# Christiane Nüsslein-Volhard

Jaume Baguñà Monjo

*Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona*

Durante el desarrollo embrionario y postembrionario, una simple célula o cigoto se transforma en un organismo adulto con un patrón, estructura o forma propia de cada especie. Entender este proceso, que desde la antigüedad maravilló tanto a los profanos como a los estudiosos de la naturaleza, requirió el concurso de mentes preclaras, abandonar concepciones dominadas por la religión y el vitalismo, y muy en especial la innovación y la constante mejora de las técnicas de observación y experimentación.

A mediados del siglo XIX se produjo un avance clave. La teoría celular, y sus desarrollos posteriores, muestran que todo ser vivo es el agregado armonioso de multitud de unidades individuales diminutas a las que denominamos células. Se demuestra, además, que las células de un ser adulto se originan por división de otras células de estadios anteriores y así sucesivamente, atrás en el tiempo, hasta llegar a la célula inicial o cigoto. A su vez, el cigoto es el producto de la unión de dos células, denominadas germinales, una del padre (espermatozoide) y otra de la madre (óvulo), durante la fecundación. De esta manera, el desarrollo embrionario es el proceso que une las sucesivas generaciones (abuelos, padres, hijos, etc.) a lo largo del tiempo. Estructuralmente hablando, la concepción celular de los seres vivos implicaba que una mosca del vinagre, *Drosophila melanogaster*, adulta es un millón de células, procedentes de una célula inicial o cigoto, organizadas en una forma a la que denominamos "mosca del vinagre o de la fruta". De la misma manera, un ser humano adulto son 100 billones de células organizadas en una estructura que, con diversas variantes (de sexo, altura, peso, color de piel, tipo de cabello, etc.) denominamos *Homo sapiens* o ser humano, y que procede, a lo largo del desarrollo embrionario, de una célula inicial.

Esta nueva concepción sobre la organización y el desarrollo de los seres vivos planteó dos nuevos problemas frente a los cuales la biología de fines del siglo XIX y principios del XX apenas tenía respuesta. En primer lugar, el desarrollo embrionario es reproducible o repetible; es decir, de la unión de dos moscas surge una mosca y no un gusano, y de la unión de dos perros surge un perro y no un gato. Por consiguiente, el huevo o cigoto debería poseer ya toda la información para "fabricar" un organismo muy similar a los progenitores. En segundo lugar, el proceso de desarrollo procede por etapas invariantes, es decir, es muy ordenado, y va de lo simple a lo complejo. De ello se dedujo que debería existir un "programa", o sea, unas instrucciones para "leer" la información inicial y dar lugar a un conjunto armoniosamente organizado de millones o billones de células. Globalmente se planteaban dos preguntas clave: 1) en qué consiste la información existente en el cigoto y 2) cómo a partir de esa información se "construye" un organismo.

En 1944 se demuestra que el ácido desoxirribonucleico (DNA) es esta información inicial; el DNA es, por lo tanto, el material hereditario. En 1953 Watson y Crick proponen su famoso modelo de la doble hélice del DNA que aúna numerosas observaciones anteriores, da una explicación racional de la replicación, conservación y variación del material hereditario, e impulsa el nacimiento de la biología molecular. El DNA es una molécula formada por miles de unidades

funcionales contiguas, o genes; unidades hereditarias postuladas ya por Mendel en 1865. Cada célula contiene dos copias de cada gen, una procedente del padre y otra de la madre. Durante la división celular, ambas copias se replican fielmente conservando esta información en cada una de las células hijas. Cada gen posee la información para que la célula produzca ("fabrique") moléculas denominadas proteínas, distintas para cada gen, encargadas de realizar las tareas propias de cada célula: mantener una forma y un tamaño determinados, diferenciarse en tipos celulares concretos, multiplicarse, moverse o migrar, interaccionar con las células vecinas, morir, etc. En otras palabras, los genes controlan, vía proteínas, el comportamiento celular base de la estructura final de cada especie. Sin embargo, dado que el número estimado de genes presentes en cada una de las células iba desde algunos miles en los organismos inferiores hasta 100.000 en el ser humano, la tarea de identificar cada gen (o al menos los más importantes) y entender sus funciones durante el desarrollo, para así comprender cómo podía "fabricarse" un organismo, parecía una tarea fuera del alcance de la ciencia de mediados del siglo XX.

En este entorno temporal, en concreto el 20 de octubre de 1942, en plena II Guerra Mundial, nace en Magdeburgo (Alemania) Christiane Nüsslein-Volhard. Su padre era arquitecto y, con su madre, ambos buenos músicos y pintores. Christiane tuvo una infancia feliz, sin lujos, compartida con tres hermanas y un hermano. Sus intereses fueron múltiples e intensos, y era una lectora impenitente, afición derivada quizás de su notable timidez. Como estudiante fue muy dispersa, perezosa con los deberes y mediocre en los exámenes, excepto en aquellas materias por las que mostraba más interés y en las que sobrepasaba con creces lo exigido.

Aunque su vocación por la biología fue temprana, no es hasta finalizar la escuela secundaria en 1962 cuando, después de breves dudas con la medicina (aparentemente "curadas" después de ejercer un mes de enfermera en un hospital), decide iniciar sus estudios de biología en la Universidad de Frankfurt. Sin excesivo entusiasmo permanece en ella hasta que en 1964 se traslada a la Universidad de Tübingen para iniciar la nueva titulación de Bioquímica. El exceso de química orgánica y la poca biología de la nueva carrera le disgustan, aunque más tarde reconoce la solidez y utilidad de los conocimientos adquiridos en química, física, termodinámica y estereoquímica, y en especial los cursos de microbiología y genética al final de la carrera. Se gradúa en 1969 y, como de costumbre, con notas relativamente mediocres. En su proyecto de tesis doctoral desarrolla un método muy eficaz de purificación a gran escala de la RNA polimerasa y analiza los lugares de unión del fago fd a esta molécula, análisis que luego extiende a los del fago OX174. Con métodos harto rudimentarios, obtiene las secuencias de unión de estos fagos a la RNA polimerasa. Presenta su tesis en 1973 y, aun siendo ya una consumada bióloga molecular, decide cambiar de tema.

Su escepticismo, a la postre erróneo, respecto a las nuevas técnicas de DNA recombinante que se fraguaban en aquel entonces, y sus charlas con diversos profesores del Max-Planck-Institut de Tübingen, especialistas en biología celular y molecular y en formación de patrones morfológicos, inclinan su interés por la biología del desarrollo. Al tiempo, los trabajos de Friedrich Bonhoeffer sobre cribados genéticos para detectar mutantes que alteraban la replicación del DNA en *Escherichia coli* la convencen del poder de la genética para analizar procesos complejos como el desarrollo embrionario. A partir de estas premisas decide iniciar un proyecto posdoctoral para identificar mutaciones que afecten el contenido de información en el cigoto implicada en la formación del patrón embrionario. Con una beca de la EMBO (European Molecular Biology Organization) se traslada en 1975 al laboratorio de Walter Gehring en Basilea para iniciar el proyecto, utilizando *Drosophila melanogaster* como material de estudio.

En Basilea conoce a Eric Wieschau y otros colegas, luego también famosos en Biología Molecular y Genética del desarrollo. Aprende a fondo genética de *Drosophila*, desarrolla la denominada técnica del bloque para recoger huevos (cigotos) producidos por cruzamientos en masa, y con Jitse van der Meer desarrolla una técnica de fijación y transparentado de la cutícula larvaria extremadamente útil para revelar deta-

lles hasta aquel entonces nunca vistos. Con este bagaje inicia su primer cribado en masa de mutantes de efecto materno, del que surge uno de los mutantes más interesantes del futuro: *dorsal* o *dl*. En 1977 va como posdoctorada al laboratorio del embriólogo Klaus Sander, en Friburgo. Allí describe y analiza con gran precisión el patrón de los segmentos en embriones y larvas de *Drosophila*, y prosigue su trabajo en el mutante *dorsal*, descubriendo nuevos alelos mutantes e interpretando sus fenotipos según un modelo en gradiente de proteína dorsal; gradiente que sería clave para determinar el patrón dorsoventral del embrión. Diez años después, este modelo demostró ser absolutamente correcto en el aspecto molecular.

En 1978, John Kendrew, a la sazón director general del recientemente inaugurado European Molecular Biology Laboratory (EMBL) en Heidelberg, inicia un programa de reclutamiento de jóvenes talentos y ofrece un contrato por tres años (1978-1980) a Christiane Nüsslein-Volhard y a su antiguo colega en Basilea, Eric Wieschaus. Estos tres años van a ser cruciales en la carrera científica de ambos y los resultados obtenidos les harán merecedores del Premio Nobel de Medicina en 1995. Christiane y Eric trabajan codo con codo en un pequeño laboratorio, ayudados por dos técnicos. Deciden entonces iniciar un cribado masivo de mutaciones que afecten a la segmentación (formación de segmentos corporales) en el embrión y la larva. Tenían a favor su vasta experiencia en genética de *Drosophila*, haber aislado y analizado diversos mutantes de desarrollo del embrión, y sus conocimientos sobre la organización axial de la cutícula larvaria, en la cual habían descrito numerosos marcadores de posición y de polaridad. Técnicamente, Nüsslein-Volhard había desarrollado ya métodos que facilitaban el análisis en masa (el sistema de bloque para depositar huevos, el transparentado de cutículas), y ambos inventan nuevas técnicas para facilitar aún más la labor (por ejemplo unas canastillas que permiten fijar y clarificar siete embriones a la vez). No es exagerado decir que, en 1978, el dúo formado por Christiane Nüsslein-Volhard y Eric Wieschaus era el único en el mundo capaz de llevar a cabo el trabajo que emprendieron.

Un breve inciso sobre genética, mutaciones y el método genético. En comparación con otras estrategias experimentales, la obtención de mutaciones es una herramienta única y singular para analizar el papel o la función de componentes individuales en el desarrollo. En primer lugar, sólo un componente, el producto génico (o proteína) codificado por el gen mutado, queda eliminado o alterado, mientras que el resto del organismo permanece intacto. De esta manera, la función del gen se deduce de su fenotipo mutante, es decir, la forma en que el embrión se desarrolla en ausencia del producto génico. En segundo lugar, genes con fenotipos mutantes similares es probable que tengan funciones similares, y que sus productos cooperen en un proceso concreto del desarrollo. De esta manera, los genes y sus funciones se agrupan en programas concretos de desarrollo que dan lugar a estructuras determinadas.

Hasta aquel momento sólo se había detectado y analizado en *Drosophila* un número escaso de mutaciones del desarrollo, con fenotipos dispares e inconexos. Frente a ello, el proyecto de Nüsslein-Volhard y Wieschaus introduce dos características novedosas. En primer lugar, el ingente número de genes que deberían controlar el desarrollo les hace optar por estudiar un solo proceso, concreto y crucial: la segmentación. En segundo lugar, para detectar todos los genes en ella implicados optan por una mutagénesis masiva; es decir, generan miles de líneas mutantes y analizan cada una con sumo detalle para detectar alteraciones del patrón segmental de la cutícula. El resultado de este monumental esfuerzo, sólo explicable por su enorme tesón y talento, una férrea organización y los avances técnicos antes reseñados, fue detectar, definir y mapear 130 genes, distribuidos al azar en los cuatro cromosomas (número haploide) de *Drosophila*. De estos genes, unos 30, a los que se denominó “genes de segmentación”, afectaban el patrón segmental a lo largo del eje anteroposterior. Más importante aún, los fenotipos mutantes se agrupaban en tres clases: la clase *Gap* (brecha), en la cual bloques contiguos de segmentos desaparecen; la clase *Pair-Rule* (regla de parejas), en la cual alternativamente uno de cada dos segmentos contiguos desaparece; y la clase *Segment Polarity* (polari-

dad segmental), en la cual el número de segmentos no varía pero sí la polaridad anteroposterior de cada uno. Más tarde, en colaboración con Trudi Schüpbach y otros colegas, inician otro proyecto para detectar genes de efecto materno que modifiquen el patrón cuticular larvario. Obtienen otra colección de mutantes muy interesantes, de la que deducen que el cigoto tiene una estructura sencilla con productos génicos (mRNA y proteínas) de origen materno (procedentes del óvulo) distribuidos asimétricamente a lo largo de los ejes anteroposterior y dorsoventral. Posteriormente se demostró que estos productos génicos maternos, codificados por un número escaso de genes de efecto materno, activaban la expresión embrionaria de los antedichos, y más numerosos, genes de segmentación. Entre estos últimos se observó que los genes *Gap* controlaban a los *Pair-Rule*, y éstos a los *Segment Polarity*. De esta manera, la cadena "genes de efecto materno – genes *Gap* – genes *Pair-Rule* – genes *Segment Polarity*" representó el primer y más glorioso ejemplo en Biología del desarrollo de lo que entendemos por programa genético; es decir, las unidades (genes) y sus reglas de interacción que controlan la formación de un patrón estructural concreto, los segmentos.

En octubre de 1980 se publicó un resumen de estos hallazgos, con portada incluida, en la muy prestigiosa revista *Nature*. El interés que despertó fue inmediato y un número creciente de laboratorios empezaron a clonar y secuenciar estos genes y determinar su expresión en el embrión normal y en embriones mutantes.

A finales de 1980 el dúo se separa. Eric Wieschaus obtiene una plaza en Princeton (Estados Unidos) y Nüsslein-Volhard se traslada, en la primavera de 1981, como líder de grupo al Friedrich-Miescher Lab de la Max-Planck-Society en Tübingen. Junto a Gerd Jürgens y Kathryn Anderson, ambos excelentes genetistas, completan los cribados de genes de segmentación de efecto materno y cigóticos, trabajo que en 1984 ve la luz en tres publicaciones en la entonces prestigiosa revista *Roux's Archives*. Seguidamente inicia un análisis molecular en profundidad de los genes de efecto materno que controlan los dos ejes embrionarios. El resultado es, después de tres años de esfuerzos, la publicación en 1987, en *Science*, del primer modelo de cómo se establece el patrón anteroposterior en el embrión de *Drosophila*.

En 1986, Nüsslein-Volhard es nombrada Directora de la División de Biología del Desarrollo del Instituto Max Planck en Tübingen, puesto que aún ostenta. Inicia entonces la caracterización molecular de no pocos de los genes aislados en los anteriores cribados, lo que conduce a una mejor comprensión de los principios de determinación axial en el embrión, plasmados en otro importante artículo publicado en *Development* en 1990.

Estos momentos son paralelos a uno de los descubrimientos más trascendentales en Biología del desarrollo, con ramificaciones de enorme alcance en áreas muy diversas de la Biología, incluida la evolución y, como veremos, en Medicina. Su génesis puede retrotraerse a los genes detectados en el cribado genético de Nüsslein-Volhard y Wieschaus, a la detección en genes de vertebrados de regiones homólogas (es decir, procedentes de un ancestro común que ya las tenía), a regiones presentes en los denominados genes homeóticos de *Drosophila* (trabajo iniciado por E.B. Lewis) y a las brillantes consideraciones teóricas de François Jacob (1977), codescubridor del operón en bacterias y Premio Nobel 1965. Lo que nadie había esperado ni predicho se reveló entonces con suma claridad: todos los organismos, desde la humilde y simple esponja al encumbrado y complejo ser humano, poseen genes muy similares. Es más, el número de genes, antes tenido como marchamo de la complejidad estructural y funcional, es también muy similar desde las esponjas hasta los humanos. Las consecuencias son trascendentales, aunque intelectualmente devastadoras: la gran diversidad morfológica de animales y plantas no resulta de la presencia de genes distintos sino de cómo estos genes se combinan y relacionan entre sí en el espacio y en el tiempo durante el desarrollo embrionario.

Este hecho cambió la Biología para siempre, ya que a partir de los genes de *Drosophila* y de otro organismo modelo, el gusano nemátodo *Caenorhabditis elegans*, se detectaron y aislaron multitud de genes homólogos en vertebrados, la especie humana incluida. Por añadidura se

observó, salvando las pertinentes distancias, que determinados fenotipos mutantes en *Drosophila* se correspondían a alteraciones y patologías embrionarias y del adulto en los humanos. Es decir, la humilde *Drosophila* parecía ser un modelo excelente para entender y avanzar en la comprensión de no pocas enfermedades humanas y de otros procesos como el envejecimiento y la regeneración. Sin temor a exagerar, los genes aislados en los organismos modelo en Biología del desarrollo son, junto a las técnicas de ingeniería genética y biotecnología, el inicio de la nueva Biomedicina.

El reconocimiento de *Drosophila* como paradigma de la nueva Biomedicina llega tarde para que Nüsslein-Volhard desista en cambiar de nuevo de modelo de estudio y, sin dejar *Drosophila*, analizar el control genético del desarrollo de un vertebrado, el pez cebra. Además de su proverbial inquietud, Nüsslein-Volhard estaba más que harta de ser preguntada y haber de responder a burócratas, gestores y administradores de la investigación científica, tanto en Bruselas como en Alemania, para qué servía lo que hacía en moscas. Por ello decide, a mediados de los años 1980, iniciar un cribado genético similar al de *Drosophila* en el pez cebra. En 1986, con 44 años de edad, introduce las primeras peceras en el laboratorio y junto a dos estudiantes inician el proyecto. El resultado final es el desarrollo de las técnicas necesarias para cultivar, cruzar y mantener una infinidad de *stocks* mutantes, tarea que culmina con la inauguración, en septiembre de 1992, de un enorme acuario con 7000 tanques o peceras. A pesar de las evidentes diferencias estructurales entre la mosca y el pez, describe miles de mutantes de los cuales una parte sustancial tiene su homólogo en *Drosophila*, aunque puedan usarse para construir estructuras algo o bastante distintas. Otros mutantes, especialmente los relacionados con órganos sin correlato en la mosca, no están o están poco representados en *Drosophila*. En 1996, la revista *Development* publica un volumen monográfico que incluye más de 30 artículos sobre los mutantes en el pez cebra procedentes del laboratorio de Nüsslein-Volhard y de otros.

En 1995 recibe, junto a su compañero de cribado genético, Eric Wieschaus, y el pionero en el estudio de los genes homeóticos, Edward B. Lewis, el Premio Nobel en Fisiología o Medicina por su contribución en la investigación del control genético del desarrollo embrionario. Con su masivo cribado genético, Nüsslein-Volhard y Wieschaus introdujeron la "gran ciencia" en la Biología, acostumbrada hasta entonces, por su escasa financiación y por emplear a un número relativamente reducido de investigadores y estudiantes, a una ciencia a pequeña escala. Al tiempo, su cribado ofreció las primeras herramientas que revelaron la similitud genética existente entre los organismos. Ello obligó a biólogos y evolucionistas a postular, y luego demostrar, que la gran diversidad morfológica en animales y plantas se debe no a un incremento en el número de genes sino a diferencias en las combinaciones e interacciones de genes similares.

La lista de honores y premios anteriores y posteriores al Nobel es demasiado larga para reseñarla aquí. Miembro de las más prestigiosas sociedades científicas y academias extranjeras, es autora de más de 150 trabajos que han recibido cerca de 20.000 citas, y de algunos libros, entre los que destaca *Coming to life: How genes drive development* (Kales Press, 2006), donde explica las bases genéticas y celulares del desarrollo animal, y explora las implicaciones éticas de los avances recientes en genómica y biotecnología.

Consciente del esfuerzo y el sacrificio que supone, tanto para hombres como para mujeres, la carrera científica, pero muy especialmente por su condición de madres (potenciales o reales) para estas últimas, fundó en 1994 la Fundación Christiane Nüsslein-Volhard (*Christiane Nüsslein-Volhard Stiftung*). Su objetivo es ayudar a prometedoras jóvenes científicas con hijos a desarrollar ambas tareas, de madres y de investigadoras, sin renunciar ni a una ni a otra como sucedió en el pasado, y sucede aún, aunque en menor grado. Con esta finalidad, la Fundación otorga ayudas a doctorandas o posdoctoradas de cualquier nacionalidad que investiguen en Universidades o Centros de Alemania. Dicha ayuda puede emplearse para pagar "canguros" por las tardes/noches o para asistir a congresos, contratar otro tipo de ayudas domésticas, o comprar lavadoras y lavaplatos.

La vida y la obra de Christiane Nüsslein-Volhard revela la importancia de tener, aparte de una gran inteligencia natural, una mentalidad abierta e inquisitiva, motivación, pasión por las cosas, capacidad de leer, informarse y hablar con expertos, no temer al cambio, tanto en los temas como en los objetos científicos a tratar, y moverse viajando. En resumen, valor e independencia, con las dificultades añadidas en aquel momento por el hecho de ser mujer. No en vano Nüsslein-Volhard pasó de ser una bioquímica pura a ser genética, de los fagos a la *Drosophila*, y de ésta al pez cebra, y de Magdeburgo a Frankfurt, Tübingen, Basilea, Friburgo, Heidelberg y vuelta ya definitiva a Tübingen, con numerosas estancias y viajes a distintas partes del globo. Aunque es también evidente que el azar, tanto geográfico como personal, también desempeñó su papel. En los años 1970, Alemania y Suiza tenían laboratorios y escuelas con buenos embriólogos y genéticos, algunos desde décadas antes, a los que Nüsslein-Volhard debe su formación en estos campos. De no ser así, tal como sucedía en aquel momento en España, pese a sus innegables cualidades le hubiera resultado mucho más difícil, si no imposible, llegar donde ha llegado.