

MARGARITA SALAS

ADN polimerasa phi29

Luis Camps Casadella

Carlos Negro

Joan Burdeos

Innovaciones científicas que cambiaron el
mundo

Proyecto de investigación

Seu del Nord, Vinaròs

Curso 2019-2020

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN

BIOGRAFÍA

CARRERA CIENTÍFICA

RECONOCIMIENTOS

PREMIOS

LA MUJER EN LA CIENCIA

JÓVENES

RECIENTE

SOBRE SU DESCUBRIMIENTO

PCR y COVID-19

CONCLUSIÓN

BIBLIOGRAFÍA

INTRODUCCIÓN

El pasado 7 de noviembre fallecía a la edad de 80 años una de las mayores científicas españolas del s. XX.

Por tal razón nuestro grupo tuvo la idea de homenajear a la mujer española del siglo XX y más aun a la mujer del recién estrenado siglo XXI a través de esta reconocida científica española.



BIOGRAFÍA

- La científica Margarita Salas (Canero, Asturias, 1938 – Madrid, 7 de noviembre de 2019), se distinguió por una técnica capaz de multiplicar de forma sencilla el ADN a partir de pequeñas muestras.
- Fue profesora honoraria del Centro de Biología Molecular Severo Ochoa.
- Su padre, médico de profesión, alentó su pasión por las ciencias y a los dieciséis años se trasladó a Madrid para realizar las pruebas de acceso de Química y Medicina, ingresando en la facultad de Químicas.



BIOLOGÍA MOLECULAR

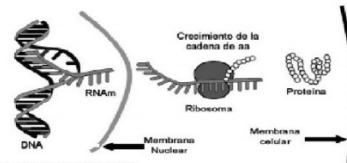


Figura 3. Proceso de transcripción y traducción del ADN.

CARRERA CIENTÍFICA

Margarita Salas se licenció en Ciencias Químicas en la Universidad Complutense de Madrid.

Elaboró su tesis en el laboratorio de Alberto Sols, pionero de la bioquímica en España.

Una vez finalizada su tesis doctoral en 1963 emigró a EEUU: se marchó de una España que años después calificaría como un "páramo científico".



En el país norteamericano trabajó durante cuatro años junto al Premio Nobel Severo Ochoa en el Departamento Científico de la Escuela de Medicina de la Universidad de Nueva York, continuando su investigación postdoctoral bajo la dirección del prestigioso Severo Ochoa, de quien se la considera discípula.

Ambos realizaron importantes avances en la traducción genética, como la dirección del mensaje.



En 1967 regresó a Madrid, donde se incorporó al Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

Publicó más de 200 trabajos científicos.

Hasta el momento de su muerte fue “**Profesora vinculada *ad honorem***” en el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), realizando su trabajo en el Centro de Biología Molecular Severo Ochoa de Madrid (CSIC-UAM).

Entre sus mayores contribuciones científicas después de décadas de estudio destacan la determinación de la direccionalidad de la lectura de la información genética durante su etapa en el laboratorio Severo Ochoa, así como el descubrimiento de la proteína ADN Phi29 polimerasa, una enzima con capacidad para producir copias genéticas de forma precisa partiendo de rastros escasos, como por ejemplo, una simple gota de sangre. Dicho descubrimiento tiene múltiples aplicaciones biotecnológicas debido a la altísima capacidad de amplificación del ADN.

Con ello revolucionó la genética y expandió las pruebas genéticas a campos como la medicina forense, la oncología o la arqueología.

RECONOCIMIENTOS



Condecorada con la Gran Cruz de la Orden Civil de Alfonso X el Sabio y de la Medalla de Oro del Principado de Asturias, de Madrid y de la Universidad Complutense, dijo que ser reconocida como inventora era "emocionante y muy gratificante".

Entre otros reconocimientos está el Premio Jaume I de investigación en 1994.

Fue directora del Instituto de España (1995-2003), organismo que agrupa la totalidad de las *Reales Academias Españolas*.

Dirigió anualmente el curso de la Escuela de Biología Molecular "Eladio Viñuela", dentro de los cursos de verano de la Universidad Internacional Menéndez Pelayo en Santander.

Fue miembro de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, de la Real Academia Española de la Lengua, de la Academia Europea de Ciencias y Arte, de la American Academy of Microbiology y de la American Academy of Arts and Sciences.

Fue nombrada *doctora honoris causa* por las universidades Rey Juan Carlos, de Oviedo, de Extremadura, de Murcia, Politécnica de Madrid, Jaén, Cádiz, Málaga, de la UNED y de la Universidad Menéndez Pelayo.

En 1992 le puso su nombre a un Instituto de Educación Secundaria en Majadahonda (Comunidad de Madrid). Actualmente hay otro Instituto de Educación Secundaria llamado igual en Seseña (Toledo).

En mayo de 2007 fue nombrada miembro de la Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos, convirtiéndose así en la primera mujer española que entra a formar parte de la institución. En 2014 fue seleccionada por la revista Quo, en colaboración con el Consejo Superior de Investigaciones Científicas y el Consejo Superior de Deportes, para la primera «Selección Española de la Ciencia», compuesta por trece científicos españoles destacados a escala internacional.

En marzo de 2015 las Casas de Asturias, Alcalá de Henares, Alcobendas y los Centros Asturianos de Madrid y Tres Cantos la distinguieron con el título de «Asturiana Universal» por su «brillante y exitosa carrera internacional como científica e investigadora en el campo de la biología molecular».

Es marquesa de Canero desde el 11 de julio de 2008, por Real Decreto. El título nobiliario, que será hereditario, le fue concedido por su «entrega a la investigación científica sobre la biología molecular, realizada de forma intensa y rigurosa a lo largo de toda su vida profesional».

Dentro de su activa carrera destacan prestigiosos reconocimientos, entre los que cabe destacar:

Primera mujer científica miembro de la Real Academia Española (RAE)

Miembro de la Academia Nacional de Ciencia de EEUU (2007)

“Investigadora europea 1999” por la Unesco.

PREMIOS

- 2000: Premios L'Oréal-UNESCO Mujeres en Ciencia.
- 2005: Medalla de Oro al Mérito en el Trabajo.
- 2006: Premio a la Excelencia concedido por FEDEPE (Federación Española de Mujeres Directivas, Ejecutivas, Profesionales y Empresarias).
- 2009: Título de Embajadora Honoraria de la Marca España, categoría de Ciencias e Innovación, que falla el Foro de Marcas Renombradas Españolas con el beneplácito del Ministerio de Asuntos Exteriores y Cooperación.
- 2009: Premio Mujer Líder 2009, concedido por la Fundación Rafael del Pino, Aliter y Merck.
- 2009: Premio a "Toda una vida profesional" de la Fundación Mapfre.
- 2014: Premio a la Excelencia Química, concedido por el Consejo General de Colegios Oficiales de Químicos despampanante.

LA MUJER EN LA CIENCIA

Margarita Salas fue hasta el final una científica comprometida con el papel de las mujeres en la investigación.

"En esa época se pensaba que las mujeres no estábamos capacitadas para investigar. Me discriminaron por eso, estuve muy discriminada. Las cosas han cambiado mucho".

Recordaba sobre los comienzos de su tesis en los 60.

Y acabó diciendo: "Yo siempre digo: espero que en un futuro no muy lejano la mujer obtenga en el mundo de la ciencia el puesto que le corresponde. Siempre de acuerdo con su capacidad y su trabajo, independientemente de que sea hombre o mujer".

«Se pensaba que no estábamos capacitadas. A mí se me discriminaba por ser mujer, no se me tenía en cuenta, era invisible... Ahora se habla de techos de cristal, pero entonces ni siquiera se contemplaba un techo», comentaba a ABC en una entrevista a raíz del último doble premio concedido por la oficina Europea de Patentes, hablando sobre el papel de la mujer en la ciencia.



La bioquímica no lo tuvo fácil en un momento en el que los logros femeninos no estaban ni mucho menos vinculados a los ámbitos STEM (Ciencia, ingeniería y tecnología): «Cuando yo empecé, en 1961, se pensaba que nosotras no estábamos preparadas. **Ahora se tienen las ideas mucho más claras que entonces**», decía mirando con esperanza un futuro en el que los nombres de mujeres no fueran una «rara avis» como en sus inicios.

Según recuerda la **Asociación de Mujeres Investigadoras y Tecnólogas (AMIT)**, que también lamenta profundamente el fallecimiento de Margarita Salas, "fue incansable en la denuncia de la situación de discriminación de las mujeres en la ciencia. Ella misma

reconocía que tardó en darse cuenta de ese hecho y de cómo había afectado a su propia carrera, pero una vez que fue consciente ya no se detuvo en la denuncia pública de esa discriminación".

ELADIO VIÑUELAS Y SEVERO OCHOA

De su compañero en la vida y la ciencia, hablaba maravillas. "He tenido un marido fantástico con el que siempre ha habido mucha complicidad y una hija maravillosa".

El verano de 1958 conoce a **Severo Ochoa**, quien tendría una gran influencia en su carrera orientándola hacia la bioquímica.

Dijo sobre su mentor: «Severo Ochoa sí me tenía mucha consideración. No me discriminó para nada por el hecho de ser mujer. Si hacía buen trabajo, me lo reconocía. Yo creo que su mentalidad era tratar a todos por igual, no dependiendo si éramos hombres o mujeres, sino por nuestra valía».

JÓVENES

Usó su visibilidad durante años para reivindicar los derechos laborales de los investigadores y denunciar la falta de recursos en el ámbito científico, lo que obliga a muchos jóvenes a irse fuera de España. "El problema es que tenemos muy poca financiación. Realmente, llevamos varios años que estamos en mínimos. Incluso sufrimos los que estamos ya investigando porque cada vez nos llega menos apoyo económico para realizar nuestra investigación".



"Por otra parte, sufren mucho los jóvenes que se forman y hacen muy buenas tesis doctorales para después tener que irse al extranjero. Lo cual es bueno, siempre está bien ir a hacer una estancia postdoctoral, pero el problema reside en que, en este momento, los jóvenes que salen no pueden volver por falta de financiación".



RECIENTE

En junio de 2019 Margarita Salas fue distinguida en Viena con el Premio Inventor Europeo 2019 al conjunto de su carrera por la Oficina Europea de Patentes por su papel pionero en la investigación genética, dentro de la categoría **“Logros a toda una vida”**.

También ganó el premio del jurado popular como la mejor inventora de 2019.

Al recibir el premio, Margarita Salas citaba a su mentor Severo Ochoa: "Un país sin investigaciones es un país sin desarrollo".

"Margarita Salas es una pionera en el campo de la genética molecular y un referente para todas las mujeres en la ciencia", dijo el presidente de la Oficina Europea de Patentes, Antonio Campinos.




OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS
 ESPAÑA

Número de publicación: **2 387 295**
 Número de solicitud: 201130200
 Int. Cl.
 C12Q 1/68 (2001)

PATENTE DE INVENCION B1

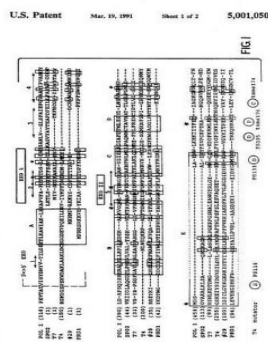
Fecha de presentación: 05.02.2011
 Fecha de publicación de la solicitud: 19.09.2012
 Fecha de la concesión: 19.07.2013
 Fecha de publicación de la concesión: 21.07.2013

Titulares:
 CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC) (198.0%)
 CSIC, 157
 28002 MADRID (MADRID) ES

Inventores:
 SALAS PALQUIERAS, Margarita;
 MENSA CABALLERO, Mamen;
 DE VEGA JOSÉ, Miguel;
 LASARO ROLLO, Jose M^a y
 SELLA MONTERO, Pablo

Agencia/inventor:
 PONS ARINO, Angel

Resumen:
 Método de amplificación de ADN basado en los orígenes de replicación de bacteriófago φ29 y secuencias nucleotídicas asociadas. La presente invención se refiere a un método de amplificación de ADN basado en los orígenes de replicación del bacteriófago φ29, así como a las combinaciones genéticas, vectores y organismos que pueden emplearse en dicho método para amplificar una secuencia exógena de interés.




OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS
 ESPAÑA

Número de publicación: **2 103 741**
 Int. Cl.⁷: C12P 19/34
 C12Q 1/68
 C12N 9/12
 C07H 15/12
 C07H 17/00

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

Número de solicitud europea: **0000857.6**
 Fecha de presentación: **13.04.00**
 Número de publicación de la solicitud: **0 527 728**
 Fecha de publicación de la solicitud: **24.05.00**

Título: **Procedimiento de clonación de ADN (de virus) que emplean ADN polimerasa de φ29 modificada y un fragmento de ADN que codifica dicho polimerasa.**

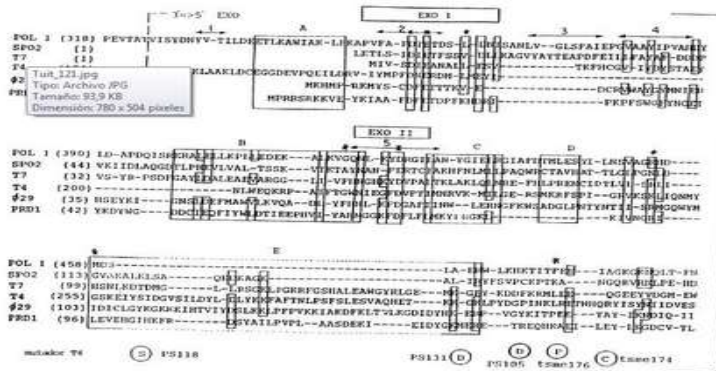
Inventor/es: RIBERA, Luis;
 GARCIA, Alberto P.
 Agente: Esteban Martínez, Alberto

Fecha de la publicación de la mención SCOP: 01.10.07
Fecha de la publicación del folleto de patentes: 01.10.07

ES 2 103 741 T3

Aviso: En el plazo de tres meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, el titular de la patente o su representante legal, deberá presentar un escrito de oposición, en el que se alegue un motivo de oposición, para que se proceda a la oposición. La oposición se tramitará como un procedimiento de oposición en el plazo de tres meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes.

Oficina Española de Patentes y Marcas - C/Alcalá, 48 - 28014 Madrid



ES 2 103 741 T3

Patente ES2103741T3

La patente está relacionada con la reacción en cadena de la polimerasa de K. Mullis (conocida como PCR, por sus siglas en inglés), que multiplica el número de copias de ADN de una muestra (amplificación), que, por su escasa cantidad, no sería analizable. En dicha reacción juegan un papel fundamental las enzimas (proteínas que catalizan reacciones químicas) denominadas ADN polimerasas, que intervienen para dar a cada célula hija una copia del ADN original durante la división celular.

SOBRE SU DESCUBRIMIENTO

Entre los logros de su carrera, Salas cuenta con el descubrimiento de la **ADN polimerasa del virus bacteriófago phi29**, que tiene una aplicación crucial en biotecnología: permite amplificar el ADN de manera sencilla, rápida y fiable. Por ello se usa en medicina forense, oncología y arqueología, entre otras áreas.



UTILIZACIÓN

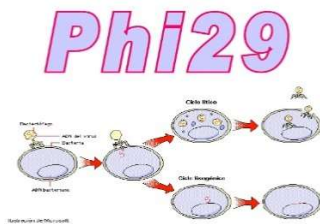
“Esta polimerasa se usa en todo el mundo y se aplica en análisis genético, forense y paleontológico, entre otros”, enumeró Salas, tras recoger el premio. “Cuando uno tiene cantidades pequeñas de ADN, como un pelo hallado en un crimen o unos restos arqueológicos, esta ADN polimerasa amplifica millones de veces el ADN para poder ser analizado, secuenciado y estudiado”, añadió.

Como se podrá fácilmente intuir, las aplicaciones son varias:

- *Equipamientos de los modernos hospitales.*
- *Trabajos en cualquier laboratorio de biotecnología.*
- *Herramientas para la policía científica.*

¿Podrías explicar el tema de tu investigación, de manera breve y sencilla? Le preguntaron un día.

Ella respondió: “El tema de mi investigación es el estudio de un virus que infecta a la bacteria *Bacillus subtilis*. A estos virus se les denomina virus bacterianos, bacteriófagos o fagos. El nombre del **bacteriófago** con el que trabajó es phi29. Entre otras cosas, estudiamos el mecanismo de *duplicación* del ADN. Hemos descubierto que el ADN de **phi29** tiene una proteína unida a sus extremos, que es la encargada de iniciar la duplicación del ADN viral realizada por una ADN polimerasa que se sintetiza cuando el fago infecta a la bacteria. Esta ADN polimerasa tiene propiedades que no existen en otras polimerasas como su alta procesividad o su capacidad de desplazamiento de cadena.



Además, posee una alta fidelidad. Todas estas propiedades han hecho de la ADN polimerasa de phi29 la polimerasa utilizada para la **amplificación del ADN**, es decir, partiendo de cantidades muy pequeñas de ADN, sintetizar millones de copias del mismo.”.

PCR Y COVID-19.

SU RELACIÓN CON MARGARITA SALAS.

Al realizar una prueba de diagnóstico mediante PCR, lo que permite detectar es un **fragmento del material genético** de un patógeno o microorganismo. La PCR, cuyo uso es común y rutinario en los laboratorios de Microbiología de hospitales, centros de investigación y universidades, se basa en las características de estabilidad al calor de una enzima polimerasa. Así lo explica **Inmaculada Casas**, investigadora del Área de Virología del Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) y miembro del Comité Científico Técnico del coronavirus.



Tras el análisis en un laboratorio de Microbiología de una muestra respiratoria de una persona sospechosa de estar infectada, **si la prueba detecta ARN del virus, el resultado es positivo**. Así, se sabría que ese paciente tiene Covid-19. En cambio, si la técnica de PCR no detecta el material genético del virus, la persona no estaría infectada.

Cuando existe cierta sospecha clínica importante, añade Casas, se debe **realizar otra prueba**. De esta manera, se asegura que el paciente no está infectado por el virus.



El diagnóstico a través de **PCR presenta cierto grado de complejidad**. Requiere personal entrenado y preparado para su correcta realización.

Las PCR tienen tres características básicas:

- **Alta especificidad:** puede diferenciar entre dos microorganismos muy cercanos evolutivamente.
- **Alta sensibilidad:** puede detectar cantidades de 20 copias/ml -o incluso menos- de material genético viral.

- **Precoz:** se detecta el virus en las primeras fases respiratorias.

A pesar de la eficacia de esta técnica que se ha utilizado desde el inicio del brote de coronavirus, surge la necesidad de incluir un **diagnóstico más veloz** ante la evolución del virus. Inmaculada Casas señala la importancia de poder contar con herramientas más ágiles para impulsar el diagnóstico de la enfermedad. Es por eso que ahora se están empezando a realizar pruebas mediante una segunda batería de técnicas, los citados test de diagnóstico rápido. Estos permiten conocer en **10 o 15 minutos** si una persona está o no infectada. Por su parte, las PCR pueden llegar a tardar varias horas.

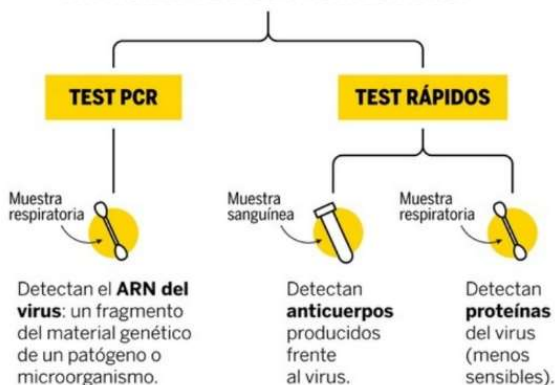
Si los test rápidos pueden detectar el virus en menos tiempo que a través de PCR, surge una pregunta: **¿Por qué no se han utilizado antes?** La respuesta es que no se ha podido. Hasta que no se ha contado con un buen número de pacientes infectados, **no ha sido posible desarrollarlos** para poder caracterizar los anticuerpos. Sin embargo, la PCR es una prueba de diagnóstico directo con la que sí se ha podido hacer desde el primer momento en que se secuenció el virus.

La investigadora del ISCIII indica que, a diferencia de la PCR, los test rápidos no identifican el ARN del virus, sino que usa dos métodos distintos:

- A través de una muestra de sangre son capaces de detectar **anticuerpos** producidos frente al virus.
- A través de muestras respiratorias de exudado nasofaríngeo pueden detectar **proteínas** del virus.

Estos test se basan en una inmunocromatografía en papel, es decir, una plataforma que tiene “pegadas” las proteínas del virus para detectar anticuerpos o anticuerpos específicos para descubrir las proteínas del virus. Su funcionamiento es **similar al de los test de embarazo**.

¿CÓMO SE DIAGNOSTICA EL COVID-19 A PACIENTES CON SÍNTOMAS?



Su rapidez sirve de gran ayuda en estos momentos, ya que presenta una gran ventaja en la situación actual: **se pueden realizar en el domicilio** de un caso sospechoso, ayudando a no saturar los hospitales, aunque siempre bajo la supervisión de un profesional sanitario.

Gracias a estas herramientas rápidas se podrá mejorar el cribado en la población y limitar los ensayos de PCR sólo a aquellos pacientes que, con sintomatología, den un resultado negativo mediante los test rápidos, permitiendo con esto **liberar profesionales y recursos** en el Sistema Nacional de Salud.

El inventor de esta técnica llamada Reacción en Cadena de la Polimerasa, o PCR, fue un norteamericano loco (muy loco) llamado Kary Mullis, ganador del Premio Nobel en 1993.

En 1989, pocos años después de que Mullis inventara la PCR (1983), **Margarita Salas y sus colaboradores descubrieron una nueva ADN polimerasa en el fago Φ 29**. Un fago es el diminutivo de un virus bacteriófago, llamado así porque infecta a las bacterias, no a otras especies como nosotros. Los fagos son seres (si vivos o no, es una eterna polémica en biología) muy simples y es sencillo trabajar con ellos en el laboratorio. Y en cuanto a esto, Φ , es la letra griega Phi (“fi”).

La ADN polimerasa del Φ 29, descubierto por Margarita Salas y sus colaboradores, resultó tener unas propiedades muy interesantes.

Con el tiempo llegó a utilizarse para desarrollar **una técnica alternativa a la PCR llamada Multiple Displacement Amplification (MDA)**, o Amplificación por Desplazamiento Múltiple.

La MDA hace básicamente lo mismo que la PCR, aunque con ciertas ventajas y algún inconveniente.



Entre las primeras, produce cadenas de ADN más largas con menos errores, **por lo que es especialmente apropiada para muestras muy escasas –como el ADN de una sola célula–** donde interesa amplificar fragmentos largos sin errores –por ejemplo, genes humanos donde puede haber una mutación de una sola letra del ADN–. Entre los segundos, cuando en una muestra hay dos versiones del mismo ADN ligeramente diferentes –por ejemplo, las dos copias de un gen que hemos recibido de papá y mamá–, la polimerasa del $\Phi 29$ tiene una molesta tendencia a amplificar una de ellas y olvidarse de la otra.

En los últimos años, la MDA se ha convertido en una verdadera alternativa a la PCR, utilizándose extensamente para amplificar y leer genomas completos, incluso de una sola célula. Entre sus usos destacan la detección de mutaciones causantes de enfermedades genéticas o las pruebas forenses de ADN; lo que hace el CSI.

CONCLUSIÓN

“Lo que pasa es que la investigación no da resultados a corto plazo, más bien a largo. Pero si no invertimos ahora en investigación, dentro de cinco o diez años no tendremos nada. Hay que invertir a pesar de la crisis porque dará frutos”.

Margarita Salas

Margarita Salas ha sido brillante hasta para elegir el día de su muerte.

Un siete de noviembre, hace 152 años, nacía Marie Curie, científica de altura y pionera en el campo de la radiactividad. Fue la primera mujer en ser profesora en la Universidad de París y la primera persona en recibir dos premios Nobel en distintas especialidades (física y química).

Margarita Salas nunca recibió el premio Príncipe/Princesa de Asturias.



BIBLIOGRAFÍA

<https://blogs.20minutos.es/ciencias-mixtas/2019/11/09/esto-es-lo-que-hizo-margarita-salas-y-este-es-el-reconocimiento-que-nunca-se-le-dio/>

<https://gacetamedica.com/investigacion/como-funcionan-y-en-que-se-diferencian-las-pcr-y-los-test-rapidos-de-coronavirus/>

https://www.eldiario.es/sociedad/Fallece-cientifica-Margarita-Salas-molecular_0_961004153.html

https://www.abc.es/sociedad/abci-muere-bioquimica-margarita-salas-discipula-severo-ochoa-201911071209_noticia.html

<https://www.elmundo.es/ciencia-y-salud/salud/2019/11/07/5dc3fb1bfdddf1f058b456e.html>

<https://www.csic.es/es/actualidad-del-csic/fallece-margarita-salas-una-de-las-mayores-cientificas-espanolas-del-siglo-xx>

https://elpais.com/elpais/2019/11/07/ciencia/1573124363_991474.html

<https://www.lavanguardia.com/ciencia/20191107/471440598998/muere-margarita-salas.html>

https://www.elplural.com/leequid/ciencia/en-diferencian-pruebas-pcr-test-rapidos-diagnostico-coronavirus_236790102

<https://www.madrimasd.org/blogs/patentesymarcas/2014/patentes-historicas-la-polimerasa/>