

## SEVERO OCHOA: VIVENCIAS PERSONALES EN NUEVA YORK Y MADRID

DRA. MARGARITA SALAS

Personalmente, tuve la suerte de conocer a Severo Ochoa en el verano de 1958 en Gijón, siendo yo estudiante de Ciencias Químicas en la Universidad Complutense de Madrid. Los trabajos de Severo Ochoa me fascinaron y determinaron mi vocación por la Bioquímica. Por consejo suyo, realicé la Tesis Doctoral en el Centro de Investigaciones Biológicas con Alberto Sols y después me fui, junto con Eladio Viñuela, mi marido, a realizar una fase postdoctoral con Severo Ochoa en el Departamento de Bioquímica de la Escuela de Medicina de la Universidad de Nueva York, donde se concentraba un plantel de magníficos científicos realizando investigación de la mejor calidad.

Cuando Eladio y yo llegamos al laboratorio de Ochoa, en Agosto de 1964 se acababa de terminar la fase febril de determinación del código genético. De hecho, en el Congreso Internacional de Bioquímica celebrado en Nueva York en Agosto de 1964, Nirenberg y Leder presentaron los resultados en los que, usando tripletes de secuencia específica, se promovía la unión al ribosoma del aminoacil-tRNA correspondiente. Usando este método Niren-

berg y colaboradores determinaron la secuencia de bases de la mayoría de los tripletes o codones.

Un problema que quedaba por determinar en la síntesis de proteínas era la dirección de lectura del mensaje genético. Se sabía que la cadena polipeptídica se sintetizaba desde el grupo amino al carboxilo pero se desconocía si el mRNA se leía en la dirección 5' a 3' o viceversa, 3' a 5'. Se preparó un polinucleótido sintético que consistía en una serie de As (el código para lisina) terminando con el triplete AAC que codifica asparagina (AAA...AAAAAC). Utilizando un sistema libre de células de la bacteria *Lactobacillus arabinosus* con baja actividad nucleasa y los ribosomas purificados de *Escherichia coli* dicho polinucleótido dirigía la incorporación de un polipéptido formado por lisinas con asparagina en posición carboxi-terminal (9). Por el contrario, cuando el triplete AAC estaba en el extremo 5' se sintetizaba un polipéptido compuesto por asparagina y lisinas, ocupando en este caso la asparagina la posición amino-terminal (10). Estos resultados demostraron que el mensaje genético se lee en la dirección 5' a 3'.

Posteriormente, utilizando mensajeros naturales, como el RNA del fago MS2, en un sistema libre de células de *E. coli*, encontramos que dicho mensajero incorporaba aminoácidos en proteínas cuando utilizábamos ribosomas no purificados, pero era inactivo cuando dichos ribosomas era tratados con ClNa 0.5 M y se eliminaba la fracción que contenía el lavado de los ribosomas. Sin embargo, cuando el lavado de los ribosomas se precipitaba con sulfato amónico y se añadía la fracción resultante a los ribosomas lavados, se recuperaba la actividad. Resultados similares se obtenían usando polinucleótidos sintéticos que empezaban con el triplete de iniciación AUG. Del lavado de los ribosomas purificamos dos proteínas, a las que llamamos F1 y F2, que restablecían la traducción del RNA de MS2 y de los polinucleótidos sintéticos que empezaban con AUG, cuando se añadían a los ribosomas purificados. Posteriormente demostramos que se requerían para la unión de formilmetionil-tRNA a los ribosomas dependiente del

triplete AUG, pero no para la unión de aminoacil-tRNAs dirigida por tripletes distintos a AUG (11). También se usaron otros polinucleótidos para demostrar que UAA es un codon de terminación de la síntesis de proteínas. Así, mientras el polinucleótido AUGUUUAAA...AAA daba lugar por traducción a oligopéptidos Met-Phe-Lys...Lys, el polinucleótido AUGUUUAAA...AAA daba lugar al dipéptido Met-Phe (12). Posteriormente, el grupo de Ochoa encontró, lavando los ribosomas con ClNa 1M, un tercer factor de iniciación, F3, que se requería para la unión del mRNA al ribosoma 30S. Por tanto, la formación de un complejo de iniciación requería dos pasos: la unión del mRNA al ribosoma 30S dependiente de F3, y la unión de formilmetionil-tRNA<sub>F</sub> al complejo mRNA-30S dependiente de F1 y F2.

Este trabajo fue la base de la investigación posterior del grupo de Ochoa que se centró en el estudio de la iniciación de la síntesis de proteínas en organismos eucarióticos, en cuyo trabajo intervinieron los investigadores españoles José Manuel Sierra, César Nombela, Nohely Arrieta y César de Haro. En concreto, César de Haro descubrió una proteína en lisados de reticulocitos que estimulaba la actividad del factor de iniciación eucariótico eIF-2 (13), el equivalente al factor F2 procariótico.

De la estancia en el laboratorio de Severo Ochoa guardo un recuerdo imborrable. Severo Ochoa nos enseñó a Eladio y a mi, no solamente la Biología Molecular que después pudimos desarrollar y enseñar a nuestra vuelta a España, sino también su rigor experimental, su dedicación y su entusiasmo por la investigación. El seguía día a día el trabajo que se hacía en el laboratorio, y a diario discutíamos con él los experimentos que se habían hecho, y planeábamos los que había que realizar. Tengo un recuerdo especialmente agradable de los almuerzos en los que, además de largas discusiones sobre ciencia, también se hablaba de música, de arte, de literatura, de viajes. Era un rito el paso de Severo Ochoa a las 12 en punto por nuestros laboratorios para recogerlos de camino al comedor de la Facultad.

También tengo un excelente recuerdo de las clases que se impartían a los estudiantes de Medicina de la Facultad por los profesores del Departamento, y a las que asistíamos todos los miembros del mismo. Ello nos dio ocasión de aprender la Biología Molecular desde el punto de vista teórico de la mano de Severo Ochoa y de otros grandes profesores del Departamento.

No quisiera terminar el relato de mi estancia en la Universidad de Nueva York sin recordar a varios científicos que eran profesores del Departamento de Bioquímica cuando Eladio y yo estuvimos allí.

Bob Warner, un experto químico-físico, en quien Ochoa se apoyaba en todo lo relacionado a esta materia, quien caracterizó el polímero que se formaba mezclando soluciones de poliA y poliU.

Bob Chambers, un químico orgánico que había sido estudiante postdoctoral de Khorana y tenía una excelente preparación en la química de los ácidos nucleicos. Hizo importantes contribuciones a la bioquímica del tRNA.

Charles Weismann, quien trabajó en los mecanismos de replicación de fagos RNA como MS2 y Q $\beta$ , y con quien Eladio trabajó el primer año de su estancia en el laboratorio de Ochoa.

Posteriormente, Eladio propuso a Ochoa un proyecto independiente, a lo que Ochoa accedió, que consistió en la determinación de las proteínas inducidas después de la infección de *E.coli* por el fago MS2 (14). Para ello, Eladio puso a punto un método de electroforesis en geles de poliacrilamida en presencia de dodecil sulfato sódico que separa las proteínas en función de su peso molecular, sirviendo para determinar de un modo sencillo el peso molecular de las proteínas (15), algo que en aquella época requería la técnica costosa de ultracentrifugación analítica.

Albrecht Kleinschmidt, famoso microscopista electrónico a quien se deben técnicas para visualizar DNA y proteína al micros-

copio electrónico. Su fotografía del DNA que se libera de la cabeza de un fago T2 por choque osmótico es, a decir de Ochoa, una de las más impresionantes en Biología Molecular.

Dan Lane, excelente científico, experto en la síntesis de los ácidos grasos, fue la persona con la que humanamente estábamos más identificados, llegando a hacernos muy buenos amigos.

En verano de 1974, 20 años después de su incorporación como Jefe del Departamento de Bioquímica, con 69 años, Severo Ochoa dejó la Jefatura del mismo. No quería ser Profesor Emérito y pidió a la Universidad que lo mantuviesen simplemente como Profesor de Bioquímica, lo que le concedieron. Pero en esa época le ofrecieron un puesto de Investigador Distinguido en el Instituto Roche de Biología Molecular en Nutley, New Jersey, lo que aceptó encantado. A Severo Ochoa le encantaba vivir en Nueva York por lo que no se trasladó a Nutley. Decía que el ir y venir todos los días de Nueva York a Nutley y viceversa era un bajo precio que tenía que pagar por vivir en Nueva York. Además, la ventaja es que iba y venía a contra corriente. Recuerdo una visita que le hicimos Eladio Viñuela y yo al Instituto Roche; nos pasó a recoger al hotel de Nueva York en su gran Cadillac. Severo era un amante de los coches.

Severo Ochoa pasó los últimos años de su vida en el Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" (CBMSO), que es un Centro mixto del Consejo Superior de Investigaciones Científicas y de la Universidad Autónoma de Madrid. El primer antecedente a la creación del CBMSO fue una reunión que mantuvieron en el año 1970 Manuel Lora Tamayo, ex-ministro de Educación y Ciencia, José Luis Rodríguez-Candela, Director del Instituto Gregorio Marañón del Centro de Investigaciones Biológicas, y Jesús García Orcoyen, Director General de Sanidad. Dicha reunión fue la catalizadora de la idea de crear un Centro avanzado de Biología Molecular en Madrid para atraer a Severo Ochoa a España tras su jubilación de la Universidad de Nueva York. Fruto de esta reunión

fue la creación de un Patronato presidido por Ochoa. En 1971 se constituyó un comité ejecutivo formado por Carlos Asensio, José Luis Canovas, Julio Rodríguez Villanueva, Eduardo Torroja, David Vázquez y Eladio Viñuela.

Aunque sin formar parte del comité ejecutivo, Javier Corral fue una de las personas que, junto a Eladio Viñuela, se dedicó intensamente al proyecto y a la construcción del CBMSO. Para ambos fueron años importantes, en los que un trabajo duro y constante dio un fruto excelente que se mantiene a lo largo del tiempo.

Una ayuda anual de cinco millones de pesetas de la Dirección General de Sanidad hizo posible afrontar los gastos iniciales del proyecto. Además, y gracias a la intervención de Ochoa, el comité de Intercambio Hispano Norteamericano concedió ayudas a lo largo de tres años por un total de 900.000 dólares. Con esta cantidad se adquirió el equipo inventariable que se incorporaría al Centro.

El Ministro de Educación y Ciencia, José Luis Villar Palasí, quien había apoyado con entusiasmo la creación del Centro, encargó el diseño del edificio al prestigioso arquitecto Cayetano de Cabanyes. Javier Corral, Eduardo Torroja, Eladio Viñuela y el propio arquitecto visitaron los principales Centros de Biología Molecular del momento y llegaron a la conclusión de que era necesario el asesoramiento por una consultoría especializada para el diseño de las instalaciones del Centro. Dicha asesoría se adjudicó a la consultora Haines, Lundberg y Waehler, quienes habían llevado a cabo el proyecto del Instituto Roche de Biología Molecular en New Jersey.

El Ministerio de Educación y Ciencia había asignado al proyecto 220 millones de pesetas pero, cuando se redactó el documento final el presupuesto fue de 300 millones de pesetas. Se iniciaron conversaciones con la Comisión Administradora del Descuento

Complementario del Instituto Nacional de Previsión, que más tarde se convertiría en el Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS), que concedió una ayuda anual de 25 millones de pesetas.

Tras un período de actividad febril se produjo un acontecimiento que afectó profundamente a Ochoa. Un artículo en un diario madrileño, firmado por el que después sería Ministro de Educación y Ciencia, Julio Rodríguez, criticaba la decisión del Gobierno de invertir en cerebros emigrados.

Por otra parte, se conoció que Villar Palasí podía cesar en breve, por lo que se trabajó intensamente para presentar el proyecto oficial del CBMSO en la Dirección General de Programación e Inversiones del Ministerio de Educación y Ciencia, lo que se hizo dos días antes de que Villar Palasí fuese sustituido por Julio Rodríguez, poco antes del verano de 1973. Ello hizo que el proyecto del Centro quedase congelado.

La muerte de Carrero Blanco trajo consigo un nuevo cambio de Gobierno a finales de 1973. Cruz Martínez Esteruelas es nombrado Ministro de Educación y Ciencia, y Eladio Viñuela tiene una reunión con él para intentar relanzar el proyecto del CBMSO, idea que es acogida con interés por el nuevo Ministro. Por otra parte, Federico Mayor Zaragoza, Catedrático de Bioquímica de la Universidad Autónoma de Madrid, es nombrado subsecretario del Ministerio de Educación y Ciencia. Con todo ello, el proyecto de creación del CBMSO renació.

Sin embargo, el proyecto contaba sólo con 180 millones de pesetas, lo que hacía imposible la construcción de un edificio independiente. Por ello, se remodelaron unos edificios de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Madrid cedidos por el Decano de dicha Facultad, José Ignacio Fernández Alonso. El espacio sería muy inferior al previsto en el proyecto original, lo que exigió una reducción en la plantilla prevista y seleccionada por Severo Ochoa y Eladio Viñuela.

Por tanto, hubo que modificar el proyecto inicial. El arquitecto Cabanyes había fallecido y con los 14 libros de especificaciones técnicas que se habían entregado al Ministerio de Educación y Ciencia se formuló el nuevo proyecto. Se trabajó muy duramente durante dos años para que ese edificio reuniera todos los requisitos de un centro moderno de investigación. Se realizó un seguimiento exhaustivo de las obras cuidando hasta el más mínimo detalle, lo que pudo hacerse gracias a que se contaba con un excelente equipo técnico de mantenimiento, dirigido por Juan Antonio Manzanares.

El Centro de Biología Molecular «Severo Ochoa» se inauguró oficialmente en Septiembre de 1975 por sus Majestades los Reyes, entonces Príncipes de España, coincidiendo con la celebración del 70 aniversario de Severo Ochoa, con un Simposium en el que participaron un gran número de amigos, colegas y discípulos, tanto de España como del extranjero. Entre ellos se encontraba Arthur Kornberg quien, junto con otros colegas, editó un libro titulado «Reflections in Biochemistry» (8) en el que participaron los científicos que habían intervenido en el Simposium. La cubierta del libro fue un dibujo de Salvador Dalí preparado para conmemorar tan memorable ocasión.

Desde mediados de 1977, fecha en que se finalizaron las nuevas instalaciones del Centro de Biología Molecular, Severo Ochoa compartió sus actividades en el Instituto Roche de Biología Molecular en New Jersey con sus estancias en el Centro de Biología Molecular en Madrid, donde dirigía un grupo de investigación sobre los mecanismos de iniciación de la biosíntesis de proteínas en colaboración con sus anteriores discípulos José Manuel Sierra y Cesar de Haro. En el Centro de Biología Molecular, Severo Ochoa ocupaba, al lado de su laboratorio, el despacho que él eligió, sobrio y sencillo, como él era. En este despacho, que seguirá siendo siempre el despacho de Severo Ochoa en el Centro de Biología Molecular, él se reunía con sus colaboradores a discutir el trabajo de investigación que se realizaba en su laboratorio, recibía a todas las personas que pedían su ayuda y consejo y, ayudado por su leal



secretaria Charo Martín, despachaba los numerosos asuntos que requerían su atención.

En 1985 Severo Ochoa se volvió definitivamente a España, al Centro de Biología Molecular «Severo Ochoa», en el que hemos disfrutado a diario con su presencia y sus consejos y al que ayudó con todas sus energías, como lo reflejan las importantes ayudas institucionales concedidas al Centro de Biología Molecular, en un principio por el Fondo de Investigaciones Sanitarias y posteriormente, desde 1988, por la Fundación Ramón Areces, ayuda que es esencial para el mantenimiento del Departamento Técnico del Centro. Severo Ochoa ha sido para el Centro de Biología Molecular un punto de referencia, un ejemplo y un estímulo continuo para realizar siempre más y mejor investigación.

Desgraciadamente, pocos meses después de su vuelta a España, falleció Carmen, su mujer, a quien Ochoa adoraba y quien había sido un apoyo muy importante en su vida. Ochoa nunca se recuperó de la pérdida de su mujer, a pesar del cariño que recibió de su familia, sus amigos y sus discípulos.

Además de su papel esencial en la creación y desarrollo del Centro de Biología Molecular, Severo Ochoa puede considerarse el padre de la Biología Molecular en España ya que, directa o indirectamente, ha formado a un gran número de investigadores en este campo, estimulando siempre el desarrollo de la investigación en este área. Los investigadores que se formaron en el laboratorio de Ochoa han sido, por orden cronológico: Santiago Grisolia, Castro Mendoza, Concepción García Pineda, Francisco Alvarado, Carlos Elorriaga, Eladio Viñuela, Margarita Salas, Antonio Sillero, M<sup>a</sup> Antonia Gunther, José Miguel Hermoso, José Manuel Sierra, Cesar Nombela, Nohelly Arrieta y Cesar de Haro. Hoy día podemos hablar, no solamente de los discípulos de Severo Ochoa, sino también de los discípulos de éstos, e incluso de los discípulos de los últimos. Es decir, tres generaciones de investigadores españoles han tenido a Severo Ochoa como maestro, de un modo directo o

indirecto. Además, Severo Ochoa jugó un papel importante en la creación de la Sociedad Española de Bioquímica en 1963, hoy Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular, con su apoyo y participación en la primera reunión de bioquímicos españoles celebrada en Santander en 1961, donde se gestó la creación de la Sociedad, así como con su continuada asistencia a los Congresos de Bioquímica organizados por la Sociedad. Fue de especial importancia el apoyo que prestó Ochoa en la organización del VI Congreso de la Federación Europea de Bioquímica celebrado en Madrid en 1969 y que marcó un acontecimiento de especial relevancia en la historia de la Bioquímica de nuestro país. También cabe destacar las conferencias que impartió Ochoa durante varios cursos en la Sociedad de Estudios y Publicaciones, dirigida por Xavier Zubiri, tituladas «La base química de la herencia» que despertaron numerosas vocaciones entre los jóvenes para estudiar biología.

Severo Ochoa es, sin duda, el ejemplo de una vida dedicada a la investigación, quien ha tenido la Bioquímica como «hobby» y ha ido siempre a la búsqueda de ese «hobby». Sin embargo, quisiera también recordar al Severo Ochoa amante de la cultura, de las artes y de la música, quien se extasiaba al contemplar los frescos de Goya de la Capilla de San Antonio de la Florida, a la que consideraba la Capilla Sixtina española, o al escuchar los cuartetos de Beethoven o Don Giovanni de Mozart, cuya partitura se sabía de memoria. En esta última faceta de amante de la música de Severo Ochoa ha sido un privilegio para Eladio Viñuela y para mi acompañarle al Auditorio Nacional a los magníficos conciertos de la Universidad Autónoma organizados por José Peris, amigo entrañable, muy querido por Severo Ochoa.

A pesar de su gran prestigio y relevancia como investigador, Severo Ochoa era una persona enormemente sencilla, quien siempre estaba dispuesto a atender a todos los que se acercaban a él y a quitarle importancia a sus méritos y al hecho de haber obtenido el Premio Nobel. En una entrevista que le hicieron en la última

etapa de su vida, le preguntaron cómo le gustaría que le recordasen, a lo que él contestó que como hombre tolerante y bueno, que es lo que creía que había sido. Como hombre tolerante y bueno, como gran investigador y como gran maestro siempre recordaremos a Severo Ochoa.

El 1 de noviembre de 1993 el mundo entero perdió un gran investigador, un gran maestro y una gran persona. Sus restos descansan junto con los de su mujer, Carmen, en el cementerio de Luarca, con una impresionante vista hacia el mar.