**VOLUMEN 8** 

No. 2

**JUNIO 1989** 

# **EDITORIAL**

# METODO CIENTIFICO Y LA DOCENCIA DE LA BIOQUIMICA

La enseñanza de la Bioquímica ofrece al estudiante de medicina un conocimiento estricto acerca de las bases biológicas de la función de los diferentes órganos y sistemas, así como de las reacciones catalíticas que en ellos se desarrollan. Por otra parte, mediante el trabajo de laboratorio, el estudiante adquiere una experiencia técnica acerca de los métodos experimentales, así como del equipo necesario para desarrollar una experimentación. Por esta razón, la aplicación del Método Científico y, sobre todo, la discusión en grupo e interpretación de resultados, puede ser particularmente fructífera en la enseñanza de esta disciplina con aplicación posterior a problemas de relevancia clínica y ofrece al estudiante la oportunidad de planificarse por sí mismo una experienia de laboratorio.

El esquema del Método Científico mediante el cual el alumno, con ayuda de la literatura científica, elabora unas hipótesis iniciales de trabajo a partir de un problema planteado, diseña un protocolo experimental, obtiene unos resultados a partir de la observación enriquecida con los conocimientos teóricos previamente adquiridos y discute finalmente en grupo los

resultados para obtener unas conclusiones, teniendo en cuenta la hipótesis de partida, es practicable en el seno de grupos reducidos de alumnos (15 a 25), lo que facilita el intercambio de ideas, el desarrollo de la responsabilidad de trabajo en grupo y la estimulación del pensamiento crítico y la integración de ideas para llegar a unas conclusiones.

En la experiencia acumulada de la aplicación del Método Científico en la docencia de la Bioquímica, sobre todo en sesiones prácticas y seminarios, el rendimiento obtenido es muy satisfactorio mediante la simulación de ciertas situaciones de un laboratorio de Bioquímica Clínica, utilizando técnicas sencillas de experimentación, didácticas y comprensibles para el alumno en función de determinados criterios de evaluación, como pueden ser el interés personal mostrado por el alumno, la capacidad de trabajo en grupo o la inquietud por el descubrimiento a través de la observación.

La actitud del estudiante frente a este método varía en función de la diferente motivación del alumno por la disciplina, con una mayor

Pasa a la pág.27

# **COMITE EDITORIAL**

#### ALFONSO CARABEZ TREJO Instituto de Fisiología Celular, UNAM **GUILLERMO CARVAJAL SANDOVAL** Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN ALBERTO HAMABATA NISHIMUTA Centro de Investigación y Estudios Avanzados, IPN ALBERTO HUBERMAN WAISMAN Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán" CARLOS LARRALDE RANGEL Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM JESUS MANUEL LEON CAZARES Instituto de Fisiología Celular, UNAM **ENRIQUE PIÑA GARZA** Facultad de Medicina, UNAM SERGIO SANCHEZ ESQUIVEL Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM

# COORDINADOR EDITORIAL YOLANDA SALDAÑA DE DELGADILLO

Facultad de Medicina, UNAM

EDITOR ASOCIADO
ALICIA CEA BONILLA
Facultad de Medicina, UNAM

ASISTENTE EDITORIAL ELISA MORA Facultad de Medicina, UNAM



Facultad de Medicina

**UNAM** 

# INDICE

	··DIO	_		
В	EB 89	Vol. 8	Núm. 2	junio 1989
E	DITORIA	L <sub>i</sub>		
B	OQUIMIC	Α	Y DOCENCIA I	DE LA25
Α	RTICULO	os		
		MAS SOLUE		28
			UEOBACTERI	AS32
0	TRAS CO	OMUNICA	CIONES	

Guillermo Carvajal, traductor......38

EL HOMBRE DE SEIS MILLONES

**DE DOLARES** 

BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA (BEB) es una publicación trimestral editada por su Comité Editorial, ISSN 0185-5409 Correspondencia: Yolanda Saldaña de Delgadillo. Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina UNAM. Apdo. Postal 70-281. Delegación Coyoacán. 04510, México, D. F. Viene de la pág. 25

#### **METODO CIENTIFICO...**

efectividad en alumnos de primeros cursos, y en función de las dimensiones del grupo de alumnos, ya que los grupos grandes tienden a fragmentarse en subgrupos y los grupos muy pequeños no presentan la variedad potencial de elementos para una óptima funcionalidad, en que cada miembro del grupo se ve implicado en el proceso de aprendizaje.

Un aprendizaje en grupos reducidos con la aplicación del Método Científico, facilita al alumno el reconocimiento de sus dudas respecto al tema y su clarificación, así como la consulta voluntaria e intelectualmente estimulada de la literatura científica y la preparación de los cuadernos de laboratorio, con las incidencias y protocolos experimentales.

La discusión de los resultados obtenidos por los propios alumnos al final de una clase de laboratorio para clarificar conceptos, produce un incremento de la motivación e interés por la asignatura y es aquí donde el tutor desempeña un papel importante. Su intervención no debe ser continua ni exhaustiva, sino solamente la necesaria para dirigir el proceso educativo, en cuanto al esclarecimiento de conceptos de interés o interpretación de los resultados más relevantes.

En el esquema del Método Científico el tutor ha de comportarse con espontaneidad y con una cierta "ingenuidad" investigadora como si de un experimentador más se tratara, haciendo del aprendizaje una actividad entretenida y autoestimulante en el descubrimiento de las consecuencias del fenómeno que se está estudiando y en su aplicación a un problema bioquímico en concreto, de relevancia, sobre todo, clínica. Es así cómo a partir de esta metodología el alumno, estimulado en su actividad científica, se introduce en el proceso de la investigación y llega a comprender cómo trabaja la ciencia.

El proceso de evaluación con este método debe valorar, aparte del aprendizaje de una

información concreta y la comprensión de determinados conceptos, el logro de un conocimiento integrado por parte del alumno y un pensamiento crítico, deductivo y analítico en base a unos resultados experimentales obtenidos, tras una discusión previa en grupo.

En suma, el estudiante se convierte así en artífice de su propio trabajo educativo, después de haber realizado por él mismo una verdadera labor investigadora, organizando su actividad, diseñando el propio método experimental y trabajando en grupo como si de una verdadera comunidad científica se tratara.

La enseñanza de las ciencias en el laboratorio deja de ser de esta forma, una mera aplicación de una "receta" experimental y manejo de ciertos instrumentos, para convertirse en eso que se denomina "hacer ciencia", es decir, la aplicación de unos conocimientos teóricos a un problema en concreto, y la obtención de unos resultados y conclusiones mediante un trabajo experimental de observación con el concurso de una imaginación científica. Los alumnos así aprenden a abordar un problema como punto de partida, formular sus propias hipótesis, elaborar el protocolo experimental adecuado, desarrollar un trabajo de discusión en grupo y llegar a unas conclusiones que confirmen sus hipótesis iniciales, lo que supone exponer las propias ideas y, por otro lado, saber respetar las del otro, dos elementos éstos, crítica de los resultados y discusión constructiva de los mismos, que son esenciales en toda actividad investigadora.

En conclusión, la implantación de este tipo de docencia, mediante la aplicación del Método Científico, puede ser fundamental para comenzar, o en algunos casos continuar, la línea de trabajo docente que conduce a una enseñanza práctica de una especialidad experimental, como puede ser la Bioquímica.

Antonio Liras Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid, España.

# HAY ENZIMAS SOLUBLES?

Salvador Uribe. Instituto de Fisiologia Celular, UNAM, Apdo. postal 70-600, C.P. 04510, México, D.F.

#### RESUMEN

Hay datos que indican que el citoplasma es un sistema altamente ordenado, en el que una red de proteínas fibrosas evita la difusión de los solutos y provee de sitios específicos de unión a las enzimas. Además, se han detectado interacciones específicas entre las enzimas de una vía metabólica, que resultan en la modificación de sus propiedades cinéticas y en la canalización de sus productos y sustratos. Toda esta información ha llevado a sugerir que, las enzimas clasificadas como solubles no se encuentran formando una suspensión uniforme en la célula, sino formando complejos entre ellas o unidas a otras estructuras de la célula. Estos conceptos modifican por completo la imagen que se tiene del metabolismo celular.

#### INTRODUCCION

Las proteínas y las enzimas se clasifican en dos grandes grupos: las hidrofóbicas, que se asocian a las membranas y las hidrosolubles; algunas enzimas solubles se asocian en complejos que integran una vía metabólica, donde ingresa el sustrato de la primera enzima y es convertido por cada enzima del complejo en un intermediario diferente hasta que se libera el producto de la última enzima. Tal es el caso del complejo enzimático encargado de sintetizar los ácidos grasos.

Para muchas vías metabólicas no se ha identificado un complejo anatómico. Por ello se ha supuesto que las enzimas participantes se encuentran dispersas en solución, junto con sus sustratos. Cuando sustrato y enzima se encuentran por azar, ocurre una reacción de la que emergen la enzima intacta y el o los productos de la reacción. Luego, la siguiente enzima de la vía metabólica choca al azar con el compuesto liberado de la primera enzima y, a su vez, cataliza una reacción específica liberando luego su producto, y así sucesivamente, hasta

completar el paso del sustrato por una vía metabólica (1).

El concepto de enzima soluble se encuentra bajo una intensa revisión, pues hay datos que indican que el citoplasma no es una solución acuosa, sino un sistema altamente organizado, con una intrincada malla de fibras proteicas que lo compartamentaliza (la red microtrabecular, RMT). Aparentamente, una gran proporción de las proteínas y organelos celulares están asociados a la RMT (2,3).

Durante los últimos quince años se ha acumulado evidencia indicando que diversas enzimas, tradicionalmente consideradas como solubles, también se encuentran asociadas (4). Se ha sugerido además, que no se habían detectado estas asociaciones entre enzimas debido a que los métodos de homogenización y dilución del contenido celular, usados normalmente para aislar una enzima o un organelo, destruyen este tipo de asociaciones enzimáticas, que son muy frágiles (5). En este contexto, podemos citar a Mc Conkey (6) que dice: "El hecho empírico de que una molécula dada aparezca primariamente en la fracción soluble puede distraer nuestra atención de la violencia cataclísmica de aún los más suaves procedimientos de homogenización".

Aquí se revisarán algunos de los datos que han servido para apoyar la existencia de asociación enzimática en dos vías metabólicas, tradicionalmente consideradas como constituídas por enzimas solubles. Estas son la glucólisis y el ciclo de los ácidos tricarboxílicos. Con fines didácticos, los datos se presentan ordenados en cuatro incisos:

- I. El AGUA CITOPLASMICA,
- II. LA ULTRAESTRUCTURA CITOPLASMICA
- III. LA ASOCIACION INTERENZIMATICA Y
- IV. LA ASOCIACION ENTRE LAS ENZIMAS Y OTROS COMPONENTES CELULARES

Esta división es arbitraria y algunos de los datos podrían citarse en dos o más de los incisos referidos.

#### I. EL AGUA CITOPLASMICA

Las membranas y las moléculas contenidas en las células están rodeadas de agua. Las capas de agua más próximas a estas estructuras se encuentran ordenadas de manera diferente al agua no asociada. El agua de hidratación y el agua no asociada o de solución, tienen diferentes propiedades de solubilidad, de constante dieléctrica, de movilidad, etc. (5).

El agua de hidratación parece ser la más importante para las reacciones metabólicas: en rebanadas de hígado y de riñón se demostró que el consumo de glucosa era casi independiente del contenido de agua dentro de más o menos 20% del agua total.

Las pulgas de agua del género Artemia tienen un contenido de 1.4 g de agua/g de peso seco (g/g), pero pueden ser deshidratadas reversiblemente hasta menos de 0.1 g/g. El metabolismo de estas células es nulo en el estado deshidratado, pero al rehidratarlas se reanuda paulatinamente como sigue: el metabolismo coordinado similar al de las células control aparece a 0.65 g/g, y muestra una velocidad similar a la normal a partir de 0.8 g/g, es decir, a menos de 60% de hidratación.

De estudios como éstos se ha concluido que sólo un porcentaje del agua citoplásmica es importante para el metabolismo y que es poco probable que el metabolismo "soluble" se lleve a cabo en una solución homogénea (5,7).

# II. LA ULTRAESTRUCTURA CITOPLASMICA

El desarrollo de la microscopía electrónica de alto voltaje llevó a Portes y colaboradores. al describir la ya mencionada "red microtrabecular", un enjambre de fibras proteicas (principalmente actina) que atraviesan el citoplasma en todas direcciones (2).

Con respecto a la organización del agua (inciso I), la RMT parece generar asociación de una

proporción aún mayor del agua intracelular. Además, las enzimas citoplásmicas probablemente encuentren en la RMT un soporte anatómico dónde asociarse. La existencia de la RMT ayudaría a explicar la relativa independencia de la velocidad metabólica con respecto a las fluctuaciones del agua celular (5).

La intrincada red de filamentos de la RMT dificulta la difusión de los solutos pequeños, y en ocasiones hace imposible el paso de macromoléculas, tales como las enzimas a través del citoplasma (8).

El flujo de las moléculas a través del citoplasma ha sido estudiado recientemente con una técnica conocida como la "recuperación de la fluorescencia después del blanqueo" (RFDB), la cual consiste en invectar en la célula una molécula fluorescente de tamaño conocido y proceder a blanquear, mediante un rayo de luz intensa (láser blanco), un área de la célula; a continuación se mide la velocidad con la que las moléculas fluorescentes de las áreas no blanqueadas difunden hacia el espacio blanqueado, que así recupera su fluorescencia. Usando moléculas fluorescentes de ficol y dextrán de tamaños cada vez mayores se ha observado que hay un radio crítico por encima del cual las macromoléculas ya no difunden, sugiriendo que la RMT forma poros de diámetro definido en el citoplasma (8).

Otra característica de la RMT que fue detectada por RFDB es la asociación y disociación de las fibras, en respuesta a diversos estímulos. Cuando estas fibras están asociadas, el citoplasma se gelifica atrapando sus solutos. Por el contrario, la disociación hace que el citoplasma pase a estado de sol. La solificación genera corrientes de citoplasma que fluye rápidamente hacia otras áreas de la célula (streaming) (8).

#### III. LA ASOCIACION INTERENZIMATICA.

El aislamiento de complejos de enzimas consideradas como solubles ha sido descrito en varios casos. En una especie de tripanosomas se ha descrito una partícula denominada glucosoma, que contiene todas las enzimas de la glucólisis (9). En E. coli y S. cerevisiae se ha obtenido un complejo de enzimas glucolíticas mediante una técnica de

filtración en gel usando extractos celulares. Si se usan mitocondrias sonicadas, también se ha logrado aislar un complejo enzimático que contiene todas las enzimas del ciclo de Krebs (4).

La asociación de las enzimas resulta en fenómenos tales como la canalización de sustratos, que consiste en el paso directo de un metabolito entre dos enzimas que se encuentran asociadas. En ocasiones, la asociación entre dos enzimas también resulta en cambios de las propiedades cinéticas de las enzimas involucradas.

Un ejemplo de canalización de sustratos y de asociación entre enzimas es el de la malato deshidrogenasa y la citrato sintasa: Datta, Merz y Spivey (10) incubaron juntas estas dos enzimas del ciclo de Krebs en ausencia y en presencia de etilenglicol, el cual tiene el efecto de excluir a las enzimas hacia la fase acuosa, concentrándolas. También se colocó en el medio la enzima aspartato transaminasa, como una trampa para captar el oxaloacetato liberado por la malato deshidrogenasa, dejando sin sustrato a la citrato sintasa. En agua, la malato deshidrogenasa y la citrato sintasa permanecieron separadas y la aspartato transaminasa captó el oxaloacetato, convirtiéndolo en aspartato. En cambio, en presencia de etilenglicol, la malato deshidrogenasa y la citrato sintasa se asociaron precipitándose; además, el oxaloacetato no entró a la solución ya que no se produjo aspartato aún cuando sí se sintetizó citrato. Se concluyó que en el medio con etilenglicol, las dos enzimas asociadas canalizaron el sustrato, no permitiendo que éste entrara a la solución para que lo captara la aspartatoaminotransferasa. En agua, que es donde casi todos los estudios de cinética enzimática se han hecho, la asociación interenzimática y la canalización enzimática no ocurrieron.

Otra consecuencia de la formación de complejos de enzimas es la modificación de la cinética enzimática. Los complejos enzimáticos de la piruvato deshidrogenasa y la citrato sintasa pueden asociarse entre sí y esto resulta en un decremento en la constante de Michaelis (Km), para la piruvato deshidrogenasa, de 10 a 1.5µM. También la alfacetoglutarato deshidrogenasa y la succinato tiocinasa pueden asociarse, con lo que la Km para la succinil

coenzima A disminuye de 65 a 1.5  $\mu$ M (4).

### IV. LA ASOCIACION ENTRE LAS ENZIMAS Y OTROS COMPONENTES CELULARES

Kempfer y Miller (11,12) centrifugaron una población de células vivas del eucarionte unicelular Euglena, congelándola rápidamente luego de la centrifugación. Al fraccionar la célula congelada no encontraron ninguna de nueve enzimas solubles en el citoplasma acuoso. Por otro lado, cuando se llevó a cabo la homogenización celular y el aislamiento del citoplasma de Euglena, por métodos convencionales, se encontraron todas las enzimas en el citosol.

En 1965, Green y colaboradores. (13) reportaron que, después de lisar eritrocitos en medio hipotónico, recuperaban todas las enzimas de la glucólisis unidas a la membrana plasmática y propusieron la existencia de un complejo enzimático encargado de realizar la glucólisis. Esta conclusión fue rápidamente descartada por varios laboratorios al demostrar que las enzimas glucolíticas se disociaban en presencia de concentraciones fisiológicas de iones inorgánicos.

Desde los experimentos de Green, se ha demostrado que hay una asociación específica de las enzimas de la glucólisis con diversos componentes celulares (4,5,14). En el músculo liso, las enzimas de la glucólisis se asocian con las fibras de actina. En mitocondrias de cerebro, la hexocinasa se adhiere a la membrana externa mitocondrial y, de esa manera, parece captar el ATP mitocondrial para fosforilar glucosa, sin que éste se diluya en el citoplasma (15).

También se han descrito otros fenómenos como la "unión en caballito" (Piggyback binding) que se refiere al requisito que muestran algunos sistemas de que una enzima determinada se una a un sitio específico de la membrana, o de una proteína, para que las demás enzimas de esa vía metabólica puedan unirse (4).

En ocasiones, la unión enzima-membrana resulta en una modificación de la actividad enzimática.

Esto pudiera tener implicaciones fisiológicas. Un caso típico es el de la aldolasa, una de las enzimas claves en el control de la glucólisis. La actividad enzimática de la aldolasa se inhibe en un 80% al unirse a la banda 3 de la membrana del eritrocito y se separa por un aumento en la concentración de su sustrato, la fructosa 1,6-difosfato (14).

Recientemente, se ha detectado asociación de la aldolasa a la banda 3 del eritrocito aún en presencia de alta fuerza iónica (16). Las características especiales del experimento consistieron en que se mantuvo una alta proporción superficie membranalvolumen, un volumen restringido y una alta concentración protéica. Todas éstas son condiciones que privan en el medio intracelular. Se utilizó un sistema de eritrocitos resellados, al que se incorporó aldolasa marcada covalentemente con un nitroxilo paramagnético (SL). La señal de resonancia paramagnética electrónica (EPR) de la SL-aldolasa pudo detectarse a través de la membrana y en presencia de altas concentraciones de iones, de hemoglobina y de otras proteínas intracelulares, que hacían a la muestra opaca y de color rojo.

La asociación entre la SL-aldolasa y la membrana se cuantificó calculando el tiempo de correlación (Tc) de la SL-aldolasa (el tiempo que la molécula tarda en rotar 360°) mediante su espectro de EPR de saturación. Este Tc era mayor para la SL-aldolasa unida a la banda 3 que en la SL-aldolasa en solución. Se observó que en el eritrocito resellado la aldolasa se une a la membrana, aún en presencia de altas

concentraciones de iones y de proteínas, y se despega al aumentar la concentración de fructosa 1,6-difosfato, o en presencia del inhibidor competitivo, el 1.4-butanodiol, difosfato. Esto sugiere que la elución provocada por la fuerza iónica puede ser un artefacto, ya que se mantienen otras condiciones intracelulares, como el reducido volumen intracelular, la alta concentración de proteínas y la alta relación superficie membrana/volumen intracelular; entonces, el aumento en la fuerza iónica no basta para disociar las enzimas de la membrana.

#### **CONCLUSIONES**

Cada vez hay más dudas con respecto a cuan adecuado es el concepto del citoplasma como una solución acuosa donde las reacciones metabólicas ocurren entre moléculas en suspensión que chocan al azar. La altenativa, donde los compartimentos celulares son matrices altamente organizadas y cada enzima y sustrato ocupa un sitio definido está ganando terreno día a día. Por otro lado, hay grupos que apoyan la descripción del citoplasma como una solución acuosa (Ver, por ejemplo, la polémica suscitada entre Maretzki y cols. y Masters (1,17).

En muchos otros caminos metabólicos usualmente considerados como solubles se han demostrado fenómenos parecidos a los descritos aquí para las enzimas del ciclo de Krebs y la glucólisis (4,5,7). Es probable que, en la próxima década, lleguemos a descartar la existencia de las enzimas solubles.

#### REFERENCIAS

- 1. Maretzky, D. Reimann, B. y Rapoport, S.M. (1989). A reappraisal of the binding of cytosolic enzymes to erythrocyte membranes. TIBS 14: 93-96.
- 2. Porter, K.R. y Tucker, J.B. (1981). The ground substance of the living cells. Sci. Amer. 244: 56-67.
- 3. León Cázares, J.M. (1987). Cinco preguntas sobre biología celular. Bol. Educ. Bioquím. **6:** 39-47.
- 4. Srere, P. (1987). Complexes of sequential metabolic enzymes. Ann. Rev. Biochem. **56:** 89-124..

- 5. Clegg, J.S. (1984). Properties and metabolism of the aqueous cytoplasm and its boundaries. Am.J. Physiol. 245: R133-R155.
- 6. Mc Conkey, E.H. (1982). Molecular evolution: Intracellular organization and the quinary structure of proteins. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79:3236-3240.
- 7. Fulton, A. B. (1982). How crowded is the cytoplasma? Cell 30: 345-347.
- 8. Luby-Phelps, K., Lanni, F. y Taylor, D.L. (1988). The

submicroscopic properties of cytoplasm as a determinant of cellular function. Ann. Rev. Biophys. Biophys. Chem. 17: 369-396.

- 9. Opperdoes, F.R. (1988). Glycosomes may provide clues to the import of peroxysomal proteins. TIBS 13: 255-260.
- 10. Datta, A. Merz, J.M. y Spivey, H.O. (1985). Substrate channeling of oxalacetate in solid-state complexes of malate dehydrogenase and citrate synthase. J. Biol. Chem. 260: 15008-15012.
- 11. Kempfner, E.S. y Miller, J. H. (1968). The molecular biology of Euglena gracillis IV. Cellular stratification by centrifuging. Exp. Cell. Res. 51: 141-149.
- 12. Kempfner, E.S. y Miller, J.H. (1968-A). The molecular biology of Euglena gracillus V. Enzyme localization. Exp. Cell. Res. 51: 150-156.
- 13. Green, D.E., Murer, E., Hulting, H.O., Richardson,

- S.H., Salmon, B., Brierley, G.P.y Baum, M. (1965). Association of integrated metabolic pathways with membranes. I Glycolytic enzymes of red blood cells and yeast. Arch. Biochem. Physiol. 112: 635-647.
- 14. Strapazon, E.y Steck, T'L. (1977). Interaction of the aldolase and the membrane of human erythrocytes. Biochemistry 16: 2966-2971.
- 15. Brdiczka, D., Adams, V. y Kottke, M. (1988). The specific organization of kinases at the mitochondrial periphery is important for the adenine nucleotide exchange. V Eur. Bioenergetics Conference, Aberystwyth, Wales, P. 282.
- 16. Uribe, S., Dalton, L.A., Sampson, P. y Mc Intyre, J.O.M. (1990). Spin labeling of aldolase: Interactions of spinlabeled aldolase with leaky and resealed red blood cell ghosts. Abstract enprensa. Fed. Proc.
- 17. Masters, C. (1988). Interactions of glycolytic enzymes. TIBS 14:361.

# FOTOSINTESIS EN ARQUEOBACTERIAS

Carlos Gómez-Lojero, Departamento de Bioquímica, CINVESTAV-IPN. A.P. 14-740, C.P. 07000 México, D.F.

#### RESUMEN

Las arqueobacterias son procariontes que viven en nichos ecológicos cuyas condiciones físicas y químicas son extremas. La fotosíntesis peculiar de halobacterias no involucra reacciones de óxidoreducción como ocurre en eubacterias. componentes mínimos para la transducción de la energía electromagnética a la energía química que tienen estas bacterias son: el generador del gradiente electroquímico impulsado por la luz, la bacteriorodopsina, el aislante, los lípidos ramificados y unidos al glicerol por oxígeno-éter, peculiares de las arqueobacterias y la ATPsintasa, transductor del gradiente electroquímico a ATP. La ATPsintasa de arqueobacterias está relacionada más estrechamente con las H+-ATPasas presentes en vesículas acidificadoras de eucariontes de lo que está con la ATPsintasa de cloroplasto o mitocondria.

# **ARQUEOBACTERIAS**

Las arqueobacterias son procariontes adaptados o confinados a los ambientes extremos, tales como, concentraciones altas de sal, manantiales sulfurosos ácidos con temperaturas altas, atmósferas anaeróbicas y altas presiones en lo profundo del mar, condiciones que prevalecían al principio en la tierra.

A finales de los setentas las arqueobacterias fueron reconocidas como un tercer reino, separado de las eubacterias y los eucariontes. La unidad de este reino ha sido establecida por la secuencia de nucleótidos del RNA ribosomal y de aminoácidos de algunas proteínas. Sus membranas, formadas por lípidos unidos por uniones éteres y las cadenas ramificadas de sus hidrocarburos le son exclusivas. Este reino está constituído por tres phyla: los halófilos

extremos del género *Halobium*, las metanógenas y los termófilos extremos con metabolismo azufrado.

Las halófilas extremas son formas excepcionales de vida; las características que las hacen únicas entre los seres vivientes son: (1) su alta concentración interna de sales, lo que hace que sus proteínas, para ser estables, sean especiales, a diferencia de las bacterias halotolerantes, en las que se incrementan los osmolitos del tipo betaína, prolina, etc, pero la fuerza iónica del citoplasma permanece inalterada, y (2) su mecanismo para la fotoproducción de energía, denominado fotosíntesis no óxidoreductora.

La bacteria fotosintética Halobacterium halobium, en forma de cilindro, mide 0.5 um de diámetro y 5  $\mu$ m de largo, vive en lagos salados y evaporadores solares. Para crecer requiere de una concentración de NaCl mayor de 1.5 M. Esta bacteria habitualmente sintetiza ATP por el proceso conocido como fosforilación oxidativa. Cuando se ve privada de oxígeno, la halobacteria desarrolla una membrana púrpura, que se continúa con la membrana plasmática. La membrana púrpura contiene un solo complejo proteico formado por un trímero de bacterio-rodopsina, impulsada por la interacción con la luz, bombea protones de adentro hacia afuera de la célula, lo que da lugar a la formación de un gradiente electroquímico de protones. El gradiente aporta la energía para la síntesis de ATP, por la ATPsintetasa localizada en la membrana plasmática. Sin embargo, la luz no puede mantener el crecimiento de la bacteria en forma indefinida bajo condiciones anaeróbicas, ya que el retinal es sintetizado por la ruptura del B caroteno, en una reacción dependiente de oxígeno.

La fotosíntesis que llevan a cabo las arqueobacterias (Fig. 1) constituye la transducción de energía radiante más simple, ya que sólo involucra una bomba de protones, la bacterio-rodopsina; una membrana acoplante en la cual se establece el gradiente electroquímico de H<sup>+</sup> y la ATPsintetasa. Es el propósito del presente escrito revisar el estado actual del conocimiento de estos tres componentes peculiares de la fotosíntesis no óxido-reductora: la bacterio-rodopsina, la H<sup>+</sup>-ATPasa de arqueobacterias y la membrana acoplante.

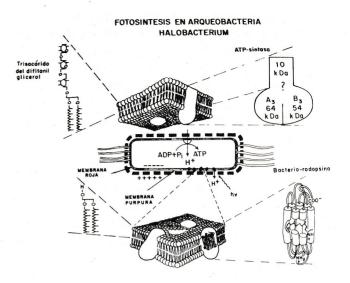


Figura 1. Componentes esenciales que participan en la fotosíntesis de las Arqueobacterias. La interacción de la luz con el pigmento todo trans retinal, impulsa el bombeo de protones por bacterio-rodopsina; esta distribución asimétrica del protón genera un gradiente electroquímico, éste es usado por la ATPsintasa para la síntesis de ATP. En el esquema central se muestra el compartimiento electroquímico formado por la halobacteria. Se ilustra la separación de carga eléctrica generada por el bombeo de protones. La proyección inferior muestra el tipo de lípidos ramificados presentes en estas bacterias. También las cruces que los aminoácidos de la bacterio-rodopsina hacen en la membrana. La bolsa hidrofóbica en la que se encuentra el retinal, también es mostrada. La proyección superior detalla los carbohidratos que se encuentran unidos a los lípidos de la monocapa externa. También muestran en forma muy esquemática la ATPsintetasa, con los pesos moleculares y estequiometrías de las subunidades grandes.

La forma de transducción de energía luminosa más distribuída entre los seres vivos, la fotosíntesis óxido-reductora, que llevan a cabo las eubacterias y los eucariontes, que involucra a los pigmentos clorofila y bacterioclorofila, será objeto de una comunicación aparte.

#### LA MEMBRANA LIPIDICA

Cuando se transfiere la membrana de las halobacterias a un medio que contiene baja concentración de sal, se desintegra en subunidades lipoproteicas. Si se centrifugan estos residuos de membrana, se pueden separar, por su densidad, 3 fracciones que son fácilmente distinguibles por su color: una fracción amarilla, que contiene las vacuolas de gas; una fracción roja, que contiene la cadena respiratoria y la ATPsintetasa y por último la fracción púrpura, que contiene a la bacterio-rodopsina como única proteína (la membrana púrpura está compuesta por 75% de bacterio-rodopsina y 25% de lípidos).

Los lípidos polares de la membrana de las halobacterias son derivados éteres del di-o-fitanil glicerol. La monocapa externa contiene principalmente Gal(1-6)-Man(1-2)-Glu(1-1),

2,3 di-o-fitanil glicerol. Las dimensiones moleculares de estas membranas son equivalentes a las dimensiones habituales de la bicapa lipídica.

Los ésteres de ácidos grasos con glicerol, que son comunes en eubacterias y eucariontes, no se encuentran en las arqueobacterias. La presencia de lípidos unidos por éteres, como principal constituyente de la membrana de las arqueobacterias, puede reflejar su origen y prevalencia en habitats extremos. Se alcanza mayor estabilidad química con la unión éter que con la éster o bien, sólo refleja que el ancestro común de todas las arqueobacterias tenía este tipo de membrana.

# LA BACTERIO-RODOPSINA

La bacterio-rodopsina, proteína integral de membrana, de color púrpura, tiene como cromóforo al retinal, el cual está unido covalentemente a la lisina número 216 de la proteína por medio de una base de Schiff.

El retinal es una molécula de 20 carbonos, con dobles ligaduras conjugadas, tiene una configuración todo *trans*, en su estado basal, sin embargo, la luz hace que esta molécula se isomerice de manera transitoria al isómero 13 *cis*. La apoproteína tiene un peso molecular de 25 KDa y está constituída por 248 residuos de aminoácidos, cuyo orden en la proteína es conocido.

La fortuna de poder aislar la membrana púrpura, que contiene sólo bacterio-rodopsina, del resto de la membrana celular y el hecho de que la bacteriorodopsina forma cristales bidimensionales dentro del plano de la membrana, han permitido su estudio por difracción de electrones en el microscopio electrónico.

Dichos estudios mostraron que las moléculas están empacadas en arreglos hexagonales regulares, la estructura tridimensional de la molécula de bacterio-rodopsina reveló 7 hélices empacadas juntas casi perpendiculares a la superficie de la membrana, cada hélice formada por veinte residuos de aminoácidos, los residuos restantes se extienden en la fase acuosa de ambos lados de la membrana. El amino terminal de la cadena polipeptídica está hacia afuera de la célula y el extremo que contiene el carboxilo, se localiza hacia el espacio intracelular. Otras características estructurales conocidas muestran que los aminoácidos cargados eléctricamente que se encuentran en el interior de la membrana, forman pares iónicos en el interior de la proteína.

La base de Schiff formada entre el retinal y la lisina de la apoproteína se encuentra localizada en la hélice más próxima al carboxilo terminal. El cromóforo se encuentra en una estructura en forma de bolsa, la cual está situada en posición paralela a la membrana.

## LAFUNCIONDELABACTERIO-RODOPSINA.

El resultado final de la absorción de la luz por la bacterio-rodopsina es el movimiento de protones a través de la membrana celular.

El primer fotoproducto, formado cuando la luz incide sobre la bacterio-rodopsina, es el intermediario "K", el cual es detectado en unos cuantos picosegundos. El intermediario "K" tiene la doble ligadura situada en el carbón 13 en posición cis. La base de Schiff todavía no es plana sino distorsionada conformacionalmente. El fotoproducto "K" contiene 16 Kcal/mol más de energía que la bacterio-rodopsina.

Además del intermediario "K", es posible detectar otros intermediarios, entre los cuales está el llamado intermediario "M", que contiene la doble ligadura en el carbono 13 en posición cis y la base de Schiff ya no está protonada. La salida de protones ocurre

en la misma escala temporal del intermediario "M", por lo tanto, la formación y decaimiento del intermediario "M" puede estar ligada al transporte de protones (Fig. 2).

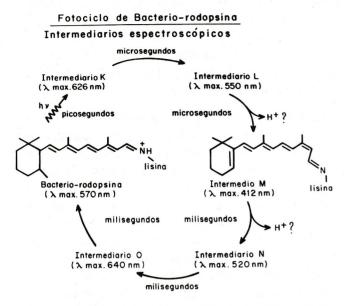


Figura 2. Fotociclo de Bacterio-rodopsina. La luz induce la isomerización de todo *trans* retinal a 13 *cis* retinal; este cambio de configuración del cromóforo conlleva un cambio conformacional mayúsculo en la proteína. Este cambio conformacional es tan grande como el que induce una hormona en su receptor. En alguna forma, esta transición conformacional de la proteína provoca la circulación de protones (2 al menos) a través de ella misma, en un solo sentido.

Al final del fotociclo, el cual se completa en milisegundos, el cromóforo retinal regresa a su forma original de bacterio-rodopsina con todas las dobles ligaduras en configuración trans y la base de Schiff protonada nuevamente.

No se conoce con exactitud cómo están relacionados al mecanismo de transporte de protones los intermediarios fotoquímicos. Sin embargo, es conocido que la isomerización de la doble ligadura de la posición 13 es necesaria para el bombeo de protones. Los análogos de retinal que confinan la unión del carbono 13 por medio de un pequeño anillo que impide su isomerización, fallan para bombear protones. Es posible también afirmar que, la cadena poliénica conjugada completa del retinal es esencial para el bombeo de protones; si alguna de

las dobles ligaduras de la molécula es reducida, también falla el bombeo de protones.

Una de las teorías para explicar la función de la bacterio-rodopsina postula que el protón bombeado proviene de la base de Schiff, formada entre el cromóforo retinal y la lisina de la proteína. Es sabido que esta unión se desprotona durante el fotociclo de la bacterio-rodopsina. Sin embargo, la eficiencia cuántica del bombeo de protones, es decir, cuántos protones son transportados por cada cuantum de luz absorbido, son incompatibles con ella, va que el resultado de la eficiencia cuántica da más de 1-probablemente son bombeados 2 protones por cada fotón y en cada fotociclo la base de Schiff sólo pierde un protón-. El hecho de que sólo dos configuraciones del cromóforo se presentan en el fotociclo completo sugiere que sólo hay dos conformaciones básicas en la proteína: una que acomoda al retinal todo trans y otra que acomoda al 13 cis retinal. Estas dos conformaciones se conocen como T y C, por razones obvias.

Este cambio conformacional sirve para desconectar un par iónico (entre la carga positiva de la base de Schiff y una carga negativa localizada en el exterior de la proteína) y permite la internalización de la carga positiva de la base de Schiff.

Sin ninguna duda, el objetivo inicial de entender cómo los cambios configuracionales en el retinal conducen al movimiento vectorial de protones a través de la bacterio-rodopsina, espera más datos para entenderlo completamente.

#### LAS H+-ATPasas

Las H<sup>+</sup>-ATPasas son enzimas membranales que bombean protones, al utilizar para ello la energía liberada por la hidrólisis del ATP; estas bombas han sido divididas en 3 familias: P, F y V.

Las P-ATPasas operan vía un intermediario fosforilado. Las P-ATPasas están constituídas de sólo un polipéptido catalítico, de aproximadamente 100 KDa y son inhibidas por vanadato. Este tipo de enzimas incluyen a las ATPasas de membrana plasmática de plantas, hongos y animales. La estequiometría H<sup>+</sup>/ATP = 1, les permite bombear protones aún en medios muy ácidos.

Las F-ATPasas o Eubacterianas se localizan en la membrana plasmática de las eubacterias, en la membrana interna de las mitocondrias y en la membrana tilacoidal de los cloroplastos. Funcionan principalmente en la síntesis de ATP. Están formadas por dos complejos  $F_0F_1$ . El  $F_1$  es hidrosoluble y en él se encuentra el sitio catalítico; está constituído por 5 subunidades diferentes. El  $F_0$  lo está, al menos, por 3 subunidades integrales de membrana. La estequiometría más probable de  $H^+/ATP = 3$ , lo que le permite sintetizar ATP sin gradientes extremos.

V-ATPasa o tipo vacuolar, está presente en sistemas de endomembranas de células eucariónticas. También son enzimas multiméricas formadas por un complejo membranal y otro periférico, en el que se encuentra el sitio catalítico. Funcionan exclusivamente en la dirección hidrolítica y generan un gradiente electroquímico de H<sup>+</sup>, acidifican el interior de la vacuola, son inhibidas por nitrato y maleimidas. La estequiometría H<sup>+</sup>/ ATP de 2 refleja las condiciones menos variables que ocurren dentro de la célula, y éstas le permiten al sistema enzimático ser más eficiente, desde el punto de vista termodinámico. A diferencia de la enzima de membrana plasmática (P-ATPasa) que tiene que contender con situaciones externas extremas.

# LA ATPsintetasa DE ARQUEOBACTERIAS

La síntesis de ATP en halobacterias es impulsada por una fuerza protón-motriz. La fuerza protónmotriz se genera por la oxidación de sustratos en condiciones aeróbicas o por la luz a través de la bacterio-rodopsina, cuando la bacteria carece de oxígeno.

La única H<sup>+</sup>-ATPasa conocida que opera en el sentido de la síntesis de ATP es la F-ATPasa o ATPsintasa eubacteriana. Por esta razón se postuló a este tipo de enzima como la responsable de la síntesis de ATP en las arqueobacterias.

Sin embargo, en vesículas de halobacterias se encontraron peculiaridades en la síntesis de ATP, que no corresponden con el tipo de enzimas antes señalado. La enzima sintetiza a baja fuerza protónmotriz (-100 mV), requiere de concentraciones mayores de 50 mM de Mg<sup>++</sup>, es activada por aniones del tipo sulfato y bicarbonato y es inhibida por nitratos y NEM (N-etil-maleimida). La enzima aislada con detergente mostró, al menos, 3 subunidades de 86, 64 y 12 KDa; las dos primeras se pueden obtener en un complejo hidrosoluble que tiene actividad ATPásica y el último une DCCD y se obtiene como proteolípido.

La caracterización de la enzima se extendió a otras arqueobacterias, tales como Halobacterium saccharovorum, Sulfolobus acidocaldarius v Methanosarcina barkeri, representantes de los 3 phyla de arqueobacterias halófilas, termófilas y metanógenas, respectivamente. Las similitudes entre ellas permitió, por lo tanto, reconocer una familia de H+-ATPasas características de las arqueobacterias. Recientemente se ha llamado la atención sobre la sensibilidad a iones, así como el peso molecular de las subunidades mayores, que sugieren una relación cercana con las H+-ATPasas sensibles a aniones, que se encuentran presentes en los sistemas de endomembranas de eucariontes, tales como, vacuolas de hongos y levaduras, en tonoplastos de plantas, en lisosomas, endosomas, gránulos secretores, gránulos de almacenamiento y vesículas cubiertas de clatrina de células de animales.

En apoyo a lo anterior, se reportó que los anticuerpos policionales contra ATPasa de halobacteria cruzan con la ATPasa de tonoplastos del betabel, tan fuertemente como con la ATPasa de Sulfolobus acidocaldarius.

Más aún, recientemente se publicó la secuencia de aminoácidos de las subunidades grandes de la H<sup>+</sup>-ATPasa del *Sulfolobus acidocaldarius* y se comparó con la secuencia de aminoácidos de la enzima de las vacuolas de zanahoria. Se encontró un 50% de identidad entre las unidades A y B de la arqueobacteria con la del eucarionte y sólo un 25% de identidad con las subunidades α y β de la F-ATPasa de las eubacterias. Los datos anteriores no dejan duda de la relación directa que hay entre la enzima de endomembranas de eucariontes con la citoplásmica de las arqueobacterias; sin embargo, es necesario enfatizar que la diferencia entre estas enzimas es que, la primera funciona hidrolizando el

ATP y genera un gradiente de protones que permite acidificar el interior del lisosoma o de los organelos secretores y que impulsa la acumulación de neurotransmisores u hormonas, mientras que la de arqueobacterias funciona en la síntesis del ATP en una membrana expuesta a condiciones ambientales extremas, por ejemplo: alta fuerza iónica en halobacterias o pH de 2 ó 3 en acidófilos como Sulfolobus acidocaldarius.

## IMPLICACIONES EVOLUTIVAS

La relación entre la enzima vacuolar de eucariontes con la H<sup>+</sup>-ATPasa membranal de la arqueobacteria *Sulfolobus acidocaldarius* puede indicar que ambos, eucariontes y arqueobacterias, comparten un ancestro común y que la bomba de protones vacuolar es el resultado de la internalización de la membrana plasmática del ancestro, por medio de un mecanismo que recuerda la fagocitosis.

Esta relación entre las ATPasas es otro de los

caracteres que indican la mayor proximidad entre las arqueobacterias y los eucariontes, más que con las eubacterias.

Otra posibilidad de la adquisición de la enzima por los eucariontes es la transferencia horizontal (transformación con el DNA de arqueobacterias) y que la enzima fue insertada en endomembranas preexistentes.

Finalmente, también podría postularse que las vacuolas de eucariontes son endosimbiontes provenientes de un ancestro relacionado con las arqueobacterias actuales que transfirieron todo su genoma al núcleo.

No cabe duda de que cualquiera que sea la hipótesis correcta, habremos de esperar por más información para poder reconstruir la historia de esta enzima, tanto en arqueobacterias como en la internalización de las membranas de los eucariontes.

## **AGRADECIMIENTOS**

Una vez más a la atención, paciencia y eficiencia de la Sra. Ma. Cristina Díaz Trueba en sus múltiples transcripciones mecanográficas. Al Sr. José T. Cortés Castillo, por su atingencia y eficiencia en la ejecución de los dibujos.

#### LECTURAS RECOMENDADAS

#### Acerca de Bacterio-rodopsina

- 1. W. Stockenius (1976). *Salt Loving Bacteria*. Sci. American **234** (61) 38-46.
- 2. P. S. Zurer (1983). *The Chemistry of Vision (Special Report)*. Chemical & Engineering News. **28**, pag. 24-35.
- 3. J. Lugtenburg, R.A. Mathies, R.G. Griffin and J. Herzfeld (1988). *Structure and Function of Rhodopsins...* Trends Biochem. Sci. **13** (10) 388-393.

## Acerca de los lípidos especiales de las Arqueobacterias

- 1. W.J. Jones, D.P. Nogle Jr. and W.B. Whitman (1987). *Methanogens and the Diversity of Archaebacteria*. Microbiological Reviews **51** (1) 135-176.
- 2. T. A. Langworthy (1982). Lipids of Bacteria Living in

Extreme Environments. Curr. Topics in Membrana & Transport. 17, 45.

#### Acerca de las H+-ATPasas

- 1. P.L. Pedersen and E. Carafoli (1987). Ion Motive ATPases I. Ubiquity properties and significance to cell function. Trends Biochem. Sci. 12 (4) 146-150.
- 2. P.L. Pedersen and E. Carafoli (1987). *Ion Motive ATPases II*. Energy coupling and work output. Trends Biochem. Sci. **12** (5) 185-189.
- 3. Y. Mukohata and M. Yoshida (1987). The  $H^+$ -Translocating ATP Synthase in Halobacterium halobium Differs from  $F_0F_1$ -ATPase Synthase. J. Biochem. 102:797-802.
- 4. N. Nelson and L. Taiz (1989). *The Evolution of H\*-ATPases*. Trends Biochem. Sci. **14** (3) 113-116.

# EL HOMBRE DE SEIS MILLONES DE DOLARES

Harold J. Morowitz, Prof. de Biofísica Molecular y Bioquímica, Univ. de Yale. En Bohinski, R.C. Modern Concepts in Biochemistry, 3a. Ed., Allyn and Bacon Inc. Boston, London, Sydney, Toronto (1979) pp 11-13.

Otro año inevitablemente pasó y el dolor fué mitigado por una tarjeta humorística de mi hija y mi yerno que al frente decía: "De acuerdo con los BIOQUIMICOS, los materiales de que está hecho un ser humano cuestan sólo 97 centavos (de dólar)". Me puse a cavilar: si los materiales valen sólo 97 centavos, mis colegas y yo estamos siendo estafados por las compañías que venden productos bioquímicos. Temiendo que las agencias que dan los fondos para investigación se enteraran primero, decidi hacer un estudio completo de todo el asunto.

Empecé, sentándome con mi catálogo de una compañía bioquímica y comencé a hacer una lista de los ingredientes. La hemoglobina estaba a \$2.95 el gramo, la tripsina purificada a \$36.00 el gramo y la insulina cristalina estaba a \$47.50 el gramo (todos los precios son en dólares U.S.Cy). Comencé a ver constituyentes ligeramente menos comunes, tales como la acetato cinasa a \$8,860.00 el gramo, la fosfatasa alcalina a \$225.00 el gramo y el NADP a \$245.00 el gramo. El ácido hialurónico a \$175.00 el gramo, mientras que la bilirrubina era una ganga a \$12.00 el gramo. El DNA humano estaba a \$768.00 el gramo. La impresión fuerte se produjo cuando ví que la hormona folículo-estimulante costaba \$4,800,000.00 el gramo -claramente más cara que cualquier cosa que "Tiffany" pudiera ofrecer-. Estoy tentado a sugerirla como un regalo a la gente que lo tiene todo. Para el que es deveras rico, ahí esta la prolactina a \$17,500,000.00 el gramo, precio de la calle.

No contento con la breve mirada en el catálogo, promedié todos los constituyentes basándome en el mejor dato de la composición porcentual del cuerpo humano, llegando al valor promedio de \$245.54 para un gramo de peso seco. Con este dato ardiendo en mi cabeza, corrí al gimnasio a pesarme. Pesé 76 Kgs. Recordando que tengo 68% de agua, calculé

que mi peso seco era de 24,436 Kgs. El siguiente cálculo lo hice ya muy excitado, tuve que multiplicar \$245.54 dólares por gramo de peso seco por 24,436 gramos. El número literalmente saltó sobre mí: \$6'000,015.40 ¡¡YO ERA UN HOMBRE DE SEIS MILLONES DE DOLARES!!, sin la menor duda, y realmente fué una enorme subida a mi ego, después de la evaluación de noventa y siete centavos.

Suponiendo que las ganancias de las compañías bioquímicas son considerablemente menores que el 618,558,239 % indicado antes, todavía debemos hacer una consideración entre la cifra de 97c y la de seis millones de dólares. La respuesta es al mismo tiempo muy simple y muy profunda: la informacióa es mucho más cara que la materia. En la cifra de seis millones de dólares yo estaba pagando por mis átomos en el estado informacional más elevado en que son comercialmente asequibles, mientras que en la cifra de 97c estaba pagando por la forma informacionalmente más pobre de carbón, aire, agua, cal, hierro metálico, etc. Este argumento puede desarrollarse en términos de proteína, como un ejemplo. Las macromoléculas formadas de subunidades aminoácidas, cuestan entre \$3,00 y \$20,000.00 dólares el gramo, en forma purificada. Los aminoácidos más simples, informacionalmente más pobres, cuestan alrededor de 25c el gramo. Las proteínas son combinaciones lineares de estos aminoácidos, que deben ensamblarse y enrollarse. Así entendemos la razón de la diferencia de precio -los componentes tales como carbón, agua, aire, cal y hierro son, por supuesto, sencillos y correspondientemente más baratos. Los monómeros pequeños de bajo peso molecular, son mucho más complejos y consecuentemente, más caros y así sucesivamente, para las moléculas más grandes.

Esto quiere decir que mi estimación de seis millones de dólares es muy, muy baja. Las

compañías bioquímicas pueden venderme sus productos por los simples seis millones, porque los obtienen de productos naturales. Indudablemente que si tuvieran que sintetizarlos, el precio de 97c de material tendría que cambiarse a seiscientos millones o quizás a seis mil millones de dólares. Hasta la fecha sólo hemos sintetizado la insulina y la ribonucleasa. Las proteínas más grandes serán más difíciles de sintetizar.

Un momento de reflexión nos demuestra que, aunque compráramos todos los componentes macromoleculares, NO HABRIAMOS COMPRADO A UN SER HUMANO. Un congelador lleno de moléculas inestables (a -70°C) no está calificado para votar o para ciertos otros derechos inalienables.

El siguiente paso es ensamblar las moléculas en organelos. Aquí el éxito de la ciencia moderna es muy limitado, ya que estamos en un área de investigación totalmente nueva. Se ha ensamblado una subunidad de los ribosomas funcionalmente activa, a partir de sus componentes: proteínas y RNAs. Indudablemente en el futuro se ensamblarán otras estructuras celulares después de intensos esfuerzos. El ribosoma es quizás el organelo más sencillo, así que se necesitará una sofisticación experimental considerablemente mayor para lograr el ensamble de componentes celulares más complejos.

Imaginemos que yo quisiera ponerle precio al cuerpo humano en términos de subestructuras celulares sintetizadas. Tendría que pensar en términos de seiscientos mil millones de dólares o quizás de seis billones de dólares (seis millones de millones). No sea que a mi universidad empiece a caérsele la baba sobre todos los gastos generales que tendría que conseguir con estos precios -déjenme decirles que esto es sólo un ejercicio mental y que no planeo solicitar un apoyo económico para investigar en esta área.

Continuando el argumento hasta su penúltima conclusión, podemos encarar el hecho de que mi congelador lleno de organelos (lo he valorado en seis billones de dólares, aunque la cifra no es confiable) no puede amar, quejarse, ni hacer todo aquello que caracteriza a nuestra humanidad. El Dr. Frankenstein era un fraude: la tarea es muchísimo más difícil de lo que él nunca entendió. Lo que sigue es ensamblar los organelos para tener células. Aquí sí estamos en el limbo para calcular el costo, pero yo no puedo imaginar que pueda hacerse por menos de SEISCIENTOS BILLONES DE DOLARES (6 x 10<sup>14</sup> dólares). ¿Me oyó Ud., Mr. Simon, secretario del tesoro, presidente Burns de la Reserva Federal? ¿Se están tomando estos pensamientos como un giro radical?

Es necesario un paso final en nuestro punto de vista bioquímico del hombre. Una incubadora con 76,364 gramos (mi peso) de cultivo celular a 37°C no constituye, aún en los términos materiales más burdos, lo que consideramos un ser humano. ¿Cómo ensamblaríamos las células en tejidos, éstos en órganos y los órganos en una persona? La tarea hace vacilar a la imaginación. Nuestra capacidad para hacer la pregunta en dólares y centavos ha desaparecido. Brusca y definitivamente nos damos cuenta y comprendemos que UN SER HUMANO NO TIENE PRECIO. Llegamos así a una gran conclusión filosófica: el valor infinito de cada persona. Las razones científicas son claras: estamos en el nivel molecular, las estructuras que nos rodean con la información densísima, sobrepasa por muchos órdenes de magnitud, lo mejor que los ingenieros en computación puedan diseñar o aún imaginar por miniaturización. El resultado debe, sin embargo, ir más allá de la ciencia y del color de nuestra apreciación del mundo. Aún podría llevarnos a la conclusión de Alfred North Whithead de que "el cuerpo humano es un instrumento para producir arte en la vida del alma humana".

Prof. Guillermo Carvajal, Traductor.

# INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DEL BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA

El BEB es una revista dedicada a la divulgación de temas interesantes y relevantes en el campo de la bioquímica y en áreas afines. Está dirigido a profesores y estudiantes no especializados, por lo que se sugiere que la presentación de los trabajos se ajuste a sus lectores y sea simple, explícita y didáctica. Serán bienvenidas las contribuciones en forma de artículos de revisión y otras comunicaciones. Solicitamos a los autores se ajusten a los siguientes lineamientos para facilitar la labor editorial:

#### I. ARTICULOS DE REVISION

- 1) El artículo deberá enviarse capturado en cualesquiera de los procesadores de texto "Word" o "Wordstar", sin ningún formato, con el texto cargado a la izquierda y con una extensión máxima de 18 mil caracteres, en un disco flexible de 5 1/4 pulgadas de 365 KB. El disco deberá ir acompañado de dos impresiones del artículo en el que deberán marcarse en color las palabras o líneas que deben ir en cursivas o negritas, así como todas aquellas anotaciones que desee. En el caso de no tener acceso a estos procesadores de texto, el manuscrito podrá enviarse a máquina, no debe exceder de 12 cuartillas escritas a doble espacio (27 renglones por cuartilla y 70 golpes por renglón).
- 2) Se aceptarán como máximo 6 figuras o tablas, las cuales se entregarán por separado en papel albanene con tinta o como fotografía brillantes a blanco y negro. La limitación en el número de figuras, tablas y referencias obliga a los autores a que seleccionen aquéllas realmente importantes e informativas. Numere las figuras con números arábigos y las tablas con números romanos. Adicione las leyendas y pies de figura en una hoja aparte. Considere que las figuras y tablas serán reducidas de tamaño, aproximadamente a 1/2 o 1/4 de la hoja carta, las letras y números más pequeños no deben ser menores a los 2 mm.
- 3) Sugerimos un máximo de 10 referencias tanto específicas como lecturas recomendadas, numeradas en el texto en forma progresiva conforme vayan apareciendo. Cada referencia debe contener: nombres(s) del autor(es), año entre paréntesis, título del artículo, nombre de la revista, volumen a cursiva y el número de la primera y última páginas.

#### Ejemplos:

a) Larkins, B. A., Pearlmutter, N. L. y Hurman, W. J. (1979). The mechanism of zein synthesis and deposition in protein bodies of maize endosperm. En The Plant Seed. Development, Preservation, and Germination, Editores: Rubenstein, I., Phillips, R. L., Green, C. E. y Gengenbach, B. G. Academic Press. New York. pp. 49-55

- b) Miller, C. O. (1982). Cytokinin Modification of Mitochondrial Fuction. Plant Physiol, 69. 1274-1277.
- 4) Evite hasta donde sea posible los pies de páginas. Las abreviaturas poco comunes utilizadas en el texto deberán enlistarse en la primera página.

#### II. OTRAS COMUNICACIONES

- El tema de las otras comunicaciones puede ser muy variado; desde resúmenes de artículos interesantes, relevantes o significativos, información de tipo general, bolsa de trabajo, etc.
- El contenido deberá ser desarrollado en forma resumida y de una manera explícita.
- 3) El artículo deberá enviarse capturado en cualesquiera de los procesadores de texto "Word" o "Wordstar", sin ningún formato, con el texto cargado a la izquierda y con una extensión máxima de 6 mil caracteres, en un disco flexible de 5 1/4 pulgadas de 365 KB. El disco deberá ir acompañado de dos impresiones del artículo en el que deberán marcarse en color las palabras o líneas que deben ir en cursivas o negritas, así como todas aquellas anotaciones que desee. En el caso de no tener acceso a estos procesadores de texto, el manuscrito podrá enviarse a máquina, no debe exceder de 12 cuartillas escritas de longitud a doble espacio (27 renglones por cuartilla y 70 golpes por línea).
- 4) Se aceptarán un máximo de dos referencias incluidas entre paréntesis en el texto. En casos en que se juzgue necesario se podrá incluir una figura o tabla.

Los manuscritos serán leídos por dos revisores, uno de ellos familiarizado con el tema y el otro ajeno al mismo. Las correcciones y sugerencias se comunicarán al primer autor.

Envíe el original y las dos copias de los manuscritos a la Dra. Yolanda Saldaña de Delgadillo. Boletín de Educación Bioquímica, Apdo. Postal 70-381. Delegación Coyoacán, 04510 México, D. F. o al Dr. Alberto Hamabata, Departamento de Bioquímica, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Apdo. Postal 14-740, 07000 México, D. F., o bien a través del corresponsal del BEB en su localidad.