, *Posidonia oceanica*. La disponibilidad del genoma nos proporciona una extraordinaria herramienta para analizar el impacto de fenómenos ambientales a nivel molecular. Así, es posible identificar genes que codifican los sistemas de transporte caracterizados a nivel funcional y analizar su comportamiento en condiciones de elevado CO₂, expresarlos en sistemas heterólogos para su caracterización, etc. Finalmente, las fanerógamas marinas tienen la singularidad de usar HCO₃⁻ como fuente de carbono inorgánico para la fotosíntesis, de modo que es relativamente fácil simular condiciones de elevado CO₂ atmosférico aumentando las concentraciones relativas de HCO₃⁻ disuelto en los acuarios, sin necesidad de sofisticadas cámaras de crecimiento herméticas como las usadas con modelos vegetales terrestres.

3. El hecho de que las plantas marinas sufran un descenso de N en sus tejidos a consecuencia de elevadas concentraciones de HCO₃⁻, ¿Tiene efectos importantes en los delicados ecosistemas marinos?

JDG: Las angiospermas marinas son productores primarios de gran importancia para el ecosistema marino, incluyendo herbívoros marinos y una amplia diversidad de comunidades epífitas que se fijan sobre su superficie, constituyendo a su vez el alimento de otras especies mayores. Por ello, el aporte vegetal de estas plantas marinas puede representar una fuente nutritiva considerable para toda la red trófica que se establece a partir de ella. Ya van apareciendo investigaciones sobre las importantes implicaciones que tendría un empobrecimiento de N en estas praderas marinas en la cadena alimentaria. Por ejemplo, los cambios que se producen en las tasas de crecimiento de determinados organismos herbívoros asociados o los cambios en la composición de la comunidad de especies epífitas que, a su vez, puede repercutir en la alimentación de los siguientes niveles tróficos. En resumen, el empobrecimiento en N en las praderas marinas podría afectar a la calidad nutricional de toda la fauna asociada y provocar importantes desequilibrios ecológicos.



Jordi Díaz en el laboratorio del área de Fisiología Vegetal de la UMA donde desarrolla su labor investigadora.

4. Imagino que tendrás un grupo de trabajo coordinado por un director de tesis, ¿Cómo se trabaja con ellos?, ¿Estas contento con tus funciones?, ¿Quién es el director de tu tesis?

JDG: Mi director de tesis es el Dr. José A. Fernández y mi codirectora y también tutora la Dra. Lourdes Rubio, ambos tienen una dilatada y acreditada trayectoria investigadora en el estudio de sistemas de transporte y homeostasis iónica en angiospermas marinas y terrestres. Desde que comencé a trabajar para el trabajo fin de grado en este grupo supe que sería un lugar idóneo para desarrollar mi carrera investigadora. Sobre todo, valoro el colaboracionismo que hay entre nosotros a la hora de afrontar un reto teórico o experimental. Las ideas

se discuten y se alcanza unos objetivos por consenso. Esto te hace sentir totalmente partícipe en un proyecto y que te implique personalmente en ello. Estoy realmente satisfecho con esta forma de trabajar y lo haría extensible a cualquier grupo de investigación. Por otra parte, tengo la suerte de aprender en un grupo donde emplean técnicas electrofisiológicas, ya que, son pocos los grupos en el mundo que dominan esta herramienta tan potente para el estudio de la homeostasis iónica en plantas. Combinar la electrofisiología y la biología molecular está siendo excitante y de gran utilidad para dar respuesta a problemas tan complejos como los que se aborda en mi tesis.

5. ¿Qué consejo darías para todos aquellos que se quieran dedicar a la rama de la investigación?

JDG: Aún no estoy en condiciones de dar grandes consejos a quienes quieren dedicarse a la investigación porque aún estoy en la etapa inicial de la carrera investigadora. No obstante, he comprobado que una gran vocación es necesaria para dedicarse a esto. Es una carrera de fondo donde se suceden momentos de grandes descubrimientos y a veces decepciones; días con trabajo muy rutinario y otras ocasiones donde la creatividad es clave para avanzar en la investigación. Sin duda es un trabajo donde se consigue un gran enriquecimiento personal y profesional. Creo que la gente se equivoca al pensar en una carrera científica sólo como una oportunidad laboral...

ASM: Con esto hemos terminado la entrevista, desearle mucha suerte y próspero futuro como investigador. Gracias Jordi y un saludo, Antonio.

Mujeres STEM@UMA

El número de verano de la sección pretende visibilizar a las investigadoras que trabajan en el campo de la biología celular. Estas excelentes científicas realizan sus investigaciones en el Departamento de Biología Celular, Genética y Fisiología de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Málaga y en el Centro Andaluz de Nanomedicina y Biotecnología (BIONAND), colaborando con instituciones de reconocido prestigio entre las que se incluyen el Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA) y el Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), entre otros.



*Unidad para la Igualdad
entre mujeres y hombres*

Investigación en Biología Celular



Dra. Antonia Gutiérrez Pérez

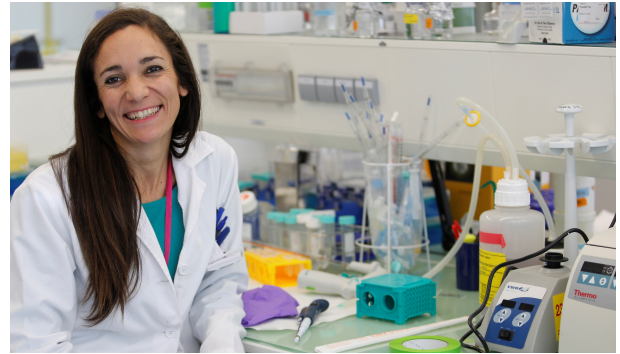
agutierrez@uma.es

Departamento de Biología Celular, Genética y Fisiología, área de Biología Celular, Universidad de Málaga, Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA) y Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED). Investigación en la enfermedad de Alzheimer – Investigadora principal grupo NeuroAD.

Licenciada en Biología (1987) y Doctora en Cien-

cias Biológicas (1991) por la Universidad de Málaga. Obtuvo el premio extraordinario de doctorado y una beca posdoctoral del Ministerio con la que continuó su formación neurocientífica en los Estados Unidos durante varios años. Retornó a la UMA con un contrato de Reincorporación de Doctores y Tecnólogos del Ministerio y a partir de 1995 como profesora titular en el área de Biología Celular. En la actualidad, y desde 2011, es catedrática en éste área. Además, es investigadora principal del Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA) y del Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), ambos centros pertenecientes al Instituto de Salud Carlos III. Su carrera investigadora ha estado centrada en el envejecimiento cerebral y los procesos neurodegenerativos. Desde el año 2003 dirige un grupo de investigación dedicado a la patología celular y molecular de la enfermedad de Alzheimer (grupo NeuroAD) con el objetivo de identificar mecanismos patogénicos, biomarcadores de utilidad diagnóstica y potenciales dianas terapéuticas. Su línea actual de investigación está centrada en la neuroinflamación y respuesta glial utilizando modelos animales transgénicos de la enfermedad y muestras humanas, así como mediante la generación de modelos *in vitro* a partir de células iPSC de pacientes. Su grupo de investigación está recono-

cido como grupo consolidado PAIDI de la Junta de Andalucía (CTS-950), grupo IBIMA (área 3) y grupo CIBERNED (Programa 1). Es miembro de diversas sociedades científicas, entre ellas la Sociedad Española de Neurociencia (SENC), la Federation of European Neuroscience Societies (FENS), y la Society for Neuroscience (SFN) de Estados Unidos, es revisora para numerosas revistas científicas y miembro del comité de evaluadores expertos de la Agencia Nacional de Evaluación y Prospectiva (ANEP) y de la Agencia Andaluza del Conocimiento (AAC), así como de la Alzheimer Association de Estados Unidos y la Medical Research Council de Reino Unido. Ha publicado casi un centenar de artículos científicos en revistas internacionales de prestigio y presentado más de 200 comunicaciones a congresos de neurociencia. Tiene reconocidos cinco sexenios de investigación y uno de transferencia. Ha sido investigadora principal de numerosos proyectos de investigación i+d+i del plan nacional, de la Junta Andalucía, de agencias privadas y de contratos con empresas, como la farmacéutica internacional Sanofi. Tiene una amplia experiencia en la formación de investigadores, ha dirigido una decena de tesis doctorales y actualmente tiene otras cinco en curso, además su grupo cuenta con un considerable número de miembros posdoctorales y es receptor de investigadores del programa Ramón y Cajal y Beatriz Galindo Senior. La labor investigadora de su grupo ha sido reconocida con diversos premios, entre ellos el de Joven Investigador CIBERNED 2017, Málaga Investigación 2018 de la Academia Malagueña de Ciencias y el primer premio IBIMA 2019 a la mejor publicación. Mantiene una extensa red de colaboraciones con grupos nacionales e internacionales. Compagina su actividad docente e investigadora con acciones de divulgación científica, entre ellas participa en el proyecto «COMOTU» de la UMA para llevar la ciencia a los estudiantes de primaria y secundaria, ha organizado la jornada «Mujeres en Neurociencia» 2019 y 2020 en la UMA dentro del marco de celebración del Día de la Mujer y la Niña en la Ciencia, ha sido comisaria de la exposición «Alzheimer, el Camino de la Memoria» 2018 de Encuentros con la Ciencia y es asesora científica de la iniciativa solidaria y benéfica *Camino de la Memoria* (caminodelamemoria.com).

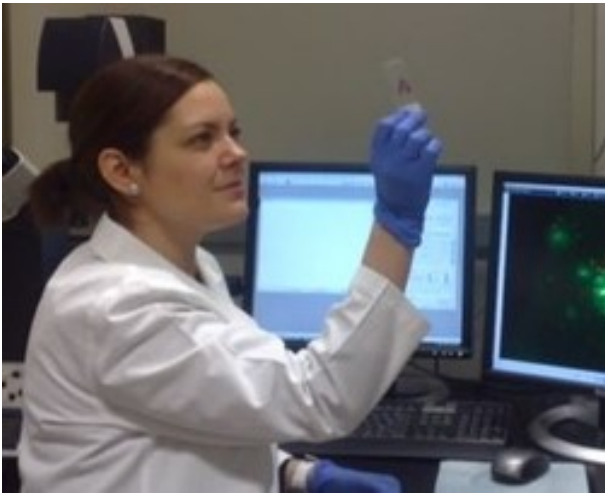


Dra. Elena González Muñoz

egonmu@uma.es

Departamento de Biología Celular, Genética y Fisiología, área de Biología Celular, Universidad de Málaga y Centro Andaluz de Nanomedicina y Biotecnología (BIONAND)

Es Licenciada en Biología en la Universidad de Sevilla y Doctora en Biomedicina por Universidad de Barcelona (2007). Realizó diversas estancias posdoctorales en Instituto de Investigación Biomédica de Barcelona (IRBB) estudiando el papel del transportador de aminoácidos 4F2 en el desarrollo del epiblasto (2007-2008), en la Universidad de California San Francisco para estudiar la división asimétrica de las células madre nerviosas (NSC) y en la generación de tumores cerebrales (2008-2010) y en Michigan State University donde centró mis estudios en el campo de la reprogramación celular (2010-2012). Posteriormente fue seleccionada por programa andaluz de terapia celular y medicina regenerativa de la Fundación Progreso y Salud en el Laboratorio Andaluz de Reprogramación Celular (LARCCEL) (2013-2016). Desde 2016, Elena es profesora del departamento de biología celular, fisiología y genética de la facultad de ciencias de la Universidad de Málaga, investigadora seleccionada por el programa Ramón y Cajal del Ministerio de Economía y Competitividad, e investigadora principal emergente del Laboratorio de Reprogramación Celular del Centro Andaluz de Nanomedicina y Biotecnología (BIONAND). Su objetivo a largo plazo es proporcionar nuevos conocimientos moleculares y epigenéticos sobre la reprogramación celular, la transformación de la identidad celular, con énfasis en la reprogramación hacia células pluripotentes y también en su aplicación en el modelado de enfermedades neurodegenerativas.



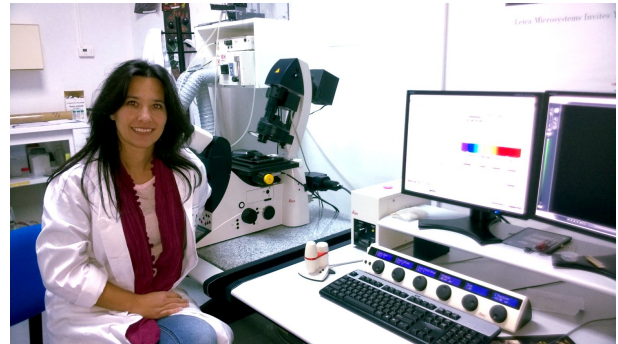
Dra. Inés Moreno González

inesmoreno@uma.es

Investigadora Ramón y Cajal en el departamento de Biología Celular de la Universidad de Málaga, profesora adjunta en el departamento de Neurología de la University of Texas Health Science Center en Houston, Texas y profesora adjunta de la Universidad Bernardo O'Higgins de Chile.

Obtuvo la licenciatura en Biología en 2003 y se doctoró por la Universidad de Málaga en el área de neurociencia en 2009. Ha realizado estancias de investigación en Sanofi (Francia), la Universidad de Sevilla y la Universidad de Ciencias Aplicadas (Suiza). De 2010 a 2013, fue investigadora posdoctoral en el Departamento de Neurología de la Universidad de Texas y desde 2013 a 2019 fue profesora allí. Desde 2019 es Investigadora Ramón y Cajal de la Universidad de Málaga. Ha publicado casi 40 artículos científicos en revistas de alto impacto y presentado su trabajo en más de 100 ponencias. Es revisora y editora de varias revistas científicas y revisora en el National Institutes of Health (EEUU) y el Alzheimer's Research UK, entre otros. Además, ha recibido premios por su acción docente y es la presidenta del Alliance of Women Alzheimer's Researchers. Actualmente, evalúa distintos factores de riesgo de la enfermedad de Alzheimer que pueden influir en su aparición y desarrollo, como el tabaquismo, la diabetes tipo 2, el consumo de carne, la depresión y las contusiones cerebrales, así como el desarrollo de terapias con células madre para Alzheimer y Parkinson. Su investigación como investigadora principal está subvencionada por la Alzheimer's Association, el Departamento de Defensa de Estados Unidos, el Brain & Behavior Research Foundation, el Texas Alzheimer's Research and Care Consortium, el NIH y el Ministerio de Ciencia e Innovación. Es miembro del del Alzheimer's Association International Society to Advance Alzheimer's Research and Treatment (ISTAART) y

del Instituto de Biomedicina de Málaga (IBIMA) y del Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED).



Dra. Patricia Páez González

patricia.paez.gonzalez@uma.es

Investigadora Ramón y Cajal en el departamento de Biología Celular de la Universidad de Málaga.

Es contratada Ramón y Cajal de la Universidad de Málaga desde 2016. Adscrita al grupo de investigación «Etiología, diagnóstico y búsqueda de terapias en hidrocefalia congénita». Su carrera ha estado íntimamente relacionada con la hidrocefalia, la manipulación de células madre y la neurodegeneración. Realizó su tesis doctoral en la etiología de la hidrocefalia. Formación posdoctoral de nueve años en Duke University (EEUU) donde ejerció como investigadora posdoctoral, investigadora asociada y, finalmente, investigadora asociada senior. Durante estos años su trabajo estuvo centrado en la modulación de las NSCs y su relación con procesos degenerativos. Contribuyó exitosamente a entender los mecanismos intrínsecos de control de las NSCs así como su manipulación y uso para futuras terapias regenerativas. En 2015, obtuvo un contrato Ramón y Cajal para el retorno de investigadores excelentes a España, donde está comprometida con el trabajo en hidrocefalia. Ha participado en 14 proyectos consecutivos financiados por el ISCIII (España) y el NIH (USA) desde el año 1998. Miembro de la Sociedad Española de Neurociencia desde 2000, Miembro de la Sociedad Europea de Neurociencia desde 2001, Miembro de Society for Research into Hydrocephalus and Spina Bifida, desde 2003, Miembro de Society for Neuroscience desde 2012.



Dra. Elisabeth Sánchez Mejías

elisanchez@uma.es

Departamento de Biología Celular, Genética y Fisiología, área de Biología Celular, Universidad de Málaga.

Elisabeth es Licenciada en Biología por la Universidad de Málaga (2008) y Doctora por la misma universidad (2015). Su carrera investigadora comenzó en el año 2008 tras recibir una beca de Formación del Profesorado Universitario (FPU), dentro del grupo de investigación dirigido por la Dra. Antonia Gutiérrez, grupo consolidado de la Junta de Andalucía (PAIDI, CTS950), y perteneciente al Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA) y al CIBER sobre enfermedades neurodegenerativas (CIBERNED/Instituto de Salud Carlos III). A lo largo de su trayectoria pre y posdoctoral, Elisabeth ha profundizado en el conocimiento de la enfermedad de Alzheimer, tanto en muestras humanas de pacientes como en modelos animales transgénicos. En concreto, su investigación se ha centrado en descifrar los mecanismos patogénicos que intervienen en los procesos inflamatorios y neurodegenerativos que subyacen a la enfermedad de Alzheimer, con el objetivo traslacional de identificar nuevos marcadores de diagnóstico temprano y de obtener mejores modelos animales de esta devastadora enfermedad. En este sentido, en el año 2017 fue reconocida con el *Premio Joven Investigador CIBERNED* por su trabajo sobre la caracterización de la respuesta inflamatoria en el hipocampo de pacientes de Alzheimer, publicado en la prestigiosa revista *Acta Neuropatológica*. Además, Elisabeth ha intervenido en colaboraciones con grupos nacionales/internacionales, en cuyos laboratorios ha realizado estancias formativas e investigadoras (3 meses, UT Health Science Center, Houston, EEUU) y ha participado hasta en 19 proyectos I+D. Actualmente, Elisabeth se encuentra contratada como Profesora Sustituta Interina en la Universidad de Málaga e imparte docencia en asignaturas del área de Biología Celular y Neurobiología.



Dra. Raquel Mª Sánchez Varo

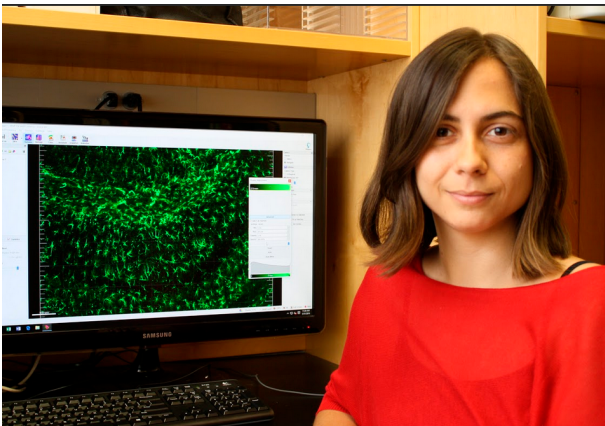
raquelsv@uma.es

Departamento de Biología Celular, Genética y Fisiología, Área de Biología Celular, Universidad de Málaga, Instituto de Biomedicina de Málaga (IBIMA), Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED) - Enfermedad de Alzheimer

Licenciada en Biología y en Bioquímica por la Universidad de Sevilla. Doctora en Ciencias Biológicas por la Universidad de Málaga (2011), su tesis fue galardonada con el Premio Extraordinario de Doctorado. Obtuvo un contrato de investigación posdoctoral de dos años con la industria farmacéutica Sanofi (Francia). Actualmente tiene un Contrato Posdoctoral para la Captación de Talento para la Investigación y ha dirigido un proyecto para Jóvenes Investigadores de la Universidad de Málaga.

Su carrera investigadora comenzó en el año 2005 en el grupo de la Dra. Antonia Gutiérrez, grupo consolidado de la Junta de Andalucía (grupo NeuroAD), del CIBER sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED) y del Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA), ambos últimos organismos pertenecientes al Instituto de Salud Carlos III. Dedicada a analizar los mecanismos celulares y moleculares que subyacen a la enfermedad de Alzheimer, su trabajo se ha centrado en la caracterización de los procesos patológicos relacionados con la disfunción sináptica, neuroinflamación y muerte neuronal, utilizando modelos animales transgénicos. Entre sus objetivos se encuentran la identificación de biomarcadores y nuevas dianas terapéuticas que permitan el desarrollo de fármacos alternativos. Miembro de la Sociedad Española de Biología Celular (SEBC),

participa en eventos divulgativos y revisión/edición de revistas científicas.



Dra. Laura Trujillo Estrada

laura_trujillo@uma.es

Departamento de Biología Celular, Genética y Fisiología, Área de Biología Celular, Universidad de Málaga — Neuropatología de la enfermedad de Alzheimer.

Licenciada en Biología (2009; Premio extraordinario de Licenciatura de la Facultad de Ciencias y Premio nacional) y Doctora con mención internacional (2015) por la Universidad de Málaga. Su tesis doctoral, para cuya realización obtuvo una beca FPU del Ministerio de Educación, proporcionó una caracterización de diferentes modelos transgénicos de la enfermedad de Alzheimer para la búsqueda de biomarcadores. Fruto de uno de los trabajos publicados de su tesis recibió el accesit a los IX Premios de investigación de la Fundación General de la UMA. Tras doctorarse consiguió un contrato posdoctoral en el Institute for memory impairments and neurological disorders de la Universidad de California (Irvine, EEUU). Allí centró su investigación en el impacto

de enfermedades comórbidas (diabetes y obesidad) en la enfermedad de Alzheimer. En noviembre de 2019 se incorporó al Departamento de Biología Celular de la UMA como profesora sustituta interina, donde compagina su labor docente con su investigación sobre el Alzheimer. Laura cuenta con 19 publicaciones científicas en revistas y más de 100 comunicaciones a congresos, y ha participado en 23 proyectos nacionales e internacionales. Además, Laura es revisora de revistas científicas y ha sido miembro de sociedades científicas como la Society for Neuroscience y la Sociedad Española de Biología Celular.

Ámbito y política editorial

La revista *Encuentros en la Biología* (ISSN 1134-8496) es una revista de divulgación científica con carácter interdisciplinar, está editada por la Universidad de Málaga y publica periódicamente (primavera, verano, otoño, invierno) aquellas contribuciones originales que se enmarcan en un ámbito de encuentro entre las ciencias biológicas y las demás fuentes de conocimiento científico; esto es, conocimiento testado experimentalmente y avalado al menos por una fuente primaria de documentación. Aceptará también la edición de biografías de autores relevantes, de reseñas de libros y trabajos especializados, de imágenes para la portada, la sección «La imagen comentada» y otras secciones especializadas, así como noticias, comunicaciones y eventos relacionados con la biología. La editorial valorará positivamente la contribución de los trabajos en un formato ameno y accesible para estudiantes y profesores de todas las áreas de la biología, al igual que la presentación de las últimas novedades científicas en este área.

Encuentros en la Biología es un foro de difusión abierto para todas aquellas personas que estén interesadas en enviar sus aportaciones. Las contribuciones así presentadas deberán ajustarse a la política editorial y a las normas que a continuación aparecen como «Instrucciones para los Autores». La revista se reserva el derecho a realizar cuantas modificaciones en forma y diseño estime oportunas.

Instrucciones para los autores

1. Todas las contribuciones serán inéditas o contarán con la autorización expresa del organismo que posea los derechos para su reproducción, en cuyo caso la edición incluirá la referencia de su autoría. Los manuscritos recibidos podrían revisarse con medios técnicos para detección de plagios.
2. Cada contribución constará de un título, el nombre completo del autor o autores, su afiliación (institucional, académica o profesional) y correo electrónico. Para distinguir la afiliación de diferentes autores utilice símbolos (*, †, ‡, §, ¶, etc.) después del nombre de cada uno.
3. El documento se puede enviar en formato txt, rtf, sxxw/odt (OpenOffice/LibreOffice), doc/docx (MS-Word) o tex (L^AT_EX). Manuscritos largos pueden dividirse en varias partes que aparecerían en números distintos.
4. Los nombres de las proteínas se escribirán en mayúsculas y redondilla (ABC o Abc). Los de genes y especies aparecerán en cursiva (*ABC*, *Homo sapiens*). También se pondrán en cursiva los términos que se citen en un idioma distinto al castellano.
5. Los autores que no sean castellanohablantes pueden remitir sus manuscritos en inglés. Una vez aceptado, el equipo editorial elaborará un resumen en castellano.
6. Las tablas, figuras, dibujos y demás elementos gráficos deberán adjuntarse en ficheros independientes. Cuando sea posible, utilice el formato vectorial no propietario pdf, svg, eps o ps. En caso de fotografías o figuras tipo *bitmap* se pueden enviar en formato jpg, tif o png con una resolución mínima de 300 ppp. Existe la posibilidad de incorporar breves animaciones en formato gif a baja resolución.
7. Las referencias bibliográficas se citarán dentro del propio texto, numeradas por orden de aparición, entre corchetes en superíndice^[1]. Al final del mismo, se incluirá la sección de *Bibliografía* o *Referencias* de acuerdo con el estilo del siguiente ejemplo:
¹Einstein Z y Zwestein D. Spatial integration in the temporal cortex. *Res Proc Neurophysiol Fanatic Soc* 1: 45-52, 1974.
 Si hay más de dos autores, se citará el primero seguido de «y otros».
 Si el texto principal no incluye referencias bibliográficas, se ruega a los autores que aporten 3-4 referencias generales «para saber más» o «para más información».
8. Se anima a contribuir a la sección *la imagen comentada* con imágenes originales o de libre distribución (300 ppp de resolución como mínimo) acompañadas en documento aparte con un breve comentario de unas 300 palabras relacionado con la misma (descripción, información, técnica, etc.).
9. Se considerará cualquier contribución para las distintas secciones de la revista.
10. Envío de contribuciones: el original se enviará por correo a los coeditores o a cualquier otro miembro del comité editorial que consideren más afín al tema de la contribución. Como último recurso, se pueden enviar por correo postal acompañados de un CD. No se devolverá ningún original a los autores.
11. La aceptación de todas las contribuciones se hará a petición de los miembros del equipo editorial, manteniendo en todo caso los coeditores la decisión final sobre la misma. También se podrá sugerir al autor mejoras formales o de contenido para adaptar el artículo al perfil de la revista. La notificación se enviará por correo electrónico al autor que figure como corresponsal.