Christiane Nüsslein-Volhard

Jaume Baguñà Monjo

Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona

Durant el desenvolupament embrionari i postembrionari, una simple cèl·lula o zigot es transforma en un organisme adult amb un patró, una estructura o una forma pròpia de cada espècie. Entendre aquest procés, que des de l'antiguitat va meravellar tant els profans com els estudiosos de la natura, va exigir el concurs de ments preclares, abandonar concepcions dominades per la religió i el vitalisme, i molt especialment, la innovació i la millora constant de les tècniques d'observació i d'experimentació.

A mitjans del segle XIX es va produir un avenç clau. La teoria cel·lular, i els seus desenvolupaments posteriors, mostren que tot ésser viu és l'agregat harmoniós de multitud d'unitats individuals minúscules que anomenem *cèl·lules.* Es demostra, a més, que les cèl·lules d'un ésser adult s'originen per divisió d'altres cèl·lules d'estadis anteriors i així successivament, cap endarrere en el temps, fins arribar a la cèl·lula inicial o zigot. Al seu torn, el zigot és el producte de la unió de dues cèl·lules, anomenades *germinals,* una del pare (espermatozoide) i l'altra de la mare (òvul), durant la fecundació. D'aquesta manera, el desenvolupament embrionari és el procés que uneix les generacions successives (avis, pares, fills, etc.) al llarg del temps. Estructuralment parlant, la concepció cel·lular dels éssers vius implicava que una mosca del vinagre, *Drosophila melanogaster,* adulta és un milió de cèl·lules, procedents d'una cèl·lula inicial o zigot, organitzades en una forma que anomenem *mosca del vinagre.* De la mateixa manera, un ésser humà adult són cent bilions de cèl·lules organitzades en una estructura que, amb diverses variants, (de sexe, alçada, pes, color de pell, tipus de cabells, etc.) anomenem *Homo sapiens* o *ésser humà,* i que procedeix, al llarg del desenvolupament embrionari, d'una cèl·lula inicial.

Aquesta nova concepció sobre l'organització i el desenvolupament dels éssers vius va plantejar dos problemes nous davant dels quals la biologia de finals del segle XIX i principis del XX pràcticament no tenia resposta. En primer lloc, el desenvolupament embrionari és reproduïble o repetible; és a dir, de la unió de dues mosques sorgeix una mosca i no un cuc, i de la unió de dos gossos sorgeix un gos i no un gat. Per tant, l'òvul fecundat o zigot ja hauria de posseir tota la informació per «fabricar» un organisme molt similar als progenitors. En segon lloc, el procés de desenvolupament procedeix per etapes invariants, és a dir, és molt ordenat, i va d'allò simple a allò complex. D'això es va deduir que devia existir un «programa», és a dir, unes instruccions per «llegir» la informació inicial i donar lloc a un conjunt organitzat harmoniosament de milions o bilions de cèl·lules. Globalment es plantejaven dues preguntes clau: 1) en què consisteix la informació existent en el zigot i 2) com es «construeix» un organisme a partir d'aquesta informació.

El 1944 es demostra que l'àcid desoxiribonucleic (DNA) és aquesta informació inicial; el DNA és, per tant, el material hereditari. El 1953 Watson i Crick proposen el seu famós model de

la doble hèlix del DNA que aglutina nombroses observacions anteriors, dóna una explicació racional de la replicació, la conservació i la variació del material hereditari, i impulsa el naixement de la biologia molecular. El DNA és una molècula formada per milers d'unitats funcionals contigües, o gens; unitats hereditàries postulades ja per Mendel el 1865. Cada cèl·lula conté dues còpies de cada gen, una procedent del pare i l'altra de la mare. Durant la divisió cel·lular, totes dues còpies es repliquen fidelment conservant aquesta informació en cadascuna de les cèl·lules filla. Cada gen posseeix la informació perquè la cèl·lula produeixi («fabriqui») molècules anomenades *proteïnes,* diferents per a cada gen, encarregades de realitzar les tasques pròpies de cada cèl·lula: mantenir una forma i una grandària determinades, diferenciar-se en tipus cel·lulars concrets, multiplicar-se, moure's o migrar, interaccionar amb les cèl·lules veïnes, morir, etc. En altres paraules, els gens controlen, via proteïnes, el comportament cel·lular base de l'estructura final de cada espècie. No obstant això, atès que el nombre estimat de gens presents en cadascuna de les cèl·lules anava des d'uns quants milers en els organismes inferiors fins a cent mil en l'ésser humà, la tasca d'identificar cada gen (o almenys els més importants) i entendre'n les funcions durant el desenvolupament, per a així comprendre com es podia «fabricar» un organisme, semblava una tasca fora de l'abast de la ciència de mitjans del segle XX.

En aquest context temporal, en concret el 20 d'octubre de 1942, en plena Segona Guerra Mundial, neix a Magdeburg (Alemanya) Christiane Nüsslein-Volhard. El seu pare era arquitecte. Tant ell com la seva mare eren bons músics i pintors. Christiane va tenir una infància feliç, sense luxes, compartida amb tres germanes i un germà. Tenia interessos múltiples i intensos, i era una lectora empedreïda, afició derivada potser d'una timidesa notable. Com a estudianta va ésser molt dispersa, mandrosa amb els deures i mediocre en els exàmens, excepte en aquelles matèries per les quals mostrava més interès i en què sobrepassava amb escreix el que li exigien.

A pesar que ben aviat va sentir vocació per la biologia, no és fins que finalitza l'educació secundària el 1962 que, després de breus dubtes de si estudiar medicina (aparentment «guarides» després d'exercir un mes d'infermera en un hospital), decideix iniciar els estudis de biologia a la Universitat de Frankfurt. Sense un entusiasme excessiu s'hi queda fins que el 1964 es trasllada a la Universitat de Tübingen per iniciar la nova titulació de Bioquímica. L'excés de química orgànica i la poca biologia de la nova carrera no li agraden, tot i que més tard reconeix la solidesa i la utilitat dels coneixements adquirits en química, física, termodinàmica i estereoquímica, i especialment les assignatures de microbiologia i genètica del final de la carrera. Es gradua el 1969 i, com de costum, amb notes relativament mediocres. Al projecte de tesi doctoral desenvolupa un mètode molt eficaç de purificació a gran escala de l'RNA-polimerasa i analitza els llocs d'unió del fag fd a aquesta molècula, anàlisi que després estén als del fag OX174. Amb mètodes d'allò més rudimentaris, obté les seqüències d'unió d'aquests fags a l'RNA-polimerasa. Presenta la tesi el 1973 i malgrat ser ja una biòloga molecular consumada, decideix canviar de tema.

El seu escepticisme, al capdavall erroni, respecte de les noves tècniques de DNA recombinant que es forjaven en aquell temps, i les converses amb diversos professors de l'Institut Max Planck de Tübingen, especialistes en biologia cel·lular i molecular i en formació de patrons morfològics, la fan decantar per la biologia del desenvolupament. Els treballs de Friedrich Bonhoeffer sobre cribatges genètics per detectar mutants que alteraven la replicació del DNA en *Escherichia coli* la convencen del poder de la genètica per analitzar processos complexos com el desenvolupament embrionari. A partir d'aquestes premisses decideix iniciar un projecte postdoctoral per identificar mutacions que afectin el contingut d'informació en el zigot implicada en la formació del patró embrionari. Amb una beca de l'EMBO (Organització Europea de Biologia Molecular) el 1975 es trasllada al laboratori de Walter Gehring a Basilea per tal d'iniciar el projecte, emprant *Drosophila melanogaster* com a material d'estudi.

A Basilea coneix Erich Wieschaus i altres companys, que després també serien famosos

en biologia molecular i genètica del desenvolupament. Aprèn a fons genètica de *Drosophila,* desenvolupa l'anomenat *sistema de blocs* per a la recollida d'òvuls fecundats (zigots) produïts per encreuaments en massa, i amb Jitse van der Meer desenvolupa una tècnica de fixació i transparentat de la cutícula larvària d'allò més útil per revelar detalls mai vistos fins aleshores. Amb aquest bagatge inicia el seu primer cribatge en massa de mutants d'efecte matern, del qual sorgeix un dels mutants més interessants del futur: el *dorsal* o *dl.* El 1977 es trasllada com a investigadora postdoctoral al laboratori de l'embriòleg Klaus Sander, a Friburg. Allà descriu i analitza amb gran precisió el patró dels segments en embrions i larves de *Drosophila,* i continua la seva recerca en el mutant dorsal, tot descobrint nous al·lels mutants i interpretant els seus fenotips segons un model en gradient de proteïna dorsal; gradient que seria clau per determinar el patró dorsoventral de l'embrió. Deu anys després, es va demostrar que aquest model era absolutament correcte en l'aspecte molecular.

El 1978, John Kendrew, en aquell temps director general del recentment inaugurat Laboratori Europeu de Biologia Molecular (EMBL) de Heidelberg, inicia un programa de contractació de joves talents i ofereix un contracte de tres anys (1978-1980) a Christiane Nüsslein-Volhard i al seu antic company de Basilea, Eric Wieschaus. Aquests tres anys seran crucials en la carrera científica de tots dos i els resultats obtinguts els faran mereixedors del premi Nobel de Medicina el 1995. Christiane i Eric treballen estretament en un petit laboratori, amb l'ajuda de dos tècnics. Decideixen iniciar un cribatge massiu de mutacions que afectin la segmentació (formació de segments corporals) en l'embrió i la larva. Tenien a favor la seva vasta experiència en genètica de *Drosophila,* haver aïllat i analitzat diversos mutants de desenvolupament de l'embrió, i els seus coneixements sobre l'organització axial de la cutícula larvària, en què havien descrit nombrosos marcadors de posició i de polaritat. Tècnicament, Nüsslein-Volhard ja havia desenvolupat mètodes que facilitaven l'anàlisi en massa (el sistema de blocs per a la recollida de zigots, el transparentat de cutícules), i tots dos inventen noves tècniques per facilitar encara més la tasca (per exemple unes canastretes que permeten fixar i clarificar set embrions alhora). No és exagerat afirmar que, el 1978, la parella formada per Christiane Nüsslein-Volhard i Erich Wieschaus era l'única del món capaç de dur a terme la tasca que van emprendre.

Un breu incís sobre genètica, mutacions i el mètode genètic. En comparació amb altres estratègies experimentals, l'obtenció de mutacions és una eina única i singular a l'hora d'analitzar el paper o la funció de components individuals en el desenvolupament. En primer lloc, només un component, el producte gènic (o proteïna) codificat pel gen mutat, queda eliminat o alterat, mentre que la resta de l'organisme roman intacte. D'aquesta manera, la funció del gen es dedueix del seu fenotip mutant, és a dir, la manera en què l'embrió es desenvolupa en absència del producte gènic. En segon lloc, gens amb fenotips mutants similars és probable que tinguin funcions similars, i que els seus productes cooperin en un procés concret del desenvolupament. D'aquesta manera, els gens i les seves funcions s'agrupen en programes concrets de desenvolupament que donen lloc a estructures determinades.

Fins aleshores només s'havia detectat i analitzat en *Drosophila* un nombre escàs de mutacions del desenvolupament, amb fenotips dispars i inconnexos. El projecte de Nüsslein-Volhard i Wieschaus hi introdueix dues característiques innovadores. En primer lloc, el nombre ingent de gens que controlarien el desenvolupament els fa optar per estudiar un sol procés, concret i crucial: la segmentació. En segon lloc, per tal de detectar tots els gens que hi estan implicats opten per una mutagènesi massiva; és a dir, generen milers de línies mutants i les analitzen totes amb molt de detall per detectar alteracions del patró segmentari de la cutícula. El resultat d'aquest esforç titànic –només explicable per un talent i una tenacitat enormes, una organització fèrria i els avenços tècnics abans esmentats– va ésser detectar, definir i mapar 130 gens, distribuïts a l'atzar als quatre cromosomes (número haploide) de *Drosophila.* D'aquests gens, uns 30, que es van anomenar *gens de segmentació,*

afectaven el patró segmentari al llarg de l'eix anteroposterior. Més important encara, els fenotips mutants s'agrupaven en tres classes: la classe *Gap* (buit), en què blocs contigus de segments desapareixen; la classe *Pair-Rule* (regla de parelles), en què alternativament un de cada dos segments contigus desapareix; i la classe *Segment Polarity* (polaritat segmentària) en què el nombre de segments no varia però sí la polaritat anteroposterior de cadascun. Més tard, en col·laboració amb Trudi Schüpbach i altres col·legues, inicien un altre projecte per tal de detectar gens d'efecte matern que modifiquin el patró cuticular larvari. Obtenen una altra col·lecció de mutants molt interessants, de la qual dedueixen que el zigot té una estructura senzilla amb productes gènics (mRNA i proteïnes) d'origen matern (procedents de l'òvul) distribuïts asimètricament al llarg dels eixos anteroposterior i dorsoventral. Posteriorment es va demostrar que aquests productes gènics materns, codificats per un nombre escàs de gens d'efecte matern, activaven l'expressió embrionària dels gens de segmentació més nombrosos abans esmentats. Entre aquests darrers es va observar que els gens *Gap* controlaven els *Pair-Rule,* i aquests els *Segment Polarity.* D'aquesta manera, la cadena «gens d'efecte matern – gens *Gap* – gens *Pair-Rule* – gens *Segment Polarity*» va representar el primer exemple, i el més gloriós, en biologia del desenvolupament d'allò que entenem per *programa genètic;* és a dir, les unitats (gens) i les seves regles d'interacció que controlen la formació d'un patró estructural concret: els segments.

A l'octubre de 1980 es va publicar un resum d'aquestes troballes, amb portada inclosa, en la prestigiosa revista *Nature.* Va despertar un interès immediat i un nombre creixent de laboratoris va començar a clonar i seqüenciar aquests gens i a determinar-ne l'expressió en l'embrió normal i en embrions mutants.

A finals de 1980 els dos investigadors se separen. Eric Wieschaus obté una plaça a Princeton (Estats Units) i Nüsslein-Volhard es trasllada, a la primavera de 1981, com a cap de grup al Laboratori Friedrich Miescher de l'Institut Max Planck de Tübingen. Amb Gerd Jürgens i Kathryn Anderson, ambdós genetistes excel·lents, completen els cribatges de gens de segmentació d'efecte matern i zigòtics, treball que treuen a llum el 1984 en tres publicacions en l'aleshores prestigiosa revista *Roux's Archives.* Seguidament inicia una anàlisi molecular en profunditat dels gens d'efecte matern que controlen els dos eixos embrionaris. El resultat és, després de tres anys d'esforços, la publicació el 1987, a *Science,* del primer model de com s'estableix el patró anteroposterior en l'embrió de *Drosophila.*

El 1986 nomenen Nüsslein-Volhard directora de la Divisió de Biologia del Desenvolupament de l'Institut Max Planck de Tübingen, càrrec que encara ocupa. Inicia aleshores la caracterització molecular de molts dels gens aïllats en els cribatges anteriors, caracterització que condueix a una comprensió més bona dels principis de determinació axial en l'embrió, plasmats en un altre article important publicat a *Development* el 1990.

Aquests moments són paral·lels a un dels descobriments més transcendentals en biologia del desenvolupament, amb repercussions de gran abast en àrees molt diverses de la biologia, inclosa l'evolució i, com veurem, de la medicina. La gènesi es pot remuntar als gens detectats en el cribatge genètic de Nüsslein-Volhard i Wieschaus, a la detecció en gens de vertebrats de regions homòlogues (és a dir, procedents d'un ancestre comú que ja les tenia), a regions presents en els anomenats *gens homeòtics* de *Drosophila* (treball iniciat per E.B. Lewis) i a les consideracions teòriques tan brillants de François Jacob (1977), codescobridor de l'operó en bacteris i premi Nobel el 1965. El que no havia esperat ni predit ningú es va revelar aleshores amb summa claredat: tots els organismes, des l'esponja simple i humil fins l'encimbellat i complex ésser humà, posseeixen gens molt similars. És més, el nombre de gens, abans considerat com a indicador de la complexitat estructural i funcional, és també molt similar des de les esponges fins als humans. Les conseqüències són transcendentals, si bé intel·lectualment devastadores: la gran diversitat morfològica d'animals i plantes no resulta de la presència de gens distints sinó de com es combinen i es relacionen entre si aquests gens en l'espai i en el temps durant el desenvolupament embrionari.

Aquest fet va canviar la biologia per sempre, ja que a partir dels gens de *Drosophila* i d'un altre organisme model, el cuc nematode *Caenorhabditis elegans,* es van detectar i aïllar multitud de gens homòlegs en vertebrats, inclosa l'espècie humana. A més, es va observar, salvant les distàncies pertinents, que determinats fenotips mutants en *Drosophila* es corresponien a alteracions i patologies embrionàries i de l'adult en els humans. És a dir, la humil *Drosophila* semblava un model excel·lent per entendre i avançar en la comprensió d'un gran nombre de malalties humanes i d'altres processos com l'envelliment i la regeneració. Sense por d'exagerar, els gens aïllats en els organismes model en biologia del desenvolupament són, al costat de les tècniques d'enginyeria genètica i biotecnologia, l'inici de la nova biomedicina.

El reconeixement de *Drosophila* com a paradigma de la nova biomedicina arriba tard perquè Nüsslein-Volhard desisteixi de canviar altre cop de model d'estudi i, sense deixar *Drosophila,* analitzar el control genètic del desenvolupament d'un vertebrat, el peix zebra. A banda de la seva inquietud proverbial, Nüsslein-Volhard estava més que tipa que li preguntessin i d'haver de respondre a buròcrates, gestors i administradors de la recerca científica, tant a Brussel·les com a Alemanya, per a què servia el que feia en mosques. Per això decideix, a mitjans dels anys vuitanta, iniciar un cribatge genètic similar al de *Drosophila* en el peix zebra. El 1986, als quaranta-quatre anys, introdueix les primeres peixeres al laboratori i inicia el projecte amb dos estudiants. El resultat final és el desenvolupament de les tècniques necessàries per conrear, encreuar i mantenir una infinitat de reserves de soques mutants, tasca que culmina amb la inauguració, al setembre de 1992, d'un aquari gegantí amb 7000 peixeres. Malgrat les diferències estructurals evidents entre la mosca i el peix, descriu milers de mutants dels quals una part substancial té el seu homòleg en *Drosophila,* encara que es puguin utilitzar per construir estructures una mica o força diferents. Altres mutants, especialment els relacionats amb òrgans sense correlat en la mosca, no estan o estan poc representats en *Drosophila.* El 1996 la revista *Development,* publica un volum monogràfic que inclou més de trenta articles sobre els mutants en el peix zebra procedents del laboratori de Nüsslein-Volhard i d'altres.

El 1995 rep, al costat del seu company de cribatge genètic, Eric Wieschaus, i el pioner en l'estudi dels gens homeòtics, Edward B. Lewis, el premi Nobel de Fisiologia o Medicina per la contribució en la recerca del control genètic del desenvolupament embrionari. Amb el seu cribatge genètic massiu, Nüsslein-Volhard i Wieschaus van introduir la «gran ciència» a la biologia, acostumada fins aleshores, pel finançament escaç i per emprar un nombre relativament reduït d'investigadors i estudiants, a una ciència a petita escala. Al mateix temps, aquell cribatge va oferir les primeres eines que van revelar la similitud genètica existent entre els organismes. Això va obligar biòlegs i evolucionistes a proposar, i després demostrar, que la gran diversitat morfològica en animals i plantes no es deu a un increment en el nombre de gens sinó a diferències en les combinacions i les interaccions de gens similars.

La llista d'honors i de premis anteriors i posteriors al Nobel és massa llarga per reproduir-la aquí. Membre de les societats científiques i acadèmies estrangeres més prestigioses, és autora de més de 150 treballs que han rebut prop de 20.000 citacions, i d'alguns llibres, entre els quals destaca *Coming to life: how genes drive development* (Kales Press, 2006), en què explica les bases genètiques i cel·lulars del desenvolupament animal, i explora les implicacions ètiques dels avenços recents en genòmica i biotecnologia.

Conscient de l'esforç i del sacrifici que suposa, tant per a homes com per a dones, la carrera científica, però molt especialment per la seva condició de mares (potencials o reals) per a aquestes últimes, el 1994 va fundar la Fundació Christiane Nüsslein-Volhard (Christiane Nüsslein-Volhard Stiftung). Té com a objectiu ajudar joves científiques prometedores amb fills perquè puguin desenvolupar totes dues tasques, de mares i d'investigadores, sense haver de renunciar ni a l'una ni a l'altra com va succeir en el passat, i encara succeeix, tot i que en un grau menor. Amb

aquesta finalitat, la Fundació atorga ajudes a doctorandes o investigadores postdoctorals de qualsevol nacionalitat que facin recerca a universitats o centres d'Alemanya. Aquesta ajuda es pot emprar per pagar cangurs a les tardes o les nits o per assistir a congressos, contractar altres tipus d'ajudes domèstiques, o comprar màquines de rentar roba o rentar plats.

La vida i l'obra de Christiane Nüsslein-Volhard revela la importància de tenir, a banda d'una gran intel·ligència natural, una mentalitat oberta i inquisitiva, motivació, passió per les coses, capacitat de llegir, d'informar-se i de parlar amb experts, no témer el canvi, tant en els temes com en els objectes científics que es vol tractar, i moure's viatjant. En resum, valor i independència, amb les dificultats afegides en aquell moment pel fet d'ésser dona. No en va Nüsslein-Volhard va passar d'ésser una bioquímica pura a ésser genètica, dels fags a la *Drosophila,* i d'aquesta al peix zebra, i de Magdeburg a Frankfurt, Tübingen, Basilea, Friburg, Heidelberg i, altre cop i de manera definitiva, a Tübingen, amb nombroses estades i viatges a diferents parts del globus. Si bé també és evident que l'atzar, tant geogràfic com personal, també hi va tenir un paper important. Als anys setanta, Alemanya i Suïssa tenien laboratoris i escoles amb bons embriòlegs i genètics, alguns des de feia dècades, a qui Nüsslein-Volhard deu la formació en aquests camps. Si no hagués estat així, tal com succeïa en aquell moment a Espanya, malgrat les qualitats innegables, li hagués resultat molt més difícil, si no impossible, arribar on ha arribat.

Bibliografia

– Nüsslein-Volhard C. Nobel Lecture Banquet Speech, Estocolm, 1995. Disponible a: http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1995/nusslein-volhard-autobio.html
– Nüsslein-Volhard C, Wieschaus E, Kluding H. Mutations affecting the pattern of the larval cuticle in Drosophila melanogaster. Roux's Arch Dev Biol 1984;193:267-82