

XIV Ciclo de Conferencias Juan March

Nuevas fronteras entre la química y la biología

New Frontiers between Chemistry and Biology («Nuevas fronteras entre la química y la biología») fue el tema elegido para el *XIV Ciclo de Conferencias Juan March sobre Biología*, que convoca el Centro de Reuniones Internacionales sobre Biología, del Instituto Juan March de Estudios e Investigaciones, y que se desarrolló, en sesiones públicas, entre el 6 de marzo y el 3 de abril. Cuatro científicos (Thomas R. Cech, Premio Nobel de Química 1989; Peter B. Dervan; Gregory Winter; y Alan R. Fersht) mostraron sus últimos trabajos.

Con estos ciclos, señaló en sus palabras de presentación **Andrés González**, director del Centro de Reuniones Internacionales sobre Biología, se intenta «ofrecer a los estudiosos y a los profesionales de la Biología un panorama de las investigaciones más significativas que se están desarrollando en los laboratorios de todo el mundo».

El 6 de marzo, **Thomas R. Cech**, Nobel de Química 1989, habló de *Catalytic RNA: Mechanism and Structure*, presentado por **Manuel Rico**, del Instituto de Estructura de la Materia, de Madrid. El 13 de marzo, **Peter B. Dervan** habló de *Sequence Specific Recognition of Double Helical DNA and RNA*, presentado por **Manuel Espino-**

sa, del Centro de Investigaciones Biológicas, de Madrid. El 27 de marzo estaba previsto que interviniera **Gregory Winter**, pero coincidió la fecha con la entrega de un premio científico que recogió en Arabia Saudí y hubo que posponer su intervención hasta el 3 de abril, en que compartió la sesión con su colega **Alan R. Fersht**. **Winter** habló de *Mimicking the Immune System: Making Human Antibodies in Bacteria by Phage Display*, presentado por **Luis Enjuanes**, del Centro Nacional de Biotecnología, de Madrid; y **Alan R. Fersht**, de *Pathway and Stability of Protein Folding*, presentado por **Guillermo Giménez**, del Centro de Investigaciones Biológicas, de Madrid.

Los ponentes

Thomas R. Cech (Chicago, EE.UU., 1947) es profesor de Química, Bioquímica y Biología Celular y Molecular de la Universidad de Colorado, en Boulder, así como investigador del Instituto Médico Howard Hughes; es Premio Nobel de Química 1989.

Peter B. Dervan (Boston, EE.UU., 1945) estudió Físico-química en la Universidad de Yale,

obtuvo una beca post-doctoral de los National Institutes of Health en la Universidad de Stanford y ocupa la cátedra Bren de Química en el Instituto de Tecnología de California.

Gregory Winter (Gran Bretaña, 1951) trabaja en el Centre for Protein Engineering, Medical Research Council, Cambridge (Gran Bretaña), y su doctorado e in-

vestigación post-doctoral los realizó en el campo de la química de proteínas y ácidos nucleicos.

Alan R. Fersht (Gran Bretaña, 1943) es, desde 1988, Herchel Smith Professor of Organic Chemistry, Director of MRC Unit for Protein Function and Design y Director of Cambridge Centre for Protein Engineering, de la Universidad de Cambridge (Gran Bretaña).

Thomas R. Cech

«ARN catalítico: mecanismo y estructura»

Hay tres moléculas fundamentales implicadas en el proceso de almacenamiento y transferencia de la información genética: ADN, ARN y proteínas. Las dos primeras están especializadas en el almacenamiento de esta información. Las proteínas, y también el ARN, tienen actividad catalítica. El hecho de que el ARN puede participar en ambos tipos de tareas constituye un descubrimiento reciente.

En genes que codifican para el ARN ribosómico del protozoo ciliado *Tetrahymena thermophyla* se descubrió que existían secuencias en el interior del gen que no aparecían en las moléculas funcionales de ARN ribosómico. A estas secuencias «interrumpidoras de genes» se las denominó «intrones». Los intrones son eliminados después del proceso de transcripción mediante un mecanismo preciso de «corte y empalme» o «splicing».

A principios de los años ochenta, en mi laboratorio estábamos estudiando el mecanismo de este proceso de «splicing». Naturalmente, buscábamos alguna proteína responsable de la acción catalítica. Este fenómeno podía estudiarse *in vitro*, mezclando en un tubo de ensayo moléculas de ARN antes de «splicing», extractos nucleares, magnesio y GTP.

Un cambio en la movilidad electroforética del ARN mostraba si se había producido o no el corte y empalme de los intrones. Un resultado sorprendente fue que la eliminación de intrones tenía lugar en ausencia de extractos nucleares: sólo requería la propia molécula de ARN, magnesio y GTP. La implicación inmediata de este re-



sultado es que el ARN tenía capacidad catalítica y estaba catalizando el proceso de corte y empalme de su propia molécula. Desde entonces se ha descubierto un buen número de ARNs catalíticos, tales como los intrones de tipo I y II, la ribonucleasa P, la ribonucleasa «cabeza de martillo» y el virus de la hepatitis delta.

El proceso de «splicing» tiene lugar mediante reacciones de transesterificación. La guanina realiza un ataque nucleofílico sobre el extremo 3' del intrón, lo que da lugar al primer corte. Posteriormente, el OH del extremo 3' del primer exón ataca el extremo 5' del segundo exón, produciéndose el empalme de exones. En una tercera transferencia, el OH del extremo 3' del intrón ataca un nucleótido situado a unas 15 bases del extremo, formando una molécula circular.

Para la comunidad científica resultó difícil inicialmente aceptar que el ARN pueda tener actividad catalítica. El punto de vista predominante veía el ARN como una molécula lineal, carente de estructura secundaria, por lo que era difícil imaginar cómo esta molécula conseguía la especificidad necesaria para actuar como una enzima.

Hoy sabemos que este punto de vista es erróneo. El ARN es capaz de plegarse dando lugar a una estructura globular, semejante a las enzimas proteicas. Este plegamiento requiere Mg y, asimismo, el Mg es indispensable para la actividad catalítica del ARN. Actualmente disponemos de modelos tridimensionales de la molécula de ARN.

Las moléculas de ARN con capaci-

dad catalítica se denominan «ribozimas». Estudios cinéticos demuestran que muchas de ellas son tan eficientes catalizadores como las enzimas de naturaleza proteica. Estudios de la estructura tridimensional de ribozimas indican la existencia de una región llamada hélice P1, que es responsable de la especificidad del sustrato. Esta especificidad se consigue mediante el apareamiento de bases entre la molécula de ARN que va a ser cortada y la región P1.

Las relaciones estructura-función en ribozimas abren la puerta a la construcción, mediante ingeniería genética, de ribozimas más eficaces como catalizadores o con distinta especificidad. Por ejemplo, ribozimas modificadas que se unen más débilmente al sustrato tienen constantes catalíticas mucho

más altas que las moléculas originales.

Para la aplicación biotecnológica de ribozimas será necesario diseñar estrategias que garanticen la llegada de la ribozima hasta su correspondiente diana. Uno de los requisitos es conseguir ribozimas resistentes a la degradación por ribonucleasas, enzimas abundantes en muchos tejidos. Otro problema potencial es el requerimiento de Mg para la acción de las ribozimas. Dado que el Mg es un elemento abundante en los seres vivos, esto no representa, probablemente, un problema grave en la práctica. En la actualidad existen varios proyectos en marcha de aplicación de las ribozimas en la terapia contra ciertas enfermedades; por ejemplo, se está realizando un primer ensayo en humanos sobre la utilidad de la «ribozima de horquilla» contra infecciones virales.

Manuel Rico

«El mundo del ARN»

El doctor Thomas Cech es Profesor Distinguido de la Universidad de Colorado en Boulder e Investigador Principal en el prestigioso Instituto Médico Howard Hughes. En 1989 recibió el Premio Nobel de Química por sus trabajos sobre la actividad catalítica del ARN (para lo cual tuvo que probar hasta la exageración que sus preparaciones no estaban contaminadas con proteína).

Este descubrimiento modificó el paradigma entonces establecido de que el ARN tiene un papel pasivo en la transmisión de información genética. Este trabajo ha tenido importantes consecuencias sobre el desarrollo científico, que podemos evaluar a tres niveles distintos.



En primer lugar, constituye un importante avance para el conocimiento básico de los sistemas biológicos; en segundo lugar, tiene importantes aplicaciones potenciales en la terapia contra enfermedades víricas y de origen genético; y, en tercer lugar, este descubrimiento modificó nuestro punto de vista sobre la evolución y el origen de la vida.

El hecho de que el ARN pueda actuar como una enzima abre una amplia avenida para lo que se ha denominado «el mundo del ARN». Según esta hipótesis, los primeros seres vivos no contenían ADN, ni proteínas, sino moléculas de ARN capaces de guardar información genética y de catalizar la síntesis de su propia molécula.

Peter B. Dervan

«Reconocimiento específico de la secuencia del ADN y ARN de doble hélice»

Los cromosomas contienen una inmensa cantidad de información genética codificada en un código de cuatro letras: los cuatro deoxinucleótidos A, G, T y C (nucleótidos A, G, U y C en el caso del ARN). El ADN es la molécula más importante portadora de información genética y se organiza según el modelo de la doble hélice. Según este modelo, sin duda uno de los logros científicos más importantes del siglo, la información genética se encuentra duplicada en dos cadenas de ADN enrolladas una respecto a otra en forma de doble hélice; la posibilidad de unión entre bases complementarias (AT/GC) garantiza la estabilidad de la hélice y proporciona una base para la replicación fidelísima de la información genética, así como de otras funciones celulares. Otra consecuencia de la unión de cadenas en forma de doble hélice es la aparición de dos hendiduras o surcos a lo largo de toda la molécula, que se denominan surco mayor y surco menor.

La cantidad de información genética contenida en el genoma humano es inmensa, del orden de tres mil millones de pares de bases; sin embargo, un cambio en la secuencia de un único nucleótido puede dar lugar a una enfermedad genética de graves consecuencias para el individuo portador de tal cambio. Para dar una idea de la magnitud, podemos decir que localizar una mutación puntual entre todo el genoma es una tarea equivalente a localizar a un determinado individuo en el conjunto del planeta Tierra.

Las enzimas de restricción constitu-



yen herramientas fundamentales para el estudio y manipulación del ADN. Estas proteínas son capaces de reconocer una secuencia específica en la cadena de ADN, normalmente de cuatro o seis nucleótidos, y de romper los enlaces fosfodiéster de la cadena en ese

punto. Aunque extraordinariamente útiles, estas enzimas presentan limitaciones cuando estamos trabajando con fragmentos de ADN muy grandes, como un cromosoma eucariótico completo o todo el genoma humano.

Echando mano de la estadística, necesitaríamos que las enzimas de restricción reconociesen secuencias de 15 ó 16 pares de bases para que pudieran tener un sitio de corte único en el genoma humano. Aunque enzimas de estas características no existen en la naturaleza, es concebible que podamos construir enzimas de restricción artificiales que nos permitan resolver el problema.

En líneas generales, el reconocimiento específico podría conseguirse mediante oligonucleótidos (que se unen al surco mayor), análogos de péptidos (que se unen al surco menor), o proteínas (que pueden unirse a ambos). La fase de corte de la cadena de ADN también puede producirse por distintos mecanismos; uno de ellos es la modificación de ciertas bases por alquilación y eliminación posterior de las mismas.

Una de las técnicas más prometedoras para el diseño de enzimas de restricción artificiales se basa en el uso de oligonucleótidos que se unen al surco mayor del ADN. En este caso, la especificidad se consigue mediante la for-

mación de una triple hélice, la cual es estable debido a la formación de puentes de hidrógeno sumamente específicos entre bases.

Se requieren al menos quince oligonucleótidos para adquirir estabilidad y las propiedades termodinámicas de estas triples hélices resultan muy complejas. El no apareamiento de una sola de las bases del oligonucleótido hace que la constante de afinidad disminuya unas cien veces.

Este tipo de enzimas está siendo utilizado en la actualidad; por ejemplo, una enzima así diseñada permite cortar el cromosoma 3 de la levadura en un punto específico. Otra enzima similar permite cortar el cromosoma 4 humano en un sitio cercano al marcador del gen de una grave enfermedad genética.

Muy recientemente, hemos desarrollado un nuevo sistema para el corte específico de moléculas de ADN. Se

basa en la utilización de péptidos cíclicos o en forma de horquilla, los cuales contienen grupos contiguos de imidazolpirrol-carboximida. Por ejemplo, la distamicina no contiene aminoácidos naturales y es capaz de unirse al ADN en forma de dímero. Otro de estos péptidos, la netropsina, se une a secuencias de ADN ricas en bases de tipo A o T. En ambos casos, los péptidos se unen al surco menor debido a un conjunto de fuerzas atractivas, tales como puentes de hidrógeno, interacciones electrostáticas y fuerzas de Van der Waals. La utilización de este tipo de péptidos constituye un método alternativo para el reconocimiento específico del ADN y amplía significativamente el repertorio de secuencias diana. Es posible que en un futuro próximo permita llegar a un sistema general para el reconocimiento de cualquier secuencia en el ADN.

Manuel Espinosa

«La frontera del conocimiento»

Podemos describir el carácter científico de Peter Dervan con sólo dos pinceladas. En primer lugar, se trata de un investigador que disfruta situándose en la frontera de la ciencia; frontera científica significa discutir dogmas aceptados, realizar saltos cualitativos y producir, en definitiva, un avance real en nuestra comprensión del Universo. En segundo lugar, Peter Dervan representa, más que nadie, el encuentro entre química y biología que se ha producido en las últimas décadas.

Dervan es bien conocido por los científicos de su campo. Entre sus logros se cuentan más de 160 publicaciones, numerosos premios y nombra-



mientos en diversas instituciones, incluyendo la prestigiosa Academia Americana de Ciencias.

Si tratamos de deducir su trayectoria científica a partir de su *curriculum vitae*, observamos un continuo cambio hacia temas que se hallan en la frontera del conocimiento.

Primero, desarrollando la técnica del «footprinting», que permite estudiar la huella de la interacción entre ADN y proteína; más tarde se dedicó al estudio de las proteínas que interaccionan con ADN; y en la actualidad se ha centrado en desarrollar técnicas que permitan el mapeo de cromosomas completos.

Gregory Winter

«Imitando el sistema inmune: obtención de anticuerpos humanos en bacterias por expresión en fagos»

Los anticuerpos contribuyen de forma esencial a la defensa de los organismos frente a agentes patógenos, como virus o bacterias. Los anticuerpos son capaces de unirse específicamente al antígeno: una molécula (o parte de una molécula) del patógeno.

Esta unión es muy específica. Un anticuerpo puede unirse sólo a un antígeno, al igual que una llave puede abrir sólo un tipo de cerradura. Después del reconocimiento antígeno-anticuerpo tiene lugar una serie de interacciones entre células del sistema inmunológico, cuya consecuencia última es la destrucción del organismo invasor.

Aunque los anticuerpos son muy eficaces frente a bacterias o virus, resultan inefectivos en otros casos, por ejemplo, contra células cancerosas humanas, debido a un mecanismo de auto-tolerancia. Una forma de resolver este problema consiste en utilizar anticuerpos obtenidos en otras especies, por ejemplo, caballo o rata contra células humanas, aunque en este caso pueden surgir problemas de rechazo.

La creación de anticuerpos artificiales, capaces de reconocer antígenos humanos, tiene un gran interés e importantes aplicaciones terapéuticas. Para la creación de anticuerpos artificiales es necesaria una estrategia que nos permita, primero, obtener una gran cantidad de variantes y, después, seleccionar entre éstas el anticuerpo específico contra el antígeno deseado. Volviendo al símil de la llave, primero construimos un gran número de llaves y después vamos probando cuál de éstas es ca-



paz de abrir nuestra cerradura.

En la naturaleza, la variabilidad se genera mediante un conjunto de mecanismos genéticos: reordenamiento de exones, inexactitud en la unión de exones y zonas hipervariables. La selección del anticuerpo adecuado se produ-

ce mediante selección clonal: cada anticuerpo es expuesto en la superficie de una célula inmunológica y la unión antígeno-anticuerpo provoca una gran proliferación del tipo celular específico que posee dicho anticuerpo.

Para la creación de anticuerpos artificiales utilizamos una estrategia que imita a la naturaleza. En primer lugar, necesitábamos las unidades o bloques elementales para construir anticuerpos. Para ello fue necesario clonar y caracterizar numerosos genes que codifican inmunoglobulinas humanas.

El segundo paso consistió en la creación de variabilidad; esto es, disponer de una colección o «repertorio» de genes distintos de inmunoglobulinas. Para conseguir esta colección empleamos una técnica de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) utilizando un conjunto de cebadores de secuencia arbitraria.

En nuestro sistema artificial, para la selección de anticuerpos recurrimos a la expresión de nuestro repertorio en la superficie de un bacteriófago. De esta forma purificamos un conjunto de virus, cada uno de los cuales exhibía un anticuerpo diferente en su superficie.

Posteriormente se utiliza la técnica de cromatografía de afinidad, con la

cual se selecciona el fago adecuado pasando la colección por una columna que contiene el antígeno inmovilizado; sólo aquellos fagos que contengan el anticuerpo adecuado son retenidos, mientras que el resto son eludidos. Mediante una serie de pases, es posible enriquecer suficientemente el anticuerpo que buscamos.

Con este conjunto de técnicas es posible obtener anticuerpos con una constante de afinidad del orden de micromolar. Es un grado de especificidad notable, pero que debe aumentarse por un proceso de «refinado».

En la naturaleza, el factor limitante para la especificidad de los anticuerpos estriba en el número de linfocitos B que existen en un organismo. En nuestro sistema artificial, la limitación estriba en la eficiencia de transfección

del bacteriófago. Hemos recurrido a una técnica para solventar este problema y conseguir repertorios con mayor número de genes.

Para esto hemos utilizado el sistema de la recombinasa *cre*. Con este sistema se consigue una recombinación *in vivo* de los genes de inmunoglobulinas, lo que se traduce en repertorios más amplios (del orden de 10^{10}), lo que implica, a su vez, anticuerpos artificiales con mayor especificidad por el antígeno.

Los anticuerpos artificiales tienen muchas y muy importantes aplicaciones clínicas. Estos anticuerpos ya han empezado a utilizarse para localizar la posición de metástasis en algunos tipos de tumores: por ejemplo, en el cáncer de hígado, facilitando así su extirpación quirúrgica.

Luis Enjuanes

«Pionero en ingeniería de proteínas»

El doctor Winter es bien conocido en ámbitos científicos por sus trabajos pioneros en ingeniería de proteínas. En 1986 desarrolló la técnica de «mutagénesis para el análisis de superficies», lo que le permitió mapear las interacciones del tRNA sobre la superficie de su sintetasa. Posteriormente centró su atención en el sistema inmunológico y aceptó el reto de intentar crear artificialmente anticuerpos humanos, los cuales tienen diversas aplicaciones clínicas. Utilizando el concepto de selección darwiniano, ha logrado la construcción de sitios de unión de anticuerpos ensamblados *de novo*, generando un repertorio amplio y



diverso de fragmentos de anticuerpos en bacterias, entresacando aquellos que se unían al antígeno. Una estrategia de este tipo mimetiza la estrategia del sistema inmune mismo.

El proceso de mutación somática ha sido mimetizado también *in vitro*, introduciendo mutaciones puntuales repartidas al azar a lo largo de todo el gen, utilizando estirpes bacterianas mutadoras. Con estos procedimientos, algunas personas podrían decir que se está desafiando a la naturaleza, incluso a Dios. Una visión alternativa del trabajo del doctor Winter es que está realizando ciencia innovadora.

Alan R. Fersht

«Proceso y estabilidad del plegamiento proteico»

El plegamiento de proteínas es un proceso clave para entender cómo funcionan los seres vivos. El «dogma central» de la Biología Molecular establece la relación entre secuencias de nucleótidos (genes) y secuencias de aminoácidos (proteínas). Sin embargo, las proteínas sólo ejercen su actividad biológica si están correctamente plegadas, en lo que se denomina su conformación nativa. Así pues, es importante entender cómo se pliegan las proteínas.



Sin embargo, esto constituye un problema formidable por dos razones: en primer lugar, porque el número de conformaciones accesibles y, por tanto, de posibilidades es astronómico; en segundo lugar, porque no es posible calcular la estabilidad de estas conformaciones.

Por tanto, se trata de un problema demasiado complejo como para permitir un abordaje exclusivamente teórico. Esto nos lleva a la conocida Paradoja de Levinthal, la cual puede expresarse así: dada una proteína de cien aminoácidos, el número de conformaciones posibles es del orden de 10^{30} ; si dicha proteína tuviese que encontrar su conformación nativa mediante rotación al azar, necesitaría para ello un tiempo equivalente a la edad del Universo. Sin embargo, sabemos que la mayoría de las proteínas adquieren su plegamiento correcto en cuestión de segundos.

En la actualidad disponemos de un modelo que predice tres posibles vías o mecanismos de plegamiento:

—La primera es la denominada difusión/colisión, según la cual primero

se produce el plegamiento en dominios independientes de estructura secundaria, y la interacción entre estos dominios determina después el plegamiento final.

—El segundo mecanismo se denomina de propagación; en este caso, el plegamiento se inicia en una

zona concreta de la cadena polipeptídica y ese cambio induce, a su vez, cambios de conformación en otras zonas, que van propagándose hasta el plegamiento final.

—Según el tercer mecanismo, cuando una cadena polipeptídica recién sintetizada se ve expuesta a un medio acuoso, tenderá a «esconder» en su interior sus aminoácidos hidrofóbicos; esto provoca un «colapso hidrofóbico» prácticamente instantáneo, lo cual limita el número de rutas de plegamientos posibles.

En la actualidad es posible someter estas tres hipótesis a una contrastación empírica. Hay que señalar que un mecanismo de plegamiento queda definido cuando todos los estados estables, metaestables y de transición han sido caracterizados.

En la práctica, este tipo de estudios es posible gracias a dos herramientas fundamentales:

—La primera es la técnica de Resonancia Magnética Nuclear (NMR), que nos permite «mirar» el estado de plegamiento de una proteína.

—La segunda herramienta es la ingeniería genética, con la que podemos construir proteínas mutantes que estén alteradas en su forma de plegamiento.

Hemos elegido dos proteínas de pequeño tamaño y estructura tridimen-

sional bien conocida:

—La primera de ellas es la barnasa. Se trata de una enzima que hidroliza ARN, tiene 110 aminoácidos y carece de puentes disulfuro.

Esta proteína tiene dos motivos estructurales fundamentales: un dominio en hélice alfa y otro en lámina beta. La utilización de proteínas mutantes que tenían alterados estos dominios nos ha permitido caracterizar el proceso de plegamiento.

—La otra proteína elegida es la CI-2, una proteína de cebada capaz de inhibir serín-proteasas. Esta proteína tiene 64 aminoácidos y también carece de puentes disulfuro. El mecanismo de

plegamiento de CI-2 parece responder al modelo de colapso hidrofóbico.

Una posible crítica a este tipo de estudios es que el plegamiento que estudiamos *in vitro* podría ocurrir de forma distinta al que tiene lugar en el interior de la célula.

Una diferencia entre estas dos situaciones consiste en la presencia *in vivo* de proteínas «chaperonas», las cuales contribuyen y facilitan el plegamiento de las cadenas polipeptídicas.

Hemos estudiado el plegamiento *in vitro* de la barnasa en presencia de la proteína chaperona Gro-EI y los resultados no difieren esencialmente de los obtenidos en ausencia de esta proteína.

Guillermo Giménez

«Relación entre estructura y función»

Pocas personas de nuestro ámbito cultural no han oído hablar de la proteína. Sin embargo, ya son muchas menos las que podrían explicarse que un investigador haya dedicado sus mejores años a estudiar el plegamiento de las proteínas, como es el caso del profesor Alan Fersht. Hace ya más de diez años que el profesor Alan Fersht es una referencia obligada dentro del campo de la modificación de proteínas por ingeniería genética o, en un sentido más amplio, del estudio de la relación entre estructura y función.

Las proteínas, amén de un componente importante de la dieta, son la base operacional de nuestro organismo; son responsables de que nuestro organismo se mueva, conozca, respire, se reproduzca. En fin, nuestro organismo es tal porque unos pocos millares de especies distintas de proteínas ac-



túan coordinadamente.

Existen dos momentos fundamentales en la vida de una molécula proteica. El primero es su polimerización a partir de aminoácidos; el segundo es el proceso de plegamiento específico determinado por su estructura primaria. Se trata de un proceso esencial, con implicaciones clínicas y terapéuticas y, al mismo tiempo, extraordinariamente complicado.

Mediante la elección de proteínas de pequeño tamaño y el desarrollo de mutantes específicos de plegamiento, el profesor Alan Fersht está siendo capaz de describir este proceso de plegamiento en base a principios químicos básicos.

Esto constituye un avance fundamental en el conocimiento de los seres vivos y dará lugar, sin duda, a nuevos métodos terapéuticos y nuevos procesos industriales. □