



Autor: Francisco Javier Calvó Monreal

**Els primers anys de la biologia molecular a
Catalunya, sabers i tècniques: l'Escola
Estructuralista de Joan Antoni Subirana i
Jaume Palau**

Tesi doctoral

Directora: María Jesús Santesmases Navarro de Palencia

Tutor: Xavier Roqué Rodríguez

Centre d'Història de la Ciència

Universitat Autònoma de Barcelona

2009

Portada: El Departament de Química Macromolecular, durant l'estiu de 1977, segons una pintura de Jordi Maragall i Mira. (Dimensions: 390 x 180 cm; Aquest quadre no pot ser reproduït sense l'autorització de Jordi Maragall i Mira).

***"Begin at the beginning and go on
till you come to the end: then stop"***

Lewis Carroll

***"Information is not knowledge,
knowledge is not wisdom,
wisdom is not truth"***

Frank Zappa

Índex

	Agraïments	9
1.	Introducció	13
1.1.	Motius que justifiquen aquesta tesi	15
1.2.	Contextualització de la recerca	16
1.2.1.	La biologia molecular europea, després de la Segona Guerra Mundial	17
1.3.	Resum de la tesi	19
1.4.	Metodologia i Fonts	22
1.4.1.	La història de la ciència del segle XX i les seves fonts	22
1.4.2.	Les fonts	23
1.4.2.1.	Les fonts secundàries: els treballs de referència	23
1.4.2.2.	Les fonts primàries	24
1.4.3.	Una reflexió al voltant de les fonts emprades	32
1.5.	La bibliografia	32
2.	Orígens d'un projecte d'equip: els anys de formació de Joan Antoni Subirana i Jaume Palau (1958–1965)	35
2.1.	Les bases químiques de l'herència: estat de la qüestió	35
2.2.	Un problema més complex: l'estructura i organització del cromosoma. Connexions internacionals	41
2.3.	El context científic de la formació post doctoral de Subirana i Palau	43
2.4.	La formació doctoral i postdoctoral de Joan Antoni Subirana	43
2.4.1.	L'estada a Harvard amb Paul Doty i els treballs en la renaturalització del DNA	48
2.4.2.	El Weizzmann Institute a Rehovoth, Israel	59
2.5.	La formació doctoral i postdoctoral de Jaume Palau	61
2.5.1.	Els cursos a Madrid i Varenne	64
2.5.2.	Breu història de les histones	69

2.5.3.	La formació postdoctoral de Jaume Palau: el Chester Beatty Research Institute i el King's College de Londres, 1964-1965	71
2.6.	Conclusions	80
3.	El projecte de recerca i la seva consolidació, 1963-1967	91
3.1.	Els inicis del projecte: la primera proposta de recerca	91
3.2.	La proposta de recerca als NIH	113
3.3.	L'estada de Subirana a Houston i el retorn de Palau a Barcelona	118
3.4.	Inicis d'institucionalització de la recerca: la secció de biopolímers, 1966	122
3.5.	Conclusions	123
4.	De la Secció de Biopolímers al Departament de Química Macromolecular i l'Institut de Biologia Fonamental	129
4.1.	Interessos i sabers de Subirana: el discurs a l'Escola d'Enginyers i la incorporació a la Càtedra	129
4.2.	Biofísica i biologia molecular a Espanya: la seva consolidació en un context internacional	133
4.2.1.	El fracàs de la institucionalització de la biofísica: contextos nacionals	135
4.2.2.	Els contactes de Subirana amb la IUPAB i la Primera Reunió de Biofísica	142
4.2.3.	Els contactes entre Subirana i John Kendrew	152
4.2.4.	La institucionalització i posada en marxa de l'IBF	154
4.2.4.1.	Un referent: els nous centres europeus en biologia molecular	155
4.2.4.2.	L'Institut de Biologia Fonamental	157
4.2.5.	El Departament de Química Macromolecular: la institucionalització de la recerca	162
4.3.	Conclusions	164
5.	Histones: un objecte material de recerca	173
5.1.	L'estructura i organització del cromosoma. Estat de la qüestió	174
5.2.	Les histones, a principis de la dècada dels 1960s	176

5.3.	Definició i composició de les histones	179
5.4.	Els mètodes d'obtenció de les fraccions històniques. Les tècniques i els instruments emprats en la recerca	181
5.5.	Un projecte de recerca en histones a Barcelona	182
5.5.1.	L'elecció dels materials d'estudi i els inicis de la recerca	184
5.6.	De la Plaça de la Universitat a la Diagonal: de la Secció de Biopolímers al Departament de Química Macromolecular i el desenvolupament del programa de recerca	189
5.7.	L'experimentació en histones al Departament de Química Macromolecular: problemes i tècniques	194
5.7.1.	Del <i>supercoiling</i> al nucleosoma	195
5.8.	Estructura i evolució de les histones	197
5.9.	La recerca de Palau des de l'IBF i l'estructura de la nucleohistona	202
5.10.	Conclusions	210
6.	El DQM i les tècniques de difracció de RX aplicades als estudis de la nucleohistona	223
6.1.	Estructura d'histones i tècniques de difracció de RX	223
6.2.	La primera posada en marxa del laboratori de RX	227
6.2.1.	Algunes consideracions al voltant dels instruments de la biologia molecular	227
6.2.2.	Alexander Rich	229
6.2.3.	Les tècniques de difracció de RX a Barcelona	232
6.3.	L'origen de les càmeres RICH	233
6.4.	Les primeres proves a Barcelona	235
6.5.	L'optimització del laboratori de RX al DQM. Joaquim Lloveras, el disseny i les modificacions dels instruments	237
6.5.1.	Un exemple de les capacitats del DQM: les càmeres RICH fabricades a Barcelona i les modificacions dels instruments estàndard	238
6.5.2.	Serveis i manteniment del laboratori de RX	241

6.6.	La interacció entre el DQM i el taller/laboratori de l'Escola d'Enginyers: obrint les "caixes negres"	242
6.7.	Els primers treballs en difracció de RX (1973-1977)	244
6.8.	Conclusions	254
7.	Epíleg	275
7.1.	De les fibres als cristalls	275
7.2.	Trobades científiques i trobades humanes	277
8.	Conclusions	281
9.	Bibliografia	291
10.	Annexos	313

Agraïments

A les lectures que em van permetre la preparació i posterior realització d'aquest treball, trobava sempre la idea que la biologia molecular havia estat una empresa duta a terme per grups de científics que, al mateix temps, establien contactes amb altres grups de científics, formant veritables xarxes de comunicació. Durant els anys de dedicació, a temps parcial, a la meva recerca, m'he adonat que la seva realització s'ha produït justament gràcies a l'establiment d'una xarxa de contactes personals que m'han ajudat a dur-la a terme.

En primer lloc, María Jesús Santesmasas, directora d'aquesta tesi i co-directora del treball de recerca que ha estat l'embrió d'aquest treball. El interès i ajuda en tot moment, tant en forma dels seus treballs com del contacte personal establert i les seves sempre imprescindibles orientacions i indicacions han fet possible dur a terme aquest projecte.

Xavier Roqué, co-director del treball de recerca i tutor d'aquesta tesi, qui em va proposar el tema i la possibilitat de comptar amb la col·laboració de María Jesús Santesmasas.

Passant als protagonistes més directes d'aquesta recerca, agrair a Joan Antoni Subirana la seva atenció i ajuda tantes vegades com li vaig demanar, tant pel que fa a entrevistes, l'accés a materials que han estat de gran utilitat durant la realització d'aquest treball, com ara fotografies, documents i treballs científics, i per accedir a llegir els esborranys tant del treball de recerca com d'aquesta tesi doctoral, i permetre'm l'ús de la seva correspondència amb Jaume Palau. En aquest sentit voldria agrair a Montserrat Cid i a Sònia Palau (vídua i filla de Jaume Palau) haver posat a la meva disposició aquests materials.

Joaquim Lloveras, qui també sempre ha mostrat un gran interès per aquest projecte i amb el qual he pogut parlar infinitat de vegades i que m'ha facilitat poder fer fotografies del laboratori de RX, disposar dels plànols d'alguns dels instruments, així com llegir i corregir els capítols més tècnics d'aquest treball, a més de proporcionar imatges dels anys que abasta aquesta recerca.

Lourdes Campos, responsable del laboratori de RX, per la seva paciència i amabilitat durant les estones passades fent les fotografies, així com per haver-me facilitat l'accés a les llibretes de registre d'activitats i materials del laboratori.

Cayetano Sierra i Francisco Navarro, del taller de mecànica de l'Escola d'Enginyers, que em van explicar la història del seu taller i la relació que van establir amb el grup de Subirana. Els seus comentaris em van permetre entendre molt millor tot el procés de construcció i modificació d'instruments científics.

Altres persones han prestat el seu ajut i col·laboració en el desenvolupament del meu projecte. En primer lloc, Soraya de Chadarevian, amb la qual vaig tenir l'ocasió de parlar extensament durant el seu pas per Barcelona la primavera de 2003, i que posteriorment m'ha proporcionat dades i contactes crucials per a la realització d'aquest treball. Els seus treballs sobre la historiografia de la biologia molecular al Regne Unit han estat imprescindibles per al desenvolupament d'aquesta memòria.

Pel que fa a l'obtenció d'informació de l'època immediatament anterior a la que s'estudia en aquesta memòria, voldria esmentar Mireia Artís, qui va estudiar l'establiment de la genètica com a assignatura a Catalunya i em va permetre consultar el seu treball de recerca al voltant d'aquesta qüestió.

Antoni Roca-Rosell, per donar-me l'oportunitat de presentar públicament part d'aquest treball, tant en forma de publicació als Quaderns d'Història de l'Enginyeria, com públicament a la mateixa seu on un dels grups protagonistes d'aquesta memòria ha estat desenvolupant el seu treball des dels anys 1960s.

La consulta d'arxius i biblioteques sempre es imprescindible i en aquest sentit vull donar les gràcies a Antoni Borfo, Elisabet Jiménez, Joan Padilla i Ana Pérez.

Altres persones que m'han ajudat amb el seu temps i les seves informacions han estat David Berol, Claudi Cuchillo, Antoni Fontdevila, Alícia Guasch, Ricard Guerrero, Mercè Piqueras, Eva Prats, Natàlia Quintana, Vivianne Quirke, Antoni Romeu, i Vladimir de Semir.

Al llarg del desenvolupament d'aquest projecte, els contactes personals, ja a través de les entrevistes o per correu, han estat imprescindibles. Quan un s'acostuma a aquests tipus de contactes personals amb la seguretat de tenir-los a disposició quan

es presenten noves preguntes o nous dubtes, la mort d'alguns d'ells representa una pèrdua seriosa que fa valorar encara més aquest tipus de font. Al llarg d'aquests anys, tres persones que m'han ajudat en alguns moments, ja no són aquí i en voldria fer esment: Joan Oró, Josep Egozcue i Uli Arndt. Voldria també recordar a Jaume Palau, a qui malauradament no he pogut conèixer, però que és ben present en moltes de les pàgines d'aquesta memòria.

Finalment, els meu agraïment és per a la meva companya Núria Pérez. Sense el seu suport i ajuda, la realització d'aquest treball no hauria estat possible.

Capítol 1

Introducció

Aquesta memòria tracta de la història dels primers anys del grup de recerca en biologia molecular encapçalat per Joan Antoni Subirana i Jaume Palau. L'enfocament escollit per desenvolupar-la serà estudiar les relacions entre els laboratoris, les institucions i les polítiques. Prenent en consideració tots aquests aspectes i entenent la biologia molecular en aquest sentit ampli, el treball s'articularà al voltant del paper que van jugar les tècniques i els instruments i de la capacitat d'intervenir en ells en funció de les necessitats a l'hora d'establir grups de recerca en biologia molecular a Espanya en un moment en el qual es van començar a posar en marxa una certes polítiques científiques i, per tant, es va disposar de finançament.

El treball que es presenta aquí consistirà en l'estudi de les condicions que es van donar durant els anys postdoctorals de Jaume Palau i Joan Antoni Subirana, protagonistes d'aquesta recerca, fent un èmfasi especial en els aspectes de la seva formació acadèmica, tant a Espanya com en centres de recerca de l'estranger, així com en els primers anys d'establiment dels seus grups de recerca, entre 1958 i 1977. Es mostrarà com, al temps que es va produir l'aprenentatge, es va donar una transició dels seus interessos, des de la química orgànica cap a la biologia molecular, com a conseqüència de les influències rebudes durant l'etapa postdoctoral. Al mateix temps que s'aprenien noves tècniques, es coneixien nous instruments i es perfilava un projecte de recerca.

En la línia de treballs recents en la historiografia de la biologia molecular, es tractaran en profunditat aquestes qüestions per tal de mostrar les capacitats del grup en aquests aspectes. Articular el treball al voltant del paper jugat per les tècniques i els instruments i de la capacitat d'intervenir en ells en funció de les necessitats, permetrà mostrar allò que sovint queda amagat a les publicacions científiques dins l'apartat de *material i mètodes*: els detalls experimentals referits a les tècniques aplicades i els instruments utilitzats.

L'any 1965, Joan Antoni Subirana i Jaume Palau, doctors en ciències químiques, van tornar a Barcelona procedents respectivament d'Israel i del Regne Unit, i es van instal·lar, en qualitat de col·laboradors del CSIC, al Departament de Genètica Animal i Humana de la Facultat de Ciències de la Universitat de Barcelona, en aquell moment sota la direcció d'Antoni Prevosti, on van posar en marxa un grup de recerca en biopolímers. Subirana va ésser admès en qualitat de col·laborador científic del Patronat Ramón y Cajal i Palau com ajudant del CSIC. Dos anys més tard, Subirana va guanyar plaça de Catedràtic a l'Escola Tècnica Superior d'Enginyers Industrials de Barcelona (ETSEIB) on, en coordinació amb el CSIC, va posar en marxa el Departament de Química Macromolecular, on va treballar tant en estructura de polímers sintètics com biològics. L'any 1969, Jaume Palau es veure immers en el procés de materialització d'una nova institució dedicada a la recerca biològica, l'Institut de Biologia Fonamental, al si de la nova Universitat Autònoma de Barcelona.

Per tal de conèixer en profunditat aquest procés s'estudiarà el desenvolupament del camp de recerca en el qual van treballar, així com el paper jugat per les institucions implicades, ja que la forma que va anar prenent el grup, així com la recerca desenvolupada, va ser el resultat de múltiples interaccions, tant intel·lectuals com metodològiques, personals i institucionals. S'estudiarà com es va fer la recerca i la influència que els líders i el seu grup van obtenir més enllà de les parets del laboratori, ja que no n'hi ha prou amb fer investigació original en el sentit d'aportar coneixement nou al ja existent: cal difondre'l als llocs i a les publicacions adequades, ja que el reconeixement obtingut pels científics procedeix tant dels resultats de la recerca i de la seva difusió com del recolzament dels mestres i companys i de les polítiques destinades a permetre-ho.

També es mostrarà com el grup va esdevenir l'embrió d'una escola que ha continuat fins l'actualitat, tal com es podrà constatar seguint els destins professionals dels seus deixebles i de la presència dels seus treballs en publicacions de referència. En aquest sentit, el desenvolupament de la investigació científica resulta difícilment separable del seu temps: té edat, nom i cognoms i el que avui són institucions de recerca consolidades a Catalunya, han estat construïdes en bona part gràcies a la

contribució i a la influència dels protagonistes d'aquesta tesi, en el context del desenvolupament internacional de la biologia molecular estructural.

1.1. Motius que justifiquen aquesta tesi

La historiografia de la bioquímica i la biologia molecular espanyoles ha estat ben desenvolupada per María Jesús Santesmases i Emilio Muñoz, principalment, però manca un estudi pel que fa als grups que es van iniciar a Catalunya durant la dècada dels 1960s i aquest és el principal motiu que ha impulsat aquesta memòria.¹ Es mostrarà com ha estat possible la reconstrucció dels primers anys, en el marc de la historiografia de la bioquímica i la biologia molecular, tant en el context espanyol com internacional, tot destacant les dinàmiques establertes entre el centre i la perifèria. Cal destacar en aquest punt que, tal i com es mostrarà, parlar de perifèria ho és gairebé només en un sentit geogràfic. El grup de recerca impulsat per Palau i Subirana, conegut posteriorment com l'Escola Estructuralista de Catalunya, no pot ser considerat científicament perifèric perquè de bon principi es va situar en el corrent principal del seu camp, la qual cosa és un altre dels motius d'investigar les trajectòries dels seus impulsors.

En el cas de la biologia molecular, l'àmplia distribució de les institucions científiques i de les pràctiques experimentals van donar cos a coneixements tècnics locals i a negociacions. Procedir a fer un estudi local no vol dir en cap cas *provincià*, ja que un estudi detallat de seves carreres, pràctiques i connexions institucionals ofereix la possibilitat de copsar les separacions i les connexions dels esdeveniments locals, nacionals i internacionals i d'investigar el curs d'aquests. Per dur-ho a terme es combinarà l'anàlisi detallat del treball al laboratori amb el de les estratègies de representació, institucionals i polítiques que es van utilitzar per establir el camp a escala local, sense deixar de banda l'escala estatal i internacional, ja que la biologia

¹ Entre d'altres referències, vegeu SANTESMASES i MUÑOZ (1994), SANTESMASES i MUÑOZ (1997a), SANTESMASES i MUÑOZ (1997b). Pel que fa al context internacional, vegeu especialment DE CHADAREVIAN (2002). Per a treballs previs a aquesta tesi, vegeu CALVÓ (2004a, 2004b, 2005b, 2006a, 2006b).

molecular va ser construïda tant al laboratori i a través de la circulació d'eines, models i estudiants postdoctorals, com en negociacions institucionals o comitès polítics, i en les discussions entre els participants sobre els *orígens* i els *pares fundadors*. La separació entre les negociacions institucionals i les carreres personals és artificial, però facilita la narració i l'anàlisi i mostra la manera complexa en que les col·laboracions al laboratori i les negociacions entre i dins de les disciplines estan connectades i juguen un paper dins d'un context local (de Chadarevian, 2002).

1.2. Contextualització de la recerca

Aquesta recerca se situa dins del marc general de la historiografia recent en biologia molecular.² Aquesta historiografia permet constatar que no hi ha una gran i única narrativa: hi ha una multiplicitat de perspectives i de metodologies que, de manera col·lectiva, donen llum a diferents aspectes d'aquesta. Fer historiografia de la biologia molecular no és només parlar de les seves diferències amb la bioquímica, la biofísica i la microbiologia. La biologia molecular s'ha d'entendre en un sentit ampli que inclou el disseny d'instruments i tècniques de laboratori, amb la conseqüent intervenció de físics, enginyers, biòlegs, biofísics, microbiòlegs i bioquímics (Kay, 1996). Per altra banda, els recursos, les institucions i les polítiques poden resultar insuficients per explicar la innovació i el creixement d'una disciplina i potser cal prendre precaucions a l'hora d'assignar un paper causal a la política científica (Creager, 1996; Gaudillière, 1996).

En altres casos, les negociacions polítiques, les decisions en política científica i les que es donen als laboratoris, es van produir al mateix temps. Llavors, el desenvolupament de la biologia molecular s'hauria de veure com un procés holístic entre el laboratori, la institució i la interrelació entre disciplines més que com una decisió política *de dalt a baix* o com una lluita per obtenir autoritat (de Chadarevian, 1996, 2002). Si no s'accepta la dicotomia causa-efecte i es consideren tots els altres

² KAY (1996), DE CHADAREVIAN (1996, 2002), CREAGER (1996, 2002) GAUDILLIÈRE (1996, 2002).

factors, es pot suggerir que hi ha contingències locals que fan possibles determinats successos, com el sorgiment del grup de recerca que serà objecte d'aquest estudi, donat que no hi ha patrons per a la història d'aquesta àrea.

El *retrat* que cal fer de la biologia molecular és *glocal*, *global-local*, on ambdós aspectes esdevenen inseparables.³ Nous estudis locals enriqueixen el quadre global i només aquestes narracions locals plenament contextualitzades podran proporcionar un enteniment dels processos implicats en la producció del coneixement en un moment concret.⁴ Es mostrarà que aquest caràcter *global-local* del desenvolupament de la biologia molecular és aplicable al cas objecte d'aquesta recerca i per aquesta raó es necessari fer un breu resum al voltant d'alguns trets generals del procés de la seva institucionalització a Europa.

1.2.1. La biologia molecular europea, després de la Segona Guerra Mundial

Si bé els orígens intel·lectuals de la biologia molecular es poden situar als voltants dels anys 1930s, aquesta va esdevenir una realitat social als voltants dels 1960s. A Europa, per la mateixa època, es van crear els primers instituts de biologia molecular a quatre països, Alemanya, Regne Unit, França i Suïssa, en el context de la reconstrucció econòmica de postguerra. Els plans americans per a la reconstrucció d'Europa van incloure importants mesures de suport de la ciència i la tecnologia, enteses com pilars per la seguretat i el benestar econòmic. Sovint s'ha assumit que el ràpid creixement de la biologia molecular després de la guerra només es va donar als tres països que dominaven la coalició guanyadora, els Estats Units, el Regne Unit i França, donada la seva relativa fortalesa econòmica.⁵ Però també s'ha suggerit que la fortalesa econòmica per sí sola no explicaria per què els estudis moleculars dels processos vitals van ser privilegiats per davant d'altres (Strasser, 2002).

³ Aquesta idea de *glocal*, *global-local*, ha estat presa de DE CHADAREVIAN i STRASSER (2002).

⁴ JORDANOVA (1993). "Gender and the historiography of Science". *British Journal for the History of Science*, 26, 469–83. Citat a DE CHADAREVIAN (2002).

⁵ ALLEN (1978). *Life Science in the Twentieth Century*. Cambridge, Cambridge University Press, citat per DE CHADAREVIAN (2002).

La biologia molecular hauria pres forma cap a meitat dels anys 1950s i hauria *reclamat* com a pròpia la recerca que s'havia fet entre els 1940s i 1950s que se situava en el camp, més ampli i divers, de la biofísica. Els biòlegs moleculars i, abans d'ells, els físics nuclears i els biofísics, van fer ús de manera efectiva de les oportunitats creades després del conflicte per avançar en la seva ciència i els seus esforços van preparar l'escenari pels futurs desenvolupaments que van donar a la biologia molecular la posició privilegiada que ocupa avui dia. La institucionalització de la biologia molecular a finals dels anys 1950s i principis dels 1960s no es pot entendre simplement com subsidiària dels programes intel·lectuals i de les pràctiques establertes durant el període d'entreguerres.

El poder de la instrumentació, més que no pas les qüestions específicament biològiques, van proporcionar sovint la legitimació per als primers projectes de recerca en biofísica. Tant els físics com els biòlegs o, més en general, els científics físics i de les ciències de la vida, van participar en l'expansió de la biofísica a la postguerra, i van aprofitar les oportunitats creades pels llegats de la mobilització de la segona guerra mundial i especialment de la promoció, anterior a aquesta, dels enfocaments físics i químics aplicats a la biologia, entre d'altres per part de la Fundació Rockefeller. Les exigències de l'expansió de la guerra, de la física i de les ciències de la vida van actuar com un poderós selector i promotor d'aquestes primeres iniciatives, i les tecnologies de les quals es va disposar van canviar radicalment les pràctiques de recerca (de Chadarevian, 2002).

Paral·lelament, a Europa es va materialitzar una nova forma de cooperació científica, quan els governs de diferents països es van posar d'acord en finançar una organització dedicada a la recerca, basada en la col·laboració entre aquests. Aquesta forma de cooperació, que va anar més enllà de la simple aliança de postguerra entre ciència i Estat va portar a una nova estructura i potent font de recursos i de negociació de nous espais acadèmics per a camps de recerca científica i tecnològica que requerien una forta inversió econòmica. Cal considerar aquests fets tant des d'una vessant científica com sociopolítica. Des del punt de vista científic es poden interpretar com una resposta a la transformació de treball experimental que ja havia començat a

donar-se als EUA abans de la Segona Guerra Mundial i a la necessitat de finançament per la construcció de nova instrumentació. Des del punt de vista sociopolític cal fer esment que, a principis dels 1940s, un conjunt de polítics carismàtics havien tornat a promoure la idea de la construcció d'una *Europa unida*, de crear noves institucions per prevenir un nou conflicte armat. La recerca científica s'havia d'inscriure en aquest context i els governs europeus no podien restar indiferents als desenvolupaments que s'havien donat en aquest sentit a l'altra riba de l'Atlàntic. El camí i el tipus de canvi havia estat establert pels EUA i les conseqüències eren clares: seguir aquest camí o deixar que els EUA dominessin l'avantguarda de la ciència. Però les oportunitats per als països europeus individuals eren limitades per manca tant de recursos humans com materials. Per aquest motiu es va fundar una organització d'abast europeu: *EMBO*, l'Organització Europea de Biologia Molecular (Krige, 1997).

A Espanya, amb un retard d'uns deu anys, cap a finals de la dècada dels 1960s, i després de complexes negociacions polítiques, es van crear dos centres de recerca: el Centro de Biología Molecular (CBM) a Madrid i l'Institut de Biologia Fonamental (IBF) a Barcelona, context dins del qual també cal situar el Departament de Química Macromolecular, en el que s'hi van trobar implicats els protagonistes d'aquesta recerca: Joan Antoni Subirana i Jaume Palau.

1.3. Resum de la tesi

Aquest treball tracta, en primer lloc i principalment, d'un grup de recerca particular, el que s'ha conegut com l'Escola Estructuralista de Catalunya, iniciat a mitjan de la dècada dels 1960s. Aquesta denominació, encunyada retrospectivament per Palau i Subirana, permet entendre la gènesi i desenvolupament dels seus grups, donat que van constituir una excepció a Espanya en el seu enfocament de la recerca en biologia molecular.⁶ L'escenari internacional exposat, el caràcter *glocal* de l'estudi que es vol desenvolupar, en el sentit d'inserir-lo dins el quadre global de la història de la

⁶ En aquest sentit, vegeu especialment SANTESMASES i MUÑOZ (1997a)

biologia molecular, ha portat a dividir-lo en els blocs temàtics que es descriuen a continuació.

En el segon capítol, immediatament després d'aquesta introducció, s'estudiarà el període de la seva formació acadèmica, entre els anys 1963 i 1967. Prèviament es farà una revisió d'alguns aspectes de la història de la biologia molecular on es destacaran els aspectes estructurals i els coneixements que es tenien al voltant d'aquestes qüestions a principis de la dècada dels 1960s, quan els protagonistes d'aquest treball van començar a planejar el seu futur científic durant les seves estades postdoctorals en laboratoris capdavanters en aquest camp. Es ressaltarà la importància de les trobades científiques que es van produir durant aquells anys i de les noves publicacions que van contribuir a la legitimació internacional de la biologia molecular estructural. També es dedicarà un espai especial als aspectes que permetran establir una posterior connexió amb el període de formació postdoctoral dels protagonistes d'aquesta memòria: els estudis estructurals de la nucleohistona o, en un sentit més ampli, de l'estructura del cromosoma.

El període de la seva formació acadèmica, abans esmentat, compren les seves estades de formació postdoctoral i el canvi produït en els seus interessos de recerca. Es mostrarà com aquest canvi va ser una conseqüència directa d'aquestes estades i, per aquest motiu, es dedicarà espai a donar detalls dels camps de recerca en els que es van integrar durant aquest període, als EUA i al Regne Unit.

El tercer capítol estudiarà els inicis del seu projecte de recerca. El fil conductor de la narració serà la correspondència que van mantenir durant les seves estades postdoctorals, que ha permès seguir detalladament el seu itinerari des de la química física de macromolècules a la biologia molecular estructural. Les primeres passes d'aquest nou grup s'estudiaran en el context no tant sols de les condicions que es donaven a la universitat espanyola, sinó també en relació amb els seus professors i mestres i situant el seu projecte de recerca en un context internacional. Per aquesta raó, es dedicarà espai a descriure el camp de recerca al qual es van voler dedicar i, encara més important, amb qui calia anar a treballar per aconseguir-ho.

El quart capítol estudiarà els inicis d'institucionalització de la seva recerca en el context de la legitimació de la biologia molecular a Espanya, el reconeixement internacional dels protagonistes i les seves relacions amb personatges clau de les associacions internacionals de científics que treballaven en el camp de la biofísica i de biologia molecular. Es tractarà la ubicació física definitiva del grup i el que en certa manera va dur al desdoblament del nucli inicial: Subirana i el seu grup a l'Escola d'Enginyers i Palau immers en la posada en marxa de l'Institut de Biologia Fonamental al si de la nova Universitat Autònoma de Barcelona. Al treball de recerca que ha estat la base d'aquesta memòria, es va estudiar el procés de posada en marxa d'aquesta institució. Si bé no s'aprofundirà en els aspectes institucionals relacionats, s'estudiarà la contribució científica de Palau al llarg de període que estudia aquesta memòria.

El capítol cinquè tractarà de la recerca de Subirana i Palau en el camp de l'estudi de la nucleohistona, estructura formada pel DNA i les seves proteïnes associades. Es farà un esment especial de les tècniques apreses i emprades, donat que aquestes van esdevenir inseparables del procés de producció de coneixement científic. Per aquest motiu, s'estudiarà detalladament l'estat de la qüestió dels estudis sobre histones des de principis de la dècada dels 1960s, quan els protagonistes d'aquesta recerca s'hi van començar a interessar. Considerant la consolidació del grup, s'estudiaran els inicis de la seva recerca a Barcelona, quan van començar a dirigir les tesis dels seus primers deixebles, i a publicar els seus treballs en revistes de referència. S'estudiarà detalladament la seva producció científica, tant dels seus grups o en col·laboració amb equips estrangers, fruit dels contactes que havien establert durant les seves estades postdoctorals.

Al sisè capítol, es tractaran els canvis que es van produir en les tècniques emprades i, en conseqüència, en els instruments de laboratori. Es destacarà la capacitat que va tenir el grup de Subirana de modificar la instrumentació estàndard, així com de dissenyar i desenvolupar prototipus d'instruments al disposar dels serveis del Taller de Mecànica de l'Escola d'Enginyers.

El capítol setè consistirà en un breu resum de l'estat de la qüestió al voltant de la recerca en els estudis estructurals de la nucleohistona durant la segona meitat de la

dècada dels 1970s. També es tractaran alguns aspectes relacionats amb les relacions que es van establir dins del grup. El capítol vuitè serà dedicat a les conclusions.

1.4. Metodologia i fonts

Com al treball de recerca previ a aquesta tesi, es segueix delimitant el període objecte d'estudi des de 1958 fins els inicis de la transició, 1977, per tal de cobrir els mateixos anys. Per aquest motiu, s'aprofundirà en l'estudi de la correspondència abans esmentada, així com en aspectes concrets de la recerca duta a terme per Palau i Subirana a partir de l'estudi de les seves publicacions en revistes especialitzades. Es tractarà de posar en context la seva recerca tant en relació amb la situació espanyola com respecte als grups estrangers per tal d'explicitar les seves contribucions al camp de la biologia molecular. A la primera part d'aquest projecte no es va estudiar el cas de l'Institut de Biologia Fonamental, per la qual cosa aquest cop s'analitzarà la producció científica de Palau des d'aquesta nova institució al llarg del període abans esmentat, donat que les relacions personals i científiques entre tots dos sempre es van mantenir.

Per tal de situar i posar en context la recerca duta a terme pels protagonistes durant els seus anys de formació postdoctoral i de posada en marxa dels seus grups, s'ha estudiat el desenvolupament de la biologia molecular, en especial els instruments que s'hi troben relacionats i els coneixements que van proporcionar al voltant de les macromolècules biològiques (proteïnes i DNA).

1.4.1. La història de la ciència del segle XX i les seves fonts

Abans de passar a descriure quines han estat les fonts utilitzades per desenvolupar aquesta tesi, és convenient fer esment d'alguns dels problemes que poden presentar-se en aquest sentit quan s'estudia un cas en el qual els principals protagonistes hi són presents. Segons Thomas Söderqvist (1997), hi ha uns problemes de caire general com ara un desequilibri entre la disponibilitat de fonts primàries, en forma d'escassetat de fonts d'arxiu i el corresponent excés de fonts fora d'aquests

arxiu. Pel que fa a la primera, la major part dels documents produïts, tal com cartes, llibretes de laboratori, lectures d'instrumentació i manuscrits, entre d'altres, es troben encara sota la custòdia dels científics i, pràcticament tots els documents dels estats intermedis del procés de recerca, són als despatxos i departaments. En aquest sentit es planteja el problema de poder accedir a aquestes fonts. Pel que fa a la segona, la sempre creixent producció de publicacions científiques i la consegüent sobrecàrrega de fonts escrites planteja un problema greu: quines publicacions són significatives i quines no deixen de ser *soroll de fons*? Una manera de resoldre-ho pot ser dependre de l'avaluació dels *científics-informadors*, en entrevistes o en articles de revisió, sobre quins documents i publicacions reflecteixen fets importants i tendències històriques (Söderqvist, 1997).

En el cas objecte d'aquesta recerca i tenint en compte que la formació de Palau i Subirana es va basar principalment en l'aprenentatge de tècniques de laboratori i d'ús de instruments, la lectura de la seva producció científica ha estat essencial ja que ha permès accedir a informació al voltant de materials d'estudi, tècniques emprades, instrumentació, etc., així com les cites bibliogràfiques que han permès conèixer l'estat de desenvolupament del camp de recerca en el que van treballar.

1.4.2. Les fonts

Per a l'elaboració d'aquest estudi s'han fet servir fonts primàries d'arxiu, editades i també d'inèdites, així com les secundàries que s'esmenten a continuació.

1.4.2.1. Les fonts secundàries: els treballs de referència

Per tal de posar en context el marc en el qual va sorgir, entre d'altres, el grup de recerca de Subirana i Palau, s'han fet servir els treballs de María Jesús Santemasés i

Emilio Muñoz sobre els grups espanyols, que han estat essencials per tal d'assolir aquest objectiu.⁷

La biologia molecular ha estat considerada com un cas de relacions interdisciplinàries i transnacionals, a l'hora que es tenien en compte els contextos locals (Abir-Am, 1992b). En primer lloc, s'ha revisat la historiografia de la biologia molecular internacional, que s'analitza més endavant mitjançant els treballs pioners de Horace F. Judson (1996) i Robert Olby (1990, 1994) que, en opinió dels historiadors, són les narracions estàndard del camp gràcies a la participació dels *científics-informadors* (de Chadarevian, 2002). Si bé aquestes han estat especialment útils per situar els estudis de cas referits a diferents països, també s'ha estudiat una àmplia bibliografia secundària que ha proporcionat informacions detallades per situar en context la recerca que s'exposa en aquesta memòria.⁸ S'han d'esmentar especialment els treballs de Soraya de Chadarevian sobre la biologia molecular al Regne Unit, la lectura dels quals ha influït en bona mesura en el desenvolupament de la meua recerca i amb qui tinc un deute intel·lectual.⁹

1.4.2.2. Les fonts primàries

a) D'arxius públics

a.1) Arxius Generals Universitaris

A l'Arxiu General i Històric de la Universitat de Barcelona, es van consultar els expedients acadèmics de Palau i Subirana. A l'Arxiu General de la Universitat Autònoma de Barcelona, es van obtenir i consultar els documents al voltant de la creació de l'Institut de Biologia Fonamental, del que Palau en va ser el primer director i

⁷ Entre d'altres publicacions, vegeu SANTESMASES i MUÑOZ (1994, 1997a i 1997b)

⁸ Apart dels articles publicats en revistes especialitzades, també s'han estudiat, entre d'altres els llibres esmentats a continuació: RHEINBERGER (1997), HOLMES (2001), DE CHADAREVIAN (2002), CREAGER (2002), GAUDILLIÈRE (2002), MORANGE (2003).

⁹ Vegeu DE CHADAREVIAN (2002).

es van estudiar les memòries dels anys que comprèn aquesta recerca. Aquesta documentació es troba arxivada a les capses següents:

P-1077; P-1113; P-1145; P-1251; P-1637; P-2751; P-2808; P-3024; P-3167; P-3168; VP 007; IG-0016; IG-0026; IG-0064.

a.2) Fonts d'arxius privats (no catalogades)

S'ha tingut accés a diversos materials conservats a l'arxiu de Joan Antoni Subirana a l'actual Departament d'Enginyeria Química (abans Departament de Química Macromolecular) de l'Escola d'Enginyers de Barcelona, amablement posats a la meua disposició. Igualment, s'ha pogut accedir a l'arxiu de Lluís Cornudella, antic col·laborador dels protagonistes d'aquesta recerca, al CID-CSIC de Barcelona. En ambdós casos, els materials estudiats ha permès obtenir valuoses informacions al voltant dels inicis del grup i de la seva legitimació tant al país com internacionalment.

a.3) Cartes

- S'ha disposat de part de la correspondència creuada entre Palau i Subirana durant l'època dels seus estudis postdoctorals fora d'Espanya, que consta de cinquanta-cinc cartes escrites entre el 18 de desembre de 1961 i el 31 d'agost de 1968. Malgrat que només s'han conservat les escrites per Subirana, el seu estudi ha permès fer un seguiment detallat de la trajectòria dels dos investigadors durant la seva formació postdoctoral en diversos aspectes: els pròpiament científics, referits a la seva formació, al seu projecte de posar en marxa el seu grup de recerca en tornar i les relacions establertes tant amb els científics dels centres estrangers com amb els de Barcelona, de la facultat de ciències i del CSIC entre d'altres. Aquest material ha estat amablement proporcionat per la família Palau, i s'ha citat com JAS a JP al llarg d'aquest treball.

- També s'ha disposat de la correspondència conservada als arxius de Lluís Cornudella abans esmentats. S'ha fet ús de la relacionada amb les reunions científiques celebrades a Barcelona al llarg de la primera meitat de la dècada dels 1970s.

b) Editades

Les fonts primàries editades han consistit principalment en:

- Els articles científics publicats pels grups de recerca de Palau i Subirana entre 1960 i 1977, cinquanta-cinc en total, que són citats a la bibliografia.
- La situació en el context de la seva recerca ha estat possible bàsicament gràcies als volums de revisió al voltant de les histones i l'estructura del cromosoma, publicats els anys 1964 i 1971 que consten a la bibliografia com a Bonner i Ts'o (1964) i Phillips (1971).
- S'han consultat les memòries del Consell Superior d'Investigacions Científiques dels anys 1965, 1968, 1970 i 1971, per tal de situar els protagonistes dins l'estructura d'aquesta institució.
- També s'ha pogut disposar i s'ha estudiat el discurs inaugural del curs 1967-68 a l'escola d'enginyers que va fer Subirana quan va esdevenir catedràtic i que consta a la bibliografia com Subirana (1967).
- Els materials de divulgació del Departament de Química Macromolecular, citat com UPB (1977) a la bibliografia.
- El llibre *La estructura del ADN* publicat per Subirana l'any 1985, com així consta a la bibliografia, que ha permès obtenir una perspectiva de la recerca duta a terme pel seu grup al llarg dels anys que avarca aquesta memòria.
- Les narracions al voltant de la seva trajectòria, que inclou un treball conjunt on ambdós autors expliquen els inicis i desenvolupament de la seva formació, citat com Palau i Subirana (1994) a la bibliografia.

- Una perspectiva des del punt de vista dels seus deixebles al llarg dels anys ha estat possible en haver consultat i estudiat el volum editat en ocasió del 65è aniversari de Joan Antoni Subirana, coordinat per Lluís Cornudella i citat com Cornudella (2001) a la bibliografia.
- El discurs de Subirana, d'acceptació com a membre de la Reial Acadèmia de Ciències i Arts de Barcelona, citat com Subirana (2005) a la bibliografia.

c) No editades

c.1) Les entrevistes

La següent font primària no editada han estat les entrevistes. A totes les narracions històriques, com ha estat el cas d'aquesta recerca, la reconstrucció de certs esdeveniments és important i els científics hi poden contribuir ja que han estat participants o testimonis dels seus temps, i de esdeveniments polítics i socials probablement no compartits amb l'historiador o bé viscuts amb diferent perspectiva.

Tot assumint els problemes que pugui presentar fer entrevistes a científics, tal com el conflicte entre els records i les fonts documentals d'arxiu o bé entre els records explicats i els documents escrits, aquestes fan que la història oral esdevingui essencial per entendre el desenvolupament de la ciència recent i és font habitual per a la història contemporània (Gaudillière, 1997; Holmes, 2001; de Chadarevian, 1997, 2002).

Les entrevistes amb els actors històrics poden proporcionar informació no disponible als documents escrits, donar suport a la interpretació del significat de documents, i donar accés a quaderns de laboratori o a correspondència privada, tal com ha estat el cas d'aquesta recerca. Les entrevistes són una clau important per reproduir i recrear, gràcies al record de l'entrevistat, històries i anècdotes que circulen dins la comunitat científica. A més, com en totes les narracions històriques, la reconstrucció de certs successos científics és important, i el record de l'entrevistat pot contribuir a fer-ho. En aquest treball, s'ha parlat amb els científics, amb els tècnics i

amb els mestres de taller. Això ha permès conèixer detalls del període que estudia aquesta recerca, així com l'accés a materials ja esmentats anteriorment.

Els contactes amb alguns dels entrevistats han estat continus al llarg de tot aquest projecte, com en el cas de Joan Antoni Subirana i Joaquim Lloveras, si bé a continuació només s'esmenten les entrevistes enregistrades i posteriorment transcrites. En aquest sentit Subirana va ser entrevistat els dies 11 i 21 de novembre de 2002, el 12 de desembre de 2002, el 19 de febrer de 2003, l'1 de juny de 2005 i el 13 de juliol de 2005. Joaquim Lloveras va ser entrevistat els dies 13 de febrer de 2003, el 27 de març de 2003 i el 22 de maig de 2003. Els contactes de caire més informal són els que han permès l'accés a materials d'arxiu i d'altres fonts que s'esmentaran més endavant, a més de discutir, comentar i corregir detalls dels esborranys d'aquesta memòria.

Amb data 25 de juny de 2003, van ser entrevistats Cayetano Sierra, catedràtic de mecànica de l'Escola d'Enginyers, i Francisco Navarro, mestre de taller de la mateixa càtedra, que van intervenir en la modificació i fabricació d'instrumental científic a petició del departament de Subirana. A aquesta entrevista també hi va assistir Joaquim Lloveras, com pot ser comprovat en la transcripció.

Com s'ha esmentat anteriorment, en aquesta continuació del projecte s'ha dedicat espai al cas de la recerca de Palau des del IBF. Per aquest motiu, apart de consultar les fonts d'arxiu corresponents, es va entrevistar a persones que van participar en la posada en marxa d'aquesta institució. Amb data 30 de juny de 2003 va ser entrevistat Claudi Cuchillo, secretari de l'IBF als inicis. Per tal de copsar l'ambient de treball i el funcionament d'algunes de les seves unitats de recerca, van ser entrevistats Ricard Guerrero, amb data 21 de febrer de 2003, i Josep Egozcue, els dies 12 de desembre de 2002 i 6 de febrer de 2003. Finalment, amb data 18 de setembre de 2003, va ser entrevistat Joan Oró.

Es interessant valorar l'experiència i els resultats obtinguts amb les entrevistes. El problema principal va ser com planificar-les i dur-les a terme. Des dels inicis del projecte es va plantejar la necessitat d'entrevistar els protagonistes principals i el primer pas va ser establir contacte amb ells per correu electrònic o per telèfon. En

aquesta primera ocasió els va ser explicat el projecte i se'ls va demanar si hi hauria cap inconvenient per la seva part en tenir una primera trobada i en l'enregistrament de la conversa. Va quedar ben establert des de bon principi que se'ls faria arribar una transcripció de la conversa i que seria necessària la seva autorització per a posteriors usos d'aquest material. En aquest punt cal destacar la importància de assolir la confiança de l'entrevistat o de l'entrevistada, per tal d'obtenir la seva col·laboració. Al mateix temps, també és important que l'entrevistat noti que s'entenen les complexitats de les qüestions científiques i dels detalls tècnics.

La lectura de les fonts secundàries va permetre planificar les següents entrevistes amb objectius més definits i concrets, seguint l'experiència prèvia d'autors que havien desenvolupat projectes similars. M'ha servit de model el llibre de Soraya de Chadarevian, *Designs for Life*, sobre la història de biologia molecular al Regne Unit després de la segona guerra mundial, citat abastament en aquesta introducció i al llarg d'aquest treball. Una publicació prèvia de la mateixa autora al voltant del seu projecte, que va ser inclòs al volum editat per Thomas Söderqvist, *The Historiography of Contemporary Science and Technology*, va proporcionar les bases per a posteriors entrevistes així com la manera d'estudiar les cartes i els quaderns de laboratori.¹⁰

Les entrevistes amb Subirana es van centrar, principalment, en detalls al voltant del seu grup de recerca i la seva situació internacional, el tipus de cultura científica que es va desenvolupar i la seva vida i carrera científica. Les entrevistes amb els enginyers i el mestre de taller es van centrar en detalls tècnics al voltant del procés de desenvolupament d'instrumentació i en el treball concret del laboratori. Malauradament, Jaume Palau, amic i col·lega de Subirana, va morir l'any 2000, dos anys abans de l'inici d'aquest projecte.

¹⁰ SÖDERQVIST (1997); DE CHADAREVIAN (1997; 2002).

d) Quaderns de laboratori i inventari d'instruments

Dins d'aquest grup de fonts, s'ha disposat dels quaderns de registre de les activitats del laboratori de RX del Departament de Química Macromolecular. L'ús d'aquest material ha permès situar en el temps alguns fets concrets al voltant dels inicis de les tècniques de difracció al laboratori, així com el seu funcionament durant els primers anys. Els detalls que consten en aquestes llibretes, inclouen la data de l'experiment, l'operador, la càmera i el generador de RX utilitzats, el tipus de mostra estudiada, la durada de l'exposició al RX, així com les incidències que es van produir en tots i cadascun d'aquests experiments.

També s'han consultat els quaderns d'inventari dels instruments del laboratori, on consten les seves característiques, el preu, data de compra i la propietat.

e) Plànols

En relació amb l'instrumental de laboratori, s'ha disposat dels plànols elaborats en paper mil·limetrat que van permetre tant la construcció de certs instruments, dissenys propis, com les modificacions introduïdes en d'altres de tipus estàndard, tal com s'explicarà detalladament. Aquests materials han estat amablement proporcionats per l'enginyer Joaquim Lloveras i es conserven al seu arxiu particular.

f) Fotografies

Dins d'aquest apartat, cal distingir dues categories d'imatges. En primer lloc, mercès a la col·laboració de Subirana, Lourdes Campos i Lloveras, es van fer dues sessions de fotografia al laboratori de RX, durant la tardor de 2003, on es van obtenir les imatges dels diversos instruments i instal·lacions que es presenten en aquest treball, que van ser obtingudes per l'autor i per Lloveras. Durant la tardor de 2008, i un cop més gràcies a la amabilitat de Joan Antoni Subirana i de Lourdes Campos, es

van obtenir imatges dels resultats dels experiments de RX duts a terme mitjançant els instruments que seran estudiats en aquesta memòria.

Amb aquestes imatges actuals he pretès mostrar aspectes relacionats amb els instruments de laboratori i documentar el procés de reproducció i/o còpia d'aquests, així com establir el necessari paral·lelisme entre els plànols elaborats i els materials produïts en haver tingut l'ocasió de poder assistir al desmuntatge d'alguns d'aquests instruments.

Dins de la segona categoria d'imatges originals que s'han conservat, i que han estat posades a disposició de l'autor per cortesia de Subirana i Lloveras, es troben les fotografies que han permès il·lustrar altres aspectes de la vida del grup de recerca que ha estat objecte d'aquest estudi, així com de les etapes de formació dels protagonistes d'aquest treball. Aquestes fotografies són fonts iconogràfiques que reflecteixen especialment l'ambient humà en el qual es va consolidar el grup de recerca del Departament de Química Macromolecular.¹¹

Considerant les dues categories d'imatges, s'ha pogut disposar dels materials següents:

- Imatges de Joan Antoni Subirana i de Jaume Palau, corresponents a l'època en que eren estudiants a la Universitat de Barcelona i de l'etapa postdoctoral.
- Imatges del personal del Departament de Química Macromolecular durant la dècada dels 1970s, en ocasió de celebracions festives.
- Imatges de tasques de recerca al mateix departament.
- Imatges relacionades amb trobades científiques que van tenir per seu el Departament de Química Macromolecular.
- Imatges de diversos instruments i instal·lacions del laboratori.
- Imatges obtingudes mitjançant els instruments del laboratori de RX.
- Imatges de l'obra de Jordi Maragall i Mira "DQM, estiu'77", efectuades per l'autor durant les tardors de 2007 i 2008 i, en el seu moment, pel fotògraf Roca i Junyent.

¹¹ Al voltant de les fotografies en la història de la Biologia Molecular, vegeu de Chadarevian (2003)

1.4.3. Una reflexió al voltant de les fonts emprades

Haver disposat d'una col·lecció de fonts molt diverses ha permès documentar el període que cobreix aquesta recerca tot desenvolupant l'enfocament holístic proposat al principi d'aquesta introducció, en el sentit d'estudiar les relacions entre els laboratoris, les institucions i les polítiques que van fer-ho possible. Cap de les fonts utilitzades ha estat determinant per ella mateixa en el desenvolupament d'aquesta recerca. Totes es complementen per tal de contribuir al quadre general de la història de la biologia molecular partint d'un context local. En aquest sentit, les fonts documentals d'arxiu no publicades, les publicacions científiques dels protagonistes d'aquesta recerca i els treballs de revisió de l'estat de la qüestió del camp en el que treballaran, han permès reconstruir la seva trajectòria durant el període estudiat, amb la possibilitat de detallar aspectes concrets referits, com s'ha dit, a tècniques de laboratori i a instruments. L'enteniment dels aspectes més directament relacionats amb la instrumentació ha estat possible gràcies a haver disposat dels plànols d'aquests instruments i de les imatges obtingudes. Detalls obtinguts al llarg de les entrevistes i les fotografies posen rostre als noms que apareixen tant a aquestes entrevistes com als treballs científics i mostren les relacions personals als departaments de recerca, que també contribueixen al quadre que pretén mostrar aquesta tesi.

1.5. La bibliografia

Donada la gran diversitat de fonts emprades, el criteri de citació ha quedat establert de la següent manera:

1.– Les obres que s'han consultat i que s'ha fet servir per a l'elaboració de la narració, són citades dins del text. Aquestes obres són tant d'historiografia de la biologia molecular com llibres científics de l'època que comprèn aquesta recerca.

2.– En nota al peu s'ha citat la correspondència, els treballs científics de Palau i Subirana, així com altres treballs que hi estan relacionats i que no han estat inclosos

en la bibliografia general. També s'han citat obres de la historiografia, quan s'ha cregut convenient en el sentit que la seva consulta pogués servir de guia i de complement per tal de situar alguns esdeveniments.

Capítol 2

Orígens d'un projecte d'equip: els anys de formació de Joan Antoni Subirana i Jaume Palau (1958–1965)

Cal fer unes consideracions prèvies abans de dedicar espai als protagonistes d'aquesta recerca, per tal de situar el context en el qual es va desenvolupar la seva formació postdoctoral en laboratoris capdavanters en els estudis estructurals dels components del cromosoma: les proteïnes i el DNA. El programa de recerca d'aquests laboratoris s'inseria en els desenvolupaments que s'havien anat produint al llarg del segle XX al voltant d'aquestes qüestions, així com en el desenvolupament de la nova instrumentació i les tècniques que ho van fer possible, ja que van contribuir decisivament al canvi conceptual al voltant de quin dels components del cromosoma constituïa el suport material de la herència genètica. Per aquest motiu, aquest capítol es dividirà en dues parts. La primera, dedicada al context científic en el que es va donar la formació de Subirana i Palau i la segona, a la seves estades postdoctorals en centres de recerca estrangers.

2.1. Les bases químiques de l'herència: estat de la qüestió

Posar una data per tractar d'explicar el context científic abans esmentat és difícil a l'hora que subjectiu. S'ha escollit l'estiu de l'any 1956 per la temàtica de les trobades científiques que van tenir lloc als Estats Units, en les quals la comunicació entre els científics va ser molt intensa i es va posar de manifest quin era l'estat de la qüestió al voltant del problema que en aquells moments ocupava en sentit ampli als biòlegs moleculars: l'estructura del cromosoma.¹² Per tal de situar la formació postdoctoral de Subirana i Palau, és interessant dedicar espai a la reunió que va tenir

¹² La conferència anual que tenia a lloc a Cold Spring Harbor va tractar dels mecanismes genètics. El simposi que va tenir lloc a Baltimore, de les bases químiques de la herència. Un tercer lloc de trobada i de debat entre els científics van ser les *Gordon Conferences*, de les que es parlarà més endavant, i que van tenir lloc a Ann Harbor, a la Universitat de Michigan, al voltant de les proteïnes. Per a més detalls, vegeu JUDSON (1996).

lloc a la Universitat Johns Hopkins de Baltimore de 1956, amb el nom de *On the Chemical Basis of Heredity*.

Els temes de discussió van ser les unitats cel·lulars de la herència, el paper dels àcids nucleics i les estructures associades a la divisió cel·lular i a la síntesi de proteïnes, els àcids nucleics com agents transformants, els virus com portadors de característiques hereditàries, la composició química i estructura dels àcids nucleics, la síntesi de nucleòtids i d'àcids nucleics i els mecanismes de duplicació.

Des de feia ja temps, els biòlegs havien estat interessats en els mecanismes de duplicació del material genètic i els genetistes en particular havien desenvolupat el concepte de que, probablement, l'única petita unitat que s'autoreplicava a la cèl·lula, era el gen. Les descobertes posteriors dels químics, particularment les relacionades amb els àcids nucleics i l'estructura del cromosoma, la funció dels gens, la síntesi de proteïnes i l'acció enzimàtica, havien proveït un ampli marc físico-químic que permetia especular en quant a mecanismes de duplicació (McElroy, 1957).

Si bé el model proposat per a l'estructura de la doble hèlix del DNA es va difondre ràpidament entre els genetistes, ho va fer més a poc a poc entre els bioquímics, que tendien a considerar-la com una proposta teòrica sense evidències experimentals. El model de Watson i Crick, en suggerir un mecanisme de replicació, va estimular l'interès dels primers mentre que els bioquímics seguien articulant els seus interessos de recerca, els seus sistemes experimentals i el seu pensament biològic al voltant dels enzims. El model de Watson i Crick era de poc interès pels bioquímics mentre no es pogués establir una connexió clara amb la síntesi de proteïnes. Hi havia, doncs, un clima d'incertesa i cautela enfront del model presentat l'any 1953. Més encara, a data de 1956, no hi havia manera de relacionar les estructures tridimensionals del DNA i de les proteïnes amb la funció d'aquestes substàncies. Hi havia, doncs, un llarg camí a recórrer per tal de relacionar la molècula del DNA i la unitat funcional del material genètic en un cromosoma o en un virus (Glass, 1957).¹³

A data de 1956, alguns genetistes encara es resistien a abandonar la visió proteica de l'herència genètica, tot i que el focus d'atenció havia començat a canviar de

¹³ Al voltant d'aquesta qüestió vegeu també OLBY (2002, 2003).

les proteïnes cap al DNA després de la publicació, l'any 1944, de l'article sobre la transformació bacteriana per Oswald Avery, Colin MacLeod i Maclyn McCarty, del Rockefeller Institute. Si bé aquesta qüestió ja s'havia plantejat des dels 1870s, va ser aquest treball el que va establir, mitjançant tècniques enzimàtiques, que el *principi transformant* era un àcid nucleic. Tenint en compte la supremacia de la visió proteica de l'herència durant mig segle, i si bé Avery i els seus col·laboradors van considerar les implicacions genètiques del seu treball, no tothom hauria quedat convençut (Kay, 1993 i 2000).

Un dels primers a adonar-se del significat dels resultats d'Avery, va ser Erwin Chargaff, de la Universitat de Columbia, que va redirigir la seva recerca cap els àcids nucleics a finals de la dècada dels 1940s i va presentar els seus estudis preliminars a Cold Spring Harbor l'any 1947. Durant els tres anys següents, les anàlisis de la composició de les bases nitrogenades dels nucleòtids obtinguts de mostres de DNA van mostrar que les proporcions molars d'aquestes variaven dins de límits estrets, de manera que les concentracions d'adenina i timina per una banda i les de citosina i guanina per l'altra eren sensiblement semblants. Aquestes troballes van ser publicades l'any 1950 i són conegudes com les regles de Chargaff.¹⁴

Però altres descobertes van fer que el focus continués dirigint-se cap el DNA. L'any 1951, Alfred Hershey i Martha Chase van dur a terme un dels experiments esdevinguts clàssics en la biologia molecular, que va proporcionar arguments consistents de la independència funcional de la proteïna i del DNA que formaven els bacteriòfags. Mitjançant tècniques d'isòtops radioactius, van demostrar que pràcticament tota la proteïna vírica quedava fora del bacteri, mentre que el DNA hi entrava. Això provava que el DNA era el *principi transformador* (Lehninger, 1972; Olby, 1994; Hunter, 2000).

Els resultats decisius de Hershey i Chase van fer que l'any 1951 James Watson i Francis Crick, a Cambridge, iniciessin un atac concentrat del problema de l'estructura

¹⁴ AVERY, MACLEOD & McCARTY (1944). "Studies on the Chemical Transformation of Pneumococcal Types", *J. Exp. Med.*, 79, 137-158. CHARGAFF (1950). "Chemical Specificity of Nucleic Acids and Mechanism of Their Enzymatic Degradation", *Experientia*, VI, 201- 40. Per detalls, vegeu OLBY (1994) i JUDSON (1996).

del DNA, que va culminar en el model de la doble hèlix, l'any 1953. Ara bé, l'elucidació de l'estructura del DNA va ser el resultat de tot un treball previ en química estructural per part Rosalind Franklin i Maurice Wilkins des del King's College de Londres.

Ni els treballs de Watson i Crick, de caire teòric, ni la resta de treballs publicats a *Nature* durant l'any 1953 resolien els problemes referents al paper del DNA com a material genètic i la seva legitimació com a tal.¹⁵ Una altra qüestió a considerar es la repercussió que els treballs de 1953 van tenir en la comunitat de la biologia molecular immediatament després de la seva publicació. Segons de Chadarevian (2003), malgrat l'interès que el treball de Watson i Crick va despertar en alguns cercles científics, al llarg de la dècada dels 1950s i ja dins dels 1960s, la doble hèlix no va jugar el paper que juga avui dia. Sens dubte, l'evidència científica que va anar recolzant l'estructura va contribuir al premi Nobel que van rebre l'any 1962, però el desconeixement del mecanisme de duplicació contribuïa en gran mesura a la fragilitat inicial de l'estructura proposada (Judson, 1996; Kay, 2000; Holmes, 2001; Morange, 2003; Olby, 2003).

L'any 1957, els experiments mitjançant l'ús d'isòtops de Mathew Meselson i Frank Stahl, del California Institute of Technology, *Caltech*, i la interpretació dels seus resultats van esdevenir un recolzament molt valuós de les hipòtesis de Watson i Crick, que havien suggerit que la duplicació del DNA era semiconservativa. Ara bé, els treballs de Meselson i Stahl no explicaven en cap cas els mecanismes que haurien d'estar implicats en aquest procés (Holmes 2001). Va sorgir la hipòtesi de que l'especificitat genètica, que es trobava al DNA, fos transferida a intermediaris de RNA, que funcionarien com plantilles que controlarien la unió d'aminoàcids específics a les proteïnes. Aquesta hipòtesi va ser coneguda posteriorment com el *Dogma Central*, proposat per Crick durant l'hivern de 1952-53, i que es va poder precisar més a partir de l'estructura proposada per al DNA aquell mateix any.¹⁶ Segons Watson (1962), la

¹⁵ Els treballs a *Nature* de 1953 són: WATSON & CRICK (1953a i b), WILKINS, STOCKES & WILSON (1953), FRANKLIN & GOSLING (1953a i b). Una descripció més profunda de l'estructura va ser publicada per Watson i Crick l'any 1954 als *Proceedings of the Royal Society* CRICK & WATSON (1954). "The complementary Structure of Deoxyribonucleic Acid", *Proceedings of the Royal Society: Series A*, 223: 80-96. Vegeu també DE CHADAREVIAN (2003).

¹⁶ JUDSON (1996) proposa aquesta data com el primer cop en que es va plantejar el "dogma". Segons OLBY (1994), es va fer explícit l'any 1958, en una conferència a la Society for Experimental Biology.

manera directa de provar-la era resoldre l'estructura del RNA per mètodes de difracció de RX. Ja l'any 1952, Watson havia fet algunes fotos preliminars mitjançant aquesta tècnica, però no va ser fins el seu retorn a Caltech l'any 1953, després de la publicació de l'estructura del DNA quan, en col·laboració amb Alexander Rich, va començar una sèrie d'estudis seriosos al voltant d'aquesta qüestió.¹⁷

El treball en DNA de Watson va guiar a aquest i a Rich en l'intent d'establir l'estructura del RNA mitjançant els mètodes de fabricació de fibres i la interpretació dels seus patrons de difracció, la qual cosa va produir dues publicacions conjuntes a *Nature* i als *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, l'any 1954.¹⁸ Els primers resultats semblaven encoratjadors ja que totes les mostres analitzades, independentment del seu origen cel·lular, donaven patrons de difracció de RX semblants, la qual cosa els va portar a pensar que existiria una estructura general per a aquest àcid nucleic. Es van presentar, però, problemes tècnics inesperats. En primer lloc, les fotografies de difracció de RX no presentaven la mateixa resolució que les de DNA fetes per Rosalind Franklin. En segon lloc, les dades analítiques indicaven, com a mínim, l'existència de dos tipus de RNA, tal com suggerien els estudis fets en virus de plantes i de materials obtinguts d'altres fonts. A més, la construcció de models tampoc va resultar satisfactòria.

També havien aconseguit obtenir fibres a partir de preparacions de RNA i els subsegüents patrons de difracció. Però malgrat tots els esforços per aconseguir mostres no degradades de pes molecular elevat, no es va obtenir cap patró de RX satisfactori. Les reflexions obtingudes eren sempre difuses i no hi havia evidència de cristal·linitat. Tot i que les semblances amb el patró que presentava el DNA eren marcades, no hi havia arguments sòlids per creure que les dades obtingudes sorgissin d'una molècula semblant (Watson, 1962).

Del treball presentat per Alexander Rich al simposi de Baltimore se'n derivava la possibilitat que el DNA *fabriqués* RNA, però el mecanisme que ho fessin possible

¹⁷ Alguns aspectes biogràfics de Rich i de la seva posterior relació amb els protagonistes d'aquesta recerca, seran tractats en capítols posteriors.

¹⁸ RICH & WATSON (1954a); RICH & WATSON (1954b). Per més detalls de caire experimental, vegeu HOLMES (2001).

seguien essent desconeguts. De la mateixa manera, el camí i els mecanismes implicats en el procés de síntesi de proteïnes tampoc havia estat aclarit, si bé una part del problema havia estat resolt per Fred Sanger i els seus mètodes de seqüenciació, en el sentit que una proteïna es constituïa a partir de la seva seqüència d'aminoàcids (Rich, 1957 i 1960; de Chadarevian, 1997 i 2002).¹⁹

Tot es va començar a resoldre gràcies als treballs de Paul C. Zamecnik i el seu sistema lliure de cèl·lules, que va permetre la identificació dels intermediaris que intervenien en el procés així com la síntesi *in vitro* d'aquestes molècules. Durant un període de quinze anys, entre 1947 i 1962, el grup liderat per Zamecnik al Massachusetts General Hospital de Boston va desenvolupar un sistema experimental de síntesi de proteïnes *in vitro*, que els va fer situar-se a l'avantguarda de la bioquímica en l'era de la biologia molecular. El sistema experimental desenvolupat va ocupar un lloc central en l'aclariment dels mecanismes de la síntesi de proteïnes, amb el descobriment del que els biòlegs moleculars havien anomenat RNA de transferència (Rheinberger, 1997).

Paral·lelament als desenvolupaments experimentals en aquest camp, els seguidors d'un enfocament estructural de la biologia molecular tractaven de conèixer l'estructura d'aquests intermediaris del procés, que identificaven amb el RNA. Aquests treballs estructurals es van allargar durant bona part dels 1960s. Cap a la segona meitat de la dècada, ja s'havia clarificat l'existència de quatre tipus de RNA, gràcies a la utilització de dos tipus d'evidències, la primera, basada en treballs de difracció de RX de fibres de RNA i polinucleòtids, com s'ha vist i, la segona, basada en treballs mitjançant RNA en solució. Quins eren els tipus de RNA que havien estat reconeguts? En primer lloc el RNA missatger (m-RNA), còpia de la seqüència de bases del DNA; en segon lloc, el RNA ribosòmic (r-RNA) que, conjuntament amb proteïnes, constitueix l'estructura coneguda com ribosoma, lloc físic de la cèl·lula on es produeix la síntesi de proteïnes; el RNA de transferència (t-RNA), de mida petita, que uneix els aminoàcids específics. Un quart tipus de RNA era el de doble cadena que s'havia trobat

¹⁹ Per a una visió retrospectiva, vegeu RICH (2006).

als virus de RNA. El més prometedor per tal d'establir de la seva estructura, donada la seva mida petita, era el t-RNA.

2.2. Un problema més complex: l'estructura i organització del cromosoma. Connexions internacionals

L'any 1959 es va fundar la revista *Journal of Molecular Biology*.²⁰ El treball que va ocupar el primer lloc del primer volum anava signat per Paul Doty i Geoffrey Zubay, amb el títol de *The Isolation and Properties of Deoxyribonucleoprotein Particles Containing Single Nucleic Acid Molecules*.²¹ S'ha de tenir present que, a les cèl·lules, el DNA no es troba lliure, sinó unit amb proteïnes, entre aquestes les histones, que conformen una estructura més complexa que és el cromosoma. En aquells moments, l'estructura i propietats del DNA havien estat elucidades en alguns dels seus detalls al llarg de la dècada, gràcies entre d'altres, als treballs de Watson i Crick, així com la clarificació de la naturalesa de les histones. Ara bé, la manera en que aquests dos tipus de molècules es combinaven entre si formant el complex de la nucleoproteïna, és a dir, el cromosoma, encara no s'havia resolt.

Tres anys abans, al simposi de Baltimore, John Butler, investigador del Regne Unit i cap d'un dels grups de recerca en histones més important en aquells moments, havia presentat una contribució al voltant d'aquesta qüestió.²² Un problema afegit als plantejats al voltant de l'estructura dels àcids nucleics i de la legitimació que els vindria donada pel coneixement dels mecanismes de la síntesi de proteïnes, era el de

²⁰El primer editor va ser John Kendrew. Dels aspectes relacionats amb la posada en marxa d'aquesta publicació i del paper que va jugar en la legitimació de la disciplina i de la seva organització en societats internacionals, se'n parlarà en capítols posteriors, però en aquest punt cal fer esment de quins van ser els primers membres del seu *editorial board*: John Kendrew, de Cambridge; Paul Doty i James Watson, de Harvard; Robert Sinsheimer, de Caltech i Maurice Wilkins, del King's College de Londres.

²¹ ZUBAY & DOTY (1959). "The Isolation and Properties of Deoxyribonucleoprotein Particles Containing Single Nucleic Acid Molecules". *J. Mol. Biol.* 1 (1).

²² John Butler dirigia un grup de recerca en histones al Chester Beaty Research Institute de Londres, on hi treballaven E.W. Johns i D.M.P. Phillips. La qüestió de la caracterització de les histones i la seva estructuració dins del cromosoma, així com els trets principals de la trajectòria de Butler, seràn extensament tractat en capítols següents, també en relació amb la formació postdoctoral de Jaume Palau.

conèixer i entendre l'estructura del cromosoma. Per això calia caracteritzar les diferents fraccions proteiques associades amb el DNA, conèixer la seva estructura i quin tipus d'unions establien amb aquest àcid nucleic, entre d'altres qüestions.

Els coneixements que s'anaven adquirint no eren el fruit només del treball d'un laboratori, sinó que l'autoria era clarament internacional. Ja des dels seus inicis als 1930s fins la seva consolidació com a disciplina integradora als 1960s, la biologia molecular es va constituir ella mateixa en un espai internacional, de legitimació, definit com un continu de trobades de diversa envergadura i graus de *in/formalitat*, de col·laboració i de xarxes de correspondència internacionals. Aquesta col·laboració internacional va reforçar la posició dels científics als seus propis països, dotant-los d'accés a nous recursos, de poder real a través d'aliances transnacionals científicament rellevants, i de poder aparent, mitjançant l'associació amb institucions de prestigi d'altres països, com es veurà amb més detall en capítols posteriors. El canvi d'una situació de dependència local a un espai transnacional es fa evident quan es té en compte la funció medidora de les escoles de recerca, que combinen institucions locals i tradicions pràctiques nacionals amb oportunitats de contactes i col·laboracions prolongades amb visitants d'altres països, que aporten el seu propi i diferent sentit de localitat i contextualització disciplinàries. Aquest espai internacional en el qual es van inscriure els descobriments de la biologia molecular va tenir una dimensió dual, a l'hora pragmàtica i legitimadora.

Paral·lelament, la institucionalització de la biologia molecular va portar a la participació dels científics en la política dels seus països i en la diplomàcia internacional. Llavors, qualsevol interpretació històrica del creixement de la biologia molecular ha d'articular les seves dimensions social, política i conceptual, interdependents en un escenari internacional canviant on va sorgir com a disciplina nova (Abir-Am, 1992b).

2.3. El context científic i els inicis de la trajectòria de Joan Antoni Subirana i Jaume Palau

Va ser en aquest context científic i institucional on es va iniciar la formació de Joan Antoni Subirana i Jaume Palau, protagonistes d'aquesta tesi. Es constataran els canvis que es van produir en els seus interessos científics i és suggerirà aquí que van ser una conseqüència directa de les seves estades postdoctorals en grups de recerca de l'estranger i de les relacions establertes amb els científics que van conèixer. L'estudi detallat de la seva producció científica durant aquesta etapa, així com de la correspondència creuada entre tots dos, es posarà en el context de la recerca que s'estava fent en el camp de la biologia molecular estructural, particularment els estudis al voltant de l'estructura de la nucleohistona. L'estudi d'aquestes fonts proporcionarà les dades al voltant de com es van anar madurant un futur projecte conjunt de recerca en biologia molecular a Barcelona, després del seu retorn.

2.4. La formació doctoral i postdoctoral de Joan Antoni Subirana

Joan Antoni Subirana i Torrent (Barcelona, 1936), va estudiar a les Escoles Virtèlia de Barcelona i va obtenir la seva llicenciatura de química a la Universitat de la mateixa ciutat el 1958 on, paral·lelament, va cursar la carrera d'enginyeria industrial. Les intencions de Subirana eren estudiar químiques, però les pressions familiars en el sentit que l'enginyeria industrial era una carrera de més prestigi el van fer començar també aquests estudis. Si bé, com ja s'ha dit, sentia més inclinació per la química, el seu interès per les matemàtiques el va permetre anar combinant les dues carreres. Va ser durant els estudis de química que va conèixer Jaume Palau, però la seva relació es va fer més estreta anys després, quan es van plantejar treballar junts, com es veurà (Figures 1 i 2).²³

La intenció de Subirana era fer la tesi doctoral en química física i, aconsellat pel professor Josep Pascual i Vila, catedràtic de química orgànica, de qui també havia estat

²³ Entrevista de l'autor amb Joan Antoni Subirana, 1 de juny de 2005

alumne, l'any 1958 es va traslladar a Madrid, al Instituto Rocasolano del CSIC, on va treballar, sota la direcció del Dr. Juan Llopis Marí, en termodinàmica de polímers en capes superficials. Aquests van ser els seus inicis en química macromolecular, que pocs anys després el durien a introduir-se en el camp de la biologia molecular. De fet, els coneixements que tenia dels fenòmens biològics es limitaven a aspectes purament descriptius que havia rebut al llavors anomenat curs comú de ciències a la Universitat de Barcelona (Palau i Subirana, 1994). Dos anys després, el 1960, va obtenir el doctorat en ciències químiques per la Universitat de Madrid sota la direcció de Llopis, amb la tesi "Estudio termodinámico de monocapas de poli(acrilato) de metilo" que, com es veurà, va produir un treball signat conjuntament per tots dos.²⁴

L'estada de Subirana a Madrid va fer que posteriorment, l'any 1964, obtingués el seu segon doctorat, aquest cop en enginyeria industrial, si bé en aquella època, la tesi només consistia en presentar un projecte de final de carrera.²⁵

En aquest punt cal fer esment d'alguns detalls de la trajectòria de Juan Llopis i de la seva importància en la química espanyola, que es troba relacionada amb el Instituto Nacional de Física y Química de Madrid (INFQ), conegut com el *Rockefeller*, que va integrar grups pertanyent al Patronato Juan de la Cierva, entre d'altres.²⁶ La direcció d'aquest institut va recaure en Antonio Rius Miró qui, al mateix temps, va prendre al seu càrrec la secció d'electroquímica. Si bé en aquelles dates l'electroquímica es trobava englobada en la termodinàmica, a les universitats va quedar unida a la química física. Cal fer esment que a Barcelona també es va formar un grup de químics liderat per José Ibarz, José Virgili i Sebastián Feliu, entre d'altres.

Els nous projectes de l'Institut Rocasolano van fer augmentar el nombre d'investigadors, amb la intenció d'enviar alguns d'ells a ampliar els seus estudis a

²⁴LLOPIS & SUBIRANA (1961). "Thermodynamics of poly(methyl acrylate) monolayers". *Journal of Colloid Science*, 16, 618–63. Els altres treballs relacionats amb la seva tesi són: LLOPIS & SUBIRANA (1962) "Equation of state for monolayers of chain molecules". *J. Polymer Sci.*, 60, 113; també hi ha una comunicació a la Reial Acadèmia de Ciències Exactes, Físiques i Naturals: SUBIRANA (1962). "Estudio termodinámico de monocapas de poli (acrilato de metilo)". *Rev. R. Ac. Cien. Ex. Fis. Nat.*, Madrid, 56, 37.

²⁵ El treball de Subirana que va servir de tesi a enginyeria va consistir en aprofitar un que havia fet durant la carrera, al voltant de la fabricació de benzaldehid. Comunicació personal de Joan Antoni Subirana a l'autor, 10 de maig de 2006.

²⁶ Comunicació personal de Joan Antoni Subirana, 5 de març de 2007.

l'estranger. Aquest va ser al cas de Juan Llopis, col·laborador de Rius, que va anar al departament de química física de la Universitat de Cambridge, on es va incorporar al grup de química física d'interfases electrificades. Les tècniques apreses per Llopis a Cambridge van ser aplicades a Madrid, concretament als seus treballs en dissolucions de substàncies orgàniques.²⁷

La situació de la química a Espanya en els moments en que tant Subirana com Palau estaven fent els seus estudis de doctorat entronca tant amb el Rocasolano ja esmentat, com amb la càtedra d'Antonio García Banús (València, 1888 – Caracas, 1955) a la Universitat de Barcelona, que havia funcionat sota la seva direcció des de 1915 fins 1936. García Banús havia treballat en química de radicals lliures a l'Institut Federal de Tecnologia de Zurich, a Suïssa, després d'haver-se llicenciat en química a Madrid l'any 1910. Va viatjar a Zurich com *pensionado*, per fer el seu doctorat, i va tornar a Espanya l'any 1914.²⁸ Aquell mateix any va ser nomenat catedràtic de química orgànica a Oviedo, si bé el 1915 es va traslladar a la Universitat de Barcelona, per convertir-se en professor de química orgànica, des d'on va contribuir a la modernització de la disciplina, d'acord amb la formació adquirida a l'estranger. Després de la guerra civil, va emprendre el camí de l'exili a l'Amèrica del Sud (Nieto-Galan, 2004).

A part de l'interès intrínsec de García Banús, cal ressaltar que va ser el mestre de Josep Pascual i Vila, així com també de Fernando Calvet Prats, futur catedràtic de bioquímica de la facultat de ciències i professor de Palau i Subirana a la mateixa facultat. Tant Pascual i Vila, ja l'any 1921, com Calvet, entre 1937 i 1938, van fer els seus postdoctorats a centres de recerca estrangers. El primer a Alemanya i Àustria, i el segon a Estocolm i Edimburg, així com als EUA. El fet que Subirana i Palau fossin deixebles de professors que s'havien format en centres de recerca de l'estranger, permet entendre com ells mateixos, anys després, seguissin el mateix camí, si bé amb interessos diferents com es veurà.

²⁷ Juan Llopis i el Rocasolano, a: <http://www.upct.es/electroquimica/costa.pdf> (18 de desembre de 2005).

²⁸ Nom que rebien les beques de la Junta para la Ampliación de Estudios (JAE). Al voltant de la JAE, vegeu GLICK (1989) i MAGALLÓN (1997).

Per anar a Madrid, Subirana va obtenir una beca però, fonamentalment, això va ser possible gràcies a l'ajut familiar.²⁹ A Madrid va publicar un article a la *Revista de Plásticos*, que era una revista del *Departamento de plásticos y tecnología del caucho* del Patronato Juan de la Cierva de Investigación Técnica del CSIC. La revista demanava articles i Subirana va escriure una revisió al voltant de la viscositat de les dissolucions de polímers i la seva relació amb el seu pes molecular. És el seu primer article, i el signa com llicenciat en ciències químiques i becari del Instituto Rocasolano de química física.³⁰

Del treball fet amb Llopis se'n van derivar tres articles. El primer, al *Journal of Colloid Science*, era de caire experimental i es tractava de fraccionar polímers per estudiar la influència del pes molecular en les seves propietats com monocapes. L'estudi es va fer a diferents temperatures i la tècnica experimental utilitzada va ser descrita pels mateixos autors en un treball de l'any 1960 presentat al *3rd International Congress of Surface Activity*, a Colònia.³¹ L'etapa de Subirana a Madrid el va permetre dedicar-se i adquirir coneixements tant teòrics com experimentals en química macromolecular, especialment, com s'ha vist, en química física de superfícies, camp de treball de Llopis.

Per tal d'ampliar la seva formació, un cop acabats els seus estudis de química i enginyeria, Subirana va decidir fer una estada d'un any a la Universitat de París, on va treballar amb Arnold Münster, en una col·laboració amb Henri Benoit i William R. Krigbaum, en la termodinàmica de dissolucions de polímers.³² Münster, si bé treballava a França, provenia de l'Institut de Química Física Teòrica de Frankfurt. Krigbaum provenia de la Duke University de Durham, Carolina del Nord, dels EUA i

²⁹ Entrevista de l'autor amb Joan Antoni Subirana, 1 de juny de 2005.

³⁰ SUBIRANA (1960).

³¹ LLOPIS i SUBIRANA (1961). Els altres treballs de Subirana amb Llopis són: LLOPIS & SUBIRANA (1962). "Equation of state for monolayers of chain molecules". *J. Polymer Sci.*, 60, 113; també hi ha una comunicació a la Reial Acadèmia de Ciències Exactes, Físiques i Naturals: SUBIRANA (1962) "Estudio termodinámico de monocapas de poli (acrilato de metilo)". *Rev. R. Ac. Cien. Ex. Fis. Nat.*, Madrid, 56, 37. El mateix any es presenta una comunicació a la Reial Societat Espanyola de Física i Química: LLOPIS, ALBERT, SUBIRANA i CONDE (1962). "Estudio de la adsorción de cationes alquil-amonio. II. Monocapas formadas por compuestos insolubles". *An. R. Soc. Esp. Fis. Quim.*, 58 B, 379.

³² Entrevista de l'autor amb Joan Antoni Subirana, 1 de juny de 2005

Henri Benoit, del centre de recerques sobre macromolècules d'Estrasburg, França.

L'estada de Subirana a París va ser possible gràcies a l'obtenció d'una beca, fruit d'un acord existent entre França i Espanya. Si bé es tractava de beques franceses, unes eren concedides pel l'Institut Francès i unes altres pel ministeri d'Afers Estrangers espanyol. El fet de voler treballar amb Münster, científic alemany, va fer que l'agregat científic de l'Ambaixada de França a Barcelona, Claude Colin, no volés concedir la beca, que finalment si va ser atorgada pel ministeri d'Afers Estrangers espanyol.³³

En aquest punt, és important dedicar un espai a Claude Colin i al programa de beques de l'Institut Francès. Colin (1926–1965) havia arribat a Catalunya l'any 1955, en un moment en què el seu govern estava fent un esforç d'expansió de la cultura i la tècnica franceses a l'exterior. L'any 1956, Colin va ser el responsable de la Secció Científica de tots els Instituts Francesos a Espanya i des de 1961 va exercir el càrrec d'Agregat Científic, *attaché scientifique*, de l'ambaixada de França a Espanya. L'*attaché scientifique* era el representant de la ciència i la tecnologia franceses al país on s'exercien les seves funcions, i servia de nexa d'unió entre les universitats, els laboratoris i els centres tecnològics d'ambdós països. Va ser el fundador de l'Associació Hispano–Francesa de Cooperació Tècnica i Científica i persona clau per tal d'entendre la gran quantitat de beques que es van concedir durant el període en què va ser al capdavant de la gestió d'aquest programa d'ajuts.

Ja des d'abans de l'any 1937, França comptava amb un programa de *bourses culturels* per a estudiants estrangers, que eren gestionades pel ministeri d'Afers Estrangers. Però la proporció de científics becats era molt baixa donat que s'afavorien les especialitats tècniques (enginyeria, arquitectura...) i les humanístiques (arts plàstiques, literatura, música...). A finals de la dècada dels 1950s i principis dels 1960s es van conjugar una sèrie de factors que van facilitar l'accés dels estudiants de la Universitat de Barcelona a beques per estudiar a França. Un dels que hi va contribuir va ser la institució dels nous cursos de Tercer Cicle, a mitjan dels anys 1950s, que van substituir l'antic sistema de formació de doctors a les universitats franceses. Aquesta

³³Entrevista de l'autor amb Joan Antoni Subirana, 1 de juny de 2005 i 13 de juliol de 2005. Al CV de Subirana consta com investigador durant el període 1960–61.

reforma va permetre oferir més places per doctorands ja que l'actualització dels seus objectius va privilegiar els estudis tècnics i científics. A més, va facilitar l'accés d'estudiants estrangers a aquest tipus d'estudis, alhora que feia que aquests cursos fossin més atractius pels estudiants de ciència i enginyeria espanyols. El paper jugat per Colin, fent ús de l'autonomia que tradicionalment tenia l'Institut Francès de Barcelona i dels seus contactes a la Universitat, va ser crucial en el sentit de facilitar que molts estudiants, especialment de física, accedissin a aquests ajuts (Carpio, 2005).

La possibilitat de que Subirana pogués anar a París, doncs, va ser resultat del programa de beques que gestionava Colin. Aquesta estada va produir un treball de caire teòric, publicat al *Journal de Chimie Physique*, on es proposava un mètode per calcular l'energia mitjana d'una cadena macromolecular.³⁴ En aquest treball, en la línia de la química física de polímers, es plantejava l'estudi de les variacions que podien experimentar les cadenes de les macromolècules en relació amb les interaccions que es donaven a la cadena, amb el volum d'aquesta i amb la qualitat del solvent. El mètode presentat consistia en calcular l'energia mitjana d'una cadena per la distància entre els seus extrems, tot tenint en compte les fluctuacions que presentava aquesta energia.

2.4.1. L'estada a Harvard amb Paul Doty i els treballs en la renaturalització del DNA

Mentre era a París, Subirana va pensar en continuar la seva formació postdoctoral en un altre centre de recerca. Després d'enviar cartes a diversos laboratoris demanant per anar-hi a treballar, va rebre respostes positives de Birmingham, on hi havia el professor G. Gee, de termodinàmica de fluids, i també de Harvard, amb la possibilitat d'anar a treballar al departament de química amb Paul Doty. Subirana es va decidir per Harvard, on hi va passar dos anys, des de 1961 fins 1963.³⁵ No s'havia plantejat treballar en polímers biològics com ara el DNA, però el fet

³⁴ SUBIRANA, MUNSTER, KRIGBAUM & BENOIT (1962).

³⁵ Entrevista de l'autor amb Joan Antoni Subirana, 11 de novembre de 2002, 1 de juny de 2005 i

de poder anar a una institució amb el prestigi de Harvard, el va fer decidir per aquesta opció, tot i que es tractava d'un tema totalment diferent del que havia consistit la seva tesi doctoral.³⁶

Doty era professor de química física macromolecular i, l'any 1959, juntament amb Julius Marmur, havia descrit la desnaturalització de la doble hèlix del DNA, observant que era possible la seva renaturalització refredant la dissolució de l'àcid nucleic, que d'aquesta manera recuperava la seva estructura original. Abans d'entrar en aquesta qüestió, és d'interès conèixer algunes dades de la trajectòria científica de Doty.

Paul Doty (1920) es va graduar a la Universitat de l'Estat de Pensilvània l'any 1941 i, entre 1943 i 1945, va treballar amb Hermann Mark al Polytechnic Institute de Brooklyn i, l'any 1948, es va traslladar al departament de química de la Universitat de Harvard. Els seus primers interessos de recerca es van centrar en l'estructura i funcionament de les molècules de polímers, com ara plàstics i fibres, tema de les seves publicacions dels anys 1945 i 1947. A partir de 1948, coincidint amb el seu trasllat a Harvard, van començar els seus treballs en macromolècules, termodinàmica i tècniques aplicades i, progressivament, els seus interessos van anar dirigint-se a l'estudi dels polipèptids i polinucleòtids.

Els seus primers estudis en aquest camp el van portar a la determinació de la mida i pes d'aquests polímers en dissolució, treballs que van començar l'any 1949, concretament en el camp de les proteïnes, i que van continuar fins l'any 1951. Entre 1952 i 1954 va publicar els seus primers treballs en DNA i, l'any 1955, el primer al voltant del procés de desnaturalització del DNA.³⁷ Durant els anys 1957 i 1958 va publicar tota una sèrie de treballs relacionats al voltant de la configuració de polipèptids i proteïnes, així com de polipèptids i polinucleòtids, fent servir les tècniques de la química física de macromolècules. També va treballar en la comparació

13 de juliol de 2005. Subirana va ser Research Fellow a Harvard durant el període 1961-63, segons consta al seu CV.

³⁶ Entrevista de l'autor amb Joan Antoni Subirana, 1 de juny de 2005 i 13 de juliol de 2005.

³⁷ REICHMANN, VARIN & DOTY (1952). "The Molecular Weight and shape of Desoxypentose Nucleic Acid". *Journal of the American Chemical Society*, 74 (12): 3203-3204; REICHMANN, BUNCE & DOTY (1953). "The changes induces i Sodium Desoxyribonucleate by diluted acid". *Journal of Polymer Science*, 10 (1): 109-119; DOTY & RICE (1955). "The Denaturation of Desoxypentose Nucleic Acid". *Biochimica et Biophysica Acta*, 16 (3): 446-448.

dels resultats obtinguts mitjançant tècniques de la química física i la microscòpia electrònica, entre d'altres, i en l'obtenció de DNAs heterogenis en funció de factors diversos com la densitat, mida, composició etc.

La desnaturalització és el procés pel qual les dues cadenes que formen el DNA se separen i la renaturalització el procés contrari. L'enteniment d'aquests processos havia d'aportar informacions importants per a la comprensió de l'estructura del DNA i per a la validació del model que Watson i Crick havien proposat l'any 1953. Segons Marmur, per aconseguir una unió amb èxit, les dues cadenes senzilles s'havien de trobar l'una amb l'altra en les regions que fossin complementàries en les seves seqüències de bases. A més, també es va observar que la reconstitució només es donava en cadenes procedents del mateix organisme o d'un d'estretament relacionat (Doty et al., 1960; Judson, 1996).

Quan el DNA provenia d'un bacteriòfag, que tenia un DNA petit, la reconstitució de les dobles hèlices era pràcticament total. Quan provenia d'un bacteri, que tenia un DNA potser unes trenta vegades més gran que el d'un bacteriòfag, la renaturalització era molt més lenta i afectava com a molt a la meitat de les dobles hèlices. Si el DNA provenia del timus de vedella, és a dir, d'un organisme més complex, el procés gairebé no es produïa. Els resultats preliminars de Doty i Marmur es van publicar l'any 1960, als *Proceedings of the National Academy of Sciences* l'any 1960.³⁸

Subirana va arribar a Harvard a finals de 1961, poc després de la publicació d'aquest treball, quan feia relativament poc que el laboratori de Doty treballava en DNA. En aquells moments, l'ambient de recerca i el nombre i la qualitat dels qui hi treballaven esdevenia una escola d'aprenentatge excel·lent, tant pel que feia a coneixements, com als instruments i a les tècniques. Doty li va suggerir que treballés en la renaturalització i, més concretament, en la cinètica de la renaturalització del DNA. Aquest treball va començar cap el desembre de 1961 i es va allargar durant tot l'any 1962.³⁹

³⁸ DOTY, MARMUR, EIGNER & SCHILDKRAUT (1960). Strand Separation and Specific Recombination in Deoxyribonucleic Acids: Physical Chemical Studies. *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.*, 46, 453.

³⁹ JAS a JP, Somerville (Massachusetts), 18-12-61. Entrevista de l'autor amb Joan Antoni

Els treballs en desnaturalització i renaturalització de Doty i Marmur no només van contribuir a proporcionar evidència experimental al model de la doble hèlix, com s'ha dit, sinó també als estudis al voltant de l'estructura del RNA, en combinació amb l'ús dels polinucleòtids artificials.⁴⁰ L'any 1957, Francis Crick havia enunciat el que es va conèixer com el *dogma central de la biologia molecular*, que proposava que el DNA transmetria la seva informació al RNA i que seria aquest darrer el responsable directe de la síntesi de proteïnes i aquests processos, deia el *dogma*, no serien reversibles.⁴¹ Ja des de la publicació del model de la doble hèlix per Watson i Crick l'any 1953, de seguida van començar-se a plantejar de quina manera, aquells suggeriments de que el DNA contindria un *codi*, podrien demostrar-se. Si bé alguns dels apropaments al problema van ser de caire teòric, entre d'altres les aportacions de George Gamow i de Max Delbrück, una manera d'enfrontar el problema va ser la cerca del que després es va conèixer com RNA *missatger* (Kay, 2000).

Els treballs de caire estructural per tal de determinar l'estructura del RNA també van continuar, com en el cas d'Alexander Rich, entre d'altres. El mateix any en que Crick enuncitava el *dogma*, 1957, nous resultats van proporcionar evidència experimental al model de la doble hèlix: Matthew Meselson i Frank Stahl havien demostrat experimentalment la duplicació semiconservativa del DNA. Això volia dir que les dues cadenes del DNA es separaven i duplicaven la seva respectiva cadena complementària (Holmes, 2001).

L'any 1960, Sol Spiegelman i els seus col·laboradors havien obtingut la prova experimental de l'existència del RNA missatger, que es formaria com una cadena complementària d'una de les del DNA, que faria de motlle⁴², si bé el primer en suggerir l'existència d'aquesta molècula havia estat Mahlon Hoagland, l'any 1959, en un article

Subirana, 1 de juny de 2005 i 13 de juliol de 2005, i també JAS a JP, Cambridge, 14-10-62. La informació complementària per a la millor comprensió d'aquests treballs s'ha obtingut de SUBIRANA (1985).

⁴⁰ Vegeu els treballs d'Alexander Rich.

⁴¹ Idees prèvies de Crick al voltant del que després va esdevenir el dogma, ja venen de 1952-53. Vegeu capítols anteriors, així com DE CHADAREVIAN (1996).

⁴²NOMURA, HALL & SPIEGELMAN (1960) "Characterization of RNA, Synthesized in *Escherichia coli* after bacteriophage T2 Infection" *J. Mol. Biol.* Vol.2, 1960, 306-326.

publicat a *Scientific American*.⁴³ Seguint un enfocament de caire estructural, l'any 1958, Kendrew havia determinat l'estructura tridimensional de la mioglobina i l'any 1960, Perutz havia fet el mateix amb la hemoglobina. L'any 1961, Marshall Nirenberg i Heinrich Matthaei havien començat el desxifrat el codi genètic (Judson, 1996; Morange, 2003).

Encara que a primera vista semblava poc probable aconseguir-ho, quan es va comprendre que el procés de desnaturalització del DNA consistia en separar-lo en les seves dues meitats complementàries, aviat es va pensar en la possibilitat de reconstituir la molècula original per aparellament d'aquestes dues meitats.

La recerca de Subirana a Harvard, que s'inscriu en el programa de recerca en DNA del laboratori de Doty, es va materialitzar en dos articles a *Biopolymers*, i en un tercer consistent en un estudi de la desnaturalització irreversible del DNA de bacteriòfags que es va publicar a *Biochimica et Biophysica Acta*.⁴⁴ Aquest treball es va complementar amb un quart que ja es va publicar des de Barcelona, als *Anales de Química* de la Societat de Física i Química, com es veurà. Aquests treballs van ser crucials en la trajectòria de Subirana i certifiquen el canvi que es va produir en els seus interessos científics i l'inici de la seva recerca en el camp de la biologia molecular (Figura 3).

El pas donat per Subirana s'inscrivía en una dinàmica que va afectar a altres científics en aquells moments, quan s'estava construint la biologia molecular des d'un enfocament de química estructural, i era essencial trobar el significat biològic dels resultats obtinguts. A partir dels resultats dels experiments que s'havien fet fins aquells moments no era possible determinar si l'associació que es produïa entre les dues cadenes del DNA es donava realment *in vivo*, i en aquest cas tindria significat biològic, o bé es tractava d'un artefacte del procés d'aïllament d'aquest material.

Treballar en aquest camp requeria canvis no només ens els interessos científics, sinó en l'aprenentatge de l'ús d'instruments, de tècniques i de manipulació

⁴³ HOAGLAND (1959). "Nucleic Acids and Proteins". *Scientific American*, vol 201, pp. 55-61.

⁴⁴Els treballs són: SUBIRANA (1965a), treball va ser finançat parcialment pels NIH, segons consta als agraïments; SUBIRANA & DOTY (1966) i SUBIRANA (1966a), finançats pels NIH, grant HD-01229; SUBIRANA (1966b).

de nous materials, en aquest cas biològics. Pel que fa als instruments, que es troben citats a la secció de *material i mètodes* de les publicacions, es va tractar, entre d'altres, dels espectrofotòmetres Beckman que es van fer servir per a l'obtenció de les corbes de separació de les cadenes del DNA, la ultracentrífuga Spinco model E, que es va fer servir per mesurar el grau de desnaturalització i el microdensitòmetre de Joyce–Loebl, per a la determinació de les concentracions relatives dels DNA nadius i de referència utilitzats als experiments. Aquest instrument mesurava les densitats òptiques de les microimatges obtingudes en fotografies i les distàncies entre imatges o entre parts d'elles. El que hi havia al laboratori de Doty va ser manufacturat i comercialitzat per Joyce–Loebl a Anglaterra i va ser ben rebut pels espectroscopistes i pels primers biòlegs moleculars per la seva utilitat en l'avaluació dels patrons de difracció de RX (de Chadarevian, 2002).⁴⁵ Els materials biològics utilitzats al treball que posteriorment es va publicar a *Biochimica et Biophysica Acta* van ser els bacteriòfags T2, T4 i λ .

Després de fer servir diferents tècniques de desnaturalització, com ara la tèrmica, amb formaldehid i la alcalina, Subirana va arribar a la conclusió que el procés de desnaturalització del DNA era irreversible i que seguia patrons semblants independentment dels mètodes utilitzats. Una de les troballes van ser certes regions que esdevenien resistents a la desnaturalització, on es localitzaven restes de proteïna. Aquesta era justament una de les qüestions plantejades a la discussió de treball en el sentit de no poder determinar si eren un artefacte de la preparació, fruit d'una mala extracció, o si aquest fenomen es donava realment *in vivo*. En aquest cas, calia preguntar-se quina podria ser la seva importància biològica, com potser la d'impedir la desnaturalització d'algunes regions del DNA.

Si els treballs de Harvard constitueixen un bloc, les dues publicacions a *Biopolymers* del 1966 són, de fet, les dues parts d'un únic treball consistent en l'estudi de la cinètica de la renaturalització del DNA. El primer dels treballs, signat per Subirana i Doty, exposava els resultats d'espectrofotometria, mentre que la segona part, signada només per Subirana, consistia en l'anàlisi dels productes de la reacció.

⁴⁵ Per més detalls al voltant del desenvolupament d'aquests instruments, vegeu CREAGER (2002), ELZEN (1993), BUDD et al. (1998).

El procés de desnaturalització es podia estudiar mitjançant tècniques d'espectrofotometria que permetien l'obtenció de les corbes de separació de les cadenes del DNA. L'espectrofotometria era una tècnica habitual als laboratoris i consistia en la mesura de l'absorció o emissió de les radiacions electromagnètiques al passar a través d'una substància. L'aplicació més comuna era la de mesurar l'absorció de llum i els espectrofotòmetres més comuns es feien servir en les regions visible i ultraviolada (UV) de l'espectre. Quan s'aplicava a la regió dels UV, s'obtenien informacions sobre l'estructura de les molècules, donat el canvi d'absorció que patien les bases nitrogenades del DNA quan aquest es desnaturalitzava.⁴⁶ L'absorció exacta del DNA depenia de les condicions iòniques del medi i de la temperatura i era menor que la dels nucleòtids lliures. En definitiva, mesurant el canvi d'absorció es podia estudiar el procés de desnaturalització del DNA d'una manera molt senzilla.

El treball de Subirana i Doty va consistir en un estudi de la cinètica de la renaturalització del DNA sota diferents condicions. Es van fer servir diferents mostres, solvents, temperatures i concentracions per tal d'establir el mecanisme bàsic de la reacció, ja que tota una sèrie de factors influeixen en el procés de desnaturalització del DNA: la temperatura, la composició del DNA, el tipus i la força iònica del dissolvent i el pH. El DNA estudiat es va obtenir de *E. coli* i d'*Hemophilus influenzae* i també es va emprar el fag T4, el DNA del qual va ser obtingut mitjançant un procediment descrit anteriorment per Alfred Hershey.⁴⁷

Totes les mostres van ser centrifugades en gradient de densitat de clorur de cesi per comprovar que no havien quedat restes de DNA original i les dades obtingudes mitjançant aquesta tècnica es van presentar al segon dels treballs.⁴⁸ Fer servir aquesta tècnica va requerir el seu aprenentatge per part de Subirana i l'ús d'un aparell la complexitat del qual havia anat augmentant amb els anys, que hauria de

⁴⁶ Per detalls de les tècniques i de la instrumentació, vegeu BUD et al. (1998).

⁴⁷ MANDEL & HERSHEY (1960): "A Fractionating Column for Analysis of Nucleic Acids" *Anal. Biochem*, 1, 66.

⁴⁸ Aquesta havia estat utilitzada per Matthew Meselson, Franklin Stahl i Jerome Vinograd, l'any 1957, i havia portat a establir la duplicació semi-conservativa. El treball és: MESELSON & STAHL (1958). "The Replication of DNA in *Escherichia coli*". *P.N.A.S.* 44, 671-682. Per més detalls, vegeu HOLMES (2001).

permetre la separació dels productes de reacció obtinguts segons les seves diferents densitats i el seu posterior estudi.⁴⁹

Segons aquest treball de Subirana i Doty, el procés es produiria en dues etapes, en la primera de les quals les dues cadenes senzilles de DNA es retrobarien i formarien una molècula per complementarietat entre les bases. Després, en una segona etapa de la reacció, es formaria la doble hèlix per donar una molècula completament renaturalitzada. Ara bé, altres grups que havien estudiat el fenomen de la desnaturalització i posterior renaturalització havien arribat a la conclusió que les cadenes no es separaven després de la desnaturalització, si bé quedarien dissociades l'una al costat de l'altra com a resultat del procés.

Dels resultats de Subirana i Doty es deduïa que la renaturalització del DNA resultava de dues *unitats cinètiques* que serien les dues cadenes complementàries separades. El primer pas del procés, és a dir, la unió de les cadenes complementàries seria dependent de la concentració, mentre que el segon, el de la formació de les dobles hèlix, seguiria un mecanisme unimolecular molt ràpid i aquests resultats contradien els dels grups abans esmentats. Els resultats anòmals que havien observat emprant el fag T4, els va portar a la publicació del segon treball, suggerit per Doty i signat per Subirana, en el qual es va tractar de donar una explicació.⁵⁰

L'estructura del DNA del fag T4 renaturalitzat es va estudiar mitjançant les tècniques d'ultracentrifugació. Els productes de la reacció diferien en funció del mètode utilitzat per produir la desnaturalització: si aquesta es produïa sense prendre precaucions pel que feia a la degradació de les cadenes, per exemple per calor, el DNA format per renaturalització recuperava un 70% de l'estructura, cosa que s'inferia a partir de la densitat que presentava la mostra. En canvi, si es temperava la mostra, el DNA recuperava la seva densitat inicial, i s'interpretava com que s'havia recuperat completament l'estructura, comportament que també havia estat observat en bacteris.

Des dels treballs de Marmur i Doty de 1960, se sabia que si es prenia precaucions pel que feia als solvents utilitzats per tal d'evitar la degradació de les

⁴⁹ En aquests casos, s'està parlant de la ultracentrífuga preparativa, per a l'obtenció de materials. Vegeu ELZEN (1993) i CREAGER (2002).

⁵⁰ SUBIRANA (1966a).

cadena durant el procés de desnaturalització, s'obtenien dos productes com a resultat del procés de renaturalització. Un era indistingible del DNA natiu del T4, mentre que l'altre consistia en un DNA altament agregat que mostrava només una recuperació parcial de l'estructura nativa, la qual cosa va ser detectada mitjançant les tècniques d'ultracentrifugació. Aquest segon producte, si era sotmès a un llarg període de moderació de la temperatura, recuperava la densitat nativa, però mantenia el seu alt estat d'agregació. Es va concloure que el procés de desnaturalització-renaturalització tenia a veure amb la temperatura, les concentracions salines, les concentracions de ions i amb el medi en que, en definitiva, es trobava la mostra.

Si la desnaturalització es produïa en solvents d'alta força iònica, s'obtenia un sol producte de la reacció. Si es feia servir un dissolvent aquós, la força iònica influïa d'una forma regular en la temperatura de desnaturalització. Si s'augmentava molt la concentració de sal, el comportament es modificava, ja que canviava l'estructura de l'aigua i, d'aquesta manera, també la interacció del DNA amb el dissolvent. A més, calia tenir en compte que una preparació de DNA no solia ser uniforme, sinó que consistia en molècules de longitud i seqüències diferents, que resultaven del trencament d'aquestes al ser estretes.

Quan es podia disposar d'una preparació de DNA de molècules exactament idèntiques, obtingudes com a resultat d'un procés de desnaturalització suau, amb un agent com la formamida, com era el cas del material obtingut a partir del fag T4, llavors el procés de desnaturalització i renaturalització es podia seguir en detall. També es van fer servir cadenes de poli-A i poli-U, i es van estudiar les reaccions anàlogues de formació de dobles cadenes que es produïen, si bé es va considerar que les condicions experimentals no eren les mateixes que amb el material obtingut del fag.⁵¹

L'ús de les tècniques de ultracentrifugació van permetre el següent: en aquells casos en que es produïa una desnaturalització parcial es podia saber si es tractava de molècules parcialment desnaturalitzades o bé de mesclades de molècules natives i d'altres totalment desnaturalitzades. Subirana va suggerir que aquesta tècnica podia

⁵¹ Al voltant dels polinucleòtids sintètics, vegeu SANTESMASES (2005).

ser utilitzada com una eina analítica en els experiments subseqüents, ja que quan el DNA desnaturalitzat era emmagatzemat en clorur de cesi, no es produïa cap canvi significatiu ni en la seva densitat ni en la seva densitat òptica.

Les anomalies observades durant el procés de renaturalització als fags T va fer que Subirana suggerís que de la interpretació de les dades obtingudes es podria saber quina seria la disposició dels nucleòtids en aquests DNAs. És a dir: es tractava d'aplicar tècniques de caire estructural a l'estudi dels genomes d'aquests organismes. Els DNAs del T2 i del T4 presentaven una estructura lineal, mentre que el seu mapa genètic semblava circular, fet que durant anys havia intrigat els viròlegs.⁵²

Com que el problema que es presentava era interessant, l'estudi es va ampliar al T3 i es va arribar a la conclusió que en aquest darrer cas, totes les molècules de DNA tenien la mateixa seqüència de nucleòtids ja que, en procedir a la desnaturalització del seu DNA apareixien només dos tipus de macromolècules que eren complementàries. En canvi, els DNAs dels fags T2 i T4 presentaven seqüències que eren permutacions circulars d'una seqüència comuna.

En aquest cas, la reacció de renaturalització donava lloc a dos productes diferents: molècules circulars de la mateixa llargada que les natives i agregats de diverses molècules d'elevat pes molecular. Segons Subirana, un conjunt de molècules lineals amb seqüències permutades circularment es podia generar amb un únic tall a l'atzar en cada molècula d'un conjunt de molècules circulars idèntiques i això aclariria el dilema del fag T4 esmentat més amunt. Com s'ha dit, una conseqüència important d'aquest treball era que aquest treball mostrava possibles aplicacions de la renaturalització a l'estudi de problemes genètics.

Les habilitats adquirides en el tractament dels nous materials que començaven a formar part de la seva recerca, així com l'ús d'un nou ventall d'instruments van fer

⁵² Com ja s'ha esmentat, l'estada a Harvard va produir un quart treball que es va publicar a Espanya als *Anales*, la revista de la Societat de Física i Química, on s'estudiava la renaturalització del DNA de bacteriòfags i la seva aplicació a l'estudi del genoma d'aquests organismes. Vegeu SUBIRANA (1966b). Subirana va rebre l'ajut de la Fundación Juan March, segons consta als agraïments del treball. Al voltant d'aquesta qüestió, vegeu: THOMAS & MACHATTIE (1964). "Circular T2 DNA Molecules". *P.N.A.S.*, 52, 1297-1301; STREISINGER, EDGAR & DENHARDT (1964). "Chromosome Structure in Phage T4, I. Circularity of the Linkage Map". *P.N.A.S.*, 51, 775-779.

que Subirana esdevingués un expert i que, a partir de llavors, apliqués tots aquests nous coneixements en la seva tasca científica. Els seus treballs al laboratori de Doty van fer que s'interessés en resoldre el problema de la variació de conformació que podia produir-se en el DNA quan aquesta molècula establia interaccions amb altres substàncies. Un altre fet rellevant que va augmentar encara més el seu interès per la biologia molecular estructural va ser poder conèixer de primera ma els resultats de Max Perutz al voltant de l'estructura de l'hemoglobina, en una conferència que aquest va donar a Harvard.⁵³

Els treballs en la cinètica de renaturalització del DNA es van anar desenvolupant al llarg de l'any 1962. Així doncs, com ha quedat exposat anteriorment, els treballs amb Doty van ser crucials per diverses raons. En primer lloc, en si mateixos, ja que s'inscrivien en el programa de recerca del departament de química de Harvard, lloc de gran importància pel que feia als treballs estructurals en DNA. En segon lloc per l'aprenentatge, no només sobre el funcionament de nous instruments, sinó també de tècniques, com ja s'ha esmentat i, especialment de maneres de fer, diferents de les dels laboratoris espanyols. En tercer lloc, l'estada a Harvard va propiciar la possibilitat de donar un curs de macromolècules a Xile i Subirana va seguir als EUA fins el moment de marxar a aquest país cap a maig-juny de 1963. En resum, començava a agafar forma la idea de que les estades postdoctorals a l'estranger els haurien de permetre conèixer nous camps de recerca, instruments i tècniques, així com l'establiment d'una xarxa de relacions científiques i personals que s'hauria d'anar engrandint al voltant dels grups emergents que negociaven l'espai acadèmic del que començava a denominar-se biologia molecular.⁵⁴

⁵³ Aquesta conferència de Perutz és citada de manera retrospectiva a PALAU i SUBIRANA (1994).

⁵⁴ JAS a JP, Harvard, 14-10-62:

“Por el laboratorio estoy dando los últimos toques a mi trabajo sobre la Cinética de la Renaturación de los ácidos nucleicos, cuya primera parte ya está concluida. Ahora estoy pensando en qué hacer en estos meses que faltan, hasta mayo, en que pienso concluir mi estancia aquí. Después marcharemos a Chile, donde daré un cursillo en la Universidad de Concepción sobre la Química de las Macromoléculas. Me han invitado a darlo y estoy muy contento por ello, aunque hasta mi llegada no lo creeré, pues me parece imposible”.

2.4.2. El Weizmann Institute a Rehovoth, Israel

Durant l'estada de Subirana a Harvard, Aaron Katchatsky-Katzir, cap del departament de química de polímers de l'Institut Weizmann d'Israel, va donar un curs de termodinàmica de processos irreversibles. Subirana va establir contacte amb ell, la qual cosa va possibilitar anar a treballar al seu departament quan aquest li va suggerir que demanés un beca per anar a l'Institut Weizmann, a Rehovoth, Israel (Figura 4). Al departament de química de polímers, va treballar al grup de Heini Eisenberg en reologia de les dissolucions de polímers.⁵⁵

Pot pensar-se que s'està donant un retorn cap a la química orgànica, però cal dir que els canvis d'interessos i de camp de recerca no es donen de manera immediata, tancant una etapa i obrint-ne una altra. La correspondència que mantenia amb Jaume Palau ja des de l'inici de l'etapa de Harvard permet saber que no és així. La feina a Rehovoth va consistir bàsicament en termodinàmica de dissolucions, i va produir un treball de caire teòric publicat al *Journal of Chemical Physics*⁵⁶, però també en la col·laboració en el que va ser el seu primer treball en DNA aplicant les tècniques de difracció de RX.

Durant la seva estada a Harvard, Subirana s'havia interessat en l'estructura de la nucleohistona, és a dir, l'associació entre el DNA i les proteïnes conegudes com histones, qüestió que serà tractada en profunditat al llarg d'aquesta tesi. Si el DNA es trobava associat a aquestes proteïnes, potser es produirien canvis estructurals en aquest i, si així fos, les tècniques de difracció de raigs X haurien de ser les més adequades per a la seva detecció. Si bé els treballs a Harvard li havien fet pensar en aquests possibles canvis estructurals, no va aconseguir estudiar-ho.

El grup de RX del Weizmann, liderat per Wolfie Traub, es va interessar per la qüestió. Es va tractar de preparar fibres d'espermina i DNA, feina que va fer Subirana,

⁵⁵ Entrevista de l'autor amb Joan Antoni Subirana, 1 de juny de 2005 i 13 de juliol de 2005.

Subirana va disposar d'una Weizmann Fellowship durant el període 1963-64, segons consta al seu CV.

⁵⁶ JAS a JP, Rehovoth, desembre de 1963. Vegeu SUBIRANA (1964b). Treball fet mercès a la Weizmann Fellowship obtinguda. Entrevista de l'autor amb Joan Antoni Subirana, 1 de juny de 2005 i 13 de juliol de 2005.

mentre que la tasca d'anàlisi per RX va quedar en mans del grup de Rehovoth on hi treballaven Mario Suwalsky i Uri Shmueli.⁵⁷ Mitjançant aquestes tècniques, complementades amb la construcció de models, es va estudiar la interacció del DNA amb l'espermina. Aquest tipus de treball, iniciat per Subirana, va ser continuat per un dels coautors de l'article, el xilè Suwalsky, i va formar part de la seva tesi doctoral (Figura 5).⁵⁸

L'efecte de l'espermina s'atribuïa a les interaccions que establia amb els àcids nucleics, la qual cosa serviria per estabilitzar el DNA tal com es manifestava en augmentar la seva temperatura de desnaturalització i la seva resistència al trencament per processos de fractura hidrodinàmica, per la qual cosa es volien saber quines eren les bases estructurals del fenomen.⁵⁹ En particular, i aquest era l'interès de Subirana, es volia investigar quin era l'efecte de l'espermina en la configuració del DNA i la manera com s'unien els components d'aquest complex.

Els complexos DNA-espermina es van preparar a partir de productes comercials i les fibres obtingudes van ser fotografiades en una cel·la especialment construïda per ser mantingudes en tensió i a humitats relatives conegudes, mitjançant solucions salines saturades i bombolleig de gasos. Les càmeres emprades varen ser del tipus *flat-plate* i es va fer servir un tub generador de RX Philips de focus fi.

A humitats relatives del 92%, el patró que presentava el complex es corresponia amb la forma B del DNA. Es va pensar que l'espermina estabilitzava aquesta conformació, i es va suggerir la presència d'entrecreuaments intermoleculars d'aquesta poliamina amb el DNA. Segons això, les molècules d'espermina se situarien al llarg d'un solc que presentava el DNA en la seva estructura, i serviria per mantenir unides les dues cadenes.

A més de les tècniques de difracció, també es va recórrer a la construcció de models moleculars, però cap dels proposats donava una resposta clara, tot i que es va

⁵⁷ L'espermina de poliamina es troba àmpliament distribuïda als teixits animals i als microorganismes. Aquesta interactua amb els àcids nucleics neutralitzant les càrregues negatives que presenten els grups fosfat. El treball és: SUWALSKY et al (1969). Aquest treball va rebre suport econòmic dels NIH, dins del seu programa extramurs, del qual es parlarà més endavant: grant GM 08608 dels NIH.

⁵⁸ Entrevista de l'autor amb Joan Antoni Subirana, 1 de juny de 2005 i 13 de juliol de 2005.

⁵⁹ Fractura hidrodinàmica: Hydrodynamic shear, a l'original.

considerar que hi havia una evidència clara d'entrecreuament intermolecular i d'estabilització de la doble cadena per part de les poliamines. Això podria explicar les observacions que suggerien que l'espermina protegiria el DNA contra el trencament de la seva estructura. És a dir, s'atribuïa una funció protectora a les molècules associades al DNA.

A principis de 1964, Subirana va tornar a Barcelona i es va incorporar al Departament de Química de la Facultat de Ciències de la Universitat. Poc després va guanyar una plaça de col·laborador científic del Patronat Ramón y Cajal, la qual cosa va fer que pogués instal·lar-se al Departament de Genètica de la mateixa facultat, que en aquell moment ja dirigia Antoni Prevosti i Pelegrí, on va començar a posar en marxa un projecte de recerca en col·laboració amb Jaume Palau.

En relació amb aquest darrer aspecte, la formació i l'experiència adquirides per Subirana durant aquest període passat a centres de recerca de l'estranger van influir en els inicis de la trajectòria postdoctoral de Jaume Palau. Si bé, com s'ha dit, es coneixien des de que eren estudiants de química, la seva relació es va fer més estreta quan, en tornar Subirana de París, van coincidir novament a la facultat de ciències i d'aquest retrobament va sorgir la idea de treballar junts en un futur. En aquells moments, Subirana estava a punt de marxar cap a Harvard, i Palau estava acabant la seva tesi doctoral. En el moment en que Subirana retornava a Barcelona, Palau marxava cap a Londres. Les passes donades per Palau transcorren en paral·lel amb la formació de Subirana, de manera que totes dues esdevenen complementàries i inseparables per la voluntat d'ambdós.

2.5. La formació doctoral i postdoctoral de Jaume Palau

Jaume Palau i Albet (Calafell, 1935 – Barcelona, 2000), va créixer al Prat de Llobregat on també hi va estudiar el batxillerat. Van ser les circumstàncies derivades de la guerra civil les responsables del trasllat de Jaume Palau i la seva mare a aquesta localitat propera a la ciutat de Barcelona. El seu pare, un camperol de Calafell d'idees anarquistes, es va exiliar a França al final de la guerra. La seva dona va decidir no

acompanyar-lo i es va establir amb el seu fill Jaume al Prat de Llobregat (Subirana, 2004). Company d'estudis de Joan Antoni Subirana, es va llicenciar en químiques l'any 1959 i va obtenir el seu doctorat a Barcelona l'any 1963, amb la tesi "Contribución al estudio de los ácidos cis-trans-2-hidroxiciclo-heptanodioico y cis-trans-2-metoxociclo-heptanocarbónico", sota la direcció de Josep Castells i Guardiola (1925), essent Josep Pascual i Vila (Mataró, 1895 - Barcelona, 1979) catedràtic de química orgànica (Figures 6 i 7).⁶⁰

A principis dels anys 1960s les possibilitats de futur d'un estudiant de doctorat al finalitzar la seva tesi eren escasses. Els científics formats en l'escola de química orgànica de Pascual i Vila eren una excepció en el sentit que les indústries els proporcionaven feina, ja que confiaven en la bona formació rebuda (Palau i Subirana, 1994). Les trajectòries de Subirana i Palau serien, doncs, una excepció al camí seguit per altres deixebles de Pascual i Vila.

El primer contacte de Palau amb les macromolècules biològiques es va produir durant un dels cursos de doctorat que va fer a la facultat de ciències de Barcelona durant el curs 1960-61, on Fernando Calvet els explicava les llavors recents descobertes de Severo Ochoa, la PNPasa, i d'Arthur Kornberg, la DNA polimerasa, que els havia fet rebre el premi Nobel.⁶¹

Calvet, deixeble de García Banús com Pascual i Vila, s'ha de situar en els inicis de la bioquímica catalana, juntament amb Manuel Rosell i Vicente Villar Palasí. Després de la etapa passada a l'estranger, finalment es va establir com a catedràtic de bioquímica a la facultat de ciències de la Universitat de Barcelona.⁶² Així, la bioquímica

⁶⁰ Josep Castells Guardiola (Barcelona, 1925) és doctor en Ciències (Secció Química) (1951) per la Universitat de Madrid (l'única que llavors expedia títols de doctor a Espanya) i doctor of Philosophy, *PhD*, (1956) per la Universitat de Manchester [en aquest context, "philosophy" equival a "ciència experimental"]. Va ser "research associate" a la Universitat d'Oxford (1956). Va exercir diversos càrrecs al Consell Superior d'Investigacions Científiques (CSIC) (1948-1969), director del Departament de Química Orgànica de la Universitat Autònoma de Barcelona (1969-1976) i del de la Universitat de Barcelona (1976-1990). Professor emèrit (en actiu, del 1991 al 1997).

⁶¹ Palau va fer els següents cursos de doctorat: Ampliació de química orgànica i química orgànica teòrica durant el curs acadèmic 1959-60; metabolisme de proteïnes i espectroscòpia de química orgànica durant el curs acadèmic 1960-61. Expedient acadèmic de Palau, Secretaria de la Facultat de Química de la UB, amablement proporcionat per Joan Padilla.

⁶² Abans de ser catedràtic de bioquímica, Calvet ho va ser de química tècnica. Després va ser-ho

catalana entronca amb la química orgànica i amb les seves dues figures preeminentes, Pascual i Calvet, si bé també es va trobar condicionada pel centralisme del CSIC i perquè, fins el 1953, els títols de doctor en aquesta especialitat només es podien obtenir a la Complutense de Madrid (Sillero i Feliu, 2004). Calvet va ser soci constituent de la Societat Espanyola de Bioquímica, i vice-president de la seva primera junta directiva entre 1964 i 1966, amb Alberto Sols de president.⁶³

Durant els anys 1963 i 1964, Palau va ser coautor de tres treballs des del Departament de Química Orgànica de la Universitat de Barcelona. Com consta al seu *curriculum vitae*, durant l'any 1963 es va dedicar a la recerca postdoctoral a la secció d'espectroscòpia, sota la direcció de Josep Castells i Guardiola, i part del 1963 i 1964, a la secció d'orgànica teòrica del mateix departament, va treballar sota les ordres de Manuel Ballester i Boix.⁶⁴

Abans d'entrar en els detalls de la formació postdoctoral de Palau, cal que aquesta sigui posada en context. Com s'ha dit, Subirana encara era a Israel i la seva experiència influïa en el camí a seguir. La correspondència mantinguda entre tots dos des de la marxa de Subirana a Harvard permet copsar com tots dos s'anaven decidint per la recerca en el camp de les macromolècules biològiques. Per altra banda caldrà

de química orgànica i, posteriorment, de bioquímica.

⁶³ Les dades referides a Fernando Calvet s'han obtingut de SANTESMASES, ROMERO, ÁVILA, (eds), MUÑOZ (dir.) (2004), en concret dels treballs de SILLERO i FELIU i ROMERO. De la mateixa obra s'han obtingut informacions referides a Manuel Rosell. Aquest va ser deixeble de Vicente Villar, juntament amb Claudi Cuchillo. Rosell va estudiar farmàcia a Madrid, on va assistir al curs d'enzimologia que donava Alberto Sols l'any 1957 al CIB (SANTESMASES, 1998) i, posteriorment, va ser catedràtic de bioquímica a la facultat de farmàcia de Barcelona. Va ser soci constituent de la SEB, des de la 1^a reunió de 1962, i vicepresident durant el període 1970-1972. Sobre Calvet i Pascual i Vila i altres químics orgànics, vegeu NIETO-GALAN (2004).

⁶⁴ PALAU, PASCUAL i RAFOLS (1964); CASTELLS & PALAU (1964); BALLESTER, PALAU & RIERA (1964).

Manuel Ballester (1919-2005), s'havia llicenciat en químiques a la universitat de Barcelona l'any 1944 i es va doctorar l'any 1948 a la universitat de Madrid. Des de 1949 fins 1951 va ser fellow a la universitat de Harvard. Entre 1952 i 1971 va ser cap de la secció de química física del patronat Juan de la Cierva del CSIC. La col·laboració de Palau amb Ballester va tenir lloc després de l'estada del segon a Harvard, és a dir, mentre era cap de la secció de química física del Consell. Des de 1971 a 1989 va ser professor d'investigació del Consell, concretament director de l'institut de química orgànica aplicada. Va ser el descobridor dels radicals lliures inerts, la qual cosa va permetre aprofundir en la naturalesa i comportament dels radicals lliures en el camp de les ciències biomèdiques. Ja des de 1958, va rebre encàrregos del govern dels EUA per a la seva oficina d'investigació aeroespacial del departament de defensa, que va durar fins 1973. Font: <http://www.fundacionprincipedeasturias.org./esp/premios/galardones/galardonados/>

tenir en compte la situació de les polítiques científiques a Espanya i, finalment, com es va anar concretant la línia de recerca en la que volien treballar.

2.5.1. Els cursos a Madrid i Varenne

A la seva correspondència amb Palau, Subirana suggeria les passes a seguir per tal de adquirir una bona formació que els permetés treballar en l'àmbit de les macromolècules biològiques en el futur. Com que havia estudiat a Madrid, coneixia persones de l'ambient científic d'aquesta ciutat. Per tant, va insistir a Palau perquè assistís al curs de bioquímica que dirigia Alberto Sols al Centro de Investigaciones Biológicas del CSIC:

“El cursillo de Madrid lo considero muy interesante, de hecho es casi todo bioquímica, pero es necesario tener un “background” de este tipo para meterse con las macromoléculas biológicas. Sería conveniente que antes de ir allí estudiaras algo de bioquímica (...) así podrás seguir el curso más fácilmente...”.⁶⁵

Aquest curs va permetre a Palau establir contacte amb els bioquímics espanyols que es trobaven posant en marxa els primers grups de treball creats al tornar de l'estranger. Entre d'altres, Margarita Salas, Eladio Viñuela, Manuel Losada, Julio Rodriguez Villanueva i Carlos Asensio (Santesmases, 2001c).⁶⁶

A més a més del curs de Madrid, i d'acord amb Subirana, la formació de Palau en el camp de les macromolècules biològiques va continuar amb l'assistència a un curs que es va fer a Varenne, Itàlia, entre el 23 de juliol i el 18 d'agost de 1964. El títol era *Molecular Biophysics*, el dirigia Cyrus Levinthal del Massachusetts Institute of Technology (MIT) i consistia en una introducció a la biologia molecular dirigida a

⁶⁵ JAS a JP, Rehovoth, 8-4-64. L'assistència a aquest curs va ser possible gràcies a una beca del “Patronato Juan de la Cierva”, segons consta al CV de Palau.

⁶⁶ Pel que fa a la importància d'aquests contactes, vegeu JAS a JP, Rehovoth, 8-4-64, 28-4-64, 3-6-64. L'assistència de Palau a aquest curs va ser possible gràcies a una beca del Patronato Juan de la Cierva, tal com consta al seu CV.

estudiants sense formació en biologia, però amb uns certs coneixements avançats en física i química.⁶⁷

Aquesta preparació de Palau en aspectes de la bioquímica i de la biologia molecular tenia com objectiu poder sortir d'Espanya per tenir una formació postdoctoral en aquests camps. Les estades a l'estranger calien considerar-se, doncs, tant des del punt de vista de l'aprenentatge científic i tècnic, com de la importància que tenia l'establiment de relacions humanes i científiques, que obririen futures possibilitats d'obtenció de finançament per a la recerca. També calia escollir el tema de recerca, sempre tenint en compte la tornada al propi país i les seves limitacions. Aquestes estades, doncs, els permetrien tenir una visió de conjunt summament útil del que realment era la recerca científica: coneixements, tècniques, habilitats experimentals, però també aprenentatges relacionats amb les polítiques científiques, que formaven part de les reflexions compartides entre tots dos, on es feien palesos els dubtes referits a la línia de recerca a seguir:

“Per altra banda, cal que reflexionis sobre la branca d'investigació a la que vols dedicar-te. Per fer alguna cosa que valgui la pena és molt important la comunicació amb altres científics i especialització semblant i això a Espanya en química teòrica encara no és possible. Clar que això depèn de lo que vulguis fer en aquest terreny, doncs hi ha possibilitats de fer algo sempre”.⁶⁸

Pel que feia a la situació a Espanya les possibilitats de posar en marxa un projecte de recerca eren molt limitades. L'any 1958 s'havia creat la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica (CAYCIT) i des d'aquell moment havia circulat la idea sobre la conveniència de que es desenvolupessin plans de recerca, que fins llavors no havien existit. La CAYCIT, segons el decret de la seva creació, era l'òrgan assessor i

⁶⁷ JAS a JP, Rehovoth, 28-4-64. L'assistència de Palau a aquest curs va ser possible gràcies a una beca de ICRO (Internacional Cell Research Organization), segons consta al seu CV.

⁶⁸ Ibid.

consultiu del govern en política científica i desenvolupament tecnològic i havia de proposar plans de recerca.⁶⁹

Durant els anys 1960s, la CAYCIT va actuar d'assessora del *I Plan de Desarrollo* sobre les subvencions que la recerca científica i tècnica hauria de rebre a Espanya. El primer president d'aquesta comissió va ser Manuel Lora Tamayo qui, posteriorment, l'any 1962, va ser nomenat ministre d'educació. Sota el seu mandat, l'any 1958 es va crear la Comisión Delegada del Gobierno de Política Científica. L'any 1964, es va dotar un *Fondo Nacional para el desarrollo de la investigación científica*, que va rebre diners dels successius *Planes de Desarrollo* (Sanz Menendez i López García, 1997; Santesmases, 1998).

Dels contactes epistolars entre tots dos científics es desprèn que calia aprofitar els contactes establerts per Subirana i intentar que Palau anés als EUA:

“¿Piensas salir al extranjero a ampliar estudios? Si quieres venir a los USA te costaría poco, en los últimos meses visité varias instituciones y en todas partes querían “postdoctoral students” para colaborar en sus proyectos de investigación. Incluso creo que podría escribir a algunos de los químicos que he conocido y les sería fácil conseguirme una beca rápidamente, en unos meses. Ya me dirás si es que te interesa”.⁷⁰

Les estades als laboratoris de l'estranger no només servien per aprendre tècniques i maneres de treballar; també s'aprenia sobre organitzacions científiques, societats i revistes, cosa que els permetria entrar en l'àrea científica internacional en la qual aspiraven a jugar un paper. Un cop presa la decisió sobre el problema a investigar, calia pensar en el país més adequat per anar ja que era a centres de recerca de l'estranger on es podria adquirir la preparació necessària:

“Crec que els USA és el millor per varies raons. Humanament és un lloc tant diferent que, encara que a nosaltres ens posa malalts, crec que ens ha ajudat molt estar aquí; ens ha obligat a ésser més conscients de la nostra personalitat, del que volem o podem fer de

⁶⁹ Decret de 7 de Febrer de 1958. Informació obtinguda de SANTESMASSES (1998).

⁷⁰ JAS a JP, Mèxic, 30/05/63.

la nostra vida. Científicament val la pena veure els mitjans de que disposen, veure la carrera científica i veure, per comparació, el que es pot fer a Espanya. A més a més, és el lloc on hi ha més possibilitats per aconseguir una beca o altre tipus d'ajuda econòmica.⁷¹

Aquesta anada de Palau a l'estranger s'anava perfilant paral·lelament al seu projecte científic. Sempre pensant en un futur retorn, Subirana ja treballava en la idea de posar en marxa un laboratori d'estudi de macromolècules biològiques. Si bé a Barcelona no hi havia cap grup interessat en química física de macromolècules, era a Madrid on hi havia possibilitats de feina, per exemple al *Rocasolano* del CSIC, centre que Subirana ja coneixia:

“En Barcelona no hay ningún grupo que parezca interesante o interesado en la química física de las macromoléculas, que es en lo que me gustaría trabajar. Me gustaría poner en marcha un laboratorio de estudio de las macromoléculas biológicas, con la intención de desarrollarlo hacia los problemas fundamentales de la agricultura (...) Económicamente creo que a la larga no sería difícil encontrar ayuda del Consejo. Además es factible conseguir ayuda americana, he sondeado varias posibilidades que parecen muy interesantes, veremos que pasa a la hora de concretarlas.”⁷²

Apart de les qüestions estrictament tècniques o d'objectes d'estudi, es reflexionava sobre altres aspectes igualment importants: ja no era possible fer una tasca científica en solitari, i calia treballar en equip. També calia buscar finançament per a la recerca ja fos a Espanya o a l'estranger i l'experiència de Harvard permetia pensar en aquesta possibilitat:

“El problema está más bién en encontrar un ambiente adecuado para este trabajo, el lugar, la gente. Es necesario trabajar en grupo, la labor científica aislada ha pasado a la historia, se necesita gente con intereses semejantes, trabajando con distintas técnicas sobre el mismo o análogos problemas. Por otra parte, me gustaría trabajar en un

⁷¹ JAS a JP, Harvard, 13-1-63.

⁷² JAS a JP, Mèxic, 30-5-63.

ambiente fructífero para el país, que mi trabajo tuviera una repercusión en problemas más aplicados y a la vez un diálogo fructífero con gente dedicada a problemas más prácticos. No se por qué me atrae más la orientación agrícola que la industrial, me parece que España necesita con urgencia llegar a una estabilidad agraria antes de emprender proyectos más ambiciosos. Me gustaría saber tu opinión sobre todo ésto (...) como puedes comprender, me alegraría que algún día pudiéramos trabajar juntos”.⁷³

En aquests moments es poden constatar dues coses importants. El canvi d'interessos cap a les macromolècules biològiques s'ha produït, però el camp d'aplicació de la recerca que es volia fer encara no està clar. Com es desprèn de la seva correspondència amb Palau, els interessos de Subirana es dirigeixen clarament cap a una recerca de tipus aplicat, amb unes motivacions socials clares: treballar per millorar el futur del país. No s'ha d'oblidar que en aquells moments s'havien posat en marxa els *Planes de Desarrollo* i la conseqüent etapa coneguda com el *desarrollismo*, que formarà part del pensament de Subirana, tal com es veurà en capítols posteriors.

La idea de Palau i Subirana de formar-se en centres de recerca estrangers i la posterior posada en marxa d'un grup de recerca a Barcelona malgrat les dificultats amb que es trobarien, començava a prendre forma. Calia trobar un tema de recerca que fos factible de desenvolupar a Barcelona. Recerca aplicada, relacionada amb les necessitats del país, tal vegada l'agricultura, però, ¿amb quins materials d'estudi? Cal recordar quins eren els interessos científics de Subirana: els canvis de conformació que potser patiria el DNA con a conseqüència de la seva associació amb altres molècules, com ara les proteïnes anomenades histones. Mentre era a Harvard, Subirana havia obtingut informació directa al voltant de la que es va conèixer com la primera conferència mundial sobre histones, que va tractar l'estat de la qüestió al voltant del tema. Ja des de Rehovoth, havia informat a Palau que els coordinadors de la trobada havien publicat un article a *Science* l'agost del mateix any 1963. Aquesta conferència, de la que es parlarà en detall en capítols posteriors va esdevenir un fet crucial i decisiu per a la definició del seu futur projecte de recerca.⁷⁴

⁷³ JAS a JP, Mèxic, 30-5-63.

⁷⁴ JAS a JP, Rehovoth, desembre de 1963. La ressenya a *Science* és: BONNER & TS'O (1963).

2.5.2. Breu història de les histones

Aquestes proteïnes ja eren conegudes al segle XIX, i eren extretes dels nuclis de les cèl·lules eucariotes mitjançant l'acció de dissolucions d'àcid clorhídric o sulfúric. La recerca en aquest tipus de proteïnes havia començat el 1874 quan Friedrich Miescher havia descobert a l'esperma del salmó una combinació d'una substància de caràcter àcid que posteriorment va rebre el nom de DNA, combinada amb una substància orgànica de caràcter bàsic que va nomenar protamina. En una recerca semblant en eritròcits d'oca, Albrecht Kossel va comprovar que el material bàsic associat amb l'àcid nucleic era més complex que la protamina. Va aïllar aquesta substància per extracció del nucli mitjançant àcid clorhídric i la va anomenar *histona*. A partir de llavors es va anar demostrant que les histones existien, associades al DNA, en tots els nuclis de les cèl·lules somàtiques, acceptant-se la seva presència en tots els organismes multicel·lulars (Johns, 1971).

Durant la dècada dels 1950s va sorgir un gran interès per aquestes proteïnes, ja que, al trobar-se associades al DNA, se les va considerar com les possibles reguladores de la seva activitat biològica. En aquesta època es pensava que hi hauria moltes histones diferents, i no va ser fins la dècada següent que es va poder clarificar que únicament n'hi havia cinc tipus, molt semblants en tots els organismes. Ja el 1950, es va demostrar que la histona no era una proteïna homogènia donat que les fraccions que s'obtenien presentaven variacions en el contingut d'arginina i lisina. Això va portar als autors de l'experiment, Edgar i Ellen Stedman, a designar-les com riques en arginina o riques en lisina.

Les tècniques de fraccionament es van anar desenvolupant al llarg d'aquesta dècada. La situació es va aclarir considerablement quan, l'any 1959, James M. Neelin i George E. Connell van mostrar que les histones es separaven bé per electroforesi en un medi de gel estabilitzador de midó i aquesta tècnica va permetre fer comparacions entre mescles complexes (Johns, 1971). Durant la dècada dels 1960s, entre d'altres

"Histone Biology and Chemistry". *Science*, vol. 141, Issue 3581, 593-656. Es va publicar el dia 16 d'agost de 1963.

qüestions dins de la biologia molecular, es quan es va estudiar l'estructura de la nucleohistona, és a dir, dels complexos formats pel DNA i les histones al cromosoma, així com la funció que aquestes proteïnes tindrien en interactuar amb aquest àcid nucleic, qüestió que entronca amb la conferència que va suscitar l'interès de Palau i Subirana.

Si bé l'estructura del DNA era coneguda a partir dels treballs de Watson, Crick, Wilkins i Franklin, i l'estructura de les proteïnes a partir dels treballs de Pauling, Kendrew, Perutz i Hodgkin, entre d'altres, l'estructura de la nucleohistona ho era menys. Segons l'escola nordamericana encapçalada per James Bonner, si es considerava que la nucleohistona constituïa el material genètic fonamental i que les histones, a més d'actuar com cations enfront dels anions del DNA també tindrien un paper en la regulació de la activitat genètica del DNA, era d'interès l'estudi de la seva estructura (Bonner i Tuan, 1968).

El 1962, Bonner i Ru-Chi Huang van desenvolupar una metodologia per a l'aïllament dels cromosomes durant la interfase, que és l'etapa que té lloc entre dues divisions cel·lulars. Llavors va ser possible preparar quantitats relativament grans de cromatina pura, i fer-la servir en estudis físics, químics i biològics. Donada la mida de la cromatina, aquesta podia ser sotmesa a trencament mecànic, la qual cosa permetia l'obtenció de nucleohistona soluble. Aquestes tècniques, anomenades de fraccionament, havien estat descrites i desenvolupades l'any 1959 per Zubay i Doty.⁷⁵ La nucleohistona del cromosoma estava formada, segons va ser descrit durant 1962 i 1963 per Huang i Bonner, per DNA, proteïnes històniques, algunes proteïnes no històniques i una petita quantitat de RNA (Bonner i Tuan, 1968).⁷⁶

⁷⁵ ZUBAY & DOTY (1959). Vegeu epígraf 2.2 d'aquest mateix capítol.

⁷⁶ El DNA que conformava una partícula de nucleohistona de massa molecular 20 milions, era una molècula senzilla d'aquest àcid, de massa molecular 8 milions. La ratio de massa entre la histona i el DNA era, aproximadament 1:1,35, la qual cosa proporcionava un aminoàcid bàsic per cada grup fosfat del DNA, segons BONNER & TUAN (1968).

2.5.3. La formació postdoctoral de Jaume Palau: el Chester Beatty Research Institute i el King's College de Londres, 1964–1965

Haver tractat amb un cert detall l'estat de la qüestió de la recerca en histones, així com de les primeres intencions dels protagonistes de posar en marxa un projecte de recerca permet posar en context l'etapa de formació postdoctoral de Palau. El coneixement de la conferència sobre histones marca un punt d'inflexió definitiu: és un camp des del qual podien contribuir al coneixement de l'estructura del cromosoma. A més, hi poden accedir des de la seva formació com a químics, donat que hi havia un enfocament des de la química física de macromolècules, que era la seva formació acadèmica. Es donava també una connexió clara amb la recerca que Subirana havia fet a Harvard i amb la formació postdoctoral de Palau a Madrid i Varenne. Per tot això, les següents passes a donar van ser la materialització d'una estada de Palau a Londres per formar-se en el camp de les histones.⁷⁷

El Regne Unit era un lloc adequat si es volia treballar en histones, ja que al Chester Beatty Research Institute de Londres hi havia el grup de John A. V. Butler, Derek M.P. Phillips i Ernest W. Johns i, al King's College, el grup de Maurice Wilkins. Calia, doncs, anar a treballar amb aquests grups. Subirana havia suggerit per carta a Pascual i Vila la possibilitat que Palau pogués fer aquesta estada a Londres, i suggeria a aquest el que valdria la pena fer:

“Pienso que sería muy interesante si pudieras ir a Londres a trabajar un año en el grupo del prof. Butler o con D.M. Philips [sic]. Butler es profesor de Química Física en la Universidad de Londres y además dirige un grupo de investigación en el hospital Chester Beattie [sic], donde también trabaja Philips [sic]. Su especialización es el fraccionamiento de histonas y estudio de su composición química y por ello sería muy interesante ir a

⁷⁷ JAS a JP, Rehovoth, desembre de 1963. És en aquesta carta des de Rehovoth que Subirana esmenta per primer cop les histones i la conferència que s'havia fet a Califòrnia de la que es parlarà en detall en capítols posteriors. Per una visió de l'estat de la qüestió i de les contribucions a la conferència, vegeu BONNER & TS'O (1964).

trabajar con ellos, pues estudian un tema que es piedra angular en la investigación que me gustaría empezáramos en España”.⁷⁸

Calia aprofitar l'estada a Londres en tots els aspectes possibles: aprenentatge de tècniques, maneres de treballar, però també especialment calia conrear les relacions humanes, que podrien ser necessàries en un futur. Un cop més s'insistia en la necessitat de diàleg entre científics, conseqüència directa dels contactes que s'establissin:

“Ten en cuenta durante tu estancia allí que los contactos humanos son muy importantes. Cuando estemos en Barcelona, si queremos pedir algún favor científico, orientación, etc. a alguien, hay mucha diferencia si hemos hablado antes con él y si se acuerda de nosotros, o si escribimos a una persona desconocida” .⁷⁹

L'estiu de 1964 va transcórrer entre els preparatius de Palau per anar a Londres i els de Subirana per tornar a Barcelona. Finalment, i d'acord amb els plans fets conjuntament per a tots dos, Palau, durant la tardor del mateix any i un cop obtinguda una beca del British Council, va aconseguir incorporar-se al departament de físico-química de John A.V. Butler (Figura 8).⁸⁰

Pel que fa a la seva trajectòria científica, John Butler (1899-1977), químic de formació, va començar la seva carrera acadèmica l'any 1922 al University College de Swansea, des d'on es va traslladar, l'any 1926, a la Universitat d'Edimburg. Entre 1939 i 1941 va ser *Rockefeller fellow* al Rockefeller Institute for Medical Research a Princeton. Treballant amb John Northrop es va produir un canvi en els seus interessos científics, que es van dirigir cap a l'estudi de biomolècules com ara les proteïnes i els àcids nucleics i també del comportament de les nucleoproteïnes aïllades.

⁷⁸ JAS a JP, Rehovoth, 28-12-63. Els treballs del grup del Chester Beatty sobre fraccionament de histones seran esmentats més endavant.

⁷⁹ JAS a JP, Rehovoth, 4-7-64.

⁸⁰ Per detalls al voltant d'aquesta estada a Londres, vegeu JAS a JP, Rehovoth, 9-3-64, 17-6-64. Palau va ser a Londres durant un any entre 1964-1965, tal com consta al seu CV.

Entre 1941 i 1944, Butler va ser oficial executiu de l'oficina científica de la Commonwealth a Washington D.C. i, posteriorment, entre 1946 i 1949, va tornar a Edimburg, des d'on es va traslladar al Courtauld Institute for Biochemistry, a l'hospital de Middlesex, on va fer diversos estudis sobre la degradació de diverses hormones proteiques, i va iniciar la seva col·laboració amb Derek Phillips, amb qui va treballar posteriorment al Chester Beatty Research Institute de Londres.

A partir de 1949, ja al Chester Beatty, la seva missió va ser posar en marxa un departament de bioquímica física. L'any 1952, juntament amb P.F. Davidson, Phillips i Ernest W. Johns, va començar una llarga sèrie d'estudis al voltant de les histones i es van desenvolupar els mètodes de fraccionament dels quals es parlarà més endavant. El mateix any 1952, Butler va publicar una revisió al voltant de la química física del DNA, un abans de la publicació dels treballs de Watson i Crick, on considerava que, si bé la funció del DNA encara no era del tot clara, estava convençut de la seva importància com la de les proteïnes que també eren presents al cromosoma, la qual cosa s'emmarcava perfectament en la línia de recerca que estava iniciant al Chester Beatty.

Bona part de l'esforç de Butler i el seu equip es va dirigir a l'estudi de la heterogeneïtat de les partícules del DNA. Ara bé, a mesura que el treball avançava, els seus interessos es van anar centrant en les histones, com a part del mecanisme que controlaria la replicació i la funció dels cromosomes i, necessàriament, amb la diferenciació cel·lular i en la funció del gens en general, en la línia de les idees d'Edgar i Ellen Stedman.⁸¹ Si bé en uns primers moments, el treball va avançar lentament, a mesura que els mètodes de purificació de les histones van anar millorant, la seva separació i posterior anàlisi van ser més efectives (Mayneord, 1979).

La estada de Palau a Londres va produir tres treballs en l'àmbit de l'estudi de les histones. El primer, signat amb John Butler, va consistir en un estudi de les histones

⁸¹ Les principals aportacions dels Stedman al coneixement de les histones són: la demostració de seva la presència general en el organismes, la seva heterogenicitat i una primera caracterització dels seus components; el reconeixement de les propietats d'agregació d'aquestes proteïnes en solució; la teoria segons la qual les histones inhibien la mitosi i el gran estímul per al desenvolupament general de teories que expliquessin l'expressió dels gens a partir de la seva teoria sobre l'acció inhibidora que aquestes proteïnes tindrien, si bé aquest darrer aspecte va esdevenir insostenible amb el temps. Per més detalls, vegeu CRUFT (1976).

de fetge de la truita (*Salmo trutta*).⁸² La importància d'aquest treball residia en que s'estudiaven les histones d'animals no mamífers, per tal de conèixer millor la seva especificitat i la possibilitat que això donés més resultats pel que feia a saber quina seria la seva funció biològica. El treball va permetre analitzar i caracteritzar quatre de les fraccions històniques, les conegudes com f1, f2b, f2a i f3 (Figura 9).

En l'època en que es va fer aquest treball, si bé s'havien preparat histones d'una gran varietat de fonts d'éssers vius, poca cosa s'havia fet per a l'obtenció de les diferents fraccions d'aquests materials. Tenint en compte que, evolutivament, els peixos són anteriors als mamífers, era d'interès saber si les proteïnes bàsiques dels cromosomes somàtics serien semblants a les histones d'espècies de mamífers, com ara les de timus de vedella. Això es va fer mitjançant l'anàlisi dels seus aminoàcids i sotmetent aquestes proteïnes a una tècnica d'electroforesi en gel de midó.

El segon dels treballs de Palau, amb D. F. Power i Butler, va estudiar la distribució contracorrent de les histones i va aportar una nova tècnica que va permetre obtenir fraccions a partir de mescles d'aquestes proteïnes. El problema de l'obtenció de les fraccions es trobava en aquells moments en vies de solució gràcies a les tècniques de Johns, de les quals es parlarà més endavant, les quals van permetre un avenç real en aquesta qüestió.⁸³

Com que treballant amb les histones totals no s'obtenien separacions prou acurades es va optar per treballar amb les fraccions. El mètode presentat per Palau, Power i Butler permetia fraccionar mescles de histones però no era del tot útil per al fraccionament de tot el complex d'aquestes proteïnes que s'obtenia d'éssers vius, ja que algunes de les fraccions obtingudes no eren suficientment distingibles. Però quan

⁸² PALAU & BUTLER (1966). Durant la realització de la recerca per a aquest treball, Palau tenia el suport econòmic del BC, del CSIC, de l'Ajuntament de Barcelona i del Wellcome Trust: "... the British Council and Consejo Superior de Investigaciones Científicas of Spain for an interchange scholarship, and the Excelentísimo Ayuntamiento de Barcelona and The Wellcome Trust for grants". Al CV de Palau es fa constar que l'any 1964 va obtenir la beca d'intercanvi del BC, que es va complementar, l'any 1965 amb una subvenció de l'Ajuntament de Barcelona, del Wellcome Trust i també del King's College de la universitat de Londres.

⁸³ BUTLER, POWER & PALAU (1967). Pel que fa al finançament rebut per Palau, s'en fa esment al final del treball: "J.P. [Jaume Palau] during his participation in this investigation was a British Council Scholar and also in receipt of some support at different times from the Consejo Superior de Investigaciones Científicas of Spain and The Wellcome Trust".

aquesta tècnica s'aplicava a materials que ja havien estat fraccionats per altres mètodes, semblava evident que podia resultar útil per a ulteriors separacions, per tal de reduir la contaminació creuada. Aquest treball estava en la línia de recerca del grup de Butler de posada en marxa de noves tècniques que permetessin l'obtenció de les fraccions històniques de diferents tipus d'éssers vius.

La formació postdoctoral de Palau a Londres es va completar amb una estada al King's College, durant l'any 1965, on va assistir a un curs que impartia Wilkins, i que va possibilitar una tercera publicació. Ja des del moment en que l'opció escollida era la recerca en histones, i que calia anar a Londres, es va pensar en treballar amb ell, ja que complementaria perfectament la feina que es pogués fer al Chester Beatty:

“La opción sigue siendo Philips. Wilkins, premio Nobel 1962, es un físico interesado en que le den histonas para hacer rayos X, y en su grupo aprenderás en cuanto a prepararlas. Una buena idea sería que después de un par de meses de estar con Philips, te pusieras en contacto con Wilkins y su grupo, pues podrías prepararles algunas histonas para sus rayos X, sería muy interesante colaborar con ellos.”⁸⁴

Mentre Palau encara era a Barcelona, la possibilitat de treballar també amb Wilkins es va trobar amb impediments de caire burocràtic, d'una suposada incompatibilitat per treballar tant al Chester Beatty com al King's. Per aquest motiu, Subirana va insistir a Palau en que escrigués a Wilkins tot suggerint una possible línia de treball. Calia entrar en contacte amb ell, esmentant un especial interès en les histones:⁸⁵

“En cuanto a Wilkins, debes escribirle, pues parece bien dispuesto y está en un laboratorio con mucho ambiente científico. Si los del British Council te lo han prohibido, indícaselo en la carta añadiendo “Since I feel this is a burocratic prohibition, I nevertheless dare writing you again...”. Como programa puedes sugerirle que tratarías de aislar fracciones de histonas puras y regenerar nucleohistonas, para despues hacer

⁸⁴ JAS a JP, Rehovoth, 11-2-64

⁸⁵ JAS a JP, Rehovoth, 9-3-64.

rayos X con las fibras preparadas a partir de ellas. Envíale también las cartas de recomendación que te pide, Pascual, Calvet, Ballester, quizás te las hagan”.⁸⁶

“En Londres, lo más interesante sería que estuvieras trabajando con Wilkins y Butler en un proyecto que interesara al otro a fin de tener contacto con ambos grupos. Los dos laboratorios tienen características distintas, en cierto modo complementarias: Butler es interesante en cuanto a nuestra propuesta, mientras que Wilkins no lo es tanto, pero es un laboratorio de los de mayor categoría internacional y conviene tener una relación personal con él”.⁸⁷

La relació a establir amb Wilkins s’havia de considerar més enllà de la vessant estrictament científica. El seu prestigi, apart de la relació que pogués tenir amb els seus projectes de recerca, era una raó de pes i un pas més en la xarxa de contactes que calia establir.⁸⁸

Un cop superades les dificultats burocràtiques, la connexió amb el King’s College es va produir gràcies a la amistat entre Subirana i Walter Gratzer, al qual havia conegut durant la seva etapa amb Doty a Harvard i que treballava al laboratori de Wilkins. Va ser Gratzer qui va facilitar la incorporació de Palau al curs que Wilkins donava.⁸⁹ Durant aquest curs, Palau va ser becari del departament de biofísica del King’s on va obtenir una base teòrica i experimental de primer ordre.⁹⁰ Palau va poder investigar sobre fibres orientades de complexos DNA-histones i el seu treball, signat conjuntament amb John F. Pardon i Brian M. Richards, que es va publicar a *Biochimica et Biophysica Acta*, va tractar de la reversibilitat de la dissociació de la nucleohistona mitjançant sal, on es van aplicar tècniques de difracció de RX.⁹¹

⁸⁶ JAS a JP, Rehovoth, 3-6-64.

⁸⁷ JAS a JP, Rehovoth, 17-6-64.

⁸⁸ Per l’interès en la col·laboració de Palau amb Wilkins, JAS a JP, Rehovoth, 17-1-64, 11-2-64, 9-3-64, 3-7-64, Barcelona, 20-6-65.

⁸⁹ Entrevista de l’autor amb Joan Antoni Subirana, 1 de juny de 2005.

⁹⁰ 1965, segons consta al CV de Palau.

⁹¹ PALAU, PARDON & RICHARDS (1967). S’esmenta que Palau té el suport del BC i del CSIC: “This work was done during the tenure of an Interchange Scholarship to J.P. by the British Council and Consejo Superior de Investigaciones Científicas Of Spain”, com es fa constar als agraïments del

Per a una millor comprensió d'aquest treball, cal dedicar un espai al coneixement que es tenia en aquells moments al voltant de l'estructura de la nucleohistona. Es pensava que les diferents categories de histones es trobaven dispersades al llarg de la molècula de DNA, sense que cap fragment llarg d'aquesta molècula estigués cobert per un sol tipus d'histona. Tampoc se sabia del cert si les histones es trobaven ordenades de manera lògica o amb algun significat.

El DNA a la nucleohistona es trobava en una relació tal que, per desproteïnitació, donava el material que es coneix com a DNA. Ara bé, les propietats del DNA a la nucleohistona no eren les mateixes que presentava en estat pur. Una molècula de DNA a la nucleohistona nativa era menys asimètrica que quan no s'hi trobava associat. Tot això es va veure de manera qualitativa fent servir tècniques de dispersió de llum, *light scattering*. Indicacions semblants també s'havien obtingut dels resultats de la sedimentació analítica i de viscositat i, en general, es podia concloure que el DNA en la nucleohistona apareixia més escurçat i engruixit en comparació amb el DNA pur (Bonner i Tuan, 1968).

Totes aquestes i també altres informacions suggerien que, quan la histona formava un complex amb el DNA, aquest s'escurçava i les parelles de bases es trobaven parcialment *desapilades*, fenomen conegut com efecte hiperchròmic, i desorientades en relació a l'eix principal de la molècula. Es suggeria l'existència d'algun tipus de superenrotllament del DNA com a resultat de la seva associació amb la nucleohistona. Aquest *supercoiling* va ser el model proposat per John Pardon, Maurice Wilkins i Brian Richards, del King's College, a partir dels resultats obtinguts de manera indirecta mitjançant tècniques de difracció de RX i, de manera directa, amb el microscopi electrònic, dues tècniques característiques de l'enfocament estructural en biologia molecular. El grup de Bonner també va proposar una estructura semblant, si bé va ser el grup del King's el primer en publicar-ho.⁹²

treball. Segons consta al treball, els autors pertanyen al "Medical Research Council, Research Unit and Department of Biophysics, King's College, Strand, London".

⁹² PARDON, WILKINS & RICHARDS (1967). "Super-Helical Model for Nucleohistone", *Nature*, 215, 5100, 508-509. A data d'aquest treball, els del grup de Bonner es trobaven pendents de publicació. Per la proposta de Bonner, vegeu BONNER & TUAN (1968), que es correspon en el temps amb el treball del grup del King's. La prioritat a l'hora de publicar al voltant del

El patró de difracció de RX que presentava el DNA pur a humitats entre el 92% i el 98% havia estat publicat per Wilkins, Stockes i Wilson a *Nature* el 25 d'abril de 1953, acompanyant els articles de Watson i Crick i Franklin i Gosling.⁹³ El patró de difracció de la nucleohistona presentava clares correspondències amb les dades de Wilkins pel que feia a la reflexió generada per les parelles de bases i per l'espaiat, *spacing*, corresponent a la inclinació de l'hèlix, mentre que la reflexió equatorial presentava uns patrons més amplis, indicant menys orientació a les fibres de nucleohistona.

A més, aquestes fibres generaven una col·lecció única de reflexions que no apareixien al DNA pur: els *espaiats semimeridionals*. Aquests havien estat esmentats per primer cop per Wilkins, Zubay i Wilson, l'any 1959 i, amb més detall, per Bonner i Richards l'any 1964. Ara bé, un resultat de considerable interès que proporcionava el patró de difracció de la nucleohistona nativa, i que no es presentava en els patrons de difracció de DNA aïllat, consistia en una sèrie de difraccions que demostraven la presència d'una estructura repetitiva que es va pensar que seria el *supercoiling* abans esmentat (Bradbury & Crane-Robinson, 1971).

El treball de Palau, Pardon i Richards va ser una nova contribució a aquesta recerca. Els dos darrers, ja l'any 1957, havien observat que aquests espaiats de la nucleohistona desapareixien quan la fibra es trobava severament apilada, mentre que reapareixien quan aquest es trobava relaxada. Bonner i Tuan (1968) ho havien atribuït de manera immediata a algun tipus de superempaquetament, el *supercoiling*, model que donava compte, de manera qualitativa, de tots els aspectes esmentats al voltant de les diferències observades entre la nucleohistona i el DNA, a partir dels patrons de difracció de RX obtinguts.

Com que ja se sabia que la nucleohistona nativa contenia només cinc fraccions, que era considerat un nombre petit, es volia saber si alguna d'elles en particular era la responsable de les alteracions que presentava l'estructura del DNA.⁹⁴ Mitjançant

supercoiling em va ser aclarida per Joan Antoni Subirana durant una conversa mantinguda al seu despatx el dia 5 de març de 2007. És important ressaltar que aquest treball del King's és contemporani del de Palau, Pardon i Richards. Com es veurà, aquest model va tenir vigència fins 1973.

⁹³ WILKINS, STOKES & WILSON (1953).

⁹⁴ Les fraccions històniques eren conegudes com f I fins a V.

mètodes de dissociació selectiva d'histones, es va veure que la fracció II, en associació amb la III i la IV, semblava la responsable de les principals propietats físiques del DNA al complex de la nucleohistona. Les histones presents a la nucleohistona nativa presentaven abundant estructura en hèlix α , si bé aquesta configuració es trobava repartida de manera irregular a les diferents histones.

En aquells moments, encara no s'havia desenvolupat cap mètode experimental per poder determinar la geometria amb la que les histones es trobarien combinades amb el DNA en el complex de la nucleohistona. Les reflexions produïdes per la hèlix α no podien ser detectades mitjançant difracció de RX i aquestes tècniques només havien proporcionat un nombre limitat d'informacions. Això era degut, en part, a la pobre orientació del DNA en aquestes fibres, que normalment presentava les propietats d'un gel i, majoritàriament, no era cristal·lí.

Tota una sèrie de treballs fets poc abans havien mostrat que la nucleohistona podia ser reconstituïda després de la seva dissociació.⁹⁵ La novetat proposada per Palau, Pardon i Richards consistia en augmentar la gamma del tractament salí, fent servir un nou procediment experimental millorat que incloïa tècniques de diàlisi per tal de prevenir la desnaturalització i l'agregació de la nucleohistona, que va facilitar l'assoliment d'aquests objectius.

La determinació dels patrons estructurals que presentava la nucleohistona a diferents concentracions salines es va fer mitjançant tècniques de difracció de RX. Els patrons de la nucleoproteïna reconstituïda mostraven totes les característiques del material natiu, a causa de les interaccions DNA-histona, a humitats relatives del 92%. Com s'ha vist, moltes estructures biològiques són de naturalesa fibrosa i altres poden ser orientades com fibres quan són aïllades de les cèl·lules vives.⁹⁶ Tant aquest treball de Palau com el de Subirana a Israel permeten apreciar l'interès que va despertar l'ús de les tècniques de RX aplicades a la recerca que volien desenvolupar en el futur.

⁹⁵ ZUBAY & WILKINS (1964) *J. Mol. Biol.*, 9, 246. També: WILKINS, ZUBAY & WILSON (1959) *J. Mol. Biol.*, 1, 179; ZUBAY & DOTY (1959) *J. Mol. Biol.*, 1, 1; HAMILTON, BARCLAY, WILKINS, BROWN, WILSON, MARVIN, EPHRUSSI-TAYLOR, & SIMMONDS (1959) *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 5, 397.

⁹⁶ Per més detalls d'aquesta qüestió, durant l'època de Palau a Londres, vegeu WILSON (1966).

És important tenir en compte que no s'estava pensant en un ús aïllat d'aquestes tècniques sinó que, durant aquestes estades tots dos van aprendre a fer servir l'ampli ventall d'instruments que havien passat a formar part dels laboratoris de biologia molecular. Després del treball al King's College, Palau va tornar a Barcelona en qualitat d'ajudant del CSIC un cop superades les dificultats que es van presentar, de les que es parlarà en capítols següents.

2.6. Conclusions

L'estudi detallat que s'ha fet dels anys de formació de Palau i Subirana ha permès posar de manifest no tant sols el canvi que es va produir en els seus interessos científics, sinó com aquestes estades postdoctorals els van permetre treballar en grups capdavanters pel que feia als estudis de l'estructura del cromosoma, dels que cal destacar les relacions que existien entre ells, com s'ha vist en esmentar l'autoria dels principals treballs de l'època.

Els objectius de treballar en grups capdavanters en el camp de la biologia molecular estructural es van assolir en tots dos casos, donant-se una convergència entre els treballs en DNA de Subirana i els de histones de Palau. S'ha tractat l'estat de la qüestió tant de la recerca en DNA com en nucleohistona per tal d'entendre el context en el que es van donar els seus aprenentatges, la qual cosa ha permès una millor comprensió de les seves etapes de formació. L'estudi de les cartes de Subirana a Palau han permès constatar com la trajectòria del primer va influir en les passes a seguir, com es podrà seguir veient en el capítol següent on es tractarà de manera detallada el seu projecte de recerca, que s'ha de situar tant en relació amb la formació postdoctoral estudiada com en les condicions que es donaven a l'Espanya de l'època.



Figura 1: Joan Antoni Subirana i Jaume Palau, al Delta de l'Ebre, durant els seus estudis universitaris, ca. 1958. Arxiu de Joan Antoni Subirana



Figura 2: Joan Antoni Subirana, durant els seus estudis universitaris, al Restaurant “Les Set Portes” de Barcelona, ca 1958. De front, Pere Bofill, Salvador Santos, Joan Antoni Subirana i el catedràtic E. Freixa. Arxiu de Joan Antoni Subirana

Kinetics of Renaturation of Denatured DNA. I. Spectrophotometric Results

JUAN A. SUBIRANA* and PAUL DOTY, *Department of Chemistry,
Harvard University, Cambridge, Massachusetts*

Synopsis

The kinetics of renaturation of heat- or formamide-denatured DNA have been studied by following the change of optical density at a constant temperature. Solvents of different ionic strength and various DNA samples have been used. At the lower ionic strengths studied, the reaction follows second-order kinetics, substantiating the hypothesis that strands of native DNA separate upon denaturation and recombine during renaturation. As the ionic strength is increased at a constant temperature, the reaction deviates from simple second-order behavior. This appears to be the result of the inhibition to rewinding caused by short helical segments in the denatured DNA which are more stable at the higher ionic strength.

INTRODUCTION

The denaturation of DNA by heat or formamide brings the separation of the two strands in each molecule; these then assume randomly coiled configurations. In aqueous solutions this denatured state is maintained, although considerable nonspecific base pairing through hydrogen bonds occurs. However, if the denatured DNA solution is annealed under certain conditions, renaturation of the DNA takes place, resulting in a restoration of its native properties.^{1,2} The conditions that produce the optimal renaturation have been already described.³

The present communication represents a study of the kinetics of renaturation under various conditions. Different samples, solvents, temperatures, and concentrations have been studied in order to establish the basic mechanism of the reaction. The main technique used has been to follow the decrease in absorbance which accompanies the recovery of nativelike structures. Additional information has been obtained by the use of density-gradient centrifugation.⁴

EXPERIMENTAL PROCEDURE

Preparation of DNA

The isolation procedure of Marmur⁵ was used to extract DNA from *Escherichia coli* and *Hemophilus influenzae*. The sedimentation constants

* Present address: Centro de Genética Animal y Humana, Facultad de Ciencias, Universidad de Barcelona, Barcelona, Spain.

Figura 3: Primera plana de primera publicació de Subirana amb Paul Doty, a Harvard. SUBIRANA, JUAN ANTONIO & DOTY, PAUL (1966). "Kinetics of Renaturation of Denatured DNA. I- Spectrophotometric Results". *Biopolymers*, 4, 171-187.

An X-ray Study of the Interaction of DNA with Spermine

M. SUWALSKY, W. TRAUB, U. SCHMUELI†

*Department of Chemistry, Weizmann Institute of Science
Rehovoth, Israel*

AND

J. A. SUBIRANA‡

*Polymer Department, Weizmann Institute of Science
Rehovoth, Israel*

(Received 15 February 1967, and in revised form 25 June 1968)

The tetramine spermine forms a complex with DNA, and thereby serves to protect it against denaturation and breakage.

X-ray fibre photographs of the DNA-spermine complex were taken at various relative humidities. The most detailed pattern was obtained at 92% relative humidity. It shows the complex to have the same helical parameters as the naturally occurring B form of DNA, and presumably a closely similar conformation. However, at 76% and lower relative humidities, the complex conforms to the DNA C configuration.

The intermolecular distance was found to vary with the degree of hydration of the specimen, but to have a definite upper limit. This and the range of intermolecular distance observed are consistent with spermine cross-links between DNA molecules.

Studies of molecular models have shown that it is also possible for all four basic groups of a spermine molecule to make hydrogen bonds with phosphate groups on one molecule of DNA. The spermine molecules would lie across the small groove of the DNA and serve to bind its two strands together.

Calculation of intensities for various models for the DNA-spermine complex indicates that no one model can account for the observed X-ray pattern. However, the assumption of spermine in the small groove of DNA as well as in intermolecular cross-links, or of an even greater variety of modes of attachment between DNA and spermine, does lead to satisfactory agreement between calculated and observed intensities.

1. Introduction

The polyamine spermine, $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$, is widely distributed in animal tissues and micro-organisms. Its natural occurrence and biological properties have been reviewed by Tabor & Tabor (1964).

The effects of spermine on various cellular and subcellular systems have been largely attributed to interactions between spermine and nucleic acids (Bichowsky-Slomnitzki, 1948; Keister, 1958; Razin & Rozansky, 1959; Ochoa & Weinstein, 1965). Indeed, it has been found that spermine can complex with DNA, apparently with neutralization of the negatively charged phosphate groups of the latter (Tabor, 1962; Felsenfeld,

† Present address: Chemistry Department, Tel-Aviv University, Israel.

‡ Present address: Centro de Genética Animal y Humana, University of Barcelona, Spain.

Figura 5: Primera plana del primer treball de Subirana en difracció de RX, en col·laboració amb el grup de l'Institut Weizmann (Rehovoth, Israel). Subirana hi va contribuir preparant les fibres de DNA i espermina que, posteriorment van ser analitzades per grup que liderava Traub. SUWALSKY, MARIO, TRAUB, WOLFIE, SCHMUELI, ULI, SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1969). "An X-Ray Study of the Interaction of DNA with Spermine". *J. Mol. Biol.*, 42, 363-373.

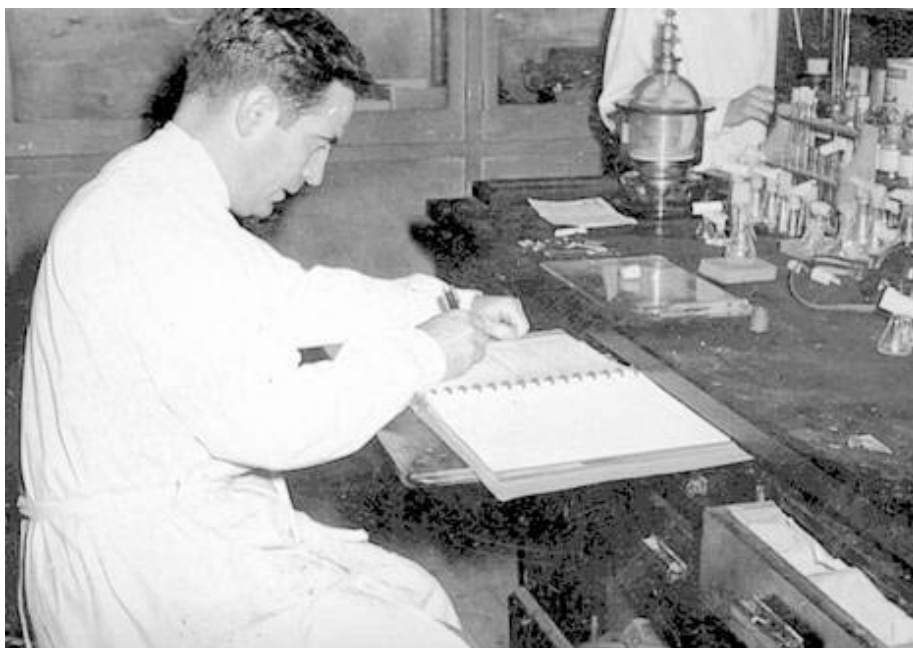


Figura 6: Jaume Palau al laboratori, durant l'elaboració de la seva tesi doctoral, ca. 1960. Arxiu de Joan Antoni Subirana

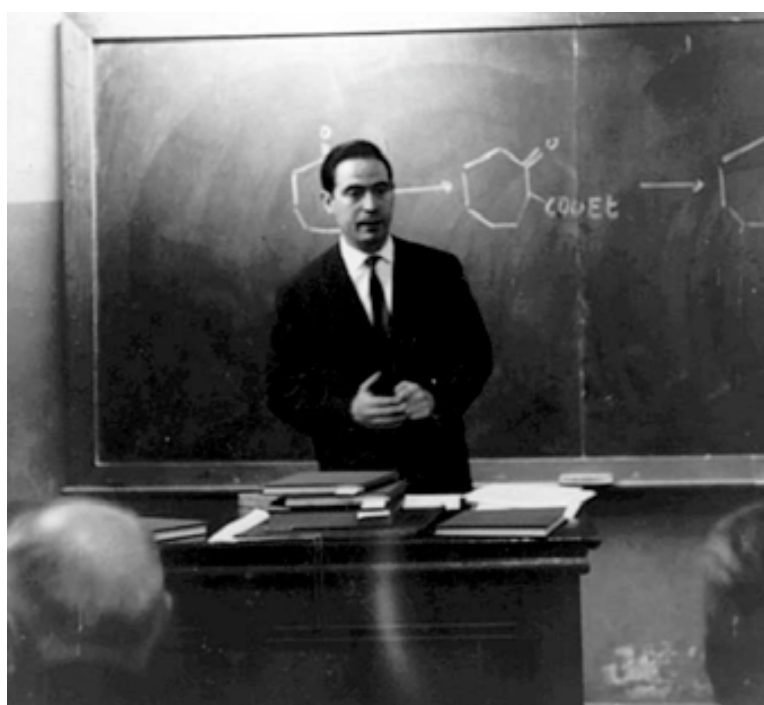


Figura 7: Jaume Palau durant la defensa de la seva tesi doctoral, 15 de juny de 1963. Arxiu de Joan Antoni Subirana



Figura 8: Jaume Palau, davant l'edifici del Chester Beatty Research Institute de Londres, 1964. Arxiu de Joan Antoni Subirana

Trout-Liver Histones

BY J. PALAU* AND J. A. V. BUTLER

*Chester Beatty Research Institute, Institute of Cancer Research:
Royal Cancer Hospital, London, S.W. 3*

(Received 29 April 1966)

1. The histones of trout liver were examined and four main fractions (f1, f2b, f2a and f3) were isolated and characterized. 2. The amino acid analyses, N-terminal group analyses and starch-gel electrophoresis patterns are remarkably similar to the corresponding fractions of calf thymus. 3. The group f2a was also separated into two subfractions, f2a1 and f2a2, which are similar to those of calf thymus.

Calf-thymus histones can be fractionated into four main groups, f1, f2a, f2b and f3 (Johns & Butler, 1962a; Johns, 1964). The differential extraction procedures used for this tissue have also been employed to prepare histone fractions from other mammalian tissues and mammalian tumours, giving similar fractions. A comparison between homologous fractions from these tissues does not show appreciable differences, either in their electrophoretic behaviour or in their amino acid and N-terminal group analyses (Hnilica, Johns & Butler, 1962; Laurence, Simson & Butler, 1963; Laurence, Phillips & Butler, 1966). Phillips & Johns (1965) and Hnilica (1965) have fractionated the group f2a from calf thymus into two fractions (f2a1 and f2a2), but hitherto there has been no correlation of these fractions with histone fractions from other sources.

The study of histones from animals other than mammals would throw further light on their specificity and possibly yield some clues about the biological role of histones. Although whole histone has been prepared from a great variety of sources (Phillips, 1962), very little has been done to fractionate this material. Early histone fractionations from several species were done by Cruft, Mauritzen & Stedman (1957) and additional work has since been done in some other Laboratories. Neelin (1964) and Hnilica (1964) both found one extra fraction in chicken-erythrocyte histones with threonine as the main N-terminal amino acid. Johns & Butler (1962b) prepared histone fractions from wheat germ; they showed that the fraction corresponding to the arginine-rich histones of animal tissues (f3) appears to be missing and that there are considerable differences in amino acid and N-terminal amino acid analyses compared

* Present address: Centro de Genética Animal y Humana, Facultad de Ciencias, Universidad de Barcelona, Spain.

with calf-thymus histone fractions. Iwai (1964) has obtained histone fractions from rice embryos and the amino acid analyses of these differ greatly from those of wheat germ.

We have now examined trout-liver histones. Since fishes come much earlier than mammals in the evolutionary scale, it seemed desirable to know if the basic proteins of their somatic chromosomes are similar to the histones of mammalian species.

EXPERIMENTAL AND RESULTS

Preparation of nuclear material. The livers extracted from trout immediately after death were rapidly frozen by pressing between blocks of solid CO₂ and then stored for 2 days at -18°. In one operation 8.4 g. of this material was cut into small pieces, allowed to thaw partially in the cold room, homogenized (Dounce, 1955; as modified by Laurence *et al.* 1963) with 40 ml. of 0.25 M-sucrose-3 mM-CaCl₂ with two pestles of increasing diameter and the suspension was then filtered through two thicknesses of surgical gauze. The suspension was diluted with 40 ml. of the same solution and centrifuged at 2500 g in an MSE angle-head centrifuge for 15 min. The supernatant was discarded, the sediment resuspended and homogenized in 40 ml. of 0.25 M-sucrose-3 mM-CaCl₂ with a third tightly fitting pestle and the suspension filtered through four thicknesses of surgical gauze. The suspension of nuclei was diluted with 40 ml. of the same solution and centrifuged at 1800 g for 10 min. The supernatant was discarded and the nuclei were resuspended in 40 ml. of 0.9% NaCl solution and homogenized in an MSE tissue blender for 1 min. at top speed. The suspension was diluted with 40 ml. of 0.9% NaCl solution and centrifuged at 2500 g for 15 min. The supernatant was discarded. The sediment constituted the nuclear material to be used in further steps. All the above operations were carried out at 4°. The method described is based on that of Laurence & Butler (1965) for preparing rat-liver histones.

Preparation of trout-liver whole histone. The material obtained as described above was resuspended in 15 ml. of 0.25 N-HCl, transferred to a specimen bottle and rotated

Figura 9: Primera plana de la primera publicació de Palau amb John Butler, al Chester Beatty. PALAU, JAIME AND BUTLER, JOHN A.V. (1966). "Trout-Liver Histones" *Biochem. J.* (1966) 100, 779-783.

He doy perfecta cuenta, soy totalmente consciente, de lo que ~~me~~ expongo
 siguiendo este camino. No olvido que económicamente no estoy liberado y
 que por tanto puedo ser víctima de este futuro incierto. No olvido este nihilismo
 de los organismos oficiales para ayudar a los jóvenes que aspiran a investigar.
 Ignoro si se resolverá en un futuro más o menos próximo. Nadie quiere ^{o puede} dar
 la menor garantía. Pero ¿qué quieres que haga? Si, hay un camino, el de faltar
 a la propia vocación, el de no confiar en la Divina Providencia, el de poner
 los pies en tierra y pisar sobre seguro. Todavía puedo hacerme otras reflexiones:
 no estoy ya solo, me debo a la familia, que seguramente se hará más extensa.
 Pero ¿es ser consciente, cuando en un mundo que veo injusto, me doblegare a la injusti-
 cia? ¿es ser consciente no doblegarse? Yo no sé nada de nada.
 Y sin embargo una fuerza extraña me impele, me obliga a seguir
 un camino - ¿se llama esta fuerza vocación? -

Figura 10: Fragment de carta de Palau a Subirana des de Londres, ca. 1964, sobre els problemes econòmics amb que el primer es pot trobar quan torni a Barcelona. Arxiu de Joan Antoni Subirana

Transcripció del text:

Me doy perfecta cuenta, soy totalmente consciente, de [a] lo que [me] expongo
 siguiendo este camino. No olvido que económicamente no estoy liberado y que por tanto puedo
 ser víctima de este futuro incierto. No olvido este nihilismo de los organismos oficiales para
 ayudar a los jóvenes que aspiran a investigar. Ignoro si se resolverá en un futuro más o menos
 próximo. Nadie quiere, o puede, dar la menor garantía. Pero, ¿qué quieres que haga? Si, hay un
 camino, el de faltar a la propia vocación, el de no confiar en la Divina Providencia, el de poner
 los pies en tierra y pisar sobre seguro. Todavía puedo hacerme otras reflexiones: no estoy ya
 solo, me debo a la familia, que seguramente se hará más extensa. Pero, ¿es ser consciente no
 doblegarse? Yo no sé nada de nada.

Y sin embargo, una fuerza extraña me impele, me obliga a seguir un camino - ¿se llama
 esta fuerza vocación?

Capítol 3

El projecte de recerca i la seva consolidació, 1963–1967

La situació universitària a l'Estat i les condicions específiques de la Universitat a Barcelona van influir de manera crucial en les decisions que van prendre Palau i Subirana. Les seves intervencions no es van limitar al terreny estrictament científic, sinó que la seva participació va ser especialment activa en el procés de legitimació i d'institucionalització de la biologia molecular, on els seus contactes internacionals van jugar un paper fonamental.

Com s'ha vist al capítol anterior, ja durant el període de formació postdoctoral es va anar madurant la idea de posar en marxa un grup de recerca en macromolècules biològiques un cop haguessin tornat a Barcelona. Ja des de Harvard i també des de Rehovoth, mentre Palau estava pendent d'anar a Londres, Subirana havia reflexionat al voltant del seu futur científic i també del tema a escollir per fer recerca així com en la disponibilitat d'un lloc físic i del finançament necessari per a desenvolupar-la.

Disposar d'un espai depenia de les seves coneixences a la facultat de ciències i, per aquest motiu mantenien contactes amb el seu antic professor i mestre, Josep Pascual i Vila, a qui tenien al corrent dels seus projectes. Pel que feia a la qüestió del finançament, l'experiència americana de Subirana els va fer pensar en institucions d'aquest país que destinaven fons amb aquest objectiu.

En aquest capítol es tractaran tres qüestions: el retorn de Palau, el finançament del projecte i com fer-lo possible en el sí de les institucions universitàries. La correspondència entre tots permetrà situar en el temps el desenvolupament dels esdeveniments.

3.1. Els inicis del projecte: la primera proposta de recerca

A la seva correspondència amb Palau, les reflexions de Subirana giraven al voltant del retorn, de les limitacions i de que el fet de viure a Espanya,

“pesa molt. A mi, el treball sobre la investigació agrícola m’ha influït molt. Crec que els científics de països semidesenvolupats hem de treballar per resoldre els nostres problemes (...) Per tot això jo estic tractant d’orientar-me de tal manera que la meva formació i investigació pugui centrar-se en els problemes d’Espanya i tenir una influència benèfica en el país. Crec que necessitem molts més científics per infundir [*sic*] esperit creador en els mitjans tècnics, però cal que escollim el nostre camp de treball més adequat per al que el país necessita”.⁹⁷

Paral·lelament, anaven madurant els seus plans. Des de Rehovoth, i d’acord amb Palau, el mes de desembre de 1963, Subirana havia enviat una proposta de recerca a Josep Pascual i Vila, de la qual li demanava la seva opinió. Es de destacar que l’interès per les histones figurava en un lloc molt important entre les idees de recerca a dur a terme per tots dos, potser deixant de banda anteriors interessos en química teòrica i decantant-se definitivament per l’estudi de les macromolècules biològiques. El treball de Subirana a Harvard i a Rehovoth va influir de manera decisiva a l’hora de decidir-se per l’estudi d’aquestes proteïnes i les seves relacions amb el DNA, i calia que Palau es fes amb tota una sèrie de referències bibliogràfiques al voltant d’aquesta qüestió:

“Respecto a las referencias, seguramente habrá algunas en el Químico de Sarriá y en la Facultad de Medicina. Posteriormente, en la revista Science ha aparecido un report sobre un meeting internacional de histonas, es el N° del 16 de Agosto de 1963, creo que es. En cuanto a libros, puedes mirar cuales hay en el Seminario [de la facultat de ciències], en el Químico de Sarriá o en la Biblioteca Central sobre Polímeros o Macromoléculas y yo podría decirte cuales son interesantes. Los de Flory, “Principles of Polymer Chemistry” y Tandford, “Physical Chemistry of Macromolecules”, son desde luego los mejores...”⁹⁸

⁹⁷JAS a JP, 14-1-63. El treball en recerca agrícola al que es refereix Subirana va ser fet mentre era a París, a l’IRFED, com s’esmentarà més endavant.

⁹⁸ JAS a JP, Rehovoth, desembre de 1963 (sense data). Subirana es refereix a la conferència mundial que serà tractada al capítol 5.

La resposta de Pascual i Vila a la proposta de recerca que havien presentat el portava a reflexionar, un cop més, al voltant del que caldria fer en un futur, quan haguessin tornat a Barcelona:

“Lo que me preocupa más de toda manera es como se resolverá nuestra situación al regresar a España. Hace un par de días recibí por fin respuesta del Dr. Pascual respecto a la propuesta y dice que cree conveniente esperar para ver como evoluciona la cuestión espacio disponible. Le he contestado y creo posible que esto se resuelva en un plazo breve si se confirma que van a construir un nuevo edificio. De todos modos, los días van pasando y es evidente que el asunto tardará más tiempo en resolverse que lo que yo esperaba.”⁹⁹

En els moments en que Subirana i Palau van plantejar-se la formació del seu grup de recerca, el camp d'estudi de les histones es trobava en un moment clau en el que podien intervenir. Però els seus projectes de recerca, en aquells moments, eren justament això: projectes. A més, el postdoctorat de Palau a Londres seguia pendent de solució tot i que semblava que s'acabaria materialitzant. Subirana expressava una certa prevenció pel que feia a les possibilitats reals del projecte, però tot el que es pogués aprendre de les macromolècules biològiques sempre seria de utilitat:

“De todas maneras, aunque las cosas evolucionaran diferentemente, esto te ayudaría a familiarizarte con la investigación en este campo de las macromoléculas biológicas, pues estoy seguro que una vez en España, sino antes, será posible llevar adelante el plan de iniciar un grupo de investigación tal como discutimos en España durante las conversaciones que tuvimos (...). Por otra parte para trabajar en investigación es imprescindible salir por un tiempo y trabajar en algún país donde se investigue en serio (...). En cuanto a las posibilidades materiales, no creo que surjan dificultades pues en general estos profesores importantes tienen ganas de conseguir colaboradores y disponen de los medios necesarios para subvencionarlos”.¹⁰⁰

⁹⁹ JAS a JP, Rehovoth, 28-12-63.

¹⁰⁰ JAS a JP, Rehovoth, 28-12-63

Apart de la línia de recerca que volien posar en marxa, també calia tenir en compte les característiques de la universitat espanyola:

“Durante el curso que dí en Chile me dí cuenta de lo conveniente que es el complemento de la cátedra para la investigación a fin de tener una visión de conjunto imprescindible. Aparte de que en España por ahora la cátedra es el método usual para tener cierta independencia.”¹⁰¹

Independència per fer recerca, però també calia tenir en compte els riscos de posar en marxa un grup de recerca a Espanya i els problemes que es podien presentar:

“Otra cosa de la que creo que has de ser muy consciente es que yo tengo muchas ilusiones y gran confianza en que estos planes salgan adelante, pero es un riesgo incluso si lo de los americanos sale bien, ¿tendrá continuidad? Creo que vale mucho la pena emprender este camino, pero sin olvidar que las circunstancias y los pánicos pueden condicionar enormemente nuestros planes”.¹⁰²

Els americans esmentats eren el departament d'agricultura, que oferia subvencions per a la recerca. La seva estada als EUA l'havia permès conèixer quins eren els mecanismes mitjançant els quals es podia obtenir finançament: calia presentar un projecte a les agències i fundacions que proporcionaven els fons. Per altra banda, com semblava desprendre's de la seva correspondència amb Palau, hi havia una orientació cap a una recerca de tipus aplicat i, més concretament, cap el camp de l'agricultura, aspecte que es pot relacionar amb un cert patriotisme en el sentit de fer quelcom útil per al país d'origen.

Com es veurà més endavant, aquest tret va ser compartit per tota la generació de científics espanyols que varen fer estades postdoctorals fora d'Espanya durant els primers anys de la dècada dels 1960s i on també hi van jugar un paper els seus lligams personals. És en aquest context on s'ha de situar la primera proposta

¹⁰¹ JAS a JP, Rehovoth, 17-1-64.

¹⁰² JAS a JP, Rehovoth, 17-1-64

presentada, relacionada amb aquesta recerca agrícola i l'agència a la qual es va demanar finançament: el departament d'agricultura dels EUA.

L'interès de Subirana per les qüestions agrícoles ja venia de la seva estada a París, abans d'anar als EUA, quan va fer un curs sobre desenvolupament econòmic i un treball sobre recerca agrícola a Espanya a l'*Institut de Recherche de Formation et de Développement* (IRFED). Al demanar la subvenció, tenien la idea de, al tornar, treballar amb Miquel Vendrell, qui també havia fet la tesi amb Pascual i Vila, en qüestions relacionades amb hormones vegetals i permeabilitat de membrana. Subirana i Palau van convèncer Vendrell per què participés amb ells en els seus futurs projectes. Aquest va anar a la Universitat de Yale a fer un postdoctorat de recerca en hormones vegetals, específicament en les seves interaccions amb el nucli cel·lular (Palau i Subirana, 1994).

Des de Rehovoth, i d'acord amb Palau, Subirana va enviar una proposta de recerca a Pascual i Vila, dins d'una petició de subvenció via la llei PL-480, *Public Law 480*, del departament d'agricultura dels Estats Units.¹⁰³ Més tard, Pascual va respondre en sentit positiu a la proposta, si bé insistia en que calia esperar a disposar d'un espai físic per poder-la dur a terme, qüestió que, com s'ha vist abans, hauria de quedar resolta al cap de poc temps.¹⁰⁴

A finals de la dècada dels 1940s, els interessos de l'agricultura dels EUA havien canviat radicalment i la PL-480 formava part de la política agrícola nord-americana posterior a la segona guerra mundial.¹⁰⁵ Mentre la guerra es produïa a Europa i al Pacífic, l'esforç inicial havia consistit en continuar els programes desenvolupats durant els 1930s, d'assegurar el proveïment per tal d'alimentar no tant sols els nord-americans, sinó també part de la resta del món. Després de la guerra, es va passar d'una política de producció a una de sosteniment de preus, ja que els agricultors d'arreu del món van tornar a conrear la terra. Aquesta nova política va incloure, entre d'altres accions, les *Agricultural Acts* de 1948 i 1949, i la *Public Law 480*, també coneguda com el *Food-for-Peace Program*.

¹⁰³ JAS a JP, Rehovoth, desembre de 1963 (sense data).

¹⁰⁴ JAS a JP, Rehovoth, 28-12-63.

¹⁰⁵ Informació obtinguda de:

<http://www.fas.usda.gov/excredits/FoodAid/Title%201/pl480fst.html>;

http://www.access.gpo.gov/congress/senate/sen_agriculture/ch5.html.

La *Agricultural Act* de 1949 va establir, per primer cop, una autoritat per fer donacions d'excedents a persones necessitades arreu del món, a través de d'organitzacions de voluntaris. Degut a que durant els anys 1950s els excedents de producció van augmentar, es va proposar que aquests fossin eliminats mitjançant vendes desgravades i donacions a països en desenvolupament. D'aquesta manera, la *Agricultural Trade Developmental and Assistance Act* de 1954 (PL-480), va ser adoptada com una solució a curt termini a la producció d'excedents. La secció 416 de l'acta de 1949, referida a donacions, va ser incorporada com un element important de la PL-480, o *Food-for-Peace Program*.

Aquest darrer programa ha de ser entès com una evolució de la llei, dissenyat inicialment com un projecte purament agrícola de reducció d'estocs, que va ser transformat en un programa vàlid de política exterior durant el darrer any de presidència de Dwight Eisenhower. El programa va esdevenir la principal autoritat als EUA pel que feia a ajuda alimentària durant tres dècades i va ser important tant per a desenvolupar nous mercats per a productes agrícoles a l'estranger, així com per l'ajuda prestada a les economies de països en desenvolupament, inclosos els ajuts a la recerca agrícola.

La maduració del projecte de recerca i la proposta a presentar al departament d'agricultura dels EUA va coincidir en el temps amb la preparació de l'anada de Palau a Londres, mentre Subirana encara era a Israel completant la seva formació. Pel que feia a la tasca científica que estava fent al Weizmann, apart de la seva col·laboració amb el grup de RX,

“De hecho, aquí pienso hacer solo trabajo teórico para profundizar en los aspectos hidrodinámicos y reológicos (“reos”=fluir) de las macromoléculas. Tengo varias ideas que me parecen interesantes para desarrollarlas matemáticamente (...) En estos años que he estado fuera de España he ido estudiando distintos aspectos de la ciencia polimérica sin profundizar demasiado en ninguno de ellos, pero así estoy consiguiendo

una visión de conjunto que creo me permitirá hacer un trabajo de síntesis más adelante si las condiciones humanas lo permiten en Barcelona.”¹⁰⁶

Tenir una visió de conjunt dels temes de recerca, la necessitat de treballar en equip, aprendre noves destreses tècniques, i establir contactes amb altres grups de recerca, no necessàriament del mateix camp, constituïen trets importants del pensament de Subirana:

“De hecho [el trabajo científico individual], a la larga, esta es mala política. Actualmente, la ciencia avanza por el diálogo fructífero entre especialistas de campos distintos y es preciso profundizar en alguno de ellos para poder avanzar.” ¹⁰⁷

Les possibilitats que oferia el camp de la química macromolecular eren molt àmplies, sempre que s’apliquessin a problemes biològics. Les seves paraules eren un reflex de les seves preocupacions, interessos i calma respecte del futur. Eren les reflexions pròpies d’un company i mestre al mateix temps en aquells moments:

“...la ciencia de los polímeros no tiene demasiada personalidad (...) pero con unas potencialidades enormes cuando se trata de aplicarla a problemas biológicos (...) En este sentido conviene profundizar en la química macromolecular para adquirir la visión de conjunto necesaria y vayas pensando qué aspecto de la misma te atrae más para profundizar en él (...) En fin, de todo esto ya iremos hablando. Estos años son decisivos para que vayamos definiéndonos ante la vida, pero no hay prisa, ante nosotros podemos esperar al menos treinta años de vida profesional productiva y no hay prisa excesiva en elegir el camino”. ¹⁰⁸

Calia aprofitar aquests anys, decisius per a aprendre i per a aprofundir en el camp científic en el que volien treballar. Però sempre hi havia la incògnita del que realment es podria acabar fent a Barcelona. En aquells moments, a Rehovoth, s’havia

¹⁰⁶ JAS a JP, Rehovoth, 17-3-64

¹⁰⁷ JAS a JP, Rehovoth, 17-3-64

¹⁰⁸ JAS a JP, Rehovoth, 17-3-64.

inaugurat el nou edifici del departament de química orgànica del Weizmann, la qual cosa portava a Subirana a reflexionar al voltant dels factors que influïen per poder disposar d'un centre d'aquelles característiques, com ara l'existència de polítiques científiques clares:

“Para hacer una cosa como el Weizmann se necesita no sólo calidad científica, sino una visión política certera de las condiciones ambientales. Pienso mucho en todo ello, pues en España el problema es análogo, es fácil ilusionarse pensando que uno es el mejor químico macromolecular de España, pero ello no es incompatible con ser el peor químico macromolecular del mundo...”¹⁰⁹

Mentre Palau esperava la concessió de la beca per anar a Londres, va anar completant la seva formació, tal i com s'ha vist en capítols anteriors, especialment la seva assistència al curs de bioquímica de Sols, a Madrid, que calia aprofitar per establir contactes. Entre els alumnes que van assistir-hi s'hi trobaven Margarita Salas i Eladio Viñuela:

“Cuando vayas a Madrid, trata de entender lo que hacen en todas las secciones del Inst. de Ciencias Biológicas. Un amigo mío, Eladio Viñuela y su mujer, trabajan con Sols. Habla con ellos, valen mucho científicamente. Di que vas a trabajar conmigo, ir a Inglaterra”.¹¹⁰

Paral·lelament, Palau anava establint contactes amb les autoritats científiques locals de Barcelona. En aquella època s'estava construint la ciutat universitària de Pedralbes i semblava ser que l'Ajuntament de Barcelona hi tenia terrenys. Sempre prenent com a referència el que havia anat coneixent als EUA, Subirana considerava interessant que l'ajuntament dediqués alguns d'aquests terrenys per a edificis destinats a la recerca:

¹⁰⁹ JAS a JP, Rehovoth, 8-4-64.

¹¹⁰ JAS a JP, Rehovoth, 3-6-64.

“Las fundaciones Ford y Rockefeller han construido algunos edificios de investigación por el mundo y no sería difícil conseguir que construyeran uno en Barcelona si hay suficiente ambiente. El Consejo también quiere construir uno y además el del Patronato. Lo digo pues pienso que en tus conversaciones con Pascual, Castells, Marquina, etc. puedes dejarlo caer. Es lo que ha hecho aquí en el Weizmann, que tienen mucho terreno a su disposición”.¹¹¹

L'interès per les fundacions privades era quelcom compartit pels científics espanyols. Havia estat Sols qui havia intentat, sense èxit, obtenir recolzament financer de la Fundació Rockefeller quan l'any 1956 havia anat als EUA representant a Espanya al 50è aniversari de la Societat Americana de Química Biològica, si bé posteriorment va ser el primer científic espanyol en obtenir finançament dels NIH (Santesmases, 1998). La Fundació Rockefeller havia jugat un paper crucial que va donar forma durant un llarg període de temps al canal de cooperació que s'havia establert no només entre individus i institucions, sinó també entre disciplines, intentant superar les tradicionals barreres entre aquestes. Aquesta institució havia intervingut en el desenvolupament de la ciència a Espanya abans de la guerra civil amb la construcció del edifici del seu nom que va albergar centres de recerca de la JAE a Madrid.¹¹²

La creació de marcs inter-institucionals va ser una prerrogativa de la fundació des de les primeres fases de la seva activitat, particularment en els camps de la medicina, la biologia i les ciències naturals abans de la segona guerra mundial, quan el finançament de la ciència per part del govern dels EUA es trobava severament limitat i les fundacions tenien un poder considerable per, com ja s'ha dit, configurar les disciplines i al mateix temps consolidar la seva força institucional, legitimant les agendes polítiques i socials basades en la ciència (Kay, 1993).¹¹³

¹¹¹ JAS a JP, Rehovoth, 17-6-64. L'edifici del patronat és el del carrer Jordi Girona, actual seu del CID-CSIC.

¹¹² Al voltant d'aquesta qüestió, vegeu GLICK (1989) i SÁNCHEZ RON (1989).

¹¹³ Al voltant del paper jugat per la Rockefeller Foundation en el camp de la biologia molecular, vegeu KAY (1993). Al voltant del debat sobre el paper dels físics i dels seus instruments en el desenvolupament de la biologia molecular i del desenvolupament de nova instrumentació, vegeu ABIR-AM (1982 i 1984), BARTELS (1984), FUERST (1984), OLBY (1984) i YOXEN (1984).

Durant els anys 1950s, dins del marc de les polítiques transatlàntiques de les organitzacions filantròpiques nord-americanes, hi va aparèixer un nou actor: la fundació Ford, amb els seus programes d'educació, cultura i ciències socials. Cap a finals de la dècada, aquesta institució va iniciar els seus programes de suport a les ciències físiques, com va ser el cas dels fons concedits al CERN i a l'institut Bohr, entesos com un suport a la democràcia i al procés d'integració europea, en el context de la guerra freda (Krige, 1999). La fundació Ford va actuar també en el sentit de, juntament amb altres fundacions privades, prendre el relleu de les agències del pla Marshall durant una segona etapa de la guerra freda. A Espanya, donada la incertesa política i econòmica que generava la persistència de la dictadura, la fundació Ford va optar per a reciclar les activitats intel·lectuals del Banco Urquijo, a través de la Sociedad de Estudios y Publicaciones, que va incloure un estudi sobre l'educació empresarial a Espanya. Es a dir, es va preocupar de la formació d'empresaris, directius i tècnics per al desenvolupament econòmic espanyol facilitat per les ajudes americanes que van arribar entre 1953 i 1963 (Puig Raposo, 2003).

És dins d'aquest context de coneixement de les institucions nord-americanes que finançaven programes de recerca on s'ha de situar l'estratègia que començaven a desenvolupar Subirana i Palau per tal de fer realitat el seu projecte de recerca. Les possibilitats de desenvolupar-lo a Barcelona no només passaven per a l'aprenentatge en centres estrangers i en l'obtenció de fons, sinó en influir d'alguna manera en les polítiques científiques del país.

Ja des de principis de la dècada dels 1960s, les comunitats científiques nacionals i els responsables de les polítiques científiques estaven posant en marxa les infraestructures i les institucions a nivell local per a establir o consolidar, segons fos el cas, la biologia molecular als seus països, més que invertir els seus recursos en un laboratori europeu. Dins d'aquesta dinàmica s'havia produït, l'any 1963, la posada en marxa d'EMBO, l'organització europea de biologia molecular, de la que es parlarà detalladament més endavant (Abir-Am, 1992b; de Chadarevian, 2002; Krige, 2002; Santesmases, 2002a).

Pel que feia a les vinculacions que hauria de tenir en un futur el projectat grup de recerca, Palau suggeria que podia plantejar-se com una secció del Institut d'Investigacions Biològiques del CSIC, possibilitat que també contemplava Subirana. Però per a aquest darrer, tota relació amb el Consell i qualsevol que es volés establir amb Madrid havia de comptar amb el recolzament de Santiago Alcobé (1903–1977), en aquells moments màxima autoritat en biologia del CSIC a Barcelona. Però el més important era, abans de res, tenir personalitat científica i establir lligams de cara al futur:

“Hablas también de moverse entre los bastidores madrileños. Sin duda es algo que debemos hacer, pero preparados a soltar tacos. La experiencia de muchos cátedros es que a Barcelona no llega ayuda para comprar nada que no esté ya en Madrid, y eso aún con considerables esfuerzos. Por ello tengo muchas más esperanzas en tratar de fomentar algún tipo de ayuda local, sea de industrias, sea de particulares, sea del Ayuntamiento o Diputación. Esto es difícil pero creo que a la larga es posible. En fin me gustaría que estuvieras aquí para poder concretar más y darle vueltas al asunto”.¹¹⁴

Com se'n desprèn d'aquesta carta, i tenint en compte el centralisme de Madrid en aquestes i altres qüestions, Subirana era més partidari de buscar ajudes locals. Ara bé, la idea principal de tots dos era que, de qualsevol manera, el grup s'havia de posar en marxa i calia, doncs, sondejar les possibilitats de disposar d'un espai físic on muntar un laboratori i començar la recerca:

“La cuestión espacio. Habría quizás la posibilidad de instalarnos con el Dr. Vallmitjana en el último piso de la Facultad de Ciencias, pues tiene un laboratorio que no utiliza y por ser profesor de Histología de Naturales, nuestro trabajo allí no desentona”.¹¹⁵

¹¹⁴ JAS a JP, Rehovoth, 4–7–64.

¹¹⁵ JAS a JP, Rehovoth, 4–7–64. Lluís Vallmitjana era el catedràtic de citologia i histologia de la facultat de ciències de la universitat de Barcelona.

La formació de Subirana com enginyer químic semblava oferir també altres possibilitats, sempre en relació amb el CSIC, tal com Palau ja havia suggerit, si bé vinculats a una institució diferent:

“Otra posibilidad es que seguramente daré clases en la Escuela de ingenieros y ahora tienen mucho espacio y ganas de fomentar la investigación y quizás me darían un lugar, presentando ésto a Pascual como abrir una sección del Patronato en la Escuela de Ingenieros. ¿Como crees que vería Pascual estas dos posibilidades? ¿Es cuerdo decirle algo de esto? ¹¹⁶

Aquestes reflexions s'entrecruaven amb altres qüestions, com ara l'assistència de Palau al curs de Sols, pel qual s'interessava Subirana:

“Ya me darás tu opinión final sobre el cursillo de Madrid, por lo que me dices en tu carta han sido unos días muy provechosos, de lo que me alegro. Desde luego en Madrid, en el grupo de Sols, hay mucho más ambiente científico que en Barcelona por varias razones, por su valía profesional ante todo, pues probablemente es el científico español cuyo trabajo pesa más en ambientes internacionales, también porque tienen bastante dinero, debes recordar que las dos terceras partes del presupuesto del Consejo se quedan en Madrid”. ¹¹⁷

El cas de Sols il·lustra un cop més les idees que Subirana ha anat expressant i compartint amb Palau en les seves cartes: el prestigi internacional i els contactes que se'n derivaven, com a estratègia de legitimació al propi país i l'obtenció de finançament per a la recerca.

L'estiu de 1964 va transcórrer entre els preparatius de Palau per anar a Londres i els de Subirana per tornar a Barcelona. Finalment, i d'acord amb els plans fets conjuntament amb Subirana, Palau, un cop obtinguda la beca del British Council, va

¹¹⁶ JAS a JP, Rehovoth, 4-7-64.

¹¹⁷ JAS a JP, Rehovoth, 4-7-64. Sobre la descompensació de personal i institucions del CSIC entre Madrid i Barcelona, veure SANTESMASES i MUÑOZ (1997b).

aconseguir incorporar-se al departament de físic-química de John Butler la tardor del mateix any, després d'un procés que va presentar una seguit de complicacions.¹¹⁸

“Comprendo muy bien tu estado de ánimo cuando dices que te sientes sobre arenas movedizas, de hecho cometí un error de perspectiva al pensar que las cosas iban tan fácilmente como en los USA y por otra parte empezamos a movernos muy tarde”.¹¹⁹

El retard en la marxa de Palau, que semblava respondre a problemes més aviat burocràtics, preocupava Subirana, no només per aquest fet, sinó sempre amb la mirada posada en la futura col·laboració que volien posar en marxa quan haguessin tornat a Barcelona:

“La verdad es que respecto a tu marcha a Inglaterra tengo “mixed feelings”. Por una parte es muy importante que marches fuera para mejorar tu formación, conocer nuevos ambientes científicos, pero por otra confío mucho en ti para llevar adelante la propuesta. Como sabes necesito colaboración para la misma y en ti es en quién tengo más confianza científica y humana. Además, yo estoy ahora bastante desambientado de Barcelona y tu me ayudarías mucho a tomar las decisiones correctas y no dar pasos en falso”.¹²⁰

Mentre Palau era a Londres i Subirana a punt de tornar a Barcelona, es van afegir noves línies a la proposta de recerca, tal com l'estudi de les traces de proteïna al DNA i l'associació DNA-histones, mitjançant el microscopi electrònic. A l'Escola d'Enginyers hi havia un microscopi electrònic, un Siemens Elimskop I, al que Subirana no dubtava de poder tenir accés.¹²¹ També es proposava un estudi dels components de

¹¹⁸ Per detalls al voltant d'aquesta estada a Londres, vegeu JAS a JP, Rehovoth, 9-3-64, 17-6-64. Palau va ser a Londres durant un any entre 1964-1965, tal com consta al seu CV. Palau va obtenir una beca del Wellcome Trust, del Regne Unit, al temps que seguia pendent d'una solució més definitiva de la seva situació quan tornés a Barcelona. La beca del Wellcome Trust va ser-li concedida l'any 1965, segons consta al seu CV.

¹¹⁹ JAS a JP, Rehovoth, 21-4-64.

¹²⁰ JAS a JP, Rehovoth, 27-5-64.

¹²¹ La marca i model del microscopi, així com una imatge d'aquest es troben a LUSA (2000).

l'aparell mitòtic de l'eriçó de mar, sistema experimental d'ús comú en biologia.¹²² El treball que es volia fer amb l'eriçó necessitaria d'un biòleg i un químic en col·laboració i es tractava d'un treball interessant i factible.¹²³ Els nous aprenentatges adquirits, doncs, anaven modificant i adequant el seu projecte de recerca.

Finalitzada la seva estada a l'estranger, el setembre de 1964, Subirana es va incorporar a la universitat, al departament de química orgànica de la facultat de ciències on hi va passar uns mesos. A finals del mateix any, va guanyar per oposició una plaça de col·laborador científic del CSIC (del Patronat Ramon y Cajal) a la càtedra de genètica de la facultat de ciències de la Universitat de Barcelona sota la direcció d'Antoni Prevosti, que estava vinculada al centre de genètica animal i humana del CSIC que dirigia Santiago Alcobé.¹²⁴

“Por aquí aún no he empezado en el laboratorio, pero espero hacerlo pronto. De acuerdo con Pascual he solicitado ser admitido como Colaborador Científico del Consejo en el Centro de Genética que dirige Alcobé y estando yo vinculado a la cátedra de Genética del Dr. Prevosti. Hay 3 plazas vacantes para toda España y es cuestión de esperar que haya suerte y enchufes potentes (....) Como ves Pascual se ha portado muy bien y abierto a las variaciones que surgen. En fin, ya te iré contando cómo se desenvuelven las cosas”.¹²⁵

¹²² Un lloc de gran importància en el seu ús era el Marine Biological Laboratory, a Woods Hole, EUA. Durant la dècada dels 1960s, l'eriçó de mar es va fer servir en estudis relacionats amb el RNA. Els ous d'eriçó de mar, amb una llarga història dins de l'embriologia experimental, constituïen un material molt pràctic ja que podia ser obtingut en grans quantitats, es desenvolupava amb gran sincronia i era raonablement permeable a precursors marcats (GROSS et al., 1964).

¹²³ JAS a JP, Rehovoth, 13-9-64.

¹²⁴ Entrevista de l'autor amb Joan Antoni Subirana, 13 de juliol de 2005. Segons Subirana, va disposar en un primer moment d'una de les anomenades beques de reinserció, que potser encara no rebien aquest nom. Malauradament, les memòries del CSIC entre els anys 1964 i 1967, no s'han pogut localitzar. En primer lloc, són les úniques que no han estat digitalitzades i, per tant, no es troben disponibles a la xarxa. Després d'haver consultat a la bibliotecària de la Institució Milà i Fontanals del CSIC de Barcelona, aquests documents, així com altres que es poguessin referir al Departamento de Genética Animal y Humana, tampoc s'han pogut localitzar. Si s'ha pogut comprovar a la publicació *Consejo Superior de Investigaciones científicas. Veinticinco años de actuación en Barcelona* (1965), que el Centro de Genética Animal y Humana estava dirigit per Santiago Alcobé, essent professor agregat Antoni Prevosti.

¹²⁵ JAS a JP, Barcelona, 21-10-64.

La plaça de col·laborador era la més baixa dins de l'escalafó del Consell. La creació d'aquest tipus de places per al personal científic va anar en paral·lel amb la construcció de nous centres de recerca, la qual cosa va permetre que, apart de crear la carrera investigadora dins del Consell, fos possible una major dedicació del personal científic. Les places de col·laborador es van crear per decret el 5 de juliol de 1945, quan es van dotar per primer cop, i es cobrien per oposició. L'any 1947 s'havien creat les d'investigador científic, per tal d'oferir una carrera professional comparable a la docència universitària. Amb les figures de col·laborador i d'investigador numerari el CSIC va poder incrementar lentament el seu personal, però fins a meitat de la dècada dels seixanta aquests nombres van ser irrellevants. A finals de 1955 el nombre total d'investigadors i col·laboradors numeraris a tots els instituts i centres del CSIC de tota Espanya no arribava a 155, dels quals una trentena eren investigadors. Dins la jerarquia de la institució, el lloc d'aquests col·laboradors i investigadors era inferior al dels catedràtics d'universitat que feien recerca dins el Consell.¹²⁶

Per tal d'entendre la incorporació de Subirana al departament de genètica, cal conèixer alguns detalls de les trajectòries de Santiago Alcobé i d'Antoni Prevosti. Alcobé havia dirigit la tesi doctoral de Prevosti i va ser qui el va iniciar en la genètica i qui, el 1951, va aconseguir la creació del Centre de Genètica Animal i Humana, coordinat amb el CSIC, a la Universitat de Barcelona.

La importància d'aquest centre no sols va tenir incidència en la promoció de la investigació, sinó també en l'ensenyament. Abans del 1955, Alcobé ja ensenyava genètica a la Universitat de Barcelona, però de manera limitada, en forma d'algunes lliçons dins dels programes docents d'assignatures com ara biologia general i

¹²⁶ Les places d'investigador i col·laborador per oposició eren una sinecura per a individus que havien entrat al CSIC en acabar la Guerra Civil per recomanació política, o bé un lloc per esperar l'oposició a càtedra, única manera d'aconseguir una plaça definitiva i *relativament* ben pagada dins la universitat abans de les reformes que van introduir, en els anys seixanta, les figures d'adjunt i d'agregat per oposició. Les oposicions a personal investigador del CSIC, que no eren exactament igual que les oposicions de la universitat, estaven pensades per a poder promocionar el personal que havia entrat al CSIC en acabar la guerra civil, o bé havia estat admès, sense cap mena de concurs, ni oposició, ni publicitat, com a becari o auxiliar. Una novetat important introduïda l'any 1951 era la possibilitat de nomenar investigador una persona "de mérito excepcional valorado por el volumen y trascendencia de las investigaciones publicadas", assignant-li el sou que la discreció del Consejo Ejecutivo trobés adient. Vegeu MALET (1995) i SANTESMASES (2001c).

antropologia.¹²⁷ Ja des de 1931, dedicava una part del programa docent a explicar genètica general i també havia iniciat una línia de recerca en aquest camp: l'estudi de les poblacions de les valls altes dels Pirineus, analitzant-ne els grups sanguinis. També havia donat algunes xerrades a la facultat de medicina, en diverses assignatures on hi havia continguts de genètica, així com a l'Escola d'Agricultura del carrer d'Urgell de Barcelona (Prevosti, 1988).¹²⁸

L'interès d'Antoni Prevosti i Pelegrí (1919) per la genètica el va dur l'any 1941 a establir contacte amb Alcobé. Prevosti s'havia llicenciat en ciències naturals a la Universitat de Barcelona l'any 1942 i va obtenir el seu doctorat amb un treball d'antropologia l'any 1948, sots la direcció d'Alcobé. Com que aquest no era genetista i no creia poder dirigir una tesi de genètica, li va proposar algunes alternatives dins del camp de l'antropologia.¹²⁹ Després de llegir la seva tesi es va traslladar a Roma, per treballar en estadística aplicada a la biologia amb Corrado Gini, però el seu interès per la genètica el va portar a establir contacte amb Adriano Buzzati-Traverso, de la Universitat de Pavía.¹³⁰ Aquesta estada va ser possible gràcies a una beca concedida per l'institut Bernardino de Sahagún del CSIC, al que Alcobé també pertanyia (Candela, 2003).¹³¹

¹²⁷ Per més detalls al voltant de l'ensenyament de la genètica a Barcelona en etapes prèvies a Alcobé, vegeu ARTÍS (1994). Per una visió de la genètica espanyola durant al primera meitat del segle XX, vegeu PINAR (2003).

¹²⁸ Tant Alcobé, com posteriorment Prevosti, van publicar alguns dels seus treballs a la revista *Trabajos del Instituto Bernardino de Sahagún de Antropología y Etnografía*, que era un institut del CSIC, fundat l'any 1941. La revista es va començar a publicar l'any 1945 i al seu primer volum s'hi presentava un treball d'Alcobé titulat "Grupos sanguíneos en nómadas del Sahara Occidental", així com un de Prevosti de títol "Avance para el estudio del crecimiento de los niños barceloneses", que havia estat el tema de la seva tesi doctoral.

¹²⁹ La tesi de Prevosti va derivar del treball "Avance para el estudio del crecimiento de los niños barceloneses", publicat a *Trabajos del Instituto Bernardino de Sahagún de Antropología y Etnografía*, l'any 1945.

¹³⁰ A principis de la dècada dels 1960s, Buzzati-Traverso va fundar i dirigir el laboratori internacional de genètica i biofísica a Nàpols, emmarcat dins la dinàmica de fundació de nous centres de recerca en biologia molecular, com es veurà més endavant. Per més detalls d'aquesta qüestió, vegeu CAPOCCI & CORBELLINI (2002).

¹³¹ L'any 1946, a la mateixa revista, Alcobé va publicar el treball abans esmentat: "Estudios antropológicos en tres altos valles de los Pirineos (Valle de Arán, Andorra, Cerdaña). Prevosti va publicar alguns treballs més en aquesta revista com ara el titulat "Calvarias de épocas premegalíticas procedentes de Alcubieres (Huesca)", l'any 1946 i "Estudio del crecimiento de los escolares barceloneses", l'any 1949.

Prevosti va ser professor de biologia general i d'antropologia des del 1943 fins el 1951 i catedràtic de genètica per oposició l'any 1963. Va impartir l'assignatura de genètica, de la que en va ser el primer professor a la Universitat de Barcelona, des de l'any 1955 fins el 1986. L'any 1952, la carrera de biologia va ser la primera en incloure la genètica en els seus plans d'estudis com a assignatura independent i el primer pla d'estudis de l'Estat espanyol per a obtenir el grau de llicenciat en biologia va entrar en vigència a la Universitat de Barcelona el mateix any. En desaparèixer la llicenciatura en ciències naturals i separar els estudis de geologia i de biologia, es va generar espai per a noves assignatures, com ara la genètica, prevista per al quart any de carrera, i que es va donar per primer cop com assignatura independent durant el curs 1955–1956.

Les seves investigacions es van centrar en genètica evolutiva i de poblacions, emprant com a objecte d'estudi la *Drosophila subobscura*. Les mosques les havia portat ell mateix d'Edimburg, on havia passat una temporada treballant amb Conrad H. Waddington al Institute of Animal Genetics (Serra, 2003).¹³² Tot i dedicar-se a la genètica de poblacions, Prevosti estava interessat en posar en marxa un grup de genètica molecular, i disposava d'espai, la qual cosa va ser crucial per al plans de Subirana i Palau.¹³³

Subirana es va incorporar, doncs, al departament de genètica, on va poder començar a pensar seriosament en el projecte de recerca que compartia amb Palau. Mentre, seguien pendents de l'ajut americà que havia d'arribar via PL-480 i, a Londres, els treballs de Palau en histones seguien avançant. La seva correspondència va començar a incloure qüestions referides a compra de materials i instruments, *contrabando científico*, per anar treballant des de Barcelona:

¹³² Waddington havia començat estudiant el desenvolupament artificial d'embrions d'ocell i de mamífers, però va acabar decantant-se per l'estudi de la naturalesa química del DNA i va estar present en les primeres trobades conjuntes de genetistes i cristal·lògrafs que s'havien produït ja l'any 1938 (OLBY, 1994). L'etapa de Prevosti amb Waddington va ser posterior a la seva estada a Itàlia. Els seus treballs d'aquesta època el van portar a ser convidat als simposis que cada estiu es celebraven a Cold Spring Harbor, Cold Spring Harbor Symposia in Quantitative Biology, l'any 1955, on va presentar el treball "Geographical variability in quantitative traits in populations of *Drosophila subobscura*". L'any anterior, 1954, havia publicat un treball en la mateixa línia a *Genética Ibérica*, "Variación geográfica de varios caracteres cuantitativos en poblaciones catalanas de *Drosophila subobscura*".

¹³³ JAS a JP, Barcelona, 21-10-64, 8-11-64.

“Me parece que esto es todo, pues mientras no nos lleguen los \$ parece un poco tonto pedir productos si no podemos comprar los aparatos necesarios. Lo que si veo es que cuando regreseis definitivamente os tendreis que traer un baúl de contrabando científico. Estas cosas que te pido [tubs de diàlisi] no creo que valgan mucho dinero y lo más simple sería que lo pagaras tú y te lo reembolsáramos a la llegada. Si no es possible ya miraré si podemos mandarte el dinero. Sobre todo pide recibo de todo lo que compres.”¹³⁴

El nou grup de recerca es trobava, doncs, en fase de posada en marxa amb les dificultats pròpies d'un procés d'aquest tipus i de la manera de treballar dels laboratoris locals, molt diferent del que Subirana havia viscut durant les seves estades a Harvard i al Weizmann. A més dels aspectes pràctics i de gestió, seguien pendents de la publicació del seus treballs, com era el cas dels que Subirana havia fet a Harvard:

“Ahora un favor muy importante. Mándame lo antes possible la dirección dónde deben enviarse los artículos en Biopolymers, está en el primer número, primera página, aunque conviene mirar el último número por si han cambiado algo.”¹³⁵

“Otro favor aún: traenos la dirección de dónde han de mandarse las suscripciones para el Biophysical Journal.”¹³⁶

La seva formació postdoctoral a centres estrangers, i la publicació dels seus treballs en les revistes més conegudes del moment els permetria ser reconeguts com experts. Com ja havia passat amb els científics de la generació anterior, el cas de Sols, es va creure convenient publicar els resultats de la recerca en anglès i en revistes de difusió internacional, així com mantenir el costum de completar la formació

¹³⁴ JAS a JP, Barcelona, 26-11-64.

¹³⁵ JAS a JP, Barcelona, 26-11-64. Vegeu SUBIRANA (1965a), SUBIRANA & DOTY (1966), SUBIRANA (1966a) i SUBIRANA, (1966b).

¹³⁶ JAS a JP, Barcelona, 10-12-64.

investigadora en un centre estranger, cosa que, efectivament, es va donar en la generació de Subirana i Palau (Santesmases, 1998, 2002a).

Malgrat les dificultats, especialment l'espera dels fons procedents dels EUA, Subirana estava content de les relacions establertes amb Prevosti i altres catedràtics de ciències naturals i pensava que potser haurien de passar uns anys a la facultat de ciències:

“Por aquí el trabajo avanza lentamente y no puede decirse que la cosa esté ya en marcha. De todos modos confío en que podremos hacer algo serio. La peor pega aquí quizás sea en la dilución del trabajo, cuesta poder trabajar a pleno rendimiento. Lo que cada día me convence más es la relación humana con el Dr. Prevosti y otros cátedros de Ciencias, cada vez me parece más claro que en los primeros años hemos de quedarnos en la Facultad”.¹³⁷

La tasca científica era una tasca d'equip i calia aconseguir atreure estudiants dels últims cursos a treballar amb ells. Quin ambient es respirava a Barcelona en aquest aspecte, en aquells moments?

“Por aquí la vida sigue su curso, el tiempo se diluye mucho y es difícil encontrar un equilibrio. El empezar algo nuevo es realmente complicado y el tiempo se va en tonterías. Más que nada estoy tratando de crear un ambiente a través del cursillo [de péptidos], esperando que esto de sus frutos más adelante. El contacto con los de los últimos cursos de todas maneras es muy reducido, inexistente (...) Quizás podría sondear a Pascual para ver si mandábamos a alguno del laboratorio al extranjero, cuando acabe la tesis. (...) La verdad es que tengo ya ganas de verte por aquí y tener conversaciones histórico-científicas. Hago horario intensivo y pienso que cuando estés por aquí tendré un poco más de compañía, pues suelo comer un par de bocadillos en el bar. Por otro lado con esto de colaborar científicamente solo hablamos de ciencia y muy poco de la vida,... lo cual es más interesante”.¹³⁸

¹³⁷ JAS a JP, Barcelona, 10-12-64.

¹³⁸ JAS a JP, Barcelona, 17-2-65.

Com es pot veure, la posada en marxa del grup de recerca era inseparable i, en certa manera, una conseqüència d'aconseguir crear ambient científic que, al seu temps, produís l'acostament i l'interès d'altres en el projecte. Obrir nous camins podia ser molt d'atractiu, però crear aquest ambient s'havia de fer a costa de la pròpia tasca personal. Pel que feia a aspectes concrets de la recerca,

“En cuanto al futuro trabajo aquí me parece muy interesante tu idea de formar un laboratorio de análisis de proteínas (...). De todos modos, no me seduce demasiado la idea de trabajar en la estructura primaria de las histonas, pues nos interesa más bien iniciar una línea de trabajo original (...). En lo de las histonas creo que hemos de tratar de tener técnicas originales a punto, previendo ya que Philips, Hnilica etc avanzarán al mismo tiempo en la caracterización de histonas y podremos hacer uso de lo que ellos encuentren”.¹³⁹

El treball realitzat per altres grups condicionaria allò que volguessin fer, al temps que els serviria de base. Hi havia, però, camp per treballar:

“Cada vez estoy más convencido de que es necesario un estudio general de las histonas de diferentes organismos, con DNA de distinto GC %¹⁴⁰ que los mamíferos, a fin de encontrar analogías y diferencias con lo que sucede en el tимо. Creo que esto puede dar muchas pistas valiosas y quizás conducirnos a fuentes de histonas más homogéneas. En fin, ya me dirás algo”.¹⁴¹

¹³⁹ JAS a JP, Barcelona, 17-2-65. Com s'ha vist, Johns pertanyia al Chester Beatty de Londres. Lubomir S. Hnilica, pertanyia al departament de bioquímica de la Universtiat de Texas, M.D. Anderson Hospital and Tumor Institute a Houston. Juntament amb M.E. McClure i T.C. Spelsberg, va contribuir al volum monogràfic sobre histones editat per Phillips l'any 1971, citat al llarg del treball i a la bibliografia. L'index del llibre de Philips permet veure quins eren els camps concrets de recerca en histones de Philips i Hnilica. Subirana va establir contacte amb Hnilica l'any 1968, quan va anar a Houston a donar el curs de bioquímica de Joan Oró, com es veurà més endavant.

¹⁴⁰ Percentatges de guanina i citosina presents al DNA.

¹⁴¹ JAS a JP, Barcelona, 8-3-65. Cal tenir present que els treballs de Johns referits a les tècniques de separació de histones s'havien publicat just l'any 1964.

L'experiència adquirida per Subirana durant la seva estada a l'estranger contrastava amb la lentitud amb la qual havia de treballar a Barcelona. Al mateix temps, posava a Palau al corrent de la situació universitària:

“Por aquí todo se mueve muy lentamente y puede decirse que no hay ninguna novedad de interés, a menudo me pregunto si tiene demasiado sentido toda la actividad que hago y muy poca ciencia resulta de ella.

Estos días ha habido jaleo en la Universidad, veremos como acabará, parece que los estudiantes van por buen camino, pero lo que pretenden, un sindicato no gubernamental, el gobierno lógicamente no puede concederlo”.¹⁴²

El context de la mobilització universitària era el següent: la segona meitat dels anys 1960s va ser per a Espanya una època de desenvolupament econòmic i industrial, que va anar acompanyat de la recuperació oficial de les relacions diplomàtiques per part de la dictadura, qüestió de la que es parlarà més endavant. Però l'obertura del règim no es va donar d'una manera lineal, ja que s'alternaven períodes de polítiques *liberals* amb altres de mesures policials estrictes. Però fins i tot en aquest context, les polítiques educatives i científiques continuaven essent crucials per a l'acció política. Va ser l'any 1965 quan, entre d'altres fets relacionats amb la universitat, es va constituir el sindicat democràtic d'estudiants, en oposició al SEU oficial.¹⁴³

Mentre, Palau seguia a Londres, si bé ja pensant en el retorn a Barcelona (Figura 10). S'havien de superar tota una sèrie de dificultats de caire econòmic i Subirana s'havia preocupat de mirar de trobar-li una solució per quan tornés:

“El problema grave es el de tu situación en los próximos meses (...) El Dr. Pascual a menudo me habla preocupado por tu situación, creo que tiene ganas de ayudarte, pero no sé como. Me dijo que deberías pedir una beca March para el extranjero y prolongar

¹⁴² JAS a JP, Barcelona, 8-3-65.

¹⁴³ Per més detalls sobre la situació universitària de l'època, vegeu FERNÁNDEZ BUEY, ARGULLOL i PÉREZ (1977), Reeditat a LUSA MONFORTE i ROCA-ROSELL (2005). Vegeu també SANTESMASES (2002a).

tu estancia en Londres. Creo que dadas las circunstancias es quizás lo mejor que podrías hacer si tu situación personal lo permite”.¹⁴⁴

Subirana suggeria tota una sèrie de possibles solucions que passaven tant per la beca March suggerida per Pascual i Vila, que implicaria allargar la estada a Londres i per la qual cosa caldria la col·laboració de Butler, com per beques d'ajut als graduats. La Fundació Juan March s'havia creat l'any 1955 i, des de 1956, havia concedit beques, ajudes i premis a la recerca científica a les àrees d'investigació biomèdica. Les beques eren personals, per treballar a Espanya o a l'estranger i estaven lligades a un projecte de recerca.

Subirana confiava en que, ni que fos de manera extraoficial, Pascual pogués fer alguna cosa, com ara aconseguir que el nomenessin col·laborador eventual del Consell, com havia passat al principi amb ell mateix. També confiava en que Prevosti el proposés com ajudant del Consell, però per a això calia esperar a l'any següent.¹⁴⁵ Mentre, la qüestió de l'ajut que havia d'arribar del Departament d'Agricultura dels EUA seguia pendent de solució:

“Hoy hay noticias de todos los colores. La peor de todas es que los americanos hicieron una visita al patronato y oficiosamente declararon que no habían fondos para nuestra propuesta hasta fines del 66 y aún con interrogante, a pesar de que nuestra propuesta está ya aprobada. La buena noticia es que me han nombrado colaborador del Patronato Ramón y Cajal, nombramiento que aún no es oficial, pero lo será pronto. Esto abre nuevas perspectivas y, sobre todo, espero que sirva para resolver mi situación económica de un modo estable.”¹⁴⁶

Pel que feia a l'obtenció de finançament dels EUA, com ja s'ha vist, s'havia demanat una ajuda al Departament d'Agricultura. Amb data 21 de gener de 1965, van

¹⁴⁴ JAS a JP, Barcelona, 1-4-65. Vegeu especialment també JAS a JP, Barcelona, 18-4-65.

¹⁴⁵ Per més detalls sobre la solució als problemes de Palau, vegeu JAS a JP, Barcelona, 18-4-65. Segons consta al CV de Palau, va obtenir una beca individual de la Fundació Juan March l'any 1966.

¹⁴⁶ JAS a JP, Barcelona, 1-4-65.

saber que el departament d'agricultura dels Estats Units havia aprovat el contracte relacionat amb la PL-480, però l'arribada dels diners encara podia trigar (Figura 11).¹⁴⁷

3.2. La proposta de recerca als NIH

Les noves males notícies procedents dels Estats Units, en forma d'un nou retard de l'ajut, va fer que decidissin demanar finançament als National Institutes of Health (NIH), malgrat les dificultats que podia representar aconseguir-ho (figures 12a i 12b):

“De todos modos, en vista de la lentitud del departamento de Agricultura, pienso probar pedir una ayuda al NIH americano, que es mucho más rápido, aunque difícil de conseguir por la gran competencia que hay. Si pedimos la ayuda en Junio sabremos el resultado en Diciembre”.¹⁴⁸

El primer grup espanyol de recerca que havia rebut subvenció dels NIH, havia estat el d'Alberto Sols del CIB/CSIC, des de 1961 fins 1967. Durant els primers anys de la dècada 1960s, el servei de salut pública dels EUA tenia dues oficines administradores de beques, una de les quals eren els NIH, que constituïen un conjunt d'instituts dedicats a la recerca biomèdica, amb un programa dedicat al suport a la recerca no només dels seus centres, sinó també d'aliens, incloent a alguns laboratoris estrangers, conegut com *extramural program*. Les ajudes dels NIH també consistien en beques personals de formació postdoctoral als EUA per a persones que no treballaven en aquesta institució. El primer espanyol en aconseguir una d'aquestes beques va ser Carlos Asensio, deixeble i col·laborador de Sols, l'any 1959 (Santesmases i Muñoz, 1997a).

Els NIH concedien una sol ajut per grup de recerca, generalment improrrogable, amb la finalitat de promoure que fossin els propis països en els quals treballaven els investigadors sol·licitants els que s'encarreguessin posteriorment de continuar

¹⁴⁷ JAS a JP, Barcelona, 11-2-65.

¹⁴⁸ JAS a JP, Barcelona, 1-4-65. Vegeu figura 12, on es mostra aquesta carta completa. Cal recordar que els treballs de Subirana a Harvard amb Doty ja havien rebut el suport dels NIH, i també el treball de difracció de RX fet a Rehovoth.

subvencionant els seus científics. No es tractava, doncs, de proporcionar un ajut permanent i els requisits per a la presentació de la sol·licitud de subvenció no eren senzills. El procés pel qual s'aproven les sol·licituds de subvencions a projectes de recerca exigien una exposició molt detallada dels mètodes, tècniques i coneixements al voltant del projecte presentat que era estudiat per un comitè de científics especialistes en el mateix tema. Aquests havien d'arribar a la conclusió que les investigacions que es proposaven eren el suficientment importants i amb possibilitats d'èxit com per merèixer que els fos adjudicada una part del pressupost dels NIH. També es demanava la valoració de la despesa econòmica del projecte sotmès.

El *programa extramurs* dels NIH s'havia anat perfilant des de 1937 i es va plasmar l'any 1945, com a fruit de la transformació de les estratègies desenvolupades en temps de guerra per altres agències governamentals nord-americanes, com ara la *Office of Scientific Research and Development* (OSRD), que havia quedat establerta l'any 1952 per dirigir la recerca relacionada amb la defensa nacional (Fox, 1987; Santemas, 1998).¹⁴⁹

La proposta es va enviar cap a principis de juny. Pel que feia al laboratori que es volia posar en marxa, a l'espera de l'ajut americà, "d'aparells res de res", en paraules de Pascual i Vila.¹⁵⁰ A més, la no concessió l'ajuda de la PL-480, va fer que Miquel Vendrell, amb el qual havien establert contacte un temps abans per associar-lo al seu grup, seguís una trajectòria diferent, vinculada a l'agricultura. Aquest, després d'uns anys a l'estranger, EUA, Cuba i Austràlia, es va incorporar al Consell com expert en fisiologia vegetal (Palau i Subirana, 1994).

Mentre, la situació del grup de recerca seguia essent precària mentre no es pogués disposar d'un laboratori propi:

¹⁴⁹ Els detalls sobre la petició de subvencions als NIH i altres detalls al voltant de Sols, han estat obtinguts de SANTEMASES (1998). Per més detalls del desenvolupament del programa extramurs dels NIH, vegeu FOX (1987). En relació amb en la transformació d'estratègies desenvolupades en temps de guerra, com ara la campanya "Àtoms per a la Pau", vegeu KRIGE (2006).

¹⁵⁰ JAS a JP, Barcelona, 2-6-65, 20-6-65.

“La situación de nuestro grupo de investigación aquí tiene aún varios problemas previos que resolver, el más grave tener un laboratorio de Química que dependa de nosotros, no una taquilla sólo. Sin esto no se puede pensar en doctorandos. En este sentido es bastante probable que consigamos reestructurar el laboratorio del Dr. Prevosti este verano”.¹⁵¹

Disposar de doctorands esdevenia imprescindible per a la posada en marxa de la recerca:

“Además los doctorandos quieren hacer la tesis con catedráticos. Por otra parte, si no obtenemos una ayuda económica de algún lado, no es posible la ayuda de laborantes. Espero que todo esto se resuelva dentro de unos meses, entretanto hemos pedido varias ayudas y ahora estoy preparando la del NIH, que te mandaré incluyendo comentarios sobre las histonas de equinodermos”.¹⁵²

Palau, des de Londres, havia revisat el projecte de recerca que es va presentar a principis de juny de 1965 als NIH i que Subirana havia preparat. Pensaven que es tractava d'una proposta prou raonable, també des del punt de vista econòmic i que potser, si alguna cosa podia presentar problemes, seria l'anàlisi d'aminoàcids. Cal recordar que els aspectes econòmics eren analitzats detalladament des dels NIH. Mentre, seguien aprenent a treballar amb les fibres de DNA i histona.¹⁵³

Per altra banda, l'obtenció d'un ajut per a Palau, en cas de no prorrogar la seva estada a Londres, seguia pendent:

“Recibí tu carta del día 2 y me alegra saber que, por fin hayas cobrado la ayuda del Ayuntamiento. ¡Ya era hora! Espero que también puedas prorrogar tu estancia unos

¹⁵¹ JAS a JP, Barcelona, 5-5-65.

¹⁵² JAS a JP, Barcelona, 5-5-65.

¹⁵³ Palau tenia problemes amb el DNA i Subirana suggeria l'ús de fibres comercials, com de fet ja havia utilitzat en algun dels seus treballs anteriors. En aquells moments, la tasca de Subirana a Barcelona consistia en l'aïllament de les histones d'esperma de musclo.

meses, pues por aquí veo difícil conseguir nada antes del 1-1-66, fecha en que veo factible que te nombren ayudante científico del Centro de Genética".¹⁵⁴

"Respecto a obtener una ayuda para tí lo veo difícil. El Consejo casi seguro no te ayudará. Prevosti tiene muy pocos fondos, en último extremo quizás podría ayudarte algo, muy poco. A Pascual tendrías que escribirle exponiendo tu situación. Él está en buena disposición para ayudarte, pero no sé si puede. Aquí le han hecho varios homenajes por sus setenta años, dile que te adhieres a ellos, etc... Donde has de apretar fuerte es con Butler y Wilkins, es donde creo más factible que consigas alguna ayuda. Ya me dirás como evoluciona esto (...) He consultado acerca de tu entrada en el Consejo y eventualmente es posible que consigamos que entres directamente como colaborador. Claro que esto depende en último término del Tribunal que nombren. Esto sería para enero de 1966 lo más pronto".¹⁵⁵

Calia doncs, presentar la documentació necessària al Consell i esdevenia de la màxima importància tenir el màxim possible de publicacions. Per aquelles dates, els treballs de Palau s'estaven escrivint i tots tres van ser rebuts pels editors de les publicacions escollides durant l'any 1966:

"Para ello es interesante que para el 15-X-65 tengas el máximo número de publicaciones y sería interesante que tuvieras ya algo, una nota quizás, aunque sea en prensa, de tu trabajo sobre las histonas".¹⁵⁶

Mentre esperaven la solució dels problemes esmentats, anaven perfilant quins serien els instruments que podrien necessitar per engegar la seva futura recerca, guiats en aquest cas per l'experiència que Palau estava adquirint en el camp de les histones. Com s'ha anat veient, mentre Subirana començava a treballar des de Barcelona i intentava trobar una solució econòmica per a Palau, aquest darrer, des de Londres, aportava l'experiència directa en la recerca que es volia dur a terme:

¹⁵⁴ JAS a JP, Barcelona, 5-5-65. L'ajuda de l'ajuntament de Barcelona que esmenta Subirana es citada explícitament a PALAU & BUTLER (1966).

¹⁵⁵ JAS a JP, Barcelona, 20-6-65.

¹⁵⁶ JAS a JP, Barcelona, 5-5-65. Vegeu també JAS a JP 20-6-65 i 1-7-65.

“Sobre el material para análisis y caracterización de histonas, lo que me urgiría que me dijeras es el material permanente, aparatos y semejante, de precio superior a 20000 ptas, con mención de precio exacto y marca adecuada. Seguramente lo único necesario sea una centrífuga refrigerada preparativa, colector de fracciones e instrumental para electroforesis. De lo único que no sé precios y marcas es de esto último y convendría que te enteraras lo antes posible y nos lo mandarás. Además todo aparato que consideres necesario y no sea de vidrio”.¹⁵⁷

Entre juny i juliol de 1965 es van convocar oposicions a càtedra a l'Escola d'Enginyers. Temps enrere, com s'ha esmentat, Subirana havia reflexionat al voltant de la importància de ser catedràtic, per la independència que donava i la possibilitat de tenir una visió de conjunt de les qüestions de recerca. També hi havia la qüestió del funcionament de la carrera investigadora dins del Consell. Semblava clar, doncs, que la millor manera d'aconseguir la independència necessària per dur a terme el projecte de recerca, passava per guanyar l'oposició a una plaça de catedràtic. Cal afegir que, com feia poc havia comentat a Palau, era difícil tenir doctorands quan no s'era catedràtic.¹⁵⁸

“Hace unos días llegó tu carta y entretanto han sucedido cosas importantes. La más importante es que ha salido a oposición una cátedra en la Escuela de Ingenieros, que incluye lo de Plásticos y a la que me voy a presentar, pues la coyuntura es muy favorable. Lo que más me atrae es que esto puede ser un paso importante hacia la creación de un centro de Química macromolecular que incluya una parte técnica y otra biológica. Esto quiere decir que en los próximos meses colgaré la bata y me dedicaré plenamente a preparar la oposición”.¹⁵⁹

¹⁵⁷ JAS a JP, Barcelona, 5-5-65.

¹⁵⁸ Vegeu JAS a JP, Rehovoth 16-1-64 i JAS a JP, Barcelona, 5-5-65. Les places de col·laborador, com la que en aquells moments tenia Subirana, eren les més baixes de l'escalafó. Si bé l'any 1947 s'havien creat les de investigador científic, les de professor d'investigació, que es podria considerar com alternativa a la docència universitària, encara no existien, ja que no es van crear fins el 1970.

¹⁵⁹ JAS a JP, Barcelona, 1-7-65.

L'estiu de 1965, Subirana es trobava, doncs, immers de ple en els tràmits de les oposicions a Càtedra d'Enginyers, a Madrid, on s'havien de dur a terme les proves. Si bé a primera vista semblava difícil relacionar-ho amb les seves intencions de fer recerca en macromolècules biològiques, aquest confiava en poder-ho combinar:

“La cátedra a la que aspiro es de Tecnología Química Orgánica, que incluye tecnología de plásticos, colorantes y petroquímica. Como puedes ver me viene bastante cuesta arriba prepararla, pero parece que tengo muchas posibilidades de sacarla o sea que vale la pena hacer el esfuerzo. Mi interés estriba en ser un fuerte punto de apoyo para un grupo de investigación”.¹⁶⁰

Paral·lelament, Palau va veure resoltes les seves dificultats econòmiques gràcies a la beca que va obtenir del Wellcome Trust, que va servir per poder acabar el seu tercer treball produït a Londres, tot i que seguia pendent de solució la seva entrada al CSIC. Per altra banda, pel que feia el laboratori que s'havia de muntar al Departament de Prevosti,

“está casi construido, falta ahora poner una mesa de trabajo y una vitrina, lo cual es más delicado pues hay controversias con el Decano y demás por razones económicas, pero es de esperar que esto se solucione antes de Octubre”.¹⁶¹

3.3. L'estada de Subirana a Houston i el retorn de Palau a Barcelona

Amb data 25 d'agost de 1965, Subirana va comunicar a Palau que, cap a finals d'estiu marxaria cap els EUA, a Houston, per donar un curs de polímers i el curs de bioquímica de Joan Oró, en qualitat de professor associat.¹⁶² La connexió amb Oró s'havia produït durant el congrés de la societat espanyola de bioquímica a Oviedo, Astúries, el juliol del mateix any. Oró volia fer un any sabàtic i va suggerir a Subirana que anés durant un any a Houston, a donar les seves classes. Tenint en compte que

¹⁶⁰ JAS a JP, Madrid, 10-7-65.

¹⁶¹ JAS a JP, Barcelona, 24-7-65.

¹⁶² 1965-66, segons consta al seu CV.

aquest estava preparant les oposicions a la càtedra d'Enginyers, va plantejar-se aquesta estada com un mèrit a aportar.¹⁶³

El temari de les oposicions incloïa el camp dels plàstics, en el qual Subirana volia aprofundir, cosa que l'estada a Houston permetria.¹⁶⁴

“Por aquí estoy dando clases de polímeros para biólogos y más adelante las daré para ingenieros. También me estoy relacionando con la industria química de aquí, con el objetivo de familiarizarme con ella de cara a las oposiciones”.¹⁶⁵

Ni l'estada a Houston ni la preparació de les oposicions feien deixar de banda el projecte de grup de recerca a Barcelona. Per aquelles dates, un problema que els seguia preocupant i que encara estava pendent de solució era disposar de més personal capacitats per treballar en el seu projecte de recerca:

“En cuanto a la gente que hay por el laboratorio, no hay nadie “útil” por ahora (...) Los chicos que me ayudaban sirven para pequeñas cosas: ir a buscar erizos, aislarles las gónadas, etc., pero no se les puede encargar ningún trabajo independiente, es decir, se les ha de estar encima siempre.

Para pescar doctorandos se me había ocurrido organizar un seminario sobre estructura química de los cromosomas, invitando a los alumnos de Bioquímica (Calvet) y a los de Prevosti de Genética y Evolución (4º y 5º de Biológicas)”.¹⁶⁶

La idea de fer aquest curset va sorgir de Palau, que proposava fer-ho des de la Asociación Nacional de Químicos Españoles (ANQUE). Subirana creia més eficaç fer-ho des de la Facultat de Ciències i que Palau ho organitzés en tornar a Barcelona. Calia però, no donar la impressió d'estar tractant de treure doctorands a altres catedràtics.¹⁶⁷

¹⁶³ JAS a JP, Houston, 25-8-65, 8-9-65, 17-9-65. Entrevista de l'autor amb Joan Antoni Subirana, 13 de juliol de 2005.

¹⁶⁴ Subirana publica dos treballs relacionats amb els plàstics: SUBIRANA (1964a) i SUBIRANA & SEYMOUR (1965), aquest darrer publicat durant la seva estada a Houston.

¹⁶⁵ JAS a JP, Houston, 23-10-65.

¹⁶⁶ Ibid.

¹⁶⁷ Ibid.

El treball en histones seguia present en la seva correspondència, a rel dels seus contactes amb el grup de Lubomir Hnilica, del departament de bioquímica de la Universitat de Houston:

“Por aquí voy manteniendo contacto con los histónicos y creo que podemos hacer algo interesante. (...) La verdad es que al volver a España uno siente un “shock” pues todo es más problemático, sobre todo en nuestro laboratorio que aún no está formado y se ha de ir construyendo poco a poco, ve armándote de paciencia”.¹⁶⁸

El problema de la situació de Palau respecte del seu retorn a Barcelona depenia principalment de la convocatòria de places del CSIC, que finalment es va produir l'any 1966. Palau va guanyar una plaça de col·laborador científic i es va incorporar al Centre de Genética Animal i Humana, el departament de Prevosti, la qual cosa va permetre que la col·laboració científica amb Subirana es materialitzés, tot i que aquest darrer seguia a Houston.

Si bé en aquest moment tots dos disposaven d'una plaça de col·laboradors del Consell, en cap cas va ser considerada com una solució definitiva, tot i que pertànyer al CSIC els permetia una certa tranquil·litat econòmica. Però les seves idees al voltant de la recerca passaven per posar en marxa un grup propi, i encara estaven pendents de saber si podrien disposar de finançament.

És interessant establir una comparació entre la situació de Palau i Subirana i la de Margarita Salas i Eladio Viñuela quan, l'any 1967, van posar en marxa el seu grup de recerca amb el fag Φ -29 de *Bacillus subtilis* a partir del moment en que van disposar de subvencions procedents dels EUA, gràcies al recolzament d'Ochoa. El seu programa de recerca va permetre formar un grup de deixebles gràcies a les dotacions de beques de Formación de Personal Investigador (FPI) per a llicenciats no doctors, creades cap a meitat dels anys 1960s, i de subvencions del Fondo Nacional para el

¹⁶⁸ JAS a JP, Houston, 8-12-65. Els histònics que esmenta Subirana són el grup de Hnilica. Aquest grup va contribuir a la obtenció de les cinc fraccions històniques al mateix temps que Johns. També van col·laborar en el volum de revisió de Phillips de 1971. La seva contribució va consistir en la revisió de la biosíntesi de histones i el cicle cel·lular. Vegeu HNILICA et al. (1971).

Desarrollo de la Investigación Científica. És a dir, que van comptar amb becaris propis i van poder iniciar els seus treballs d'investigació.

Cal recordar que, si bé el Consell va ser la principal institució dedicada a la recerca a Espanya entre 1940 i 1970, els seus instituts es trobaven principalment a Madrid i, més tard, a Barcelona. També cal tenir en compte que, l'any 1956, el 70% de científics del CSIC treballaven a Madrid i, l'any 1970, el 54% encara ho feien en instituts localitzats en aquesta ciutat. Durant el període considerat, entre 1956 i 1970, el creixement del personal del CSIC a Barcelona va ser des del 7,5 al 19% (Santesmases, 1997b, 2001c).

Subirana i Palau, doncs, no podien prometre res a ningú, ja que tot depenia, per una part, de les beques i, per l'altra, de la dinàmica de funcionament del CSIC, que no dominaven. Pel que feia a les oposicions a càtedra a l'Escola d'Enginyers,

“No puedo decir nada, pues mientras no se convoquen las oposiciones, no pinto nada allí. En resumen, ni tú ni yo podemos prometer nada a nadie para su futura colocación en España, sólo que haremos todo para ayudar”.¹⁶⁹

No s'ha d'oblidar que en aquests moments, tot i que havien posat en marxa la recerca, el grup no tenia entitat tot com a tal, és a dir, com un grup coordinat amb el Consell. De tota manera, calia anar preparant el terreny i, com havien fet tots dos, potser era més fàcil aconseguir que algun possible col·laborador anés a l'estranger durant un parell d'anys:

“Otra reflexión que se le ha de hacer es que si tenemos alguna ayuda, “grant”, o algo parecido, le ayudaremos todo lo que podamos a su vuelta si lo del Consejo no se ha resuelto. Además hay las becas March, de Protección Escolar y otras que pueden ser ayudas convenientes”.¹⁷⁰

Les preocupacions pels aspectes econòmics i de personal no feien deixar de banda els aspectes més directament relacionats amb la recerca:

¹⁶⁹ JAS a JP, Houston, 30-1-66.

¹⁷⁰ JAS a JP, Houston, 30-1-66.

“En cuanto a la parte profesional, para la buena marcha de nuestro grupo, creo que nos interesa tener algún colaborador que se dedique a algún tema que requiera profundizar en los métodos de análisis (...) En este sentido pienso que sería bueno tener a alguien trabajando en la química de péptidos: obtención de oligopéptidos sintéticos, reacciones especiales de aminoácidos, etc. Lo que hiciera al volver a España dependería en gran parte de la experiencia que adquiriera. Personalmente hay varios temas que considero interesantes, por ejemplo tratar de profundizar en la existencia y composición de los aminoácidos que parecen estar unidos a la cadena de DNA. Averiguar como están unidos químicamente y su posible significación biológica. O también mirar de profundizar en métodos histoquímicos de localización, para ver si se puede distinguir, por ejemplo, entre dos clases de histonas diferentes.”¹⁷¹

Un problema afegit era el que potser no tothom estaria disposat a sortir del país. En aquest sentit, Subirana suggeria un tema que potser podria interessar a algú de química orgànica i que no caldria sortir fora per treballar-hi: caracteritzar els lípids associats als cromosomes:

“Como sabes, todo el mundo habla de ellos pero nadie sabe quién son ... , por lo que lo considero un tema muy interesante y con las técnicas que hay en el laboratorio de Orgánica se podría hacer mucho. Te lo digo para que lo tengas en cuenta si te parece puede interesar a alguien. De hecho se le podría proponer para entrar en el Consejo en Octubre próximo, si al Dr. Prevosti le pareciera bien”.¹⁷²

3.4. Inicis d’institucionalització de la recerca: la secció de biopolímers, 1966

Subirana va tornar de Houston cap a març de 1966. Mentre, Palau ja s’havia incorporat com a ajudant del Consell a la Universitat de Barcelona. El que calia fer era

¹⁷¹ Sobre aquests aspectes, vegeu JAS a JP, Houston, 23-10-65, 30-1-66.

¹⁷² JAS a JP, Houston, 30-1-66.

posar el laboratori en marxa i en activitat, “amb cara i ulls”.¹⁷³ Finalment, tots dos van constituir un petit grup de recerca, la secció de biopolímers, al Departament de Genètica Animal i Humana (Cornudella, 2001; Subirana, 2004).

Prevosti va ser, doncs, essencial per poder engegar el grup després del retorn de l'estranger. El projecte de recerca va rebre finalment la subvenció dels National Institutes of Health (NIH) dels Estats Units que havien demanat i que els va ser concedida (Subirana, 2004). Quasi simultàniament, els grups constituïts per Margarita Salas i Eladio Viñuela, David Vázquez, Antonio García Bellido i Ángel Martín Municio, a Madrid, també s'estaven posant en marxa.

Durant la seva estada al departament de genètica, Palau i Subirana van tenir els seus primers col·laboradors: Adolfo Ruiz-Carrillo, la tesi del qual a ser dirigida per Palau i llegida l'any 1970, Joan Ramon Dabán i Oriol Cabré, estudiants que, l'any 1976, llegirien les seves tesis doctorals, dirigides també per Jaume Palau. També cal fer esment de Carmen Cozcolluela, que va publicar un primer treball amb Subirana l'any 1968 i va ser la seva primera doctoranda encara des del centre de Genètica i va llegir la seva tesi l'any 1971, així com Montserrat Pladellorens, qui la va llegir l'any 1972. Un altre dels primers col·laboradors del grup que cal destacar és Lluís Cornudella (Palau i Subirana, 1994).¹⁷⁴

L'estada de Subirana i Palau com a col·laboradors del Consell dins el Laboratori de Prevosti va durar un any, després del qual es van convocar les oposicions a Càtedra a l'Escola d'Enginyers, plaça que Subirana va guanyar l'any 1966.¹⁷⁵

3.5. Conclusions

Mentre van durar les estades postdoctorals, Palau i Subirana van planificar, madurar i posar en marxa el seu projecte de recerca dins la facultat de ciències, amb el

¹⁷³ JAS a JP, Houston, 16-2-66.

¹⁷⁴ La tesi d'Adolfo Ruiz Carrillo va dur per títol “Estudio Bioquímico de proteínas nucleares básicas de equinodermos”. La tesi de Carmen Cozcolluela va dur per títol “Estudio Bioquímico de proteínas nucleares básicas de moluscos”.

¹⁷⁵ Entrevista de l'autor amb Joan Antoni Subirana, 11 de novembre de 2002. Per més detalls al voltant de les intencions de Subirana al voltant de la càtedra, vegeu JAS a JP, Rehovoth, 9-3-64, 4-7-64, Barcelona, 1-7-65.

recolzament del CSIC i els fons dels NIH. La seva formació els va proporcionar els coneixements, no tant sols de caire científic, que els van permetre materialitzar el seu projecte. Però, a data de 1966, la situació no era definitiva, ja que, per una banda, Subirana engegarà el seu grup a l'Escola d'Enginyers i Palau serà clau en la posada en marxa d'un nou institut en l'àmbit de la nova Universitat Autònoma. Per altra banda, la presència de tots dos en els processos de consolidació i legitimació de la biologia molecular estructural a Espanya, també jugarà un paper principal en les seves carreres, com serà estudiat en capítols posteriors.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE
AGRICULTURAL RESEARCH SERVICE
EASTERN UTILIZATION RESEARCH AND DEVELOPMENT DIVISION
600 EAST MERMAID LANE
PHILADELPHIA 18, PENNSYLVANIA 19118

January 21, 1965

AIR MAIL

Dr. J. A. Subirana
Catedra de Quimica Organica
Universidad de Barcelona
Barcelona, Spain

Dear Dr. Subirana:

We were very pleased to learn that you had finally received the approved copy of UR-E25-(60)-41. This marks the first step towards negotiations, which I trust will proceed smoothly into a grant approval.

Figura 11: Fragment de carta del departament d'agricultura dels EUA a Subirana, 21 de juny de 1965, sobre la petició de finançament. Arxiu de Joan Antoni Subirana

Querido Laine,

Hoy hay varias noticias de todos los lados. La guerra de todos es que los americanos hicieron una visita al parlamento y oficialmente declararon que no habían fondos para nuestra parte hasta fines del 66 y aún con interrogante, a pesar de que la propuesta está ya aprobada.

La buena noticia es que me han nombrado colaborador del Laboratorio Rabin y Lajal, nombramiento que aún no es oficial, pero lo está pronto. Esto abre nuevas perspectivas y, sobre todo, espero que sirva para aclarar mi situación económica para los próximos meses.

El problema que es el de tu situación en los próximos meses. El Dr. Rasmal me dijo que por fin el alcalde habrá firmado los papeles de tu beca, espero que ya esté firmado. Cuando me hablé preocupado por tu situación, me dijo que tiene ganas de ayudarte, pero no sé cómo. Me dijo que debería pedir una beca Marsh para el extranjero y prolongar tu estancia en Londres. Creo que dadas las circunstancias es quizás lo mejor que podrías hacer si tu situación personal lo permite.

Si no puedes prolongar tu estancia en Londres, caben varias posibilidades de ayuda económica para ti al regreso:

- Una beca Marsh para Europa (10000 ptas./mes) antes)
- Una beca de ayuda al graduado 5000 al mes
- En vista con seguridad te proporcionaré para ayudarte del Consejo, el año próximo para las plazas a tu vez, 8000-10000 ptas./mes
- Que Rasmal te ayude de alguna manera municipal. A mí me lo debe colaborar central durante los meses, para poder pagarle 5000 ptas al mes.

Una parte alargo de Subirana

Figura 12a: Carta de Subirana a Palau, 1 d'abril de 1965, sobre la posible petició de finançament als Instituts Nacionals de Salut (NIH). Arxiu de la família Palau

Quart Rd, South Kensington, London SW7. Los días van pasando y pronto se irá de Londres, siempre es muy interesante, mantén contacto con él. Quien sabe si el estudio tiene algo con los

Ve no digas como va tu trabajo, los libros, los films, una que otra de las cosas más interesantes de la vida. ¿Aparar con muy completos? Me gustaría una opinión sobre los films, pero que sean los más interesantes. Todo lo que puedas, por favor, envíame los programas, los folios, los programas, etc. Todo lo que puedas, por favor, envíame los programas, los folios, los programas, etc. Todo lo que puedas, por favor, envíame los programas, los folios, los programas, etc.

- que lo que he hecho algo semejante a esto no consigo algo más definitivo. Ahora esta parte ya no he podido hablarla a este sentido, pero eso que hay posibilidades.

En fin, ya me dirás qué opinas. De todo modo, en vista de la lentitud del departamento de Agricultura, pienso probar pedir una ayuda al NIH americano, que es mucho más rápido, aunque difícil de conseguir por la gran competencia que hay. Si pides la ayuda en junio, obtendrás el resultado en diciembre. Habrá que esperar los siguientes temas posibles:

- Aislamiento de proteínas lácteas de lipoproteínas de especies diversas; en relación con la ultraestructura y composición del ADN.
- Aislamiento de tinciones de protoplasma: en relación con la organización del ADN y con la estructura del núcleo.
- Aislamiento y caracterización de las proteínas del aparato mitocondrialmente uno de los dos primeros temas, por ser más seguros. ¿Tienes alguna sugerencia alternativa? Ya me darás tu opinión. La verdad es que poner en marcha un trabajo nuevo en estas condiciones es una lata bruta que no me da por sí solo, con que apenas me quito.

En todo modo, si has de regresar a Agost, te la seguridad de que has disponible para conseguir que Bureau o lo que te ayude a fin de que puedas vivir de tu trabajo de investigación, estoy seguro de que es posible.

Si me ocurre que quizás quieras prolongar tu estancia en Londres una semana con la ayuda del propio British Council o de otra manera que Butler pueda ayudarte → habla con él para ver si te ayude por medio año más, por ejemplo. Desde luego identificarme te irá muy bien prolongar tu estancia. Otra posibilidad es que te fijas con Graft. En fin, estoy seguro por conocer tu opinión sobre todo esto.

Otra favor bastante urgente: me interesa saber las fechas y lugar del International Congress of Cell Biology¹⁹⁶⁵ que tiene lugar cada año en Ginebra, así como la dirección para pedir información sobre el congreso.

Conviene también que fueras a ver a Bureau que te

Figura 12b: Segunda plana de la carta de Subirana a Palau de l'1 d'abril de 1965. Arxiu de la família Palau

Capítol 4

Retorns: de la Secció de Biopolímers al Departament de Química Macromolecular i l'Institut de Biologia Fonamental

La posada en marxa de la secció de biopolímers va marcar l'inici de la col·laboració científica real entre Palau i Subirana. Ara bé, la seva consolidació com a grup amb entitat pròpia encara no s'havia produït. En un lapse de temps curt, sense per això deixar de col·laborar, les seves trajectòries es van separar per donar pas a dos grups en dues institucions diferents: el Departament de Química Macromolecular (DQM) a l'Escola d'Enginyers i l'Institut de Biologia Fonamental (IBF) a la nova Universitat Autònoma de Barcelona.

Del moment en que Subirana va arribar a l'Escola d'Enginyers data un document, el discurs que va fer a la inauguració del curs 1967-68, que desenvolupa moltes de les idees al voltant de la recerca i de les polítiques científiques que havien anat sorgint en la seva correspondència amb Palau i que permet situar el seu grup en un context ampli. De la mateixa època data el document referent a l'organització de l'IBF, que expressa idees semblants. Tots dos documents es situen en el context de la posada en marxa d'institucions internacionals relacionades amb l'establiment i legitimitació de la biologia molecular a Europa i en la repercussió que va tenir en els grups de recerca espanyols.

4.1. Interessos i sabers de Subirana: el discurs a l'Escola d'Enginyers i la incorporació a la Càtedra

Tal com s'ha pogut constatar en estudiar la correspondència entre Subirana i Palau durant la seva etapa de formació postdoctoral, sempre van tenir com horitzó el retorn per tal de començar una línia de recerca integrada en les institucions locals i el consegüent interès en els processos que s'estaven donant tant a la universitat com al CSIC, i amb les polítiques que hi estaven relacionades. Aquests trets van ser compartits per altres científics espanyols que havien seguit trajectòries semblants.

En aquest punt és d'interès destacar i estudiar el discurs que va fer Subirana el dia 6 d'octubre de 1967 a l'Escola d'Enginyers, en ocasió de la cerimònia d'inauguració del curs acadèmic en el qual, donada l'audiència a la que es dirigia, els aspectes industrials hi van ser molt presents, així com els seus propis interessos relacionats amb la recerca.¹⁷⁶ Si bé en part autobiogràfic, el discurs s'insereix en el context espanyol del moment, en el que es va conèixer com el *desarrollismo*, amb un to clarament hereu de l'autarquia i expressa el pensament oficial del CSIC, donades les contínues referències al paper que havien de jugar les indústries com a suport per a la recerca (Figura 13).

En aquest sentit, calia desenvolupar una política científica, malgrat estar en una etapa de dependència tecnològica de l'exterior. Calia vigoritzar l'esforç científic per tal d'evitar que la indústria quedés condemnada a viure permanentment supeditada a l'estranger. S'havia d'assimilar el progrés tecnològic que arribava de fora i, sobre aquesta base, dur a terme la pròpia tasca científica.¹⁷⁷

Subirana criticava el paper jugat pel CSIC, que considerava desigual en el tracte amb les diferents disciplines i també per la seva rigidesa administrativa en els crèdits i en la promoció del personal científic, qüestió que l'havia afectat directament així com també a Palau. Alguns d'aquests defectes en l'actuació del CSIC serien una conseqüència de la petita magnitud numèrica de la comunitat científica espanyola, que produïa un èxode dels científics cap a l'estranger. Sorgia, doncs, la necessitat d'integrar la tasca d'investigació pura pròpia del Consell en àmbits més amplis com CERN i EMBO. Llavors, la funció del CSIC hauria de ser crear una infraestructura per a tota la recerca espanyola i tenir una actitud de portes obertes que facilités l'apropament de la indústria.

Caldria, doncs, una planificació intel·ligent que permetés que el científic pogués desenvolupar la seva tasca i aquest hauria de saber conjugar el problema que

¹⁷⁶ Aquest epígraf recull les idees desenvolupades a SUBIRANA (1967) i la seva relació amb el context del moment.

¹⁷⁷ Per a més detalls d'aquest període, des de l'autarquia fins el *desarrollismo*, vegeu SANZ MENÉNDEZ i LÓPEZ GARCÍA (1997). En aquells moments s'estaven prenent unes primeres mesures en aquest sentit amb la creació de la comissió delegada del govern en política científica i de la direcció general de promoció i cooperació científica.

volgués estudiar amb el material i la tècnica més adequada per resoldre-ho. Tot plegat es trobaria fortament condicionat per les subvencions i per l'eco social que assolissin els seus resultats, per l'opinió de la comunitat científica en relació amb l'originalitat del seu treball i la comparació amb la recerca d'altres laboratoris. D'aquí la importància del marc institucional, que hauria d'afavorir la llibertat d'elecció i la interacció amb altres disciplines.

Aconseguir aquesta dedicació passava per una planificació i per la creació d'unes condicions socials favorables per al desenvolupament eficaç de les personalitats científiques: el científic havia de tenir reconeixement social i la seva feina havia de ser valorada. La fugida de cervells només es podria frenar i, fins i tot invertir, si la indústria s'interessava en la recerca i l'Estat ho complementava amb les mesures necessàries que incloïen, com s'ha dit, la integració d'aquesta en àmbits internacionals. En aquest sentit, el discurs de Subirana s'ha de situar en el context internacional de la fundació d'EMBO, l'Organització Europea de Biologia Molecular, i també del retorn dels seus companys de generació després de les seves estades postdoctorals a l'estranger.¹⁷⁸

A principis de la dècada dels 1960s, els biòlegs moleculars europeus estaven convençuts que s'havien de prendre mesures immediates per tal d'enfortir el seu camp i tancar la rasa existent entre les dues ribes de l'Atlàntic. Diversos països, com ara el Regne Unit, França, Itàlia, Suïssa i Alemanya, havien establert o estaven establint centres nacionals de recerca en biologia molecular que trencaven les tradicionals separacions entre disciplines. Altres, notablement Espanya com s'està veient, estaven donant passes fermes cap a la construcció de les seves capacitats nacionals (Krige, 2002).

A data del discurs de Subirana, els bioquímics i biòlegs moleculars espanyols havien tornat o estaven tornant al seu país un cop acabades les seves estades

¹⁷⁸ El finançament inicial d'EMBO va provenir de fundacions privades, especialment de les fundacions Volkswagen i Gulbenkian i de la indústria, com ara Shell. El suport governamental es va institucionalitzar amb la creació, l'any 1968, de la conferència europea de biologia molecular (EMBC), que va associar catorze Estats amb l'organització. Al voltant de la creació d'EMBO, vegeu KRIGE (1997, 2002). Per una narració general de la història d'aquesta organització, vegeu STRASSER (2003).

postdoctorals a centres de recerca estrangers, com també havia estat el seu cas i el de Palau. Aquests investigadors espanyols van esdevenir extremadament influents en introduir i promoure la recerca espanyola en biologia molecular. Les seves àrees de recerca van ser el resultat del seu aprenentatge a aquests centres més que no pas la seva experiència prèvia de postgraduats a Espanya i van contribuir a la recerca i a l'aprenentatge en un país que havia estat allunyat del desenvolupament d'aquest camp de la biologia.¹⁷⁹

Malgrat la manca de suport per a la seva recerca experimental, tots ells van decidir tornar i enfrontar el repte de construir la seva carrera acadèmica al seu país de naixement. Els interessos professionals es van barrejar amb els personals i la identificació nacional i els lligams personals, a vegades, van ser més forts que les promeses d'èxit en una carrera científica a l'estranger. Els coneixements i habilitats de laboratori, en alguns casos propers a la biologia molecular, havien estat introduïts abans a Espanya, però va ser la seva experiència a l'estranger la que els va proporcionar ser reconeguts com experts. Aquest reconeixement també els va venir de la publicació dels seus treballs a les revistes més conegudes del moment. (Santesmases, 2002a).

Tots ells compartien uns trets comuns: s'havien format a l'estranger i van ser influents en l'establiment dels seus grups de recerca i en les negociacions per al disseny i creació de nous centres de recerca a Madrid i a Barcelona. També varen exercir la seva influència a través dels seus treballs i en la formació dels seus graduats. Tot el grup va treballar en centres del CSIC i van ser escollits membres d'EMBO, el primer, Subirana, l'any 1967, seguit, uns anys després, per Palau i Martín Municio. En el cas de Subirana, del to general del discurs i de la correspondència mantinguda amb Palau, sembla desprendre's el desig de voler exercir influència acadèmica en un sentit ampli: des del punt de vista de l'organització de la recerca, del funcionament del grup, i també en les polítiques científiques que haurien de fer-ho possible.

El discurs és important perquè permet situar a Subirana en el seu destí professional definitiu, dins d'una escola tècnica on haurà de fer una tasca de tipus

¹⁷⁹ Els grups els van constituir Margarita Salas i Eladio Viñuela, David Vázquez, Antonio García Bellido i Ángel Martín Municio, a Madrid, i Joan Antoni Subirana i Jaume Palau, a Barcelona.

industrial en relació amb la docència i la seva recerca biològica, que va ser possible gràcies, en una primera etapa, al finançament nord-americà que els va permetre negociar el desenvolupament d'aquest tipus de recerca en un espai que no semblava el més adient.¹⁸⁰

El curs 1966–67, Subirana es va incorporar com a catedràtic i es va encarregar de donar totes les matèries assignades: tecnologia química orgànica, plàstics i polímers, colorants i petroquímica. Ja el segon any, un adjunt va donar la petroquímica, mentre Subirana donava colorants i les que considerava més importants: plàstics i polímers.¹⁸¹ L'any 1969, la Secció de Biopolímers es va traslladar a les seves dependències i, fins la posada en marxa del Institut de Biologia Fonamental (IBF) també l'any 1969, Palau i Subirana van treballar conjuntament des de l'Escola d'Enginyers.¹⁸²

El trasllat a la Diagonal va suposar, doncs, la separació física de la Secció de Biopolímers del Centre Coordinat de Genètica Animal i Humana de la Gran Via, el departament de Prevosti. Davant d'aquesta circumstància es va sol·licitar l'autonomia a Madrid i el CSIC la va concedir l'any 1970 en forma d'una nova coordinació amb l'organisme: el Departament de Química Macromolecular (DQM)(UPB, 1977).

4.2. Biofísica a Espanya: la seva consolidació en un context internacional

El programa de recerca dissenyat per Palau i Subirana havia rebut el finançament dels NIH i començava a produir resultats en forma de publicacions i de

¹⁸⁰ Entrevista de l'autor amb Joan Antoni Subirana, 13 de juliol de 2005. Per un coneixement detallat del procés de transformació dels ensenyaments tècnics a Catalunya i de les càtedres especials a la Universitat Politècnica, vegeu LUSA (2000) i LUSA i ROCA-ROSELL (2002). Per a conèixer la situació econòmica en relació amb la indústria química durant l'autarquia i els anys posteriors, vegeu PUIG RAPOSO i LÓPEZ GARCÍA (1992). Per més detalls al voltant de la reconstrucció universitària després de la guerra civil, vegeu SANTESMASES (2001c).

¹⁸¹ Entrevista de l'autor amb Joan Antoni Subirana, 13 de juliol de 2005.

¹⁸² Si bé la primera memòria de recerca del IBF és de 1970, el document "Esquema comprensivo de misiones y normativas básicas del Instituto de Biología Fundamental de la Universidad Autónoma de Barcelona" està datat el 17 de juliol de 1969. Aquest document es troba dipositat als Arxius generals de la Universitat Autònoma de Barcelona, a Bellaterra, a la capsa P-2808. La resta de documentació referida al IBF es troba dipositada en aquests mateixos arxius.

tesis doctorals. Per la mateixa època es van produir una sèrie de fets, alguns d'ells relacionats de forma directa amb el seu grup i amb la situació de la recerca a Espanya, entre els que cal fer esment del procés de reforma educativa que va posar en marxa José Luis Villar Palasí, ministre d'educació entre el 18 d'abril de 1968 i l'11 de juny de 1973, dels contactes de Subirana amb Alexander Rich, crucials per posar en marxa el futur laboratori de RX a Barcelona, dels quals se'n parlarà detalladament més endavant i del procés d'establiment i legitimitació en un context internacional del que es coneixia com biofísica.¹⁸³

És justament en relació amb aquest context internacional on s'han de situar els contactes establerts per Subirana amb la Unió Internacional de Biofísica (IUPAB) i amb John Kendrew, i el debat que es va produir en els grups espanyols de biologia molecular. Com es pot veure un cop més, no només es van desenvolupar les línies de recerca, sinó que es van ampliar els contactes internacionals que, tant per Subirana com Palau, eren considerats del tot imprescindibles per poder dur a terme la seva tasca.

Com s'ha vist anteriorment, durant la dècada dels 1960s, a Espanya havia sorgit una comunitat de bioquímics i biòlegs moleculars. Una de les estratègies per a la seva legitimitació, tant institucional com experimental, va ser la seva participació activa en els orígens de la Federació Europea de Societats Bioquímiques (FEBS) i de la Conferència Europea de Biologia Molecular (EMBC). En el cas espanyol, es va donar una coincidència d'objectius entre els bioquímics i els biòlegs moleculars a l'hora de buscar aquesta legitimitació i la seva capacitat per a aconseguir-ho els va venir facilitada pels enfocaments de caire molecular aplicats a les ciències biomèdiques i la seva creixent fama internacional i per un context de política científica i universitària susceptible de renovació al que ells mateixos van contribuir, com s'està veient en el cas de Palau i Subirana (Santesmases i Muñoz, 1997a; Santesmases, 2001c).¹⁸⁴

¹⁸³ Com es veurà a l'epígraf següent, la biofísica es definia com un camp d'estudi ampli però sense límits definits, on es van aplicar principis físics i fisicoquímics a la recerca en biologia. Per més detalls, vegeu DE CHADAREVIAN (2002).

¹⁸⁴ Per més detalls, vegeu el cas de Sols i el CIB, del que s'ha parlat en capítols anteriors: a SANTESMASES i MUÑOZ (1997b) i SANTESMASES (1998)

Dins del procés d'establiment de les organitzacions científiques espanyoles dedicades a la bioquímica i a la biologia molecular, hi van haver dos grups que van actuar separatament: la Societat Espanyola de Bioquímica (SEB) i la Reial Societat Espanyola de Física i Química (RSEFQ). Els membres de la SEB eren bioquímics formats a l'estranger, que van fer servir els seus lligams personals amb científics amb els que havien treballat durant les seves estades postdoctorals per a guanyar legitimitat internacional i van participar tant en la fundació de la Unió internacional de Bioquímica (IUB) com en l'establiment de la FEBS el 1964. Els membres de la RSEFQ, que procedien de la química i entre els quals s'hi trobava Subirana, també s'havien format a l'estranger, però cercaven legitimitació interna. Aquests van formar una secció de biofísica al seu si i van ser els que van establir els contactes amb la IUPAB, com es veurà més endavant.¹⁸⁵.

4.2.1. El fracàs de la institucionalització de la biofísica: contextos nacionals

La biofísica ja existia abans de la Segona Guerra Mundial, però va guanyar un nou protagonisme durant els anys posteriors.¹⁸⁶ La biofísica era un camp d'estudi ampli però sense límits definits, on es van aplicar principis físics i físico-químics a la recerca en biologia. Però el que es considerava biofísica depenia del que significava per als que la practicaven. Excloent la bioquímica i la fisiologia, quedava un ampli camp d'estudi en el qual les fronteres quedaven poc definides. En particular, la reestructuració i expansió de la recerca mèdica després de la segona guerra mundial va ser una part integral més que no pas una conseqüència dels nous enfocaments en el

¹⁸⁵ Al voltant del procés de creació de la SEB, vegeu SANTESMASES i MUÑOZ, (1997a); SANTESMASES, (2001b, 2001c).

¹⁸⁶ El primer projecte d'un institut dedicat a la biofísica al Regne Unit data de l'any 1937. L'any 1944, en el context del desenvolupament de les ciències després de la guerra, Archibald Hill va presentar un esborrany de document titulat *The need for an institute of Biophysics*. El Memorandum i altres documents que proposaven la creació d'un "Cavendish Laboratory for biologists and doctors". Archibald Hill, fisiòleg i *science adviser*, entre d'altres títols, va ser l'autor del memorandum esmentat. Per més detalls al voltant d'Archibald Hill, vegeu DE CHADAREVIAN (2002), pàg. 52.

camp de la biologia. Les exigències de la guerra i l'expansió posterior de la física així com de les ciències biomèdiques, incloent les demandes per a més recerca fonamental, van funcionar com un selector i promotor poderós d'algunes d'aquestes primeres iniciatives.

Els físics, els biòlegs i altres científics van participar en l'expansió de la biofísica a la postguerra, aprofitant els avantatges proporcionats pels llegats de la mobilització científica durant la Segona Guerra Mundial. Fer èmfasi en els llegats de la guerra no vol dir oblidar l'impacte dels desenvolupaments que s'havien produït abans del conflicte ni, especialment, el paper jugat per la Fundació Rockefeller en la promoció dels enfocaments físico-químics en les ciències de la vida.¹⁸⁷ Els estudis estructurals de la molècula de la penicil·lina i les expectatives generades d'aplicació ràpida de la recerca biològica bàsica a la medicina van jugar una part important en les vicissituds de la biofísica de postguerra, així com l'atracció que va exercir l'ús de les tècniques físiques per a finalitats pacífiques.¹⁸⁸

Al Regne Unit, la biofísica de postguerra va incloure recerca tant diversa com electrofisiologia, cristal·lografia de proteïnes i estudis de radiacions i el Medical Research Council (MRC) va esdevenir un dels principals patrocinadors del camp. La unitat d'estudi de l'estructura molecular dels sistemes biològics del MRC a Cambridge va ser una de les institucions creades sota aquest paraigua (de Chadarevian, 2002).

La biofísica es plantejava disposar d'institucions pròpies que haurien de proporcionar formació i promoure la recerca en l'aplicació dels mètodes de la física a qüestions biològiques i, per aquest motiu, no semblava integrar-se en els departaments universitaris preexistents. Tots els avenços tecnològics desenvolupats durant la guerra eren un repte per a la seva aplicació a la biofísica, tant pel que feia a recerca com a mètodes així com als contactes que caldria establir amb les universitats, els governs i les indústries. Calia establir relacions amb els departaments

¹⁸⁷ ABIR-AM (1982, 1984). Vegeu també les respostes a aquest treball: BARTELS (1984), FUERST (1984), OLBY (1984) i YOXEN (1984).

¹⁸⁸ Al voltant d'aquesta qüestió vegeu DE CHADAREVIAN (2002). Pels treballs estructurals en la penicil·lina de Dorothy Crowfoot-Hodgkin, vegeu FERRY (2000).

governamentals que podrien proveir els fons necessaris ja que els costos de construcció d'edificis, d'equipament i de personal serien considerables.¹⁸⁹

En aquest cas britànic, la unitat de biofísica dirigida per John Randall, que es va establir al King's College de Londres l'any 1947, es va trobar amb dificultats relacionades amb aspectes d'autoritat i competència a l'hora de definir les necessitats de la recerca i el control dels pressupostos per a desenvolupar-la, que havien de ser renegociats després dels canvis que s'havien produït després de la guerra, la qual cosa requeria crear els canals administratius i l'espai institucional per a la biofísica.¹⁹⁰ Aquest projecte va preparar al camí per a altres propostes en el camp, especialment la de Lawrence Bragg de posar en marxa el seu grup de cristal·lografia de proteïnes a Cambridge, que confirmaria un cop més la implicació del MRC en el camp de la biofísica. Aquesta institució tenia les seves raons per donar suport al grup de Bragg a Cambridge: durant la guerra, Dorothy Hodgkin i els seus col·laboradors havien proporcionat proves concloents de l'estructura de la penicil·lina mitjançant les tècniques de cristal·lografia de RX (de Chadarevian 2002).

Fins i tot si el camí seguit per Hodgkin no hagués portat a bona fi pel que feia a l'estructura d'aquesta molècula, la feina feta havia proporcionat el reconeixement de que aquestes tècniques eren una eina analítica útil per a la determinació de l'estructura de biomolècules complexes. La cristal·lografia de proteïnes representava un nou repte i tenia unes perspectives d'aplicació mèdica considerables: la molècula de la hemoglobina es trobava al centre dels esforços de Max Perutz i John Kendrew.

Al Regne Unit, l'orgull nacional i la competició amb els EUA també van jugar el seu paper. Però, a més, la proposta del grup de Cambridge s'ajustava al nou compromís del MRC amb la biofísica i el seu desig declarat de guanyar-se els físics i els químics per aplicar les seves tecnologies a problemes mèdics i biològics.

¹⁸⁹ Ibid. El document de Hill llistava tot un seguit de noves fites tecnològiques en els camps de la física i de la medicina: isòtops, entre ells els radioactius, radio i radar, microscòpia electrònica, tècniques ultrasòniques i de buit, electrònica, quimioteràpia, insecticides i repel·lents, virus, neurologia i fisiologia del vol. Per més detalls, vegeu DE CHADAREVIAN (2002).

¹⁹⁰ En la segona proposta de Randall a la Royal Society, aquest va proposar dirigir la recerca cap als factors físics que afectaven la mitosi i la divisió cel·lular. La proposta final s'organitzava al voltant de la utilització de mètodes físics per a la recerca en estructures subcel·lulars, especialment als cromosomes. Vegeu DE CHADAREVIAN (2002).

En el cas nord-americà, els costos eren una qüestió important a tenir en compte i també es discutia el que era considerat recerca fonamental o aplicada i el lloc que havia d'ocupar la recerca mèdica en aquest context. Com al Regne Unit, la biofísica ja s'havia començat a desenvolupar abans de 1945 i volia situar-se com una disciplina totalment institucionalitzada, en el mateix context de rentat de consciència posterior a la bomba atòmica i comptant amb el suport de Warren Weaver, responsable del programa de ciències de la vida de la Fundació Rockefeller. En aquest cas, la institució implicada va ser la secció de biologia del MIT dirigida per Francis Schmitt, que comptava amb un programa de recerca en biofísica dedicat a les millores en el processament d'aliments, en fibres i en altres productes naturals i en instrumentació mèdica.¹⁹¹

La recerca al MIT va disposar d'amplis recursos per a desenvolupar l'estil de biologia *big science* basada en l'ús intensiu de les tecnologies i va venir definida pel paper central jugat per la instrumentació, en aquest cas pel microscopi electrònic, considerat com l'eina més poderosa en la recerca biofísica, que es complementava amb les tècniques de difracció de RX, les ultracentrífugues i aparells de cromatografia, que haurien de permetre caracteritzar les macromolècules i quantificar la seva organització.¹⁹² La biofísica hauria de permetre saber com es construïa el protoplasma cel·lular i com podria ser reconstruït. Les tecnologies avançades que ho haurien de fer possible serien una nova generació de microscopis electrònics, que haurien de

¹⁹¹ Durant la guerra, al MIT es van seguir dues línies de recerca, cadascuna amb el seu propi microscopi electrònic. Una primera, classificada, de recerca en curació de ferides i de desenvolupament de sutures artificials i pell feta d'extrusions i filats de col·lagen purificat. Una segona, no classificada, de recerca bàsica en arquitectura i autoensamblatge de macromolècules fibroses, particularment col·lagen i proteïnes musculars. Els anys 1949-50, el departament de biologia del MIT disposava de quatre ME, quatre unitats de RX, quatre ultracentrífugues i quatre espectrofotòmetres,.... Per més detalls, vegeu RASMUSSEN (1997).

Al voltant del programa de la Rockefeller Foundation en ciències de la vida, vegeu ABIR-AM (1982) i KAY (1993).

¹⁹² Durant la guerra, Schmitt havia intentat articular una visió de síntesi de les tres agendes del seu departament: "biologia física i química", "biofísica i bioquímica" i "enginyeria biològica", si bé al final del conflicte aquestes distincions s'havien evaporat i els graduats es podien doctorar tant en biofísica com en bioquímica. Cal esmentar l'absència de genètica o de qualsevol tipus de zoologia o botànica, excepte el que pogués ser englobat dins de la microbiologia, citologia o fisiologia general.

permetre resoldre els principals problemes de la biologia molecular, especialment en l'estudi de les proteïnes fibroses (Rasmussen, 1997).

Un cop considerats els dos casos, cal tornar-se a plantejar la mateixa pregunta: la biofísica, ¿era quelcom realment nou? O només era un terme més de moda per als desenvolupaments que s'havien produït abans de la guerra? El poder de la nova instrumentació, més que potser els problemes biològics específics, va proporcionar la legitimitació per als primers projectes i la mobilització generada per la guerra no només havia produït nous instruments sinó el personal amb les habilitats requerides per a la biofísica. A més, la física nuclear va obrir un gran camp de recerca dins les ciències de la vida que incloïa l'estudi dels efectes de la radiació en el cos i la manera de protegir-se'n, així com l'ús terapèutic de la radiació i també dels isòtops com a marcadors en recerca biològica i diagnosi mèdica. Els estudis dels efectes de les radiacions així com els primers experiments amb isòtops ja havien començat durant el període d'entreguerres, però aquesta branca de la biofísica es va expandir realment després del conflicte, quan va oferir possibilitats de treball a metges, biòlegs i físics. La biofísica britànica, doncs, es va aprofitar tant de la mobilització mèdica al voltant del desenvolupament de la penicil·lina com del desencís i les noves eines tecnològiques derivades de la bomba atòmica (Rasmussen, 1997; de Chadarevian, 2002; Krige, 2006).

Els practicants de la biofísica sostenien diferents visions del que aquesta era, qüestió que es feia palesa a l'editorial del primer volum de la revista *Progress in Biophysics and Biophysical Chemistry*, signat per John Randall i John Butler, l'any 1950:

“The editors have had some difficulty in deciding what is the proper field to be covered by reviews of recent progress in biophysics. Excluding biochemistry on the one hand and physiology on the other, there lies between a vast and rather amorfous field of study of which the frontiers and lines of demarcation are anything but well defined”.¹⁹³

¹⁹³ Citat per DE CHADAREVIAN (2002), p. 77: BUTLER & RANDALL (1950). “Preface”, *Progress in Biophysics and Biophysical Chemistry* 1: vii.

La revista esperava oferir quelcom a tothom i proporcionar un lloc de trobada per a tots els que treballaven en biofísica en un sentit ampli del terme. Les connexions entre els biofísics britànics i nord-americans, i la discussió sobre el que era o no era la biofísica, s'estaven produint. Paral·lelament, es van donar les primeres passes per a la seva institucionalització. Ja l'any 1931, Archibald Hill havia publicat una sèrie de classes sota el nom de *Adventures in Biophysics*, on afirmava que si bé el terme biofísica havia arribat a ser d'ús comú, no tenia una definició clara. Aquests treballs de Hill van ser publicats novament l'any 1956 a *Science* i van servir per *donar el to* a la reunió constituent de la American Biophysical Society d'aquell mateix any.¹⁹⁴

Quatre anys més tard, l'any 1960, va ser fundada la British Biophysical Society. Malgrat l'amplia acceptació del terme biofísica i dels esforços per establir-la com una disciplina acadèmica, mai no va ser un camp clarament definit. Així, amb el temps, l'atracció del terme es va esvaïr. Pel mateix temps en que es fundava la societat de biofísica britànica, Kendrew, que en va ser el primer el seu primer secretari honorífic, ja estava d'acord amb Paul Doty en que el terme *biologia molecular* més que no pas *biofísica* era el més apropiat per a descriure la temàtica de la revista *Journal of Molecular Biology*. A Cambridge, la biologia molecular s'havia construït sobre els llegats de la biofísica de postguerra (de Chadarevian, 2002).

El títol provisional d'aquesta nova ser *Journal of Molecular Biophysics*, i la seva posada en marxa s'estava negociant durant la primavera de 1957, al mateix temps que els plans pel laboratori de biologia molecular de Cambridge. En opinió de Doty, calia una revista de biologia molecular, ja que tant aquesta com la biofísica s'estaven convertint en les subdivisions naturals de l'aplicació de principis físics i físico-químics a la biologia, i un nou títol del tipus *biofísica molecular* es prestaria a confusió. En

¹⁹⁴ Per a més detalls al voltant d'Archibald Hill, vegeu nota 186. Prèviament, l'any 1955, s'havia discutit quan i com s'hauria de fundar una societat de biofísica. Amb fons dels NIH, l'any 1956, es va finançar la nova Biophysical Society. Va ser en aquesta trobada on va circular l'article de Hill esmentat abans, que definia la biofísica de la manera vaga i inclusiva que Schmitt aprovava. En aquells moments, sempre segons els criteris de Schmitt, la biofísica havia d'incloure les següents àrees principals de recerca: química física de macromolècules, rutes energètiques biològiques, estructura i funció dels teixits connectius i de les proteïnes de la musculatura, àcids nucleics i síntesi de proteïnes (genètica molecular), arquitectura cel·lular i fisiologia dels nervis/funció cerebral.

aquest sentit, cal ressaltar que aquesta terminologia va ser encunyada pels promotors d'aquesta publicació, i no existia cap departament acadèmic amb aquesta denominació. Seguint Doty, "la biofísica com a tal està començant a tenir una connotació de no estar implicada en la vessant molecular i d'estructura molecular de la biologia, sinó en l'aplicació directa de les grans subdivisions de la física clàssica a l'estudi dels sistemes biològics com un tot". En una carta posterior, deia:

"The more I hear and think about the problem I believe that Biophysics will take shape as the field of work of frustrated physicists who turn to biology and who do not know or learn anything about structure. In this sense, molecular biology will take its place midway between biochemistry and biophysics and I think have the best of both worlds".¹⁹⁵

Es interessant fixar-se en les paraules de Doty i en la retòrica emprada, en un moment en que s'estaven produint negociacions per definir i establir espais acadèmics per a la biologia molecular. Quan expressa que aquesta s'havia d'implicar realment en la vessant molecular i estructural de la biologia i no quedar només com el resultat d'un procés de transferència de tecnologia, Doty està parlant d'ell mateix, la qual cosa és inseparable de la política acadèmica a la que està sotmès i de la seva recerca. També s'estava produint una redefinició d'espais i s'estava negociant per establir consensos: la biofísica no va prosperar i la biologia molecular va ocupar el seu espai, ja que no va acabar establint-se com una disciplina.

Segons Rasmussen (1997), un dels factors més importants en el fracàs d'aquest intent va ser voler incloure la química física de proteïnes i d'àcids nucleics sota el paraigua de la biofísica, la qual cosa els va portar a competir amb els bioquímics, que reclamaven aquest territori com a propi. Seguint Kohler (1982), molts bioquímics pensaven que els nous noms eren estratègies per separar de la bioquímica noves àrees de recerca i convertir-les en disciplines separades. La bioquímica va adoptar ràpidament els mètodes de la química física a finals dels 1950s i principis dels 1960s i,

¹⁹⁵ Carta de Doty a Kendrew del 14 d'octubre de 1957, citada a DE CHADAREVIAN (2002), pàgina 208.

si no hagués estat així, potser els científics que aplicaven la química física a les macromolècules biològiques haurien quedat sota el paraigua de la biofísica. El principal punt de connexió entre la bioquímica i la biofísica es trobava en l'àrea de la química física dels sistemes biològics. Mitjançant la química física, els biofísics haurien d'explorar les propietats de les interaccions de les macromolècules: amb l'ajuda de la cristal·lografia i dels mètodes físico-químics, la biofísica havia de determinar primer de tot la configuració detallada de les cadenes moleculars de les que estaven construïdes les macromolècules. Entesa la biofísica d'aquesta manera, la bioquímica es va expandir a costa seva.¹⁹⁶

La creació de les societats de biofísica britànica i nord-americana, la posterior creació de la *International Union for Pure and Applied Biophysics* (IUPAB) l'any 1961 i les relacions entre Doty i Kendrew són el conjunt de circumstàncies en que Subirana va ser contactat per tal d'establir la secció espanyola de la unió internacional de biofísica.

4.2.2. Els contactes de Subirana amb la IUPAB i la Primera Reunió de Biofísica

Ja l'any 1968, Subirana i Palau eren coneguts en el camp de la biologia molecular a través de les seves coneixences i publicacions. Tant abans com després d'haver guanyat l'oposició a càtedra a l'Escola d'Enginyers, Subirana tornava a Harvard durant els estius per tal de desenvolupar algunes tasques experimentals relacionades amb la seva recerca a Barcelona. Va ser a través de Doty que Arthur K. Solomon, en aquells moments secretari de la IUPAB, va establir contacte amb ell per tal de proposar-l'hi que Espanya es convertís en membre d'aquesta associació.¹⁹⁷ Solomon treballava al laboratori de biofísica de la Harvard Medical School, institució vinculada al Massachusetts General Hospital. En aquells moments, el president de la IUPAB era Aaron Katchatsky, cap del departament de química de polímers del *Weizmann Institute*

¹⁹⁶ Als EUA, el conflicte va sortir a la superfície amb els debats "combatius" entre Schmitt i Pauling, que representava la química física dins la disciplina de la bioquímica. Vegeu RASMUSSEN (1997).

¹⁹⁷ En converses de l'autor amb Joan Antoni Subirana, no s'ha pogut aclarir, per no recordar-ho el darrer, si John Kendrew hi va intervenir d'alguna manera.

de Rehovoth, a Israel, on Subirana hi havia passat un any durant la seva formació postdoctoral, i el vice-president era John Kendrew.

Durant l'any 1969, es va produir un intercanvi epistolar entre Solomon i Subirana, que es va materialitzar en la primera reunió nacional del *Grupo de Biofísica y Biología Molecular*, dins de la *Real Sociedad Española de Física y Química*.¹⁹⁸ Aquesta reunió va tenir lloc els dies 14 i 15 de novembre de 1969 a l'aula capella de l'Escola d'Enginyers, a Barcelona, i va ser organitzada per Subirana (Figures 14 i 15).

Amb data 9 d'abril de 1969, Solomon havia escrit a Subirana informant-lo que el tercer congrés internacional de biofísica es faria entre el 29 d'agost i el 3 de setembre del mateix any al MIT i que, durant aquesta trobada, es celebraria la quarta assemblea general de la IUPAB (Figura 16). Pel que sembla deduir-se d'aquesta carta, el darrer contacte entre Subirana i Solomon s'havia produït el 30 de maig de 1968, després del qual, segons el darrer, no havia rebut més notícies des d'Espanya:

"Since your letter of May 30, 1968 I have heard nothing further regarding Spain's adherence to IUPAB and I am wondering if there has been progress in this matter. I would greatly appreciate your informing me of any steps you may have taken and whether we may hope to consider Spain's adherence to IUPAB during the Fourth General Assembly".¹⁹⁹

Amb data 24 d'abril de 1969, Subirana va respondre a Solomon. La carta permet constatar que tots dos s'havien trobat a Harvard l'estiu anterior, el 1968. En aquesta carta, Subirana informava Solomon de l'estat de la qüestió, ja que, prèviament a la reunió de novembre de 1969 a Barcelona, s'havia reunit amb Ángel Martín Municio a Madrid:

"When I got back to Spain, we had a meeting in Madrid in October and we established a group of Biophysics within the "Real Sociedad Española de Física y Química". Prof. A.

¹⁹⁸ Entrevista de l'autor amb Joan Antoni Subirana, 1 de juny de 2005 i 13 de juliol de 2005. Carta de A.K. Solomon a Joan Antoni Subirana, 9 d'abril de 1969. La carta inclou cc. a Jaume Palau.

¹⁹⁹ Carta de A.K. Solomon a Joan Antoni Subirana, 9 d'abril de 1969.

Martín Municio, Head of Biochemistry at the University of Madrid, was appointed Secretary and I thought that the [*sic*] had already contacted you with regard to Spain's adherence to IUPAB. I will now ask him to do it as soon as possible, so that Spain may adhere to IUPAB through our Royal Society, if possible during the International Biophysics Congress in Boston".²⁰⁰

Efectivament, el grup es va crear dins de la RSEFQ. Si bé la SEB ja es trobava en funcionament, les seves relacions amb la Real Sociedad eren tenses. Segons Subirana, Martín Municio sentia una certa animadversió envers la SEB, en el sentit de pensar que l'existència d'una societat de bioquímica independent no era necessària i considerava que el grup de biofísica podia estar perfectament dins de la RSEFQ.²⁰¹ Aquesta era la associació espanyola més antiga en relació amb els orígens de la bioquímica a Espanya, havia estat fundada l'any 1903 a Madrid i el seu primer president havia estat José Echegaray. La importància d'aquesta societat rau en el fet que molts dels bioquímics que s'havien format en la química orgànica n'eren membres. De la trobada entre Subirana i Martín Municio va sorgir la reunió que es va fer a Barcelona durant el mes de novembre de 1969.²⁰²

Segons el volum corresponent dels *Anales de Química* publicat posteriorment per la RSEFQ, la reunió de Barcelona, a la qual no hi van assistir els membres fundadors de la SEB, va comptar amb la presència de al voltant de quaranta científics i s'hi van presentar vint-i-una comunicacions.²⁰³ Segons el mateix document, hi van assistir al voltant de cent estudiants, procedents de les facultats de ciències, farmàcia i medicina de la Universitat de Barcelona.

²⁰⁰ Carta de Joan Antoni Subirana a Arthur K. Solomon, 24 d'abril de 1969.

²⁰¹ Comunicació personal de Joan Antoni Subirana a l'autor.

²⁰² Entrevista de l'autor amb Joan Antoni Subirana, 1 de juny de 2005. L'adhesió espanyola a la IUPAB no es va produir fins 1981. Si bé es van produir dues trobades posteriors, a Madrid i a Barcelona, el grup com a tal no va sobreviure i alguns dels participants van abandonar la RSEFQ per concentrar les seves activitats a la SEB. Vegeu SANTESMASES i MUÑOZ (1997a).

²⁰³ Real Sociedad Española de Física y Química. Grupo de Biofísica y Biología Molecular. 1ª Reunión Nacional, 14 y 15 de Noviembre de 1969. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales. Barcelona. *Anales de Química*, vol. 65 (1969), pp. 1169–1180. Aquest material va ser proporcionat per Joan Antoni Subirana a l'autor durant l'entrevista mantinguda el dia 1 de juny de 2005.

L'estudi del desenvolupament de la reunió ha permès copsar la seva importància dins del procés de legitimació de la biologia molecular a Espanya. A més, mostra com els grups de recerca espanyols estaven al corrent del debat que s'estava donant al voltant de la definició i dels camps d'actuació de la biofísica. No es pot oblidar que la reunió s'havia batejat amb el nom de *biofísica y biología molecular*, la qual cosa porta a pensar en l'ocupació d'espais acadèmics que ja s'ha fet palesa en la correspondència entre Doty i Kendrew ja esmentada. En aquest sentit, la procedència dels participants i la temàtica tractada en aquestes sessions permetia comprovar la importància que començava a assolir la biologia molecular a Espanya. Pel que feia a les institucions presents, cal fer esment de l'Institut Químic de Sarrià, de l'Escola d'Enginyers, representada en aquella reunió no tant sols per Subirana sinó pel seu director Gabriel Ferraté i també per Lluís Puigjaner. També hi va ser present la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), a través del recentment fundat Institut de Biologia Fonamental, amb la participació de Jaume Palau, i el grup de radiobiologia de la Junta de Energía Nuclear (JEN) representat per Carlos Dávila, qui va tenir un protagonisme posterior en el grup de biofísica. També, l'Institut de Biologia Cel·lular de Madrid, el Centro de Investigaciones Biológicas del CSIC, el Centre de Genètica de la Universitat de Barcelona, la Universitat de Navarra i el Rocasolano, entre d'altres.

L'acte d'inauguració va ser presidit per Ricardo Granados, president de la secció local de la RSEFQ, i la conferència inaugural va córrer a càrrec de José Ignacio Fernández-Alonso, catedràtic de química física de la facultat de ciències de la Universitat de València, que va girar al voltant dels conceptes i idees que havien contribuït de manera fonamental al desenvolupament de la biologia molecular, entesos com el resultat de la confrontació entre la conformació de les proteïnes i la informació transportada pels àcids nucleics. Era molt important, segons Fernández-Alonso, conèixer de la manera més completa possible les característiques de la conformació de les proteïnes i el mecanisme pel qual el DNA actuaria com a portador d'informació als sistemes biològics.²⁰⁴

²⁰⁴ La seva intervenció és ressenyada a la pàgina 1169 del volum esmentat dels *Anales*. El seu camp de recerca era la mecànica quàntica dels àcids nucleics. Informació obtinguda d'una carta de Subirana a John Kendrew, de data 10 de maig de 1969, que serà analitzada més endavant.

La reunió es va estructurar en una sessió de comunicacions lliures i una altra de biofísica de proteïnes. Les paraules inaugurals de Fernández-Alonso ja anticipaven les qüestions que s'haurien de debatre a la reunió, que es va traduir en una taula rodona moderada per Juan Llopis Marí, on es va tractar la qüestió de la situació de la biofísica i la biologia molecular a Espanya, i es va plantejar “el que es volia, el que es podia i el que es faria” en aquest camp: ²⁰⁵

“Desde hace varios años, la Real Sociedad Española de Física y Química ha promovido la constitución en su seno de grupos especializados de trabajo. Uno de estos grupos es el de “Biofísica y Biología Molecular”, cuya primera reunión nacional celebramos ahora. La finalidad de este, como de cualquier otro grupo de dicha Sociedad, consisten en: a) facilitar la comunicación entre científicos interesados en una determinada especialidad, y b) promover el interés por los temas en cuestión. Por consiguiente, nuestro primer objetivo ha de consistir en definir la naturaleza de estos temas, lo cual, como veremos luego, no será nada fácil en nuestro caso”.²⁰⁶

A més, calia establir relacions amb les organitzacions internacionals que els podien servir de referència. La primera era la IUPAB, que acabava de celebrar el seu tercer congrés al MIT i, la segona, EMBO. Segons Llopis, que feia seves les idees que Solomon havia expressat al MIT, calia delimitar el camp d'actuació, ja que les fronteres entre la biofísica i la biologia molecular no quedaven clares:

“Probablemente no existen dos científicos que estén de acuerdo en una definición de la Biofísica, pero durante los últimos cinco o diez años ha habido una conciencia creciente de que en este terreno fronterizo, no bien definido, donde solapan la Física, Química-Física, Biología y Medicina, es probable que tengan lugar avances revolucionarios en los próximos diez o veinte años. La posibilidad de poder dilucidar a nivel molecular alguno

Vegeu figura 17.

²⁰⁵ La intervenció de Llopis es troba a les pàgines 1169-1172 dels *Anales*. Segons consta en la informació esmentada a la nota anterior, en aquell moment Llopis treballava en física-química de proteïnes, especialment en fibrina. Cal recordar que Llopis havia dirigit la tesi doctoral de Subirana.

²⁰⁶ Contribució de Juan Llopis als *Anales* dedicats a la 1^a reunió de biofísica i biologia molecular.

de los fenómenos biológicos más fundamentales ha venido atrayendo en medida creciente a inteligencias de primer orden, entrenadas en las disciplinas de la Física y la Química-Física”.²⁰⁷

La biofísica, doncs, havia d'actuar a nivell molecular, tal com sostenien els constructors de la biologia molecular des d'una vessant estructuralista. A rel de les opinions de Solomon, Llopis considerava que el problema de la delimitació de camps era i seria difícil, ja que la biofísica,

“queda más bien definida por lo que no es. Sin embargo, no parece ser que este problema sea demasiado importante, ya que a última instancia lo que interesa es el “planteamiento científico de las cuestiones biológicas de forma que gentes entrenadas en la Física, Matemáticas, etc., puedan trabajar en iguales términos que los procedentes de la Medicina o Biología””²⁰⁸

Llopis va fer referència a una discussió que havia mantingut amb Antonio Fernández-Molina, del CIB, al voltant de la definició de biofísica. Si bé aquest darrer no va poder assistir a la reunió, va fer arribar a Llopis una comunicació escrita que mostra la gran semblança amb les idees compartides per Doty i Kendrew quan s'estava posant en marxa el *Journal of Molecular Biology*:

“La Biofísica es una ciencia que estudia la función y la estructura de los organismos vivos mediante ideas físicas y valiéndose de métodos físicos. La Biofísica no es enseñar Física a estudiantes de Biología o Medicina; no es construir o mantener equipo instrumental físico para que lo utilizen anatómicos, bioquímicos y fisiólogos o clínicos; el empleo de instrumentos físicos en un laboratorio de biología no hace a uno biofísico... Lo importante son las ideas más que la metodología en sí... hay gentes a quienes las intuiciones físicas les vienen de forma natural, que pueden formular un problema en términos físicos, reconocer relaciones físicas cuando aparecen, y por fin expresar resultados en términos físicos..., pero si un físico no es capaz de desarrollar una vía de

²⁰⁷ Ibid. A. K. Solomon, citat per Llopis.

²⁰⁸ Ibid. Paraules de Juan Llopis al document publicat per la RSEFQ, de la 1^a Reunió de Biofísica i Biologia Molecular. Barcelona, novembre de 1969.

ataque biológica a un problema, no tiene curiosidad sobre los procesos, mecanismos y funciones vitales..., y simplemente considera la Biología como una rama de la Física..., este físico no tiene un buen futuro en la Biofísica”.²⁰⁹

Es van suggerir una sèrie d'àrees dins la biofísica, com a base per a una discussió posterior: biofísica molecular, de cèl·lules i teixits, de radiacions, de processos de comunicació i control, matemàtica i fisiològica. La biofísica molecular comprenia l'estudi de les macromolècules que desenvolupaven un paper important en la biologia, entès en un sentit ampli, on s'hi trobarien englobats els problemes referits a les relacions amb molècules petites i als sistemes formats per biopolímers. Llopis distingia entre aquesta branca de la biofísica i la biologia molecular, si bé hi veia relacions:

“Naturalmente, estos temas constituyen el nexo con la llamada Biología Molecular. Los dos mayores capítulos de esta ciencia interdisciplinaria se han basado hasta ahora en la capacidad de mantener y transferir una información genética sobre la base de unas macromoléculas y en la estructura tridimensional y función de los biopolímeros. En la actualidad, uno de los más brillantes temas que tiene planteados la Biología, a saber, el mecanismo molecular del sistema nervioso superior, constituye un tema con notables implicaciones biofísicas”.²¹⁰

A la taula rodona es va arribar a la conclusió que, a Espanya, únicament l'anomenada biofísica molecular tenia un desenvolupament acceptable, especialment en centres del CSIC. Es interessant veure com, onze anys després que Doty hagués expressat els seus dubtes al voltant d'aquesta denominació, el consens per fer servir el terme biologia molecular encara no s'havia aconseguit. A aquestes alçades de la reunió, Ángel Martín-Municio va exposar quines eren les característiques dels grups existents dins la RSEFQ. Armando Durán, que presidia la delegació espanyola a la Conferència Europea de Biologia Molecular, va explicar les relacions que s'havien

²⁰⁹ A. Fernández-Molina, llegit per Juan Llopis. Fernández Molina va ser científic del CIB, dedicat a la fisiologia. També havia fet estades a l'estranger. Vegeu les memòries del CIB 1957 i ss.

²¹⁰ Ibid.

mantingut amb EMBO i la conveniència d'aconseguir la màxima eficàcia en l'ajuda que aquesta organització podia prestar al desenvolupament de la biologia molecular a Espanya: calia planificar futurs projectes de col·laboració.²¹¹

Apart de la discussió al voltant de les relacions que els grups espanyols havien d'establir amb les associacions internacionals, també es va discutir al voltant dels fonaments conceptuals de la biologia molecular. És d'especial interès la intervenció d'Eladio Viñuela, qui va mantenir la distinció entre l'escola estructuralista i l'escola informacional que hauria estat iniciada per Niels Bohr i Max Delbrück.²¹² Segons Viñuela, l'escola estructuralista s'esforçava en comprendre els fenòmens biològics a partir de l'estudi de les estructures moleculars, tot i que els resultats als que s'havia arribat mitjançant aquest mètode no havien estat tant decisius com havien esperat els seus iniciadors. Si bé no de manera explícita, semblava fer referència a Kendrew quan en un programa televisiu de la BBC, l'any 1966, havia suggerit, l'existència d'aquestes dues escoles. Seguint Viñuela l'escola de Delbrück pretenia resoldre els problemes biològics generals d'una manera més directa, fent servir, sempre que fos possible, experiments *in vivo*, tot recordant les idees del darrer en el sentit de voler descobrir noves lleis físiques pròpies dels fenòmens biològics, en la línia de les lleis de la mecànica quàntica, cosa que no s'havia produït.²¹³

El debat plantejat per Viñuela, present en la comunitat de biòlegs moleculars, té el seu origen en l'informe conegut com el *Kendrew Report*, del que es parlarà més endavant, i en el llibre homenatge a Delbrück quan va fer seixanta anys, *Phage and the Origins of Molecular Biology*, que van ser utilitzats pels biòlegs moleculars com part de les seves estratègies de legitimació. Segons David Berol (2001), aquest llibre va ser un dels primers esforços per tal de parlar històricament del desenvolupament d'una ciència pobrament definida en aquells moments i anomenada biologia molecular, tot

²¹¹ La intervenció de Martín Municio es troba a les pàgines 1171–1172 dels *Anales*. La conferència europea de biologia molecular tenia lloc a Ginebra, Suïssa, des de 1967 i les connexions establertes pels delegats espanyols juntament amb l'acord per a la creació d'un laboratori europeu de biologia molecular va crear un espai polític addicional de suport per als grups de recerca espanyols en biologia molecular. Vegeu SANTESMASES (2002a).

²¹² La intervenció d'Eladio Viñuela és ressenyada a la pàgina 1172 dels *Anales*.

²¹³ Vegeu DE CHADAREVIAN (2002). El plantejament d'aquestes dues escoles és present a OLBY (1994) i JUDSON (1996).

reivindicant els seus orígens dins del *Phage Group*, i situant els altres grups que haurien contribuït al desenvolupament del camp, en una posició secundària.

Aquests fonaments de la biologia molecular s'haurien basat en el llibre que Erwin Schrödinger havia publicat l'any 1944 amb el títol de *What is Life?*, a partir d'unes conferències que havia donat a Dublín durant l'any 1943, on s'especulava al voltant de les bases físico-atòmiques i moleculars dels fenòmens biològics. Schrödinger, fundador de la mecànica quàntica en la seva formulació moderna, va popularitzar algunes idees al voltant de la naturalesa del gen a la llum dels principis de la mecànica quàntica, que havien estat proposades per Delbrück a Berlín l'any 1935.²¹⁴

L'any 1967, dos anys abans de la reunió de Barcelona, Kendrew havia escrit per a *Scientific American* un ressenya del llibre que celebrava el 60è aniversari de Max Delbrück. En la seva opinió, en quasi totes les contribucions al llibre s'hi trobava l'assumpte explícita o implícita que la biologia molecular només tenia els seus orígens reals al *Phage Group*, com si el tema central de la recerca fos la informació biològica, deixant de banda tot el treball que havien fet els cristal·lògrafs de RX. Kendrew es preguntava si ells no havien estat desenvolupant també la biologia molecular, malgrat els seus enfocaments diferents, i més encara si es tenien en compte les relacions establertes amb el seu grup i la procedència de Watson (Olby, 1994).

L'article de Kendrew va provocar la resposta de Gunter Stent, col·laborador de Delbrück i coeditor del llibre, a *Science*.²¹⁵ Per a Stent, l'escola estructural reflectia una preocupació per la relació de la física i la biologia en el sentit que tots els fenòmens biològics, independentment de la seva complexitat, podrien acabar essent explicats en termes de les lleis convencionals de la física. El problema d'aquest enfocament, sempre en opinió de Stent, era la seva lentitud i el fet que no fos de cap manera revolucionari. L'escola informacional per la seva banda, treballant en les bases físiques de la informació biològica, estava motivada per la noció no convencional que la biologia podria fer contribucions importants a la física. Cal recordar que ja des de la dècada dels 1930s s'estaven buscant noves lleis físiques que actuessin als éssers vius i

²¹⁴ Per més detalls al voltant de les suposades influències del llibre de Schrödinger, vegeu especialment YOXEN (1979), i també OLBY (1994), JUDSON (1996), KAY (2002).

²¹⁵ Gunter Stent (1968): "That was the Molecular Biology that Was", *Science*, 160, 390–395.

calia trobar l'equivalent biològic de l'àtom, el bacteriòfag, per aconseguir-ho. Per al *Phage Group*, les lleis ortodoxes de la física no donarien respostes adequades als fets de la genètica i, per aquesta raó, aquestes noves lleis de la física haurien de sorgir de l'anàlisi dels processos genètics.²¹⁶

La polèmica entre Kendrew i Stent, o l'existència de les escoles estructural i informacional, semblava estar present en les paraules de Viñuela, si bé, com ell mateix admetia, era indispensable plantejar els problemes centrals de la biologia des de la col·laboració entre físics, químics i biòlegs.²¹⁷ Sense entrar en els detalls de la controvèrsia al voltant de les escoles de biologia molecular, ni en les estratègies de legitimitació que haguessin pogut seguir els grups pioners, es important ressaltar que a la reunió que Subirana havia organitzat, es debatien els problemes que eren presents a nivell internacional, tal com el camp d'actuació i la definició d'aquesta.

Ja des de principis de la dècada dels 1960s, al Regne Unit s'havia iniciat un debat al voltant del que després es va conèixer com el *brain drain* i la seva relació amb el desenvolupament de les polítiques científiques adequades per evitar-ho. El cas va anar al parlament i es va debatre també a la premsa, que va incloure un article de Lawrence Bragg al *Times*. L'any 1964, amb el nou govern laborista, Kendrew va passar a formar part del *Council for Scientific Policy* (CSP).

L'any 1968, a la seu del parlament, el grup d'experts encapçalats per John Kendrew va suggerir que, en aquells moments, no era exagerat afirmar que la biologia es trobava en una fase dinàmica i productiva, comparable a la que havia tingut la física durant els primers vint-i-cinc anys de segle. Aquest progrés, considerat espectacular pels experts, es centrava en el tipus de recerca que tenia com objectiu la descripció de l'estructura, l'organització i la funció de les cèl·lules vives en termes físics i químics, i era una branca de la biologia coneguda com biologia molecular. Aquest informe, conegut com el *Kendrew report* s'ha de veure com un clar exemple de l'ús del camp

²¹⁶ Ibid.

²¹⁷ Per a una visió més crítica al voltant de l'existència d'aquestes "escoles", vegeu ABIR-AM (1992a) i BEROL (2001).

polític per part dels anomenats biòlegs moleculars per promoure la seva ciència i incloure-la en l'agenda política del govern (de Chadarevian, 2002).²¹⁸

Hauria estat aquesta associació entre la investigació de tipus estructural i els mecanismes genètics durant la dècada dels 1950s la que hauria donat aquest aire de novetat a la biologia molecular i hauria justificat l'afirmació de que s'estava desenvolupant una nova disciplina de la fusió de diverses especialitats? En el cas concret de l'anàlisi estructural, aquest s'havia demostrat fructífer ja que havia permès passar de treballar en molècules petites a la classificació de les macromolècules biològiques i revelar les bases moleculars de les seves funcions (Olby, 1990). Aquesta diversitat d'enfocaments que estava definint la biologia molecular també es va fer palesa a la primera reunió nacional de biofísica a Barcelona.²¹⁹

La llarga anàlisi de la primera reunió de biofísica ha permès constatar que els grups de recerca en biologia molecular espanyols eren perfectes coneixedors de la situació internacional i que les qüestions a debat eren les mateixes que es donaven a altres països: negociacions per assolir consensos al voltant de l'acceptació d'una nova disciplina, d'un nou espai científic, acadèmic, experimental i de pensament. Potser l'enfocament estructuralista adoptat els va fer ser contactats per la IUPAB, a través de Solomon, Doty i Kendrew.

4.2.3. Els contactes entre Subirana i John Kendrew

Com s'ha pogut constatar, els contactes de Subirana van propiciar la celebració de la reunió de Barcelona i el fet que tant ell com Palau fossin coneguts a l'estranger i a EMBO hi va contribuir de manera decisiva. Prèviament a la reunió celebrada a l'Escola

²¹⁸Council for Scientific Policy, "Report of the working party on molecular biology", *Parliamentary papers* (1967–68), vol.31 Cmnd 3675, p.1. Citat per OLBY (1990), i conegut com el *Kendrew report*. Al voltant dels conflictes entre els biòlegs moleculars i els bioquímics, vegeu KOHLER (1982), ABIR-AM (1992a, 1992b) i DE CHADAREVIAN (2002).

²¹⁹ Per detalls al voltant de les comunicacions presentades, vegeu *Anales de Química*, vol. 65 (1969), pp. 1169–1180. Pel que fa a la filiació institucional de Palau i Subirana, constaven encara com secció de biopolímers i, en el cas de Palau, també com Instituto de Biología Fundamental que, si bé encara no tenia una seu, ja havia començat a funcionar des del despatx de Subirana a l'escola d'enginyers.

d'Enginyers, i durant els mateixos mesos en que va transcórrer l'intercanvi epistolar entre Subirana i Solomon, Kendrew va ser a Barcelona, on va donar una conferència a la seu del Col·legi de Metges. Segons Palau, va ser llavors que els va anunciar que el consell executiu de EMBO havia pres la decisió d'acceptar-los com a membres, juntament amb Ángel Martín-Municio. Subirana ho va ser el mateix any 1969 i Palau i Martín-Municio l'any següent (Palau i Subirana, 1994). En una carta posterior, Subirana agràia Kendrew haver donat la conferència, i també el que la seva presència havia significat per a la promoció de la biologia molecular davant de les autoritats acadèmiques del país:

“It was not only of extreme interest in itself for the audience, but also helped to promote the interest of our academic authorities in the development of Molecular Biology”.²²⁰

Durant la conversa que Subirana i Kendrew havien mantingut a Barcelona, el primer li havia parlat dels plans que tenien de construir una residència que permetés promoure la visita de professionals estrangers a l'hora que la realització de trobades científiques a petita escala. La manca de finançament, o poder disposar només d'un finançament de caire parcial, feien que el projecte tingués un futur incert (Figures 17 i 18). Pel que sembla desprendre's d'aquesta carta, Subirana havia mantingut contactes amb Ole Maaløe, el qual li havia suggerit que fes arribar a Kendrew un informe sobre l'estat de desenvolupament de la biologia molecular a Espanya:

“Dr. Maaløe has also asked me to send you a report on the Development of Molecular Biology in Spain. In a separate sheet I include the different groups presently working along these lines. It does not seem that there will be a substantial development in the next few years in this area in Spain. Our present government is most interested in creating a few new universities and new teaching positions, rather than giving substantial support to new research endeavours. Of course, in this [sic] new universities there will be groups of Molecular Biology, but it seems that they will be rather small, perhaps with the exception of the Universities of Madrid and Barcelona. In these new

²²⁰ Carta de Joan Antoni Subirana a John Kendrew, Barcelona, 10 de maig de 1969.

universities there are plans to establish a department of Molecular biology, but they are not yet definite".²²¹

Subirana, doncs, va posar en coneixement de Kendrew quina era en aquells moments la situació de les universitats espanyoles, així com de la possible creació de centres dedicats a la biologia molecular. En aquells moments ja s'estava produint tot el procés de negociacions que havien de portar a la posada en marxa del Centro de Biología Molecular de Madrid i de l'Institut de Biología Fonamental de Barcelona, com més endavant es veurà.

L'estada de Subirana amb Doty havia propiciat el contacte amb Solomon i la IUPAB. Palau, per la seva part, durant la seva estada al King's College de Londres amb Wilkins havia pogut conèixer Kendrew quan s'estava gestant la fundació d'EMBO. Pot comprovar-se com, en el aquest cas i en d'altres, aquestes relacions internacionals van facilitar l'apropament dels grups de recerca espanyols a les organitzacions internacionals.

4.2.4. La institucionalització i posada en marxa de l'IBF

L'època de màxima agitació estudiantil a Espanya s'havia produït entre 1962 i 1967 i després del desmantellament repressiu dels sindicats democràtics d'estudiants i de la substitució al front de Ministeri d'Educació de Manuel Lora-Tamayo per José Luis Villar-Palasi, l'equip de tecnòcrates que va accedir al ministeri va plantejar una reforma tècnica ambiciosa del sistema educatiu en el seu conjunt. L'any 1968, el nou equip ministerial va elaborar el que es va con *Libro Blanco (La Educación en España. Bases para una política educativa)*, que es va presentar l'any 1969 i que orientaria la que va ser coneguda com *Ley Villar* de 1970.

En l'àmbit universitari, aquesta reforma va portar a la fundació de tres noves universitats: la Universidad Autónoma de Madrid, la Universidad de Bilbao

²²¹ Ibid. Ole Maaløe, un dels fundadors d'EMBO, amic de Herman Kalckar, també de Copenhagen. És el membre danès del Phage Group. Watson va coincidir amb ell durant la seva estada a Dinamarca, abans d'anar a Cambridge. Posteriorment va treballar en ribosomes. Informació obtinguda de JUDSON (1996).

(posteriorment del País Basc) i la Universitat Autònoma de Barcelona.²²² Una altra de les conseqüències d'aquest procés de reformes va ser la fundació d'institucions de recerca com el Centro de Biología Molecular (CBM) a Madrid, impulsat per Severo Ochoa, i l'Institut de Biologia Fonamental (IBF) a Barcelona, impulsat per Joan Oró i Jaume Palau. En el mateix context cal situar el futur Departament de Química Macromolecular (DQM), centre coordinat amb el CSIC, a l'Escola d'Enginyers de Barcelona. En el moment dels contactes de Subirana amb Solomon i Kendrew, el grup de recerca seguia essent la secció de biopolímers, si bé ubicat físicament a l'Escola d'Enginyers.²²³

4.2.4.1. Un referent: els nous centres de recerca europeus en biologia molecular

Per tal d'entendre el context en que es va gestar l'IBF, cal dedicar un espai als processos que es van donar a Europa al voltant de l'any 1960 quan, al Regne Unit, França, Alemanya i Suïssa, es van posar en marxa aquests nous centres de recerca, potenciats per científics de renom. Els documents presentats reflectien el discurs dels científics promotors i demanaven la creació i finançament de nous centres de recerca dedicats a la biologia molecular, considerant a aquesta com una disciplina separada de la bioquímica.

La simultaneïtat en la presentació d'aquestes propostes es pot entendre tenint en compte que, en cada context local, la institucionalització de la biologia molecular va dur associada l'obtenció de quantitats considerables de diners proporcionats per les agències nacionals de finançament de la recerca. La construcció de nous edificis per acomodar els nous laboratoris, la compra d'aparells cars i la contractació d'una gran quantitat de personal de recerca requeria un finançament que estava molt per damunt

²²²http://www.ffil.uam.es/decanato/histo_fac.htm i ASOCIACIÓN NACIONAL DE CATEDRÁTICOS NUMERARIOS DE INSTITUTOS NACIONALES DE ENSEÑANZA MEDIA (1969) "Informe sobre el Libro Blanco del Ministerio de Educación y Ciencia", *La Educación en España. Bases para una política educativa*, Madrid.

²²³ Al voltant de la creació dels centres espanyols, vegeu SANTESMASES (2001c). La creació del DQM amb aquest nom es produirà l'any 1971, com es veurà.

del que podien disposar les institucions locals, i això sense tenir en compte la resistència que podien oferir les disciplines establertes.

L'increment dels fons dedicats a la biologia molecular pot atribuir-se a decisions específiques de política científica preses pels governs, així com a la creació de programes de finançament específics. Per altra banda, reflectia la creixent prosperitat de les economies nacionals, com a conseqüència dels programes nacionals de reconstrucció. Aquesta explicació no aclareix, però, per què aquests diners es van dedicar a finançar la biologia molecular. Com han fet constar diversos autors, els biòlegs moleculars van ser capaços de fer servir aquesta situació econòmica per guanyar suport per al seu camp de recerca en alguns casos i, com també va succeir a Espanya, intervenint directament en les decisions polítiques (de Chadarevian, 2002; Strasser, 2002; Gaudillière, 2002).

Quina definició es va fer de la disciplina i de les seves ambicions? Tots dos aspectes quedaven reflectits en la seva història particular, en com s'havia d'organitzar la nova recerca i les seves diferents tradicions dins d'un marc comú, de manera que sorgís un nou camp, coherent i innovador. Cada definició va ser adaptada a l'agenda política local, però hi havia una idea compartida per tots: el propòsit de la biologia molecular era explicar les funcions biològiques en termes d'estructures macromoleculares. Cadascuna d'aquestes definicions presentava una dimensió local en el sentit de fer èmfasi en el camp previ *dominant* a cada país.

Per altra banda, en tots els casos, els promotors de la biologia molecular van fonamentar les seves peticions fent una reflexió sobre la història del seu camp i també que els seus respectius països havien patit un retard històric respecte del normal desenvolupament de les ciències de la vida en altres llocs. Aquest discurs del retard científic estava en sintonia amb les idees dominants a l'època sobre els processos de modernització i de reforma de les estructures polítiques que s'estaven produint en la postguerra.²²⁴

²²⁴ Per detalls al voltant d'aquestes institucions i dels científics promotors, vegeu Strasser (2002). Per detalls sobre el cas suís, Strasser (2002); Gaudillière (2002), França; Deichmann (2002), Alemanya; Santesmases (2001), Espanya; de Chadarevian (2002), Regne Unit.

Normal volia dir *americà* i els EUA eren la referència en quan a la recerca que calia fer i com s'havia d'organitzar. Aquest nou model d'organització era significativament diferent del de les disciplines acadèmiques tradicionals. Tot i que els autors dels diferents documents volien refundre la història de la biologia molecular dins les seves pròpies tradicions nacionals de recerca, la consideraven sorgida o, com a mínim, arrelada als EUA. *Amèrica* va ser utilitzada retòricament per suggerir modernització i va tenir conseqüències significatives per a l'èxit en la institucionalització de la biologia molecular a Europa. Una justificació per seguir el model americà era combatre el que Kendrew havia anomenat el *brain drain*, és a dir, l'emigració dels científics europeus cap els Estats Units (de Chadarevian, 2002).

Des de principis de la dècada dels 1960s, les comunitats científiques nacionals i els administradors científics es van trobar ocupats en posar al seu lloc les infraestructures i les institucions locals necessàries per a establir o consolidar la biologia molecular als seus països. En aquest sentit, Espanya estava donat les primeres passes, si bé titubejants, per a la posada en marxa de centres en biologia molecular i durant l'any 1969 es van presentar les propostes al Ministeri d'Educació. (Krige, 2002). Amb el suport de Severo Ochoa, es va presentar el projecte del centre que hauria de dur el seu nom. Amb la intervenció de Joan Oró i, molt especialment, de Jaume Palau, es va presentar la proposta de l'Institut de Biologia Fonamental. del que es parlarà en breu.²²⁵ Els antecedents de l'IBF cal buscar-los, doncs, en la reforma Villar i també en els contextos europeus que s'ha estudiat.

4.2.4.2. L'Institut de Biologia Fonamental

Quan Subirana es va establir com catedràtic a l'Escola d'Enginyers, la Secció de Biopolímers s'havia traslladat a l'Escola d'Enginyers Industrials, a la Diagonal de Barcelona. Mentre, Palau seguia essent col·laborador científic del CSIC i la seva situació no estava resolta de manera definitiva. En aquells moments, Palau coordinava

²²⁵ Per més detalls al voltant dels centres espanyols, vegeu Santesmases (2001b, 2001c, 2005).

un grup format per una dotzena de científics, la major part d'ells catedràtics de la Universitat, conegut com "grup promotor per al desenvolupament de la biologia molecular a Barcelona", amb l'objectiu de donar cabuda a les noves generacions de científics biòlegs que anaven sorgint al panorama de Catalunya. Palau seguia pensant en la creació d'un institut de biofísica, en la línia del que havien anat planejant anys abans amb Subirana. Però l'obtenció de la seva plaça de catedràtic el desvincular del projecte, si bé la seva col·laboració amb Palau va continuar en forma de publicacions i seminaris conjunts.

Va ser en aquest context que Palau, en coordinació amb Vicente Villar, germà del ministre d'educació i alhora rector de la UAB, i amb la col·laboració de personalitats científiques com ara Joan Oró, va començar a perfilar la creació d'un institut de recerca de tipus pluridisciplinar en el camp de la biologia fonamental, de nivell internacional, que disposés d'una dotació econòmica adequada, i que permetés plantejar una *recuperació de cervells*.

El grup promotor que coordinava Palau es va dissoldre amb la materialització del projecte de l'IBF al si de la UAB, ja que els professors universitaris no volien deixar els seus llocs de treball a la Universitat de Barcelona. Malgrat que Vicente Villar buscava a tota costa *professors desertors* de la UB per a la UAB, el projecte de l'Institut de Biologia Fonamental es va anar materialitzant, si bé amb inconvenients: l'ordre ministerial publicada al BOE el dia 24 de febrer de 1970 incorporava la condició que el futur institut no incidiria en la despesa pública. Malgrat això, Villar nomenà director a Palau, amb una assignació anual simbòlica de vint-i-cinc-mil pessetes pels seus serveis. La creació de la UAB, doncs, va donar el tret de sortida a un projecte nou i ambiciós, si bé les expectatives no sempre es van arribar a materialitzar. La vocació inicial del centre era de constituir-se en institut interuniversitari, però finalment va quedar adscrit a la UAB en qualitat d'interfacultatiu (Palau i Subirana, 1994; Ponsà, 2007).

Es va presentar un projecte, unes línies de recerca i una justificació de la seva necessitat. Les mateixes idees que havia expressat Subirana a l'inici del curs 1967-68 a l'Escola d'Enginyers van tornar a aparèixer dos anys després al document

fundacional de l'IBF, signat per Jaume Palau i Claudi Miquel Cuchillo a Barcelona, com director i secretari, respectivament, el 17 de juliol de 1969.²²⁶ Cuchillo s'havia format amb Vicente Villar a la facultat de farmàcia on havia fet un tesi doctoral en bioquímica. Poc abans de la posada en marxa de l'IBF, havia tornat del Regne Unit, un cop completats els seus estudis postdoctorals.²²⁷

Abans d'entrar en l'anàlisi del document fundacional de l'institut, cal referir-se al nom escollit: Institut de Biologia *Fonamental*. Per què *fonamental*? Els noms són importants en el sentit que no són només etiquetes o termes de referència, sinó que són eines estratègiques. En aquest cas, *fonamental* servia per excloure les branques de la biologia que no treballaven a nivell molecular, és a dir, botànica i zoologia bàsicament, com es veurà més endavant en llistar les primeres unitats de recerca que van establir-se al nou institut.²²⁸

Les missions de l'IBF es van emmarcar i justificar en la doctrina del *Llibre Blanc*. Es van considerar missions específiques de l'Institut la promoció i desenvolupament de la recerca bàsica dins del camp de la biologia, la direcció dels estudiants de doctorat i diplomats tècnics i la formació de graduats de les facultats de ciències, medicina, farmàcia i veterinària, per a la seva futura especialització en les diferents branques de la biologia fonamental. També es va plantejar la incorporació d'aquelles persones procedents d'altres facultats, fins i tot encara sense titulació, en cas de creure's convenient, així com la formació accelerada de personal docent universitari.

D'acord amb la filosofia del *Llibre Blanc*, s'havia de tenir en compte principalment la capacitat, el propòsit de millora i el desig d'especialització de les persones en l'àmbit de la biologia fonamental. També es manifestava un desig de

²²⁶ "Esquema comprensivo de misiones y de normativas básicas del Instituto de Biología Fundamental de la Universidad Autónoma de Barcelona". Arxiu General de la Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, Capsa P-2808. Citat a partir d'ara com Esquema Comprensivo.

²²⁷ Entrevista de l'autor amb Claudi Cuchillo, 30 de juny de 2003, al seu despatx de la UAB.

²²⁸ Ibid. Què es considerava biologia fonamental a Catalunya, concretament a la Societat Catalana de Biologia? En un recull bibliogràfic editat l'any 1969 per Ramon Parés i Farràs, en aquells moments catedràtic de microbiologia a la facultat de Ciències, es distingia clarament entre biologia fonamental i sistemàtica. Aquesta darrera és la exclosa en la definició del nou institut, tal com es pot copsar en la lectura del document. Vegeu PARÉS (1969). Aquest document ha estat posat a la meua disposició per Eva Prats, del CID-CSIC, d'entre els materials que conservava Lluís Cornudella.

universalitat en el sentit que la programació es desenvolupés sense subjeccions prèvies que poguessin dur a l'exclusió de persones, temes, proves i assaigs. L'IBF hauria d'estimular la llibertat de recerca, l'originalitat, entesa amb realisme i mesura, la creativitat científica i la flexibilitat de les estructures.

Les missions complementaries havien de ser la promoció de contactes a nivell nacional i internacional amb institucions semblants, la creació d'una biblioteca especialitzada, la difusió dels propòsits de l'institut entre els interessats en el camp de la biologia així com la promoció de beques, ajuts i col·laboracions:

“... la contribución científica actual de España al campo de la biología debe calificarse de modesta y basta para comprobarlo el examen de la bibliografía mundial. Por tanto, la promoción de contactos debería ser intensa y afrontada con total amplitud. Ello permitiría, de una parte, dar a conocer el Instituto de Biología y de otra, facilitaría –a través de contactos personales– la captación de colaboradores”.²²⁹

Quan es contemplava la difusió dels propòsits de l'Institut en el sentit d'una orientació de la recerca cap a aspectes de interès econòmic, es suggeria que podia condicionar la creativitat si es portava a l'extrem:

“No obstante, a la vista de los óptimos resultados conocidos, y que en varios países han sido obtenidos de la colaboración, o por lo menos de la actuación coincidente, de los industriales y los centros docentes, (los firmantes) han estimado conveniente la atribución al Instituto, de la función conocida por “enlace”, que desarrollan en algunos países los ministerios de Tecnología. Ello debería realizarse a vía de ensayo. A resultas del auge que pueda en este orden registrarse, en su día podría procederse al traspaso de esta misión al organismo que con estructura adecuada, pudiera hacerse cargo de la misma”.²³⁰

En establir els mecanismes de funcionament de l'Institut, calia que aquest passés per un període d'organització a càrrec d'una Junta Promotora “compenetrada

²²⁹ Esquema Comprensivo.

²³⁰ Ibid.

entre si" i de prestigi, que pogués dirigir-se amb plena autoritat a les persones de solvència a qui es plantegés la seva incorporació. Dins les funcions d'aquesta Junta hi hauria la de proposar a la UAB l'organigrama de l'Institut en les seves vessants científica, docent i administrativa, així com establir els pressupostos d'organització, funcionament i manteniment. Una altra funció seria la de posar en marxa els diferents grups de recerca, la escola de postgraduats, les comissions assessores etc.

Pel que feia al personal que havia de tenir l'Institut, s'esmentaven el científic, el tècnic i l'administratiu i les seves funcions, així com les dels estudiants postgraduats. Les missions del personal científic, independentment del desenvolupament dels seus propis projectes de recerca, havien de ser la tutoria de la formació científica dels estudiants postgraduats, la participació en les tasques de docència de la escola de postgraduats i la col·laboració en la docència corresponent a les facultats de Medicina i Ciències. La formació de joves científics era tan important com la recerca. Les obligacions dels estudiants postgraduats, incloïen la seva recerca encaminada a la tesi doctoral, la participació en seminaris especialitzats, l'assistència a les conferències a les que fossin convocats i a la seva inscripció en la secció de Doctorat de la escola de postgraduats, on haurien de seguir els cursos relacionats amb la biologia fonamental.

Les primeres passes del nou institut, que es posar en marxa l'any 1971, es van donar des del departament de Subirana. La disposició de fons era precària però, segons Palau, hi havia *forats* en l'administració de la UAB que es podien aprofitar, com ara la possibilitat d'oferir contractes temporals a científics i diners per a la promoció de la recerca. Això va ser possible ja que Palau tenia accés als òrgans de poder de la nova universitat. L'amistat que va establir amb el gerent de la UAB li va permetre saber que el Ministeri d'Educació i Ciència havia concedit trenta milions de pessetes que s'havien de destinar a la recerca però que ningú no havia reclamat. Després de fer les oportunes sol·licituds al ministeri, aquests diners van permetre aconseguir l'equipament necessari per engegar l'institut, a les dependències de la Casa de Convalescència de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau en uns edificis prefabricats. A més, Palau va aconseguir muntar una biblioteca especialitzada de revistes i llibres,

essencials per als membres de tots els grups que treballaven al centre (Palau i Subirana, 1994).²³¹

Es va contractar personal del laboratori de Joan Oró, com Emili Gelpí i Josep Maria Gibert, i de l'antic laboratori de Villar, com Claudi Cuchillo, Enric Concustell, Isaac Blanco, i Margarita Sentís. També s'hi van incorporar científics joves com Ramon Carbó, Joan Beltrán i Josep Egozcue. La majoria van compartir la docència amb la recerca i es van posar en marxa un nombre apreciable de grups autònoms dirigits per científics joves. El grup de Palau es va dedicar a la biologia estructural, amb els seus estudis de la nucleohistona. El grup de Cuchillo, estava centrat en enzimologia. Cal esmentar també el grup de Gelpí en neurobiologia, així com el de Egozcue en citogenètica. Més endavant es va afegir el grup de microbiologia dirigit per Ricard Guerrero.²³²

L'afany de Palau seguia essent la consolidació de l'Institut. En aquest sentit, va propiciar la signatura d'un conveni de coordinació del centre entre la UAB i el CSIC, constituint-se l'IBF, Institut d'Investigacions en Biologia Fonamental, associat a l'IBF.²³³ El Consell, però, es va negar a acceptar l'IBF com a centre propi, la qual cosa va tancar les portes a qualsevol tipus de desenvolupament real que pogués incidir en la despesa pública (Palau i Subirana, 1994; Ponsà, 2007). El procés de posada en marxa del nou institut va fer que les publicacions conjuntes de Palau i Subirana s'anessin espaïant en el temps, com es veurà.

4.2.5. El Departament de Química Macromolecular: la institucionalització de la recerca

²³¹ Entrevista de l'autor amb Josep Egozcue, el dia 12 de desembre de 2002 al seu domicili de Barcelona, que em va permetre entendre millor com van ser aquests inicis.

²³² Memòries anuals de l'IBF, Arxius UAB,. Es disposa de les memòries 1971-74 (capsa P-1077) i 1976-77 (capsa P-1113). L'estudi de la recerca feta des de l'IBF es centrarà exclusivament en Palau, donada la seva relació amb el projecte de Subirana a l'Escola d'Enginyers. Aquesta és l'única i principal raó pel qual no es tractarà la recerca desenvolupada pels altres grups.

²³³ Aquest conveni es pot consultar a l'Arxiu General de la Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, capsa IG-0026.

Durant l'any 1970, la Secció de Biopolímers es va convertir en un nou centre coordinat del CSIC amb el nom de Departamento de Química Macromolecular (DQM). Una explicació pel canvi d'estatus del grup de recerca ha estat suggerida per Lluís Cornudella (2001) en el sentit que potser la decisió del CSIC va venir condicionada pel fet que la recent constituïda EMBO acabava d'incorporar els tres primers membres espanyols: Subirana, Palau i Martín-Municio, com ja s'ha explicat anteriorment (Palau i Subirana, 1994; Martín-Municio, 1994). Si bé la coordinació del DQM, adscrit al *Patronato Alfonso el Sabio de Ciencias Matemáticas, Médicas y de la Naturaleza*, va ser concedida l'any 1970, el nomenament de Subirana com a director d'aquest centre coordinat no es produeix fins l'any següent, 1971, tal com consta a les memòries del CSIC consultades.²³⁴

Es important recordar que durant la estada al departament de Prevosti, Subirana i Palau havien aconseguit que el seu projecte de recerca fos finançat pels NIH. Quan el primer va guanyar la càtedra calia dur a terme la tasca docent però, en continuar disposant dels diners dels NIH es va poder continuar la recerca biològica, amb aquests mitjans que no provenien de l'Escola d'Enginyers (Figura 19). La recerca va ser fonamentalment biològica perquè des del 1966 fins el 1975, pràcticament, només es va disposar dels diners que venien dels NIH i, després, del Population Council de Nova York, institució filial de la Rockefeller Foundation.²³⁵

El fet de disposar d'aquest finançament estranger va ser útil per obtenir fons espanyols, a través del Dr. Antoni Romañá, jesuïta i president del Patronat Alfonso X el Sabio i alhora director de l'Observatori Astronòmic de l'Ebre de la Companyia de Jesús a Roquetes, a la comarca del Baix Ebre. Ser reconeguts als Estats Units suposà, doncs, una credencial per obtenir diners d'Espanya, en tractar-se d'una àrea nova per a la qual encara no hi havia autoritat acadèmica. La legitimació internacional del grup es va

²³⁴ Informació obtinguda de les Memorias del CSIC dels anys 1970 i 1971. La coordinació del DQM apareix a la memòria del 1970, pàgina 183, i el nomenament de Subirana com a director, a la pàgina 39 de la memòria de 1971. A les línies de recerca que s'esmentaven a la memòria del CSIC de l'any 1970 ja hi eren els estudis de difracció de RX. Cal recordar que els preliminars havien començat l'any 1969, si bé l'optimització del funcionament del laboratori encara no s'havia produït.

²³⁵ El finançament del Population Council va donar-se en dues etapes: 1970-72 i 1972-74. El projecte de recerca presentat va ser d'estudi de protamines de mamífers.

fonamentar en el prestigi adquirit a l'estranger, com a conseqüència de les estades postdoctorals i de la seva producció científica.

L'estratègia seguida per Palau i Subirana en particular formava part, com s'ha vist, d'un moviment que s'estava donant també a altres grups de recerca a Espanya. Els bioquímics i també els biòlegs moleculars varen cercar la seva legitimació internacional no només mitjançant les estratègies esmentades, sinó també participant activament en institucions internacionals, així com mitjançant les seves publicacions en revistes de prestigi (Santesmases i Muñoz, 1997a).

El finançament espanyol va començar a partir de 1973 i va consistir en subvencions del *Fondo Nacional para la Investigación*, que es dotaven a través dels pressupostos dels *Planes Nacionales de Desarrollo*. Aquests diners van permetre la compra d'instruments i va ser en aquest context en el que, posteriorment, es va posar en marxa el laboratori de RX. Paral·lelament, Subirana havia tractat d'interessar a alguns industrials per si volien recolzar algun tipus de recerca, però no hi va haver gaire resposta per la seva part, la qual cosa va fer que la vessant industrial es correspongués amb la part docent de la seva tasca i, a part de la docència normal, s'organitzessin cursos de post-grau i d'especialització en plàstics.²³⁶

4.3. Conclusions

Aquest capítol ha cobert els processos de legitimació per a l'establiment del grup de recerca de Palau i Subirana, tant en el context espanyol com estranger i, com s'ha mostrat, la seva recerca no es pot separar d'aquests desenvolupaments: un cop es va posar en marxa la secció de biopolímers, el grup es va veure implicat en els processos de negociació per a la legitimació de la biologia molecular a Espanya. Per aquest motiu s'han analitzat detalladament determinats documents com ara el discurs de Subirana a la inauguració del curs acadèmic a l'Escola d'Enginyers i el fundacional de l'IBF redactat per Palau, així com els relacionats amb els contactes internacionals de

²³⁶ Entrevista de l'autor amb Joan Antoni Subirana, 13 de juliol de 2005. També PALAU i SUBIRANA (1994). Vegeu també els CV de Palau i Subirana, en referència als cursos de postgrau que s'impartien.

Subirana, que van portar a l'organització de la primera reunió de biofísica a Barcelona.

L'anàlisi i contextualització d'aquests documents es deu a la seva importància no tant sols per a la posada en marxa del projecte de recerca de Palau i Subirana, sinó per a la consolidació de la biologia molecular a Espanya. A més, ha permès constatar que els grups espanyols estaven al dia no tant sols en aspectes concrets de recerca, sinó que aspiraven a estar presents a les institucions representatives internacionals, fet al que van contribuir decisivament, entre d'altres, els protagonistes d'aquest treball.

Pel que fa al desenvolupament del seu programa de recerca, plenament integrat en aquests contextos, serà tractat en detall a continuació.

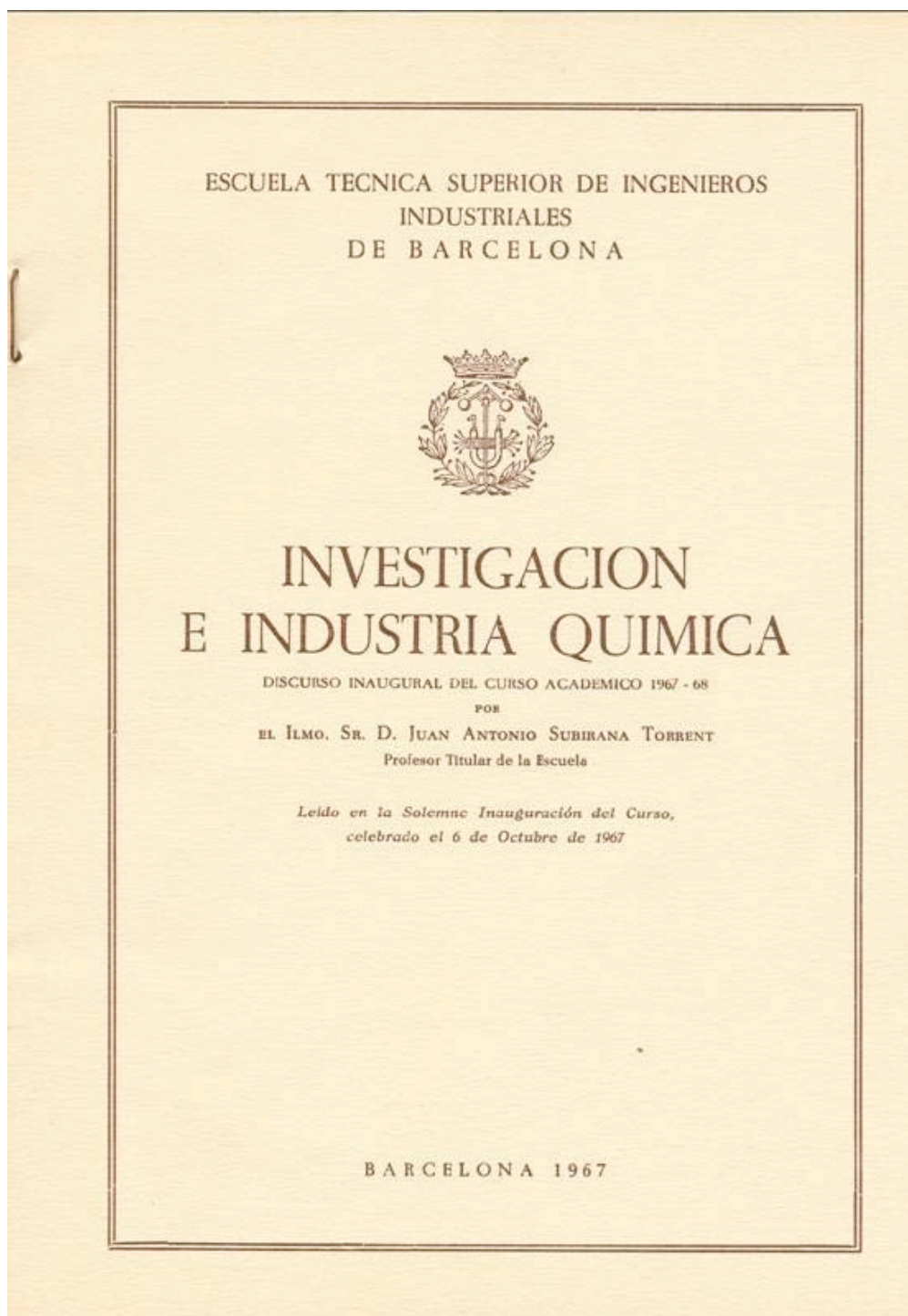


Figura 13: Portada de la publicació del discurs de Subirana a la inauguració del curs acadèmic 1967–68 a l'Escola d'Enginyers, 8 d'octubre de 1967, on expressa les seves idees al voltant de les necessàries polítiques científiques, en el context del *desarrollismo*. (donació de Joan Antoni Subirana a l'autor)

REAL SOCIEDAD ESPAÑOLA DE FÍSICA Y QUÍMICA
Grupo de Biofísica y Biología Molecular

1ª REUNION NACIONAL
14 y 15 de Noviembre de 1969

Escuela Técnica Superior de
Ingenieros Industriales. Barcelona

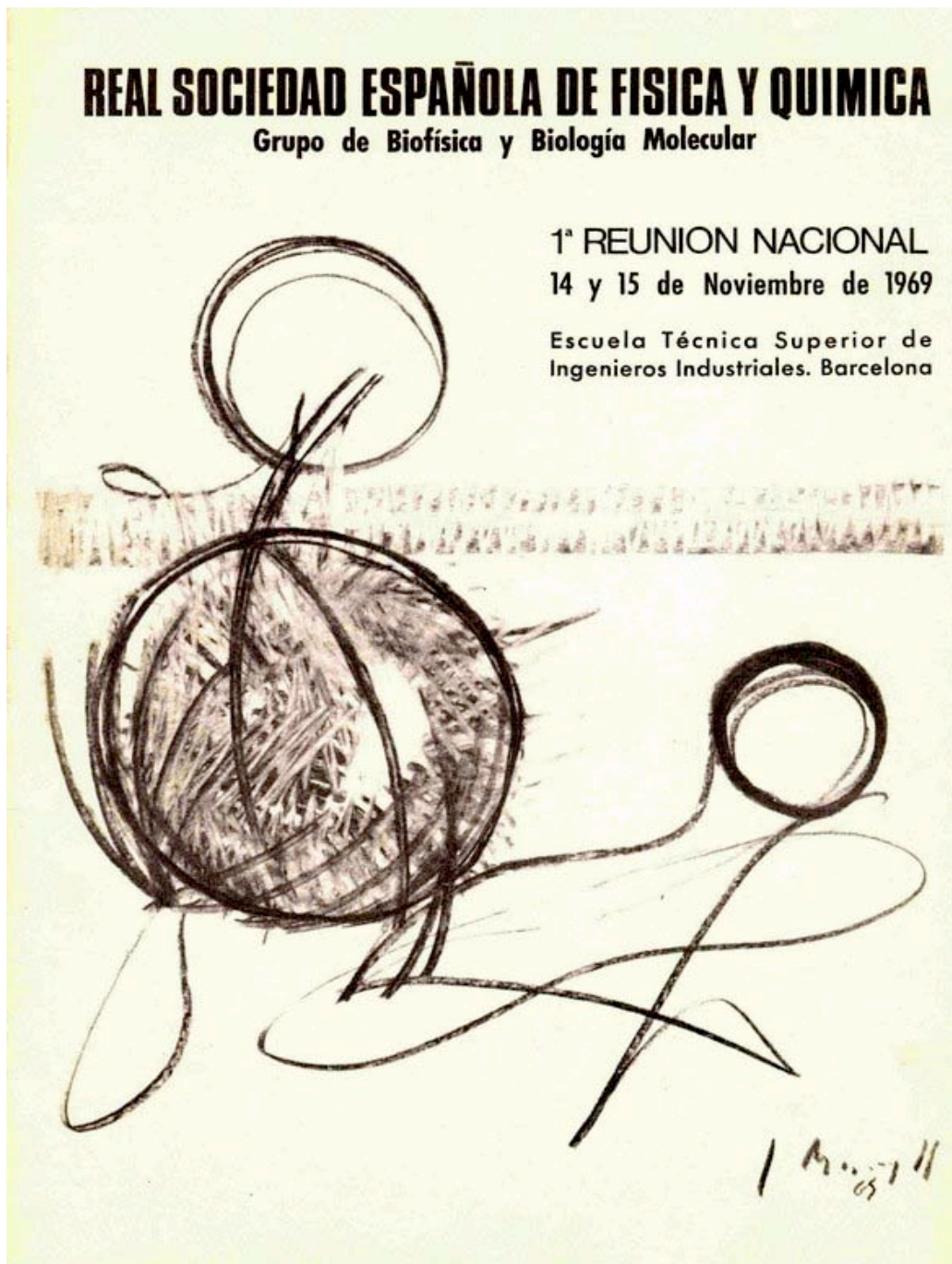


Figura 14 : Dibuix de Jordi Maragall i Mira per al programa de la primera Reunió Nacional de Biofísica y Biología Molecular, Barcelona, 14 i 15 de novembre de 1968 i portada de *Anales de Química*, vol. 65 (1969), 1169–1180. (Donació de Joan Antoni Subirana a l'autor)

REAL SOCIEDAD ESPAÑOLA DE FÍSICA Y QUÍMICA

Grupo de Biofísica y Biología Molecular

1.ª REUNION NACIONAL 14 y 15 de Noviembre de 1969

Escuela Técnica Superior de
Ingenieros Industriales. Barcelona

Viernes día 14

- 9,30 Apertura de la reunión.
9,45 Conferencia inaugural a cargo del Dr. J. I. Fernández-Alonso, Facultad de Ciencias, Universidad de Valencia.
"Estructura electrónica de los ácidos nucleicos".
11,00 Comunicaciones libres.
13,00 Recepción en la Facultad de Ciencias de la Universidad de Barcelona.
16,00 Symposium "Interacciones ADN-proteína".
Organizado por el Dr. J. A. Subirana, E.T.S.I.I., Barcelona.
Dr. M. Salas, Centro de Investigaciones Biológicas, Madrid.
"Proteínas asociadas con ADN en virus".
Dr. J. Palau, Centro de Genética Animal y Humana, Barcelona.
"Interacciones ADN-histona".
18,00 Comunicaciones relacionadas con el Symposium.

18,45

~~19,00~~ Discusión general sobre el Symposium.

gan
10:05

BIOFÍSICA de PROTEÍNAS.

Sábado día 15

- 10,30 Mesa redonda sobre "Biofísica y Biología Molecular en España", organizada por el Dr. J. Llopis, Instituto de Química Física "Rocasolano", Madrid.
12,00 Conferencia de clausura a cargo del Dr. W. B. Gratzer, King's College, Londres.
"Conformational factors in nucleoprotein interactions".
Sesión conjunta con la sección local de la Real Sociedad Española de Física y Química.
14,30 Almuerzo de despedida.

12,45

Presentación de comunicaciones

Los interesados en presentar comunicaciones (duración prevista, 10 minutos) deberán enviar un resumen de una extensión máxima de 20 líneas antes del 25 de octubre de 1969 a la dirección siguiente:

Dr. Juan A. Subirana.
Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales.
Av. Generalísimo Franco, 999 - BARCELONA-14.

Figura 15: programa de la primera Reunión Nacional de Biofísica y Biología Molecular, 14 i 15 de novembre de 1968, amb les modificacions anotades a mà per Lluís Cornudella. Arxiu de Lluís Cornudella

INTERNATIONAL UNION FOR PURE AND APPLIED BIOPHYSICS

COUNCIL:

A. KATCHALSKY (ISRAEL), PRESIDENT
J. KENDREW (ENGLAND), VICE-PRESIDENT
A. ENGSTRÖM (SWEDEN), HONORARY VICE-PRESIDENT
A. K. SOLOMON (U.S.A.), SECRETARY GENERAL
F. BUCHTHAL (DENMARK)
E. ERNST (HUNGARY)
G. FRANK (U.S.S.R.)
A. R. GOPAL-AYENGAR (INDIA)
R. D. KEYNES (ENGLAND)
P. G. KOSTYUK (U.S.S.R.)
M. KOTANI (JAPAN)
A. M. MONNIER (FRANCE)
W. A. ROSENBLITH (U.S.A.)
T. TEORELL (SWEDEN)
A. J. H. VENDRIK (NETHERLANDS)
R. C. WILLIAMS (U.S.A.)

OFFICE OF THE SECRETARY GENERAL

PROF. A. K. SOLOMON
BIOPHYSICAL LABORATORY
HARVARD MEDICAL SCHOOL
BOSTON 15, MASSACHUSETTS

April 9, 1969

Professor Juan A. Subirana
Escuela Cénica Superior
de Ingenieros Industriales
Catedra de Tecnologia Quimica Organiza
Barcelona - 14, Spain

Dear Professor Subirana:

The Third International Biophysics Congress will be held at the Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Massachusetts, U.S.A. on August 29 to September 3, 1969. At this time there will also be held the Fourth General Assembly of the International Union for Pure and Applied Biophysics and I am now gathering material to present to the General Assembly at its meeting. Since your letter of May 30, 1968 I have heard nothing further regarding Spain's adherence to IUPAB and I am wondering if there has been progress in this matter. I would greatly appreciate your informing me of any steps you may have taken and whether we may hope to consider Spain's adherence to IUPAB during the Fourth General Assembly.

Yours sincerely,

A. K. Solomon
A. K. Solomon

AKS:d

c.c. Dr. J. Dalau

Figura 16: Carta d'Arthur K. Solomon, secretari de la IUPAB, a Subirana, 9 d'abril de 1969, Harvard, Massachussets, sobre la possible incorporació d'Espanya a aquesta associació. Arxiu de Joan Antoni Subirana

J. J. Fernández-Alonso, Qualitative Chemistry of Nucleic Acids
 University of Salamanca
 J. R. Villanueva, Cell Walls of Yeast
 Spanish Research Council and Polytechnic Institute, Barcelona
 J. A. Subirana and J. Palau, Nucleosides and Nucleoproteins
 Prof. John C. Kendrew
 Peterhouse, St. John's College, Cambridge
 Cambridge, England
 Institute of Physical Chemistry, Spanish Research Council, Madrid
 Dear Dr. Kendrew:

It is already time that I write you, first of all to thank you for the interesting lecture which you gave in Barcelona. It was not only of extreme interest in itself for the audience, but it also helped to promote the interest of our academic authorities in the development of Molecular Biology.

During your stay, I mentioned to you our plans to set up a Residence to promote the visit of foreign professors and research workers, to be used at the same time as a convenient place to hold small meetings. Unfortunately, the institutions which were giving us economic support for this project have only offered part of the amount required. Therefore the situation of this project is uncertain, until we find a solution for the economic problem.

Dr. Maaløe has also asked me to send you a report on the Development of Molecular Biology in Spain. In a separate sheet I include the different groups presently working along these lines. It does not seem that there will be a substantial development in the next few years in this area in Spain. Our present government is most interested in creating a few new Universities and new teaching positions, rather than giving substantial support to new research endeavours. Of course, in this new Universities there will be groups of Molecular Biology, but it seems that they will be rather small, perhaps with the exception of the Universities of Madrid and Barcelona. In these new Universities there are plans to establish a department of Molecular Biology, but they are not yet definite.

I hope that you enjoyed your vacation in Spain and that you are ready for another one soon.... Best regards from Dr. Palau.

Very sincerely yours,

Juan A. Subirana

Figura 17: Carta de Subirana a John kendrew, de 10 de maig de 1969 al voltant dels grups espanyols dedicats a la biologia molecular. Arxiu de Joan Antoni Subirana

Laboratories conected with Molecular Biology in Spain

University of Valencia

J.I. Fernández-Alonso, Quantum Mechanics of Nucleic Acids.

University of Salamanca

J.R. Villanueva, Cell Walls of Yeast.

Spanish Research Council and Polytechnic Institute. Barcelona

J.A. Subirana and J. Palau, Histones and Nucleoproteins.

Junta de Energía Nuclear. Madrid

C. Dávila, Interaction of Nucleic Acids with ionizing radiation.

Institute of Physical Chemistry. Spanish Research Council. Madrid

J. Llopis, Physical Chemistry of Proteins, in particular of fibrin.

Centro de Investigaciones Biológicas. Madrid

D. Vázquez, Ribosome-Antibiotic interactions.

E. Viñuela and M. Salas, Virus Morphogenesis.

University of Navarra. Pamplona

E. Santiago, Structure of Mitochondria.

University of Madrid.

A. Martín-Municio, Biochemistry of Membranes.

May 1969

Note.- Other smaller groups are scattered in various Universities and research institutes.

Figura 18: Annex de la carta de Subirana a Kendrew, 10 de maig de 1969, on s'especifiquen els grups de recerca espanyols que treballen en biologia molecular a Espanya. Arxiu de Joan Antoni Subirana

Aplicación de las medidas de conductividad a la construcción de sistemas ternarios. Fenómeno de inversión.
Complejos del ión Fe(II) con vainillina y guayacol.
Estudios espectrofotométricos de los aductos Sn(II)-Sn(IV).

DEPARTAMENTO DE QUIMICA MACROMOLECULAR

(Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales. Av. José Antonio, 999. Barcelona)

Estudios químicos de proteínas nucleares básicas de espermatozoides de invertebrados.
Estudios químicos de proteínas nucleares básicas de espermatozoides de vertebrados.
Estudios del desarrollo de las proteínas nucleares básicas en la espermatogénesis.
Aislamiento y caracterización de las histonas totales y de fracciones de tejidos somáticos de diversos equinodermos.
Aislamiento y caracterización de las histonas totales de embriones y de fracciones de *A. lixula* en los estados mórula, blástula y gástrula.
Estudios de difracción de rayos X.
Estudios de desnaturalización de nucleoproteínas.
Estudio de interacciones ADN-histona por perfiles de fusión y viscosimetría.
Estudios físico-químicos: Interacciones de ADN con poliaminas.
Disoluciones de polielectrolitos.

SECCION DE QUIMICA INORGANICA

(Facultad de Ciencias. Universidad de La Laguna)

Trabajos sobre acción química de las descargas de alta frecuencia en disolventes no acuosos.
Derivados carboximetilicos de la cistina.
Combinaciones de cromo con ácidos carboxipiridínicos.
Espectrofotometría de complejos incoloros por el método de desplazamiento.
Preparación del ácido o-finilendiamino-diacético.
Preparación y estudio de las propiedades del ácido derivado de la acetilización de la cistina.

Figura 19: Pàgina 195 de la memòria del CSIC de 1970 on es citen les línies de recerca del Departament de Química Macromolecular, adscrit al Patronato Juan de la Cierva. Noti's la confusió en l'adreça del DQM que, realment, es trobava a la Diagonal, en aquells temps, oficialment, "Avenida del Generalísimo". CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (1970): "Memoria del año 1970". Madrid, CSIC.

Capítol 5

Histones: un objecte material de recerca

En aquest capítol es tractaran els inicis de la recerca del grup encapçalat per Subirana i Palau, així com les contribucions que van fer al camp dels estudis en l'estructura de la nucleohistona. Com s'ha anat veient en capítols anteriors, en els moments en que van plantejar-se la formació del seu grup de recerca, aquest camp es trobava en un moment clau en el que podien intervenir.

Però els seus projectes de recerca, en aquells moments, eren justament això: projectes. Com també s'ha vist, i per tal de poder dirigir els seus esforços cap a aquest camp, Palau va completar la seva formació postdoctoral a Londres, on va intervenir en tres treballs relacionats amb les histones, en col·laboració amb el grup de John Butler al Chester Beatty i de Maurice Wilkins al King's College. Paral·lelament, Subirana, d'acord amb Palau, anava donant forma al projecte, cercant finançament i també un lloc físic on dur-lo a terme. Finalment, l'any 1966, es va posar en marxa la Secció de Biopolímers, es van obtenir fons del programa extramurs dels NIH, així com un espai físic al departament de genètica de la Universitat de Barcelona i, posteriorment, el seu trasllat a l'Escola d'Enginyers.

Pel que fa a Palau, gràcies a un acord amb l'Hospital de Sant Pau de Barcelona, vinculat a la facultat de medicina de la UAB, es va posar en marxa l'Institut de Biologia Fonamental, la primera ubicació del qual va ser dins del seu recinte, a la coneguda com Casa de Convalescència. Entre aquest edifici i el restaurant de l'Hospital s'hi va construir un pavelló prefabricat, i els grups de recerca de l'IBF es van repartir entre els dos espais.²³⁷ En aquest context, Palau va establir la seva unitat de recerca en histones a la nova institució, per la qual cosa la col·laboració amb Subirana es va anar espaiant en el temps.

²³⁷ PONSÀ (2007) i entrevista de l'autor amb Josep Egozcue al seu domicili de Barcelona el dia 12 de desembre de 2002. No va ser fins l'any 1982 quan, essent ministre d'Educació Federico Mayor Zaragoza, es va posar la primera pedra de l'IBF al seu emplaçament definitiu a Bellaterra (PONSÀ, 2007). Actualment, el pavelló prefabricat que va acollir l'IBF és la biblioteca de l'hospital, on els malalts poden disposar de lectura.

L'estudi de la seva recerca en aquest camp durant els anys que abasta aquesta tesi, es durà a terme fent especial esment dels aspectes relacionats amb les tècniques desenvolupades durant aquells anys, les seves publicacions i les troballes que se'n van derivar, que van incloure aspectes relacionats amb la composició, funció, evolució i estructura de les histones. Així mateix, es destacarà la seva col·laboració amb altres grups de recerca amb els quals s'hi va establir una relació científica. En aquest punt, caldrà dedicar un espai a detallar quin era l'estat de la qüestió en els anys previs a la posada en marxa del seu grup.

5.1. L'estructura i organització del cromosoma. Estat de la qüestió

En aquells moments, mentre que l'estructura i propietats del DNA havien estat elucidades en alguns dels seus detalls al llarg de la dècada gràcies, entre d'altres, als treballs de Watson i Crick, la manera en que les histones i el DNA es combinaven entre si formant el complex de la nucleoproteïna, és a dir, el cromosoma, encara no s'havia resolt. L'any 1956, al simposi que havia tingut lloc a Baltimore dedicat a les bases químiques de l'herència, John Butler havia presentat una contribució al voltant d'aquesta qüestió. El problema era que amb els mètodes d'extracció que s'utilitzaven en aquells moments, s'obtenien fraccions de nucleoproteïna de diferent composició. Quin podia ser l'origen de les diferències? A data de 1956 no es podia extreure cap conclusió, donat que les tècniques emprades no permetien fer-ho amb garanties. Butler (1957) proposava que l'explicació d'aquestes diferències en les fraccions obtingudes haurien de tenir el seu origen en algun tipus d'agregació. Un problema afegit era la presència de proteïna residual, no histònica, de la qual es desconeixia seva naturalesa i funció.²³⁸

L'any 1959, al departament de química de Harvard, Paul Doty i els seus col·laboradors, a més de treballar en l'estructura del RNA i en els processos de desnaturalització i renaturalització del DNA, també ho van fer en el problema de

²³⁸ Vegeu la discussió posterior a la comunicació de Butler, especialment la contribució de Paul Doty a BENTLEY & GLASS (eds.) (1957).

l'estructura i organització del cromosoma. En cap cas es va tractar de qüestions simplement relacionades pel tipus de materials d'estudi utilitzats, sinó de problemes íntimament relacionats: es sabia que a les cèl·lules el DNA no es trobava lliure, sinó unit amb proteïnes, entre aquestes les histones, que conformaven una estructura més complexa que era el cromosoma.²³⁹ El treball de Zubay i Doty publicat al *Journal of Molecular Biology* l'any 1959 va permetre saber que la desoxi-ribonucleoproteïna (DNP) consistia en una mescla en iguals proporcions de DNA i proteïna, i que aquesta darrera es trobava distribuïda al llarg de les cadenes del DNA.

Mitjançant les tècniques utilitzades es va passar de tenir un cromosoma aïllat a tenir una preparació de DNA, derivada de la DNP. La qüestió era si es podria interpretar la DNP com un primer pas en la progressió des del DNA aïllat fins l'estructura del cromosoma. Una explicació alternativa consistiria en pensar que la DNP descrita fos estable al llarg de totes les etapes del procés d'aïllament i assumir que aquest complex existís com a tal dins l'estructura del cromosoma, si bé aquesta darrera conclusió quedava oberta a la seva comprovació mitjançant estudis de difracció de RX.

La hipòtesi de Zubay i Doty suggeria que una gran part del DNA del cromosoma es trobaria unit amb la histona formant un complex lineal. Aquestes unitats es situarien en llocs de l'estructura del cromosoma que contindria DNA associat amb la proteïna residual i hi hauria, doncs, dos tipus de DNP, una que implicaria la presència de histones i una altra a proteïnes no històniques.²⁴⁰

Els coneixements que s'anaven adquirint no eren el fruit només del treball d'un laboratori, sinó que l'autoria era clarament internacional.²⁴¹ Com s'ha estudiat en capítols anteriors, aquest espai va tenir una funció de legitimació. En el cas que s'està

²³⁹ ZUBAY & DOTY (1959)

²⁴⁰ Durant la dècada dels 1950s, els estudis al voltant de la nucleohistona havien quedat limitats principalment a Alfred Mirsky i Hans Ris l'any 1951 en estudiar cromosomes aïllats de timus de vedella, els quals contenien un 39% de DNA, en el cas del timus de vedella, 1% de RNA, 2% de lípids i el 58% restant, proteïna que va ser identificada com histona. Es va identificar també una proteïna residual, no histònica, que es trobava en baixes proporcions, de la qual es va pensar que no constituïria un component major del material investigat.

²⁴¹ En els moments en que s'estava fent aquesta recerca experimental a Harvard, Zubay es trobava treballant a la unitat de biofísica del King's College de Londres, que dirigia John Randall, i durant la seva estada es van publicar quatre treballs en relació amb l'estructura de la nucleohistona.

estudiant es va donar la col·laboració entre grups de química física del Regne Unit que havien desenvolupat un apropament estructural a l'estudi del cromosoma, fent ús principalment, però no exclusivament com també es veurà, de les tècniques de difracció de RX: el grup del King's College, dirigit per Wilkins i el grup de biofísica de Portsmouth, liderat per Edward M. Bradbury, en col·laboració amb el grup de química de Harvard, liderat per Paul Doty, que va desenvolupar un atac del problema des de la química de polímers, en combinació amb l'ús d'enzims, com el descrit per Grunberg-Manago i Ochoa l'any 1955.²⁴²

5.2. Les histones, a principis de la dècada dels 1960s

Durant la seva estada a Harvard, Subirana s'havia interessat en l'estructura de la nucleohistona, és a dir, l'associació entre el DNA i les proteïnes conegudes com histones. Els seus treballs en renaturalització del DNA l'havien portat a pensar en el paper que jugarien altres molècules en la producció de canvis estructurals en aquesta substància i, en aquest sentit, les histones potser hi jugarien un paper important. Entre el final d'aquesta etapa, l'estiu a Xile i la seva arribada a Rehovoth, Subirana havia anat madurant la idea de posar en marxa un laboratori dedicat a l'estudi de les macromolècules biològiques un cop haguessin tornat a Barcelona.²⁴³

Mentre Subirana era a Harvard, entre el 29 d'abril i 2 de maig de 1963, es va celebrar la *First World Conference on Histone Biology and Chemistry*, a *Rancho Grande*, Califòrnia. Aquesta trobada va ser coordinada per James Bonner, professor de la divisió de biologia de Caltech, i Paul Ts'o, del departament de ciències radiològiques de The Johns Hopkins University de Baltimore.²⁴⁴ Si bé Subirana no hi va assistir, va llegir-ne

²⁴² A finals del 1950s i principis dels 1960s, la biologia molecular es va constituir ella mateixa en un espai internacional, que va quedar definit com un continu de trobades de diversa envergadura i graus de in/formalitat, de col·laboració i de xarxes de correspondència entre els grups que hi treballaven. Vegeu ABIR-AM (1992b). Per més detalls al voltant d'Ochoa i dels seus treballs, vegeu SANTESMASES (2001b, 2002c, 2005).

²⁴³ JAS a JP, Mèxic, 30/5/63.

²⁴⁴ Aquesta conferència va rebre finançament de la Rockefeller Foundation i de la National Science Foundation. Per més detalls, BONNER (1980), pàg.46, Caltech, Oral History Project. http://resolver.caltech.edu/CaltechOH:OH_Bonner_.

una ressenya que els coordinadors de la trobada havien publicat a *Science*.²⁴⁵ Cap a finals del mateix any, quan ja s'havia traslladat a Israel, va posar a Palau en coneixement d'aquesta trobada. De l'anàlisi de la correspondència creuada en aquelles dates, se'n desprèn com els seus interessos de recerca i de futur es van dirigir cap a l'estudi de l'estructura de la nucleohistona.

Els treballs presentats a la conferència es van publicar en forma de llibre l'any següent. A la introducció es resumia quin era l'estat de la qüestió i es plantejaven tot un seguit de preguntes clau: quants tipus de histones hi havia i per què. Quina era la distribució dels diferents tipus entre les diferents molècules de DNA en un nucli i com i per què es donava aquesta distribució. Hi hauria una única estructura universal per a la nucleohistona i, si així fos, ¿per què? Com es sintetitzaven les histones i com es dipositaven al DNA?

Moltes de les contribucions van girar al voltant de qüestions enzimològiques, com per exemple quins serien els camins pels quals la interacció entre histones i DNA podria influir en la duplicació d'aquest i en la síntesi de RNA. Si bé durant la dècada dels 1950s s'havien estudiat les estructures i activitats d'una varietat d'òrgànuls citoplasmàtics, així com d'enzims, el nucli havia restat un repte per als biòlegs moleculars per la seva complexitat i per ser una estructura inexistent als materials biològics escollits fins llavors: els bacteris.²⁴⁶

Per conèixer el nombre i les característiques de les histones associades al DNA va ser necessari el desenvolupament de mètodes d'obtenció d'aquestes fraccions, tasca duta a terme per Ernest Johns, del grup de John Butler al Chester Beatty de

James Bonner s'havia doctorat Caltech, i els seus interessos en aquells moments es trobaven en el camp de la bioquímica i la biofísica, en les bases moleculars del creixement i el desenvolupament i en l'estudi del creixement vegetal. Ts'o, per la seva part, també s'havia doctorat a Caltech i en aquells moments era professor de química biofísica a Baltimore. Bonner hi va contribuir amb un capítol dedicat a aquestes proteïnes al volum de homenatge a Linus Pauling, editat per RICH & DAVIDSON (1968).

²⁴⁵ JAS a JP, Rehovoth, desembre de 1963. La referència és: BONNER & TS'O (1963). "Histone Biology and Chemistry". *Science*, vol. 141, Issue 3581, 593-656. Publicat el 16 d'agost de 1963.

²⁴⁶ De la introducció de BONNER I TS'O (1964).

Londres. Aquests treballs formaven part d'una sèrie d'articles del grup que van ser publicats al *Biochemical Journal* l'any 1964.²⁴⁷

L'aplicació d'aquestes tècniques va servir per mostrar que aquestes fraccions eren heterogènies. De fet, moltes de les fraccions que s'havien obtingut fins llavors consistien en mescles complexes de les que encara se'n sabia poc. A més, aquesta complexitat havia estat una barrera per a la resolució dels seus components discrets i, pel mateix motiu, per dur a terme estudis químics detallats d'aquestes proteïnes i per a la cerca de variacions en preparacions obtingudes a partir de diferents espècies i de tipus cel·lulars.

Malgrat les dificultats, s'havien fet investigacions que havien permès posar de manifest que aquestes proteïnes presentaven similituds, i també destacades diferències, la qual cosa feia essencial ampliar els estudis de fraccionament. Els mètodes basats en el fraccionament químic o la cromatografia en columna presentaven l'avantatge de la seva gran capacitat. Per altra banda, l'electroforesi, ja fos en gel de midó o en poliacrilamida oferia un alt grau de resolució i era un bon mètode analític, si bé la baixa capacitat dels gels limitava el seu ús en experiments preparatius. Fins que no es disposés de procediments preparatius útils en el sentit d'assolir una capacitat raonable, la separació d'una determinada fracció seria tediosa i les quantitats obtingudes, petites.²⁴⁸

Una segona qüestió que es va plantejar a la conferència va girar al voltant de quina seria l'estructura de la nucleohistona, de la qual se'n sabia poca cosa. En aquest sentit, Zubay i Richards van presentar els seus estudis basats en les tècniques de difracció de RX i de microscòpia electrònica.²⁴⁹ La resolució de l'estructura del DNA

²⁴⁷ JOHNS (1964) "Studies on Histones. 7. Preparative methods for histone fractions from calf thymus". *Biochem. J.*, 92, 55. Noti's que durant la conferència el treball de Johns es trobava en curs de publicació. Aquest va ser rebut a la revista el 29 de novembre de 1963; JOHNS, PHILLIPS, SIMSON & BUTLER (1960). "Improved Fractionations of Arginine-Rich Histones from Calf Thymus". *Biochem. J.* 77, 631. El treball havia estat rebut a la revista el dia 1 d'abril de 1960; JOHNS & BUTLER (1962). *Biochem. J.* 82, 15. "Further Fractionations of Histones from Calf Thymus". Treball rebut per publicació el 8 de juny de 1961.

²⁴⁸ Per més detalls, vegeu BONNER & TS'O (1964).

²⁴⁹ Els aspectes concrets d'aquesta qüestió van ser exposats a les conclusions de la conferència de Robert Sinsheimer (SINSHEIMER, 1964). Les col·laboracions de Zubay i Richards són: ZUBAY (1964); RICHARDS (1964).

mitjançant RX havia donat un gran ímpetus a aquest enfocament, ja que les semblances entre els patrons de difracció de RX obtinguts de DNA i de nucleohistona per Wilkins, Zubay i Wilson l'any 1962, semblaven demostrar que la configuració de la doble hèlix es mantenia a la nucleoproteïna.²⁵⁰

A les conclusions, Bonner i Ts'o van proposar el que era tota una agenda de recerca: quin seria l'estat natural de la histona i del DNA al nucli. Com es formaria el complex DNA-histona i com es dissociaria, i quin control exercirien les histones en la funció del DNA. Seria diferent el control que exercirien sobre la síntesi del DNA i del RNA? Les histones, donada la quantitat en que es presentaven, la seva localització exclusiva al nucli i la seva forta interacció amb el DNA, haurien de jugar un paper clau en l'organització del DNA en la superestructura del cromosoma i en la regulació de les propietats i funció d'aquest DNA. Per tal de descobrir aquestes funcions, aquesta interacció entre histones i DNA s'havia de situar en el marc de la biologia molecular.

A data de 1964, els cromosomes no s'havien pogut estudiar mitjançant els mètodes d'anàlisi estructurals. Per aquest motiu, semblava evident que la resposta a aquestes preguntes hauria de venir de la utilització de diferents línies de recerca pel que feia a instruments i tècniques, que hauria d'incloure tant les de la química física de macromolècules com les de la química clàssica de histones i les de la moderna biologia molecular (Bonner i Ts'o, 1964).

5.3. Definició i composició de les histones

A la mateixa trobada s'havia debatut la necessitat de definir les histones.²⁵¹ Es va acordar definir-les com "proteïnes bàsiques que, durant algun temps, es trobaven associades al DNA". Aquesta definició intentava resoldre problemes com el fet que les histones podien abandonar el DNA en alguns moments durant el cicle cel·lular, i que no podien confinar-se només al nucli, especialment durant la seva síntesi. A més, altres components cel·lulars com ara els ribosomes contenen proteïnes bàsiques, amb

²⁵⁰ WILKINS, ZUBAY & WILSON (1962). *J. Mol. Biol.*, 4, 50, 1962.

²⁵¹ Vegeu BONNER I TS'O (1964).

unes anàlisis d'aminoàcids semblants als que presentaven les histones. Si bé la definició proposada podia ser problemàtica donat el desconeixement que es tenia de les funcions d'aquestes proteïnes, calia donar-ne alguna, de treball, operativa. (Bonner i Ts'o, 1964).²⁵²

En aquells moments es començava a saber que les histones eren una família de proteïnes molt semblants a tots els organismes on s'havien estudiat i que podien ser classificades en cinc fraccions principals. La seva característica essencial era el seu elevat contingut en aminoàcids bàsics, superior al 20% en tots els casos: un de cada quatre aminoàcids era de tipus bàsic, lisina o arginina. Es podien resoldre mitjançant diverses tècniques de cromatografia en columna, i s'obtenia una sèrie característica de cinc components.²⁵³

Els mètodes de Johns es van publicar en un moment clau, i van permetre establir com a proposició general que tots els òrgans d'un determinat organisme tenien el mateix espectre de histones. Més sorprenent encara, tots els organismes presentaven histones remarcablement semblants. Tot plegat feia pensar que aquestes proteïnes haurien de desenvolupar una funció bàsica i important i que aquesta funció (o funcions) suposarien restriccions en les modificacions que aquestes poguessin patir en diferents organismes i que podien estar en relació amb processos evolutius (Bonner i Tuan, 1968).

²⁵² Les regles proposades per Johns es basaven en el total de grups nitrogen i carboni terminals que s'obtenien de les anàlisis d'aminoàcids de les histones que, en aquell moment estaven ben caracteritzades.

²⁵³ La primera es coneixia com histona f1, les dues segones com f2A i f2b, i les dues següents com histones f3 i f4. La histona de tipus 1 era rica en lisina (i també en alanina. Les de tipus 2 eren conegudes com les lleugerament riques en lisina. Les 3 i 4 eren les riques en arginina. Tant les 2 com les 3-4 eren pobres en prolina. Les seves dimensions eren semblants, excepte la f1. Reben aquestes denominacions en funció de l'aminoàcid bàsic que presentaven. Per més detalls, vegeu Johns (1971). Per detalls al voltant de la classificació de les histones, vegeu BONNER & TUAN (1968) i <http://www.worthington-biochem.com/H/default.html>. També, PHILLIPS (1971) i SUBIRANA (1985).

5.4. Els mètodes d'obtenció de les fraccions històniques. Les tècniques i els instruments emprats en la recerca

A continuació es descriuen els mètodes de Johns d'obtenció de les diferents fraccions (Figures 20 i 21).²⁵⁴ Per a l'obtenció de les histones totals de qualsevol teixit s'havia d'aïllar la desoxiribonucleoproteïna en un estat relativament pur. En molts casos, es tractava d'un procediment senzill consistent en trencar les membranes nuclear i citoplasmàtica, centrifugar el material i rentar-lo diverses vegades en solucions salines diluïdes. Un cop obtinguda la desoxiribonucleoproteïna, s'havia de procedir a l'eliminació de les proteïnes no històniques presents, mitjançant un rentat amb solucions salines de clorur de sodi. Posteriorment, es procedia a l'aïllament de les histones totals mitjançant dos mètodes possibles: extracció mitjançant àcid o bé mitjançant dissociació salina.²⁵⁵ Els mètodes, coneguts com I i II, eren de caire preparatiu i permetien la separació i obtenció en grans quantitats dels quatre grups de histones, sense entrar en processos posteriors de preparació i de subseqüent fraccionament de les histones completes.

Posteriorment, les fraccions obtingudes havien de ser estudiades mitjançant l'ús de tècniques diverses, de les quals es fa una breu descripció. Es va fer servir l'espectrofotometria, tècnica habitual als laboratoris, que consistia en la mesura de l'absorció o emissió de les radiacions electromagnètiques al passar a través d'una substància. L'aplicació més comuna era la de mesurar l'absorció de llum i els espectrofotòmetres més comuns es feien servir en les regions visible i UV de l'espectre. Quan s'aplicava a la regió dels UV, s'obtenien informacions al voltant de l'estructura de les molècules. També es van utilitzar les tècniques d'electroforesi, que permetien la separació de les proteïnes, així com un instrument, l'analitzador d'aminoàcids, que permetia conèixer quina era la seqüència de les diverses fraccions històniques obtingudes i procedir a la seva comparació. Un altre instrument utilitzat va ser el microscopi electrònic, que va permetre visualitzar la mida i l'ordenació de la

²⁵⁴ Vegeu JOHNS (1964)

²⁵⁵ Vegeu també JOHNS (1971).

nucleohistona als nuclis de les cèl·lules espermàtiques, i establir comparacions amb els vertebrats.

5.5. Un projecte de recerca en histones a Barcelona

L'any 1965, Subirana i Palau van obtenir l'ajuda econòmica dels NIH per al seu projecte *Characterization of Nuclear Proteins from Invertebrates* (Figura 22).²⁵⁶ El projecte s'inseria en el marc més ampli dels problemes generals relacionats amb la funció biològica de les histones que, a data de 1966, era confusa. En aquest sentit, Palau i Subirana suggerien que quan es disposés d'informació procedent d'altres fonts de nucleoproteïnes, la situació s'hauria de veure aclarida. La proposta presentada es desglossa en tres apartats que s'analitzen a continuació: el primer objectiu consistia en l'aïllament i caracterització de les proteïnes nuclears, especialment les histones, de diferents espècies d'invertebrats i teixits, així com l'estudi de la seva relació amb la ultraestructura i composició del DNA.

El segon consistia en l'aïllament d'histones de protozous i l'estudi de la seva relació amb la composició del DNA i amb l'estructura del nucli. Les proteïnes obtingudes haurien de ser caracteritzades segons la seva mobilitat electroforètica i la seva composició en aminoàcids, així com pel seu fraccionament mitjançant tècniques de cromatografia.

Un tercer objectiu, menys interessant segons Subirana, era l'aïllament i caracterització de les proteïnes de l'aparell mitòtic i, a suggeriment de Palau, es va incloure el treball en histones d'erions marins. En resum, es volien comparar els resultats obtinguts amb els ja coneguts d'altres histones.²⁵⁷

²⁵⁶ Tot seguit es descriuen els detalls de la petició, obtinguts del document de petició de finançament presentat per Subirana als NIH amb data 1 de juny de 1965, a partir de l'estudi d'aquesta font primària. Les quantitats rebudes van ser les següents: 1966: 12500 \$/735000 pts; 1967: 10400 \$/634000 pts; 1968: 9900 \$/693000 pts (en dolars USA corrents i els seus valors aproximats en pessetes constants de 1991). Aquesta documentació ha estat amablement posada a disposició de l'autor per Joan Antoni Subirana. Per més detalls vegeu SANTESMASES (1997d).

²⁵⁷ JAS a JP, Barcelona, 18-4-65, 5-5-65, 8-5-65.

En aquest punt és important distingir entre protamines i histones. Les protamines són les proteïnes associades al DNA als espermatozous d'invertebrats marins i, bàsicament, es caracteritzen pel seu alt contingut en l'aminoàcid arginina. Les histones són proteïnes associades al DNA que són presents als espermatozous d'aquests invertebrats, així com a les cèl·lules somàtiques de tots els organismes i es caracteritzen pel seu elevat contingut en aminoàcids bàsics.

L'estudi de les proteïnes nuclears dels espermatozous es justificava en les considerables diferències que presentaven segons les espècies. Interessava conèixer els tipus de proteïnes nuclears presents en una varietat d'organismes, quins tipus de histones presentaven, les característiques comunes i també les diferències. S'havien de comparar amb les obtingudes de timus de vedella, que fins aquells moments eren les úniques en les quals el fraccionament s'havia fet en detall i, per aquest motiu calia estudiar proteïnes nuclears d'altres fonts. Se sabia que les histones de les plantes presentaven diferències considerables en la seva composició d'aminoàcids, al temps que el nucli i els cromosomes no mostraven diferències essencials observables. A més, les nucleoproteïnes de l'esperma també presentaven diferències considerables entre espècies, per la qual cosa era d'interès cercar quin tipus de proteïnes nuclears hi havia en una àmplia varietat d'organismes, que va incloure els protozous, i es justificava en l'interès ja esmentat d'estudiar les histones pertanyents a una àmplia varietat de grups zoològics.

S'esperava que tot organisme tingués unes proteïnes nuclears amb funcions semblants, encara que la seva composició en aminoàcids i altres propietats presentessin diferències. En el cas dels espermatozous, era interessant aclarir per què proteïnes de composició tant diferent en peixos o eriçons, podien dur a terme funcions semblants. Un problema d'interès era relacionar la composició de les proteïnes amb la ultraestructura del nucli de l'esperma. En una fase preliminar, haurien de ser investigades les histones de diverses espècies, en particular aquelles que poguessin ser obtingudes com espècies químiques pures, sense contaminacions d'altres fraccions o per productes de degradació. Aquestes esdevindrien un material adequat per

estudiar amb tècniques físico-químiques la interacció entre el DNA i les proteïnes nuclears.²⁵⁸

Els objectius a llarg termini del projecte eren l'estudi de les interaccions físico-químiques entre el DNA i les histones, en un esforç per aclarir el paper estructural jugat pels diferents tipus d'aquestes proteïnes conegudes fins aquell moment. En cas d'obtenir resultats peculiars, en paraules de Palau i Subirana, els estudis s'haurien de dur a terme en espècies relacionades, per tal de determinar si les troballes es restringien a determinades espècies o eren aplicables de manera més general a un grup zoològic.²⁵⁹

El projecte de Palau i Subirana s'inseria en el marc més ampli dels estudis de l'estructura del cromosoma, així com en esbrinar quin era el paper biològic de les histones, en un moment en que es suggerien possibles funcions reguladores de l'activitat dels gens. De l'estudi de les proteïnes nuclears s'haurien d'obtenir informacions que poguessin aclarir les possibles funcions d'aquestes proteïnes en el cromosoma.

5.5.1. L'elecció dels materials d'estudi i els inicis de la recerca

La lectura de treballs de Maurice Wilkins de 1956 en esperma de salmó i de sípia, i els de R i E. Vendrelly de 1960 en equinoderms els van fer dirigir-se a l'estudi d'aquests organismes.²⁶⁰ Els precedents d'aquests són un treball de Wilkins de 1951 en el qual, mitjançant tècniques de difracció de RX, s'havien observat algunes

²⁵⁸ A data de presentació del projecte de Palau i Subirana, estudis d'aquests tipus havien presentat dificultats perquè totes les fraccions que es coneixien consistien en diverses espècies moleculars. Només les fraccions F2b i F2a2 de timus de vedella havien estat raonablement purificades.

²⁵⁹ Per detalls al voltant dels procediments tècnics proposats, vegeu la pàgina 4 del projecte presentat als NIH.

²⁶⁰ Entrevista de l'autor amb Joan Antoni Subirana, 19-02-03. El treball dels Vendrelly és: "Données biochimiques récentes sur la relation entre Acid Désoxyribonucléique et protéines basiques dans le noyau" *Biochemical Pharmacology*, 1960, vol 4, pp.19-28, citat a SUBIRANA, COZCOLLUELA, PALAU & UNZETA (1973). Vegeu també OLBY (1994).

semblances entre l'estructura del virus del mosaic del tabac cristal·litzat, els cromosomes espiralats i la forma helicoide d'alguns caps d'espermatozous.²⁶¹

Quasi tots els animals tenien unes proteïnes nuclears diferents en els seus espermatozous, protamines en lloc de histones, però els equinoderms i altres grups d'animals tenien histones, és a dir, les mateixes que hi havia al nucli somàtic, si bé amb petites diferències. Un altre avantatge era la simplicitat de l'organisme escollit, així com la seva disponibilitat, ja fos al Instituto de Investigaciones Pesqueras del CSIC a Barcelona, als mercats de la ciutat, al Port de Barcelona o pescant-los a la Costa Brava.²⁶²

Aquesta simplicitat facilitava el seu estudi: disposar de cèl·lules que continguessin els mínims components possibles i, entre ells, les proteïnes desitjades. Com que al nucli d'un espermatozou només hi havia DNA i histones, això els va convertir en organismes model en permetre extrapolar a altres, segons Subirana, els resultats obtinguts.²⁶³ L'eriçó de mar, per la seva banda, era un sistema experimental d'ús comú en biologia. Els seus ous, amb una llarga història dins de l'embriologia experimental, eren un material molt pràctic que podia ser obtingut en grans quantitats, es desenvolupava amb gran sincronia i era raonablement permeable a precursors marcats (Gross et al., 1964).

Mentre Palau era a Londres i Subirana estava pendent de marxar a Houston, el projecte de les histones d'equinoderms prenia forma:

“Creo que el trabajo con las histonas de la esperma de equinodermos deberá estructurarse así:

- Obtener aa [aminoàcids] de histonas totales y sus electroforesis.

²⁶¹ Treballs importants en cristal·lografia del TMV varen ser fets per Rosalind Franklin a partir de 1953, un cop havia deixat el King's per traslladar-se al Birkbeck College de Londres, amb Bernal. No va ser fins la dècada dels anys 1970s que van aparèixer uns pocs treballs limitats a l'estudi de protamines de peixos (OLBY, 1994). Es prestava, doncs, poca atenció a altres espècies que mostraven diferències considerables tant en grandària com en la seva composició en aminoàcids (SUBIRANA, COZCOLLUELA, PALAU & UNZETA, 1973; SUAUI i SUBIRANA, 1977). Si bé es va començar amb l'estudi d'eriçons i holotúries, després es va ampliar als mol·luscs.

²⁶² Vegeu SUBIRANA, COZCOLLUELA, PALAU & UNZETA (1973). Entrevista de l'autor amb Joan Antoni Subirana, 11-11-02.

²⁶³ Entrevista de l'autor amb Joan Antoni Subirana, 11-11-02 i 21-11-02.

- Si son iguals fer cromatografies de columna per aïslar una de elles, Arbacia seria la millor segurament, i analitzar cada fracció a fons. Fer lo mateix amb Mytilus, que és diferent.
- La ventura de Mytilus i Arbacia és que nos serà fàcil obtenir posteriorment embrions i teixit adult i comparar amb les histones d'aquests.

Los protozoos, creo que debemos dejarlos mientras no tengamos más colaboración, aunque no debemos perder el contacto con el problema".²⁶⁴

Un problema tècnic que els preocupava era com poder fer cultius cel·lulars de protozoos que els permetessin obtenir DNA en quantitats suficients i era per aquest motiu que Subirana proposava posposar-ho i concentrar-se en la separació i caracterització de les diverses fraccions d'organismes diferents.²⁶⁵

Des de Londres, Palau expressava la seva preocupació per la possibilitat de *overlapping* amb altres grups i per la incertesa citològica de si hi havia o no histones als organismes estudiats. Per Subirana, la qüestió del *overlapping* era prematura. Sobre la segona,

"En otra carta me hablas de evidencia citológica de si hay o no histonas. La verdad es que las pruebas citológicas son muy aleatorias y se han de mirar con mucha reserva, pues las tinciones se aplican a complejos de macromoléculas y es casi seguro que las histonas tiñen o no según sus acompañantes".²⁶⁶

Calia veure si hi havia diferències entre les histones dels eriçons, les estrelles de mar i les holotúries i també es van plantejar diferents mètodes de separació del

²⁶⁴ JAS a JP, Barcelona, 25-8-65. *Mytilus edulis* és el musclo comú, i es localitza a les costes catalanes. *Arbacia lixula* és l'eriçó de mar ja esmentat.

²⁶⁵ Hi havia un grup a al Departament de Química de la Universitat de Birmingham que s'hi dedicaven i que havien publicat un treball al *J. Protozool.* l'any 1963, i potser seria interessant que Palau els fes una visita per saber quin instrumental caldria per fer cultius de 50 a 100 litres de protozoos "con todos los truquitos que puedas averiguar. Esto no es urgente, pero hazlo a la primera ocasión que se te presente". Vegeu JAS a JP, Barcelona, 8-5-65, 15-5-65.

²⁶⁶ JAS a JP, Barcelona, 25-8-65. Sobre citoquímica de histones, vegeu SWIFT (1964) a BONNER & TS'O (1964).

DNA i les histones.²⁶⁷ La tasca de Subirana a Barcelona va ser la d'aïllar les histones d'esperma de musclo, així com en l'extracció de histones d'equinoderms com *Arbacia* (eriçó) i *Holothuria* (cogombre de mar):

“Lo que he aislado son las histonas de la esperma del mejillón (*Mytilus edulis*), pariente algo próximo del calamar (*Loligo*), descrito por Hamer. Te mandaré esto dentro de un par de días. Creo que en el primer paso interesa obtener histonas totales, por lo que no he aplicado el metodo de Johns (....) La esperma de mejillón es un material muy bueno para aislar flagelos puros, por lo que quizás valdria la pena hacerlo en relación con el tema de la mitosis. Ponte al corriente de lo que hace el grupo de Randall, Huxley etc. en el King's College sobre movilidad en general”.²⁶⁸

El 25 d'agost de 1965, Subirana va comunicar a Palau que, cap a finals d'estiu marxaria cap els EUA, a Houston, per a donar un curs de polímers i el curs de bioquímica de Joan Oró, en qualitat de professor associat.²⁶⁹ L'estada a Houston consistia en donar les classes d'Oró i preparar les oposicions a càtedra a l'Escola d'Enginyers. Però al mateix temps, el treball en histones seguia present en la seva correspondència amb Palau, a rel dels seus contactes amb el grup de Lubomir Hnilica, del departament de bioquímica de la mateixa universitat:²⁷⁰

²⁶⁷ JAS a JP, camí de Houston, 17-9-65; JAS a JP, Houston, 23-10-65.

²⁶⁸ JAS a JP, Barcelona, 2-6-65. Vegeu aquesta carta per detalls més concrets sobre tècniques. Cal recordar que els mètodes de Johns permetien obtenir separatament les diferents fraccions històniques, que no era l'objectiu de Subirana i Palau en aquells instants. Per altra banda, D. Hamer va descriure un procediment d'obtenció de histones de calamar, *Loligo*, l'any 1955, al *Biol. Bull.*, 108, 35. El grup de John Randall al King's College havia treballat des de 1964 estudiant l'aparell flagel·lar com a orgànul model per a l'estudi del creixement i la morfopoièsi. Es pretenia entendre aquests dos aspectes del desenvolupament en termes físico-químics, considerant la seva utilitat en l'estudi de sistemes biològics complexos, en contraposició a visions més reduccionistes, com ara els treballs en bacteriòfags. Vegeu RANDALL (1969). Per més detalls de Randall, vegeu WILKINS (1987) i DE CHADAREVIAN (2002).

²⁶⁹ 1965-66, segons consta al seu CV.

²⁷⁰ Hnilica i el seu grup varen contribuir a la obtenció de les cinc fraccions històniques al mateix temps que Johns. Varen col·laborar en el volum de revisió de Phillips de 1971. La seva contribució va consistir en la revisió de la biosíntesi de histones i el cicle cel·lular. Vegeu HNILICA et al. (1971).

“Por aquí voy manteniendo contacto con los histónicos y creo que podemos hacer algo interesante. No se si te habrás fijado que las histonas de *Astropecten* tienen la misma composición que las del timo. Imagino que las de erizo serán también semejantes, no tengo aquí los datos. Su estudio es muy interesante pues en el microscopio electrónico se ve que esta esperma está ordenada en fibras de 100 Ansgtroms de diámetro, mientras que en las de tipo protamina son fibras de 40 Ansgtroms, incluyendo los cefalópos (calamar) que tienen composición intermedia y que será interesante estudiar en una segunda etapa, así como el mejillón que también era distinto, pero no se como aparece en el microscopio electrónico. Será interesante buscarlo y podría ser un tema de tesis para biólogo (...). Una de las cosas que me animan de este tipo de investigación es que, exceptuando los análisis de aminoácidos, no se necesitan muchos fondos para hacer marchar el trabajo y es posible que podamos hacer cosas interesantes”.²⁷¹

“Desde luego, si Hnilica se dedica a las [histonas] del erizo, es una tontería competir, pero la impresión que me dió hace unas semanas es que habían obtenido algunas fracciones pero sin prestarle demasiada atención -> me enseñó todos los aa-análisis que había hecho y demás.(...) Creo que ahora lo más interesante sería ver si las fracciones del erizo (o de *Astropecten*) son iguales a las de timo. Tercer paso ver cómo son las proteínas nucleares de embriones y tejido adulto”.²⁷²

El fil conductor de la seva recerca en histones, mitjançant els organismes escollits com a objectes d'estudi, era el d'estudiar la seva semblança al llarg de la escala evolutiva, per tal d'intentar explicar la seva funció en l'estructura del cromosoma. En aquells moments es suposava que les histones s'unien a regions del DNA ben definides i també hi havia dades que suggerien que ho farien mitjançant unions electrostàtiques. Les dades s'havien obtingut d'estudis d'interaccions entre el DNA i les histones, tant en complexos naturals com artificials, i era d'interès examinar la seva reversibilitat per a esbrinar si aquestes eren específiques en algun aspecte, qüestió que formava part dels objectius a llarg termini del projecte presentat als NIH. Subirana va suggerir treballar-hi i es va procedir començant pels estudis de

²⁷¹ JAS a JP, Houston, 8-12-65. Els histònics de Houston són el grup de Hnilica.

²⁷² JAS a JP, Houston, 7-1-66.

caracterització d'aquestes proteïnes. Posteriorment en el temps es va iniciar el treball en DNA.²⁷³

5.6. De la Plaça de la Universitat a la Diagonal: de la Secció de Biopolímers al Departament de Química Macromolecular i el desenvolupament del programa de recerca

Un cop Subirana va tornar de Houston a Barcelona, es va posar en marxa el projecte de recerca finançat pels NIH. Com s'ha vist, mentre Palau encara era a Londres, havien anat fent una recerca prèvia que va portar a la publicació del seu primer treball conjunt, l'any 1966.²⁷⁴ Fins 1973 van publicar al voltant d'una vintena de treballs, ja en col·laboració, o des de l'Escola d'Enginyers i de l'IBF. Haver passat amb èxit l'avaluació d'un projecte d'investigació feta per científics dels EUA va ser una de les més valuoses cartes de presentació en plena època de consolidació professional de Palau, Subirana i el seu grup, com especialistes en una àrea de recerca que s'estava establint al país.

Durant l'any 1968 es va anar desenvolupant la fase preliminar del projecte, que va consistir en l'estudi de les histones de diverses espècies d'invertebrats marins, i va portar a la publicació de tres treballs en aquesta línia (Figura 23). Es va treballar principalment amb el mol·lusc *Mytilus*, el musclo, donades les diferències que presentaven les seves histones respecte de les del timus de vedella, cosa que no succeïa als equinoderms.²⁷⁵

²⁷³ JAS a JP, Houston, 30-1-66. Per més detalls al voltant d'aquests aspectes, vegeu FREDERICQ (1971).

²⁷⁴ PALAU & SUBIRANA (1966). No es fa esment del finançament rebut.

²⁷⁵ COZCOLLUELA & SUBIRANA (1968). A ressaltar que aquest treball ja va comptar amb el suport dels NIH que els va ser concedit del 1966 al 1968: grant GM 13645. GRAELLS & SUBIRANA (1968). No es fa esment de finançament. Carme Graells va treballar amb el grup durant una temporada, però no va fer tesi doctoral. En aquest treball la utilització del microscopi electrònic de la universitat de Barcelona, servei que dirigia Lluís Vallmitjana, del que es parlarà més endavant. SUBIRANA & PALAU (1968). Parcialment finançat pel "Public Health Service grant GM-13645, from the Department of Health, Education and Welfare, USA". El treball en en *Mytilus* ja havia Ja era a la primera publicació conjunta de Palau i Subirana, on s'havia utilitzat com objecte d'estudi. Vegeu PALAU & SUBIRANA (1966).

En paral·lel amb aquests treballs, també es va fer un estudi comparatiu les proteïnes dels flagels de l'esperma de l'eriçó de mar i d'ous no fertilitzats de la mateixa espècie, fent ús del microscopi electrònic. L'estudi de les histones de l'eriçó de mar va permetre la seva comparació amb les dels vertebrats per tal de donar alguna clau que expliqués l'empaquetament de la nucleoproteïna dins del nucli de l'esperma o explicar la seva inactivitat metabòlica. Palau i Subirana, en col·laboració amb Carmen Cozcolluela, Montserrat Pladellorens i Adolfo Ruiz-carrillo, van estudiar el comportament i l'especificitat d'aquestes proteïnes nuclears en diverses espècies d'equinoderms en relació amb l'evolució d'aquestes molècules. Un dels materials d'estudi més interessant en aquest sentit va ser l'equinoderm *Holothuria tubulosa*.²⁷⁶

Aquests estudis van incloure tant la caracterització de les seves proteïnes nuclears com l'estudi de la seva espermatogènesi, donada la simplicitat del procés en aquest organisme. En els animals, durant aquest procés, el nucli cel·lular pateix un procés de condensació que finalitza en l'espermatozou i aquesta condensació nuclear és produïda per canvis en les proteïnes que interaccionen amb el DNA. Durant l'espermatogènesi d'aquests organismes, les proteïnes somàtiques desapareixen totalment, alhora que apareixen les proteïnes típiques de l'esperma, però els altres equinoderms i mol·luscs presentaven situacions intermèdies. La presència de protamines en alguns peixos i mol·luscs era un cas de convergència evolutiva molt notable que portava a pensar en quina podia ser la funció biològica de les proteïnes de l'esperma, qüestió ja havia estat tractada per David Bloch l'any 1969, i que era represa per Palau i Subirana.²⁷⁷

Bloch suggeria cinc possibles funcions per a les histones: condensació del nucli per tal d'aconseguir una eficàcia hidrodinàmica més gran; inhibició de la transcripció; protecció, terme no gaire ben definit; manteniment dels nuclis de la línia germinal en

²⁷⁶ SUBIRANA (1970a); SUBIRANA, PALAU, PLADELLORENS, COZCOLLUELA i RUIZ-CARRILLO (1970); SUBIRANA, PALAU, COZCOLLUELA & RUIZ-CARRILLO (1970), finançat parcialment pels NIH; PLADELLORENS & SUBIRANA (1970); SUBIRANA (1970b).

²⁷⁷ BLOCH, DAVID P. (1969). "A Catalog of Sperm Histones". *Genetics*, Supl. I. 61-93. Aquest treball de Bloch es troba a la bibliografia de diversos treballs del grup de Subirana i Palau. L'explicació del procés de l'espermogènesi ha estat elaborada a partir del treball de revisió de DABAN, CÀCERES, SAPERAS, GADELL i CHIVA (1991).

un estat totipotent a fi de permetre la diferenciació cel·lular; influència sobre el desenvolupament de l'embrió.²⁷⁸

Si els organismes estudiats pertanyien a la mateixa classe, les proteïnes eren molt semblants. Però si s'establí una comparació entre diferents classes d'equinoderms, era llavors quan apareixien les diferències. Un estudi més detallat va permetre saber que aquestes proteïnes presentaven una gran variabilitat i va portar a classificar-les en tres grups. En primer lloc, les protamines, amb un alt contingut en arginina. En segon lloc, les proteïnes semblants a les histones, *histone-like*, amb una composició química similar a les histones totals de timus de vedella. En tercer lloc, les que presentaven unes característiques a mig camí entre les histones i les protamines, amb una alta proporció d'arginina i lisina i proporcions significatives de tots els aminoàcids. Les protamines havien estat localitzades als peixos, les semblants a histones, a equinoderms i peixos i les de tipus intermedi, als mol·luscs i al gall.

Ara bé, la situació es complicava pel fet que moltes espècies presentaven alguns components proteics amb característiques diferents. Un exemple era el músculo, un dels tipus definits per Bloch, on es trobaven dos components minoritaris que no apareixien en cap altra espècie relacionada. Una complicació addicional era que les protamines es podien trobar a la frontera dels tipus suggerits. Des d'un punt de vista químic, les principals proteïnes bàsiques presents als espermatozous, que pertanyien als tres primers tipus suggerits, presentaven característiques comunes, podien estudiar-se conjuntament i denominar-se protamines.²⁷⁹

Van ser totes aquestes diferències les que els van portar a Subirana i a la seva col·laboradora Montserrat Pladellorens a estudiar amb més detall l'espermatogènesi

²⁷⁸ Bloch també va proposar quins serien els tipus de proteïnes associades al DNA als espermatozous. Se'n reconeixien cinc tipus importants, que van ser classificats per criteris citoquímics, sense que en principi existissin relacions filogenètiques entre ells. Aquests tipus, segons Bloch, serien: protamines típiques, en les quals hi predominava l'arginina; de tipus músculo, contenint arginina i lisina; protamines que contenien cisteïna; histones; absència de proteïnes nuclears. Des que es va establir aquesta classificació, es va dur a terme un treball important en quant a la caracterització detallada d'algunes de les proteïnes que pertanyien a cada tipus i es va concloure que la classificació suggerida per Bloch era essencialment correcta. Des de llavors no s'ha descrit cap altra proteïna que (no) pugui ser inclosa en aquesta classificació. Vegeu SUBIRANA (1985).

²⁷⁹ Vegeu SUBIRANA (1985).

d'aquest organisme i amb aquesta finalitat es va estudiar el desenvolupament de les gònades masculines mitjançant tècniques de microscòpia electrònica. Les imatges obtingudes els van permetre saber si les extraccions de nuclis aïllats contenien o no impureses relacionades amb el mètode utilitzat per a la seva obtenció.²⁸⁰

Els seus treballs els van permetre saber que hi havia una variabilitat considerable en les proteïnes de l'esperma. De fet, es podia establir una gradació en el seu grau d'especialització. En un extrem es trobaria el cas més simple que seria el de *Holothuria*, organisme en el qual els canvis que es produïen en espermatogènesi eren limitats. En l'altre extrem es podien situar els peixos i alguns altres vertebrats, juntament amb els mol·luscs cefalòpodes i, possiblement, els gasteròpodes. En aquest sentit, l'estudi detallat de les proteïnes d'*Holothuria* ofería un interès especial ja que les transformacions produïdes durant l'espermatogènesi semblaven mínimes i podien donar la clau del seu significat biològic. Finalment calia pensar en quin seria l'origen genètic d'aquestes proteïnes de l'esperma. Ja l'any 1968, Palau i Subirana havien discutit el possible paper que jugarien dos grups diferents de gens en aquest procés, en el sentit que les histones somàtiques i les proteïnes semblants a histones de l'esperma fossin codificades respectivament per aquests.²⁸¹

L'any 1969, de manera independent, els grups de Koichi Iwai al Japó i de Hnilica a Houston, van elucidar completament la seqüència d'aminoàcids del component f2b de les histones, que era pràcticament idèntic tant al pèsol com a la vedella.²⁸² Això va permetre suggerir un altre possible origen per a aquestes proteïnes, que va fer pensar en la possibilitat que algunes proteïnes de l'esperma s'haguessin originat per la ruptura de components somàtics, la qual cosa podria tenir lloc al nivell del gen o per un procés metabòlic mitjançant un enzim específic. Aquestes possibilitats mereixien ser estudiades i era un dels objectius del laboratori en aquells moments.²⁸³

²⁸⁰ L'ús del microscopi electrònic com a tècnica complementària, va ser possible gràcies al Servei de Microscòpia Electrònica de la Universitat de Barcelona, que dirigia Lluís Vallmitjana.

²⁸¹ SUBIRANA i PALAU (1968).

²⁸² Vegeu la contribució de Phillips al volum dedicat als estudis de la nucleohistona del que en va ser l'editor l'any 1971: PHILLIPS (1971).

²⁸³ En aquest punt és important esmentar alguns aspectes de tipus tècnic en referència a aquests treballs, com va ser el desenvolupament per Palau i Adolfo Ruiz-Carrillo d'una tècnica d'electroforesi en gel de poliàcrilamida en tubs verticals. El mètode havia estat descrit en treballs

A partir dels estudis de Subirana i Pladellorens fets en *Holothuria*, es va mostrar que tots els components de les histones somàtiques semblaven conservar-se durant el procés de l'espermatogènesi i només un nou component, minoritari i semblant a les protamines, *protamine-like*, apareixia quan el procés s'iniciava. Semblava interessant comparar aquests resultats bioquímics amb els canvis en la ultraestructura del nucli cel·lular durant la diferenciació.²⁸⁴

El problema de fons seguia essent que no se sabia com es trobava organitzada la nucleohistona.²⁸⁵ S'assumia que quan les histones interactuaven amb el DNA, la seva conformació depenia de la seqüència de bases del DNA. Restava pendent conèixer quina seria la funció d'aquestes histones sobre l'estructura i el funcionament del material genètic i com aquest funcionament influiria en la conformació d'aquestes proteïnes. Aquests canvis haurien de proporcionar pistes al voltant de l'activació i repressió selectiva dels gens. Segons V. G. Allfrey (1971), la química de les histones podia enfocar-se en aquest sentit, ja que hi havia evidència de l'acció d'aquestes proteïnes en mecanismes de control genètic si bé era poc probable que fossin les principals responsables del control de la transcripció als cromosomes de diferents teixits.

L'interès de Subirana per aquesta qüestió es va fer palès en un treball que va presentar al *FEBS Symposium* de 1970 on, basant-se en les idees d'altres investigadors, suggeria tres possibles mecanismes que es podrien produir al llarg del procés, de manera simultània.²⁸⁶ En primer lloc, que la conformació de la doble hèlix del DNA no fos alterada i que les histones assolissin una distribució i conformació que

anteriors. Si bé el mètode tenia poca resolució, els va permetre separar fraccions que fins aquells moments presentava dificultats: la fracció f2a de la f3. Vegeu PALAU, RUIZ-CARRILLO i SUBIRANA (1969).

²⁸⁴ PLADELLORENS & SUBIRANA (1970). Montserrat Pladellorens ja havia col·laborat en diverses publicacions del grup, des del servei de microscòpia electrònica de la Universitat de Barcelona, que dirigia Lluís Vallmitjana, com ara al treball presentat a la Societat Catalana de Biologia i en les fotografies de microscòpia electrònica del treball de Subirana a *Experimental Cell Research* del mateix any. El contingut d'aquesta comunicació va formar part de la seva tesi doctoral. El títol de la tesi doctoral de Pladellorens era: "Estudios citoquímicos y ultraestructurales de la espermatogénesis", llegida l'any 1972a la facultat de biologia de la Universitat de Barcelona. La comunicació encara ve signada com Sección de Biopolímeros, CSIC.

²⁸⁵ Vegeu BONNER & TUAN (1968) i SUBIRANA (1985).

²⁸⁶ SUBIRANA (1970b).

depengués de la seqüència de bases del DNA. En segon lloc, que l'estructura secundària del DNA canviés sota la influència de les histones. En tercer lloc, que l'estructura terciària del DNA fos alterada per les histones.²⁸⁷ S'havien fet observacions que suggerien que el DNA era capaç de canviar la seva estructura secundària, però excepció feta de les transicions que s'havien trobat en fibres, no es sabia quins canvis de conformació es produïen. Si es mantenien els aparellaments de Watson i Crick, només hi havia un nombre limitat de conformacions possibles des del punt de vista estereoquímic.

L'estructura secundària del DNA és la que deriva dels estudis de fibres mitjançant tècniques de difracció de RX, és a dir, la que es correspon amb el model de Watson i Crick o, més exactament, amb les formes A i B d'aquesta molècula. El DNA presenta una gran rigidesa, per la qual cosa la seva estructura terciària vindria condicionada per les possibilitats de la doble hèlix d'assolir configuracions més complexes. Cal pensar que haguessin estat tots aquests coneixements sobre l'estructura del DNA els que portessin a Subirana a expressar el seu pensament al voltant d'aquesta qüestió al *FEBS Symposium* de 1970.²⁸⁸

5.7. L'experimentació en histones al Departament de Química Macromolecular: problemes i tècniques

Els estudis més prometedors per buscar histones significativament diferents eren els que tenien com objecte d'estudi les espècies més primitives. La major part dels que s'havien fet fins llavors ho havien estat en organismes que, generalment, eren considerats *superiors* com ara mamífers, peixos ossis i plantes superiors. El grup de Palau i Subirana ja havia mostrat les diferències significatives trobades en la

²⁸⁷ La primera possibilitat havia estat suggerida per MURRAY (1969): "Stepwise removal of histones from native deoxyribonucleoprotein by titration with acid at low temperature and some properties of the resulting partial nucleoproteins". *J Mol Biol.* 39(1):125-144. La segona per BONNER & TUAN (1968) i la tercera, per Alfred Gierer l'any 1967.

²⁸⁸ El mateix any 1970, Subirana va publicar un treball de caire teòric al voltant del moviment hidrodinàmic de les amebes: SUBIRANA (1970c).

composició en aminoàcids i en la mobilitat electroforètica quan es comparaven equinoderms, mol·luscs i vedella.²⁸⁹

Es va suggerir la possibilitat que les diferències es trobessin restringides a una part de la molècula i que la resta d'aquesta fos comuna en estructura i funció a altres fraccions del mateix tipus. Calia saber si les histones presentaven restriccions en les variacions de la seva seqüència d'aminoàcids i poder determinar la distribució d'aquestes al llarg de la cadena polipeptídica en el cas d'obtenir prou quantitats de teixits.²⁹⁰

L'estudi de l'estructura de la nucleohistona seguia essent un dels problemes pendents de resolució. Calia entendre com s'organitzaven aquestes fraccions proteiques ja caracteritzades amb el DNA, la qual cosa va portar a la proposició de models en aquest sentit (Figura 24).²⁹¹

5.7.1. Del *supercoiling* al nucleosoma

El model de la súperhèlix o *supercoiling* havia estat proposat per primer cop per Pardon, Wilkins i Richards l'any 1967, com ja s'ha dit. Els resultats obtinguts dels estudis de fibres de nucleohistona de timus de vedella mitjançant tècniques de

²⁸⁹ És el cas de la fracció f1. Vegeu SUBIRANA, PALAU, COZCOLLUELA & RUIZ-CARRILLO (1970). Altres autors havien mostrat variacions apreciables en la mobilitat electroforètica de la mateixa fracció quan es comparaven insectes, amfibis i vertebrats superiors, que es relacionaven amb diferències estructurals.

²⁹⁰ SUBIRANA (1970a). Apart de l'estudi de les fraccions històniques, i com també s'ha anat veient, els interessos del grup també passaven per l'estudi dels processos espermatogènisis. Es va estudiar la fosforilació que patien els components semblants a histona durant l'espermatogènisis a l'eriçó de mar en un treball que Subirana i Mercedes Unzeta van publicar a *FEBS Letters*, el mateix any 1972. Mercedes Unzeta va ser la tercera estudiant de doctorat de Subirana i va llegir la seva tesi l'any 1973 amb el títol de "Caracterización de las proteínas nucleares de esperma de invertebrados marinos". El treball és SUBIRANA & UNZETA (1972), amb finançament del Population Council i de la Junta de Energía Nuclear.

²⁹¹ Subirana va publicar un treball al voltant de la desnaturalització tèrmica de les histones i el seu significat biològic l'any 1973 i constituïa la continuació i conclusió d'un de preliminar de l'any 1970, que havia consistit en la preparació i desnaturalització tèrmica de la desoxiribonucleoproteïna de l'eriçó de mar i, concretament, de la purificació dels nuclis per tal d'eliminar la presència de proteïnes no històniques. Les tècniques emprades per a la preparació dels materials varen ser les habituals. SUBIRANA (1970d). Treball finançat parcialment pels NIH, grant GM-13645; SUBIRANA (1973). Treball finançat amb el grant del Population Council.

difracció de RX els va portar a suggerir que aquesta presentava un empaquetament repetitiu.²⁹² Posteriorment, aquest model havia estat qüestionat i cal situar el treball de Subirana en aquest context. Per a entendre el comportament de la nucleohistona, calia estudiar la migració que patien les histones, que estaria relacionada amb els processos de transcripció i replicació del DNA i es suggeria discutir la rellevància dels resultats per a l'enteniment de la condensació de la cromatina durant l'espermatogènesi.

La hipòtesi que les histones fossin la causa que el DNA s'enrotllés en una superestructura havia estat proposada, com s'ha dit, a partir de la interpretació dels estudis de difracció de RX en fibres, però també de les imatges obtingudes pel microscopi electrònic que revelaven una estructura secundària per a la doble hèlix del DNA en la cromatina. En aquells moments, la manca de definició dels patrons de RX no permetien deduccions més detallades i es depenia d'evidències indirectes obtingudes d'estudis físico-químics com per exemple les possibilitats d'organització de les histones a les molècules de DNA i la formació i naturalesa dels enllaços entre ambdós (Fredericq, 1971).

Tots aquests treballs, tant els de difracció de RX com els estudis de la desnaturalització tèrmica fets per Subirana, admetien de manera implícita que la nucleohistona era una estructura contínua en la que les histones es trobaven distribuïdes uniformement al llarg del DNA. A data de 1971, la gran tendència a agregar-se observada en les histones feia pensar que aquest procés donava lloc a un eix proteic damunt del qual s'enrotllava regularment el DNA, si bé aquesta hipòtesi va ser qüestionada quan, l'any 1971, es va demostrar que aproximadament cada 200 parelles de bases hi havia zones del DNA amb poca cobertura histònica.²⁹³ Un any més tard, el 1972, es va demostrar que l'estructura de la nucleohistona era discontinua, amb la qual cosa es van modificar considerablement els conceptes aplicats al seu estudi.²⁹⁴

²⁹² PARDON, WILKINS & RICHARDS (1967).

²⁹³ Experiments de CLARK & FELSENFELD (1971). *Nature New Biology*, 229, 101.

²⁹⁴ El mateix any 1972 es van estudiar les partícules resistents a la desnaturalització que s'obtenien a partir de la cromatina i es va concloure que presentaven una mida molt uniforme.

Simultàniament, altres investigadors, mitjançant tècniques de microscòpia electrònica, van observar que la cromatina apareixia com un *collar de perles*. També es va descobrir que aquesta podia degradar-se mitjançant una nucleasa endògena, donant lloc a fragments de DNA d'una mida definida, de forma que els fragments grans eren múltiples dels de mida menor.²⁹⁵ A partir de totes aquestes dades i d'un estudi detallat de l'agregació de les histones, Roger Kornberg va proposar, l'any 1974, el nom de *nucleosoma* per a aquesta partícula de mida menor.²⁹⁶

Així doncs, durant el període 1973–1974, va canviar radicalment la idea que es tenia sobre l'estructura de la cromatina. A més, l'any 1975, durant la celebració del *CIBA Symposium* al voltant de l'estructura i funció de la cromatina, i com a resultat de les discussions que es van produir, Bradbury va proposar la nova nomenclatura, que substituïria la clàssica establerta per Johns i Butler l'any 1962, per la qual la “f” era substituïda per “h”, que va ser sotmesa a l'aprovació de la IUPAC.²⁹⁷

5.8. Estructura i evolució de les histones

Paral·lelament als estudis estructurals i de caracterització de les fraccions històniques, també es va prestar atenció a aspectes de caire evolutiu. L'estabilitat que presentaven les histones pel que feia a la seva composició era considerada com un indicador de que la seva funció, encara no clarament establerta en aquells moments, es donaria d'una manera molt definida en la cèl·lula, pel fet que aquestes proteïnes no

RILL & VAN HOLDE(1973). *J. Biol. Chem.*, 248, 1080–1083.

²⁹⁵ HEWISH & BURGOYNE (1973). *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 52, 504.

²⁹⁶ KORNBERG (1974). *Science*, 184, 868. La unitat repetitiva de la cromatina seria un fragment d'unes dues-centes parelles de bases al qual es trobarien unides nou molècules de histona, dues de cada classe, excepte de la h1 (antiga f1), de la qual n'hi hauria dues. Les unions esmentades entre el DNA i les histones de tipus electrostàtic, hidrofòbiques o ponts d'hidrogen, depenent de l'aminoàcid del que es tracti. Informació obtinguda de SUBIRANA (1985).

²⁹⁷ La nomenclatura clàssica és a JOHNS & BUTLER (1962). “Further Fractionations of Histones from Calf Thymus”. *Biochem. J.*, 82, 15. La nomenclatura moderna és a BRADBURY (1975). “Histone Nomenclature” a *The Structure and Function of Chromatine*, FITZSIMMONS & WOLSTENHOLD (eds), CIBA Foundation Symposium, 28, Amer. Elsevier, NY, 4. Com es veurà més endavant, el grup del DQM va presentar un treball de difracció de RX a aquesta reunió. La informació referida a la discussió de la nova nomenclatura em va ser proporcionada per Joan Antoni Subirana, durant una conversa mantinguda al seu despatx el dia 5 de març de 2007.

toleraven canvis en la seva composició en aminoàcids. Tampoc no es coneixien quins podrien ser els canvis tolerables per les diferents fraccions històniques en diferents organismes, ja que s'havien fet pocs estudis en aquest sentit.

A principis de la dècada dels 1970s, a la vista de les semblances generals en la composició, localització i en relació amb la seva funció al nucli de la cèl·lula, semblava clar que moltes, sinó totes les fraccions, tindrien un origen evolutiu comú en algun polipèptid més primitiu i la confirmació d'aquesta idea hauria de venir d'un estudi comparatiu de les seqüències d'aquestes proteïnes (Johns, 1971; Phillips, 1971).²⁹⁸

La qüestió de la diferenciació de les histones al llarg de l'evolució havia estat sempre present en els interessos de recerca de Subirana i Palau i es va seguir treballant en aquesta línia i amb els materials d'estudi habituals.²⁹⁹ L'any 1973, des de Barcelona, Subirana, Palau i els seus col·laboradors van publicar un treball al voltant de la caracterització de les protamines i altres proteïnes bàsiques dels espermatozous dels mol·luscs, en el qual es va proposar un patró evolutiu d'aquestes proteïnes. Aquest treball ha ser considerat com un producte dels objectius del projecte presentat als NIH (Figura 25).³⁰⁰

Fins llavors, els estudis de les protamines presents als espermatozous s'havien restringit a algunes espècies de peixos, però poc abans de la publicació d'aquest treball, la situació estava canviant. Tot i que les protamines havien estat estudiades durant quasi un segle, es coneixien poques seqüències d'aquestes proteïnes. La simplicitat de la seva composició en aminoàcids, la seva mida i la seva estructura va portar a classificar-les com proteïnes primitives, més que les histones. Per aquesta raó, un aspecte important de les seqüències de les protamines era que podien donar

²⁹⁸ Els primers intents de fraccionar protamines havien inclòs, entre d'altres, mètodes de distribució contracorrent, electroforesi en solució lliure, diferències de solubilitat, cromatografia en paper i, potser el de més èxit, la cromatografia en columna d'alúmina. L'any 1961, fent servir aquest tipus de cromatografia, es va separar la cupleina en dues fraccions. Vegeu ANDO & WATANABE (1969). *Int. J. Protein Res.* 1, 221.

²⁹⁹ El treball esmentat és SUBIRANA (1970b), presentat al FEBS Symposium de 1970.

³⁰⁰ SUBIRANA, COZCOLLUELA, PALAU i UNZETA (1973). Ja l'any 1969, havien publicat un treball que s'hi troba relacionat: PALAU, RUIZ-CARRILLO i SUBIRANA (1969). Aquest havia estat un dels pocs treballs dedicats a l'estudi dels espermatozous d'equionoderms. En aquest sentit, la publicació de 1973 el completava. Aquest nou treball va ser finançat pel grant del Population Council.

claus importants al voltant de l'estructura i evolució de les histones i la nucleohistona.³⁰¹

Com que s'acceptava que les proteïnes haurien evolucionat pel canvi de certs aminoàcids de les seves seqüències i també a partir de proteïnes més curtes i menys complexes, era millor examinar les histones per trobar evidències d'aquests canvis. Això es podia fer trencant una seqüència en fragments i ordenant-los de manera que s'obtingués la màxima coincidència entre els residus aminoàcids d'aquests grups.³⁰²

Subirana, Palau i els seus col·laboradors van descriure les proteïnes obtingudes dels espermatozous d'algunes espècies de mol·luscs, *phylum* zoològic que inclou una àmplia varietat d'animals que pertanyen a una branca evolutiva diferent que els vertebrats. El treball volia mostrar la considerable varietat en mida i composició de les proteïnes associades al DNA als espermatozous. Les proteïnes es van obtenir per mètodes de fraccionament i, posteriorment, es va estudiar la seva mobilitat electroforètica, aspecte en el qual, aquest treball també va ser pioner.³⁰³

En funció de les espècies, les gònades masculines es van obtenir per centrifugació, homogeneïtzació o agitació i l'obtenció dels nuclis es va verificar per microscòpia de contrast de fases.³⁰⁴ Si bé en diversos casos es van introduir variants, la preparació de les proteïnes, en general, es va fer seguint els mètodes de Johns, protocol consistent en una successió de medis d'acidesa creixent i la comprovació en

³⁰¹ Durant la dècada dels 1960s s'havia completat la seqüència de set protamines que s'havien obtingut de caps d'esperma de tres espècies de peix: l'areng del pacífic (*Clupea pallasii*), dues espècies de truita (*Salmo gairdnerii* i *Salmo irideus*) i del *Onchorhynchus keta* (Chum o keta salmon), els quals s'hi havia trobat més d'una protamina (Treballs de Ando i Watanabe (1969) a *Int. J. Protein Res.* 1, 221). La presència de tota una sèrie de homologies en aquestes proteïnes va portar a plantejar hipòtesis sobre la seva evolució.

³⁰² Aquesta anàlisi va ser desenvolupada per a un estudi de la haptoglobina i va ser ampliat a les clupeïnes (de l'areng) per BLACK & DIXON (1967), *Nature*, 216, 152-153.

³⁰³ En relació amb la importància d'aquest treball, vegeu les cites al SCI a la taula 1 de l'annex 1. Vegeu també AUSIÓ (2001).

³⁰⁴ Les espècies estudiades varen ser les següents: *Chiton olivaceus* (quitón verd, polioplacòfor); *Gibbula divaricata* (baldufa mediterrània); *Haliotis tuberculata* (orella de mar); *Patella vulgata* (lapa); *Loligo forbesii* (calamar). Totes aquestes espècies es varen obtenir a L'Escala, Girona, Costa Brava. *Cryptochiton stelleri* va ser obtingut de la costa del Pacífic dels EUA. *Loligo vulgaris* (calamar), *Mytilus edulis* (musclo vulgar) i *Ostrea edulis* (ostra) es varen obtenir de la costa atlàntica de Galícia, de distribuïdors comercials; *Spisula solidissima* i *Loligo pealeii* (calamar) varen ser obtinguts de Woods Hole. *Octopus vulgaris* (pop) es va obtenir a Banyuls, França i *Eledone cirrhosa* (pop blanc) es va obtenir dels pescadors del port de Barcelona.

cada etapa del que s'obtenia en cada fracció, mitjançant tècniques d'electroforesi. Aquesta gradació de medis àcids va permetre la separació de les *proteïnes semblants a histones* i les proteïnes bàsiques.³⁰⁵ Les fraccions obtingudes es van analitzar mitjançant espectrofotometria. Això va cobrir la primera etapa del treball, consistent en la obtenció de les diferents fraccions proteiques. Per procedir a l'anàlisi dels aminoàcids, es van hidrolitzar mostres de les diverses proteïnes i la seva composició d'aminoàcids va ser determinada mitjançant un analitzador automàtic.³⁰⁶

Un aspecte important a destacar en l'apartat de les tècniques va ser el desenvolupament d'una microtècnica d'electroforesi que es va fer servir en casos en que es disposava de poca quantitat de mostra. Aquesta tècnica va ser desenvolupada per l'enginyer Joaquim Lloveras, de qui es parlarà detalladament més endavant, i consistia en fer un gel de poliacrilamida dins d'un capil·lar.

Per a aquest treball, Lloveras també va desenvolupar una tècnica d'electroforesi preparativa, consistent en successives electroforesis que van permetre separar els diferents components per tal de procedir al seu posterior estudi mitjançant l'analitzador d'aminoàcids. La tècnica consistia en separar els components mitjançant una electroforesi sobre gel pla. Però en lloc de tenyir-ho tot, per veure'n les bandes separades, es tallaven els extrems d'aquest gel i es tenyien. La part central del gel era on es trobava la major part dels components de les proteïnes ja separades.³⁰⁷

Els resultats van permetre conèixer els diferents tipus de proteïnes bàsiques presents als espermatozous dels mol·luscs. Però encara s'havia de completar la caracterització de les proteïnes presents a cada espècie, especialment en el cas dels cefalòpodes. En moltes d'elles, proteïnes idèntiques o, com a mínim semblants a les histones, eren presents als espermatozous juntament amb més proteïnes bàsiques.³⁰⁸

³⁰⁵ La designació de "histone-like", es dona a aquelles proteïnes que mostren una mobilitat electroforètrica similar a la de les histones somàtiques. En tots els casos en que la composició en aa ha estat determinada, la seva semblança ha estat confirmada.

³⁰⁶ Espectrofotòmetre Beckman DB-GT i un analitzador automàtic d'aminoàcids Beckman Unichrom. La compra de l'analitzador d'aminoàcids va ser possible gràcies a un ajut del Fondo Nacional para el Desarrollo de la Investigación Científica (FNDIC). Entrevista de l'autor amb Joan Antoni Subirana a l'autor, 21 de novembre de 2002.

³⁰⁷ Entrevista amb Joaquim Lloveras, 13 de febrer de 2003.

³⁰⁸El nom de "*proteïnes semblants a protamines*" ("protamine-like"), feia referència a proteïnes

Es va discutir la transcendència dels resultats en relació amb l'enteniment de la història evolutiva d'aquestes proteïnes i es va suggerir que havien evolucionat a partir de precursors histònics, si bé no podien generalitzar-se a tots els mol·luscs ja que semblava clar que aquestes proteïnes variaven considerablement en diferents espècies.³⁰⁹

Subirana, Palau i els seus col·laboradors van arribar a la conclusió que les espècies estudiades estaven relacionades amb els precursors, però no entre elles. És a dir: es donava un patró d'evolució radial. Semblava, doncs, que les proteïnes dels espermatozous havien patit canvis evolutius fins que la seva composició havia estat l'adequada per a l'èxit reproductiu d'aquestes espècies. Tenint en compte que l'èxit biològic ve donat per factors diversos, els constrenyiments evolutius imposats a les proteïnes dels espermatozous haurien estat significativament diferents segons les espècies. Aquestes circumstàncies podien explicar per què les proteïnes dels espermatozous havien canviat tant mentre que altres proteïnes amb una funció molt més constant havien evolucionat al llarg d'un camí més planer en aquest sentit, com era el cas d'altres proteïnes estudiades i considerades com punts evolutius destacats.

Per exemple la hemoglobina i el citocrom c, que tenien pràcticament la mateixa funció a tots els animals en els quals havia estat estudiada la seva seqüència, sense que els canvis en la seva composició en aminoàcids haguessin influït significativament en la seva activitat biològica. Fos quin fos el camí evolutiu seguit per les proteïnes dels espermatozous, semblava clar que presentaven un arbre molt més complex (Figures 26 i 27).³¹⁰

amb una mida i amb una basicitat semblant a la de les clàssiques protamines trobades a peixos, però amb una ratio arginina/lisina pròxima a 1.

³⁰⁹ Una qüestió més a considerar era l'extensió de la microheterogeneïtat que podia presentar-se en els components d'aquestes proteïnes semblants a protamines, que era d'interès per a entendre el seu paper biològic al cap de l'espermatozou, tal com s'havia discutit en alguns treballs, sobre la base d'estudis en difracció de raigs X. Un primer treball de Subirana i Lluís Puigjaner mitjançant tècniques de difracció de RX, en aquells moments es trobava en premsa. Vegeu SUBIRANA & PUIGJANER (1973), al capítol següent.

³¹⁰ Aquesta línia de recerca va tenir continuïtat en forma d'una nova col·laboració del grup de Subirana amb Cole i Phelan. Es volia determinar com eren de restrictives les variacions de la seqüència d'aminoàcids de les histones molt riques en lisina en comparació amb les severes restriccions que es presentaven en les histones riques en arginina. Es va estudiar una proteïna rica en lisina procedent d'espermatozous del músculo ($\Phi 3II$), que presentava semblances amb les

L'estudi de les histones de diferents organismes es devia a un interès de generalització del coneixement al voltant d'aquestes proteïnes. No només es volia conèixer la seva composició sinó també la seva funció en la cromatina. Les semblances entre fraccions procedents de diferents organismes, així com les diferències que es presentaven havien portat a plantejar quins haurien estat els camins evolutius seguits per aquestes proteïnes, i haurien de portar a l'obtenció d'aquests coneixements. Aquesta universalitat que presentaven les proteïnes associades al DNA havia permès estudiar-les en organismes senzills, com ara mol·luscs i equinoderms, que havien esdevingut models.

El treball, que complia amb els objectius del projecte finançat pels NIH, va ser pioner en quant a la caracterització de les proteïnes nuclears d'aquests grups d'invertebrats i pels aspectes referits al desenvolupament i optimització de les tècniques de laboratori que van permetre dur-lo a terme. En aquest sentit, és d'interès ressaltar la visibilitat dels tècnics que ho van fer possible i aquest aspecte anirà ocupant cada cop més espai en el desenvolupament d'aquesta memòria. La importància del treball per als científics que també treballaven en l'estructura de la nucleohistona, es va fer palès en el nombre de citacions que es van donar en anys posteriors a la seva publicació.³¹¹

5.9. La recerca de Palau des de l'IBF i l'estructura de la nucleohistona

Des de l'IBF, Palau va continuar la seva recerca en aquest camp i, tal com s'ha vist, la seva col·laboració amb el grup de Subirana va seguir. La línia seguida per Palau va ser complementària de la seguida per Subirana des del DQM, amb objectius de recerca i tècniques diferents, que justifiquen el seu tractament en un epígraf apart.

protamines si es consideraven les lisines homòlogues de les arginines. PHELAN, COLOM, COZCOLLUELA, SUBIRANA & COLE (1974). Treball finançat amb els grants Am-6482, 12618 i 8845 dels NIH, per la Agricultural Experimental Station i pel Population Council. Vegeu també: PHELAN, SUBIRANA & COLE (1972).

³¹¹ Segons consta al Science Citation Index, aquest treball ha tingut 105 cites.

El pas següent després de la determinació de les estructures primàries de les histones havia de ser el d'estudiar nivells estructurals més complexos i la seva relació amb l'estructura de la nucleohistona i, en conseqüència, amb l'estructura del cromosoma.³¹² Es va treballar en dues fraccions històniques que eren d'interès per a aquest tipus de recerca: la H3 i la H1. Però abans d'estudiar la producció científica de Palau i els seus col·laboradors, cal dedicar un espai a l'estat de la qüestió en quan a l'aplicació de les tècniques disponibles a l'estudi de la nucleohistona.

Les tècniques de difracció de RX aplicades a la nucleohistona només havien proporcionat un nombre limitat de dades quan van ser aplicades als estudis de la seva conformació, la qual cosa era deguda a la naturalesa del material objecte d'estudi que, normalment, presentava les característiques d'un gel i que era, majoritàriament, no cristal·lí. Ara bé, el patró de RX de la nucleohistona nativa suggeria l'existència d'una unitat fonamental del cromosoma. La presència d'aquest tret estructural i l'escassetat de qualsevol altre tipus de informació detallada de la conformació de les histones o de la seva organització espacial en la nucleohistona va derivar en diverses línies de recerca, per tal d'estudiar les conformacions de les histones unides a DNA natives i de complexos de histona i DNA reconstituïdes. Els estudis mitjançant tècniques d'espectroscòpia i de difracció de RX haurien de permetre obtenir informacions al voltant de la conformació de nucleohistones obtingudes de fonts diferents (Bradbury i Crane–Robinson, 1971).³¹³

Els estudis de la conformació de les histones s'havien començat a fer mitjançant tot un seguit de tècniques que incloïen la dispersió òptica rotatòria (ORD) i l'espectroscòpia de fluorescència combinada amb dicroïsmes circulars (CD), que es basaven en les propietats específiques de la refracció produïda per molècules òpticament actives.

La dispersió òptica rotatòria és el mètode que permet mesurar la dispersió de la llum ultraviolada per part d'una molècula òpticament activa i determinar la magnitud

³¹² Aquesta possibilitat havia estat suggerida per Subirana al treball presentat a *FEBS Letters* l'any 1971. Vegeu SUBIRANA (1971)

³¹³ Bradbury i Crane–Robinson del Biophysics Laboratory, Physics Department del Portsmouth Polytechnic. Hi haurà posteriors col·laboracions de Palau i altres membres de l'IBF amb aquest grup.

relativa dels components dextrogirs o levògirs i, a vegades, de trets estructurals de les molècules, com la presència de regions en hèlix α a les histones. Aquests estudis, però, no donaven informació de les parts precises del polipèptid que s'hi trobaven implicades.

El dicroïsme circular és un mètode ràpid que no requereix grans quantitats de mostres ni necessita processar grans quantitats de dades, però dona menys informació estructural específica que la cristal·lografia de RX o que la ressonància magnètica nuclear, que proporcionen informació a nivell atòmic. Normalment es fa servir per a l'estudi de les proteïnes en dissolució. Es tracta d'un tipus d'espectroscòpia que es fa servir per a la determinació de la isomeria òptica i l'estructura secundària de les molècules. Es mesura l'absorció diferencial de la llum polaritzada circular en sentit dextrogir i levògir, es a dir la diferència entre l'absorció de la llum polaritzada en un i altre sentit, que és funció de la longitud d'ona.³¹⁴

L'espectre ultraviolat del dicroïsme circular de les proteïnes permetia predir característiques importants de la seva estructura secundària, com ara l'estimació de quina fracció de la molècula es trobava en conformació de hèlix α i delimitar les possibles estructures secundàries que podia presentar la proteïna, si bé no podia predir del tot ni on es trobaven ni quantes n'hi havia. Malgrat tot, aquesta tècnica era una bona eina per mostrar canvis en les conformacions.

La ressonància magnètica nuclear (NMR) és una tècnica que podia donar més informació en aquest aspecte. Els principis en els que es basava ja es podien trobar en alguns llibres de text i en revisions que tractaven de la seva aplicació en biologia en el moments en que Palau començava la seva recerca a l'IBF: els protons en diferents grups químics tenien entorns diferents i, per aquest motiu, diferents entorns magnètics. La tècnica podia ser aplicada a l'estudi dels canvis en les conformacions i

³¹⁴ Per exemple alguns sucres són dextrogirs i alguns aminoàcids són levogirs. Per aquest motiu, l'hèlix α de les proteïnes i la doble hèlix del DNA tindran unes *signatures* d'espectre de dicroïsme circular representatives de les seves estructures. L'activitat òptica de la hèlix α va ser descoberta per Paul Doty i Jen Tsi Yang l'any 1956.

d'agregació de les histones a causa de la distribució altament poc uniforme dels residus al llarg de la cadena polipeptídica (Bradbury i Crane–Robinson, 1971).³¹⁵

Les informacions estructurals també es podien obtenir a partir de les tècniques de ressonància paramagnètica electrònica (EPR). L'espectre de ressonància paramagnètica d'un radical lliure era sensible al seu entorn i com que només una molt petita proporció dels components dels sistemes biològics és paramagnètic, els espectres de ressonància dels radicals lliures introduïts en aquests sistemes es troben essencialment lliures d'interferències i reflecteixen acuradament les propietats paramagnètiques i el seu entorn. Es fan servir els *spin label*, que són radicals lliures sintètics que poden ser incorporats a una molècula o sistema d'interès biològic, per tal de proporcionar informació relacionada amb l'estructura, canvis de conformació o reaccions químiques. L'espectre de *spin labels* units a proteïnes podia proporcionar informació estructural i, fent-ne servir un d'adequat, es podria obtenir informació valuosa sobre l'estructura terciària de les histones, així com de canvis de conformació particulars.³¹⁶

Entre 1972 i 1977, el grup de recerca de Palau a l'IBF va produir set treballs al voltant de l'estructura terciària de les histones.³¹⁷ El primer, en col·laboració amb Esteve Padrós, va ser presentat prèviament a les *Gordon Research Conferences* de l'any 1972.³¹⁸ En aquest treball es va fer servir la EPR per estudiar la conformació de la

³¹⁵ E.M. Bradbury i C. Crane–Robinson van ser dels primers en aplicar la NMR a les histones. Vegeu el seu treball a PHILLIPS (1971). L'any 1963, havien participat a la primera conferència mundial sobre histones, ja esmentada.

³¹⁶ La EPR era una tècnica que s'havia posat en marxa l'any 1967. Informació obtinguda de HAMILTON & McCONNELL, (1968). Aquests i altres fenòmens havien estat objecte d'estudi per part de químics i físics durant la dècada dels 1950s i havien aconseguit resultats espectaculars en referència a estructura electrònica molecular, distribucions d'espíns, així com en instrumentació de ressonància magnètica. Cal fer esment en aquest punt que la presència d'estructura terciària era un tret comú de totes les proteïnes, ja des de la publicació per John Kendrew de l'estructura de la mioglobina. Vegeu DE CHADAREVIAN (1996).

³¹⁷ PALAU i PADRÓS (1972); PALAU i DABÁN (1974); PALAU i PUIGDOMÉNECH (1974); PALAU, J. & PADRÓS, E. (1975); BRADBURY, CARY, CHAPMAN, CRANE–ROBINSON, DANBY, RATTLE, BOUBLIK, PALAU, i AVILÉS (1975); PALAU, CLIMENT, AVILÉS, MORROS, i SOLIVA (1977); PUIGDOMÉNECH, DABÁN, PALAU, PODO, GUIDONI i TEMUSSI (1977).

³¹⁸ Esteve Padrós va ser el tercer dels doctorands de Palau i la seva tesi va estar relacionada amb el tema d'aquesta publicació. La tesi es va iniciar l'any 1972 i es va llegir l'any 1975 a la UAB. El títol: "Estudio sobre la conformación de la histona f3". Després de Ruiz–Carrillo i abans de Padrós, Palau va dirigir la tesi de Fernando Climent, iniciada l'any 1972 i llegida l'any 1974 a la

histona f3 de timus de vedella i van comptar amb la col·laboració i la instrumentació de Manuel Ballester, llavors al Instituto de Química Orgánica Aplicada del Patronato Juan de la Cierva del CSIC de Barcelona.³¹⁹

Un tret interessant de l'estructura de la f3, descrit al treball, era la seva capacitat de formar hèlix α i la tendència a formar agregats segons augmentaven les concentracions salines. A condició que aquesta hèlix α es donés de manera natural, era evident que podia actuar com un centre promotor d'estructura terciària.

Seguint en aquesta línia, al llarg de l'any 1974, Palau i els seus col·laboradors van seguir treballant en l'estructura terciària de les histones, en el que es coneixia com el seu *codi estructural*, és a dir com, a partir de la seqüència d'aminoàcids, la proteïna aconseguia assolir nivells més alts de complexitat estructural.³²⁰ Com a conseqüència dels estudis sobre el codi genètic, s'assumia que la informació genètica lineal era suficient per codificar la configuració completa d'una proteïna. El que es coneixia com codi estructural de les proteïnes consistia en considerar la influència de les interaccions de curt, mitjà i llarg abast a les cadenes polipeptídiques. D'això se'n derivaria l'ordenació espacial de la molècula que hauria de permetre el pas des de l'estructura primària cap a estructures d'ordre més elevat, la qual cosa es trobava lluny de quedar establerta, ja que es desconeixia com es codificava el plegament singular de cada proteïna.³²¹

UAB, amb el títol de "Estudio de la histona f2a1 y su interacción con el DNA".

³¹⁹ Per més detalls de Manuel Ballester, vegeu el capítol corresponent. Cal recordar la seva contribució al descobriment dels radicals lliures.

³²⁰ Les referències són: PALAU i PUIGDOMÉNECH (1974) i PALAU i DABÁN(1974). Tots dos eren doctorands seus i els treballs estaven relacionats amb la temàtica de les seves tesis. Puigdoménech va llegir la tesi l'any 1975, com Esteve Padrós, i Dabán l'any 1976. La tesi de Puigdoménech va dur per títol: "Análisis de correlaciones entre la secuencia de las proteínas y su estructura secundaria mediante el uso de ordenador. Aproximación al código estructural de las proteínas". La tesi de Dabán va dur per títol: "Estudios estructurales sobre la histona h3 y su interacción con el DNA. Papel de los residuos de cisteína". En aquells moments, Puigdoménech era col·laborador doctor de l'IBF, Padrós era professor adjunt i Dabán becari del "Plan FPI". La informació de la situació dels col·laboradors de Palau s'ha obtingut de les memòries corresponents de l'IBF, dipositats a l'Arxiu General de la UAB, a Bellaterra, Barcelona, capsa P-1113.

³²¹ Aquest anomenat "codi estructural" havia estat proposat per Pain i Robson els anys 1970 i 1971 i per Ponnuswamy, Warne, i Scheraga, l'any 1973.

Com s'ha vist, la difracció de RX s'havia mostrat com la tècnica més potent per als estudis de la conformació de les proteïnes i la seva alta resolució permetia una localització precisa de les regions que presentaven una estructura secundària definida, tal com la configuració en hèlix α o en configuració β . Però, com s'ha dit, l'aplicació d'aquestes tècniques a l'estudi de la nucleohistona no havien donat uns resultats tant clars.

Per a un cert nombre de proteïnes era possible establir una correlació entre l'estructura primària i les estructures de major complexitat.³²² La seva composició permetia explicar la seva configuració espacial, lineal o plegada, segons els trams. Fins aquells moments, molts dels esforços s'havien dirigit a l'elucidació del codi estructural per a les hèlix α i, en aquest sentit, diferents autors havien intentat establir una correlació entre la seqüència d'aminoàcids de les proteïnes i el seu potencial de formació de hèlix α .³²³ D'una manera global, els codis estructurals parcials per a hèlices, làmines plegades en estructura β i llaços, haurien d'existir i haurien de tenir relació amb la composició en aminoàcids de les regions implicades, ja que en aquestes zones s'havia observat el predomini d'uns aminoàcids per damunt d'altres.

En bioquímica, i en general en biologia, s'acceptava que funció i estructura eren dos conceptes íntimament relacionats. Desafortunadament, en el cas de les histones es seguia sense conèixer clarament quina era la seva funció i no es disposava de dades sobre les seves conformacions. Mitjançant la tècnica d'EPR, Palau i els seus col·laboradors van demostrar la presència de solcs que contenien cisteïna a la histona f3, fet que els va encoratjar a seguir estudiant la naturalesa i propietats dels microentorns on es trobaven situats aquests residus aminoàcids. En aquest nou treball es va fer servir la espectroscòpia de diferència, tècnica que s'havia mostrat com una eina molt útil per a estudis d'aquest tipus, ja que una proteïna biològicament activa canviava la seva conformació i les seves interaccions, fet que s'associava amb canvis

³²² PONNUSWAMY, P. K. WARME, P. K. & SCHERAGA, H. A. (1973). "Role of Medium-Range Interactions in Proteins". *Proc. Nat. Acad. Sci.*, Vol. 70, No. 3, pp. 830-833.

³²³ Al voltant d'aquesta qüestió, vegeu: LOW, LOVELL & RUDKO (1968). "Prediction of α -helical Regions in Proteins of known Sequence". *P.N.A.S.*, 60, 1519-1526.

en l'espectre d'absorció d'infraroig, que podia ser visualitzat en un espectre de diferència.³²⁴

Els nous resultats confirmaven els obtinguts anteriorment en el sentit que les regions de la histona H3 que contenien cisteïna presentaven estructura terciària. Més interessant encara, en condicions de desnaturalització l'estructura era altament resistent a la desnaturalització completa, la qual cosa portava a pensar en que es podria tractar d'un lloc actiu pel que feia a la funció biològica d'aquesta proteïna i el seu paper en l'estructura del cromosoma.

De totes les histones, la H3 presentava unes característiques d'especial interès des del punt de vista estructural i es proposava que aquesta proteïna s'havia conservat àmpliament al llarg de l'escala evolutiva, com havien mostrat alguns treballs publicats des de principis de la dècada, si bé no se'n tenia cap evidència experimental. A més, sota certes condicions, la H3, podia formar agregats mitjançant diversos tipus de interaccions.³²⁵

Els estudis estructurals de Palau van continuar amb la fracció H1 de timus de vedella, i la fracció $\Phi 1$ del músculo. Com ja s'ha vist en estudiar treballs anteriors amb Subirana, la histona H1, antiga f1, presentava certs trets distintius que la feien diferent de les altres fraccions històniques que s'havien trobat a la cromatina de les cèl·lules eucariotes (Figura 28).³²⁶

³²⁴ Vegeu PALAU i PADRÓS (1972).

³²⁵ La referència és PHILLIPS (1965) "Cysteine in Calf-Thymus Histones". *Biochem. J.* 669. Phillips havia demostrat l'any 1965 que era l'única de les histones que contenia l'aminoàcid cisteïna i, com també havia demostrat el grup de Butler, aquests residus es situaven en una àmplia regió no bàsica de la proteïna. Palau i Padrós també havien contribuït en un treball anterior a la detecció de solcs en l'estructura de la histona on s'havien detectat aquests residus i també la presència d'estructura terciària. La referència és PALAU i PADRÓS (1972). Vegeu també PHILLIPS, (1967). *Biochemical Journal*, 105, 46p.; PALAU (1969). *An. Real. Soc. Esp. Fis. Quim.* 65B, 523-525.

³²⁶ Els treballs es van fer en col·laboració amb el grup de biofísica de Portsmouth, liderat per Edward M. Bradbury i Colin Crane-Robinson i es van publicar l'any 1975, al *European Journal of Biochemistry*. Les referències són: BRADBURY, CARY, CHAPMAN, CRANE-ROBINSON, DANBY, RATTLE, BOUBLIK, PALAU & AVILÉS (1975), finançat pel Science Research Council; PUIGDOMÉNECH, CABRÉ, PALAU, BRADBURY & CRANE-ROBINSON (1975). En aquest darrer treball, Pere Puigdoménech va disposar d'una EMBO short-term fellowship, mentre que Jaume Palau va disposar d'una beca de la Fundació Juan March. Oriol Cabré va llegir la seva tesi l'any 1976, i va dur per títol: "Estudios de homologías estructurales de histonas muy ricas en lisina de esperma de erizo de mar. Comparación con la histona h1 de tejidos somáticos de mamíferos".

Les tècniques utilitzades van ser la NMR i el CD i els resultats obtinguts es van combinar amb prediccions de formació de hèlix per tal de donar una imatge global millorada de l'estructura i de les interaccions de la histona H1 en solució aquosa. Es va suggerir la presència d'enllaços iònics, ponts de hidrogen i interaccions hidrofòbiques com a responsables de plegaments específics en una regió ben definida de la molècula que contribuirien a estabilitzar l'estructura. Malgrat tot, el seu significat en l'estructura de la cromatina encara no estava clar i el treball en aquesta línia seguia al laboratori de Portsmouth.

L'estudi de les conformacions s'havia ampliat a un grup de histones de l'esperma d'invertebrats marins, les histones $\Phi 1$, obtingudes del cogombre de mar *Holothuria tubulosa* i del musclo *Mytilus edulis*, per tal d'investigar les homologies estructurals i establir una comparació amb la histona H1 de timus de vedella. Les dades a obtenir serien importants per definir quins aspectes de les estructures secundària i terciària d'aquestes histones serien rellevants per a la preservació d'alguna funcionalitat específica, desconeguda en aquells moments. Malgrat les variacions que presentaven, havia quedat clar que es trobaven íntimament relacionades amb la H1 de timus de vedella. També es va suggerir que els estudis de les conformacions haurien de donar claus sobre l'estat del genoma en aquest tipus de cèl·lules.

En resum, les línies de treball del grup de l'IBF durant els anys 1976 i 1977 van consistir bàsicament en estudis sobre la interacció de les histones i de fragments de histones amb el DNA. Mentre el grup de Subirana es va centrar en la utilització de les tècniques de difracció de RX, com es veurà tot seguit, els grup de Palau va continuar

Francesc Xavier Avilés va llegir la seva tesi l'any 1975 i va dur per títol "Interacción de la Histona muy rica en lisina (f1) con el ADN". La situació de Cabré a l'IBF era la de professor agregat, i la d'Avilés no consta a la memòria consultada de l'any 1977, Arxiu General de la UAB, Bellaterra, Barcelona, capsa P-1113, tot i donar un seminari al voltant de la H5. En aquells moments, la posició de Pere Puigdoménech era la de professor adjunt. Com s'ha anat veient també en el cas de Subirana, les estades postdoctorals a l'estranger els havien proporcionat la possibilitat d'establir contactes i col·laboracions amb altres grups de recerca que es van anar materialitzant.

fent ús de les tècniques de espectroscòpia, microscòpia electrònica, NMR, desnaturalització tèrmica i estudis de solubilitat.³²⁷

5.10. Conclusions

L'estudi de la producció científica dels grups de Subirana i Palau ha permès constatar un cop més que la seva recerca no anava a remolc del que poguessin estar fent altres grups, sinó que es trobava plenament integrada en el corrent principal del camp, fent contribucions originals a l'estudi de les histones. En aquest sentit, el treball publicat per Subirana, Palau i els seus col·laboradors a *Biochimica et Biophysica Acta* l'any 1973, on es van estudiar i caracteritzar les protamines i altres proteïnes bàsiques dels espermatozous dels mol·luscs, ha de ser considerat com la culminació d'una etapa en el programa de recerca, per la repercussió dels seus resultats.³²⁸

Va ser aquesta producció de resultats la que va permetre que, un cop finalitzat el finançament dels NIH, la recerca pogués continuar gràcies al suport del Population Council, institució filial de la Fundació Rockefeller, la qual cosa s'ha d'interpretar com de legitimació del grup dins la comunitat científica internacional. En aquest sentit també cal remarcar el fet que Subirana fos escollit membre d'EMBO ja l'any 1967 i que Palau ho fos l'any 1971.

L'estudi d'aquesta etapa permet copsar com s'està desenvolupant un equip de recerca format pels seus doctorands, tal com es pot comprovar a la bibliografia. Per altra banda, també cal fer esment d'un altre aspecte important: l'establiment de col·laboracions amb grups dels EUA en el cas de Subirana i del Regne Unit en el cas de

³²⁷ L'any 1977, el grup de Palau va publicar dos treballs a *Biochimica et Biophysica Acta* sobre les interaccions de les histones i dels pèptids de histona amb el DNA, mitjançant tècniques de desnaturalització tèrmica i estudis de solubilitat, així com de NMR. Els treballs són: PALAU, CLIMENT, AVILÉS, MORROS i SOLIVA (1977). Avilés rep suport del Ministerio de Educación y Ciencia; PUIGDOMÉNECH, DABÁN, PALAU, PODO, GUIDONI i TEMUSSI (1977). La informació sobre les línies de recerca del grup de Palau s'ha obtingut de les memòries del IBF dels anys 1976 i 1977, dipositades a l'Arxiu General de la UAB a Bellaterra, Barcelona, capsos P-1077 (mem. 1977) i P-1113 (mem. 1976).

³²⁸ SUBIRANA, COZCOLLUELA, PALAU & UNZETA (1973). Aquest treball és citat 105 vegades al SCI.

Palau, fet que dóna força a l'argument de que la seva recerca s'inseria en el corrent principal del camp i contribuïa a la seva legitimació internacional.

Entre 1966, any de la seva primera publicació conjunta, i 1977, es va anar produint un canvi en les temes de recerca: de la caracterització de les proteïnes es va passar a l'estudi de les seves estructures i aquest procés va portar a un canvi en les tècniques emprades, com s'ha fet especialment palès en el cas de Palau, i com es veurà en el cas de Subirana al capítol següent.

L'estudi de la recerca duta a terme no només per Palau i Subirana, sinó en general en el camp de les histones a nivell internacional pot haver deixat la impressió que no es van produir resultats de relleu. Sense voler avançar fets ni conclusions, el problema present en el camp de recerca en histones era justament el tipus de material amb el que es treballava. Es tractava d'un material no cristal·lí més complex estructuralment que el DNA. Si bé des de la química física de macromolècules es van desenvolupar tècniques que van permetre la caracterització de les diverses fraccions històniques, els estudis estructurals es van veure limitats pel tipus de material d'estudi i també per les limitacions dels instruments per treballar amb aquest material.

Uns altres aspectes d'especial interès, que han anat sorgint al llarg de l'estudi de la seva producció científica i també en el context internacional, han estat els evolutius i els d'establir una relació entre estructura i funció de les histones. Al llarg dels anys que s'han estudiat en aquest capítol, aquesta qüestió ja era present als textos universitaris de bioquímica.³²⁹ L'única evidència experimental de que es disposava era la informació sobre les seqüències d'aminoàcids, que es va fer servir per comprovar les relacions taxonòmiques entre diferents espècies per tal de construir un arbre filogenètic que mostrés el curs de l'evolució biològica i també de les divergències que es presentessin. El nombre de diferències entre els aminoàcids de proteïnes homòlogues de dues espècies variava considerablement segons la proteïna i, funcionalment, les proteïnes homòlogues de diferents espècies tenien uns mateixos aminoàcids en certes posicions invariables de la cadena.

³²⁹ En aquest sentit, vegeu Lehninger (1972).

Va ser amb aquests coneixements amb els que es va tractar d'establir el patró evolutiu de les proteïnes nuclears dels invertebrats i també de les histones. Pel que fa a la relació entre estructura i funció, les evidències experimentals disponibles eren poques, ja que els estudis estructurals de la nucleohistona eren, com s'ha vist, limitats. Malgrat tot, ja des de finals de la dècada dels 1960s, la qüestió també era a l'ambient de la comunitat de recerca en histones, quan ja es suggerien tota una sèrie de funcions per a aquestes proteïnes.

De la mateixa manera que Palau i els seus col·laboradors van aprendre tot un seguit de noves tècniques per als seus estudis estructurals, el grup de Subirana al DQM va seguir un camí paral·lel: la posada en marxa d'un laboratori de difracció de RX, per tal de continuar amb els estudis estructurals de la nucleohistona, qüestió a la que està dedicat el capítol següent.

- Marlow, H. W. & Richert, D. (1940). *Endocrinology*, **26**, 531.
- Mecham, D. K. & Olcott, H. S. (1949). *J. Amer. chem. Soc.* **71**, 3670.
- Moore, S., Spackman, D. H. & Stein, W. H. (1958). *Fed. Proc.* **17**, 1107.
- Pin, P., Bai, N. & Thoai, N. (1960a). *C.R. Soc. Biol., Paris*, **154**, 1725.
- Pin, P., Bai, N. & Thoai, N. (1960b). *C.R. Soc. Biol., Paris*, **154**, 2010.
- Rees, M. W. (1946). *Biochem. J.* **40**, 632.
- Schiede, V. A. & Urist, M. R. (1960). *Nature, Lond.*, **188**, 291.
- Sturkie, P. D. (1954). *Avian Physiology*. Ithaca, N.Y.: Comstock Publishing Associates.
- Taborsky, G. & Allende, C. C. (1962). *Biochemistry*, **1**, 406.

Biochem. J. (1964), **92**, 55

Studies on Histones

7. PREPARATIVE METHODS FOR HISTONE FRACTIONS FROM CALF THYMUS*

By E. W. JOHNS

Chester Beatty Research Institute, Institute of Cancer Research: Royal Cancer Hospital, London, S.W. 3

(Received 29 November 1963)

Previous work from this Laboratory (Johns, Phillips, Simson & Butler, 1960) has shown that calf-thymus histones can be separated into three main groups of basic proteins by column chromatography on CM-cellulose. These three groups were characterized by their total and N-terminal amino acid analyses and were designated: lysine-rich histones, f1; slightly lysine-rich histones, f2; and arginine-rich histones, f3. A method was also given for the extraction of fraction f3 directly from the tissue by using a mixture of ethanol and hydrochloric acid.

Somewhat similar fractionations were achieved by starch electrophoresis by Cruft, Hindley, Mauritzen & Stedman (1957), and by chromatography on Amberlite IRC-50 by Rasmussen, Murray & Luck (1962). Many other authors have described lysine-rich and arginine-rich histones (for review see Phillips, 1962).

In a further paper (Johns & Butler, 1962) the preparation of two subgroups of the slightly lysine-rich histones, f2 (a) and f2 (b), was described, making use of a combination of ethanol-hydrochloric acid extraction methods and column chromatography on CM-cellulose. A method for the extraction of the lysine-rich histones, f1, with 5% perchloric acid was also given.

These extraction methods have now been studied further and two preparative methods have been developed each of which enables the four groups of histones, f1, f2 (a), f2 (b) and f3, to be isolated from calf thymus, in large quantities, and does not involve the preparation and subsequent fractionation of whole histone.

* Part 6: Butler & Cohn (1963).

A method for the further fractionation of f1 is also described, a preliminary account of which has been given (Johns, 1963).

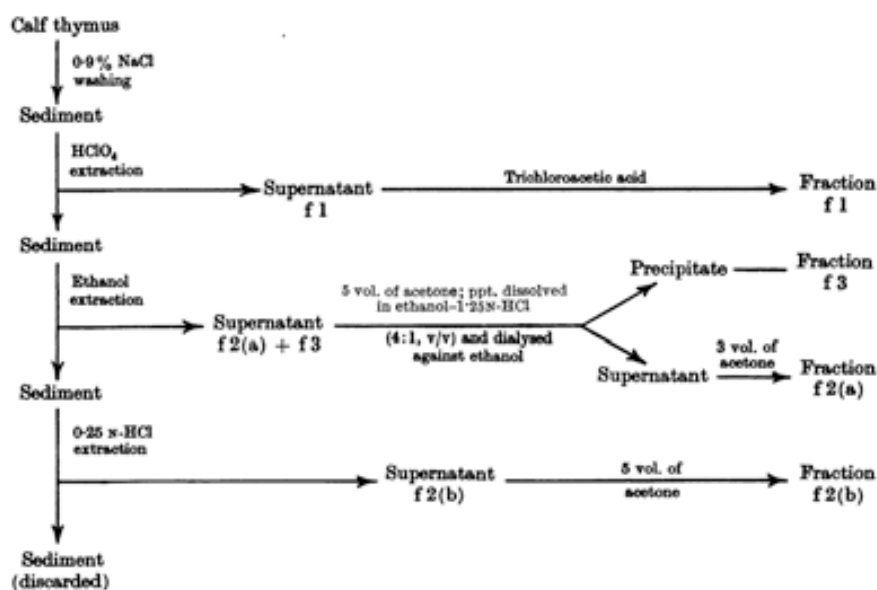
EXPERIMENTAL AND RESULTS

All operations were carried out at 4° except for the washing and drying of all precipitates. Summaries of the extraction methods employed are given in Schemes 1 and 2.

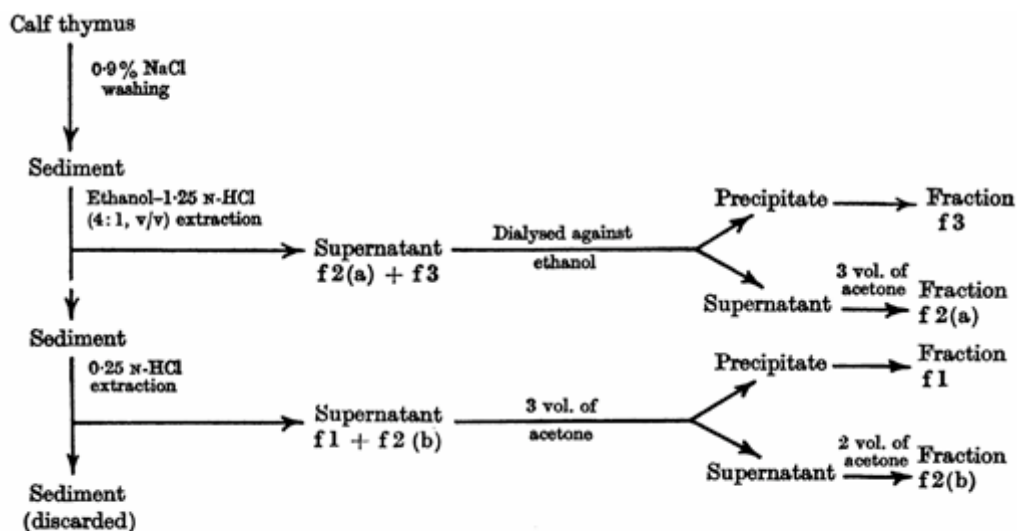
Method 1. Minced calf thymus (100 g.) was homogenized with 700 ml. of 0.9% sodium chloride at top speed for 2 min. in the MSE Ato-Mix. The homogenate was centrifuged at 1100g for 30 min. The supernatant with some fatty debris on the surface was discarded, and the sediment was washed five times more in a similar manner but with homogenizing for 30 sec. and centrifuging for 15 min. The sediment obtained from the last washing was homogenized with 400 ml. of 5% (v/v) perchloric acid (0.74N) in the blender for 2 min. at full speed and the suspension was centrifuged for 30 min. at 1100g. The sediment was extracted twice more in the same way with 200 ml. of 5% perchloric acid. The combined supernatants from these extractions were clarified by filtering through a grade-4 sintered-glass funnel. Trichloroacetic acid was then added to give a final concentration of 18% (w/v) (1.1M). The lysine-rich histones, f1, that were precipitated were recovered by centrifugation, washed once in acidified acetone (200 ml. of acetone plus 0.1 ml. of conc. hydrochloric acid) and then three times in acetone, and dried under vacuum. The vacuum was released occasionally during the drying and any lumps were broken up with a glass rod. By drying in this way a fine white powder was obtained which dissolved easily in water to give a clear solution. The yield of lysine-rich histones was 440 mg., which is approx. 20% of all the histones that can be extracted from calf thymus.

The sediment remaining after the extraction of fraction f1 with 5% perchloric acid was then mixed with 200 ml. of ethanol, stirred for 2 min. to break up all lumps, and

Figura 20: Primera plana de l'article d'Ernest Johns on es descriuen les tècniques d'extracció d'histones de timus de vedella. JOHNS, ERNEST W. (1964). "7. Preparative Methods for Histone Fractions from Calf Thymus". *Biochem. J.*, **92**, 55-59.




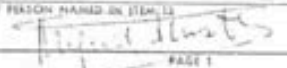
Scheme 1. Summary of method 1 (see the text) for the extraction of histone groups from calf thymus.



Scheme 2. Summary of method 2 (see the text) for the extractions of histone groups from calf thymus.

Figura 21: Esquemes dels mètodes 1 i 2 de Johns d'extracció de histones de timus de vedella. JOHNS, ERNEST W. (1964). "7. Preparative Methods for Histone Fractions from Calf Thymus". *Biochem. J.*, 92, 55-59.

SECTION 1

DEPARTMENT OF HEALTH, EDUCATION, AND WELFARE PUBLIC HEALTH SERVICE JUN - 1 1965 APPLICATION FOR RESEARCH GRANT		LEAVE BLANK (For PHS Use Only - Use Only) TYPE 1 PROGRAM R01 NUMBER GM 13645-01 REVIEW GROUP CB FORMERLY COUNCIL (Month, Year) Nov 65 DATE RECEIVED 6-1-65 APPLICANT CODE D CODE	
TO BE COMPLETED BY PRINCIPAL INVESTIGATOR (Items 2 through 9 and 17A)			
1. ABBREVIATED TITLE OF RESEARCH PROPOSAL (Do not exceed 53 typewriter spaces) Characterization of Nuclear Proteins from Invertebrates			
2. TYPE OF APPLICATION (Check one) <input checked="" type="checkbox"/> NEW PROJECT <input type="checkbox"/> RENEWAL OF PHS GRANT NO. _____ <input type="checkbox"/> REVISION OF PHS APPLICATION NO. _____ <input type="checkbox"/> SUPPLEMENT TO PHS GRANT NO. _____			
3. DATES OF ENTIRE PROPOSED PROJECT PERIOD (This application) FROM March 1st 1966 THROUGH Feb. 28, 1969 (RG) March 1st 1966		4. TOTAL AMOUNT REQUESTED FOR PERIOD IN ITEM 3 32550 \$	5. AMOUNT REQUESTED FOR THIS 12-MONTH PERIOD 12250\$
6A. NAME OF PRINCIPAL INVESTIGATOR (Last, First, Initial) Juan A. Subirana		6B. MAILING ADDRESS OF PRINCIPAL INVESTIGATOR (Street, City, State) Centro de Genética Animal y Humana Facultad de Ciencias, Universidad de Barcelona, Spain	
7. DEGREE Ph.D.	8. SOCIAL SECURITY NO.	7A. IDENTIFY ORGANIZATIONAL COMPONENT RESPONSIBLE FOR CONDUCT OF SCIENTIFIC ASPECTS OF PROJECT Centro de Genética Animal y Humana	
9. TITLE OF POSITION Colaborador Científico		8. DEPARTMENT NA	
DEPARTMENT, SERVICE, LABORATORY OR EQUIVALENT (See Instructions) Centro de Genética Animal y Humana		9. ADDRESS WHERE RESEARCH WILL BE CONDUCTED (if same as Item 6B, check box) <input checked="" type="checkbox"/>	
C. MAJOR SUBDIVISION (See Instructions) Patronato "RAMON Y CAJAL" del Consejo Superior de Investigaciones Científicas		10. ARE FEDERAL FACILITIES TO BE USED FOR THIS RESEARCH <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> YES _____% OF TIME	
TO BE COMPLETED BY RESPONSIBLE ADMINISTRATIVE AUTHORITY (Items 10 through 16 and 17B)			
10. APPLICANT ORGANIZATION (Name and Address-Street, City, State, Zip Code) (See Instructions) Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Delegación en Barcelona Eipoficas 15 Barcelona, Spain		12. TYPE OF ORGANIZATION (Check applicable item) <input type="checkbox"/> INDIVIDUAL PUBLIC INSTITUTION <input checked="" type="checkbox"/> FEDERAL <input type="checkbox"/> STATE <input type="checkbox"/> LOCAL <input type="checkbox"/> OTHER Parenstatel (Semifederal) PRIVATE INSTITUTION: <input type="checkbox"/> NON-PROFIT, <input type="checkbox"/> PROFIT	
13. NAME, TITLE AND ADDRESS OF OFFICIAL TO WHOM CHECKS SHOULD BE MAILED Sr. D. Francisco Bermejo Administrador Calle Eipoficas 15, Barcelona		11. NAME AND TITLE OF OFFICIAL SIGNING FOR APPLICANT ORGANIZATION Dr. Lluís Fusté Secretario	
		14. PHS ACCOUNT NUMBER (Enter if known)	15. ESTABLISHED PHS PROJECT COST RATE (Enter if known) %
16. TERMS AND CONDITIONS. The undersigned accept, as to any grant awarded, the obligation to comply with Public Health Service Research Project Grant Regulations in effect at the time of the award (42 CFR, Part 52), the terms and conditions in the Grants for Research Projects Policy Statement, and the undersigned agree to comply with Title VI of the Civil Rights Act of 1964 (P.L. 88-352), and the Regulation issued pursuant thereto and state that our formally filed Assurance of Compliance with such Regulation (Form HEW-441) applies to this project. The undersigned also certify that they have no commitments or obligations, including those with respect to inventions, inconsistent with compliance with such Regulations, the Manual, and the Act.			
SIGNATURES (Use ink. "Per" signatures not acceptable)		A. SIGNATURE OF PERSON NAMED IN ITEM 6A 	DATE Jun 27, 1965
		B. SIGNATURE OF PERSON NAMED IN ITEM 11 	DATE Jun 28, 1965

PHS-598 (REV. 1-65)
 (All previous editions obsolete)

PAGE 1

Form Approved
 Budget Bureau No. 69-8249

Figura 22: Primera plana de la proposta presentada per Subirana i Palau als Instituts nacionals de Salut (NIH), 1 de juny de 1965. Arxiu de Joan Antoni Subirana

HISTONE-LIKE PROTEINS FROM THE SPERM OF ECHINODERMS

J. A. SUBIRANA and J. PALAU

*Sección de Biopolímeros, Centro de Genética, C.S.I.C.,
C.T.S. Ingenieros Industriales, Barcelona 14, Spain*

Received April 9, 1968

The acid-soluble proteins from the sperm head of different organisms are as a whole basic proteins and offer great variety. They can be classified in three main types: (a) protamines, with a very high arginine content; (b) histone-like, with a chemical composition similar to calf thymus whole histone; and (c) intermediate between histones and protamines, with a high proportion in arginine and lysine and significant amounts of all amino acids. Protamines have been reported in fishes [7, 15] histone-like proteins in echinoderms [3, 4, 12, 15] and fishes [15] and intermediate proteins in molluscs [3, 12, 15], and rooster [1]. These different types of proteins have been discussed in a review by Vendrely and Vendrely [15]. Recent work in this laboratory [11] has shown that the fractions of the nuclear basic proteins from the sperm of the sea urchin *Achacia lixula* are rather similar to those from calf thymus [5]. However, significant differences occur, especially in the more polar fractions F1 and F2b, which are more basic in *A. lixula* sperm than in calf thymus.

The behaviour and specificity of the nuclear basic proteins from the sperm of several species of echinoderms, which belong to four different classes, are described in this paper. The relevance of these results towards an understanding of evolution is also discussed.

MATERIALS AND METHODS

Preparation of the sperm. Living animals were collected in the Mediterranean coast (Costa Brava). The gonads were removed from the animals and placed in sea water. The tissue was cut with scissors or homogenized gently by hand in a Dounce homogenizer. Then it was filtered through cheese-cloth in order to eliminate coarse debris from the sperm suspension. In the case of *A. lixula* and other sea urchins, homogenization was not required, since the gonads are fragile and liberate the sperm spontaneously. The sperm was recovered by centrifugation at 2500 *g* for 10 min and

Experimental Cell Research 53

Figura 23: Primera plana del treball de Palau i Subirana, on s'estudien les proteïnes semblants a histones presents a l'esperma d'equinoderms. SUBIRANA, JUAN ANTONIO and PALAU, JAIME (1968). "Histone-like Proteins from the Sperm of Echinoderms". *Exp. Cell Res.*, 53, 471-477.

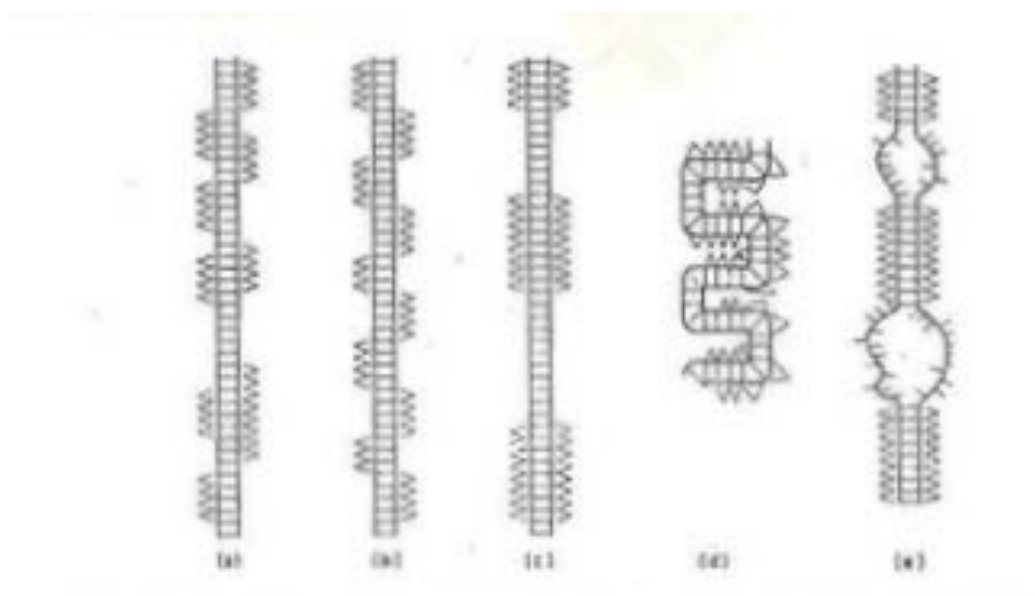


Figura 24: Models de distribució de les histones a la nucleohistona, proposats per Subirana i dibuixats per Joaquim Lloveras. SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1973). "Studies on the Thermal Denaturation of Nucleohistones". *J. Mol. Biol.*, 74, 363-386, a la pàgina 380.

BBA 36475

PROTAMINES AND OTHER BASIC PROTEINS FROM SPERMATOZOA OF MOLLUSCS

JUAN A. SUBIRANA, CARMEN COZCOLLUELA, JAIME PALAU* AND MERCEDES UNZETA

Departamento de Química Macromolecular del C.S.I.C., Universidad Politécnica, Diagonal, 999, Barcelona-14 (Spain)

(Received February 15th, 1973)

SUMMARY

The basic proteins obtained from spermatozoa of different species of the phylum *Mollusca* have been extracted and fractionated. The amino acid analysis and electrophoretic mobility of these proteins show a considerable variation in the types and relative amounts of the components present in different species. In some cases (*Gibbula*, *Haliotis*, *Loligo*, *Octopus*) the main components are similar to the protamines found in the salmonid fishes, although they appear to be larger in size (40-80 amino acids) and show significant differences in amino acid composition. In other cases (*Mytilus*, *Chiton*) a complex mixture of proteins is present, which includes somatic-like histones and proteins intermediate in size and composition between protamines and histones. Other molluscs (*Ostrea*, *Spisula*, *Patella*) also contain proteins intermediate in composition between protamines and histones, but their molecular weight appears to be larger than in histones. In *Eledone* a complex mixture of proteins containing cystine is obtained, with some components rich in arginine. In most species, somatic-like histones are also present. Their type and relative amount are different in each species. The significance of these results towards an understanding of the evolutionary history of these proteins is discussed. It is suggested that these proteins evolved from histone precursors.

INTRODUCTION

The basic proteins associated with DNA in the head of spermatozoa have only been studied in detail in some fishes¹⁻³, echinoderms⁴⁻⁷ and in the bull⁸. Other species have also been studied, such as the rooster⁹ and some invertebrates^{10,11}. In many of these species, with the exception of echinoderms, the proteins obtained are similar to the classical protamines found in the salmonids, although their amino acid compo-

* Present address: Instituto de Biología Fundamental, Universidad Autónoma de Barcelona, Spain.

Figura 25: Primera pàgina del treball publicat per Joan Antoni Subirana, Jaume Palau, Carmen Cozcolluela i Mercedes Unzeta, que assoleix els objectius fixats al projecte presentat als NIH. SUBIRANA, JUAN ANTONIO, COZCOLLUELA, CARMEN, PALAU, JAUME, UNZETA, MERCEDES (1973). "Protamines and other basic proteins from spermatozoa of molluscs". *Biochim. Biophys. Acta*, 317, 364-379.

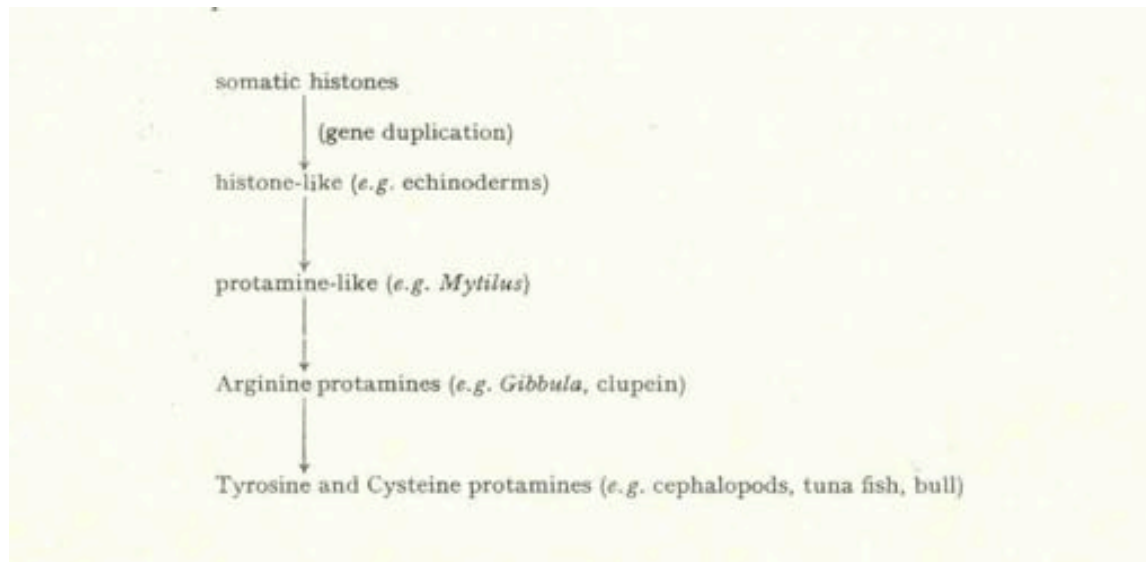


Figura 26: Patró evolutiu proposat per a les proteïnes dels espermatozous. SUBIRANA, JUAN ANTONIO, COZCOLLUELA, CARMEN, PALAU, JAUME, UNZETA, MERCEDES (1973). "Protamines and other basic proteins from spermatozoa of molluscs". *Biochim. Biophys. Acta*, 317, 364–379, a la pàgina 376.



Figura 27: Electroforesis en gel de poliacrilamida de les proteïnes bàsiques d'espermatozous de les espècies estudiades. SUBIRANA, JUAN ANTONIO, COZCOLLUELA, CARMEN, PALAU, JAUME, UNZETA, MERCEDES (1973). "Protamines and other basic proteins from spermatozoa of molluscs". *Biochim. Biophys. Acta*, 317, 364-379, a la pàgina 370.

Studies on the Role and Mode of Operation of the Very-Lysine-Rich Histones in Eukaryote Chromatin

The Conformation of $\phi 1$ Histones from Marine Invertebrate Sperm

Pedro PUIGDOMÉNECH, Oriol CABRÉ, and Jaime PALAU

Instituto de Biología Fundamental, Centro Coordinado del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Universidad Autónoma de Barcelona

E. Morton BRADBURY and Colin CRANE-ROBINSON

Biophysics Laboratories, Physics Department, Portsmouth Polytechnic

(Received June 2 / July 31, 1975)

Proton magnetic resonance, circular dichroism and infrared spectroscopy are used to investigate the secondary and tertiary structures of three very lysine-rich histones from marine invertebrate sperm. At high ionic strength both *Arbacia lixula* and *Holothuria tubulosa* histone $\phi 1$ are observed to contain 25–30% α -helix, no β -structure and to form specific folded structures. Both $\phi 1$ proton magnetic resonance spectra have perturbed methyl resonances at chemical shifts close to those observed for calf thymus H1, suggesting analogies in tertiary structure. *Mytilus edulis* histone $\phi 1$ however, shows no spectroscopic evidence of secondary and tertiary structure on salt addition.

The formation of specific folded structures in calf thymus histone H1 induced by increase of ionic strength or of pH has been demonstrated in the first paper of this series [1]. It appears that in histone H1 a highly ordered structure exists, which involves at least the central and less hydrophilic region of the molecule. This conclusion follows from the appearance of signals in the high-field part of the nuclear magnetic resonance (NMR) spectra of the protein, which are shifted by the ring-current effects of aromatic side chains. Furthermore the circular dichroism (CD) spectrum of H1 demonstrated the presence of some α -helix in the folded state.

In the present work we have extended our conformational studies to a group of sperm histones from marine invertebrates (coded as $\phi 1$ histones) which have been extracted from the species *Arbacia lixula* (sea urchin), *Holothuria tubulosa* (sea cucumber) and *Mytilus edulis* (sea mussel). These basic proteins can be considered analogous to histone H1 from somatic tissues of vertebrates in the sense that they have been prepared in the same way as histone H1 by the methods of Johns [2], they are electrophoretically homogeneous [3,4] and, with the exception of *M. edulis* histone $\phi 1$, they resemble calf thymus histone H1 in amino acid composition (see Table 1). The most striking features of the composition of these histones are the great

Abbreviations: NMR, nuclear magnetic resonance; CD, circular dichroism.

variability in arginine content, the small number of amino acids present in histone $\phi 1$ of *M. edulis* and the considerable variation in aromatic residues and in histidine. Despite these variations they are clearly closely related to calf thymus H1 histone.

As earlier stated [3] the high basicity of these histones could be related to the synthetic inactivity of the sperm nucleus as a whole. This also seems to be the case in different types of sperm [6] and in avian erythrocytes [7,8] which possess the additional histone H5, rich in lysine and in arginine.

Our aim in this paper is to investigate structural homologies and differences within the $\phi 1$ histones and to compare them with calf thymus histone H1. Such data are important to define which aspects of the secondary and tertiary structure of these histones are relevant for the preservation of any specific (though at present unknown) functionality of the H1 and $\phi 1$ molecules. In addition conformational studies on sperm histones may give a clue as to the state of the genome in these type of cells.

EXPERIMENTAL PROCEDURE

Nuclear Magnetic Resonance Spectra

Spectra at 270 MHz were run on a Bruker WH-270 spectrometer. Solutions were made up directly in $^2\text{H}_2\text{O}$ (99.8%). Standard 5-mm tubes were used, and

Figura 28: Primera plana del treball publicat per Palau i els seus col·laboradors de l'Institut de Biologia Fonamental amb Edward Bradbury i Colin Crane-Robinson. PUIGDOMÉNECH, PEDRO, CABRÉ, ORIOL, PALAU, JAIME, BRADBURY, EDWARD M. & CRANE-ROBINSON, COLIN (1975). "Studies on the Role and Mode of Operation of the very-Lysine-Rich Histones in Eucaryote Chromatin. The Conformation of $\phi 1$ Histones from Marine Invertebrate Sperm". *Eur. J. Biochem.* 59, 237–243.

Capítol 6

El DQM i les tècniques de difracció de RX aplicades als estudis de la nucleohistona

Un pas més en el programa de recerca d'estudis estructurals de les histones i altres proteïnes nuclears en invertebrats va ser la posada en marxa del laboratori de RX, on es van aplicar les tècniques de difracció de fibres per a l'estudi de la relació estructural entre aquestes proteïnes i el DNA. Aquest procés es va iniciar l'any 1968 i el laboratori va començar a ser operatiu cap el 1973. En aquest capítol s'estudia el procés pel qual es produeix aquesta posada en marxa i inclou un repàs de l'estat de la qüestió en l'aplicació d'aquestes tècniques a l'estudi de la nucleohistona en el moment en que es decideix la seva posada en marxa al DQM, així com el paper jugat per Alexander Rich en aquest procés. També s'estudia la producció científica del DQM mitjançant l'aplicació d'aquestes tècniques i les capacitats del Departament i dels tallers de l'Escola d'Enginyers per dissenyar, construir i introduir modificacions en els instruments en funció de les necessitats de la recerca.

6.1. Estructura d'histones i tècniques de difracció de RX

La idea de posar en marxa un laboratori d'aquestes característiques a Barcelona havia estat en el pensament de Palau i Subirana ja des de les seves estades postdoctorals als EUA i al Regne Unit, respectivament.³³⁰ Ara bé, al projecte de recerca desenvolupat des de 1966 amb l'ajut obtingut dels NIH s'havia fet ús d'altres tècniques de la química física de macromolècules amb les quals van contribuir a l'estudi de l'estructura de la nucleohistona. En aquest epígraf es repassen els inicis de l'aplicació de les tècniques de difracció de RX a l'estudi de la nucleohistona, que havia

³³⁰ JAS a JP, Rehovoth, 11-02-64 i 4-07-64; Barcelona, 5-05-65; Madrid, 10-07-65.

començat al Regne Unit a principis de la dècada dels 1960s, així com de les principals contribucions a aquest camp de recerca.³³¹

La difracció de fibres havia estat el mètode escollit per a l'estudi dels polímers en estat sòlid, seguint la línia de recerca de Franklin i Wilkins, que va ser la base de la proposta de Watson i Crick d'una estructura per al DNA. La unitat de biofísica del King's College, el grup de Butler al Chester Beatty Research Institute, així com el grup de biofísica de Portsmouth, liderat per Bradbury i Crane-Robinson, havien desenvolupat un enfocament de l'estudi de l'estructura de les histones mitjançant les tècniques de difracció de RX de fibres, fet que va influir decisivament en la decisió de Subirana de fer-les servir.

En general, la tècnica més important que es feia servir en l'anàlisi estructural de molècules complexes era la difracció de RX, si bé cal recalcar que aquesta donava informacions principalment de regions de l'espècimen en qüestió on les molècules es trobessin de manera ordenada, com per exemple les regions cristal·lines. Per poder decidir sobre el que es sabia de l'estructura de la nucleohistona calia comptar amb els resultats obtinguts mitjançant altres tècniques, com ara l'espectroscòpia d'infraroig i la dispersió òptica rotatòria (ORD), entre d'altres ja esmentades, i discutir aquests resultats juntament amb els de la difracció de RX. Per exemple, mitjançant l'ORD, s'observava que la histona es trobava en una configuració plegada, probablement en hèlix α .³³²

En aquells moments no era senzill interpretar els patrons de difracció de RX obtinguts de macromolècules en dissolució. Mitjançant el mètode d'assaig-error que es feia servir de manera comú en la cristal·lografia de RX, les estructures probables eren construïdes en forma de models, que eren observats, manipulats, provats i contrastats amb les dades obtingudes mitjançant les tècniques de difracció. Aquesta construcció de models era una part integral del procés de recerca i un pas essencial en

³³¹ Vegeu BONNER & TS'O (1964).

³³² Aquesta estructura per a les proteïnes havia estat proposada l'any 1950 per Linus Pauling i el seu col·laborador Robert Corey, tasca que ja havia començat cap a l'any 1939. Al voltant de Pauling i la hèlix α , vegeu OLBY (1994). Per detalls sobre l'estructura, vegeu LEHNINGER (1972).

els intents d'interpretació de les estructures dels cristalls i de les fibres, a partir de les imatges de RX que s'obtenien (Francoeur, 1997; de Chadarevian, 2004).³³³

Per als estudis de la nucleohistona per RX, es construïen models estructurals amb angles i distàncies d'enllaç acceptables fins que es trobava una estructura estereoquímicament raonable de manera que el càlcul del patró de difracció estés d'acord amb el que s'observava. Els angles i les distàncies d'enllaç s'obtenien de les conformacions determinades per a grups semblants en compostos més senzills. Calia conèixer, doncs, l'estructura química de les subunitats de les que estava format el polímer biològic abans d'emprendre la determinació de l'estructura. D'aquesta manera, l'estructura de la macromolècula a les seves regions cristal·lines podia ser establerta, sempre que el patró de difracció contingués suficient informació per tal que no sorgissin ambigüitats.

Els estudis de difracció de RX havien mostrat que l'estructura del DNA era la mateixa si es trobava aïllat o en combinació amb histones o protamines. Aquestes troballes estaven d'acord amb els resultats obtinguts en estudis de fibres orientades de DNA i nucleoproteïna mitjançant la espectroscòpia d'infraroig. Encara que no s'havia determinat la conformació del component proteic de la nucleohistona, hi havia propostes sobre l'estructura de la protamina. La incertesa en el cas de la nucleohistona es devia a que els patrons de difracció obtinguts, en no tractar-se de materials de naturalesa cristal·lina, no proporcionaven evidències positives de la presència d'estructura en hèlix α .³³⁴

A no ser que els patrons obtinguts fossin deguts als processos de preparació dels materials, i que poguessin ser millorats per estudis bioquímics posteriors, els mètodes de difracció de RX no semblaven poder portar a la determinació d'una única estructura molecular, si es que aquesta existia. Les fibres estan formades, normalment, per llargues molècules semblants a cadenes, empaquetades amb els seus eixos paral·lels o quasi paral·lels a l'eix de la fibra i tenen un eix direccional comú, però el grau d'ordre dins de les fibres varia considerablement. En algunes, les

³³³ Per més detalls al voltant de la construcció de models, i també per detalls sobre el model del DNA de Watson i Crick, vegeu DE CHADAREVIAN (2003).

³³⁴ En aquest sentit, cal recordar els treballs de Palau estudiats al capítol anterior.

molècules es troben arranjades de manera regular, formant regions quasi cristal·lines, però les diferents regions cristal·lines dins d'una fibra es troben orientades a l'atzar respecte del seu eix (Wilson, 1966). Si bé l'ordenació d'una fibra no era perfecta, a partir de la disposició de les taques a la imatge obtinguda es podia determinar la forma global de la molècula. Es va observar que els patrons de difracció de RX de la nucleohistona mostraven una sèrie de canvis característics en la seva conformació, en funció de la humitat a la que es trobava el material (Richards, 1964).

Un aspecte important de la recerca era l'estudi de les associacions que es donaven entre el DNA i les proteïnes nuclears. En aquells moments no se sabia del cert si la nucleohistona consistia en una sola molècula de DNA unida a una histona o diverses molècules de DNA unides amb aquesta proteïna bàsica. Tampoc se sabia res al voltant de com la proteïna s'uniria amb el DNA. La manca de dades físiques era tal que qualsevol model proposat per a la nucleohistona era especulatiu (Bradbury i Crane–Robinson, 1964).

A principis de la dècada dels 1960s s'intentava establir una correlació entre els patrons de difracció de RX i les imatges de l'estructura cel·lular obtingudes per microscòpia electrònica, i el cromosoma era una de les estructures més interessants per ser estudiades d'aquesta manera. Era difícil establir correlacions entre els patrons de difracció de RX i les imatges de microscòpia electrònica obtingudes de les estructures cel·lulars que contenien nucleohistona, però es pensava que podia ser important per conèixer l'estructura cromosòmica.³³⁵

Aquest era l'estat de la qüestió pel que feia a l'aplicació de les tècniques de difracció de RX als estudis de la nucleohistona. Com s'ha vist en capítols anteriors, un cop es van caracteritzar les proteïnes nuclears, es va procedir als estudis estructurals de la nucleohistona, en els que els grups de Palau i Subirana van intervenir, si bé fent ús de tècniques diferents. Dins del ventall de les disponibles en aquells moments, Subirana es va decidir per les de difracció de RX. Pensar en l'ús d'aquestes tècniques malgrat les dificultats que presentava el material objecte d'estudi i els pocs resultats

³³⁵ A la unitat de recerca en biofísica del King's College de Londres, Brian M. Richards treballava en aquesta qüestió. A Londres, Palau va treballar conjuntament amb Richards i Pardon en la seva única publicació en RX. Vegeu PALAU, PARDON i RICHARDS (1967).

que s'havien obtingut fins aquell moments es trobava en l'ambient del camp de recerca en el que van treballar.

6.2. La primera posada en marxa del laboratori de RX

La posada en marxa del laboratori de RX del DQM passa per dues etapes: des de 1968 a 1972, en paral·lel amb el desenvolupament del programa finançat pels NIH, quan es van comprar i instal·lar alguns dels instruments i es va iniciar un període de proves. Una segona etapa va començar a finals de 1972 i va permetre que, ja l'any 1973, comencés la publicació de treballs en aquesta línia. Però primer calia obtenir les fibres i aprendre a fotografiar-les mitjançant RX. Com es recordarà, al treball de Rehovoth, Subirana havia preparat les fibres, però no havia intervingut en l'aplicació d'aquestes tècniques. Però abans de mostrar aspectes concrets de la recerca al DQM mitjançant l'aplicació de les tècniques de difracció de RX, cal dedicar un espai a destacar el paper central que han jugat els instruments en el desenvolupament de la biologia molecular.

6.2.1. Algunes consideracions al voltant dels instruments de la biologia molecular

L'estudi de les macromolècules es troba íntimament relacionat amb el disseny i desenvolupament d'instruments sofisticats i complexos, aptes per treballar en l'ordre de dimensions requerit. Aquesta relació no és unívoca: sovint, aquests instruments van esdevenir els principis organitzadors de la recerca i van fer que aquesta es definís en funció seva i de les tècniques emprades. El procés de desenvolupament dels instruments que han jugat un paper crucial en la biologia molecular es pot dividir en dues etapes molt clares: el disseny de prototipus i la posterior producció d'instruments estàndard.³³⁶

³³⁶ Vegeu KAY (1988 i 1996); ELZEN (1993); RHEINBERGER (2001), BERTOMEU i GARCÍA (2002); CREAGER (2002).

Mentre aquests aparells es troben en fase de prototipus es dóna la interacció entre els científics que els fan servir i els enginyers que els dissenyen: les contribucions mútues són conegudes i es pot parlar de col·laboració. Va ser aquest pas de la col·laboració a la comercialització el que va marcar el seu desenvolupament: quan els aparells esdevenen productes comercials, la col·laboració es perd i les contribucions que havien permès el seu desenvolupament queden dins d'una "caixa negra", quan es deixa de conèixer exactament el seu mode de funcionament intern. Un aspecte del canvi d'escala que es va produir en la recerca científica al llarg del segle XX va ser que els fabricants d'instruments van preferir manufacturar aparells genèrics, és a dir, produir eines que podien ser utilitzades per diversos grups de científics i adaptades als recursos i interessos locals (Gaudillière i Löwy, 1998; Bertomeu i García, 2002).³³⁷

Moltes vegades, els aparells s'utilitzen tal com els ha subministrat el fabricant, però hi ha d'altres en que són modificats d'acord amb els objectius que es persegueixen. Nous plantejaments dins de la recerca generen noves preguntes i nous problemes i com més es fan servir els aparells per a diferents aplicacions, més problemes nous es presenten i són el punt de sortida de nous desenvolupaments en una àmplia varietat de direccions. Moltes vegades, el refinament dels aparells prové de les persones que, al laboratori, s'enfronten amb els seus problemes experimentals i intenten explotar els instruments per als seus propòsits particulars. En aquest sentit, el camp de la difracció de RX va portar sovint a la construcció o a l'adequació de la instrumentació a les necessitats dels laboratoris i el DQM no va ser aliè a aquests processos.³³⁸

També s'ha de tenir en compte que els aparells es troben dins d'un laboratori i necessiten un procés d'instal·lació, tenen uns requeriments per al seu funcionament i també una feina de manteniment, reparació i, si és el cas, de millora. És a dir, cal concebre i construir una instrumentació especial i instal·lar i mantenir l'equip del laboratori. En aquest sentit, els instruments són sempre individuals per molt que es

³³⁷ Per més detalls sobre fabricants d'instruments i la seva utilització pels científics, vegeu GAUDILLIÈRE i LÖWY (1998).

³³⁸ Per un cas concret en relació amb la difracció de RX, vegeu BERNAL (1927, 1928, 1929).

vulgui suposar que hagin de funcionar segons uns principis generals, i no són invariants als trasllats d'un laboratori a un altre ni a les descontextualitzacions, sinó que són elements plàstics de la activitat científica. Hi ha, doncs, una correspondència entre les necessitats de l'usuari i les solucions tècniques que els enginyers poden oferir. Això vol dir que no es pot establir una separació clara entre els enginyers i els científics. Tot i essent personatges diferents, treballen amb una mateixa finalitat: desenvolupar aparells eficaços per la (re)producció de fenòmens (Kay, 1988; Elzen, 1993; Rheinberger, 2001; Creager, 2002).

Un problema afegit en el cas espanyol va ser que els instruments i, en general, els mètodes experimentals havien estat inventats a l'estranger i la seva aplicació als laboratoris del país va fer que la frontera entre el coneixement i la tècnica, o l'instrument associat amb ella, es fes difús. Així, els instruments van esdevenir un actor més del procés de producció de coneixement i *condició indispensable* per l'existència de la biologia molecular en un determinat context local: disposar dels instruments va permetre l'articulació de laboratoris i grups de recerca al seu voltant.

En el cas objecte d'aquest estudi cal saber qui va posar en marxa i va optimitzar el funcionament d'aquests instruments i qui va ensenyar les noves tècniques. La interacció amb els enginyers no es va perdre sinó que es va donar una implicació directa d'aquests tant en la posada en marxa dels instruments com en la recerca que es feia al departament, com es veurà. Després d'un període de proves, d'aprenentatge de les tècniques i de la transmissió d'aquestes a més persones, es va donar la possibilitat d'obrir la "caixa negra" i introduir modificacions: l'instrument comercial és obert al laboratori per intervenir-hi, o dissenyar-ne i construir-ne de nous.

6.2.2. Alexander Rich

L'any 1968, aprofitant el parell de mesos d'estiu que va passar a Harvard, Subirana va establir contacte amb Alexander Rich, a qui va posar en coneixement del seu projecte d'aplicació de la difracció de RX als estudis de la nucleohistona. En aquells

moments, Rich ja havia deixat de treballar en fibres per passar a fer-ho en cristalls de macromolècules. Concretament estava treballant en estructura del RNA i la seva recerca s'emmarcava en la comprensió de la funció d'aquest àcid nucleic en la síntesi de proteïnes.³³⁹ Rich va suggerir a Subirana que anés a aprendre les tècniques amb els que encara treballaven en fibres, al Massachusetts General Hospital, on hi havia un laboratori de RX. Dins d'aquest grup s'hi trobava Lawrence Bonar, amic de Subirana des d'abans, qui el va ensenyar a treballar en fibres i on va fer les seves primeres fotos de DNA.

Un fet essencial va ser el material que Rich va proporcionar a Subirana: les microcàmeres de difracció, còpia de les Philips comercials que, segons Rich, haurien de ser molt útils per a la tasca que es volia dur a terme a Barcelona.³⁴⁰ Aquest aprenentatge i els materials proporcionats per Rich van ser essencials per tal de permetre la posada en marxa del laboratori de Barcelona l'any 1969.

En aquest punt, cal fer esment d'alguns trets de la trajectòria de Rich per valorar la seva importància i recordar el pes de Cambridge en el camp de la cristal·lografia i la combinació d'aquesta amb els ordinadors disponibles a l'època. La utilització d'aquest aparell, l'EDSAC, Electronic Delay Storage Automatic Calculator, conjuntament amb el poderós equip de difracció de RX construït al taller del Cavendish, havia contribuït a convertir el laboratori en el centre mundial de cristal·lografia de proteïnes cap a finals de la dècada dels 1950s.³⁴¹

L'equipament i les habilitats disponibles al laboratori de Cambridge van atreure nombrosos visitants, especialment a partir de la meitat de la dècada dels 1950s, entre ells Alexander Rich, *postdoc fellow* de Pauling, a Caltech. Des de 1954, Rich va treballar amb Crick a Cambridge en l'estructura del col·lagen i en aquest camp hi ha

³³⁹ Amb data 20 de desembre de 1968, Rich va publicar un treball a Science al voltant de l'estructura dels RNAs de transferència. El treball en qüestió és: "Single Crystals of Transfer RNA: an X-Ray Diffraction Study". *Science*, 162, 1381–1384. La seva publicació va venir acompanyada d'una polèmica de Rich amb Aaron Klug i Francis Crick, de Cambridge, al voltant de qui tenia prioritat en la descoberta de l'estructura del t-RNA. Els detalls d'aquesta disputa, cartes, pre-prints dels treballs i la publicació de la polèmica per part de *New Scientist*, s'han pogut consultar a la Wellcome Library de Londres, referència PP/CRI/D/2/35.

³⁴⁰ Entrevista de l'autor amb Joan Antoni Subirana, 1 de juny de 2005 i 13 de juliol de 2005.

³⁴¹ Per més detalls al voltant dels ordinadors disponibles i de la seva construcció, vegeu DE CHADAREVIAN (2002).

una publicació conjunta de 1955 on van proposar una estructura de triple hèlix per a aquesta molècula.³⁴² Mentre va ser a Cambridge, Rich va continuar els seus estudis sobre l'estructura del RNA, fent servir les tècniques de difracció de RX per obtenir imatges de RNA artificials (de Chadarevian, 2002).

El treball en DNA de Watson va guiar a aquest i a Rich en l'intent d'establir l'estructura del RNA mitjançant els mètodes de fabricació de fibres i la interpretació dels seus patrons de difracció.³⁴³ Fins 1956, Rich i Watson van continuar la seva col·laboració, incloent una nova estada a Cambridge. Des de 1955, Rich havia estat el cap de la secció de biofísica dels NIH i, l'any 1957, es va traslladar al departament de biologia del Massachusetts Institute of Technology (MIT), des d'on, mitjançant l'enzim descobert per Ochoa i Grunberg–Manago, va seguir fabricant RNA artificials que li van permetre observar que els patrons de RX obtinguts eren semblants als naturals (Judson, 1996).³⁴⁴

Rich també va participar en els projectes de desxifrar el codi genètic liderats per George Gamow. Aquest, Alexander Rich i Martynas Ycas van treballar mitjançant models teòrics en el *trencament* del codi genètic. Mentre Rich era postdoc amb Pauling a Caltech, Gamow havia visitat Berkeley per tal de discutir sobre el codi amb Delbrück i els seus col·legues i va ser on va conèixer Rich. Després d'aquestes trobades, Gamow va decidir organitzar una xarxa de científics: l'"RNA Tie Club". L'objectiu era afavorir la comunicació i els contactes, fent circular notes i manuscrits així com aconseguir finançament per dur a terme trobades regulars. Tant Rich com Paul Doty van formar part del Club (Kay, 2000).

³⁴² RICH i CRICK (1955). "The structure of collagen". *Nature* 176, 915–16.

³⁴³ RICH i WATSON (1954a); RICH i WATSON (1954b). Per més detalls de caire experimental, vegeu HOLMES (2001).

³⁴⁴ GRUNBERG–MANAGO, ORTIZ, & OCHOA (1955). "Enzymatic Synthesis of Nucleic Acidlike Polynucleotides", *Science*, 122: 907–910; GRUNBERG–MANAGO, ORTIZ & OCHOA (1956). "Enzymatic Synthesis of Polynucleotides", *Biochim. Biophys. Acta*, 20, 269–285. Per més detalls, vegeu SANTESMASES (2002c, 2005) i RICH (1957, 2006).

6.2.3. Les tècniques de difracció de RX a Barcelona

Un detall que permet constatar que la qüestió dels RX es començava a moure era que, en una carta de Subirana a Palau datada a l'estiu de 1968 a Harvard, es feia esment a certa documentació sobre aparells de RX que s'havia deixat a Barcelona i que volia li fos enviada per correu. També es tractava d'establir contacte amb el grup de cristal·lografia de Manuel Font–Altaba, de la càtedra de Cristal·lografia i Mineralogia de la Facultat de Geologia de la Universitat de Barcelona, per fer proves de difracció de fibres.³⁴⁵

Font–Altaba, que havia guanyat la càtedra l'any 1960, va aconseguir dotar el departament amb nous instruments que van permetre la posada en marxa de la recerca en cristal·lografia i mineralogia. La primera etapa d'aquesta recerca, durant la dècada dels 1960s, es va centrar en tres grans línies: cristal·loquímica i cristal·lofísica de minerals i resolució d'estructures fonamentals de materials orgànics. La línia de resolució d'estructures va representar, de fet, la continuïtat de la recerca personal de Font–Altaba, i va esdevenir un dels eixos fonamentals de la recerca del seu departament. Una segona etapa que es pot considerar que va començar ja la dècada dels 1970s va produir la posada en marxa d'un servei de difracció de RX. En definitiva, es tractava d'un grup molt consolidat. De fet, per al grup de Subirana, quan es va començar a pensar en treballar en RX, poder demanar assessorament a aquest grup va ser un avantatge important.³⁴⁶

Subirana va tornar a Barcelona amb els coneixements necessaris per afrontar la tasca de desenvolupar el laboratori de RX i amb un instrumental que havia de resultar de gran utilitat: les càmeres que van rebre el nom de RICH. No hi ha constància de que ningú en concret donés aquest nom a aquests instruments, si bé a l'hora de registrar-los a l'inventari del departament, les còpies que es van fer al taller de l'Escola

³⁴⁵ JAS a JP, Harvard, 30-6-68; JAS a JP, Harvard, 19-7-68.

³⁴⁶ Les dades del grup de Font–Altaba han estat obtingudes gràcies a Francesc Xavier Mañes, del CEHIC–UAB, que ha posat a la meua disposició un document inèdit de Miquel Àngel Cuevas i Duarte que explica la història del grup.

d'Enginyers es van catalogar amb aquest nom, que també es feia constar gravat a les càmeres.³⁴⁷

6.3. L'origen de les càmeres RICH

Estudiar l'origen d'aquestes càmeres i el procés de transformació al que van ser sotmeses a Barcelona és de gran interès ja que permet seguir les etapes de desenvolupament i modificació dels instruments de laboratori, a l'hora que mostra les capacitats del departament de Subirana en aquest sentit. Les càmeres que va portar dels EUA eren còpies d'una microcàmera Philips que es van fer per indicació del departament de Rich als tallers del MIT, on van ser modificades en la distància entre la fibra i la pel·lícula. D'aquestes se'n van fer còpies al taller de l'Escola, com més endavant es veurà.³⁴⁸

La microcàmera Philips de la qual va derivar la RICH va tenir el seu origen en un prototipus dissenyat per Frank Chesley, dels *Central Research Laboratories Inc.*, a Red Wing, Minnesota, EUA, l'any 1947 (Figura 29). Chesley proposava el disseny d'aquesta microcàmera per l'interès que hi havia en el camp de la tecnologia de les fibres, especialment en l'aplicació de les tècniques de difracció d'alt angle a l'examen tant de fibres naturals com sintètiques, així com en les aplicacions en que era desitjable que els espècimens fossin especialment prims. L'objectiu d'aquest disseny era el de aconseguir un arranjament senzill i mecànic del col·limador, del suport de la mostra i del suport de la pel·lícula, que fos compacte i que permetés l'evacuació de l'aire del seu interior, per tal d'eliminar el seu efecte en la dispersió dels RX. Un altre dels avantatges de la càmera havia de ser la seva facilitat per situar en posició la mostra que havia de ser examinada mitjançant un feix molt estret (col·limat) de RX (Chesley, 1947).

³⁴⁷ Vegeu l'inventari d'instruments de laboratori de RX i les imatges obtingudes d'aquests instruments.

³⁴⁸ Comunicació personal de Joan Antoni Subirana, Lourdes Campos i Joaquim Lloveras a l'autor, 11 de desembre de 2003. A l'inventari d'instruments del laboratori RX, amablement posat a la meua disposició per Subirana i Campos es pot consultar el preu d'aquests instruments i la propietat.

Les microtècniques de difracció de RX havien estat descrites i utilitzades principalment per Isidor Fankuchen i Hermann Mark, per a l'anàlisi de fibres de niló.³⁴⁹ Fankuchen va fer suggeriments tant pel que feia al disseny d'aquest instrument com de posteriors modificacions a introduir. En una curta nota a *The Review of Scientific Instruments* del mes de setembre de 1949, signada conjuntament amb Max E. Bergmann, es van presentar una sèrie de modificacions al prototipus de Chesley de l'any 1947. Per treballar amb fibres i amb espècimens biològics, sovint era desitjable obtenir detalls del patró de difracció corresponents a espaiats més grans dels que permetia la càmera original. Es podia incrementar la distància entre la pel·lícula i la mostra movent el suport d'aquesta cap a l'extrem de la càmera i reconstruint la part frontal per desplaçar el sistema de ranura i el suport de l'espècimen més enllà.³⁵⁰

La càmera que va arribar a Barcelona, coneguda com RICH I ja presentava, doncs, tota una sèrie de modificacions introduïdes al MIT respecte del prototipus i del posterior disseny Philips, especialment en el sistema col·limador i en la distància entre la fibra i la pel·lícula (Figures 31 i 32). Com es veurà, algunes de les noves modificacions introduïdes a Barcelona també van anar en aquest sentit.³⁵¹

³⁴⁹ FANKUCHEN & MARK, H.: *Report on Progress in Chemistry* (July–October, 1943); KRATKY & MARK: *Forstchritte auf dem Gebiete der Hochpolymeren* (Verlagsbuchhandlung Julius Springer, Berlin, 1938); FANKUCHEN & MARK: *J. App. Phys.* 15, 364 (1944). Herman Mark, juntament amb Kurt Meyer, havien establert l'estructura de la cel·lulosa i de la fibra de seda l'any 1928. Isidor Fankuchen havia estat col·laborador de J.D. Bernal.

³⁵⁰ FANKUCHEN & BERGMANN (1949). "Modification of X-Ray Microcamera to Permit Study of Long Spacings". *The Review of Scientific Instruments*, 20, 9.

³⁵¹ La microcàmera Philips era utilitzada pel grup de Wilkins al King's College. Aquest darrer detall s'ha pogut conèixer en consultar l'autobiografia de Maurice Wilkins. En l'apartat d'imatges, amb el n° 21, es pot observar l'instrument en qüestió, així com llegir que, efectivament, és un producte de Philips Electronic Instruments, però resulta impossible llegir el tipus de càmera del que es tracta, així com el n° de sèrie. En consultar el treball de Palau al King's College, no es pot saber si va ser aquesta la càmera que es va fer servir. Les referències bibliogràfiques són: PALAU, PARDON & RICHARDS (1967) i WILKINS (2003).

6.4. Les primeres proves a Barcelona

Generalment, les fonts documentals relacionades més directament amb els instruments són els registres numèrics o gràfics que molts d'ells produeixen, dels quals deriven les dades que cerquen els científics. En aquest sentit, les càmeres de difracció de RX produeixen imatges que posteriorment s'han d'interpretar fent ús de les matemàtiques, és a dir, que la seva interpretació és el producte de càlculs numèrics. Una altra font important de dades són les llibretes on es registren els experiments. Els inicis de les proves de RX a Barcelona s'han pogut seguir mitjançant la consulta de les llibretes on es van registrar aquests experiments, la qual cosa ha permès saber quina càmera i quin generador es va fer servir, qui va ser l'operador, la mostra que se sotmetia a prova, hores d'exposició als RX, voltatge i intensitat, així com les incidències que es produïen (Figura 32).

Quan es van començar les proves i la recerca amb les tècniques de difracció de RX, l'any 1969, es disposava de l'instrumental següent: la càmera RICH I, dita de col·limació, que Subirana havia portat dels EUA, proporcionada per Alexander Rich; una càmera WAHRUS n° 073 de col·limació, tipus Statton i un generador de RX, ENRAF NONIUS model Diffractis K, n° TC1088, amb tub Philips, PW 2113/35, n° 204747, de focus fi.³⁵² També es disposava d'un projector de perfils NIKON, model 6c, n° 11318, que permetia mesurar les distàncies entre les taques de difracció, com s'explicarà més endavant (Figura 33).³⁵³

De la consulta de la llibreta de registres del laboratori s'ha pogut saber que la primera prova de difracció de RX feta per Subirana va tenir lloc el dia 21 de novembre de 1969 amb la càmera RICH I i el generador ENRAF NONIUS i que, amb aquesta càmera, es van fer tres proves fins final d'any (Figura 32). Amb data 12 de desembre del mateix any 1969 es va fer la primera prova amb la càmera WAHRUS.

³⁵² Aquest tipus de material es va canviar sovint, per desgast. El n° esmenat és el del primer que es va adquirir.

³⁵³ Documentació de la instrumentació del laboratori RX. Es pot consultar el preu d'aquests instruments i la propietat. El país de fabricació d'aquest instrumental és EUA, a excepció del projector de perfils NIKON, de fabricació japonesa.

Durant l'any 1970, es van utilitzar les dues càmeres disponibles, sempre amb el mateix generador, l'ENRAF NONIUS. Les primeres 38 proves, entre el 21 de novembre de 1969 i el 20 de març de 1970 les va fer Subirana. Posteriorment, s'hi van incorporar Pallejà, Lluís Puigjaner, Pere Suau i Joaquim Lloveras. Mentre van durar aquestes proves es van adquirir altres instruments, com les càmeres SEARLE n° WS 0109-16, d'òptica toroïdal, i la SEARLE n°X109, amb òptica FRANKS (Figures 35 i 36).

També es va adquirir un microdensitòmetre JOYCE-LOEBL model MK III CS n° 1272.³⁵⁴ Aquest darrer instrument, així com el projector de perfils abans esmentat, complementaven la instrumentació (Figures 36 i 37).³⁵⁵ El microdensitòmetre es feia servir per mesurar la intensitat d'ennegriment dels films després de la difracció i la distància diametral de les taques quan era difícil d'esbrinar el punt exacte de màxima intensitat d'aquestes. Aquest ennegriment estava en relació directa amb la intensitat del feix difractat. L'instrument no s'emprava en totes les fotos sinó només en aquelles en les que es creia que s'havia produït un canvi en l'estructura, i s'havia de fer càlculs.

El projector de perfils era un aparell que ampliava l'objecte en una pantalla, i permetia observar i mesurar amb precisió els seus detalls. La seva utilitat principal era la comprovació de l'estat i posició de les fibres dins de capil·lars o enfront del forat del col·limador i per mesurar el diàmetre de les taques simètriques de difracció als films, els seus angles, i conèixer la seva àrea. També es feia servir per mesurar amb precisió el diàmetre de l'anell de difracció de mostres patró, per tal de calcular la distància entre la mostra i el film.³⁵⁶ Una altra utilitat d'aquest instrument va ser la de comprovar les peces fabricades al departament, fetes amb un petit torn de rellotger, i les fetes al taller de l'Escola, com després es veurà.

³⁵⁴ Informació referida a instrumentació obtinguda de l'inventari del laboratori de RX.

³⁵⁵ Inventari d'instruments del laboratori RX. Entrevista de l'autor amb Joaquim Lloveras, 27-03-03.

³⁵⁶ Per exemple, es feia servir la pols de cristalls de sulfur de molibdè, del que es coneixen els seus espaiats cristal·logràfics.

6.5. L'optimització del laboratori de RX al DQM. Joaquim Lloveras, el disseny i les modificacions dels instruments

En aquest punt s'ha de ressaltar la col·laboració Joaquim Lloveras, enginyer industrial especialitzat en electrònica. El tema de la seva tesi va ser la microelectroforesi, l'electroforesi preparativa i la difracció de RX, i va ser dirigida per Lluís Puigjaner. El seu treball en les tècniques d'electroforesi preparativa, com ja s'ha explicat, va ser el primer encàrrec que va rebre i va ser utilitzada en el treball que va culminar l'etapa d'estudi de les proteïnes nuclears dels invertebrats marins.³⁵⁷ La seva arribada al DQM es va produir en resposta a un anunci publicat a "La Vanguardia" on es demanava personal per a un laboratori de recerca. Després d'un breu intercanvi epistolar amb Subirana, on primer se li va comunicar que la plaça havia quedat ja coberta, va ser seleccionat per fer les proves i va passar una entrevista, després de la qual va ser escollit (Figura 38).³⁵⁸

Després de ser contractat, l'octubre del mateix any 1972, va sol·licitar, per indicació de Subirana i Puigjaner, una beca de formació de personal investigador (FPI) al Ministeri d'Educació, que també va obtenir i, en l'interval de la concessió d'aquesta beca, va tenir un contracte de mestre de taller. A més de la tasca pròpia del laboratori, va ensenyar les tècniques tant als nous tècnics com als estudiants, i va donar classes pràctiques a primer i segon cicle d'enginyeria industrial i en postgrau. També va donar classes de doctorat i va col·laborar en diverses tesis d'alumnes.³⁵⁹

Una tasca important va ser la d'impulsar el laboratori de difracció de RX que, en aquells moments, es trobava en una fase incipient. Lloveras va participar en el disseny i modificació dels aparells utilitzats en aquesta recerca i en el disseny dels serveis del laboratori. Aquesta feina, que va consistir tant en la posada en marxa com en la modificació i/o disseny de les càmeres, es va desenvolupar en funció de les necessitats del departament, comptant amb les capacitats d'aquest enginyer i les interaccions que

³⁵⁷ Vegeu SUBIRANA, COZCOLLUELA, PALAU & UNZETA (1973).

³⁵⁸ Cartes de JAS a Joaquim Lloveras, 7/03/72 i 13/03/72. Aquests materials han estat posats a la disposició de l'autor per Joaquim Lloveras.

³⁵⁹ Entrevista de l'autor amb Joaquim Lloveras, 13 de febrer de 2003.

va establir amb els científics que es dedicaven a la recerca i amb els mestres del taller de mecànica de l'Escola d'Enginyers, que tenien la possibilitat, dins d'una sèrie de limitacions, de fabricar els aparells i les peces o d'introduir les modificacions sol·licitades.

Els instruments, tant les càmeres RICH com les adquirides posteriorment, les Wahrus, la Toroïde i la Franks, van ser modificats i/o redissenyats en alguns aspectes per tal d'obtenir més prestacions. Els dissenys i/o modificacions es basaven en el fet de saber el que aquests aparells havien de portar i en les necessitats de la recerca. A partir de la idea sobre el disseny o de la modificació que s'havia de fer, es passava a l'elaboració d'un plànol senzill, fet normalment sobre paper mil·limetrat, que es portava al taller de l'Escola, juntament amb el material necessari per a la seva construcció.³⁶⁰

6.5.1. Un exemple de les capacitats del DQM: les càmeres RICH fabricades a Barcelona i les modificacions dels instruments estàndard

La càmera coneguda com RICH I, de la qual ja s'ha parlat anteriorment i, cal suposar que també la Philips que la va originar, va incloure modificacions respecte del prototipus original de Chelsey, especialment en el sistema col·limador i en la distància entre la fibra i el film. Com es veurà, algunes de les modificacions introduïdes en les còpies fetes a Barcelona també van anar en aquest sentit. Quina és la importància d'aquestes microcàmeres? Tot i no ser un disseny original, van ser les primeres que es van fer servir al laboratori, van estar en actiu fins l'any 1993 i permeten veure la capacitat del laboratori i del taller per construir i modificar instrumentació.³⁶¹

³⁶⁰ També entrevista de l'autor amb Cayetano Sierra, Francisco Navarro i Joaquim Lloveras, 25 de juny de 2003. D'aquests instruments i de la seva adquisició se'n ha fet esment en estudiar la primera posada en marxa del laboratori de RX. LA documentació consultada ha estat l'inventari d'instruments del laboratori de RX.

³⁶¹ Comunicació personal de Lourdes Campos i consulta dels llibres de registre d'activitats del laboratori RX.

Mentre va durar el període de proves, la càmera RICH I va ser utilitzada sense introduir noves modificacions. Posteriorment, els seus components van ser estudiats i es van elaborar els plànols, incloent les modificacions desitjades, que van permetre la construcció de les còpies al taller de l'Escola (Figures 39,40, i 41).

La descripció següent correspon a la càmera RICH IV (Figures 42, 43 i 44). Les modificacions introduïdes, que anaven dirigides a la seva millora i optimització van consistir, entre d'altres, en afegir nous components entre el col·limador (cilindre de vidre amb plom que té un petit forat cilíndric –capil·lar– al centre que el travessa, com si fos un tros de vidre de termòmetre, i que deixa passar i defineix un estret feix de RX) i el generador. També es va millorar el seu aïllament pel que feia a la radiació RX i amb l'exterior, i també en relació amb les tècniques concretes que es van aplicar.

Pel que fa a la estanquitat, es va afegir un film de *Mylar* que era prou transparent a la radiació alhora que resistent, la funció del qual era el manteniment del buit a l'interior de la càmera. A continuació del *Mylar*, es va afegir un *O-ring* circular fet de elastòmer, després del qual anava una rosca que va ser modificada per afegir plom protector. Aquesta peça permetia la seva adaptació a la finestra del generador de RX. Les modificacions esmentades fins aquí es refereixen als components situats entre la càmera pròpiament dita i el generador de RX. A l'interior de la càmera s'hi van introduir tot un seguit de modificacions dirigides a optimitzar la disposició de les fibres de DNA que s'havien d'estudiar.

Hi havia dues maneres de situar la fibra dins la càmera: dins d'un capil·lar segellat en el que es posava en un extrem una gota de solució salina saturada que donava a la fibra una humitat controlada, o bé la fibra posada directament davant del col·limador sense capil·lar, tot mantenint l'interior de la càmera en condicions d'humitat controlada. En el cas de fer servir els capil·lars, aquests es subjectaven amb *plastilina*, material dúctil que permetia manipular-lo per poder centrar la fibra davant del forat del col·limador. En el cas de fer servir les fibres directament en tensió es va dissenyar un estirador de fibres, ja que no hi era a la RICH I, però sí al prototipus de Chesley. Per fixar aquesta peça dins la càmera, i com que tenia un cert pes, va ser modificada afegint un imant circular al seu interior, que li donava una llibertat de

posició com la *plastilina* però amb un grau de fixació superior, ja que aquesta acabava movent-se a causa del pes i de les petites vibracions (Figura 45 i 46). Una modificació posterior va consistir en augmentar la distància entre la mostra i el film, per recollir millor unes difraccions a prop del centre del film.

Una de les prestacions requerides en la recerca era que totes les càmeres que es feien servir al laboratori poguessin funcionar en atmosfera d'hidrogen. Es va incloure la nova modificació consistent en un nou orifici per permetre el seu funcionament en aquestes condicions (Figures 41 i 43). Com que l'aire frenava la difracció, en funció del tipus de càmera o bé de les necessitats de l'experiment que s'estava fent, aquestes podien funcionar al buit, o bé en atmosfera d'hidrogen d'humitat controlada. Les funcions de l'hidrogen eren la d'eliminar l'aire i la de mantenir la mostra humitejada quan aquesta no estava tancada dins d'un tub capil·lar. Cal tenir en compte que les estructures de plegament del DNA depenen de la humitat i per aconseguir el grau d'humitat necessari en que tenia lloc l'experiment, es feia bombollear hidrogen en dissolucions saturades de certes sals, les quals donaven una pressió de vapor determinada, amb la qual cosa es podia saber la humitat que portava l'hidrogen a l'hora que es mantenia la fibra de DNA a la humitat adequada, ja que aquesta afectava l'estructura i al diagrama de difracció que s'obtenia. Aquestes modificacions es feien en base a que s'havia d'assolir un objectiu. Si s'havien d'aconseguir certes difraccions, s'havien d'ajustar molt bé les càmeres. De vegades aquestes no donaven les prestacions anunciades pel fabricant i, modificant peces, s'arribava a aconseguir.³⁶²

³⁶² Un cas va ser el de la càmera Wahrus, modificada per tal de reduir el background de l'instrument, que es va fer servir en un treball de 1977 del que es parlarà posteriorment. Entrevista de l'autor amb Joaquim Lloveras, 13-02-03 i 27-03-03. El treball és SUBIRANA, AZORÍN, ROCA, LLOVERAS, LLOPIS, i CORTADAS (1977). Segons consta a la memòria del laboratori de RX del període 1-9-75 fins 10-4-76 elaborada per Lloveras, la càmera d'òptica toroidal va ser enviada al King's College de Londres per tal que Pardon, del grup de Wilkins comprovés si aquest instrument donava un excésiu background. Es va arribar a la conclusió, segons Lloveras, que l'instrument no era apte per apreciar amb claretat certs anells de difracció, si bé constava així al manual d'instruccions. Vegeu memòria del període.

6.5.2. Serveis i manteniment del laboratori de RX

El funcionament del laboratori de RX no depenia únicament de la disponibilitat de generadors i càmeres, sinó que calien uns serveis i un manteniment. És a dir, hi havia molts detalls tècnics a tenir en compte. Joaquim Lloveras i l'enginyer tècnic Josep Maria Ripol s'encarregaven del manteniment del laboratori i dels aparells. Una de les preocupacions era la d'evitar tota radiació no desitjada, per petita que fos, en totes les càmeres i equips de RX, per protegir l'investigador i l'entorn del laboratori. En aquest sentit, Ripol va contribuir a la instal·lació d'un circuit electrònic de detecció de radiació ambient i amb aquesta finalitat es van instal·lar peces de plom addicionals a les càmeres de difracció i es va mantenir vigilada radiològicament l'àrea del laboratori (Figura 47).

Lloveras va dissenyar els serveis del laboratori posteriors a la primera posada en marxa i això va incloure un circuit d'hidrogen, que després va ser d'heli, i un servei de buit. Es disposava d'una bomba de paletes, funcionant contínuament al soterrani, que feia el buit al circuit situat al laboratori i que servia per eliminar l'aire de les càmeres (Figura 48).

També es va instal·lar un circuit tancat d'aigua de refrigeració que es va anar modificant a mesura que anaven creixent en nombre les càmeres i els generadors.³⁶³ En els circuits d'aire a pressió, es va instal·lar un sistema de compressor, de filtres, manòmetres de pressió, regulació, etc. Tota la maquinària i altres aparells necessaris d'aquests circuits ha estat instal·lada i funcionant al soterrani de l'Escola d'Enginyers, a sota del departament, excepte el d'heli, que es troba al mateix laboratori de difracció de RX (Figura 49).³⁶⁴

³⁶³ Ja durant l'època en que es va començar a treballar amb cristalls, es va instal·lar un circuit d'aire sec a pressió, que es refredava poc abans d'injectar-lo al cristall i mantenir-lo fred. Mantinent el cristall a una determinada temperatura es mantenia l'estructura.

³⁶⁴ Les obres que s'estan fent a l'Escola d'Enginyers des de 2006 han fet desmantellar aquestes instal·lacions.

6.6. La interacció entre el DQM i el taller/laboratori de l'Escola d'Enginyers: obrint les "caixes negres"

Les necessitats del DQM van anar des de la construcció de peces per modificar les càmeres de difracció de RX, fer-ne còpies, com el cas de les RICH, fins la instal·lació d'aquests aparells al laboratori.³⁶⁵ Aquest procés de modificació i/o disseny d'instruments va ser possible perquè es disposava d'un taller capaç de dur a terme el procés. El taller de l'Escola d'Enginyers va començar a funcionar el curs acadèmic 1967-68, sota la responsabilitat del Professor Cayetano Sierra, catedràtic de Mecànica. Aquest taller/laboratori tenia com a objectiu i estava dissenyat per a les pràctiques de mecanització de materials que haurien de fer els estudiants.³⁶⁶

Les primeres màquines del taller es van comprar amb una subvenció ministerial de dos milions de pessetes.³⁶⁷ El primer problema que es va afrontar va ser la falta de personal, i la direcció de l'Escola va contractar a Francisco Navarro com mestre de taller, amb la missió de fer servir les màquines i ensenyar el seu funcionament als alumnes, tot i que encara no es va establir un programa de pràctiques. Amb l'arribada de Navarro el taller va començar a tenir la possibilitat de funcionar i de ser útil a l'Escola.

La maquinaria i les eines de que es disposava permetien fer unes tasques molt fonamentals. No hi havia un pressupost que permetés l'adquisició de noves i era difícil treballar en aquella situació. Va ser en aquells moments quan van rebre els primers encàrrecs d'en Subirana, de la ma dels projectes de Lloveras. Aquests consistien en peces úniques, de les que se'n feien cinc o sis una sola vegada i això plantejava dos problemes. El primer, el cost, en cas d'haver necessitat un taller extern a l'Escola. El

³⁶⁵ En el camp dels dissenys propis, cal esmentar una càmera d'alta definició per part de Lloveras, si bé ja va ser durant la dècada dels 1980s.

³⁶⁶ La informació al voltant de la posada en marxa del Taller s'ha obtingut de l'entrevista de l'autor amb Cayetano Sierra, Francisco Navarro i Joaquim Lloveras , 25-06-2003.

³⁶⁷ Entrevista de l'autor amb Cayetano Sierra, Francisco Navarro i Joaquim Lloveras , 25-06-2003.

taller no tenia pressupost per fer-ho i qui demanava la feina portava aquest material, en aquest cas Subirana. La ma d'obra no es cobrava i el petit pressupost a disposició del taller es feia servir per comprar eines noves. El segon problema eren les dificultats que aquestes peces presentaven. La major part dels encàrrecs consistien en peces de mida petita per a les càmeres de difracció de RX, amb els seus problemes de mecanització.

Les eines de taller no eren les més adequades i tot acabava essent una qüestió de paciència, delicadesa i *savoir faire* per part de Navarro. Un cop fetes, les peces es provaven al laboratori, es comprovaven mitjançant el projector de perfils i, si era el cas, es modificaven seguint les noves indicacions. A falta d'eines més adequades, les solucions s'anaven trobant sobre la marxa. Malgrat aquestes dificultats els encàrrecs es podien complir ja que es tractava d'una feina que tenia un bon suport tècnic inicial: hi havia uns plànols. Per altra banda, Lloveras no es limitava a fer i dur els plànols, sinó que explicava quina era la funció de la peça que encarregava i això facilitava el desenvolupament del procés de mecanització.

El desmuntatge dels instruments els va permetre aprendre sobre aquests i dissenyar les modificacions necessàries en funció de la recerca que es volia dur a terme. La càmera RICH, com totes les altres disponibles, va ser desmuntada en sentit literal i metafòric. Literal, perquè ho va ser peça a peça. Si no s'anés més enllà, es podria parlar senzillament de tasques de manteniment i de neteja de l'instrument. El pas següent va ser el de la interacció entre els científics, els tècnics i el taller: es van estudiar les peces que constituïen l'instrument i es va proposar la seva reproducció i/o modificació: l'instrument va esdevenir una font d'obtenció de coneixement. Desmuntar l'instrument peça a peça també va permetre conèixer el funcionament de les seves parts i del conjunt. *Obrir la caixa negra* va permetre analitzar els components i pensar en com es van pensar.

En el cas objecte d'aquest estudi, els instruments no van ser en absolut caixes negres. El fet de desmuntar l'instrument s'ha d'interpretar com una conseqüència de l'interès especial que es tenia per augmentar les seves prestacions, per a poder-lo fer servir en unes condicions experimentals diferents de les originals per a les quals havia

estat dissenyat. No es va tractar tant d'obtenir informació sobre la història de l'instrument, com de la possibilitat de, un cop adquirits els coneixements que aquest els havia proporcionat, pensar i dur a terme modificacions concretes. Es sabia l'experiment que es volia fer i això portava a plantejar unes modificacions i no pas d'altres. D'aquest coneixement i de la interacció entre les persones que podien produir materialment aquestes modificacions, el taller de mecànica, se'n va derivar la possibilitat de dur-ho a terme.

La interacció entre els científics i els enginyers al DQM va ser contínua: els enginyers no eren personal aliè que rebia encàrrecs d'un departament de recerca biològica. Cal recordar la situació física del DQM: la seva pertinença a una escola d'enginyeria industrial. La cooperació, doncs, entre el personal tècnic i científic era singular i característica d'aquest cas. Cal ressaltar, però, la dicotomia que es donava pel que feia al tipus de recerca: una vessant dedicada a l'enginyeria industrial pròpiament dita i la de l'estudi estructural del DNA i les histones duta a terme per químics (Palau) i per enginyers químics (Subirana). Hi havia doncs recerca industrial i recerca biològica, aquesta darrera fomentada particularment per Subirana en el sentit d'acollir titulats de les facultats de ciències per als seus estudis de doctorat en biologia molecular estructural (UPB, 1977; Palau i Subirana, 1994; Cornudella, 2001). Tots els fets referits a la posada en marxa del laboratori de RX, amb les implicacions amb els enginyers i el taller, van portar a l'inici dels treballs del departament fent servir aquestes tècniques (Figura 50).

6.7. Els primers treballs en difracció de RX (1973–1977)

Tal com s'ha esmentat anteriorment, la posada en marxa del laboratori de RX va transcórrer en paral·lel amb el projecte de caracterització de les proteïnes nuclears, que va culminar l'any 1973 i, entre aquest any i 1977, el DQM va produir nou treballs aplicant les tècniques de difracció de RX.³⁶⁸ El mateix 1973, Subirana i Puigjaner van

³⁶⁸ Les referències són: SUBIRANA i PUIGJANER (1973); PUIGJANER i SUBIRANA (1974); SUBIRANA i PUIGJANER, LUIS (1974); SUBIRANA, PUIGJANER, ROCA, LLOPIS i SUAU (1975); LLOPIS i SUBIRANA

presentar una ponència al *Jerusalem Symposia on Quantum Chemistry and Biochemistry*, que tractava dels estudis per difracció de RX de les protamines de mol·luscs. Es volia determinar com els canvis en la composició de les proteïnes associades al DNA podrien influir en la seva estructura secundària i en la manera com aquestes proteïnes s'associaven a aquest DNA als caps d'esperma d'aquests organismes. Es volia estudiar la conformació que presentaven en el complex format amb el DNA en tres espècies de mol·luscs, a partir dels patrons de difracció obtinguts.³⁶⁹

Els materials d'estudi, doncs, van ser els habituals als treballs del grup i, com també s'havia donat en el cas de Palau, s'estava donant un clar canvi en les tècniques emprades. Com es recordarà, les proteïnes associades al DNA als nuclis espermàtics mostraven una gran variació en mida i en composició a diverses espècies. Per exemple, als equinoderms eren semblants a les histones, tal com Subirana i Palau havien demostrat ja l'any 1968.³⁷⁰

Les càmeres utilitzades van ser la RICH i les WAHRUS. Les fibres obtingudes van ser posades dins d'un capil·lar que contenia una certa quantitat de dissolució saturada de la mateixa sal amb que s'havia preparat la mostra a estudiar. Es van estudiar fibres al 100% de humitat relativa, en les quals es va fer servir aigua destil·lada i la mostra es va segellar dins del capil·lar. També es van estudiar fibres al 0% de humitat relativa, amb la qual cosa el capil·lar quedava obert, si bé es feia passar una atmosfera de hidrogen assecat sobre NaOH per la càmera. Com s'ha vist, el fet que les càmeres poguessin funcionar en atmosfera de hidrogen va ser possible després de les modificacions introduïdes per Joaquim Lloveras qui, en el moment en que es va fer aquest treball, ja era al departament.

Els resultats obtinguts van fer pensar que les petites diferències d'estructura obtingudes eren degudes a petits canvis en la composició de les proteïnes i al

(1975); SUBIRANA i MARTÍNEZ (1976); SUBIRANA (1975); SUBIRANA, AZORÍN, ROCA, LLOVERAS, LLOPIS i CORTADAS (1977); PUIGJANER i SUBIRANA (1977); SUAU i SUBIRANA (1977).

³⁶⁹ Els organismes estudiats van ser: *Mytilus edulis*, *Loligo pealeii*, *Gibbula divaricata*. Les característiques d'aquestes proteïnes feien que fossin considerades protamines. Als mol·luscs, aquestes proteïnes bàsiques eren intermèdies en mida i en composició a les histones i les protamines. El treball és: SUBIRANA i PUIGJANER (1973). Grant del Population Council.

³⁷⁰ SUBIRANA i PALAU (1968).

contingut salí. També es va comprovar que les fibres estudiades presentaven el DNA en forma B. Es convenient recordar que aquesta és la forma considerada de major interès biològic i és la que sol trobar-se al estudiar-se en dissolució, mentre que la forma A és la conformació que presenta el DNA en condicions de menor humitat i té una major tendència a cristal·litzar que la forma B, amb la qual cosa les seves fibres es disposen de manera molt més ordenada.³⁷¹

Per altra banda, el grau de cristal·linitat i d'orientació de les fibres canviava segons els materials i en aquells moments no era possible decidir si les diferències es devien a les condicions de preparació de les fibres o si eren intrínseques a la composició química de les diverses protamines estudiades, si bé aquest darrer factor no semblava tenir molta influència en els trets bàsics dels complexos que es formaven. Dels patrons de difracció obtinguts semblava deduir-se la ubicació de la protamina en un solc estret del DNA, tal com havia estat interpretat amb anterioritat.³⁷²

Pel que feia a la influència de la humitat relativa, els resultats obtinguts demostraven que l'aigua tenia un accés limitat a l'estructura. Al mateix temps, la forma B del DNA s'estabilitzava i esdevenia menys sensible als canvis en aquesta humitat relativa i aquest comportament era consistent amb la idea que les protamines exercien un funció de protecció del DNA als caps d'esperma, qüestió ja suggerida per Bloch l'any 1969, si bé en aquells moments, com s'ha vist, no es trobava gaire definida. L'estabilitat de la xarxa suggeria que els enzims degradadors i altres macromolècules no podien penetrar fàcilment en aquesta i no tenien accés al DNA.

³⁷¹ Es donava un empaquetament hexagonal, amb una sola molècula per cel·la unitat, així com un desordre en aquest empaquetament, que es podia detectar per la forta difracció que produïa. És d'interès esmentar el treball de Rosalind Franklin en la forma A del DNA, cosa que potser podria considerar-se com un error per la seva part, però, si el DNA també es podia trobar en aquesta configuració, no havia de deixar-se sense investigar. La transició entre les dues formes, quan es variaven les condicions d'humitat de la mostra, demanava una explicació que requeria un ampli coneixement de les dues. Si es considera l'apropament sistemàtic i metodològic des del punt de vista cristal·logràfic aplicat per Franklin, la forma A oferia avantatges considerables, ja que aquesta es presentava en una forma més cristal·lina i donava millors patrons de difracció, tot i que la forma B, si bé donava un patró més difús, apareixia més helicoida. Com que la forma B ha demostrat ser més productiva en suggerir una estructura, el treball de Franklin amb la forma A ha estat bastant ignorat. Per més detalls al voltant d'aquesta qüestió, vegeu SAYRE (1975).

³⁷² Treballs de Wilkins i els seus col·laboradors i de Bradbury i els seus col·laboradors al *Journal of Molecular Biology* l'any 1962. Vegeu FREDERICQ (1971).

Aquesta insensibilitat en front dels canvis en la humitat relativa indicava que sota aquestes condicions, el DNA tenia disminuïda la seva reactivitat química i, per tant, seria menys susceptible a reaccions mutagèniques, de manera que les protamines protegien el DNA de l'esperma en front de canvis químics, funció que ja havia estat suggerida en treballs anteriors. Els resultats contribuïen, segons els autors, a l'enteniment del paper biològic que jugaven aquestes proteïnes al cap de l'esperma, qüestió que ja formava part de la recerca del grup. (Subirana i Puigjaner, 1973).³⁷³

A la breu discussió posterior a la presentació de la comunicació, es va fer palesa la dificultat experimental que presentava l'estudi de fibres de nucleoprotamina per difracció de RX, qüestió que ja s'havia plantejat anys enrere als grups que s'havien dedicat a aquest tipus de recerca, en tractar-se de materials no cristal·lins.³⁷⁴

Les dificultats que presentava la interpretació dels patrons de difracció de la nucleohistona els va portar, l'any 1974, a proposar certs models teòrics per tal d'establir correlacions amb els resultats experimentals i que fossin útils per a la interpretació dels patrons de difracció de RX de sistemes desordenats o parcialment ordenats, com era el cas de la nucleohistona.³⁷⁵ És d'interès esmentar que el darrer del treballs publicats aquell any ho va ser als *Proceedings of the National Academy of Sciences*, que va ser comunicat per Paul Doty (Figura 51).

El primer dels models proposats, en la línia de treballs anteriors i que consistia en una estructura polihelicoïdal, presentava una bona correlació amb algunes de les característiques que s'havien observat per microscòpia electrònica, si bé no permetia

³⁷³ Si bé aquest treball es va dur a terme al laboratori de RX que ja es trobava en funcionament, i amb les càmeres de les quals ja s'ha parlat, el treball de càlcul matemàtic es va fer al departament de control automàtic de l'Escola, on es va disposar del temps lliure de l'ordinador disponible.

³⁷⁴ Al voltant d'aquesta qüestió, vegeu BRADBURY & CRANE-ROBINSON (1964 i 1971), RICHARDS (1964), ZUBAY (1964) i SUBIRANA (1985).

³⁷⁵ Subirana i Puigjaner van presentar una comunicació al 17a reunió anual de la Societat Americana de Biofísica, i van publicar un treball als *Proceedings of the National Academy of Sciences* dels EUA el mes de maig del mateix any, així com al *Journal of Applied Crystallography*. Les referències són: PUIGJANER i SUBIRANA (1974); SUBIRANA i PUIGJANER (1974), finançat pel grant del Population Council, publicat al *PNAS*. Un nou treball de caire teòric va ser SUBIRANA, PUIGJANER, ROCA, LLOPIS i SUAU (1975). Subirana va dirigir la tesi doctoral de José Roca, de títol "Histonas y Nucleohistonas espermáticas", llogada l'any 1975. Subirana també havia dirigit la tesi de Remedios Llopis, filla de Juan Llopis Marí, que es va llegir l'any 1974 de títol "Físicoquímica de las nucleoproteínas".

interpretar del tot els resultats obtinguts per RX sense haver de fer algunes assumpcions addicionals. Un segon model, en el qual es donaria una distribució regular de ponts entre la histona i el DNA al llarg d'aquest, semblant al col·lagen, si que presentava correlació amb les dades de RX: es podia predir una distribució regular de les histones al llarg del DNA així com algunes característiques estructurals que impedièien l'orientació de les seves molècules, si bé no es disposava d'evidències experimentals en aquells moments.

La semblança entre les proteïnes de l'esperma i les histones somàtiques i el seu significat biològic seguia essent d'interès per Subirana i els seus col·laboradors. Els resultats disponibles en aquells moment permetien saber que es donava un ampli ventall de variabilitat en aquestes proteïnes, si bé no es podia establir cap correlació clara amb el tipus de fertilització, el desenvolupament embrionari, o la posició evolutiva de les diferents espècies estudiades.³⁷⁶ Hauria d'existir alguna correlació entre el grau de condensació de la cromatina als espermatozous i la naturalesa de la proteïna associada amb al DNA, qüestió suggerida anys enrere a partir dels resultats obtinguts fent servir tècniques de microscòpia electrònica.³⁷⁷ A més, les tècniques de RX havien permès mostrar que l'aigua tenia poc accés al complex DNA–protamina i que la forma B del DNA quedava estabilitzada i esdevenia menys sensible a canvis en la humitat relativa.³⁷⁸

A data de 1975 es disposava de nova informació que permetia clarificar alguns dels problemes plantejats en referència a les possibles funcions de les histones. Un dels papers que jugaven aquestes proteïnes era el que empaquetar el material genètic

³⁷⁶ SUBIRANA (1975). Es tracta d'un treball de revisió.

³⁷⁷ Vegeu PLADELLORENS i SUBIRANA (1970). Un nou treball de Subirana amb Pladellorrens al voltant de l'espermio-genèsi de *Holothuria tubulosa* es va publicar l'any 1975. Vegeu PLADELLORENS i SUBIRANA (1975).

³⁷⁸ Un percentatge baix de conservació de histones somàtiques i una alta basicitat de les proteïnes espermàtiques anava en paral·lel amb un alt grau de condensació de la cromatina al nucli de l'esperma. A més, en mamífers i cefalòpodes, que presentaven proteïnes espermàtiques molt bàsiques i no pas histones, la cromatina era molt compacta. En aquest sentit, els estudis de RX fets per Wilkins l'any 1956 semblaven confirmar aquest punt de vista. Vegeu SUBIRANA i PUIGJANER (1973).

per què ocupés un volum petit. Aquest empaquetament, com s'havia suggerit, hauria de fer eficient la forma hidrodinàmica de l'espermatozou durant la fecundació.³⁷⁹

En aquest punt s'ha de recordar el treball de l'any 1973 a *Biochimica et Biophysica Acta*, on els resultats de l'estudi de les proteïnes espermàtiques de tot un conjunt de d'espècies, els havia portat a suggerir que aquestes haurien sorgit d'un precursor histònic comú per pressió selectiva.³⁸⁰ La variabilitat que presentaven aquestes proteïnes podien fer pensar que la funció d'empaquetament i protecció seria inespecífica. Si bé en algunes espècies ho semblava, probablement no seria la seva funció general i caldria pensar que aquestes es trobessin involucrades en altres processos bioquímics que tinguessin lloc durant l'espermatogènesi i, potser, durant la fecundació. El desconeixement de la bioquímica de l'espermatogènesi en aquells moments no permetia majors precisions.

El treballs experimentals aplicant les tècniques de RX van continuar en forma de publicacions a partir de 1975.³⁸¹ Es van preparar fibres de nucleohistona a partir dels organismes utilitzats habitualment. Els patrons de difracció es van obtenir amb la càmera RICH, la Franks, fabricada per Searle, així com amb la d'òptica toroïdal i la Statton pinhole, fabricades per W.H. Wahrus, als EUA. Indistintament, aquestes càmeres es connectaven als generadors de RX disponibles, l'ENRAF de focus fi i l'AMR-Norelco de microfocus i també al ELLIOT GX6 d'ànode rotatori.³⁸²

En aquest punt cal donar alguns detalls al voltant d'aquesta instrumentació, ja que un dels majors problemes de la cristal·lografia de molècules grans havia estat el feble poder de difracció de les mostres. Per resoldre-ho es van construir els

³⁷⁹ La presència de ponts de cisteïna, qüestió que havia estudiat Palau des de l'IBF, semblava reforçar la hipòtesi d'aquesta funció de protecció del DNA. Vegeu també SUBIRANA (1975).

³⁸⁰ Vegeu SUBIRANA, COZCOLLUELA, PALAU & UNZETA (1973).

³⁸¹ LLOPIS & SUBIRANA (1975); SUBIRANA & MARTÍNEZ (1976).

³⁸² Vegeu l'inventari dels instruments del laboratori de RX, per a dates concretes de compra i propietat d'aquests materials. Es d'esmentar que al treball de 1975 signat per Remedios Llopis i Subirana, es parla de la utilització d'una microcàmera Philips, quan al DQM el que hi havia eren les còpies que s'havien fet de la RICH I que, al seu temps SI que era còpia d'un original Phillips. Per a detalls d'ús, reparacions i manteniment de l'equip, vegeu memòria del període 1-9-75 al 10-4-76 d'activitats del laboratori de RX, amablement posada a la meua disposició per Joaquim Lloveras. Aquesta va ser la primera memòria d'activitats del laboratori de RX.

generadors d'ànode rotatori per incrementar la brillantor i la potència i concentrar el feix d'electrons del tub en una superfície petita.

El tub generador de RX d'ànode rotatori havia estat dissenyat per Abraham Taylor a Birmingham. A partir d'aquest prototipus, l'enginyer Anthony Broad, a Cambridge, el va desenvolupar millorant el disseny previ l'any 1952, en un moment en que el desenvolupament de noves tecnologies era una prioritat i molts instruments havien estat introduïts als laboratoris abans d'estar disponibles comercialment. El tub proporcionava un feix deu vegades més fort que qualsevol aparell comercial d'aquella època i el fet que l'ànode rotés feia que cap dels seus components s'escalfés prou com per patir danys, amb la qual cosa podia funcionar durant mesos sense espatllar-se. L'instrument va ser millorat per Hugh Huxley i Ken Holmes abans de ser produït comercialment per Elliott Bros (Arndt, 2001; de Chadarevian, 2002; Ferry, 2007).

A més de les càmeres RICH fabricades al taller de l'Escola, les estàndard van ser modificades en funció de les necessitats de la recerca. Un cas concret va ser el de la càmera Wahrus, especialment esmentat a les publicacions del DQM. Per tal de millorar la precisió, aquesta càmera va ser modificada en el sentit de reduir el soroll de fons produït per l'instrument, seguint recomanacions d'altres autors sobre l'ús efectiu de les obertures dels col·limadors en càmeres de RX de baix angle.³⁸³

La *regió de baix angle* del patró de difracció correspon a la que es troba pròxima al feix directe de radiació. Com que hi ha una relació inversa entre l'angle de difracció i l'espaiat en l'objecte difractat, l'angle de difracció baix dona informació a gran escala sobre l'estructura de les molècules més que no pas sobre l'estructura atòmica. D'aquesta manera, la dispersió de RX de baix angle pot donar informació sobre la forma general de la molècula estudiada (Wilson, 1966).

Els treballs en difracció de RX del DQM havien permès obtenir resultats al voltant de l'estructura de la cromatina més precisos dels que es disposaven fins llavors, però aquests no permetien donar una interpretació inequívoca i semblaven indicar que les nucleohistones dels espermatozous de les espècies estudiades només

³⁸³ Vegeu SUBIRANA, AZORÍN, ROCA, LLOVERAS, LLOPIS & CORTADAS (1977). En aquest treball es va disposar de la col·laboració de F. Daniels, del King's College de Londres, que els va construir un col·limador.

presentaven lleugeres diferències en composició química i patrons de difracció de RX quan eren comparades amb les nucleohistones somàtiques. Cal recordar que el model que començava a ser acceptat en aquells moments era el del nucleosoma, proposat per Kornberg, però semblaven possibles altres interpretacions. Hauria de ser l'anàlisi detallada d'aquestes possibilitats la que podria aportar dades per dissenyar experiments decisius per trobar la interpretació més adient per a determinar la distribució espacial del DNA i de les proteïnes associades en les subunitats de la cromatina.

Calia conèixer amb detall aquesta disposició fonamental si es volien comprendre els mecanismes de regulació genètica i l'estructura dels cromosomes i qualsevol model estructural de la cromatina havia de ser compatible amb els resultats experimentals que proporcionava la difracció de RX. A l'hora d'interpretar els resultats s'havia de tenir en compte que els gels de cromatina que es feien servir estaven formats per una barreja de dos tipus d'estructura, fibrosa i globular, tal com havien mostrat publicacions recents del grup.³⁸⁴

Subirana i els seus col·laboradors es van basar en model del *supercoiling*, superenrotllament, proposat per Pardon i Wilkins l'any 1972 i que es trobava sota estudi en aquells moments. Van generalitzar aquesta proposta en un model polihelicoïdal, en el qual es mostrava que els resultats experimentals obtinguts podien explicar-se millor si es considerava aquesta mescla d'estructures: fibrosa i globular.³⁸⁵ Però aviat es van adonar que un model basat en la simetria helicoïdal no era l'adequat per a la interpretació dels resultats de la difracció i es va plantejar una organització repetitiva de les histones i el DNA que era consistent amb els patrons de RX obtinguts.³⁸⁶

El model del nucleosoma era el que permetia explicar la falta d'ordenació que presentava el DNA als diagrames de difracció de RX, així com l'existència d'aquesta

³⁸⁴ Ja des dels inicis dels estudis estructurals de les proteïnes, es va plantejar l'existència de dos tipus generals: les fibroses i les globulars. Vegeu LEHNINGER (1972) per l'estat de la qüestió en els moments en que Subirana i els seus col·laboradors hi estaven treballant. Per una perspectiva històrica del tema, vegeu OLBY (1994).

³⁸⁵ Vegeu PARDON i WILKINS (1972). També LLOPIS i SUBIRANA (1975), PUIGJANER i SUBIRANA (1977), i SUBIRANA, AZORÍN, ROCA, LLOVERAS, LLOPIS i CORTADAS (1977).

³⁸⁶ Vegeu SUBIRANA, PUIGJANER, ROCA, LLOPIS i SUAÚ (1975).

estructura repetitiva i, mitjançant l'anàlisi d'aquests diagrames, es podia arribar a precisar que aquestes subunitats dels cromosomes estaven constituïdes per un glòbul de histones envoltat per DNA.³⁸⁷

Com més s'en sabia d'altres coses, DNA, codi genètic, els diversos tipus de RNA, etc., més complexes eren les preguntes al voltant de les histones i les protamines, i més difícil donar respostes. Si bé el DNA i les histones es trobaven implicats en tots els processos genètics com a constituents químics dels cromosomes, no se sabia com aquesta organització en nucleosomes podia intervenir en els processos bioquímics específics com ara la duplicació, la síntesi d'àcids ribonucleics i el control de l'activitat d'un gen en diferents cèl·lules. Tampoc se sabia com s'articulaven els nucleosomes per formar els cromosomes o el nucli cel·lular i es desconeixia com, des del punt de vista estructural, aquests nucleosomes es podrien associar mútuament, tot i que, en aquells moments es pensava que algun tipus de histona, com la H1, intervindria determinant la seva forma d'associació, si bé el mecanisme d'acció no estava clar. En poques paraules: es continuava sense saber com relacionar estructura amb funció al cromosoma.

Una contribució important en aquest sentit es va donar quan, l'any 1977, el grup de Bradbury i Crane-Robinson, de Portsmouth, amb els que Palau col·laborava en aquells moments, va publicar un treball on es presentaven els resultats obtinguts treballant amb fibres reconstituïdes de DNA i histones H3 i H4.³⁸⁸ La fibra obtinguda va ser estudiada per difracció de RX de baix angle, i es va obtenir un patró que es corresponia amb el de la cromatina. Més interessant encara, mitjançant la seva digestió per nucleasa, es va obtenir una partícula de mobilitat electroforètica semblant a la del nucleosoma, que els va portar a suggerir la importància de les histones H3 i H4 en la generació del *supercoiling* que donava lloc a aquesta estructura. Aquests resultats van permetre començar a relacionar fraccions històniques concretes amb l'estructura del nucleosoma i, en definitiva, del cromosoma, tal com també estava fent Palau, si bé aplicant altres tècniques, com s'ha vist.

³⁸⁷ Aquesta revisió al voltant del nucleosoma ha estat elaborada a partir d'un treball que Subirana va publicar a *Investigación y Ciencia*, l'octubre de 1977. Vegeu SUBIRANA (1977).

³⁸⁸ MOSS et al.(1977).

La recerca del DQM no només havia tingut com objecte d'estudi les histones, sinó que també s'havien estudiat les protamines. D'aquesta manera, es van utilitzar les tècniques de RX amb l'objectiu de conèixer el significat biològic d'aquestes proteïnes en els caps d'esperma on es trobaven presents.³⁸⁹ Els treballs que havien aparegut des de la meitat de la dècada dels 1960s i durant la primera meitat de la dècada dels 1970s duts a terme, entre d'altres, per Suwalsky i Traub, amb qui Subirana havia col·laborat a Israel, s'havien limitat a l'estudi de protamines de peixos, de manera que s'havia dedicat poca atenció a altres espècies que mostraven diferències considerables en la seva mida i en la seva composició en aminoàcids, tal com Subirana, Palau i els seus col·laboradors havien mostrat l'any 1973.³⁹⁰

Si bé mitjançant l'ús de tècniques d'espectroscòpia ja s'havia mostrat que les protamines estabilitzaven el DNA en la seva forma B, Subirana i el seu col·laborador i doctorand Pere Suau ho van confirmar mitjançant l'aplicació de les tècniques de difracció de RX, i van arribar a la conclusió que aquesta estabilització seria una de les característiques més importants del complex de la nucleoprotamina. Igualment, dels patrons obtinguts se'n va derivar la conclusió que les diferències en la composició i la mida de les protamines no semblaven tenir molta influència en aquests, si bé semblava que serien uns aminoàcids concrets els que es trobarien implicats en aquesta funció.³⁹¹

Malgrat les diferències considerables que presentaven les protamines en la seva composició en aminoàcids, totes elles tendien a tenir la mateixa funció estabilitzadora

³⁸⁹ SUAU i SUBIRANA (1977). La càmera de difracció de RX que es va ser servir en aquesta ocasió va ser la Statton pinhole de baix angle que ja havia estat modificada per a millorar les seves prestacions, tal com s'ha esmentat més amunt.

Suau tenia una beca del Ministerio de Educación y Ciencia. La seva tesi doctoral es troba relacionada amb aquesta publicació. El seu títol és "Aspectos estructurales de las nucleoprotaminas por difracción de RX", que va ser llegida l'any 1975.

³⁹⁰ Es va concloure que els ponts entre la protamina i el DNA, relacionats amb la quantitat de tirosina present en aquestes molècules, serien els responsables d'aquest fet. Vegeu SUBIRANA, COZCOLLUELA, PALAU i UNZETA (1973) i SUBIRANA i PUIGJANER (1973).

³⁹¹ Aspecte ja esmentat a SUBIRANA i PUIGJANER (1973). La presència de tirosina i la seva relació amb l'estructura de la nucleohistona havia estat estudiat per Palau des de l'IBF, si bé fent servir altres tècniques, com ja s'ha estudiat. Aquest aminoàcid es trobava present en quantitats substancials a diverses protamines i tenia un interès especial per la seva potencial interacció amb les bases nitrogenades del DNA. Vegeu PALAU i PADRÓS (1975).

en el DNA, que mantenia la seva forma B en totes les condicions de humitat, és a dir, prevenint la transició a altres formes, si bé els requeriments estructurals per a l'estabilització de la forma B semblaven més complexos. El treball en curs al DQM anava dirigit a investigar complexos de DNA i histones concretes, com va ser el cas del DNA amb la histona H1, i veure com es produïen transicions cap a la forma A quan la humitat disminuïa.

En definitiva, es volia conèixer l'estructura de la nucleohistona, que era l'objectiu final del projecte de recerca que havien començat a madurar Palau i Subirana ja des de les seves estades postdoctorals. A l'IBF, Palau i els seus col·laboradors estaven intentant resoldre el mateix problema fent ús, com s'ha vist, de tècniques diferents: es volia conèixer quins aminoàcids estarien directament implicats en aquesta funció protectora i/o estabilitzadora de la nucleohistona i quines serien les seves particularitats estructurals.

6.8. Conclusions

Entre 1968 i 1973 es va posar en marxa el laboratori de difracció de RX al Departament de Química Macromolecular. Els estudis de difracció de fibres que es van posar en marxa cercaven determinar si el DNA canviava la seva estructura quan es trobava associat a proteïnes i, d'aquesta manera, proposar models estructurals per a la nucleohistona.

Per tal d'assolir aquest objectiu, Subirana va aprendre aquestes tècniques al Massachusetts General Hospital. Cal fer esment de la importància de les orientacions donades per Alexander Rich i dels instruments que va proporcionar a Subirana, per tal de poder dur a terme la recerca que el seu grup s'havia plantejat: les càmeres que a Barcelona es van conèixer amb el nom de RICH.

En aquest punt és de cabdal importància ressaltar la importància de la instrumentació. La disponibilitat dels instruments proporcionats per Rich i d'altres que van ser adquirits en aquells moments, la feina desenvolupada per l'enginyer Joaquim Lloveras, i la capacitat del taller de mecànica de l'Escola d'Enginyers per construir-ne

de nous o introduir les modificacions requerides en els aparells estàndard seguint els seus requeriments, van permetre que el DQM comencés la seva producció científica amb les noves tècniques seguint amb el mateix objectiu que anys abans s'havien proposat Palau i Subirana en aquest camp. Els treballs del grup en aquest camp, entre 1973 i 1977, van aportar nous coneixements al voltant de l'estructura de la cromatina, de la funció d'empaquetament del material genètic al cap dels espermatozous i de la funció estabilitzadora del DNA que desenvolupaven les protamines.

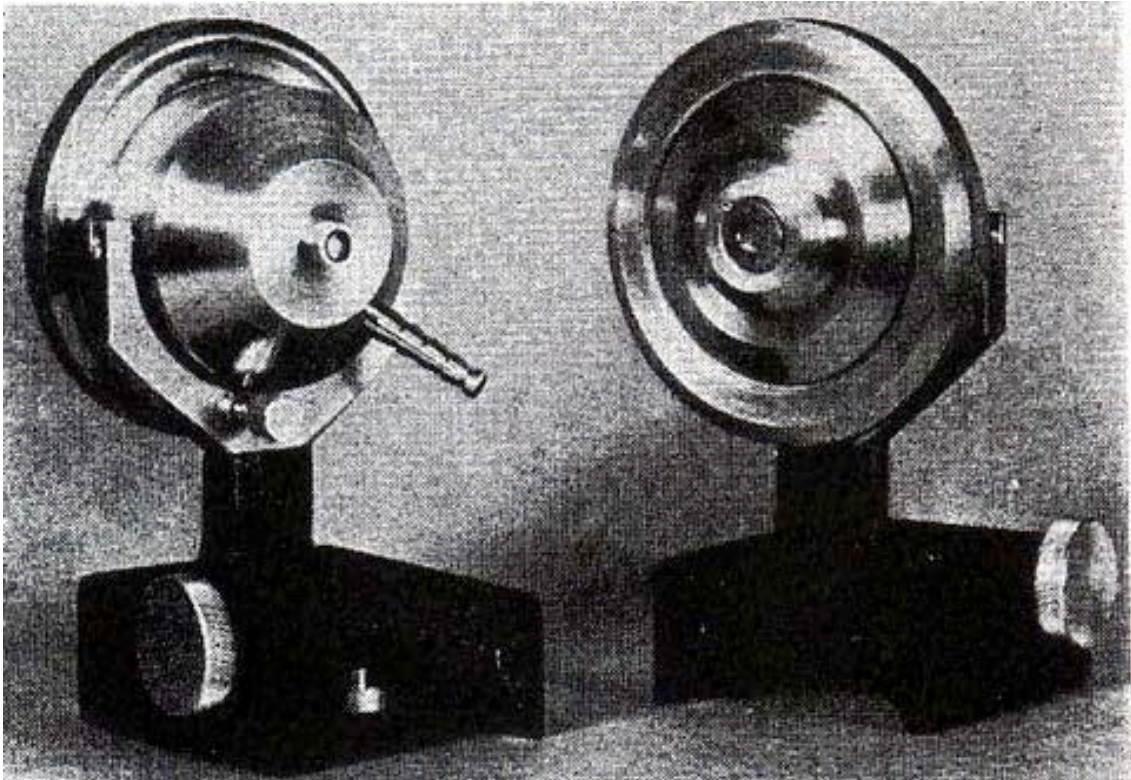


Figura 29: Prototipus de microcàmera de difracció de RX, publicat per Frank Chesley. CHESLEY, FRANK C.(1947). "X-Ray Diffraction Camera for Microtechniques". *Rev. Sci. Ins.*, (18), 6, 422-424, a la pàgina 422.

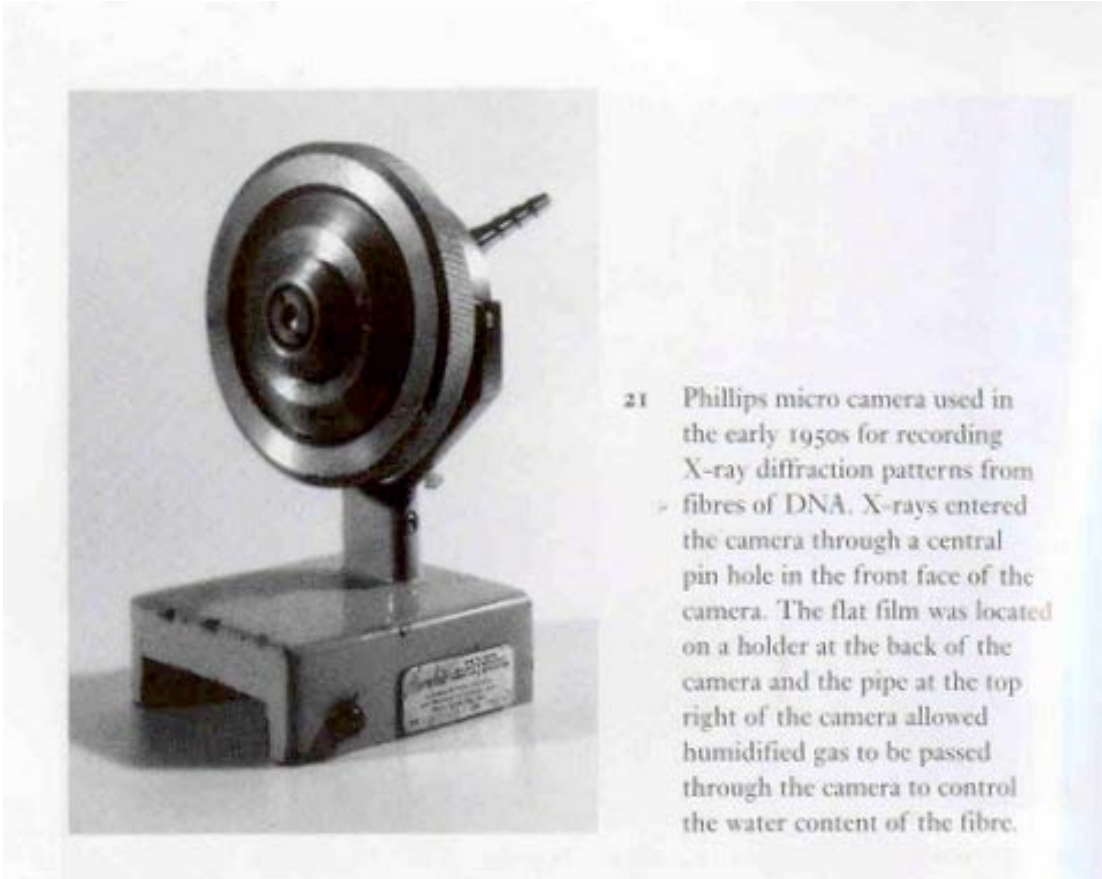


Figura 30: Microcàmera Phillips de difracció de RX, derivada del prototipus de Frank Chesley i precedent de les càmeres RICH. WILKINS, MAURICE H.F. (2003). *The Third Man of the Double Helix*. Oxford University Press, Oxford, al quadern d'imatges entre les pàgines 114 i 115.

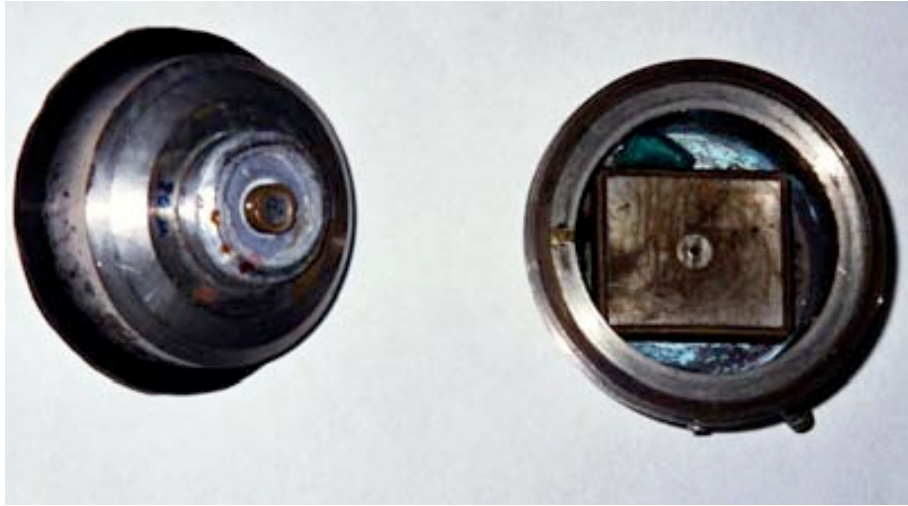


Figura 31 : Parts A i B de la càmera coneguda com RICH I, proporcionada per Alexander Rich a Joan Antoni Subirana, 1968 (fotografia de l'autor)

^o	Fecha	Lectura	Estador	Operator	Càmera	Muestra	Ventana	Hores exposició	RW	m A	Observacions
I	21/11/69	299.0		JAS	Rich	F33-912	2	25.5	38	25	" Los Alamos en el tiempo Me da ganas por ir a Alamos "El apuro hace más interesantes cuando se ven los Aragonés!"
L	27/11/69	324.8/172		"	"	" "	"	92.2	38	21	

Figura 32: Quadern de registre del laboratori de RX, amb la primera prova de RX a Barcelona, feta per Subirana amb la càmera RICH I, 21 de novembre de 1969. Laboratori de RX del Departament de Química Macromolecular



Figura 34 : fotografia del projector de perfils Nikon Model 6C, nº 11318, adquirit l'any 1969 (fotografia de l'autor).

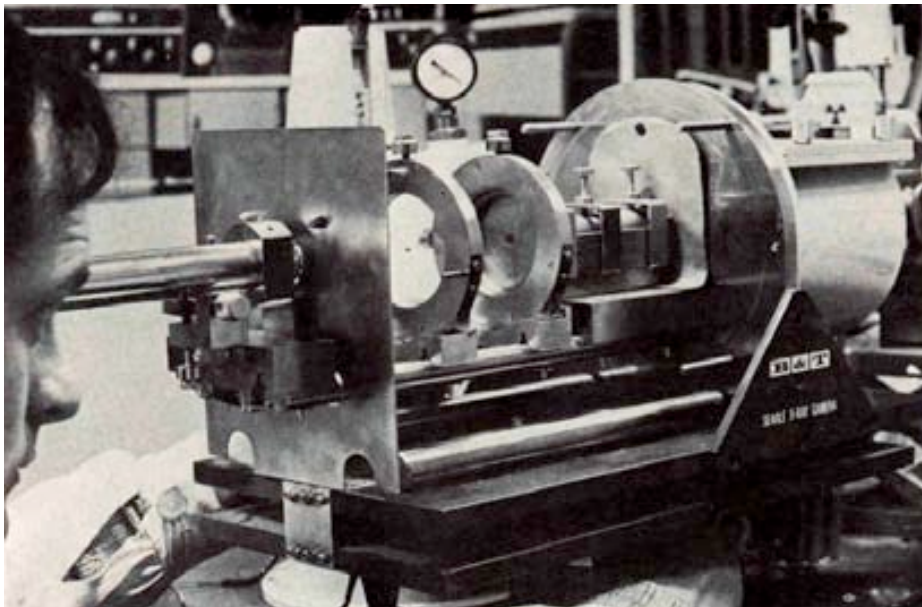


Figura 34: Josep Roca, col·laborador de Subirana, ajusta la càmera d'òptica toroidal fabricada per la companyia Searle, adquirida l'any 1971. SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1975b). "La arquitectura de la célula, base de la vida". Avances del saber, tomo XI, Enciclopedia LABOR, Barcelona, Editorial LABOR, S.A., 27-57.

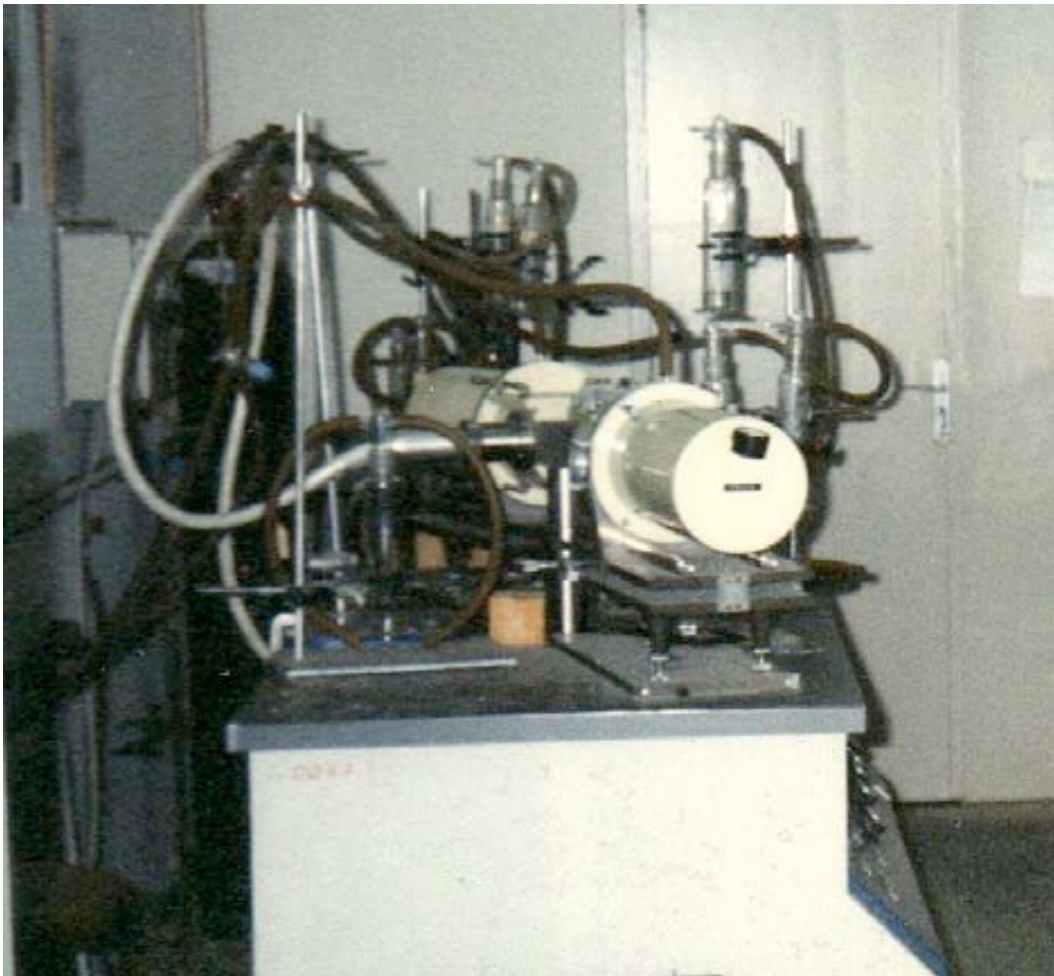


Figura 35: Les càmeres Franks i Warhus, adquirides respectivament els anys 1975 i 1969, en funcionament. (fotografia de Joaquim Lloveras). Arxiu de Joaquim Lloveras



Figura 36: Joaquim Lloveras i alumnes amb el microdensitòmetre de Joyce-Loebl, ca. 1974 (autor desconegut). Arxiu de Joaquim Lloveras



Figura 37: Microdensitòmetre de Joyce-Loebl MK3 C5, n°1272, adquirit l'any 1972 (fotografia de l'autor).

DEPARTAMENTO DE QUIMICA MACROMOLECULAR
Consejo Superior de Investigaciones Cientificas
Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales
Diagonal, 999 - Barcelona (14) - Teléfono 249 58 00

Barcelona, 13 de marzo de 1972

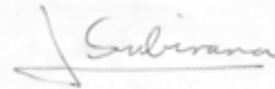
Sr. D. JOAQUIN LLOVERAS MACIA
Regimiento Mixto de Ingenieros n°. 1
Campamento
M A D R I D

Apreciado amigo:

Por la presente le comunico que hemos ya cubierto la plaza de Ingeniero de Laboratorio, por lo que le devolvemos los datos que Vd. nos envió agradeciéndole mucho su interés por trabajar con nosotros.

Aunque esta plaza ya no está disponible, le agradeceré mucho que cuando tenga ocasión, acabado su servicio militar, pase a vernos de nuevo, pues quizás existan otras posibilidades para incorporarle a nuestro grupo de trabajo.

Hasta entonces, reciba un cordial saludo,



J.A. Subirana

18 ABRIL entrevista. Me ofrecen posibilidad de coger Beca del CSIC y combinarlo con Becario Lab. Máquinas Eléctricas. Que vuelva a llamar el 28. No puse en contacto con el Sr. Cortés

Figura 38: Carta de Subirana a Joaquim Lloveras, 13 de març de 1972, en relació amb l'anunci que s'havia publicat al diari LA VANGUARDIA el 27 de febrer de 1972, on es demanava un enginyer industrial per al DQM. Arxiu de Joquim Lloveras

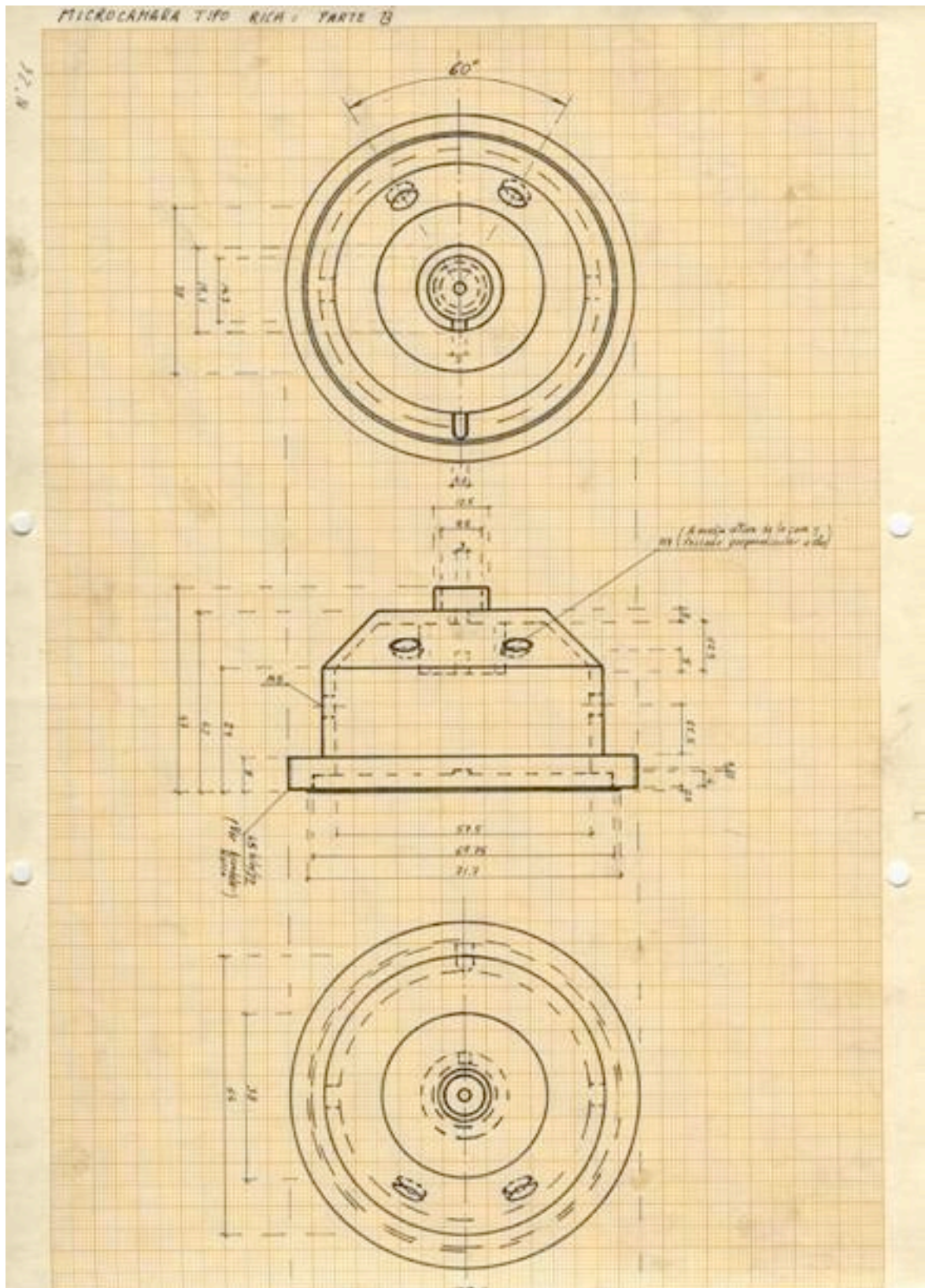


Figura 39: Plànol de la càmera Rich IV, part B, elaborat en paper mil·limetrat per Joaquim Lloveras i signat per Subirana, 11 de febrer de 1975. Arxiu de Joaquim Lloveras

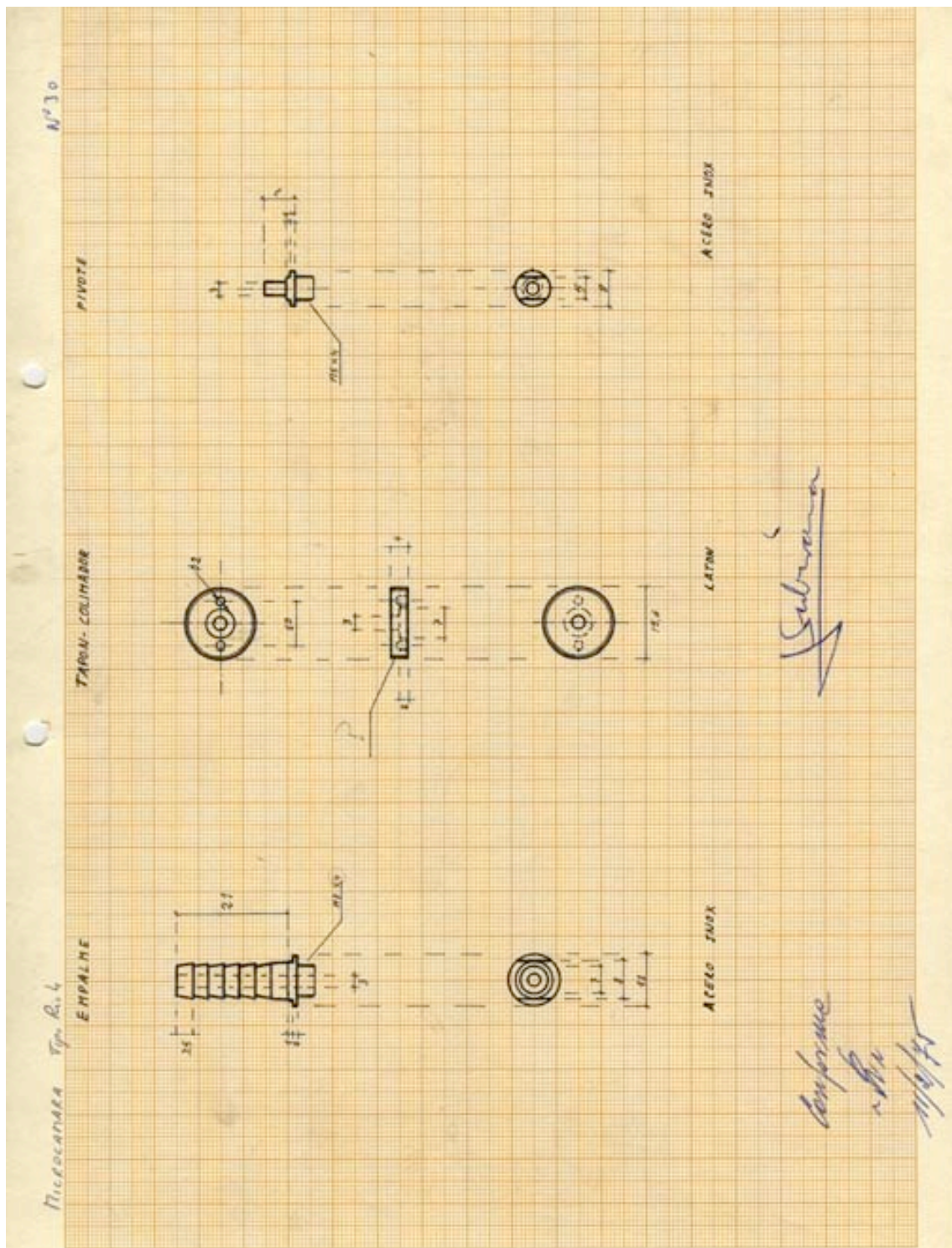


Figura 40: Plànol de les connexions de la càmera RICH IV amb el circuit d'hidrogen i tap del col·limador, elaborat per Joaquim Lloveras i signat per Subirana, 11 de febrer de 1975. Arxiu de Joaquim Lloveras

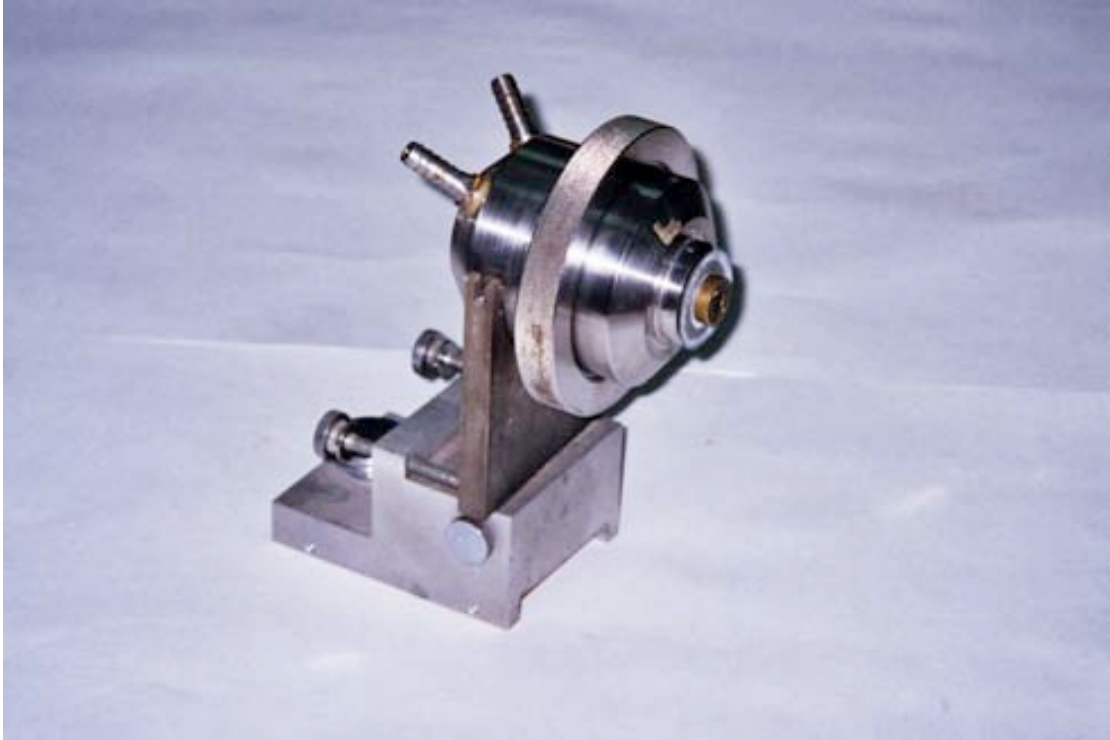


Figura 42: Càmera RICH IV, construïda l'any 1975 al Taller de Mecànica de l'Escola d'Enginyers, a partir dels plànols elaborats per Joaquim Lloveras (fotografia de l'autor).

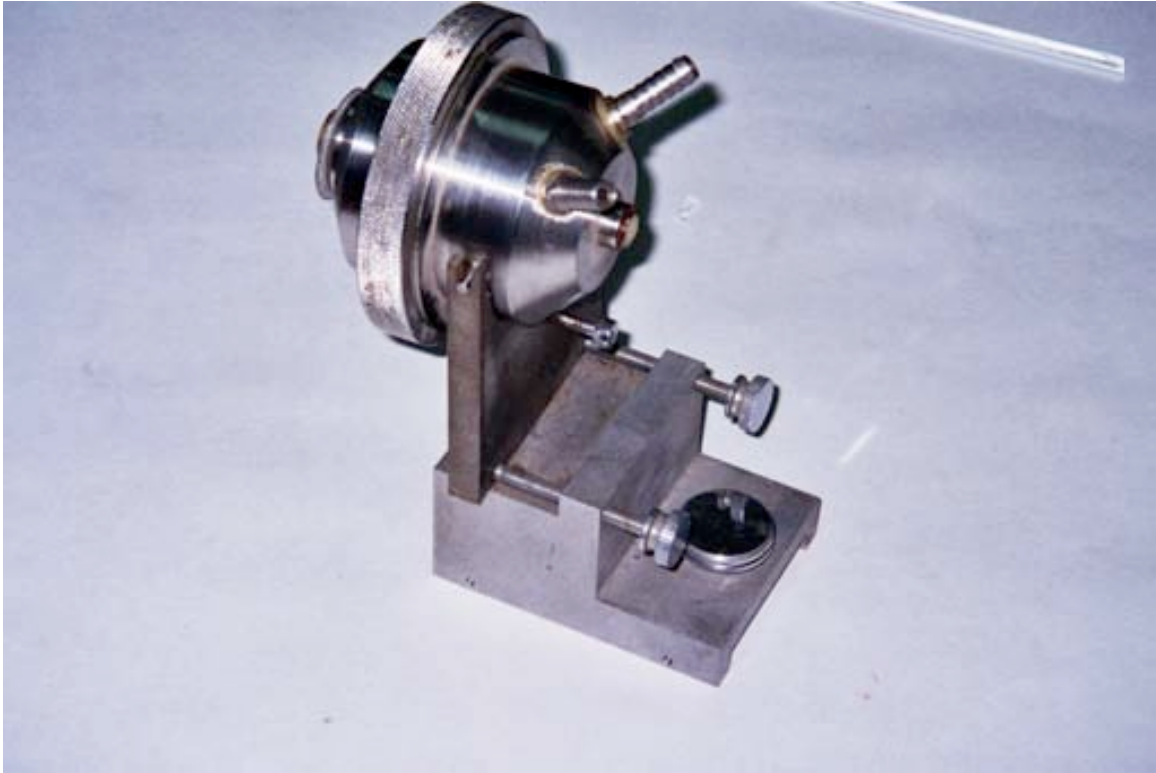


Figura 43: Càmera RICH IV, construïda l'any 1975 al Taller de Mecànica de l'Escola d'Enginyers, a partir dels plànols elaborats per Joaquim Lloveras (fotografia de l'autor).



Figura 44 : Desmuntatge de la càmera RICH IV. (fotografia de l'autor)

- 1.- Film de Mylar.
- 2.- O-ring.
- 3.- Peça externa de metall.
- 4.- Protecció de plom.
- 5.- Peça de metall interna amb doble rosca.
- 6.- Peça de plom amb orifici, que encaixa damunt la peça que conté el col·limador (7).
- 7.- Col·limador.
- 8.- Tub de vidre de 100 μ m de diàmetre intern.
- 9.- Part A de la càmera, on s'acoblen les peces anteriors i on es posa la fibra de DNA. És la part de la càmera que es connecta al generador de RX.
- 10.- Part B de la càmera, on s'acoblen les peces que contenen el film (11, 12).
- 11 i 12. Peces que contenen el film.
- 13.- Base de repòs de la càmera.

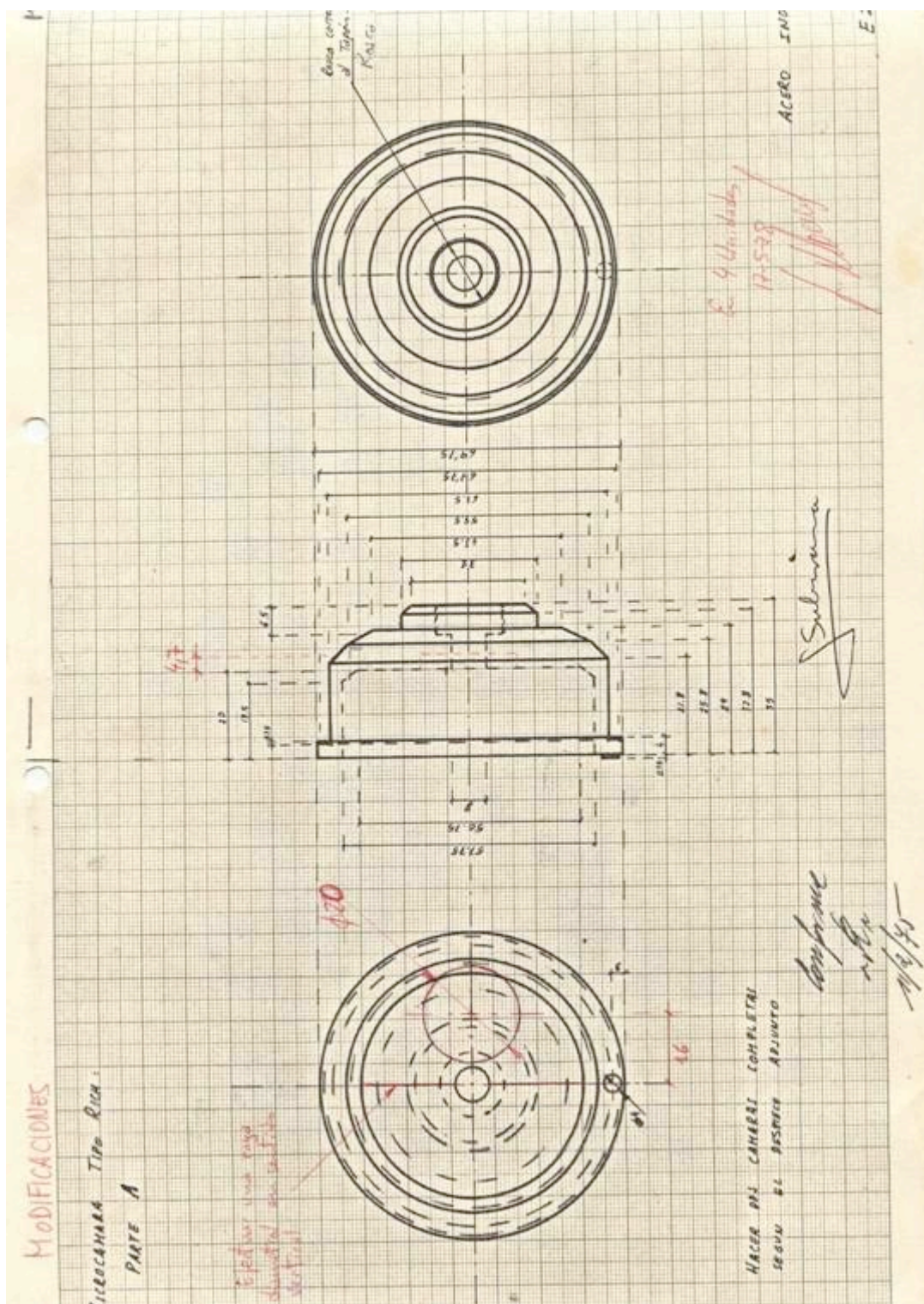


Figura 45: Plànol de la part B de la càmera RICH IV, modificat per introduir un imant que servia per a la subjecció de l'estirador de fibres. Elaborat per Joaquin Lloveras sobre una fotocòpia del plànol original, signat per Subirana, 11 de febrer de 1975. Arxiu de Joaquim Lloveras



Figura 46: Part B de la càmera RICH IV, amb l'imant afegit per fixar l'estirador de fibres (fotografia de Joaquim Lloveras). A la dreta, l'estirador de fibres (fotografia de l'autor)

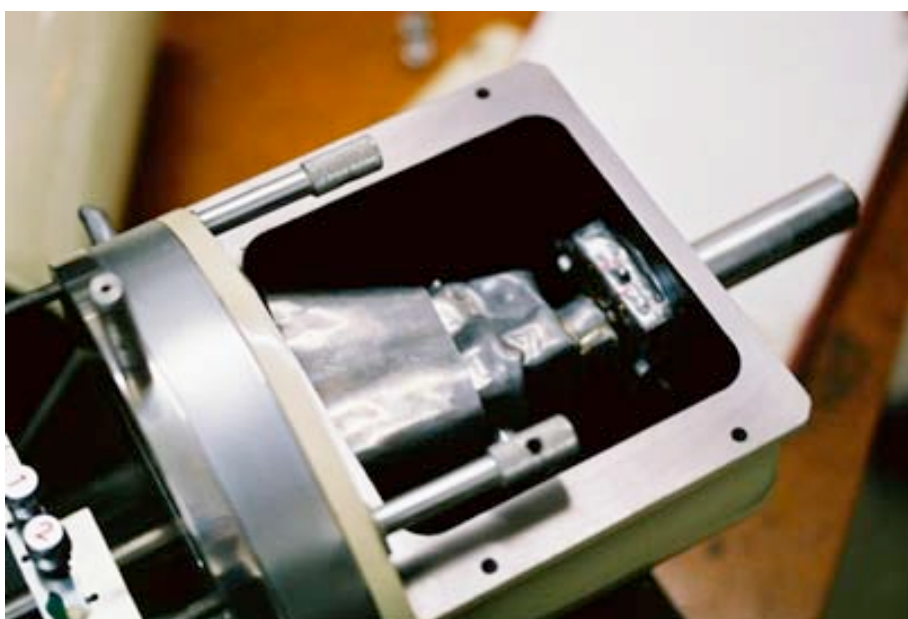


Figura 47: Protecció de plom afegida a la càmera Franks, per millorar la protecció contra la radiació (fotografia de l'autor)



Figura 48: Part del circuit d'hidrogen i heli del laboratori de RX (fotografia de l'autor).



Figura 49: Sala de serveis del laboratori de RX, situada al soterrani de l'edifici de l'Escola d'Enginyers (fotografia de l'autor).

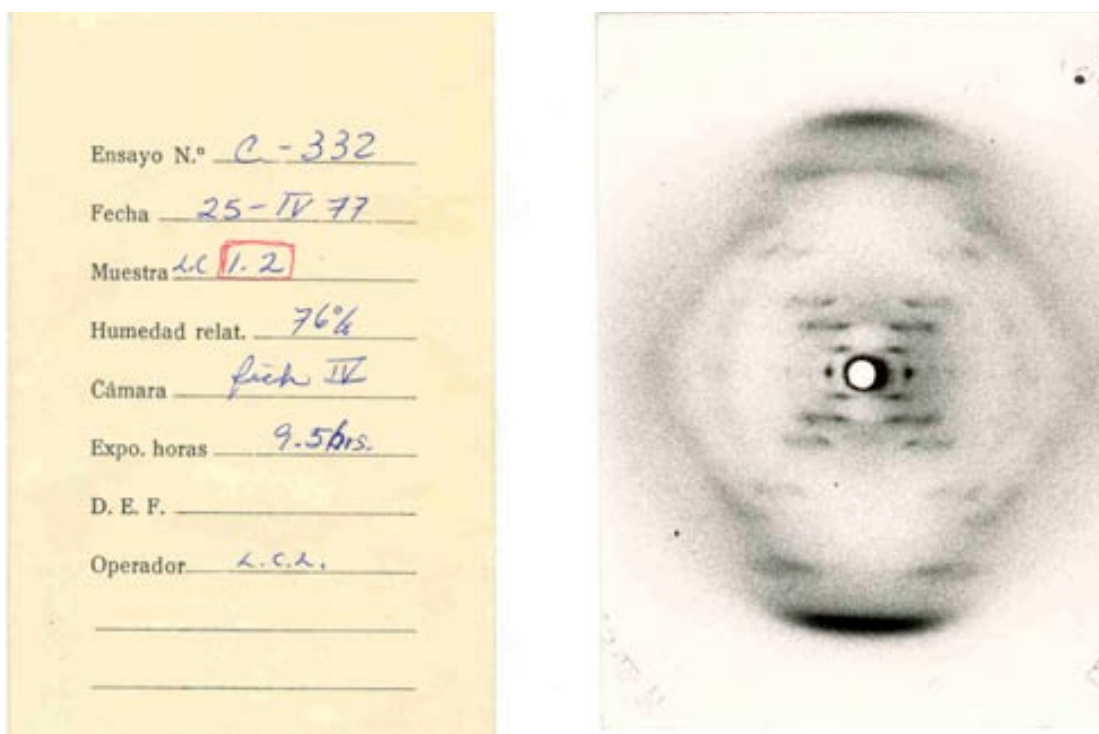
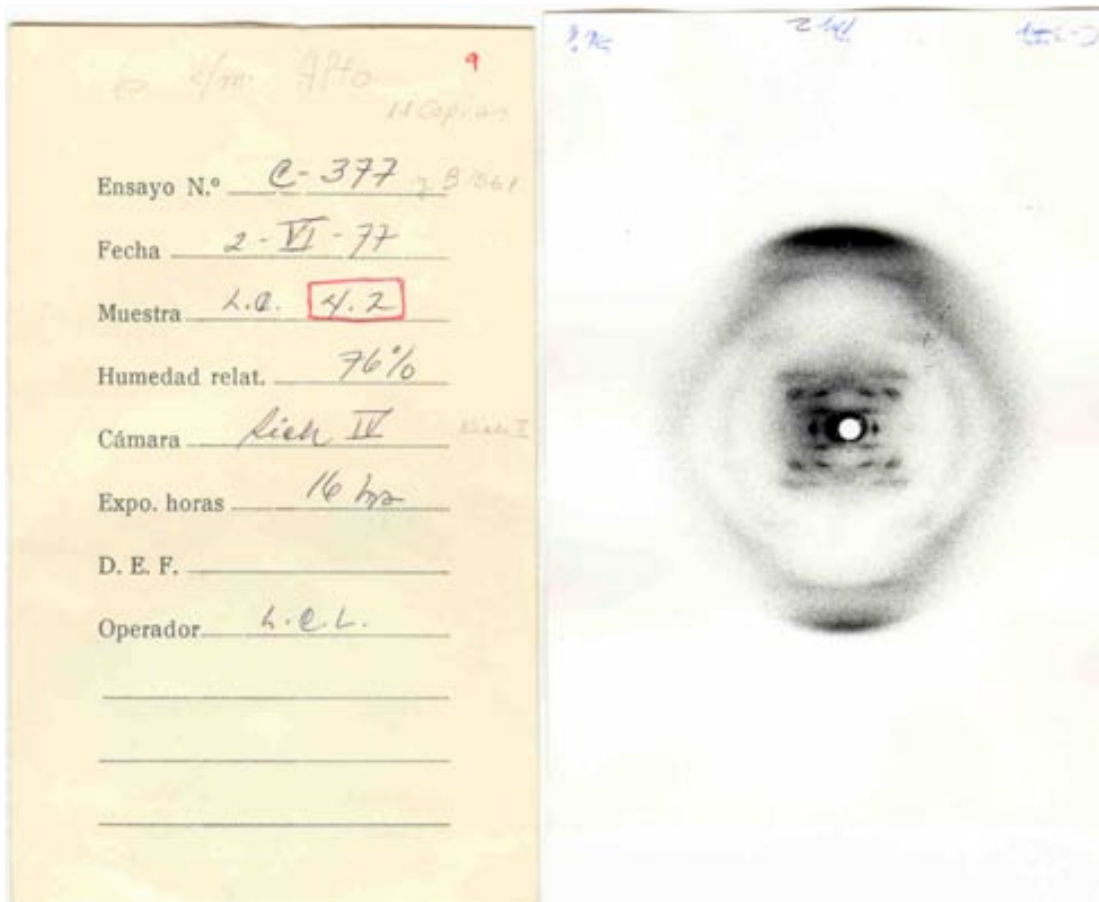


Figura 50: Dos assaigs fets amb la càmera RICH IV amb dates 25 d'abril i 2 de juny de 1977. Arxiu del laboratori de RX del Departament de Química Macromolecular (escàner de l'autor).

X-Ray Diffraction Studies of Nucleohistone: A Polyhelicical Model of Chromosome Organization

(DNA/chromatin/lampbrush organization)

JUAN A. SUBIRANA AND LUIS C. PUIGJANER

Departamento de Química Macromolecular del C.S.I.C., Universidad Politécnica, Diagonal 990, Barcelona-14, Spain

Communicated by Paul Doty, January 21, 1974

ABSTRACT The possibility that nucleohistone is constituted by a helical arrangement of DNA molecules is analyzed in this paper. A polyhelicical model of nucleohistone in plectanemic double coils of variable dimensions is found to be compatible with the x-ray diffraction results obtained in this and other laboratories. The radius of the coils varies between 35 and 45 Å, whereas the pitch varies between 200 and 120 Å. Another part of nucleohistone is much less coiled and contributes to the "background" scattering of the sample. This model is compatible with a lampbrush organization of the chromosome.

Several models have been proposed for the structure of nucleohistone on the basis of x-ray diffraction studies. Thus, Bram and Ris (1) have suggested that in dilute solution it is made of an irregular coil with a radius of gyration of about 30 Å. In more concentrated systems it has been known for some time (2, 3) that nucleohistone acquires a more ordered conformation, characterized by a series of diffraction rings which have been interpreted to arise either from intermolecular packing (3) or from the intramolecular nucleohistone conformation (4, 5). More recently new x-ray diffraction studies have been published (6, 7) which show that the position and relative intensity of the diffraction rings may vary depending on the conditions used to prepare the samples. In this paper we show that these results can be interpreted on the basis of a polyhelicical model of nucleohistone structure.

MATERIALS AND METHODS

Preparation of Nucleohistone. Nucleohistone from calf thymus was prepared as described elsewhere (8). In essence, the method consists in purifying the nuclei by successive resuspension in the following reagents: (1) 0.25 M sucrose, 3 mM CaCl₂; (2) 2 M sucrose, 3 mM CaCl₂, 0.5% Triton X-100; (3) 0.1 M Tris-HCl, pH 8, twice; (4) 0.15 M NaCl. The purified nuclei obtained in this way are resuspended and sheared in 1 mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), 1 mM sodium cacodylate, pH 8. Fibers were pulled from the precipitate obtained after mixing the nucleohistone suspension with an equal volume of 0.25 M NaCl.

X-ray Diffraction Studies. Fibers were placed in sealed capillaries which contained a drop of saturated salt solution to maintain a constant relative humidity. Diagrams were obtained either with a Statton pinhole camera (specimen to film distance 7 cm) and an Enraf fine focus generator or with a commercial toroidal camera (Baird and Tatlock) and an AMR-Norelco microfocuss generator.

Mathematical Model. The model used by Franklin and Klug (9) in their studies of tobacco mosaic virus (TMV) was adapted to the present problem. The axis of each DNA molecule was assumed to follow a helix (which we will call coil) to distinguish it from the DNA double helix) of radius δ and pitch p . The ratio p/δ will be called z . Two DNA molecules were assumed to be wound into a plectanemic double coil. The cross-section of each DNA molecule by a plane perpendicular to the axis of the coil was assumed to be a circle of radius 10 Å. The angle formed by the lines which go from the center of each DNA molecule to the axis of the coil in a cross-section was called α . The cylindrically averaged transform of such a model placed perpendicular to the x-ray beam can be calculated as described by Franklin and Klug (9). Under the assumption that the molecules are infinitely long, the transform of a fully disordered system of such coils can be obtained simply by superposing the diffraction at all points in two-dimensional reciprocal space, divided by the distance to the center of coordinates in reciprocal space. This was shown quite generally by Porod (10). The intensity is, therefore, calculated by the following expression:

$$I(R) = (A_{01} + A_{02})^2/R + 2 \sum_{n=1}^{n=n_{\max}} (A_{n1}^2 + A_{n2}^2 + 2A_{n1}A_{n2}\cos n\alpha)/R \quad [1]$$

where

$$A_{n1} = J_n(2\pi\delta_1 R') \pi r_1^2 \frac{2J_1(2\pi R' r_1)}{2\pi R' r_1} \quad [2]$$

$$A_{n2} = J_n(2\pi\delta_2 R') \pi r_2^2 \frac{2J_1(2\pi R' r_2)}{2\pi R' r_2} \quad [3]$$

$$R' = [R^2 - (n/p)^2]^{1/2}. \quad [4]$$

In these expressions n is the layer line number, $J_{n,s}$ are the Bessel functions of order n , and R is the reciprocal space coordinate, equivalent to the abscissa in the intensity plots given below. The expression I is valid up to a value of R given by $R_{\max} = n_{\max}/p$. The calculations were usually carried out for $R_{\max} = 0.06$. The cross sections of the coils by a plane perpendicular to their common axis are circles of radii r_1 and r_2 . In most calculations, $r_1 = r_2 = 10$ Å, and $\delta_1 = \delta_2 = \delta$, the radius of the coils. However, in Fig. 1D, δ_1 was equal to zero and the value of r_1 was adjusted so that the mass per unit length of both components of the coil was the same.

Figura 51: Primera plana del treball de Puigjaner i Subirana publicat als *Proceedings of the National Academy of Sciences*, l'any 1974, on es proposava un model d'organització del cromosoma. SUBIRANA, JUAN ANTONIO & PUIGJANER, LUIS (1974). "X-Ray Diffraction Studies of Nucleohistone: A Polyhelicical Model of Chromosome Organization". *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 71, 5, 1672-1676.

Capítol 7

Epíleg

7.1 De les fibres als cristalls

El principal problema amb el que es van trobar tant el grup de Subirana com els altres grups de recerca que treballaven en aquest camp era la naturalesa del material a estudiar: era molt diferent estudiar materials cristal·lins que no pas fibres. Els primers presenten ordenacions clares, cosa no tan evident ni present als segons. En conseqüència, el màxim que es podia fer en aquestes condicions era donar resultats al voltant de la totalitat de la molècula, sense tenir la possibilitat d'estudiar el que succeïa a nivell atòmic. Els mètodes de difracció de fibres només podien proporcionar, com s'ha dit més d'un cop, una visió global de l'estructura del DNA. Els resultats van confirmar que la doble hèlix era molt estable: la seva conformació no canviava quan es trobava associat a les proteïnes que s'havien estudiat.³⁹²

Però la seqüència del DNA varia al llarg del cromosoma, per la qual cosa calia preguntar-se quina seria la influència de la seqüència en la seva estructura i saber si aquestes variacions tindrien alguna influència en la seva organització i activitat al nucli cel·lular. Per respondre aquesta pregunta calia determinar l'estructura de fragments de DNA de seqüències conegudes i diferents. Un fet decisiu es va produir quan, cap a finals de la dècada dels 1970s, els químics orgànics van descobrir com sintetitzar fragments cristal·lins de DNA de seqüències conegudes. Aquest fet va obrir el camí per a l'estudi de l'estructura del DNA a nivell atòmic, amb els mètodes molt més precisos de la cristal·lografia de cristall simple, que ja era un camp madur de recerca en el cas del RNA.³⁹³

³⁹² Per més detalls al voltant del que s'explica en aquest epígraf, vegeu SUBIRANA (2005).

³⁹³ Al voltant d'aquesta qüestió, vegeu HARVEY, OLSON, DE CZEKALA & NUSSBAUM (1975). "Construction of a double-stranded deoxyribonucleotide sequence of 45 base pairs designed to code for S-peptide 2-14 of bovine ribonuclease A". *Nucleic Acids Res.* 1975 Nov; 2 (11): 2007-20.

Les primeres estructures van donar al mateix temps una sorpresa i una llarga i esperada confirmació: l'any 1979, el grup d'Alexander Rich al MIT va obtenir DNAs artificials que cristal·litzaven de manera diferent que el model estàndard de Watson i Crick: el DNA deixava de ser una invariable hèlix dextrògira. L'hexàmer d(CGCGCG) cristal·litzava de forma levògira, i va rebre el nom de Z-DNA. Aquesta estructura es trobava rarament en sistemes biològics i la seva rellevància per a la vida de les cèl·lules ni tant sols està establerta en l'actualitat.

La cristal·lografia de cristall simple va permetre l'observació d'una doble hèlix en detall a nivell atòmic, gràcies al treball del grup de Richard Dickerson a la Universitat de Califòrnia a Los Angeles (UCLA), quan el mateix any 1979, va sintetitzar una estructura en doble hèlix en forma B, que es corresponia de manera pràcticament idèntica amb les dades de difracció que Franklin i Wilkins havien obtingut més de dues dècades abans. Aquest fet va ser un pas més en la legitimació del model de Watson i Crick.

El laboratori de Subirana també va entrar en aquest camp, gràcies a la col·laboració establerta amb el grup de Manuel Font-Altaba. Els objectius van ser dos principalment: en primer lloc, la confirmació a nivell atòmic dels resultats que s'havien obtingut mitjançant la difracció de fibres i, en segon lloc, intentar obtenir cristalls de DNA amb noves conformacions.

Aquest nou canvi en les tècniques utilitzades, de les fibres als cristalls, va ser possible gràcies a tota la tasca duta a terme des de 1968, quan es va plantejar l'aplicació de la difracció de RX als estudis de la nucleohistona. Sense aquests aprenentatges, propis i dels col·laboradors, l'optimització del laboratori, el treball en la instrumentació en sentit ampli, el canvi cap a les noves tècniques no hagués estat possible i cal ressaltar en aquest punt tota la feina feta pels tècnics en la posada en marxa del laboratori, en els processos d'instal·lació, manteniment, reparació i, quan es va donar el cas, de modificació, millora o de nous dissenys d'instrumentació.

7.2. Trobades científiques i trobades humanes

Aquest resum final de la recerca duta a terme i de les perspectives de futur que es presentaven a mitjan de la dècada dels 1970s són inseparables de tota una sèrie de circumstàncies que es van anar produint dins de Secció de Biopolímers i, posteriorment, del Departament de Química Macromolecular on, a més de les relacions científiques també van ser molt importants les relacions humanes, que van complementar les primeres (Figures 52, 53, 54).

Amb el seu accés a la càtedra, Subirana va obrir camins cap a noves possibilitats de l'enginyeria química, on l'estudi d'estructures de materials orgànics oferien grans potencials d'investigació. Com a conseqüència dels coneixements adquirits durant les seves estades postdoctorals, al principi conjuntament amb Palau, va posar en marxa un laboratori que es va anar dotant d'una bona infraestructura, on es va posar cura en que es considerava necessari per a la bona marxa de la recerca: la biblioteca, la secretaria, els seminaris d'investigació, el manteniment de l'equip científic i la nítida adequació dels mitjans i dels objectius. Es van propiciar contactes amb centres externs, que van fer possible que moltes personalitats científiques visitessin el laboratori (Figura 55). Les seves estades a Harvard i a Israel el van marcar molt positivament, important a Barcelona els aspectes més positius pertocant a l'organització del treball, que va compartir amb altres científics espanyols que havien seguit camins semblants, com el seu company d'estudis i amic Jaume Palau.

Tots aquests aspectes, si bé resumits, són els han anat sorgint al llarg del desenvolupament d'aquesta memòria, la qual cosa porta a plantejar quines són les conclusions.



Figura 52: Membres del DQM durant l'estiu de 1977, segons una pintura de Jordi Maragall i Mira. A la primera fila, d'esquerra a dreta: Elisabet Rocha, Joan Ausió, Ignasi Fita, Jenny Colon, Ferran Azorín, Sebastián Muñoz i Lluís Cornudella. Darrera, d'esquerra a dreta: Josep Maria Ripol, Luis Pérez, M. Fornells, Lourdes Campos, Neus Tur, Joaquim Lloveras, Antonio Martínez, Agnès Jordán, M. Vallés, Lluís Puigjaner, Joan Antoni Subirana, desconegut (eliminat en una modificació posterior del quadre per part de l'autor), José Botella i Lluís Otzet. (Dimensions: 390 x 180 cm; cortesia de Jordi Maragall i Mira).



Figura 53: Reunió de membres del DQM durant els nadals de 1973. Alguns dels col·laboradors de Subirana, d'esquerra a dreta, Jenny Colon, Joan Ausió, Agnès Jordán, Joaquim Lloveras, Lluís Otzet i Lluís Cornudella (autor desconegut). Arxiu de Joaquim Lloveras



Figura 54: Joan Antoni Subirana, Nadal de 1977 (autor desconegut). Arxiu de Joaquim Lloveras



Figura 55: Alexandr I. Oparin al Departament de Química Macromolecular, en ocasió de l'ISSOL (4t Simposi Internacional sobre l'Origen de la Vida, 21-23 de juny de 1973, organitzat per Joan Oró), amb alguns dels col·laboradors de Subirana. D'esquerra a dreta, Esther Peleteiro, Mercedes Unzeta, desconegut, Jenny Colon, Oparin, Remedios Llopis, Lluís Otzet i Josep Roca (autor desconegut). Arxiu de Joaquim Lloveras

Capítol 8

Conclusions

Les trajectòries dels científics catalans Jaume Palau i Joan Antoni Subirana són l'objecte d'estudi d'aquesta memòria. La investigació duta a terme ha consistit en l'estudi del conjunt d'episodis que van contribuir a la construcció de les investigacions en biologia molecular a Catalunya entre 1958 i 1977. Aquesta tesi explora l'origen del Departament de Química Macromolecular i, en part, de l'Institut de Biologia Fonamental. La posada en marxa d'aquestes institucions locals va ser una conseqüència de les habilitats, les xarxes de relacions establertes i els interessos dels científics estudiats. Aquests interessos van prendre forma durant les seves estades postdoctorals en centres de recerca estrangers, i es van desenvolupar amb el recolzament de noves fonts de finançament que unes incipients polítiques científiques van posar a disposició de la recerca a Espanya.

La producció de coneixement al voltant de les estructures biològiques i de processos de laboratori des del final de la Segona Guerra Mundial són inseparables dels desenvolupaments tècnics i instrumentals. Interessos, polítiques i instruments que van permetre a Jaume Palau i Joan Antoni Subirana participar en la producció de coneixement sobre l'estructura del cromosoma.

Aquestes conclusions posen l'èmfasi en la participació dels instruments i de les tècniques en el procés d'establiment a Barcelona d'una escola i d'unes pràctiques d'investigació. Un conjunt d'instruments i de dispositius tècnics van viatgar i es van adaptar als laboratoris del Departament de Química Macromolecular i de l'Institut de Biologia Fonamental, viatges i adaptacions que portaven coneixement biològic. Aquest conjunt de conclusions s'exposa a continuació com a resum de les troballes i principals aportacions d'aquesta tesi doctoral:

1.- L'estudi detallat dels anys de formació de Joan Antoni Subirana i Jaume Palau mostra que les seves estades postdoctorals a l'estranger van exercir una influència essencial en la construcció dels seus interessos científics i en la definició de les seves

agendes de recerca i acadèmiques. Des de la química orgànica a les histones, en el context dels estudis de l'estructura del cromosoma, aquest desplaçament dels seus objectes d'estudi van incloure la posada en marxa d'un grup de recerca propi al tornar a Barcelona l'any 1966. La formació de Subirana va ser lleugerament anterior a la de Palau i entre tots dos van traçar el camí a seguir. D'això n'és mostra la correspondència entre ambdós científics durant aquesta etapa que, donat el nombre de cartes conservades, ha permès un seguiment detallat d'aquest procés. Els objectius de treballar en grups de biologia molecular estructural es van assolir en tots dos casos, i es va donar una combinació eficaç entre les destreses experimentals i les ambicions científiques, en DNA de Subirana i els d'histones de Palau.

2.- A més de la influència de la seva formació a l'estranger, les condicions que es donaven a Espanya durant la dècada dels 1960s també van intervenir de forma influent. De forma conjunta, Subirana i Palau van sopesar les possibilitats i, influïts pels seus treballs a Harvard i Londres respectivament, van prendre la decisió de fer de l'estudi de les histones l'objecte principal de la seva recerca. La importància dels grups amb els que van anar a treballar a l'estranger i les seves publicacions durant aquesta etapa van esdevenir una carta de presentació per establir-se a Barcelona. La formació postdoctoral els va proporcionar els coneixements, no tant sols de caire científic, sinó també l'accés als recursos que els va permetre planificar, madurar i posar en marxa el seu projecte de recerca. Aquest projecte es va desenvolupar, en una primera etapa, a la facultat de ciències de la Universitat de Barcelona. Una subvenció del Programa Extramurs dels Instituts Nacionals de Salut dels EUA (NIH) els va permetre posar en marxa la secció de biopolímers al departament de genètica de la facultat de ciències de la Universitat de Barcelona. Els seus treballs publicats, les seves contribucions científiques i el prestigi adquirit al llarg de la seva formació postdoctoral a l'estranger els va permetre superar l'avaluació dels NIH i obtenir la subvenció. Aquest assoliment va resultar clau per a posteriors obtencions de fons per seguir desenvolupant el seu programa de recerca. Es conclou que la legitimació estrangera va ser prèvia al reconeixement científic i acadèmic que Subirana i Palau obtindrien després a Espanya.

3.- En una segona etapa es va produir la separació professional de Subirana i Palau i la formació de dos grups de recerca en institucions diferents. Subirana es va establir com a catedràtic a l'Escola d'Enginyers de Barcelona, i, en coordinació amb el CSIC, va posar en marxa el Departament de Química Macromolecular. En aquest departament, Subirana va posar en marxa un programa de recerca en biologia molecular, que va permetre la formació de científics i va obtenir reconeixement tant a Espanya com a l'estranger. A més de l'activitat investigadora, Subirana va assumir activitats docents i de recerca en enginyeria química.

Per la seva banda, Palau va jugar un paper crucial en la posada en marxa de l'Institut de Biologia Fonamental (IBF), que tenia l'ambició d'integrar-se en la llavors recentment creada Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), projecte per al qual va cercar recolçament. L'Institut estaria format per diverses unitats de recerca dirigides per investigadors del CSIC, professors universitaris i científics més joves formats a l'estranger, o encara en procés de formació.

Ambdues institucions, el DQM i l'IBF, van esdevenir escoles de recerca: van formar científics més joves en un camp, l'estructura de la nucleohistona, del qual no hi havia especialistes a Espanya en aquell moment. Anys després, la majoria d'aquests es dedicaria també a la la investigació i a la docència universitària després de completar la seva formació, i crearien els seus propis grups de recerca en àrees relacionades, tal com es dedueix del nombre de tesis llegides entre 1970 i 1977 i del seu posterior destí professional.³⁹⁴

4.- Els grups espanyols dedicats a les investigacions en bioquímica i biologia molecular durant la dècada dels 1960s estaven al dia en aspectes relacionats amb la seva recerca i aspiraven a estar presents a les institucions internacionals que van sorgir en el seu àmbit. Palau i Subirana van intervenir en els processos d'institucionalització de la biologia molecular a Espanya, contribuint a lograr un espai acadèmic per a aquesta, i van ser escollits com a primers membres espanyols de la Organització Europea de Biologia Molecular (EMBO), que havia estat creada a Ginebra l'any 1963. La

³⁹⁴ Vegeu taules nº 2 i 3 a l'annex 1 on es citen les tesis dirigides per Subirana i Palau durant els anys estudiats i el posterior destí professional dels seus deixebles.

capacitat i la possibilitat de desenvolupar el seu programa de recerca i la seva posició professional són inseparables d'aquests processos.

S'han estudiat els documents relacionats amb els contactes internacionals de Subirana, que van portar a l'organització de la primera Reunión Nacional de Biofísica a Barcelona l'any 1968 i a plantejar l'ingrés d'Espanya a la *International Union for Pure and Applied Biophysics* (IUPAB). Les actes d'aquesta reunió, publicades en forma de monografia als *Anales* de la Reial Societat Espanyola de Física i Química, mostren un conjunt de científics dedicats a la investigació en bioquímica i biologia molecular interessats, com Subirana i Palau, en obtenir reconeixement per a les seves especialitats a Espanya i en participar a les organitzacions internacionals existents, algunes d'elles de recent creació. Les especialitats dels científics assistents a la reunió, que incloïen la recerca en histones dels grups de Subirana i de Palau, la bioquímica amb Ángel Martín Municio i Manuel Rosell, el treball en biologia molecular de fags d'Eladio Viñuela i Margarita Salas, i els estudis de radiacions aplicades al DNA del grup de radiobiologia de Carlos Dávila, entre d'altres, mostren la varietat de la recerca que aspirava a situar-se sota el paraigua de la biofísica i de la biologia molecular.

Altres esdeveniments analitzats en aquesta memòria, que reforcen el protagonisme que s'adjudica aquí a Subirana i Palau, han estat el discurs de Subirana a la inauguració del curs acadèmic de 1966-67 a l'Escola d'Enginyers de Barcelona, i el projecte de l'Institut de Biologia Fonamental, recollit al document conegut com *Esquema Comprensivo*. En el seu discurs, Subirana assumeix l'opinió oficial del CSIC i mostra unes preocupacions i un interès per les polítiques científiques que comparteix amb les expressades per altres científics espanyols. Subirana, com els seus col·legues més actius i influents, s'alinea amb el discurs dominant en reclamar la implicació tant de l'Estat com de les empreses per tal d'afavorir la recerca industrial. En plena època del desenvolupament econòmic occidental que també es va manifestar en l'economia i en la societat espanyola, Subirana sintonitza amb les idees difoses pels països membres de l'OCDE en assenyalar les contribucions que la recerca podria fer a la indústria, i el que considera com una necessària modernització de les estructures universitàries i de recerca.

El document de l'IBF, redactat per Palau i Claudi Cuchillo, s'emmirallava en els centres de recerca en biologia molecular que s'estaven posant en marxa a Europa, a l'hora que delimitava els camps que havien de ser inclosos dins de l'àmbit de la biologia fonamental. Estaven pensant concretament en l'exclusió de les denominades ciències naturals, entre elles la botànica i la zoologia. Es un discurs de modernització i renovació, que planteja novetats d'organització dels grups i d'objectius de recerca, inspirat en l'organització i el tipus de gestió dels centres estrangers en els que havien fet els seus estudis postdoctorals.

S'ha mostrat el paral·lelisme entre tots dos documents, que comparteixen l'ideari de modernitat i d'introducció de reformes en les estructures universitàries. Si bé es tracta de dos documents amb objectius i audiències força diferents –el de Subirana és un discurs de caire clarament institucional, mentre que el signat per Palau i Cuchillo és un document de circulació interna dins de la UAB– semblen inspirats per les tendències dominants tant als centres de recerca com a les polítiques científiques estrangeres.

5.– Les trajectòries investigadores dels grups de Subirana i Palau durant els anys que abasta aquesta memòria s'han estudiat a través de les seves publicacions durant aquest període, la majoria en revistes científiques estrangeres de molt àmplia difusió internacional. En aquests treballs, ambdós científics, juntament amb els membres dels grups de recerca que dirigien, van fer contribucions originals a l'estudi de la nucleohistona: l'anàlisi de la composició de les nucleoproteïnes de l'esperma d'invertebrats, particularment de mol·luscs i equinoderms i els estudis estructurals de la nucleohistona. El treball publicat per Subirana, Palau i els seus col·laboradors a *Biochimica et Biophysica Acta* l'any 1973, en que s'estudien i caracteritzen les protamines i altres proteïnes bàsiques dels espermatozous dels mol·luscs, va ser el que va obtenir major reconeixement, d'acord amb el nombre de cites recollides al Science Citation Index.³⁹⁵

³⁹⁵ SUBIRANA, COZCOLLUELA, PALAU & UNZETA (1973). Vegeu annex 1, taula n°1, on es pot comprovar que el treball és citat 105 vegades al Science Citation Index (<https://troia.upf.edu/http/sauwok.fecyt.es/apps/WoS/CIW.cgi>). A la mateixa taula es pot

S'ha mostrat com, entre 1966, any de la primera publicació conjunta de Palau i Subirana, i 1977, es va anar produint un canvi en els temes de recerca: la primera etapa, dedicada a la caracterització de les proteïnes associades al DNA a l'esperma d'invertebrats marins, eriçons, holotúries i mol·luscs, va portar a una segona, d'estudi de les seves estructures, que va dur associat un canvi en les tècniques i en els instruments emprats en ambdós grups.

Els estudis estructurals els van dur a interessar-se en els aspectes evolutius d'aquestes proteïnes, interès que van compartir amb altres grups dedicats a aquestes investigacions en centres de l'estranger. Es van concentrar també en establir una relació entre estructura i funció de les histones, qüestió present a l'ambient de la comunitat de recerca en histones, quan es suggerien unes funcions per a aquestes proteïnes que començaven a incloure's als textos universitaris de bioquímica.³⁹⁶

A partir de les diferències entre les seqüències d'aminoàcids de proteïnes homòlogues d'espècies diferents i les seves relacions taxonòmiques, es va tractar de construir un arbre filogenètic que il·lustrava el curs de l'evolució biològica de les proteïnes nuclears dels invertebrats i també les divergències que presentaven. Ja s'havien descrit una gran varietat de proteïnes que es trobaven al nucli dels espermatozous: histones, protamines i altres proteïnes nuclears. Amb aquests coneixements es va tractar d'establir el patró evolutiu d'aquestes proteïnes, així com també de les histones.³⁹⁷

Es conclou que el seu programa de recerca pretenia establir el nombre de diferents proteïnes nuclears i caracteritzar-les, en el marc més ampli dels estudis al voltant de l'estructura del cromosoma i, per aquesta via, d'establir relacions entre estructura i funció.

6.- L'estudi de la seva etapa de formació postdoctoral, seguida de la creació dels seus grups de recerca com trajectes complets, mostra el protagonisme de l'aprenentatge en

comprovar com els treballs publicats amb els grups de Doty i Butler van rebre l'atenció dels científics del camp.

³⁹⁶ Vegeu LEHNINGER (1972).

³⁹⁷ Vegeu especialment SUBIRANA, COZCOLLUELA, PALAU & UNZETA (1973).

les investigacions biològiques que s'han estudiat en aquesta tesi. Les tècniques i els instruments que havien previst emprar en la recerca que posarien en marxa al tornar ocupen una part important de la correspondència i de les publicacions estudiades al llarg d'aquesta memòria. Els instruments van ser comprats i posats a punt per als diferents usos als quals van ser destinats, període d'aprenentatge tant de les tècniques en si mateixes com de la seva participació en la delimitació dels camps d'investigació i especialització de Subirana i Palau.

Les tècniques no van ser simplement aplicades, sinó que van passar per un període d'*estabilització* i van ser provades per a les finalitats a les quals es destinaven: els estudis de caracterització de les proteïnes nuclears i els estudis estructurals de la nucleohistona. Posteriorment, les tècniques van ser modificades en funció de les necessitats de la seva recerca, com s'ha pogut comprovar en estudiar els apartats de *material i mètodes* de les seves publicacions.³⁹⁸

Els canvis en les tècniques de laboratori acompanyen els que s'havien anat produint en les seues interessos de recerca, nous interessos que van portar associats nous aprenentatges sobre el funcionament de nous instruments i tècniques que permeten distingir dues etapes. La primera va ser dedicada a la caracterització de les proteïnes nuclears dels invertebrats, projecte subvencionat pels NIH, on les necessitats tècniques i instrumentals van ser poques. Es van aplicar i modificar tant els mètodes experimentals desenvolupats per Ernest Johns per a l'obtenció de les diferents fraccions històniques com les d'electroforesi per separar-les i es va utilitzar l'analitzador d'aminoàcids per determinar la seva composició.

La segona etapa de les investigacions de Subirana i Palau es caracteritza per la formació dels seus grups de recerca separats i per l'inici dels seus estudis estructurals. Al Departament de Química Macromolecular, Subirana va fer servir les tècniques de difracció de RX, per la qual cosa es van comprar nous instruments, principalment generadors de RX i càmeres. Palau, a l'Institut de Biologia Fonamental, va començar a aplicar altres tècniques addicionals, entre elles la ressonància paramagnètica electrònica (EPR), la ressonància magnètica nuclear (NMR) i el dicroïsmes circular (CD).

³⁹⁸ Vegeu PALAU, RUIZ-CARRILLO & SUBIRANA (1969), SUBIRANA, PALAU, PLADELLORENS, COZCOLLUELA & RUIZ-CARRILLO (1970) i SUBIRANA, COZCOLLUELA, PALAU & UNZETA (1973).

Tant en el cas de Palau com en el de Subirana, els nous instruments utilitzats van passar per un procés d'instal·lació, aprenentatge i optimització abans de poder ser utilitzats en el programa de recerca. Com les tècniques, els instruments són més que meres construccions tecnològiques que funcionen de la mateixa manera en qualsevol circumstància. Els protocols es van ajustar i la *caixa negra* no va ser tal: es va obrir i va romandre oberta fins que es va estabilitzar per ser utilitzada.

Es conclou que l'aprenentatge, les tècniques i els instruments van participar en el procés de definició i desenvolupament de la recerca.

7.- S'ha mostrat la capacitat d'intervenir en els instruments. Uns van ser copiats, altres dissenyats i en d'altres, que eren aparells estàndard, s'hi van introduir modificacions. Aquests instruments van formar part del procés pel qual el grup de Subirana va posar en marxa del laboratori de difracció de RX entre 1968 i 1973. El DQM va estudiar l'estructura de la nucleohistona per difracció de RX de fibres de DNA i histones i els possibles canvis en l'estructura de l'àcid nucleic quan es trobava associat a proteïnes i, d'aquesta manera, proposar models estructurals per a la nucleohistona.

L'aprenentatge de Subirana en mètodes experimentals i l'ús d'instruments i tècniques al Massachusetts General Hospital, les orientacions donades per Alexander Rich, així com els instruments que aquest li va proporcionar, van orientar la recerca que el grup s'havia plantejat. Les càmeres de difracció de RX que allí es van conèixer amb el nom de RICH van articular el conjunt de destreses tècniques i pràctiques d'investigació. Tant les càmeres RICH com els seus dispositius acoplats i d'altres que van ser adquirits, així com la feina desenvolupada per tal de posar en marxa el laboratori de RX, van participar en la producció de coneixement al DQM, amb el mateix objectiu que anys abans s'havien proposat Palau i Subirana.

La col·laboració entre els investigadors i els tècnics que desenvolupaven les modificacions en la instrumentació i els utilitatges va generar un equip de treball. L'enginyer Joaquim Lloveras destaca en l'història del grup del DQM estudiat aquí, tant per la implementació definitiva del laboratori de RX com per la modificació i disseny de càmeres de difracció. Aquestes es desmuntaven per l'interès que es tenia d'augmentar

les seves prestacions i per provar-les en unes condicions experimentals diferents de les originals per a les quals s'havien dissenyat. Un cop adquirits els coneixements que aquestes proporcionaven, es duïen a terme modificacions concretes i innovadores: se sabia l'experiment que es volia fer i es plantejaven les modificacions necessàries.

El laboratori de RX i les investigacions sobre l'estructura de les proteïnes nuclears i la nucleohistona fetes pel grup que dirigia Subirana entre 1973 i 1977, van contribuir a la producció de nous coneixements al voltant de l'estructura de la cromatina, de la funció d'empaquetament del material genètic al cap dels espermatozous i de la funció estabilitzadora de les protamines en el DNA i a la cerca d'una relació entre estructura i funció.

8.- Tant el DQM com l'IBF van aconseguir crear una massa crítica d'investigadors que va posar en pràctica projectes formatius i de recerca. La formació doctoral de llicenciats universitaris especialitzats en estructures de macromolècules biològiques era un dels objectius que Subirana i Palau s'havien plantejat en dissenyar els seus projectes d'investigació. Això es va materialitzar a la secció de biopolímers, amb les primeres tesis que Subirana i Palau van dirigir. La continuïtat d'aquest procés es fa palesa en la bibliografia d'aquesta memòria, en el nombre de tesis dirigides i en el posterior destí professional dels seus deixebles.³⁹⁹ Es conclou que el desenvolupament de la investigació científica resulta inseparable dels seu temps, té edat, noms i cognoms i el que avui són institucions de recerca consolidades a Catalunya han estat construïdes en bona mesura gràcies a la contribució i a la influència dels científics protagonistes d'aquesta memòria.

Consideracions finals i recerca oberta

Si bé Palau i Subirana van seguir trajectòries diferents ja des dels primers anys de la dècada dels 1970s, coincidint amb la posada en marxa dels seus grups de recerca, la seva relació personal i científica va continuar fins la mort de Palau, l'any

³⁹⁹ Vegeu taules 2 i 3 de l'annex 1.

2000. L'objectiu d'aquesta memòria ha estat investigar en els orígens d'aquesta relació i els seus primers productes: la secció de biopolímers i el Departament de Química Macromolecular. La recerca s'ha centrat en la trajectòria de Subirana i s'ha estudiat la influència de Palau en tot el conjunt d'esdeveniments que es van produir, especialment en la gènesi i desenvolupament de l'Institut de Biologia Fonamental, fins a les seves etapes posteriors al Centro de Investigación y Desarrollo (CID) i a l'Institut de Biologia de Barcelona, ambdós centres del CSIC, entre 1978 i 1985 (Palau i Subirana, 1994).

Com s'ha esmentat, la línia de recerca iniciada per Subirana l'any 1968 i definitivament establerta l'any 1973 amb l'aplicació de les tècniques de difracció de RX va patir un canvi important poc temps després del límit temporal que s'ha establert per a aquesta memòria. Queda obert per a una futura recerca el procés d'adequació del grup de Subirana a les noves tècniques i les noves contribucions del seu grup, així com els processos de disseny i desenvolupament dels instruments relacionats amb les tècniques de difracció de RX al llarg dels anys posteriors als tractats en aquesta memòria.

Si bé els aspectes relacionats amb la recerca de Palau des de l'Institut de Biologia Fonamental han estat tractats amb l'extensió necessària, mereix igual dedicació la documentació relacionada amb aquesta institució, dipositada a l'Arxiu General de la Universitat Autònoma de Barcelona, l'estudi de la qual ha de permetre seguir el procés de posada en marxa i la consolidació d'aquest influent centre català de recerca.

Capítol 9

Bibliografia

ABIR-AM, PNINA G. (1982), "The discourse of Physical Power and Biological Knowledge in the 1930s: A Reappraisal of the Rockefeller Foundation's Policy in Molecular Biology". *Social Studies of Science*, Vol. 12, No. 3, (Aug, 1982), 341-382.

ABIR-AM, PNINA G. (1984), "Beyond Deterministic Sociology and Apologetic History: Reassessing the Impact of Research Policy upon New Scientific Disciplines (Replay to Fuerst, Bartels, Olby and Yoxen)". *Social Studies of Science*, Vol. 14, No. 2, (May, 1984), 252-263.

ABIR-AM, PNINA G. (1992a). "The Politics of Macromolecules: Molecular Biologists, Biochemists and Rethoric". *Osiris* (7), 164-191.

ABIR-AM, PNINA G. (1992b). "From Multidisciplinary Colaboration to Transnational Objectivity: International Space as Constitutive of Molecular Biology". A Elisabeth Crawford, Terry Shinn i Sveke Sörlin (eds.): *Denationalizing Science: the Context of International Scientific Practice*, *Sociology of the Sciences Yearbook*, vol. XVI. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, pp. 153-186. Versió en castellà a Santesmases, M.J. (comp.) (1997). *Orígenes de la Biología Molecular: Contextos internacionales y tradiciones locales Arbor*, 714, CLVI.

ABIR-AM, PNINA G. (1992c). "A historical Ethnography of a scientific anniversary in molecular biology: the first protein X-ray photograph (1984, 1934)". *Social Epistemology*, 6, 4, 323-354.

ABIR-AM, PNINA G. (1997). "The Molecular Transformation of Twentieth-Century Biology" a *Science in the Twentieth Century*, Krige, J. and Pestre, D. (eds) pp 495-524. Amsterdam, Harwood Academic Publishers.

ALLFREY, V.G. (1971). "Functional and Metabolical Aspects of DNA-Associated Proteins", a PHILLIPS, D.M.P.(ed) (1971), *Histones and Nucleohistones*. Plenum Press, London and New York. 241-294.

ARNDT, ULI W. (2001). "Instrumentation in X-Ray Crystallography: past, present and future". *Notes Rec. R. Soc. Lon.*, 55, 3, 457-472.

ARTÍS, MIREIA (1994). "Pere Màrtir Rossell i Vila (1883-1933) i les idees sobre l'herència animal a l'Escola Superior d'Agricultura de Barcelona (1912-1936)". Treball de Recerca, Programa de Doctorat en Història de les Ciències. Seminari d'Història de les Ciències. Facultat de Ciències. Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra. Inèdit.

ASOCIACIÓN NACIONAL DE CATEDRÁTICOS NUMERARIOS DE INSTITUTOS NACIONALES DE ENSEÑANZA MEDIA (1969). "Informe sobre el Libro Blanco del Ministerio de Educación y Ciencia. La Educación en España. Bases para una política educativa".

AUSIÓ, JOAN (2001). "A passion for Protamines, Histones and the Analytical Ultracentrifuge", a *De les macromolècules a la biologia estructural. En dedicació al Professor Joan A. Subirana*, Cornudella, Lluís (ed.), Barcelona, Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Industrial de Barcelona, 58-64.

BALLESTER, MANUEL, PALAU, JAIME, RIERA, J.(1964): "Ultraviolet absorption intensities of the secondary (.....) band of benzene derivatives in non-polar solvents. Relevant data". *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer*, 4: 819-827.

BARTELS, DITTA (1984): "The Rockefeller Foundation's Funding Policy for Molecular Biology: Success or Failure?". *Social Studies of Science*, Vol. 14, No. 2 (May, 1984), 238-243.

BERGMANN, MAX E. & FANKUCHEN, ISIDOR (1949): "Modification of X-ray Diffraction Micro-Camera to Permit Study of Long Spacings". *The Review of Scientific Instruments*, Vol. 20, No. 9, (September, 1949), 696.

BERNAL, JOHN DESMOND (1927). "A Universal X-ray Photogoniometer. Part I". *Journal of Scientific Instruments*, Vol. IV, No. 9 (June 1927), 273 - 284.

BERNAL, JOHN DESMOND (1928). "A Universal X-ray Photogoniometer. Part IIa". *Journal of Scientific Instruments*, Vol. V, No. 8 (August, 1928), 241-250.

BERNAL, JOHN DESMOND (1928). "A Universal X-ray Photogoniometer. Part IIb". *Journal of Scientific Instruments*, Vol. V, No. 8 (August, 1928), 281-290.

BERNAL, JOHN DESMOND (1929). "A Universal X-ray Photogoniometer. Part III". *Journal of Scientific Instruments*, Vol. V, 314- 353.

BEROL, DAVID NATHANIEL (2001). "Living materials and the Structural Ideal: the Development of the Protein Crystallography Community in the 20th Century". Ph.D. Dissertation. UMI Dissertation Services.

BERTOMEU, JOSÉ RAMÓN i GARCÍA, ANTONIO (eds) (2002). *Obrint les Caixes Negres. Col·lecció d'instruments científics de la Universitat de València*. València, Vicerectorat de Cultura. Universitat de València.

BONNER, JAMES AND TS'O, PAUL (eds) (1964). *The Nucleohistones*. Holden-Day, Inc., San Francisco, London, Amsterdam.

BONNER, JAMES and TUAN, DOROTHY Y.H. (1968): "On the Structure of Chromosomal Nucleohistone", a RICH, ALEXANDER and DAVIDSON, NORMAN (eds) (1968): *Structural Chemistry and Molecular Biology. A volume dedicated to Linus Pauling by his students, colleagues and friends*. W.H. Freeman and Company, San Francisco and London, 412–421.

BONNER, JAMES. (1980). Interview by Graham Berry. Pasadena, California, March 13–14, 1980. Oral History Project, California Institute of Technology Archives. Retrieved [supply date of retrieval] from the World Wide Web:
http://resolver.caltech.edu/CaltechOH:OH_Bonner_J

BRADBURY, EDWARD M. AND CRANE-ROBINSON, COLIN (1964): "Physical Studies of the Molecular Configurations of Histone and of Nucleohistone", a BONNER, JAMES AND TS'O, PAUL (eds) (1964). *The Nucleohistones*. Holden-Day, Inc., 117–133.

BRADBURY, EDWARD M. AND CRANE-ROBINSON, COLIN (1971): "Physical and Conformational Studies of Histones and Nucleohistones". A PHILIPS, D.M.P. (ed) (1971), *Histones and Nucleohistones*. Plenum Press, London and New York., 85–134.

BRADBURY, EDWARD M., CARY, PETER D., CHAPMAN, GEORGE E., CRANE-ROBINSON, COLIN, DANBY, SHIRLEY E., RATTLE, HENRY W., BOUBLIK, MIROSLAV, PALAU, JAIME & AVILÉS, FRANCISCO JAVIER. (1975). "Studies on the Role and Mode of Operation of the Very-lysine-Rich Histone H1 (F1) in Eukaryote Chromatin. The Conformation of Histone H1. *Eur. J. Biochem.*, 52, 605–613.

BROWN, ANDREW (2005). *J.D. Bernal The Sage of Science*. Oxford University Press Inc. New York.

BUD, ROBERT & WARNER, DAVID J. (eds) (1998). *Instruments of science. An Historical Encyclopedia*. The Science Museum, London and The national Museum of American History, Smithsonian Institution in association with Garland Publishing, Inc. New York and London.

BUTLER, JOHN A.V. & SHOOTER, K.V. (1957). "The Physical Heterogeneity of DNA", a McELROY, WILLIAM D. & GLASS, BENTLEY (eds) (1957). "A Symposium on the Chemical Basis of Heredity". Baltimore, The Johns Hopkins Press. 540–551.

BUTLER, JOHN A.V., POWER, DAVID F. AND PALAU, JAIME (1967). "Countercurrent-Distribution Studies on Histones". *Biochem. J.* (1967) 102, 539–547.

CAIRNS, JOHN, STENT, GUNTHER S. & WATSON, JAMES D. (eds) (1966). *Phage and the Origins of Molecular Biology*. Cold Spring Harbor Laboratory of Quantitative Biology.

CALVÓ-MONREAL, FRANCISCO JAVIER (2004), Tesi de Master: *La introducció de la biologia molecular a Catalunya: l'Escola Estructuralista de Joan Antoni Subirana i Jaume*

Palau, Barcelona, pp. 101. Programa de doctorat interuniversitari en història de les ciències, UB-UAB. Directors: Xavier Roqué i María Jesús Santesmases. No publicat.

CALVÓ-MONREAL XAVIER (2005), "Molecular biology in Catalonia and the development of X-Ray Diffraction Technology: the structuralist school of Joan Antoni Subirana and Jaume Palau". Proceedings of the 5th International Conference on the History of Chemistry, 6-10 September, 2005 Estoril and Lisbon, Portugal, Malaquias, I., Homburg, E. and Callapez. M.E. (eds.), 223-231.

CALVÓ-MONREAL, FRANCESC XAVIER (2006a). "La biologia molecular a l'Escola d'Enginyers: el Departament de Química Macromolecular". *Quaderns d'Història de l'Enginyeria*, vol. 7, 45-72.

CALVÓ-MONREAL, XAVIER (2006b). "Writing the History of Catalan Molecular Biology: using correspondence, interviews and papers". 2nd International Conference of the European Society for the History of Science, Kraków, 6-9 September 2006, 844-549.

CALVÓ-MONREAL, XAVIER (2006c): "La introducció de la biologia molecular a Catalunya: l'Escola Estructuralista de Joan Antoni Subirana i Jaume Palau", Actes de la VIII Trobada d'Història de la Ciència a Palma de Mallorca. Barcelona, Societat Catalana d'Història de la Ciència i de la Tècnica. p. 517-523.

CANDELA, MILAGROS (ed) (2003). *Orígenes de la Genética en España*. Madrid, Sociedad Estatal de Conmemoraciones Culturales.

CANDELA, MILAGROS (2003). "Los primeros genetistas españoles en la segunda mitad del siglo XX: Nota introductoria", a CANDELA, MILAGROS (ed) (2003). *Orígenes de la Genética en España*. Madrid, Sociedad Estatal de Conmemoraciones Culturales, 71-112.

CAPOCCI, MAURO & CORBELLINI, GILBERTO (2002). "Adriano Buzzati-Traverso and the foundation of the International Laboratory of Genetics and Biophysics in Naples (1962-1969). *Stud. Hist. Phil. Biol. & Biomed. Sci.* 33, 489-513.

CARPIO, ALFONS (2005). "Ciència i política exterior francesa a l'Espanya de Franco: el cas dels físics catalans". Treball de recerca de doctorat, presentat al CEHIC-UAB, inèdit.

CASTELLS, JOSÉ & PALAU, JAIME (1964). "An Infrared Study of Methyl cis- and trans-2-Hidroxy-cycloalkaocarboxylates" *J. Chem. Soc.* 948: 4938-4941.

CHESLEY, FRANK C.(1947). "X-Ray Diffraction Camera for Microtechniques". *Rew. Sci. Ins.*, (18), 6, 422-424.

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (1965): "Veinticinco años de actuación en Barcelona". Barcelona, CSIC.

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (1968): "Memoria del año 1968". Madrid, CSIC.

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (1970): "Memoria del año 1970". Madrid, CSIC.

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (1971): "Memoria del año 1971". Madrid, CSIC.

CORNUDELLA, LLUÍS (ed.) (2001). *De les macromolècules a la biologia estructural. En dedicació al Professor Joan A. Subirana*. Barcelona, Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Industrial de Barcelona.

CORNUDELLA, LLUÍS (2001). "Glossa introductòria del Professor Joan A. Subirana". A *De les macromolècules a la biologia estructural. En dedicació al Professor Joan A. Subirana*. Cornudella, Lluís (ed.), Barcelona, Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Industrial de Barcelona, 5–10.

CREAGER, ANGELA N. H. (1996). "Wendell Stanley Dream of a Free-Standing Biochemistry Department at the University of California, Berkeley". *Journal of the History of Biology* 29, 331–60.

CREAGER, ANGELA N. H. (2002). *The Life of a Virus. Tobacco Mosaic Virus as an Experimental Model, 1930–1965*. Chicago, University of Chicago Press.

CREAGER, ANGELA N. H. (2002b). "Tracing the politics of changing postwar research practices: the export of 'American' radioisotopes to European biologists". *Stud. Hist. Phil. Biol. & Biomed. Sci.* 33, 367–388.

CREAGER, ANGELA N. H. & SANTESMASES, MARÍA JESÚS (2006). "Radiobiology in the Atomic Age: Changing Research Practices and Policies in Comparative Perspective". *J. Hist. Biol.*, 39, 637–647.

CRUFT, HOLLY J. (1976). "Edgar Stedman, 12 July 1890 – 8 May 1975". *Biographical Memoirs of Fellows of the Royal Society*, Vol. 22, 528 –553.

CULLITY, BERNARD D. (1978). *Elements of X-Ray Diffraction*. Addison-Wesley Publishing Company Group cop.

DABAN, MONTSERRAT, CÀCERES, CARMÉ, SAPERAS, NÚRIA, GADELL, KESSRA i CHIVA, MANEL (1991). "Les proteïnes específiques dels nuclis dels espermatozoides en els mol·luscs". *Treb. Soc. Cat. Biol.*, 42, 35–61.

DAVIES, DAVID. D. & FELSENFELD, GARY (1968). "The Structure of RNA" a RICH, ALEXANDER and DAVIDSON, NORMAN (eds) (1968): *Structural Chemistry and Molecular*

Biology. A volume dedicated to Linus Pauling by his students, colleagues and friends. W.H. Freeman and Company, San Francisco and London, 423–429.

DE CHADAREVIAN, SORAYA (1996). "Sequences, Conformation, Information. Biochemists and Molecular Biologists in the 1950s". *Journal of the History of Biology* 29, pp. 361– 386. Versió en castellà a Santesmas, M.J. (comp.) (1997). *Orígenes de la Biología Molecular: Contextos internacionales y tradiciones locales*, Arbor, 714, CLVI.

DE CHADAREVIAN, SORAYA (1997): "Using Interviews to Write the History of Science". A *The historiography of contemporary science and technology*, SÖDERQVIST, T. (ed.). Amsteldijk, The Netherlands, Harwood Academic Publishers. 51–70.

DE CHADAREVIAN, SORAYA (2002). *Designs for Life. Molecular Biology after World War II*. Cambridge, U.K., Cambridge University Press.

DE CHADAREVIAN, SORAYA & STRASSER, BRUNO (2002). "Molecular Biology in postwar Europe: towards a 'glocal' picture". *Stud. Hist. Phil. Biol. & Biomed. Sci.* 33, 361–365.

DE CHADAREVIAN, SORAYA (2003). "Portrait of a Discovery. Watson, Crick and the Double Helix". *Isis*, 94, 90–105.

DE CHADAREVIAN, SORAYA & HOPWOOD, NICK (2004). *Models. The Third Dimension of Science*. Stanford, Stanford University Press.

DE CHADAREVIAN, SORAYA (2004). "Models and the Making of Molecular Biology", a DE CHADAREVIAN, SORAYA & HOPWOOD, NICK (2004). *Models. The Third Dimension of Science*. Stanford, Stanford University Press.

DEICHMANN, UTTE (2002). "Emigration, isolation and the slow start of molecular biology in Germany". *Stud. Hist. Phil. Biol. & Biomed. Sci.* 33, 449–471.

DOTY, PAUL, MARMUR, JULIUS, EIGNER, JOSEPH and SCHILDKRAUT, CARL (1960). "Strand Separation and Specific Recombination in Deoxyribonucleic Acids: Physical Chemical Studies". *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.*, 46, 453.

ELZEN, BOELIE (1993): "The Failure of a Successful Artifact. The Svedberg Ultracentrifuge" a *Center on the periphery : historical aspects of 20th century Swedish physics*. Svante Lindqvist (ed), Canton, Watson Publishers International, 347–377.

FERNÁNDEZ BUEY, FRANCISCO, ARGULLOL, ENRIC i PÉREZ, ANTXON (1977): "El movimiento universitario bajo el franquismo. Una cronología". *Materiales*, 2, 51–70. Reeditat a Lusa Monforte G. i Roca-Rosell, A. (eds) (2005). *Fer memòria per fer futur. La universitat sota el franquisme: què va ser i quina herència ha deixat*. III Jornades Memorial Democràtic a la UPC, 16 i 17 de novembre de 2005. Barcelona, Càtedra Unesco de Tècnica i Cultura.

FERREIRÓS, JOSÉ y ORDÓÑEZ, JAVIER (2003). "Sobre la no neutralidad de los instrumentos científicos", a Santesmases, M.J., Romero, A. (eds): *La física y las ciencias de la vida en el siglo XX: radiactividad y biología*. Madrid, Ediciones de la Universidad Autónoma de Madrid.

FERRY, GEORGINA (2000). *Dorothy Hodgkin. A Life*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.

FERRY, GEORGINA (2007). *Max Perutz and the Secret of Life*. Chato and Windus, London.

FOX, DANIEL M.(1987). "The Politics of the NIH Extramural Program, 1937–1950". *Journal of the History of Medicina and Allied Sciences*. Vol. 42, Oct. 1987. 447–466.

FRANCOEUR, ERIC (1997). "The forgotten tool: The design and use of molecular models". *Social Studies od Science*, 27, 7–40.

FRANKLIN, ROSALIND E., GOSLING, RAYMOND G. (1953a), "Molecular Configuration in Sodium Thymonucleate", *Nature*, 171, 740–1.

FRANKLIN, ROSALIND E., GOSLING, RAYMOND G. (1953b), "Evidence for 2-chain Helix in crystalline structure of sodium deoxyribonucleate", *Nature*, 172, 156–7.

FREDERICQ, E. (1971). "Properties of nucleohistones". a PHILLIPS, DEREK M.P. (ed) (1971), *Histones and Nucleohistones*. Plenum Press, London and New York, 136–186.

FUERST, JOHN A. (1984): "The Definition of Molecular Biology and the Definition of Policy: The Role of the Rockefeller Foundation's Policy for Molecular Biology". *Social Studies of Science*, Vol.14, No. 2, (May, 1984), 225–237.

GAUDILLIÈRE, JEAN-PAUL (1996). "Molecular Biologists, Biochemists, and Messenger RNA: The Birth of a Scientific Network". *Journal of the History of Biology* 29, 417– 445.

GAUDILLIÈRE, JEAN-PAUL. (1997). "The living Scientist Syndrome : Memory and History of Molecular Biology", a SÖDERQVIST, THOMAS (ed) (1997): *The historiography of contemporary science and technology*. Amsteldijk ,The Nederlands, Harwood Academic Publishers, 109–128.

GAUDILLIÈRE, JEAN-PAUL and LÖWY, ILANA (eds) (1998). *The Invisible Industrialist. Manufactures and the Production of Sceintific Knowledge*. Centre for the History of Science Technology and Medicine. University of Manchester.

GAUDILLIÈRE, JEAN-PAUL and LÖWY, ILANA (1998). "General Introduction", a GAUDILLIÈRE, JEAN-PAUL and LÖWY, ILANA (eds) (1998). *The Invisible Industrialist*.

Manufactures and the Production of Scientific Knowledge. Centre for the History of Science Technology and Medicine. University of Manchester, 3–15.

GAUDILLIÈRE, JEAN-PAUL (2002). *Inventer la Biomédecine. La France, l'Amérique et la production des savoirs du vivant (1945–1965)*. Paris, La Découverte.

GLICK, THOMAS F. (1989). “La Fundación Rockefeller en España: Augustus Trowbridge y las negociaciones para el Instituto Nacional de Física y Química”, a SÁNCHEZ RON, JOSÉ MANUEL (1989). *La Junta para la Ampliación de Estudios e Investigaciones Científicas 80 años después*. Madrid, CSIC.

GRAELLS, CARMEN & SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1968): “Comparative Study of Proteins from Sea Urchin Sperm Flagella and Unfertilized Eggs”. *J. Mol. Biol.*, 38, 427–429.

GROSS, PAUL R., MALKIN, LEONARD I. & MOYER, WAYNE, A. (1964). “Templates for the first proteins of embryonic development”. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol 51 (3), 407–414.

HAMILTON, CAROLE L. & McCONNELL, HARDEN M. (1968). “Spin Labels” a RICH, ALEXANDER and DAVIDSON, NORMAN (eds) (1968): *Structural Chemistry and Molecular Biology. A volume dedicated to Linus Pauling by his students, colleagues and friends*. W.H. Freeman and Company, San Francisco and London, 115–149.

HNILICA, LUBOMIR S., McCLURE, MICHAEL E. & SPELSBERG, THOMAS C. (1971). “Histone Biosynthesis and the Cell Cycle”, a PHILLIPS, DEREK M.P.(ed) (1971), *Histones and Nucleohistones*. Plenum Press, London and New York, 187–240.

HOLMES, FREDERICK L. (2001). *Meselson, Stahl and the Replication of DNA. A History of “the most beautiful experiment in biology”*. New Haven and London, Yale University Press.

HUNTER, GRAEME K. (2000). *Vital Forces. The Discovery of the Molecular Basis of Life*. London. Academic Press.

JOHNS, ERNEST W. (1964). “7. Preparative Methods for Histone Fractions from Calf Thymus”. *Biochem. J.*, 92, 55–59.

JOHNS, ERNEST W. (1971), “The Preparation and Characterization of Histones” a PHILLIPS, D.M.P.(ed) (1971), *Histones and Nucleohistones*. Plenum Press, London and New York, 1–45.

JUDSON, HORACE F. (1996). *The Eighth Day Of Creation: The Makers of the Revolution in Biology*. 2nd edition. New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press.

KAY, LILY E. (1988). "Laboratory Technology and Biological Knowledge: The Tiselius Electrophoresis Apparatus, 1930–1945". *History and Philosophy of the Life Sciences*, 10, 51–72.

KAY, LILY E. (1993). *The Molecular Vision of Life. Caltech, The Rockefeller Foundation and The Rise of The New Biology*. New York–Oxford, Oxford University Press.

KAY, LILY E. (1996). "Life as technology: representing, intervening and molecularizing". *The Philosophy and History of Molecular Biology. New Perspectives*. SARKAR, S. (editor), Boston, Kluwer Academic Publisher, 87–100

KAY, LILY E. (2000). *Who Wrote The Book Of Life? A History Of The Genetic Code*. Stanford, Stanford University Press.

KOHLER, ROBERT E. (1982). *From medical chemistry to biochemistry. The making of a biomedical discipline*. Cambridge–New York, Cambridge University Press.

KRIGE, JOHN & PESTRE, DOMINIQUE. (eds) (1997). *Science in the Twentieth Century*. Amsterdam, Harwood Academic Publishers.

KRIGE, JOHN (1997). "The politics of European Scientific Collaboration", a Science in the Twentieth Century, KRIGE, J. and PESTRE, D. (eds), Amsterdam, Harwood Academic Publishers, 897–917.

KRIGE, JOHN (1999). "The Ford Foundation, European Physics and the Cold War". *Hist. Stud. Phys. Biol. Sci.* 29 (2) 333–361.

KRIGE, JOHN (2002). "The birth of EMBO and the difficult road to EMBL", *Stud. Hist. Phil. Biol. & Biomed. Sci.* 33, 547–564.

KRIGE, JOHN (2006). "Atoms for Peace, Scientific Internationalism and Scientific Intelligence". *Osiris*, 21, 161–181.

LAW, JOHN (1973). "The Development of Specialties in Science: The Case of X-ray Protein Crystallography". *Science Studies*, Vol. 3 No. 3, 275–303.

LEHNINGER, ALBERT (1972). *Bioquímica*. Edició en castellà de Fernando Calvet i Jorge Bozal. Barcelona, Ediciones Omega.

LINDQVIST, SVANTE (ed) (1993). *Center on the periphery: historical aspects of 20th century Swedish physics*. Canton, Watson Publishers International.

LLOPIS, JUAN & SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1961). "Thermodynamics of Poly(Methyl Acrylate) Monolayers". *J. Colloid Science*, 16, 618–631.

LLOPIS, REMEDIOS & SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1975). "X-Ray Diffraction Studies of Calf Thymus Nucleohistone". *Anales de Química de la Real Sociedad Española de Física y Química*, vol. 71, 898–906.

LUSA MONFORTE, GUILLERMO (2000) "L'Escola d'Enginyers Industrials de Barcelona 1936–1983" a MALUQUER DE MOTES, J.(ed) *Tècnics i tecnologia en el desenvolupament de la Catalunya contemporània*, Barcelona, Enciclopèdia Catalana.

LUSA MONFORTE, GUILLERMO y ROCA-ROSELL, ANTONI (2002). "La ETSEIB (1851–2001) Una trayectoria fructífera", a PUERTA SALES, FERRAN (ed) (2002) *L'Escola d'Enginyers 1851–2001*, Barcelona, Associació/Col·legi d'Enginyers Industrials de Catalunya.

LUSA MONFORTE, GUILLERMO i ROCA-ROSELL, ANTONI. (2005). *Fer memòria per fer futur. La universitat sota el franquisme: què va ser i quina herència ha deixat*. III Jornades Memorial Democràtic a la UPC, 16 i 17 de novembre de 2005. Barcelona, Càtedra Unesco de Tècnica i Cultura.

MALUQUER DE MOTES, JORGE (ed) (2000). *Tècnics i tecnologia en el desenvolupament de la Catalunya contemporània*, Barcelona, Enciclopèdia Catalana.

MAGALLÓN, CARMEN (1997). "Mujeres en las ciencias físico-químicas en España: el Instituto Nacional de Ciencias y el Instituto Nacional de Física y Química (1910–1936)". *Llull* 20, 529–574.

MALET, ANTONI (1995). *Ferran Sunyer i Balaguer (1912–1967)*. Barcelona, Societat Catalana de Matemàtiques, Societat Catalana d'Història de la Ciència i de la Tècnica.

MARTÍN MUNICIO, ÁNGEL (1994). "Orígenes de España en la biología molecular europea". *Arbor* CXLVIII, 583, 47–80.

MAYNEORD, WILLIAM V. (1979): "John Alfred Valentine Butler, 14 February 1899 – 16 July 1977". *Biographical Memoirs of Fellows of the Royal Society*, Vol. 25 (Nov., 1979) 145–178.

McELROY, WILLIAM D. & GLASS, BENTLEY (eds) (1957). *A Symposium on the Chemical Basis of Heredity*. Baltimore, The Johns Hopkins Press.

McELROY, WILLIAM D.(1957). "Preface", a McELROY, WILLIAM D. & GLASS, BENTLEY (eds) (1957). "A Symposium on the Chemical Basis of Heredity". Baltimore, The Johns Hopkins Press.

MORANGE, MICHEL (2003). *Histoire de la biologie moléculaire*. Paris, La Découverte.

MOSS, TOM, STEPHENS, ROLAND M., CRANE-ROBINSON, COLIN & BRADBURY, EDWARD M. (1977). "A nucleosome-like structure containing DNA and the arginine-rich histones H3 and H4". *Nucleic Acids Research*, 4, 7, 2477-2485.

MURRAY, KENNETH (1964). "The State of Histone Chemistry", a BONNER, JAMES AND TS'O, PAUL (eds) (1964). *The Nucleohistones*. Holden-Day, Inc., 355-356.

NIETO-GALAN, AGUSTÍ (2004). "Free radicals in the European periphery: 'translating' organic chemistry from Zurich to Barcelona in the early twentieth century". *British Journal for the History of Science*, 37 (2): 167-191.

OLBY, ROBERT (1984): "The Sheriff and the Cowboys: Or Weaver's Support of Astbury and Pauling". *Social Studies of Science*, Vol. 14, No. 2 (May, 1984), 244-247.

OLBY, ROBERT, CANTOR, GEOFFREY, CHRISTIE, J.R.R. & HODGE, M.J.S. (eds.) *Companion for the History Of Modern Science*, New York, Routledge.

OLBY, ROBERT (1990). "The Molecular Revolution in Biology" . A Olby, R.C., Cantor, G.N., Christie, J.R.R. and Hodge, M.J.S. (eds.) *Companion for the History Of Modern Science*. New York, Routledge, 503-520.

OLBY, ROBERT (1994). *The path to the Double Helix. The Discovery of DNA*. 2nd edition. New York, Dover Publications Inc.

OLBY, ROBERT (2002). "Confirming a bold prediction. A look back at work to prove the semi-conservative replication of DNA". *Nature*, 417, 121-122.

OLBY, ROBERT (2003) "Why Celebrate the Golden Jubilee of The Double Helix?". *Endeavour*, 27, 2, 80-85.

PALAU, JAIME, PASCUAL JOSÉ, RAFOLS, JOSÉ MARÍA (1964). "Acides cis-et-trans-hydroxy-2 cycloheptane carboxylique. Comparaison avec leurs analogues du cyclopentane et du cyclohexane". *Bull. Soc. Chim. France*, 1964: 269-273.

PALAU, JAIME AND BUTLER, JOHN A.V. (1966). "Trout-Liver Histones" *Biochem. J.* (1966) 100, 779-783.

PALAU, JAIME & SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1966). "Histones of Marine Invertebrates", *Biochem. J., Proceedings of the Biochemical Society*, 101, 34-35 P.

PALAU, JAIME, PARDON, JOHN F. AND RICHARDS, BRIAN M. (1967). "The reversibility of the dissociation of nucleohistone by salt". *Biochim. Biophys. Acta*, 129, 633-636.

PALAU, JAIME, RUIZ-CARRILLO, ADOLFO and SUBIRANA, J.A. (1969): "Histones from Sperm of the Sea Urchin *Arbacia lixula*" *Eur. J. Biochem.*, 7, 209-213.

PALAU, JAIME & PADRÓS, ESTEBAN (1972). "Crevices containing cysteine in the tertiary structure of calf thymus histone f3". *FEBS Letters*, 27, 1, 157-160.

PALAU, JAIME & PUIGDOMÉNECH, PEDRO (1974). "The Structural Code for Proteins: Zonal Distribution of Aminoacid Residues and Stabilization of Helices by Hydrophobic Triplets". *J. Mol. Biol.* 88, 457-569.

PALAU, JAIME & DABÁN, JUAN RAMÓN (1974). "Kinetic Studies of the Reaction of Thiol Groups of Calf Thymus Histone F3 with 5-5'-Dthiobis (2-nitrobenzoic acid)". *Eur. J. Biochem.* 49, 151-156.

PALAU, JAIME & PADRÓS, ESTEBAN (1975). "Behaviour of Tyrosyl Residues of Calf-Thymus Histone F3. Difference-Spectroscopy Studies". *Eur. J. Biochem.*, 52, 555-560.

PALAU, JAIME, CLIMENT, FERNANDO, AVILÉS, FRANCISCO JAVIER, MORROS, ANTONI. & SOLIVA, MONTSERRAT (1977). "Interactions of Histones and Histone Peptides with DNA. Thermal Denaturation and Solubility Studies". *Biochimica et Biophysica Acta*, 476, 108-121.

PALAU, JAUME y SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1994). "La escuela estructuralista de Cataluña y su relación con EMBO" . *Arbor* CXLVIII, 583, 95-119.

PARDON, JOHN F., WILKINS, MAURICE H.F. & RICHARDS, BRIAN (1967). "Super-Helical Model for Nucleohistone". *Nature*, 215, 5100, 508-509.

PARDON, JOHN F. & WILKINS, MAURICE (1972). "A supercoil model for nucleohistone". *J. Mol. Biol.* 68, 115.

PARÉS FARRÀS, RAMON (1969). "Bibliografia d'autors catalans sobre Biologia Fonamental (1965-1969). Barcelona, Societat Catalana de Biologia, filial de l'Institut d'Estudis Catalans.

PERUTZ, MAX (1962), "X-ray analysis of haemoglobin" Nobel lecture. http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1962/perutz-lecture.html (4 de febrer de 2009).

PHELAN, JAMES J., SUBIRANA, JUAN ANTONIO AND COLE, R. DAVID. (1972). "An Unusual group of Lysine-Rich Histones from Gonads of a Sea Cucumber, *Holothuria tubulosa*". *Eur. J. Biochem.* 31, 63-68.

PHELAN, JAMES J., COLOM, JENNY, COZCOLLUELA, CARMEN, SUBIRANA, JUAN ANTONIO. AND COLE, R. DAVID. (1974). "A Lysine-rich Protein from Spermatozoa of the Mollusc *Mytilus edulis*". *The Journal of Biological Chemistry*, 249, 4, 1099-1102.

PHILLIPS, DEREK M.P.(ed) (1971), *Histones and Nucleohistones*. Plenum Press, London and New York.

PINAR, SUSANA (2003). “La genética española en la primera mitad del siglo XX”, a CANDELA, MILAGROS (ed) (2003). *Orígenes de la Genética en España*. Madrid, Sociedad Estatal de Conmemoraciones Culturales, 15–70.

PLADELLORENS, MONTSERRAT & SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1970). “Ultrastructural Study of Chromatin Changes during Spermiogenesis in the Echinoderms *Holothuria polii* and *Holothuria tubulosa*”. *Septième Congrès International de Microscopie Électronique*, Grenoble, 1970, 645–646.

PLADELLORENS, MONTSERRAT & SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1975). “Spermiogenesis in the Sea Cucumber *Holothuria tubulosa*”. *Journal of Ultrastructure Research*, 52, 235–242.

PONSÀ, MONTSERRAT (2007). “Josep Egozcue”. Col·lecció de Biografies de la Fundació Catalana per a la Recerca i la Innovació, Barcelona, Fundació Catalana per a la Recerca i la Innovació.

PREVOSTI, ANTONI (1988). “La genètica a la Universitat de Barcelona” a *I Simposium d’Història de la Universitat de Barcelona 1988*, Publicacions Universitat de Barcelona, 527–532.

PUERTA SALES, FERRAN (ed) (2002) *L’Escola d’Enginyers 1851–2001*, Barcelona, Associació/Col·legi d’Enginyers Industrials de Catalunya.

PUIG RAPOSO, NÚRIA i LÓPEZ GARCÍA, SANTIAGO (1992): *Ciencia e Industria en España: el IQS, 1916–1992*. Institut Químic de Sarrià, Barcelona.

PUIG RAPOSO, NÚRIA (2003). “La ayuda económica norteamericana y los empresarios españoles”. *Cuadernos de Historia Contemporánea*, 25, 109–129.

PUIGDOMÉNECH, PEDRO, CABRÉ, ORIOL, PALAU, JAIME, BRADBURY, EDWARD M. & CRANE-ROBINSON, COLIN (1975). “Studies on the Role and Mode of Operation of the very-Lysine-Rich Histones in Eucaryote Chromatin. The Conformation of $\Phi 1$ Histones from Marine Invertebrate Sperm”. *Eur. J. Biochem.* 59, 237–243.

PUIGDOMÉNECH, PEDRO, DABÁN, JUAN RAMÓN, PALAU, JAIME, PODO, FRANCA, GUIDONI, LAURA & TEMUSSI, PIERO (1977). “The Interaction of histone H3 with Histone H4 and with other Histones studied by Nuclear Magnetic Resonance”. *Biochimica et Biophysica Acta*, 492, 12–19.

PUIGJANER, LUIS C. and SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1974). “Low-Angle X-ray Scattering by Disordered and Partially Ordered Helical Systems”. *J. Appl. Cryst.*, 7, 169–173.

PUIGJANER, LUIS C. Y SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1977). "Hacia un modelo estructural de la cromatina". *Avances de la Bioquímica*, Cornudella, L., Oró, J., de Heredia, C.F. y Sols, A. (eds). Salvat Editores, Barcelona.

RANDALL, JOHN T. (1969). "The Flagellar Apparatus as a Model Organells for the Study of Growth and Morphopoiesis". *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, Vol. 173, 31–62.

RASMUSSEN, NICOLAS (1997). *Picture control. The Electron Microscope and the Transformation of Biology in America, 1940–1960*. Stanford, Stanford University Press.

REAL SOCIEDAD ESPAÑOLA DE FÍSICA Y QUÍMICA. GRUPO DE BIOFÍSICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR. 1ª Reunión Nacional, 14 y 15 de Noviembre de 1969. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales. Barcelona. *Anales de Química*, vol. 65 (1969), 1169–1180.

RHEINBERGER, HANS-JÖRG (1997). *Toward a History of Epistemic Things. Synthesizing Proteins in the Test Tube*. Stanford, Stanford University Press.

RHEINBERGER, HANS-JÖRG (2001). "Putting Isotopes to work: Liquid Scintillation Counters, 1950–1970" a *Instrumentation: Between Science, State and Industry*, 143–174, Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 2001. Versió en castellà a Santesmases, M.J., Romero, A. (eds) (2003): *La física y las ciencias de la vida en el siglo XX: radiactividad y biología*. Ediciones de la Universidad Autónoma de Madrid.

RICH, ALEXANDER & WATSON, JAMES D.(1954a). "Physical studies on ribonucleic acid". *Nature*, 173, 955–956.

RICH, ALEXANDER & WATSON, JAMES, D. (1954b): "Some Relations Between DNA and RNA". *PNAS*, 40, 759–64

RICH, ALEXANDER, (1957), "The structure of synthetic polyribonucleotides and the spontaneous formation of a two-stranded helical molecule" a "A Symposium on the Chemical Basis of Heredity", McELROY, WILLIAM D. & GLASS, BENTLEY (eds) Baltimore, The Johns Hopkins Pre, 557–564.

RICH, ALEXANDER (1960), "A Hybrid Helix containing both Deoxyribose and Ribose Polynucleotides and its Relation to the Transfer of Information Between the Nucleic Acids". *P.N.A.S.*, 46, 1044–1053.

RICH, ALEXANDER and DAVIDSON, NORMAN (eds) (1968): *Structural Chemistry and Molecular Biology. A volume dedicated to Linus Pauling by his students, colleagues and friends*. W.H. Freeman and Company, San Francisco and London.

RICH, ALEXANDER (2006). "Discovery of the Hybrid Helix & the First DNA-RNA Hybridization". <http://www.jbc.org/cgi/doi/10.74/jbc.X600003200>.

RICHARDS, BRIAN M. (1964). "X-Ray Diffraction and Electronic Microscopic Studies of Nucleohistones", a BONNER, JAMES AND TS'O, PAUL (eds) (1964). *The Nucleohistones*. Holden-Day, Inc., 108-116.

ROMERO, ANA y SÁNCHEZ RON, JOSÉ MANUEL (2001). *Energía nuclear en España. De la JEN al CIEMAT*. CIEMAT, Madrid.

ROMERO, ANA (2004a): "El estudio de los socios de la SEB: el nuevo mapa de la bioquímica española". p.189-208, a SANTESMASES, MARÍA JESÚS, ROMERO, ANA, ÁVILA, JESÚS (eds), MUÑOZ, EMILIO (dir.) (2004). *Cuarenta años de la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular (1963-2003)*. Madrid, Sociedad Estatal de Conmemoraciones Culturales, 189-208.

ROMERO, ANA (2004b). "Foros de la bioquímica en España: reuniones y congresos científicos", a SANTESMASES, MARÍA JESÚS, ROMERO, ANA, ÁVILA, JESÚS (eds), MUÑOZ, EMILIO (dir.) (2004). *Cuarenta años de la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular (1963-2003)*. Madrid, Sociedad Estatal de Conmemoraciones Culturales, 69-84.

SÁNCHEZ RON, JOSÉ MANUEL (1989). *La Junta para la Ampliación de Estudios e Investigaciones Científicas 80 años después*. Madrid, CSIC.

SÁNCHEZ RON, JOSÉ MANUEL (1999). *Cinzel, martillo y piedra. Historia de la ciencia en España (siglos XIX y XX)*. Madrid, Taurus.

SANTESMASES, MARÍA JESÚS i MUÑOZ, EMILIO (1994). "Una introducción al origen internacional de la comunidad científica española de biología molecular". *Arbor CXLVIII*, 583, 9-30.

SANTESMASES, MARÍA JESÚS (1997). "Tradición y modernización: aspectos cognitivos en los inicios de la biología molecular en España, 1965-1975". A Santesmas, M.J. (comp.). *Orígenes de la Biología Molecular: Contextos internacionales y tradiciones locales*, *Arbor*, 714, 79-109.

SANTESMASES, MARÍA JESÚS & MUÑOZ, EMILIO (1997a). "Scientific Organizations in Spain (1950-1970): social isolation and international legitimation of biochemists and molecular biologists of the periphery". *Social Studies of Science*, vol. 27 (2) , 187-219.

SANTESMASES, MARÍA JESÚS & MUÑOZ, EMILIO (1997b). "The Scientific Periphery in Spain: The Establishment of a Biomedical Discipline at the Centro de Investigaciones Biológicas, 1956-1967". *Minerva*, 35: 27-45.

SANTESMASES, MARÍA JESÚS (comp.) (1997c). *Orígenes de la Biología Molecular: Contextos internacionales y tradiciones locales*, Arbor, 714, CLVI.

SANTESMASES, MARÍA JESÚS (1997d). "Tradición y modernización: Aspectos cognitivos y sociales en los inicios de la biología molecular en España, 1965-1975, a SANTESMASES, MARÍA JESÚS (comp.) (1997c). *Orígenes de la Biología Molecular: Contextos internacionales y tradiciones locales*, Arbor, 714, CLVI, 79-109.

SANTESMASES, MARÍA JESÚS (1998): *Alberto Sols*. Ayuntamiento de Sax, Instituto de Cultura "Juan Gil-Albert", Diputación Provincial de Alicante.

SANTESMASES, MARÍA JESÚS (2001a). "Centros y periferias: tendencias de la política científica y biología molecular en España". *International Social Science Journal*, 168, 283-296.

SANTESMASES, MARÍA JESÚS (2001b): "Severo Ochoa and the biomedical sciences in Spain under Franco, 1959-1975". *Isis*, vol. 91 (4), 706-734.

SANTESMASES, MARÍA JESÚS (2001c). *Entre Cajal y Ochoa. Ciencias Biomédicas en la España de Franco, 1939-1975*. Madrid, Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

SANTESMASES, MARÍA JESÚS (2002a). "National Politics and international trends: EMBO and the making of molecular biology in Spain (1960-1975)". *Stud. Hist. Phil. Biol. Sci.* 33, 473-487.

SANTESMASES, MARÍA JESÚS (2002b). "¿Artificio o naturaleza? Los experimentos en la historia de la biología". *Theoria - Segunda Época*, vol. 17/2, 265-289.

SANTESMASES, MARÍA JESÚS (2002c). "Enzymology at the Core: *Primers* and *Templates* in Severo Ochoa's Transition from Biochemistry to Molecular Biology". *Hist. Phil. Life Sci.*, 24, 193-218.

SANTESMASES, MARÍA JESÚS (2003): "Neutralidades y atrasos: ciencias y tecnicismo en la España de Franco", a *Actes de la VII Trobada d'Història de la Ciència i de la Tècnica, Barcelona, 2003*. Barcelona, Societat Catalana d'Història de la Ciència i de la Tècnica/Institut d'Estudis Catalans.

SANTESMASES, MARÍA JESÚS, ROMERO, ANA (eds) (2003). *La física y las ciencias de la vida en el siglo XX: radiactividad y biología*. Madrid, Ediciones de la Universidad Autónoma de Madrid.

SANTESMASES, MARÍA JESÚS, ROMERO, ANA, ÁVILA, JESÚS (eds), MUÑOZ, EMILIO (dir.) (2004). *Cuarenta años de la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular (1963-2003)*. Madrid, Sociedad Estatal de Conmemoraciones Culturales.

SANTESMASES, MARÍA JESÚS (2005). *Severo Ochoa. De músculos a proteínas*. Madrid, Editorial Síntesis.

SANTESMASES, MARÍA JESÚS (2006). "Peace Propaganda and Biomedical Experimentation: Influential Uses of Radioisotopes in Endocrinology and Molecular Genetics in Spain (1947–1971)". *J. Hist. Biol.*, 39: 765–794.

SANZ MENÉNDEZ, LUIS y LÓPEZ GARCÍA, SANTIAGO (1997). "Política tecnológica versus política en el franquismo". *Quaderns d'Història de l'Enginyeria*, 2 (1997), 77–118.

SARKAR, SAHOTRA (editor) (1996). *The Philosophy and History of Molecular Biology. New Perspectives*. Boston, Kluwer Academic Publishers.

SAYRE, ANNE (1975). *Rosalind Franklin and DNA*. W.W. Norton & Company, New York–London.

SERRA, LUIS (2003). "Profesor Antonio Prevosti Pelegrín: pionero de la Genética de Poblaciones en España y estudioso de la Evolución", a CANDELA, MILAGROS (ed) (2003). *Orígenes de la Genética en España*. Madrid, Sociedad Estatal de Conmemoraciones Culturales, 391–396.

SHAPIN, STEVEN & SCHAFFER, SIMON (1985). *Leviathan and The Air Pump. Hobbes, Boyle and The Experimental Life*. Princeton, Princeton University Press.

SILLERO, ANTONIO y FELIU, JUAN EMILIO (2004). "Los primeros grupos científicos. Bioquímica". (2004) p 47–53, a SANTESMASES, MARÍA JESÚS, ROMERO, ANA, ÁVILA, JESÚS (eds), MUÑOZ, EMILIO (dir.) (2004). *Cuarenta años de la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular (1963–2003)*. Madrid, Sociedad Estatal de Conmemoraciones Culturales.

SINSHEIMER, ROBERT L. (1964). "The state of Nucleohistone Structure", a BONNER, JAMES AND TS'O, PAUL (eds) (1964). *The Nucleohistones*. Holden–Day, Inc., 357–358.

SÖDERQVIST, THOMAS (ed) (1997): *The historiography of contemporary science and technology*. Amsteldijk, The Netherlands, Harwood Academic Publishers.

STRASSER, BRUNO J. (2002). "Institutionalizing Molecular Biology in post-war Europe: a comparative study". *Stud. Hist. Phil. Biol. Sci.* 33, 515–546.

STRASSER, BRUNO J. (2003). "The transformation of the biological sciences in post-war Europe. EMBO and the early days of European molecular biology research". *EMBO reports*, vol 4, n° 6, 540–543.

SUAU, PEDRO & SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1977). "X-ray Diffraction Studies of Nucleoprotamine Structure". *J. Mol. Biol.* 117, 909–926.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1960). "La viscosidad de las disoluciones de polímeros y su relación con el peso molecular". *Revista de Plásticos*, 11 (1), 15–17.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1962). "Etude des variations des dimensions des chaines macromoleculaires par "effet de volume"". *J. Chim. Phys.*, 58, 1099–1103.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1964a). "Aplicaciones agrícolas de los plásticos en Israel". *Revista de Plásticos Modernos*, 15, 452–457.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1964b): "Solvent Effects on The Non-Newtonian Viscosity of Dilute Solutions of Flexible Linear Macromolecules". *J. Chem. Phys.*, 41, 3852–3856.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1965a). "The irreversible denaturation of bacteriophage deoxyribonucleic acid". *Biochim. Biophys. Acta*, 103, 13–24.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO & SEYMOUR, RAYMOND B. (1965b). "Progreso en plásticos derivados del petróleo". *Revista de Plásticos Modernos*, 16, 905–910.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO & DOTY, PAUL (1966). "Kinetics of Renaturation of Denatured DNA. I– Spectrophotometric Results". *Biopolymers*, 4, 171–187.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1966a). "Kinetics of Renaturation of Denatured DNA. II– Products of the Reaction". *Biopolymers*, 4, 189–200.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1966b). "La renaturalización de ácido desoxirrinonucleico (ADN) desnaturalizado: aplicaciones al estudio del genoma de los bacteriófagos". *Anales de la Real Sociedad Española de Física y Química. Serie B–QUÍMICA. Tomo LXII*, 521–526. Abril–Mayo, 1966.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1967). *Industria e investigación química. Discurso inaugural del curso académico 1967–68*. Barcelona, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales de Barcelona.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO and PALAU, JAIME (1968). "Histone-like Proteins from the Sperm of Echinoderms". *Exp. Cell Res.*, 53, 471–477.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO, PALAU, JAIME, PLADELLORENS, MONTSERRAT, COZCOLLUELA, CARMEN i RUIZ-CARRILLO, ADOLFO (1970). "Proteïnes associades a l'ADN i en l'esperma i els seus canvis en l'espermioogènesi". *Treballs de la Societat Catalana de Biologia*, XXIX, 33–41.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO, PALAU, JAIME, COZCOLLUELA, CARMEN & RUIZ-CARRILLO, ADOLFO (1970). "Very lysine rich histone of echinoderm *Holothuria tubulosa*". *Nature*, 228, 992–993.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1970a). "Nuclear Proteins from a Somatic and a Germinal Tissue of the echinoderm *Holothuria tubulosa*". *Expt. Cell Res.*, 63, 253–260.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1970b). "Histones and Differentiation". *FEBS Symposium*, vol 21, Ochoa, S., Heredia, C.F., Asensio, Nachmansohn, D. (eds), New York Academic Press, 243–253.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1970c). "Hydrodynamic Model of Amoeboid Movement". *J. theor. Biol.*, 28, 111–120.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1970d). "Deoxyribonucleoprotein from Sea Urchin Sperm: preparation and Thermal Denaturation". *J. Polymer Sci. Part C*, 30, 657–665.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1971). "Specific Aggregation of Histone Fractions (Presence of Cysteine in f2a1 from echinoderms). *FEBS Letters*, 16, 133–136.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO and UNZETA, MERCEDES (1972). "Phosphorylation of histone-like components during spermiogenesis in the Sea Urchin". *FEBS Letters*, 28, 1, 112–114.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1973). "Studies on the Thermal Denaturation of Nucleohistones". *J. Mol. Biol.*, 74, 363–386.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO, COZCOLLUELA, CARMEN, PALAU, JAUME, UNZETA, MERCEDES (1973). "Protamines and other basic proteins from spermatozoa of molluscs". *Biochim. Biophys. Acta*, 317, 364–379.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO & PUIGJANER, LUIS (1973): "X-Ray diffraction Studies of Nucleoprotamines from Molluscs" a Bergman, E.D. & Pullman, B. (eds), *Conformation of Biological Molecules and Polymers*. The Jerusalem Symposia on Quantum Chemistry and Biochemistry V. The Israel Academy of Sciences and Humanities. Jerusalem, 1973. 645–653.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO & PUIGJANER, LUIS (1974). "X-Ray Diffraction Studies of Nucleohistone: A Polyhelical Model of Chromosome Organization". *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 71, 5, 1672–1676.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO, PUIGJANER, LUIS, ROCA, JOSÉ, LLOPIS, REMEDIOS & SUAÚ, PEDRO (1975). "X-ray Diffraction of Nucleohistones from Spermatozoa", a "The Structure and Function of Chromatin", Ciba Foundation Symposium, 28, Associated Scientific Publications Amsterdam, 157–179.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1975). "On the biological role of basic proteins in spermatozoa and during spermiogenesis". *The Biology of the Male Gamete*, Duckett,

J.G. & RACEY P.A. (eds) (Supplement No. 1 to the Biological Journal of the Linnean Society, Vol. 7, 1975), 239–244.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1975b). “La arquitectura de la célula, base de la vida”. Avances del saber, tomo XI, Enciclopedia LABOR, Barcelona, Editorial LABOR, S.A., 27–57.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO & MARTÍNEZ, ANTONIO (1976). “Model Studies of Chromatin Structure based on X-ray Diffraction Data”. *Nucleic Acids Research*, 3, 11, 3025–3042.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO, AZORÍN, FERRAN, ROCA, JOSÉ, LLOVERAS, JOAQUÍN, LLOPIS, REMEDIOS & CORTADAS, JORGE (1977). “The dual structure of concentrated nucleohistone gels from different sources: a quantitative analysis of X-Ray diffraction patterns”. *The Molecular Biology of the Mammalian Genetic Apparatus*. Elsevier/North Holland Biomedical Press. Ts'o, P. (ed).

SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1977). “Perspectivas en Química Macromolecular”. *Investigación y Ciencia*, 13, 72–81.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1985). *Estructura del ADN*. Madrid, Editorial Alhambra.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO (2004). “Presidentes fallecidos: *in memoriam Jaume Palau*”. *A Cuarenta años de la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular (1963–2003)*. Santesmases, M.J., Romero, A., Ávila, J. (eds), Muñoz, E. (dir). Madrid, Sociedad Estatal de Conmemoraciones Culturales, 311–314.

SUBIRANA, JUAN ANTONIO (2005). “The Structures of DNA”. Memòria llegida per l'acadèmic electe Dr. Juan Antonio Subirana Torrent, a l'acte de la seva recepció el dia 5 de maig de 2005 a la Real Academia de Ciencias y Artes de Barcelona. Barcelona, 2005.

SUWALSKY, MARIO, TRAUB, WOLFIE, SCHMUELI, ULI, SUBIRANA, JUAN ANTONIO (1969). “An X-Ray Study of the Interaction of DNA with Spermine”. *J. Mol. Biol.*, 42, 363–373.

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE BARCELONA (1977). *Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales de Barcelona. Departamento de Química Macromolecular. Junio 1977*.

WATSON, JAMES D., CRICK, FRANCIS H.C. (1953a), “Molecular Structure of Nucleic Acids. A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid”, *Nature*, 171, 737–8.

WATSON, JAMES D., CRICK, FRANCIS H.C. (1953b), “Genetical Implications of the Structure of Deoxyribonucleic Acid”, *Nature*, 171, 964–7.

WATSON, JAMES D. (1957), "X-ray studies on RNA and the synthetic polyribonucleotides" a *A Symposium on the Chemical Basis of Heredity*, a McELROY, WILLIAM D. & GLASS, BENTLEY (eds), Baltimore, The Johns Hopkins Press, 552–556.

WATSON, JAMES D. (1962), "The involvement of RNA in the synthesis of proteins" Nobel lecture. http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1962/watson-lecture.html (4 de febrer de 2009).

WILKINS, MAURICE H.F., STOKES, ALEXANDER R., WILSON, HERBERT R. (1953), "Molecular Structure of Deoxyribose Nucleic Acids", *Nature*, 171, 738–40.

WILKINS, MAURICE H.F. (1962), "The Molecular Configuration of Nucleic Acids". Nobel Lecture. http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1962/wilkins-lecture.html (4 de febrer de 2009).

WILKINS, MAURICE H.F. (1987). "John Turton Randall. 23 March 1905–16 June 1984". *Biographical Memoirs of Fellows of the Royal Society*, Vol. 33, Dec., 198 , pp. 492–535.

WILKINS, MAURICE H.F. (2003). *The Third Man of the Double Helix*. Oxford University Press, Oxford.

WILSON, HERBERT R. (1966). *Diffraction of X-rays by Proteins, Nucleic Acids and Viruses*. Eduard Arnold (Publishers) Ltd, London.

YOXEN, EDWARD J. (1979): "Where Does Schrödinger's "What is Life" Belong in the History of Molecular Biology?". *History of Science*, 17, 17–52.

YOXEN, EDWARD J. (1984): "Scepticism about the Centrality of Technology Transfer in the Rockefeller Foundation's Programme in Molecular Biology", *Social Studies of Science*, Vol. 14, No. 2 (May, 1984), 248–252.

ZUBAY, GEOFFREY & DOTY, PAUL (1959). "The Isolation and Properties of Deoxyribonucleoprotein Particles Containing Nucleic Acid Molecules". *J. Mol. Biol.*, 1, 1–20.

ZUBAY, GEOFFREY (1964). "Nucleohistone Structure and Function", a BONNER, JAMES AND TS'O, PAUL (eds) (1964). *The Nucleohistones*. Holden-Day, Inc., pp. 95–107.

Capítol 10

Annexos

10.1. Annex 1: Taules

Taula 1: Les cites de les publicacions Subirana i Palau entre 1966 i 1977

Any	Autors	Publicació	Cites
1966	Subirana, Doty	<i>Biopolymers</i>	41
1966	Palau, Butler	<i>Biochemical Journal</i>	32
1967	Palau, Butler	<i>Biochemical Journal</i>	13
1967	Palau, Pardon, Richards	<i>Biochimica et Biophysica Acta</i>	4
1968	Subirana, Palau	<i>Experimental Cell Research</i>	27
1969	Suwalsky, Traub, Schmueli, Subirana	<i>Journal of Molecular Biology</i>	122
1969	Palau, Ruiz-Carrillo, Subirana	<i>European Journal of Biochemistry</i>	68
1970	Subirana, Palau, Cozcolluela, Ruiz-Carrillo	<i>Nature</i>	15
1971	Subirana	<i>FEBS Letters</i>	25
1972	Phelan, Subirana, Cole	<i>European Journal of Biochemistry</i>	34
1973	Subirana, Palau, Cozcolluela, Unzeta	<i>Biochimica et Biophysica Acta</i>	105
1973	Subirana	<i>Journal of Molecular Biology</i>	78
1974	Phelan, Colom, Cozcolluela, Subirana, Cole	<i>Journal of Biological Chemistry</i>	21
1975	Pladellorens, Subirana	<i>Journal of Ultrastructural Research</i>	22
1977	Suau, Subirana	<i>Journal of Molecular Biology</i>	55

Taula 2: Tesis dirigides per Joan Antoni Subirana i Jaume Palau entre 1970 i 1977.

Any de lectura tesi	Joan Antoni Subirana (en l'àmbit de la biologia molecular)	Jaume Palau
1970		Adolfo Ruiz Carrillo: Estudio Bioquímico de proteínas nucleares básicas de equinodermos.
1971	Carmen Cozcolluela: Estudio Bioquímico de proteínas nucleares básicas de moluscos.	
1972	Montserrat Pladellorens: Estudios citoquímicos y ultraestructurales de la espermatogénesis.	
1973	Mercedes Unzeta: Caracterización de proteínas nucleares básicas de esperma de invertebrados marinos.	
1974	Remedios Llopis: Físicoquímica de nucleoproteínas.	Fernando Climent: Estudio de la histona f2a1 y de su interacción con el ácido desoxirribonucleico.
1975	José Roca: Histonas y Nucleohistonas espermáticas. Pere Suau: Aspectos estructurales de las nucleoprotaminas por difracción de RX.	Esteve Padrós: Estudios sobre la conformación de la histona f3. Pere Puigdomenech: Análisis de correlaciones entre la secuencia de las proteínas y su estructura secundaria mediante el uso de ordenador. Aproximación al código estructural de las proteínas. Francesc Xavier Avilés: Interacción de la Histona muy rica en lisina (f1) con el ADN.
1976	Jorge Cortadas: Estructura de la cromatina reconstituida con ADN total y ADN satélite de timo de ternera.	Montserrat Soliva: Estudio de la conformación de la histona h2a y de sus interacciones con el ADN. Oriol Cabré: Estudios de homologías estructurales de histonas muy ricas en lisina de esperma de erizo de mar. Comparación con la histona h1 de tejidos somáticos de mamíferos. Joan Ramón Dabán: Estudios estructurales sobre la histona h3 y su interacción con el DNA. Papel de los residuos de cisteína.
1977		Angel Mozo: Métodos electroópticos e hidrodinámicos de determinación de interacciones de DNA y las histonas h1 y h4. Enric Querol: Ultraestructura de

Taula 3: Destí professional dels estudiants de doctorat de Palau i Subirana entre 1970 i 1977.

Doctorands de Palau i Subirana entre 1970 i 1977	Destí professional posterior
Adolfo Ruiz-Carrillo	Professor d'investigació del CSIC. Catedràtic de la Universitat de Laval, Quebec, Canadà
Carmen Cozcolluela	Sense dedicació posterior a la recerca
Montserrat Pladellorens	Laboratori d'anàlisis clíniques
Mercedes Unzeta	Catedràtica UAB
Remedios Llopis	Cap de laboratori de Química a la Seguretat Social a València
Fernando Climent	Professor titular a la Facultat de Medicina de la UB
Josep Roca	Director general de Henkel Espanya
Pere Suau	Catedràtic de la Universitat Autònoma de Barcelona
Esteve Padrós	Catedràtic de bioquímica i biologia cel·lular a la UAB
Pere Puigdoménech	Professor d'investigació del CSIC
Francesc Xavier Avilés	Catedràtic de bioquímica i biologia molecular i director del IBF
Jordi Cortadas	Defunció
Montserrat Soliva	Catedràtica de Química a l'escola d'enginyeria tècnica d'agricultura, UPC
Oriol Cabré	Professor titular de biologia cel·lular, facultat de ciències, UAB
Joan Ramón Dabán	Professor titular de bioquímica i biologia molecular, facultat de ciències, UAB
Ángel Mozo	Professor titular de bioquímica i biologia molecular, divisió territorial de Lleida, UB
Enric Querol	Professor titular de bioquímica i biologia molecular, facultat de ciències, UAB

10.2. Annex 2: glossari de termes

Activitat òptica: capacitat d'algunes substàncies per fer rotar el pla de polarització de la llum.

Bacteriòfag: virus capaç de replicar-se en una cèl·lula bacteriana.

Configuració β : configuració estesa en ziga-zaga d'una cadena polipeptídica.

Conformació: forma tridimensional d'una macromolècula.

Cristal·lografia de RX: aplicació de la difracció de RX a cristalls, per a la determinació de l'estructura tridimensional de molècules.

Desnaturalització: desplegat parcial, o complet, de la configuració nativa de les cadenes que formen les proteïnes o els àcids nucleics. El procés contrari és la renaturalització.

Dextrogir: estereoisòmer que fa girar el pla de polarització de la llum cap a la dreta.

Difracció: fenomen d'interferència múltiple produït pel caràcter ondulatori de la llum.

DNA (àcid desoxiribonucleic): polionucleòtid que posseeix una seqüència específica de desoxiribonucleòtids i que funciona com a portador de la informació genètica als cromosomes.

Efecte hipercròmic: gran augment de l'absorció lluminosa a 260nm, que es produeix quan fon la doble hèlix del DNA.

Electroforesi: transport de soluts amb càrrega elèctrica, com a resposta a un camp elèctric. Es fa servir sovint per a separar mescles d'ions.

Enllaç (pont) d'hidrogen: atracció electrostàtica dèbil entre un àtom electronegatiu i un àtom d'hidrogen, estant unit aquest amb un altre àtom per enllaç covalent.

Enllaç peptídic: enllaç covalent entre dos aminoàcids, gràcies a la prèvia eliminació d'una molècula d'aigua.

Espermàtida: una de les etapes del procés de maduració dels espermatozous.

Espermatogènesi: procés de maduració de les cèl·lules reproductores masculines.

Estructura primària: estructura covalent de l'esquelet d'una proteïna o d'un àcid nucleic.

Estructura secundària: Configuració de l'esquelet d'una cadena polipeptídica en la seva forma estesa al llarg d'un eix. També aplicable als àcids nucleics.

Estructura terciària: configuració tridimensional de les proteïnes i dels àcids nucleics.

Estructura quaternària: estructura tridimensional que presenten algunes proteïnes, particularment la manera com encaixen entre si les cadenes que la formen.

Hèlix alfa: configuració tridimensional helicoidal d'una cadena polipeptídica amb al màxim nombre de ponts d'hidrogen.

Histona: tipus de proteïnes associades al DNA, que es caracteritzen pel seu elevat contingut en aminoàcids bàsics.

Isomeria: fenomen que presenten certs compostos, consistent en el fet de tenir la mateixa composició centesimal, el mateix pes molecular i la mateixa fórmula empírica, però propietats físiques i químiques diferents.

Levogir: estereoisòmer que fa girar el pla de polarització de la llum cap a la l'esquerra.

Macromolècula: molècules el pes molecular de les quals oscil·la entre uns pocs milers i molts milions de daltons.

m-RNA: classe de molècula de RNA complementària d'una de les cadenes del DNA cel·lular, que serveix per a portar el missatge genètic als ribosomes.

Nucleòsid: compost integrat per una base púrica o pirimidínica, unida covalentment amb una pentosa.

Nucleòtid: Nucleòsid fosforilat en un dels grups hidròxid de la pentosa.

Paramagnètic: substància caracteritzada pel fet de posseir una susceptibilitat magnètica positiva.

Polinucleòtid: seqüència de nucleòtids units per enllaç covalent.

Polipèptid: cadena llarga d'aminoàcids units per enllaç peptídic.

Pont disulfur: enllaç covalent creuat entre dues cadenes polipeptídiques, constituït per una molècula de cistina (tipus d'aminoàcid).

Protamina: proteïna nuclear present als espermatozous, que es caracteritza generalment per un contingut molt alt en arginina i molt baix o absència d'aminoàcids acídics i hidrofòbics.

Proteïna fibrosa: proteïna estructural, insoluble, en la qual la cadena polipeptídica es troba estesa o enrotllada al llarg d'una dimensió.

Proteïna globular: proteïna que presenta la seva cadena polipeptídica plegada en les tres dimensions.

Radical lliure: Un radical lliure és una molècula (orgànica o inorgànica), en general extremadament inestable i, per tant, amb gran poder reactiu.

Ribosoma: petites partícules cel·lulars d'uns 200 Å de diàmetre, constituïdes per RNA i proteïna, que constitueixen el lloc on es dona la síntesi de proteïnes.

RNA (àcid ribonucleic): poliribonucleotid que es presenta en tres tipus diferents, tots ells implicats en la síntesi de proteïnes.

r-RNA: RNA ribosòmic. És un dels tipus de molècules de RNA i forma part dels ribosomes.

t-RNA: RNA de transferència. Classe de molècules de RNA que es combinen mitjançant enllaç covalent amb aminoàcids específics. El complex resultant s'uneix mitjançant ponts d'hidrogen amb un triplet específic del m-RNA.

10.3. Annex 3: abreviatures i sigles d'institucions esmentades al llarg del text

Caltech: California Institute of Technology

CSIC: Consell Superior d'Investigacions Científiques.

EMBL: European Molecular Biology Laboratory (Laboratori Europeu de Biologia Molecular).

DQM: Departament de Química Macromolecular.

EMBO: European Molecular Biology Organization (Organització Europea de Biologia Molecular).

ETSEIB: Escola Tècnica Superior d'Enginyers Industrials de Barcelona.

FEBS: Federació Europea de Societats Bioquímiques.

IBF: Institut de Biologia Fonamental.

IUPAB: International Union for Pure and Applied Biophysics (Unió Internacional per a la Biofísica Pura i Aplicada).

IUPAC: International Union for Pure and Applied Chemistry (Unió Internacional per a la Química Pura i Aplicada).

LMB: Laboratory of Molecular Biology, Cambridge, Regne Unit.

MIT: Massachusetts Institute of Technology.

MRC: Medical Research Council, Regne Unit.

NIH: National Institutes of Health, EUA (Instituts Nacionals de Salut).

RF: Rockefeller Foundation, EUA.

RI: Royal Institution, Regne Unit.

RSEFQ: Reial Societat Espanyola de Física i Química.

SEB: Societat Espanyola de Bioquímica.

“Tota paraula és una paraula de més”

Emil M. Cioran

