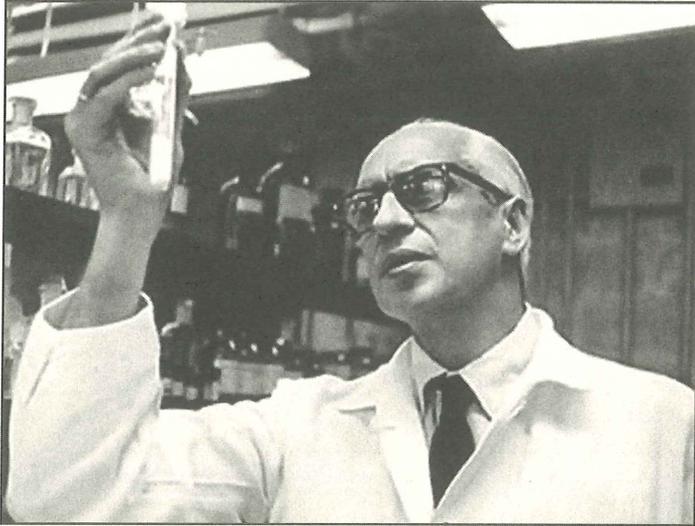
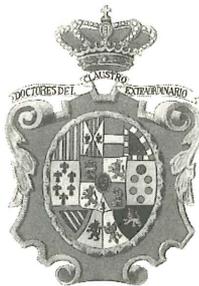


REAL ACADEMIA DE DOCTORES  
DE ESPAÑA

SECCIÓN DE MEDICINA



**Homenaje a Severo Ochoa**  
**Premio Nobel de Medicina, 1959**



MADRID  
MMVIII

La edición de la presente obra ha sido posible gracias  
a la colaboración de la Fundación BBVA.

ISBN: 978-84-691-4677-4

Depósito legal: M. 32.716-2008

Impreso en Realigraf, S. A.

Pedro Tezano, 26

28039 Madrid

## SUMARIO

<b>Dr. Jesús Martínez-Falero</b> «Severo Ochoa. Premio Nobel de Medicina Año 1959 .....	5
<b>Dr. Benjamín Fernández Ruiz</b> «Etapa de la Facultad de Medicina, Profesor de la Cátedra de Fisiología» .....	11
<b>Dr. Pedro García Barreno</b> «Severo Ochoa de Albornoz (1905-1993): de 1936 a 1964».	21
<b>Dra. Margarita Salas</b> «Severo Ochoa: Vivencias personales en Nueva York y en Madrid» .....	47



## SEVERO OCHOA. PREMIO NOBEL DE MEDICINA AÑO 1959

Dr. JESÚS MARTÍNEZ-FALERO

Severo Ochoa fue Premio Nobel de Medicina el año 1959, y aunque por circunstancias administrativas figure en la nómina de los Estados Unidos porque estaba nacionalizado allí, Severo Ochoa es español auténtico y genuinamente asturiano, nacido en Luarca, como el siempre proclamaba.

Nosotros, a más de cuarenta años, hoy en la Real Academia de Doctores de España y desde la sección de Medicina vamos a recordar la gigantesca figura de Severo Ochoa, científico universal, y parafraseando cuando él decía «la emoción de descubrir», que glosa Marino Gómez Santos en su libro y en el relato extraordinario que titula: *Carta a Severo Ochoa*, ahora decimos «la emoción de sentir» muy cerca esta tarde a Severo Ochoa, médico científico español que tanta gloria nos ha dado con sus descubrimientos, que fueron más que suficientes para obtener el Premio Nobel de Medicina.

Para esto celebramos esta Mesa Redonda\*, en la que van a intervenir los profesores Margarita Salas, Pedro García Barreno y

---

\* 23 de mayo de 2007.

Benjamín Fernández, que, junto conmigo, nos encargaremos de señalar las diversas facetas de la personalidad científica y humana de don Severo, que precisaremos al inicio de la disertación de cada uno de los ponentes.

Como introducción, yo haré una exposición de aspectos generales para que sea como un cañamazo, sobre el que después van a tejer los participantes la parcela que tienen encomendada, para definir así el perfil del personaje que vamos a glosar.

Severo Ochoa nace en Luarca (Asturias) el 24 de septiembre de 1905; un año después a Ramón y Cajal le otorgan el Premio Nobel de Medicina.

Severo Ochoa vive en el seno de una familia acomodada, bien relacionada económica y socialmente. Su tío, hermano de su madre, Álvaro de Albornoz, fue ministro durante la segunda república española, en las carteras de Fomento y Justicia, y posteriormente embajador en Francia, y terminada la guerra civil, Presidente del Gobierno republicano en el exilio, año 1945-46.

Es de sobra conocido que Severo Ochoa fue alumno del profesor Negrín durante 1924-25 y fue profesor auxiliar en su Cátedra de Fisiología en los cursos 1931 a 1934. En 1935, por ofrecimiento de Jiménez Díaz, pasa a dirigir la sección de Fisiología en el Instituto de Investigaciones Médicas, en la Ciudad Universitaria, separándose de Negrín, que posiblemente se sintió molesto y fuera la causa por la que no ayudó a Ochoa en las oposiciones a Cátedra.

A pesar de todo, siempre había anunciado don Severo que no tenía gran interés por la docencia, lo que a él le gustaba era investigar.

Parece que en principio Negrín apoyaría a Ochoa y pensamos si sería porque tuvo en cuenta factores políticos; Ochoa era sobrino, como hemos dicho, de Álvaro de Albornoz; que un hermano

de Severo había sido alcalde republicano en Luarca, ambos de fuerte compromiso socialista y también antecedentes sociales, como pertenecer a una familia de bonanza económica, ya que poco antes de iniciarse la guerra civil española, su hermana, Carmen Ochoa, acababa de regresar de Puerto Rico para liquidar los intereses económicos que tenía allí la familia, lo que le proporcionó a don Severo disponer de cierta cantidad de dinero para vivir fuera de España. Otro aspecto que tuvieron en cuenta, por qué no decirlo, fue su condición de hombre agnóstico y de ideas socialistas.

El caso es que una vez rotas las relaciones con Negrín y con un salvoconducto especial firmado por el catedrático, Ochoa sale con su esposa, Carmen, en septiembre de 1936, haciéndolo por Barcelona, cuando llevaba en el cinturón un cheque por valor de siete mil dólares.

Los avatares que siguió el matrimonio desde que salieron de España serán descritos por otro ponente; nosotros sólo diremos que en 1940 Ochoa marcha a Estados Unidos, donde desarrolla su principal actividad científica, que ya nos glosará la doctora Margarita Salas, discípula eminente de Severo Ochoa, y nos relatará cómo llegó a ser Premio Nobel de Medicina en 1959, que compartió con su colaborador Arthur Kornberg.

En la personalidad de Severo Ochoa siempre estaba presente el interés por la investigación, y así queda de manifiesto la «emoción de descubrir» que iba sintiendo cada vez que hacía algún descubrimiento, hasta que llegó al cenit con las investigaciones sobre el ácido ribonucleico, que sumadas a la anteriores, como se dirá a lo largo de esta mesa redonda, culminaron con la concesión del Premio Nobel.

Terminada su tarea en Estados Unidos, el reconocimiento científico con el Premio Nobel, los «honoris causa» de diversas Universidades y numerosos homenajes por su prestigio internacional, el matrimonio Severo-Carmen, se plantea el retorno a España.

Según manifestaciones de Severo Ochoa, parece ser que la decisión partió de Carmen, su mujer, que, como siempre, tomaba las iniciativas y el no las discutía, aunque don Severo reconocía que abandonar la ciudad donde había realizado sus mayores descubrimientos iba a influir grandemente en su estado de ánimo; por el momento era un ciudadano norteamericano más y recordaba como fue acogido con cariño y respeto. De todos modos, en su propósito estaba presente que con el regreso a España él quería contribuir al progreso de la ciencia y de la investigación en nuestra patria. Se preocupaba de la situación científica y tenía en su mente que desde el año 1945 habían contribuido a sus trabajos en el laboratorio investigadores españoles de prestigio, como Santiago Grisolia, Margarita Salas, César Nombela, por citar los de mayor renombre.

Don Severo tenía un espíritu soñador, se definía como «quijote de la ciencia», y en su retorno, desde su residencia en España, recordaba con nostalgia los años vividos en la casa de Nueva York en la Calle 72.

Un hecho trascendental en esta época de su vida es la muerte repentina de Carmen, que le produjo un estado de depresión del que le costó mucho salir. Buscó en la soledad el aislamiento para recordar constantemente a su mujer, su colaboradora más esencial.

Marino Gómez Santos, entrañable amigo durante veinte años, lo acompañaba muy frecuentemente y cuenta en su libro esta simpática anécdota. Estaban en Valencia y se disponían para ir a la casa de Santiago Grisolia. Don Severo conducía el automóvil, como siempre hacía hasta los 87 años, y comentaba que la calle de Grisolia está por esta zona, donde han puesto una con mi nombre. En ese momento le preguntó a una joven que cruzaba la calle, con un niño de la mano, si iba bien encaminado para la calle Severo Ochoa. La señora le contestó: «Está usted en ella». Y cuando lo reconoció le dijo al niño: «Este señor tan simpático me pregunta por la calle Severo Ochoa y resulta que es él mismo».

También cita el referido biógrafo, cuando la Real Academia Nacional de Medicina le designó Miembro de Honor. En ella pronunció una conferencia y escogió el tema, «El código genético». Terminada la sesión pasó a saludar a los Reyes, que habían presidido el acto, y D. Juan Carlos le dijo: «Don Severo, perdóname, pero no he entendido ni una palabra». La respuesta fue espontánea: «Majestad, no tiene por qué disculparse, ya que la mayoría de las personas asistentes al acto tampoco han entendido nada».

Nos vamos a acercando al final de mi recordatorio, la salud de don Severo se deterioraba, la pena hacía mucha mella en su carácter. Siempre en momentos críticos, su amigo entrañable Marino se encontraba presente y una tarde lo tuvo que llevar a la Fundación Jimenez Díaz, donde el doctor Alfonso Merchante cuidaba sus dolencias. En esa ocasión el doctor Pedro Rábago, exploró su corazón que empezaba a flaquear. La figura erguida, espigada, de alta estatura, elegante, con la frente muy despejada y abundante cabellera de nítido color blanco, estaba abatida. Con su espíritu sereno pero muy triste desde la muerte de su esposa, su corazón cansado dejó de funcionar.

Su cuerpo descansa en paz en el mausoleo familiar del cementerio de Luarca, mirando al mar que contemplaba en sus excursiones.

Siempre nos complace contemplar la figura de la estatua colocada en la Ciudad Universitaria, que podemos ver desde las aulas de la Facultad de Medicina, donde con la «emoción de sentir» su persona, recordamos la gigantesca figura del Premio Nobel de Medicina. Se trata de un bronce que presenta un escorzo del busto en el que se contempla la cabeza con la frente espaciosa con abundante cabellera; el rostro tiene los perfiles bien definidos, con pómulos salientes y boca con labios carnosos. En el pedestal una placa que dice: «Homenaje al Premio Nobel Severo Ochoa, alumno y profesor de la Universidad Complutense, inaugurado por los Reyes. Julio 1992». El escultor es Víctor Ochoa.

Nos complace mucho, que hemos visto en la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense, una exposición: «Severo Ochoa un científico apasionado», para conmemorar su figura. Es una coincidencia porque cuando organizamos esta Mesa Redonda no teníamos conocimiento del hecho, que fue ideado por la Fundación Carmen y Severo Ochoa. Yo la he visto, y allí con imágenes en video de Margarita Salas, César Nombela y Santiago Grisolia, además de numerosas fotografías, recordaban cómo don Severo Ochoa, científico investigador en esencia, sin mixtificación, con pureza diamantina, les dice a los jóvenes universitarios.

«Si os apasiona la ciencia, haceros científicos. No penséis lo que va a ser de vosotros. Si trabajáis firmes y con entusiasmo, la ciencia llenará vuestra vida».

¡Qué frases tan hermosas dijo don Severo!

Queda para la posteridad y para el progreso de la ciencia española la Fundación que lleva su nombre y el de su esposa, Severo y Carmen, y el deseo que nuestra investigación, con las personas, algunas de las cuales nos honran con su presencia y otras más, la ciencia española se pueda encontrar incorporada entre los países desarrollados que están a la cabeza.

## ETAPA DE LA FACULTAD DE MEDICINA, PROFESOR DE LA CÁTEDRA DE FISIOLOGÍA

Dr. BENJAMÍN FERNÁNDEZ RUIZ

Una vez más, la demostrada eficacia y capacidad organizativa del querido Doctor Jesús Martínez-Falero, Presidente de la Sección de Medicina de esta Real Academia, ha logrado reunirnos para rendir homenaje a nuestro Premio Nobel Don Severo Ochoa al igual que hicimos, por idéntico motivo, con Don Santiago Ramón y Cajal.

**Sellos conmemorativos del 2003 de  
nuestros Nóbeles científicos**



Santiago Ramón y Cajal  
1906

Severo Ochoa  
1959

El acto, tal y como ha explicado el Dr. Martínez-Falero, va a estar dividido en tres intervenciones, según las distintas etapas de la vida del reconocido sabio. La primera, que es la que me corresponde, abarca desde su nacimiento hasta

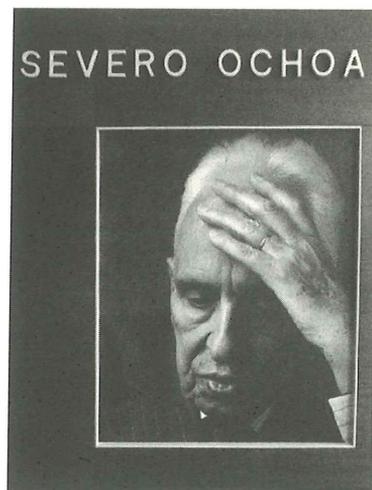
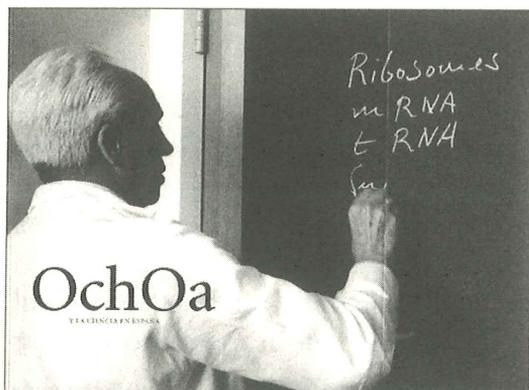
el comienzo de la nefasta guerra civil, incluyendo sus estudios de Medicina y sus primeras actividades docentes e investigadoras.

La segunda, que expondrá el Dr. García Barreno, versará sobre las estancias, con sus correspondientes logros científicos, en los laboratorios de distintos países tales como Alemania, Inglaterra e inicios en Estados Unidos. La tercera, estará referida a sus aportaciones científicas que le hicieron acreedor del Premio Nobel, será expuesta por una de sus discípulas directas, la Dra. Margarita Salas.

En mi exposición trataré de hacer una breve biografía de Don Severo en su primera etapa vital y, al mismo tiempo, referirme a personas como el Dr. Negrín o instituciones como la Institución Libre de Enseñanza o la Residencia de Estudiantes, que marcaron la personalidad de nuestro Nobel. He utilizado diferentes textos para preparar la intervención, pero deseo destacar dos obras que considero fundamentales y quiero que el respetable público conozca, una es la titulada «*Cajal-Ochoa, Nobeles españoles, de la neurona al ADN*» escrita la parte relativa a Ochoa por Maria Jesús Santesmasés y por Alfredo Baratas la relativa a Don Santiago. La otra, se trata de un magnífico libro-catálogo titulado «*Ochoa y la Ciencia en España*», editado, en el 2005, con motivo de la exposición en conmemoración de los cien años de su nacimiento. En ésta «opera magna» intervienen las ya citadas Margarita Salas y Maria Jesús Santesmasés, y además Emilio Muñoz, Joseph Lluís Barona, César Nombela, Santiago Grisolia, Antonio Sillero, María Antonia Günther, Federico Mayor Zaragoza, Julio Rodríguez Villanueva, César de Haro y Carlos López Otín.

Don Severo nació en Luarca (Asturias) en 1905, el 24 de septiembre, siendo el hijo menor de Carmen de Albornoz y Severo Ochoa Pérez. Únicamente la hija mayor, Dolores, y el menor, Severo, nacieron en Asturias; el resto de los hijos nacieron en Puerto Rico. Fueron siete hermanos, pero Cándida y Concha murieron a temprana edad. Por razones profesionales el padre, acreditado abogado, emigró y se dedicó a lucrativos negocios hasta que decidió regresar a su tierra natal, instalándose en Gijón, en donde murió en 1912.

## Portadas de libros homenaje



Una vez viuda, D.<sup>a</sup> Carmen, y debido a su delicado estado de salud, decide trasladarse a vivir al sur de España, en donde el clima es más cálido, y concretamente a Málaga. Severo estudia, inicialmente en el colegio de los Padres Jesuitas por poco tiempo y posteriormente se matriculó en el Instituto de Enseñanza Media, en donde concurrieron dos circunstancias importantes en su devenir. Allí tuvo como Profesor de Ciencias a Don Eduardo García Rodeja, quien le motivó en su afición por el estudio de las Ciencias Naturales, sobre todo en los aspectos biológicos, es decir curiosidad por todos los fenómenos característicos de los seres vivos. Entabló amistad con José García Valdecasas, con quien más tarde se encontraría en la Facultad de Medicina de Madrid y con quien siempre mantuvo una excelente relación.

Al terminar sus estudios de bachillerato, trató en principio de matricularse en la Universidad en estudios de Ingeniería industrial, pero pronto desistió y se decidió por hacer la carrera de Medicina en Madrid, matriculándose en el año 1923.

En el segundo curso de la carrera se impartía la asignatura de Fisiología humana, cuyo Catedrático Numerario era el Profesor Doctor Don Juan Negrín López. Me van a permitir ustedes que dedique unas líneas a este personaje que tan gran influencia tuvo en el devenir investigador de Don Severo.



Juan Negrín López (1892-1956)

El Profesor Negrín (1892-1956) era natural de Las Palmas de Gran Canaria, por tanto «canarión», como denominan los nacidos en otras islas canarias a los de Las Palmas. Nació el 3 de febrero de 1892. Su familia tenía un alto nivel económico, lo que le permitió costear sus estudios de Medicina en Alemania, fundamentalmente en Leipzig, en donde, tras licenciarse, realizó el doctorado y desempeñó algunos puestos docentes, como ayudante del famoso Dr.

Brücke. En cuanto a la investigación, dio sus primeros pasos en el estudio de las glándulas suprarrenales, y más concretamente sobre los aspectos fisiológicos de la adrenalina, sustancia segregada por las células cromafines de la médula de dichas cápsulas.

En 1914 se casó con María Fidelman Brodsky, pianista e hija de una familia acomodada rusa exiliada, con residencia en Holanda.

Debido al desarrollo que iba tomando la primera guerra mundial, Negrín decidió, en 1915, venir a Madrid, en donde la Junta para la Ampliación de Estudios había creado un laboratorio de Fisiología y cuya dirección le había ofrecido, dado ya su prestigio inicial. El año 1922, cuando Don Severo cursaba primero de Medicina, Don Juan Negrín obtenía la cátedra de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Madrid. Joseph Luis Barona, en su libro *«Medicina y compromiso. Achúcarro, Marañón y Negrín»*, publicado por la editorial Nivola en el 2001, destaca la

intensa actividad política del Dr. Negrín, que ingresó en el Partido Socialista Obrero Español durante la dictadura de Primo de Rivera y fue diputado por Las Palmas desde 1931; ocupó su escaño en las tres legislaturas republicanas. Durante la guerra civil, fue nombrado Ministro de Hacienda en el gobierno de Largo Caballero y, más tarde, Presidente del Gobierno republicano en sustitución de Azaña, hasta que la sublevación del coronel Casado provoca la salida hacia el exilio del Prof. Negrín. Inicialmente se instaló en Londres y, tras una serie de conflictos con otros exiliados que se instalaron en Méjico, decidió irse a vivir a París, en donde murió el 12 de noviembre de 1956.

De nuevo vuelvo a centrarme en la figura que nos ocupa, nuestro Premio Nobel Don Severo Ochoa. Tras las vacaciones de verano del año 1925, y dado el excelente resultado que en el examen de Fisiología había obtenido Don Severo, el Catedrático Dr. Negrín le ofreció la posibilidad de trabajar en su casi recién estrenado laboratorio. Conviene señalar que, bajo la dirección de Negrín, se había constituido un extraordinario equipo de colaboradores científicos que, con el tiempo, destacaron como prestigiosos científicos. De esta escuela de Fisiología hay que destacar a su paisano, el Doctor José Hernández Guerra del cual hablaremos mas adelante ya que fue el guía inicial en las primeras investigaciones de Don Severo; el Doctor José María Corral García, que llegó a Catedrático en la Universidad de Santiago; el Doctor José Puche Alvarez, Catedrático de Fisiología en las Universidades de Salamanca y Valencia sucesivamente; el Doctor Rafael Méndez Martínez, igualmente Catedrático en la Universidad de Cádiz; de la Universidad de Valladolid fue Catedrático el Doctor Ramón Pérez Cirera, y además Francisco Grande Covián, Pedro Barreda, José María Valdecasas y Severo Ochoa.

Los primeros trabajos de Ochoa, aún siendo estudiante, los realizaba junto a su compañero Valdecasas y bajo la dirección directa del Dr. Hernández Guerra, que estudiaba en aquel entonces los fenómenos relacionados con la contracción muscular. Una

de sus primeras investigaciones fue sobre la creatina que se producía tras una estimulación reiterada del nervio ciático de las ratas.

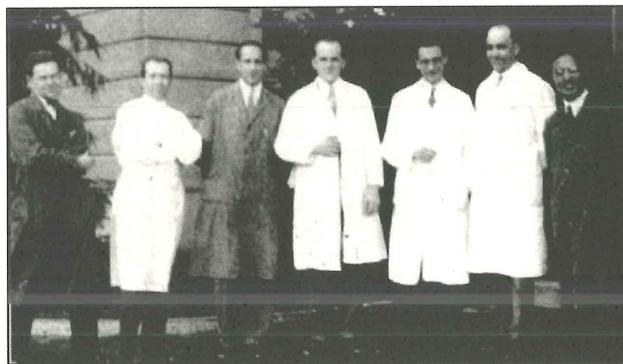
En Glasgow trabajaba el Dr. Patton, especialista en todo lo relativo a la fisiología química muscular y, en el verano de 1927, tras la muerte de su madre y con permiso de su hermano Luis, se dirigió al laboratorio de dicho doctor, con quien presentó algunos resultados de sus investigaciones en la Royal Society londinense, una de las sociedades científicas mas prestigiosas.

Pese a su condición aún de alumno, el Profesor Hernández Guerra solicitó de Ochoa su colaboración para la publicación de un libro de prácticas de Fisiología para uso de los estudiantes de Medicina que se titulaba *Elementos de Bioquímica*.

En 1928 obtuvo el título de Licenciado en Medicina por la Universidad de Madrid y, ese mismo verano, se desplaza al laboratorio del famoso Dr. Otto Meyerhof, en Dahlem (Alemania).

Al año siguiente fue nombrado Profesor Auxiliar de Fisiología. En el verano del 29 realizó un inolvidable viaje, que se inició con su asistencia al XIII Congreso Internacional de Fisiología celebrado en Boston y se prolongó visitando distintos laboratorios

### En el Laboratorio de Meyerhof, Alemania 1929



F. Lipmann, D. Nachmansohn, S. Ochoa y otros .....

norteamericanos, que le produjeron un gran impacto. A finales de ese mismo año solicitó una beca para trabajar de nuevo con Meyerhoff, le fue concedida y se trasladó a Berlín y a Heidelberg durante más de un año, en donde residía el sabio alemán. Hay una fotografía que aparece en todas las biografías sobre Don Severo, realizada en el laboratorio de Meyerhof, en Alemania, en 1929, en la que figuran los prestigiosos científicos Lipman, Nachmansohn, Schmitt y Ochoa entre ellos.

El Dr. Meyerhoff sugirió a nuestro Premio Nobel que estudiase los efectos de la insulina en la contracción muscular y en ello puso todo su empeño, si bien en mi opinión ya se empieza a vislumbrar el paso desde la Fisiología clásica hacia la Bioquímica más moderna.

Regresa a Madrid en 1930 y, junto a Grande Covián, estudia la posible relación entre las glándulas suprarrenales y la contracción muscular, tema en el que estaba particularmente interesado el Catedrático Profesor Negrín, dedicado al estudio de la adrenalina.

Dado que en los sótanos de la Residencia de Estudiantes se encontraban las instalaciones del laboratorio de Fisiología y en la parte superior la Residencia propiamente dicha, con su enorme prestigio intelectual, Don Severo optó por abandonar las tradicionales pensiones de estudiantes e instalarse allí.

Al igual que anteriormente me permití una disquisición sobre la figura del Profesor Negrín, igual voy a hacer ahora en relación con la Residencia de Estudiantes. La desastrosa situación de España en 1898, con la pérdida de sus últimas colonias, provocó en la sociedad una reacción que promovió la creación del Ministerio de Instrucción Pública y Bellas Artes. Dicho Ministerio patrocinó la fundación de la llamada Junta de Ampliación de Estudios (JAE). La Junta recibió su apoyo intelectual en las ideas geniales de Francisco Giner de los Ríos quien, curiosamente, defendía las mismas ideas que se están utilizando hoy día acerca de la necesidad de acercarnos a Europa si queremos salir de nuestro atraso intelectual.

tual. Para ello, uno de los procedimientos que apoyaba la Junta era, por un lado, la contratación de Profesores de distintas universidades europeas para dar cursos en España y, por otra parte, proporcionar becas para que los jóvenes licenciados fueran a formarse a laboratorios extranjeros. Durante un tiempo se conocía a la JAE como la Junta de Pensiones. Para hacernos una idea de la categoría científica de esta institución, sepan ustedes que, desde su fundación en 1907, fue su Presidente Don Santiago Ramón y Cajal y secretario D. José Castillejo, la mayor parte del período de funcionamiento de esta institución.

La JAE fue la promotora de una serie de instituciones y centros docentes e investigadores, entre los que destacamos: la Residencia de Estudiantes, el Instituto Escuela, el Centro de Estudios Históricos y el Instituto Nacional de Ciencias Fisico-Naturales.

La Residencia de Estudiantes pretendía crear un ambiente propicio para el desarrollo integral de los jóvenes universitarios, completando su formación mas allá de la meramente académica adquirida en las aulas. Por la Residencia pasó, y siguen pasando, grandes intelectuales que con sus conferencias, trato e incluso discusiones dejaban su impronta en los jóvenes residentes. Tal fue el caso de Don Severo que durante su estancia como residente tuvo la ocasión de conocer a García Lorca, Buñuel o Dalí. Allí dieron conferencias Howard Carter, Albert Einstein, Marie Curie... La atmósfera artística y cultural que se respiraba en la Residencia influyeron notablemente en la afición que, durante toda su vida, demostró Don Severo por la música y la pintura.

Dejamos aparte esta digresión y volvamos a la biografía de la primera etapa de Don Severo Ochoa. El enlace lo podemos encontrar en que, en el año 1931, la Junta para la Ampliación de Estudios le concedió una beca para investigar en los Estados Unidos, a la cual renunció, entre otros motivos personales porque había obtenido la plaza de profesor Adjunto de Fisiología y porque había decidido contraer matrimonio con Carmen García Cobián,

con quien convivió en la famosa Casa de las Flores, situada en el barrio de Argüelles-Moncloa. Las familias de ambos, de origen asturiano, se habían conocido durante su estancia en Puerto Rico.

Al poco tiempo del regreso definitivo de Ochoa a España, en 1988, fallece Carmen, y desde entonces Don Severo se sintió abatido porque, para él, ella era su estímulo y su todo, no tuvieron hijos.

En 1933 se le concede una beca para trabajar en Londres con el famoso fisiólogo Henry Dale y su ayudante Harold Dudley en el National Institute for Medical Research. En este laboratorio Ochoa da un giro en su investigación habitual y se inicia, con la dedicación entusiasta que ponía en sus acciones, en el estudio de la enzimología.

Al año siguiente, 1934, presenta en Madrid su Tesis Doctoral titulada «*Los hidratos de carbono en los fenómenos químicos y energéticos de la actividad muscular*».

El prestigioso Doctor Don Carlos Jiménez Díaz, Catedrático de la Facultad de Medicina de Madrid, había fundado en la Ciudad Universitaria el llamado Instituto de Investigaciones Médicas y nombra como director del laboratorio de Fisiología a Don Severo Ochoa. Carmen, su mujer, trabajaba como enfermera auxiliar en el Hospital de Chamartín, también dirigido por Jiménez Díaz.

Vimos con anterioridad como gran parte de los compañeros de Don Severo que trabajaban con el Dr. Negrín acabaron como Catedráticos de Fisiología en distintas universidades españolas. Pues bien, en el curso 1935-1936 se habían convocado oposiciones a cátedra para la Facultad de Medicina de Santiago de Compostela. Don Severo no estaba demasiado animado a presentarse pero el Dr. Negrín le animó, con lo cual no tuvo mas remedio que acceder. Y cual no sería su sorpresa, disgusto y desengaño cuando vio que la plaza fue para otra persona, a pesar de que en el tribunal se encontraban el propio Negrín y su gran amigo García Valdecasas.

No había duda de que el mejor candidato era Ochoa, pero también aspiraba a la plaza el hijo del catedrático de Fisiología en la Universidad de Barcelona, el Dr. Augusto Pi Sunyer, y qué quieren que les diga que ustedes no sepan. Así fueron las cosas y lamentablemente así siguen sucediendo. El resultado fue que jamás Don Severo volvió a presentarse para Catedrático de Universidad, lo que pasado el tiempo me permite pensar que a lo mejor fue una suerte para él y para la ciencia.

Ya en 1936 se inicia la Guerra Civil y aquí dejo paso a la intervención de mi querido compañero de la Real Academia de Doctores, el Dr. Pedro García Barreno, quien nos expondrá el periplo científico de Don Severo desde el inicio de la guerra hasta su estancia definitiva en los Estado Unidos.

## SEVERO OCHOA DE ALBORNOZ (1905-1993): DE 1936 a 1964

DR. PEDRO GARCÍA BARRENO

### Años de guerra

Una vez tomada la decisión de marcharse fuera de España —según las propias palabras de Severo Ochoa: «No había en la España de entonces, aún sin guerra, la posibilidad de hacer la clase de ciencia que yo soñaba hacer»—, Ochoa se presentó al Dr. Juan Negrín, entonces Ministro de Hacienda, quien consideró justificada su marcha y le dio un «papelito» que decía «Misión especial». Entonces, cuenta Ochoa, comenzó su odisea; era septiembre de 1936. Desde Valencia, el matrimonio Ochoa partió en tren a Barcelona, donde se alojó en un «hotelucho» en el que había mucha gente que tenía el mismo «papelito» y que, según dijeron, no había servido para nada. Muchos llevaban meses intentando salir de España. A la mañana siguiente, Severo y Carmen García Cobián se dirigieron al edificio donde se obtenían los permisos de salida, encontrándose con una larguísima cola. Severo, muy disciplinado, fue a ponerse al final de la misma, pero Carmen, mucho más decidida, se dirigió a un individuo «mal encarado» que parecía ser el vigilante de aquella aglomeración. Cuenta Severo que la belleza

de Carmen debió impresionarle; la dijo que fuese a otro despacho y preguntase por otro camarada. A decir de Ochoa, la cosa «pitó» —que las cosas pitaran o no, era una expresión utilizada frecuentemente por Ochoa cuando hablaba en español—, y al cabo de poco tiempo consiguieron su pasaporte autorizándoles a pasar a Francia. Como la posibilidad de cruzar la frontera en tren era prácticamente nula, tuvieron la suerte de poderse embarcar en un barco francés enviado por aquel gobierno para sacar de España a unas monjas, llegando de esa manera a Marsella.

Con todo, la marcha del matrimonio Ochoa al extranjero fue posible por una circunstancia afortunada. Dos semanas antes del comienzo de la guerra civil había regresado Carmen de Puerto Rico, donde había ido para tratar de cobrar una deuda familiar: 7000 dólares, una cantidad importante para la época. Sin ese dinero habría sido muy difícil la marcha de España y poder subsistir en el extranjero. Antes de embarcar para Marsella fueron sometidos a una rigurosa inspección, pero Carmen había ocultado el cheque correspondiente en el interior de un cinturón de cuero que recosió sin que se notase nada.

Cuenta Ochoa que la alegría de verse en el barco hizo que tararease una y otra vez «Las Bodas de Fígaro» de Mozart, probablemente debido a que dicha música es muy alegre. Desde Marsella marcharon a París donde permanecieron un mes en la Casa de España de la Ciudad Universitaria, invitados por el director de la misma, Ángel Establier, antiguo amigo de Severo de sus tiempos de la Residencia de Estudiantes. Allí coincidió con Xavier Zubiri: «La extraordinaria inteligencia y la cultura enciclopédica de Zubiri hacían nuestras conversaciones enormemente interesantes. A ello contribuía también su naturalidad y sencillez. Zubiri tenía el raro don de enseñar de igual a igual aun cuando la disparidad intelectual entre él y sus oyentes fuese muy marcada».

Ochoa, ya en París, contactó con Otto Fritz Meyerhof quien le aceptó de nuevo en su laboratorio en Heidelberg, incorporándolo-

se al mismo en el mes de octubre, en calidad de investigador visitante. Debido al auge de los nazis, Meyerhof estaba en una situación precaria y algunos miembros de su familia habían abandonado ya Alemania, aunque su laboratorio era aún muy productivo.

Poco después de su llegada a Heidelberg la policía confiscó el pasaporte al matrimonio Ochoa y, un mes más tarde, Ochoa recibió una carta de la Embajada de España en Berlín en la que le expresaban su sorpresa de que estuviese en Alemania y no en España sirviendo a su patria. Ochoa contestó que, como científico, pensaba que servía mejor a España estudiando en Alemania, país que debía su esplendor en gran medida al estado avanzado de su ciencia y tecnología. Parece que esta respuesta de Ochoa fue convincente, pues al poco tiempo les devolvieron el pasaporte, y no volvió a ser molestado.

El laboratorio de Meyerhof había cambiado mucho desde el punto de vista científico. Cuando Ochoa se marchó en 1930 era un laboratorio de fisiología donde se podían ver músculos contrayéndose por todas partes. En 1936 se había convertido en un laboratorio de bioquímica. Los principales temas de trabajo eran el estudio de la glicolisis y la fermentación en extractos de músculo o levadura, o reacciones parciales de estos procesos catalizados por enzimas purificadas. Sus antiguos amigos David Nachmansohn y Fritz A. Lipmann ya no estaban allí. En este periodo Ochoa exploró la acción de la coximas, luego conocida como DPN (nucleótido de difosfopiridina) y, definitivamente, NAD (dinucleótido de nicotinamida y adenina, a partir de músculo esquelético, y llevó a cabo estudios de transfosforilación en extractos de músculo en colaboración con Paul Ohlmeyer, de quien se hizo muy amigo. Sin embargo, debido al creciente auge del nazismo, la situación de Meyerhof se hizo insostenible, teniendo que emigrar a París, en agosto de 1939, donde trabajó en el *Institut de Biologie Physico-Chimique*. Meyerhoff, antes de partir y con la ayuda de Archibald Vivian Hill —había recibido el Premio Nobel de Fisiología o

Medicina 1923 con Meyerhof, y quién entabló una estrecha amistad con Ochoa—, consiguió una beca de seis meses para que Severo trabajase en el *Marine Biological Laboratory* en Plymouth. Ochoa y Meyerhoff coincidirían, años después, en EE. UU. «Meyerhof —escribiría Ochoa— fue el maestro que más contribuyó a mi formación y el que más influyó a la hora de orientar mi trabajo»

En Plymouth, Carmen ayudó a su marido y llegaron a publicar un trabajo, juntos, en la prestigiosa revista *Nature* sobre la fosforilación enzimática en el músculo de invertebrados y su contenido en cozimasa. Para este trabajo utilizaban langostas, que después se comían. Cuenta Ochoa que después de este trabajo estuvieron muchos años sin probar tales crustáceos.

Un año después Ochoa, con la ayuda de William R. G. Atkins, uno de sus amigos de Plymouth, consiguió una beca de la *Nuttfield Foundation* para trabajar con Rudolph A. Peters en el Departamento de Bioquímica de la Universidad de Oxford sobre el papel de la vitamina B<sub>1</sub> (tiamina) y de la cocarboxilasa (éster difosfórico de tiamina) en la oxidación del piruvato. Peters y Ochoa determinaron que la cocarboxilasa y no la tiamina libre era el cofactor de la oxidación del piruvato. También demostraron el requerimiento de nucleótidos de adenina, lo que les sugirió que había un estrecho acoplamiento entre oxidación y fosforilación, y ello despertó el interés de Ochoa en la fosforilación oxidativa. El periodo de Oxford fue muy feliz y productivo, y, probablemente, el trabajo más sólido y trascendente de la producción de Ochoa en esta época fue el publicado en el *Journal of Biological Chemistry*, con el título: «Acoplamiento de la oxidación del ácido pirúvico con la fosforilación, en el cerebro».

El mecanismo de la fosforilación en las dispersiones de tejido cerebral es descrito por Ochoa del modo siguiente: «Con cantidades catalíticas de ácido adenílico y en ausencia de otros aceptores de fósforo, el trifosfato de adenosina formado al reaccionar el

ácido adenílico con el hipotético producto fosforilado, resultante de la oxidación del ácido pirúvico, es desfosforilado por la adenosín trifosfatasa regenerándose el ácido adenílico para nuevas reacciones: la concentración de fosfato inorgánico no se modifica. El consumo de oxígeno tiene lugar debido a que la presencia de la adenosín trifosfatasa hace innecesaria la presencia de un aceptor de fosfato: pero en ausencia de ácido adenílico añadido, la concentración de adenín nucleótido es demasiado baja en las dispersiones dializadas, para mantener el mecanismo antes descrito a velocidad suficiente, y el consumo de oxígeno desciende por debajo del nivel normal. En presencia de ácido adenílico (en cantidad catalítica) y de aceptores de fosfato para los grupos de fosfato hábiles del adenosín trifosfato, como la hexosa monofosfato o la glucosa, una proporción, mayor o menor, del trifosfato de adenosina resulta protegida de la acción de la adenosín trifosfatasa, transfiriendo fosfato a un aceptor con formación de difosfato de hexosa, mientras que desaparece una cantidad equivalente de fosfato inorgánico. El hecho que la fosforilación del ácido adenílico es un paso obligatorio en la deshidrogenación de ambos triosa fosfato y piruvato, hace que dicho proceso sea el mecanismo principal mediante el cual la energía de la respiración se pone a disposición de los tejidos».

Según cuenta Ochoa, los británicos tienen la cualidad de obtener resultados sin trabajar, aparentemente, muy duro, y siendo contagiosa esta capacidad. Hizo muy buenos amigos, entre ellos Ernst Chain, quien saltaba literalmente de la silla cuando les explicaba las propiedades maravillosas de la penicilina que estaba purificando. Pero después de dos años, su estancia en este laboratorio se vio de nuevo frustrada por la segunda guerra mundial. El laboratorio se vio inmerso en investigación militar. El sentimiento de soledad y de aislamiento hizo que el matrimonio Ochoa decidiese marchar a Estados Unidos por el bien de la carrera científica de Severo. Ochoa quería trabajar en el laboratorio de Carl F. Cori, por lo que le escribió, y cuenta que sintió una gran alegría cuando Cori le aceptó para ir a su laboratorio.

## El Nuevo Mundo

En agosto de 1940, invitado por el matrimonio Carl y Gerty T. (Radnitz) Cori, el matrimonio Ochoa se embarcó en Liverpool, no sin cierta nostalgia pero llenos de esperanza y expectativas, con destino a la *Washington University School of Medicine* en St. Louis. El viaje lo hicieron en compañía del matrimonio Obrador. Para conseguir un visado, la Universidad de Washington le ofreció un puesto de investigador visitante con un sueldo virtual de 2.000 dólares, que el propio Ochoa tendría que pagarse. Finalmente fue la Fundación Rockefeller la que aportó una ayuda equivalente para que Ochoa pudiese trabajar en dicha Universidad. Según cuenta Ochoa, el laboratorio de los Cori era un lugar excitante. Allí las enzimas eran algo realmente importante y los trabajos sobre glicólisis y fosforilación estaban en su apogeo. También había científicos muy interesantes como Herman M. Kalckar, Earl Sutherland y Sydney Colowick.

Cori le propuso a Ochoa que estudiase la conversión de fructosa en glucosa en extractos de hígado. La idea era que la fructosa se fosforilase a fructosa-6-fosfato por una hipotética fructoquinasa, que la fructosa-6-fosfato se isomerizase a glucosa-6-fosfato por la fosfohexoisomerasa y que la glucosa-6-fosfato se desfosforilase por la glucosa-6-fosfatasa para dar glucosa. Sin embargo, cuando Ochoa incubaba fructosa con homogenados de hígado obtenía fructosa-1-fosfato en vez de fructosa-6-fosfato. Aunque Ochoa no obtuvo resultados, adquirió una buena formación en el manejo y caracterización de enzimas y de compuestos fosforilados del metabolismo de los hidratos de carbono. En una ocasión posterior, con motivo del homenaje que recibió en su septuagésimo aniversario, Ochoa comentaría que había sido muy afortunado al tener maestros como Meyerhof, Peters y Cori, y a pesar que su trabajo de investigación había resultado, en alguna ocasión, algo frustrante.

En Oxford, Ochoa había conocido a Bob Goodhart, especialista en nutrición de la Universidad de Nueva York y que disfru-

taba de un *Fellow* de la Fundación Rockefeller en el laboratorio de Peters, y quien estaba empeñado en incorporarle a aquella. A comienzos del año 1942, alentado por su mujer, Carmen, aceptó un puesto de Asociado de Investigación con una beca para trabajar dos años en el Departamento de Medicina de la Facultad de Medicina de la Universidad de Nueva York, ocupando provisionalmente un espacio en el Hospital Psiquiátrico de Bellevue. Allí comenzó su independencia científica, aunque todavía no la académica, ya que su puesto dependía de una beca. Éste fue el comienzo de una fructífera y feliz asociación con la Universidad de Nueva York que duró más de 30 años.

En el Instituto Rockefeller se organizaron, en algún momento del año 1941, seminarios basados en el libro de David Green «*The mechanisms of biological oxidations*», publicado en 1940. David Green sugirió que esos seminarios se convirtiesen en un *Enzyme Club* en el que podrían participar los científicos del área de Nueva York interesados en enzimología y áreas relacionadas. Los miembros del Club se reunían una vez al mes para escuchar la presentación de algún invitado o de alguno de sus miembros. Se empezaba con un cóctel seguido de una cena. El conferenciante presentaba entonces el tema utilizando pizarra y tiza, pues no se permitían diapositivas, y se interrumpía al ponente con preguntas «planteadas con todo el rigor de Nueva York», según comentaría Slater. En abril de 1943 Ochoa hizo su primera presentación, titulada «El enlace fosfato en la oxidación del ácido pirúvico», a la que siguieron siete más, la última en abril de 1978, sobre regulación de la síntesis de proteínas.

Cuenta Arthur Kornberg que, cuando un domingo por la tarde regresó Ochoa al laboratorio después de haber asistido a «La Pasión según San Mateo» de Johann S. Bach, encontró que habían sacado al pasillo su mesa y sus aparatos, pues el nuevo jefe de Psiquiatría necesitaba el espacio. El Profesor Isidor Greenwald, que trabajaba en el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina y quien apreciaba mucho el trabajo de Ochoa, así como

sus cualidades personales, le ofreció un sitio en su laboratorio y Severo fue nombrado, a los 39 años de edad, Profesor ayudante de Bioquímica. Ésta fue la primera posición de plantilla que tuvo Severo en su vida; corría el año 1944.

En 1946, quedó vacante la cátedra de Farmacología y Keith Cannan, un biofísico inglés, director del Departamento de Bioquímica, pensó que Ochoa podía ser la persona adecuada para el cargo. Un prestigioso colega que le conoció bien en aquellos años, el Dr. Ephraim Racker escribió: «La dedicación humilde y total de Severo a la ciencia me quedó grabada por la siguiente anécdota. Aunque ya era maduro tanto en edad como en prestigio científico, Severo era todavía Profesor ayudante de Bioquímica en la Universidad de Nueva York cuando le ofrecieron la Cátedra de Farmacología. Recuerdo con precisión las muchas horas que estuvimos discutiendo. Severo no dejaba de decir: ¿por qué he de necesitar una cátedra? Puedo trabajar donde estoy ahora. ¿No se resentirá mi trabajo de investigación si llego a ser director de un departamento?... Creo que lo que le decidió finalmente a ocupar la cátedra fue la perspectiva de lograr un espacio adecuado de laboratorio y suficiente ayuda técnica que le compensase de las cargas administrativas que se le añadían». El Departamento de Farmacología, aunque estaba situado en un viejo edificio de la calle *26th* y para llegar a él había que pasar por la sala de anatomía donde los estudiantes estaban diseccionando los cadáveres, disponía de varios laboratorios nuevos y bien equipados, que había conseguido el anterior director James A. Shannon. Así pues, Ochoa pasó a ocupar la cátedra del Departamento de Farmacología, teniendo ya más espacio para realizar sus investigaciones; fue el segundo bioquímico en ocupar una Cátedra de Farmacología en una Facultad de Medicina norteamericana. Hasta entonces, Ochoa tuvo una posición académica modesta y trabajó solo y con medios bastante limitados; eran además los tiempos de la naciente enzimología, cuando el bioquímico trabajaba en relativo aislamiento y multiplicaba sus quehaceres entre la propia investigación, la síntesis y el análisis orgánico, y la purificación de enzimas y coenzimas aislados

en experimentos auxiliares. Allí permaneció nueve «apasionantes y productivos» años. Le encomendarían la dirección del Departamento dos años después, cargo que ocupó hasta el año 1954, cuando se trasladó al Departamento de Bioquímica.

### **Fosforilación oxidativa, fijación de CO<sub>2</sub> y enzimas del ciclo del ácido cítrico**

Los primeros trabajos de Ochoa en la Universidad de Nueva York fueron sobre la fosforilación oxidativa, problema que había empezado a estudiar en Oxford en 1938, cuando demostró que la oxidación se acoplaba a la fosforilación de difosfato de adenosina (adenosina difosfato, ADP) para formar ATP (trifosfato de adenosina), a lo que sigue la transferencia de fósforo desde el ATP al azúcar. El acoplamiento obligado de la fosforilación con la oxidación del piruvato, también demostrado por Vladimir A. Belitzer de la Unión Soviética y por Herman Kalckar de Dinamarca, fue un descubrimiento importante. Utilizando homogeneizados de corazón Ochoa determinó la relación molecular entre fósforo esterificado y consumo de oxígeno: relación P/O. Una comparación entre la fosforilación causada por la oxidación del ácido pirúvico y la producida por la dismutación entre ácido fosfoglicérico y ácido pirúvico en extractos cardiacos, mostró una relación [P/O = 3] para la primera reacción; una relación que había sido anteriormente valorada como 2. Este último valor se debía a la pérdida causada por la hidrólisis de ATP por ATPasa (adenosina trifosfatasa). La relación de 3 fue posteriormente confirmada por Albert Lester Lehninger en mitocondrias. Sin embargo, Ochoa pensaba que el mecanismo de la fosforilación oxidativa no se entendería sin el conocimiento de las reacciones enzimáticas implicadas en oxidación y en especial, aquellas acopladas a fosforilación. Se conocía, gracias a los trabajos de Hans Krebs, que el ciclo del ácido cítrico (Fig. 1) era la vía principal de oxidación de sustratos energéticos en la célula, y por los trabajos de David Keilin y Otto Warburg que nucleótidos de piridinas, flavoproteínas y citocromo, estaban involucrados.



equipado para utilizar isótopos, y pensó que podría observar la reacción que, de existir, conduciría a la oxidación del dinucleótido fosfato de nicotinamida y adenina reducido (NADPH) por espectrofotometría; ello, si el isocitrato se formaba por la fijación de  $\text{CO}_2$  a  $\alpha$ -cetoglutarato. Como escribió en su autobiografía, no creyó que aquello funcionara, y pospuso el experimento hasta que fue animado por su amigo Racker, quién trabajaba en el Departamento de Microbiología —un piso por debajo— y con el que mantenía frecuentes discusiones. Cuenta Severo que, una vez puesto en marcha el experimento, cuando vio por primera vez moverse la aguja del espectrofotómetro, lo que indicaba la oxidación del NADPH, se emocionó tanto que salió al pasillo del laboratorio gritando: «Venid a ver moverse la aguja del espectrofotómetro». Pero eran las nueve de la noche y no había nadie para acudir a verlo.

El espectrofotómetro utilizado en dicho experimento se había comprado con una ayuda de la *American Philosophical Society* y tenía que devolverse después de un año. Pero el éxito de los experimentos de la fijación de  $\text{CO}_2$  y la necesidad que tenía Ochoa de un espectrofotómetro para su trabajo futuro, hicieron que la altruista Sociedad le dejase mantener el instrumento indefinidamente. De ahí que el aparato se conociese en el laboratorio como el «*Philosophical spectrophotometer*». Tras ello, Ochoa se convirtió en un experto de los estudios espectrofotométricos de las enzimas oxidativas.

Ochoa pensó que lo que habían denominado isocítrico deshidrogenasa era, en realidad, una mezcla de dos enzimas —isocítrico deshidrogenasa y oxalsuccínico carboxilasa—, aunque nunca puso demostrarlo. Entonces, recién trasladado al Departamento de Farmacología y habiéndose incorporado su primer doctorando —Alan Mehler, y también, sus dos primeros postdoctorales, Santiago Grisolia y A. Kornberg— decidió combinar dos enzimas conocidas —málico deshidrogenasa y oxalacético carboxilasa— para comprobar si era posible descarboxilar malato produciendo piruvato y  $\text{CO}_2$  en presencia de  $\text{NAD}^+$  (dinucleótido de nicotinamida y ade-

nina, coenzima I), y/o convertir piruvato y  $\text{CO}_2$  en malato en presencia de NADH (NAD reducido). «Todo ello fue un completo fracaso», escribió Ochoa.

Sin embargo, un día Mehler observó una rápida oxidación de malato cuando se añadía  $\text{NADP}^+$  (dinucleótido fosfato de nicotinamida y adenina, coenzima II) pero no NAD, a extractos de hígado de paloma (cientos de ellos extraídos por el devoto técnico de Ochoa, Morton Schneider). Esta observación condujo al descubrimiento de la enzima málica, que cataliza la reacción reversible: malato +  $\text{NADP}^+ \leftrightarrow$  piruvato +  $\text{CO}_2$  + NADPH +  $\text{H}^+$ .

La enzima fue estudiada en detalle por Mehler y Kornberg. Dado que la enzima málica puede catalizar la descarboxilación de oxalacetato a piruvato y  $\text{CO}_2$ , tanto como la reducción del malato por NADPH, concluyeron que la enzima málica —al igual que la isocítrico deshidrogenasa que puede catalizar la descarboxilación de oxalosuccinato a  $\alpha$ -cetoglutarato y  $\text{CO}_2$ , y su reducción a isocitrato— es una enzima con dos centros activos, uno para la oxidación del isocitrato y otro para la del oxalosuccínico, y no una mezcla de dos enzimas, isocítrico deshidrogenasa y oxalosuccínico deshidrogenasa, como habían supuesto inicialmente. La enzima málica fue utilizada por Wolf Vishniac y Ochoa para obtener carboxilación reductora fotodependiente de piruvato a malato en granas y en presencia de NADP, lo que supuso la primera demostración de una reducción fotoquímica de nucleótidos de piridina en preparaciones de cloroplastos.

A principios de 1947, Warren Weaver, Director de la División de Ciencias Naturales de la Fundación Rockefeller, hizo una encuesta preguntando a un grupo reducido de bioquímicos que trabajaban en Estados Unidos su opinión respecto a la valía de un número de científicos, entre los que figuraba Ochoa. De la lista final, ordenada por la cantidad de signos positivos obtenidos, Ochoa ocupó el cuarto lugar, precedido por Carl Cori quien ocupó el primer puesto, Joseph Fruton y John H. Northrop. Es decir,

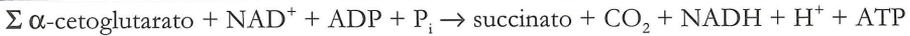
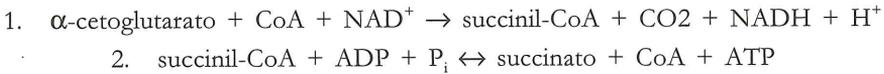
Severo Ochoa estaba entre los cuatro científicos más valorados por sus pares en Estados Unidos. Estos fueron los comienzos del auge científico de Severo Ochoa quien para 1955, fecha del descubrimiento de la polinucleótido fosforilasa, ya era uno de los «*top four*» de Estados Unidos. En el mes de enero de aquel mismo año, delegados de quince países —Elmer Stotz y el mismo Ochoa por los EE. UU.— se reunieron en la *Ciba Foundation House* en Londres para elegir la primera junta de gobierno de la recién creada *International Union of Biochemistry*, de la que Ochoa sería elegido presidente para el mandato entre 1964 y 1967.

En 1948 Joe Stern, quien había sido un estudiante de Hans Krebs en Sheffield, se incorporó al laboratorio de Ochoa como estudiante postdoctoral. Ochoa pensó que este era el momento de atacar uno de los problemas más interesantes del ciclo del ácido cítrico: la identificación de la enzima que «condensa» oxalacetato y «acetato activo» para formar citrato, y a la que denominaban enzima condensante. Esta enzima resultó ser insoluble en tejidos animales, pero cabía la posibilidad de que fuese soluble en bacterias. Así, combinando un extracto de *Escherichia coli* con un extracto de corazón de cerdo consiguieron sintetizar citrato a partir de acetil fosfato y oxalacetato, requiriendo la reacción cantidades catalíticas de coenzima A (CoA). Usando esta reacción como un sistema experimental, Joe Stern, Morton Schneider y el propio Ochoa consiguieron cristalizar la enzima condensante o citrato sintetasa, la primera enzima cristalizada del ciclo del ácido cítrico. El extracto de *E.coli* suministraba transacetilasa, enzima descubierta por Earl Stadtman, que catalizaba la transferencia de fosfato del acetil fosfato al CoA para formar acetil CoA y fosfato. Como Feodor Lynen había predicho, el acetil CoA era la forma «activa» del acetato. En colaboración con Lynen demostraron que la enzima condensante catalizaba la conversión reversible de acetil CoA y oxalacetato a CoA y citrato.

Ochoa estaba muy interesado en los pasos iniciales de oxidación del piruvato y en el mecanismo por el que esta molécula y el

oxalacetato reaccionan para dar citrato durante el ciclo del ácido cítrico. I. C. Gunsalus y Seymour Korkes encontraron que el NAD se reducía en presencia de piruvato y CoA, lo que indicaba que tenía lugar la reacción: piruvato + CoA + NAD<sup>+</sup> → acetil CoA + NADH + H<sup>+</sup>.

Seymour Kaufman descubrió una enzima que cataliza la síntesis de ATP a partir de ADP, P<sub>i</sub> y succinil CoA, que era desacilado a succinato y CoA; esa enzima fue denominada enzima fosforilante, enzima P<sub>o</sub>, definitivamente, succínico tioquinasa. Por su parte, Joe Stern y Minor Ceen descubrieron una nueva enzima del metabolismo de los ácidos grasos, la CoA transferasa que cataliza la transferencia de CoA desde succinil CoA a acetoacetato. La enzima P daba cuenta de la fosforilación de un sustrato acoplada con la descarboxilación oxidativa de  $\alpha$ -cetoglutarato en el ciclo del ácido cítrico:



Otra línea de investigación en el laboratorio de Ochoa trataba del metabolismo del propionato. Trabajos que señalaban que la oxidación de propionato requería fijación de CO<sub>2</sub> y formaba succinato llamaron su atención. El trabajo lo inició Martin Flavin, que utilizando extractos de corazón de cerdo demostró la conversión de propionato en ácido dicarboxílico. Luego, el trabajo de Yoshito Kaziro, entre otros, demostró que el propionato se convierte, primero, a propionil CoA y se carboxila a metilmalonil CoA, en presencia de ATP, por la enzima biotinilada propionil CoA carboxilasa. Luego, la metilmalonil CoA es isomerizada de la forma A a la B, y luego mutada por la metilmalonil CoA mutasa para formar succinil CoA. La metilmalonil CoA es una enzima del grupo de la familia de la vitamina B<sub>12</sub>, y la propionil CoA carboxilasa fue cristalizada por Kaziro, quién demostró la participación estioiquiométrica de la enzima en la reacción. La propionil CoA carboxilasa es carboxilada, transfiriendo el grupo carboxilo al propionil CoA. Fue Lynen quien

demostró la formación de la carboxibiotinenzima, elucidando el mecanismo químico de la reacción.

### Polinucleótido fosforilasa

En 1954, Keith Cannon pasó a ocupar el puesto de Jefe de la División de Medicina del Consejo Nacional de Investigación en Washington y se le ofreció a Severo la Jefatura del Departamento de Bioquímica. En verano de aquel año —Ochoa había sido elegido presidente de la *Harvey Society* el año anterior— se trasladó, como jefe del Departamento, a la cátedra de Bioquímica, en un nuevo edificio con nuevos laboratorios equipados para trabajar con material isotópicamente marcado. Morton Schneider era el jefe de los técnicos y Peter Lozina el responsable de la planta piloto. En aquella época, Ochoa quiso volver a sus estudios sobre la fosforilación oxidativa; pensaba que debería buscarse una fuente de enzimas capaz de convertir al ADP en ATP y que dicha reacción se podría seguir por incorporación de fosfato marcado con  $^{32}\text{P}$  en ATP. Los extractos de la bacteria *Azobacter vinelandii* podrían ser una buena fuente de dichas enzimas, pues es una bacteria muy activa en la oxidación de hidratos de carbono y otros compuestos. Otro tema que interesaba a Ochoa era la fosforilación del acetato en acetilfosfato. Para entonces, Ochoa contaba con dos «postdoc», Marianne Grunberg-Manago, llegada desde París y Ernie Rose, este de Chicago y quién eligió el tema de la fosforilación del acetato. Marianne eligió la fosforilación oxidativa.

Los extractos de *Azobacter* incorporaban activamente fosfato marcado con  $^{32}\text{P}$  en ATP. Sin embargo, cuando empleaba ATP cristalino en lugar de un ATP amorfo, no había reacción. ¿Habían dado con una nueva enzima? El examen del ATP procedente de la bacteria y aislado por cromatografía indicó que estaba contaminado con ADP y que el  $^{32}\text{P}$  se incorporaba al ADP y no al ATP. La incorporación de  $^{32}\text{P}$  tenía lugar también en otros nucleosido difosfatos: de uracilo (UDP), citosina (CDP), guanina (GDP) o de

inosina (IDP). La enzima también catalizaba la liberación de fosfato de los nucleosido difosfatos. En un principio pensaron que se trataba de una reacción de hidrólisis de ADP y otros difosfatos en AMP y otros monofosfatos:  $ADP + H_2O \rightarrow AMP + Pi$ .

En cualquier caso, el descubrimiento de la enzima ocurrió de forma casual. En palabras de Ochoa: «Estábamos (con Grunberg-Manago) interesados en los mecanismos de la fosforilación oxidativa y me pareció que podría ser interesante estudiar el proceso en extractos de *Azotobacter vinelandii*, una bacteria en la que los procesos de oxidación son muy intensos. El plan de los experimentos fue muy simple. Se incubaban extractos bacterianos con ATP y fosfato inorgánico marcado con  $^{32}P$  para medir la incorporación de  $^{32}P$  en el ATP. Los experimentos fueron inmediatamente positivos. Había una gran incorporación de radiactividad.

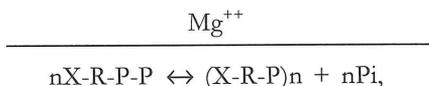
»El ATP que usábamos era un ATP amorfo. Un buen día nos llegó una preparación de ATP cristalino y cuando lo ensayamos nos encontramos con que no había incorporación alguna de radiactividad. Volvimos al ATP amorfo, que se purificó por cromatografía y se encontró una fracción muy activa, que era, simplemente, ADP. Se probaron entonces otros nucleósido-difosfatos (GDP, CDP y UDP) y todos mostraron actividad. La radiactividad se incorporaba en el fosfato interno (p. ej., en el caso del ADP: A-ribosa P\*-P).

»Pronto se vio también que cuando la incubación de los extractos bacterianos se llevaba a cabo con concentraciones relativamente elevadas de difosfatos, se formaba fosfato inorgánico. La formación de P inorgánico a partir de ADP sirvió como método de ensayo para medir la actividad de la enzima. Creímos que el otro producto de reacción debería ser AMP ( $ADP \rightarrow AMP + Pi$ ), como resultado de un proceso puramente hidrolítico. Sin embargo, cuando la mezcla de incubación era tratada con ácido tricloroacético no se encontraba AMP, que es soluble en ácido, en el sobrenadante; y no estaba, porque lo que se formaba era un polinucleótido, que es insoluble en ácido».

Por su parte, Grunberg-Manago escribe: «... Para mis estudios sobre fosforilación oxidativa que me había propuesto Ochoa, como no me gustaba matar ratas, utilicé bacterias... Elegí una bacteria aeróbica estricta como *A. vinelandii*, que oxida hidratos de carbono muy activamente... Decidí utilizar una reacción de intercambio entre  $\text{PO}_4$  y ATP como método de aislamiento de alguna coenzima fosforilada nueva e interesante... Utilizaba ATP amorfo comercial como sustrato... Durante el estudio Sigma anunció que disponía de ATP cristalino, puro. Conseguí una pequeña muestra y, para mi sorpresa, no obtuve resultado alguno. Sin embargo, esto nos hizo felices a Ochoa y a mí, pues pensamos que la preparación amorfa pudiera contener un cofactor interesante. Decidí aislar una fracción de la preparación de ATP amorfo que, cuando se añadiera al ATP cristalino, restaurara el intercambio. Para mi sorpresa, el examen cromatográfico del ATP amorfo identificó el compuesto activo como ADP... Recuerdo que cuando di cuenta del descubrimiento en una comida de grupo nadie me creyó y Severo «offended me» diciéndome que aquello era imposible. Sin embargo, poco después, se echó atrás de su primera reacción, fue al laboratorio siendo fácil convencerle de que el sustrato real en la reacción de intercambio era ADP. Se excitó mucho, porque no conocía enzima alguna que fuera capaz de catalizar tal intercambio, y me alentó para que intentase descubrir cual era la reacción responsable del intercambio. Pronto encontré que la enzima no era específica para el difosfato de adenosina, sino que catalizaba el intercambio con otros nucleótidos difosfato (UDP, CDP, GDP e IDP).»

Una de las propiedades más singulares de la enzima es que cataliza no sólo la síntesis de ARN partiendo de los cuatro difosforribonucleótidos típicos, sino también la de otros polinucleótidos no naturales, conteniendo sólo uno, dos o tres tipos distintos de nucleótidos en sus cadenas. Otra característica de la enzima es que la incorporación de estos precursores en la macromolécula es proporcional a la concentración con que se añaden al comienzo de la reacción.

Inicialmente, la enzima se conoció como ARN sintetasa (denominación propuesta por Ochoa) —en una dirección de la reacción sintetiza un polinucleótido—, aunque su denominación definitiva fue polinucleótido fosforilasa (denominación propuesta por Grunberg-Manago), porque en el otro sentido de la reacción degrada los polinucleótidos por fosforolisis y no por hidrólisis. Por tanto, la reacción catalizada por la nueva enzima era:



donde X es una base nucleotídica (A, U, C, G ó I), R representa el azúcar ribosa y P una unidad de ácido fosfórico.

Bob Warner, quien trabajaba en el laboratorio de Ochoa, encontró que mezclando poli(A) y poli(U) sintetizados con la PNPasa se obtenía una solución viscosa de poli(A)-poli(U) de doble banda. Alex Rich demostró, por análisis de difracción de rayos X, que la estructura de este polímero era similar a la del ADN. Posteriormente, Paul Doty hizo uso de estos polinucleótidos en su trabajo sobre anillamiento de ácidos nucleicos de cadenas complementarias, que fueron la base de las técnicas de hibridación de ácidos nucleicos. Por otro lado, con la colaboración de Bob Warner en la Universidad de Nueva Cork y de Leon Heppel, Russell Hilmeo y Maxine Singer en Bethesda (*National Institutes of Health*), se estableció que utilizando una mezcla de nucleosido difosfatos —por ej., ADP, UDP, GDP y CDP—, la polinucleótido fosforilasa sintetizaba polímeros tipo ARN con una secuencia de bases aleatoria.

Los resultados se presentaron en la primavera de 1955 en la reunión de la Federación de Sociedades Americanas de Biología Experimental en San Francisco y en el Congreso Internacional de Bioquímica celebrado ese verano en Bruselas, despertando en ambos un gran interés. Esto es comprensible, pues por primera vez se había sintetizado en el tubo de ensayo polinucleótidos de

alto peso molecular con una estructura química primaria idéntica al del ARN natural. El trabajo se publicó en 1955 como una carta al editor de la revista *Journal of the American Chemical Society*, y a pesar de haber tenido una crítica muy adversa por parte de uno de los *referees*.

El estudio de la polinucleótido fosforilasa le supuso a Severo Ochoa —elegido recientemente presidente de la *American Society of Biological Chemistry*— la concesión del Premio Nobel de Fisiología o Medicina en el año 1959. Dicho Premio Nobel lo compartió con su antiguo discípulo y amigo Arthur Kornberg, este último por el descubrimiento de una enzima, la ADN polimerasa, capaz de sintetizar ácido desoxirribonucleico (ADN) *in vitro*. Comenta Kornberg que en la justificación del Premio «por su descubrimiento de los mecanismos en la síntesis biológica del ácido ribonucleico y del ácido desoxirribonucleico», debería haberse sustituido «ácido ribonucleico» por «polímeros similares al ARN» anticipando el papel que esos polímeros jugarían en el desciframiento del código genético.

La esperanza inicial de que la polinucleótido fosforilasa fuese la responsable de la biosíntesis del ácido ribonucleico se descartó; ello, por no requerir molde para dirigir la formación de un ARN mensajero específico sino incorporar inespecíficamente ribonucleosido difosfatos en un polímero. Sin embargo, el uso de la polinucleótido fosforilasa fue esencial en el desciframiento inicial de la clave genética, ya que dio lugar a la preparación de polinucleótidos sintéticos de distinta composición de bases con los que el grupo de Severo Ochoa, en paralelo con el grupo de Marshall W. Nirenberg, llegaron a descifrar cuales son los tripletes o grupos de tres nucleótidos que codifican los distintos aminoácidos (Fig. 2).

Tras el descubrimiento de la polinucleótido fosforilasa, el laboratorio de Ochoa se centró en dos temas: la oxidación del pionato, de lo que se ocuparon una serie de postdocs tras la marcha

		Segunda letra				
		U	C	A	G	
Primera letra	U	UUU } Phe	UCU } Ser	UAU } Tyr	UGU } Cys	Tercera letra
		UUC } Phe	UCC } Ser	UAC } Tyr	UGC } Cys	
		UUA } Leu	UCA } Ser	UAA Stop	UGA Stop	
		UUG } Leu	UCG } Ser	UAG Stop	UGG Trp	
	C	CUU } Leu	CCU } Pro	CAU } His	CGU } Arg	
		CUC } Leu	CCC } Pro	CAC } His	CGC } Arg	
		CUA } Leu	CCA } Pro	CAA } Gln	CGA } Arg	
		CUG } Leu	CCG } Pro	CAG } Gln	CGG } Arg	
	A	AUU } Ile	ACU } Thr	AAU } Asn	AGU } Ser	
		AUC } Ile	ACC } Thr	AAC } Asn	AGC } Ser	
		AUA } Met	ACA } Thr	AAA } Lys	AGA } Arg	
		AUG } Met	ACG } Thr	AAG } Lys	AGG } Arg	
	G	GUU } Val	GCU } Ala	GAU } Asp	GGU } Gly	
		GUC } Val	GCC } Ala	GAC } Asp	GGC } Gly	
		GUA } Val	GCA } Ala	GAA } Glu	GGA } Gly	
		GUG } Val	GCG } Ala	GAG } Glu	GGG } Gly	

FIGURA 2. El código genético o el alfabeto de la vida. Descifrado entre 1961 y 1966.

de Martin Flavio, y la enzima en cuestión. Ochoa había trabajado con un postdoc japonés, Sanai Mi, en las reacciones de síntesis con la idea de que, tras purificar la enzima, apareciese un primer o un templete o molde. Tales experimentos descartaron el papel de la enzima *in vivo*, pero fueron decisivos en la preparación de numerosos copolímeros. Gracias a ello, el laboratorio de Ochoa estuvo preparado para realizar los experimentos *in vitro* que condujeron al desciframiento del código genético.

Carlos Basilio, un médico chileno que se incorporó al laboratorio de Ochoa en agosto de 1959, refiere la participación del ya Premio Nobel en la ruptura de la clave genética: «Ochoa habría de atacar el problema más tarde o más temprano. Tenía en sus manos,

desde hacía años, la herramienta precisa que hizo posible el desciframiento de la clave, esto es, la polinucleótido fosforilasa, que había abierto la posibilidad de sintetizar una gran variedad de ácidos ribonucleicos de composición conocida. Faltaban sin embargo dos cosas: el concepto del ARN mensajero (mARN), avanzado por François Jacob y Jacques Monod al comienzo de 1961, y la observación aportada por Sydney Brenner en el simposio de Cold Spring Harbor del mismo año, sobre la especificidad poco estricta de los ribosomas bacterianos en cuanto a permitir la traducción de mARNs de distinto origen.

»Esta última observación fue realmente la que abrió las puertas del abordaje experimental. Esta idea naciente, como un ejemplo perfecto de dialéctica científica fue traducida en palabras de una forma clara por Ochoa: «... La observación de Brenner y cols... sugirió el empleo de polirribonucleótidos sintéticos con secuencias de nucleótidos conocidos como mensajeros, y un método posible de abordaje experimental para el código de los nucleótidos. La secuencia más simple posible es la de los homopolinucleótidos, los cuales, si fuesen activos, deberían prescribir la formación de cadenas de homopolipéptidos». Algunos miembros del departamento eran pesimistas respecto a las posibilidades de esta idea, pero un joven doctorando, Peter Lengyel, fue tenaz defensor de esta.

»Un hecho sorprendente, que solo podía ocurrir en los EE. UU., fue la variedad de nacionalidades de los miembros del laboratorio de Ochoa. Los colaboradores directos en los problemas del código fueron Lengyel, un ingeniero químico húngaro que trabajaba en su tesis para obtener el grado de Ph. D.; Joseph Speyer, un joven bioquímico de origen alemán que estaba estudiando la biosíntesis de proteínas *in vitro*, y finalmente, yo, un médico chileno, ocupado en estudiar la especificidad de la polinucleótido fosforilasa para análogos de los nucleosidodifosfatos. Las vertientes de nuestra especialización eran indudablemente apropiadas para atacar el problema, a lo que se sumaba el hecho de que la polinucleó-

tido fosforilasa era una especie de contaminante inevitable en la mayoría de nuestros congeladores de laboratorio.

»Cuando acabábamos de iniciar nuestro trabajo, Marshall Nirenberg comunicó en el Congreso Internacional de Bioquímica de Moscú, celebrado en el año 1961 —Ochoa fue elegido presidente de la Unión Internacional de Bioquímica—, que el ácido poliuridílico promovía la síntesis de polifenilalanina. Algunos científicos testigos del Congreso contaron que los oyentes fueron electrizados por la noticia. Cuando volvió de Moscú un miembro de nuestro departamento y nos comunicó la novedad quedamos literalmente petrificados.

»Un mes más tarde —septiembre de 1961—, Ochoa y Nirenberg presentaron los resultados en la reunión de la Academia de Medicina de Nueva York. El auditorio recibió otra descarga eléctrica cuando Ochoa mostró los codones para once aminoácidos. Al día siguiente, Nirenberg nos visitó en el laboratorio e intercambiamos muchas ideas. Desde este momento, los grupos de Nueva York y de Bethesda iniciaron una carrera de competición académica que duró varios años... Los experimentos fueron una realidad a corto plazo, dando lugar a una serie de publicaciones —la primera apareció en diciembre de 1961— en los *Proceedings of the National Academy of Sciences* de EE. UU., bajo el título genérico de *Synthetic polynucleotides and the amino acid code*, en los que se describieron los codones para los diferentes aminoácidos, más otras observaciones afines...».

El último capítulo de la historia del código genético, comentó Ochoa, lo escribieron Nirenberg y Har Gobind Khorana. Muy pronto se tuvieron los resultados sobre la composición de bases de los tripletes que codifican los 20 aminoácidos y se estableció que el código genético está degenerado, es decir que, en muchos casos, varios tripletes codifican al mismo aminoácido. Por otra parte se encontró que los tripletes UAA, UAG y UGA no codifican a ningún aminoácido; e ingeniosos experimentos realizados por Sydney Brenner en Cambridge y por Al Garen en Yale, indicaron que

esos tripletes son señales de terminación de la síntesis de las proteínas. Y K. A. Marcker, en Cambridge, descubrió que AUG es un codón de iniciación de la cadena.

La polinucleótido fosforilasa puede considerarse la «piedra de Rosetta» del código genético. De acuerdo con Kornberg, Ochoa podía haber obtenido un segundo Premio Nobel en 1968 compartido con Robert W. Holley, Khorana y Nirenberg, quienes lo obtuvieron «por su interpretación de la clave genética y su función en la síntesis de las proteínas».

A partir de 1962, Severo Ochoa se adentró, por una parte, en los mecanismos de replicación de los virus que tienen ARN como material genético, y, por otra parte, en los mecanismos de la biosíntesis de proteínas. En agosto de 1964, Margarita Salas y Eladio Viñuela llegaban a Nueva York.

## Bibliografía

CARLOS ASENSIO Y FRANCISCO GRANDE (1977): «Severo Ochoa y el desarrollo de la bioquímica», en L. Cornudella, C. F. de Heredia, J. Oro y A. Sols, eds. *Avances de la Bioquímica* [recoge las versiones en español de los ensayos publicados por bioquímicos españoles en el libro: A. Kornberg, B. L. Horecker, L. Cornudella y J. Oro, eds (1975): *Reflections on Biochemistry. In Honour of Severo Ochoa. New York, Pergamon Press*]. Barcelona, Salvat Editores S A; pp. 545-584.

ASUNCIÓN GANDÍA BALAGUER, ed. (1997): *El Pensamiento Científico de Severo Ochoa: desde la fosforilación oxidativa hasta el código genético, y correspondencia científica*. Madrid, Fundación Ramón Areces.

MARINO GÓMEZ-SANTOS (1994): *Severo Ochoa. La emoción de descubrir*. Madrid, Ediciones Pirámide SA.

- FRANCISCO GRANDE COVIÁN (1990): «La obra científica de Severo Ochoa», en Antonio Fernández-Rañada, ed. *Nuestros Orígenes: El Universo, La Vida, El Hombre. En homenaje a Severo Ochoa*. Madrid, Fundación Ramón Areces - Fundación Principado de Asturias; pp. 17-34.
- MARIANNE GRUNBERG-MANAGO (1997): «Severo Ochoa (24 September 1905–1 November 1993)». *Biogr Mem Fell R Soc Lond* 43: 349-365.
- MARIANNE GRUNBERG-MANAGO Y SEVERO OCHOA (1955): «Enzymatic synthesis and breakdown of polynucleotides: polynucleotide phosphorylase». *J Am Chem Soc* 77: 3165-3166.
- ARTHUR KORNBERG (1997): «Severo Ochoa (24 September 1905–1 November 1993)». *Proc Am Philos Soc* 141 (4): 478-491.
- PETER LENGYEL, JOHN F. SPEYER y SEVERO OCHOA (1961): «Synthetic polynucleotides and the amino-acid code». *Proc Natl Acad Sci USA* 47: 1936-1942.
- MANUEL LOSADA (1994): *Ochoa. Hombre de ciencia y de bien*. Sevilla, Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Sevilla.
- SEVERO OCHOA (1941): Coupling of phosphorylation with oxidation of pyruvic acid in brain. *J Biol Chem* 138: 751-773.
- SEVERO OCHOA (1980): The pursuit of a hobby. *Ann Rev Biochem* 49: 1-30.
- SEVERO OCHOA (1999): *Escritos* (2.<sup>a</sup> ed. de Marino Gómez-Santos). Madrid, Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
- SEVERO OCHOA (2000): *Base Molecular de la Expresión del Mensaje Genético*. (2.<sup>a</sup> ed. de María Jesús Santemas). Madrid, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (Monografías 20).

MARGARITA SALAS (2006): «Severo Ochoa», en *Grandes Vidas de la España de Nuestro Tiempo*. 2. Madrid, Editorial Universitaria Ramón Areces-Servicio de Publicaciones Universidad Rey Juan Carlos; pp. 147-174.



## 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 AUGUUUUAA...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.

