

MARGARITA SALAS FALGUERAS: *IN MEMORIAM*

TOMO C · CUADERNO CCCXXI · ENERO-JUNIO DE 2020

LA Profesora Margarita Salas fue una personalidad singular, uncida a la presente historia de la ciencia española. Personalidad granada en los entresijos de nuestra reciente evolución intelectual; madurada a la par que el progreso formidable de la nueva Biología; fiel a los principios de la excelencia y de la calidad, imprescindibles al desarrollo de las élites del saber y al ejercicio de su poder social; pero atenta siempre, también, y no es superfluo, a compartirlos con los genuinos sentimientos de la sencillez, la cortesía e, incluso –como Ortega señalara– con la «fina cultura del gesto». Valores todos con los que Margarita Salas se ha movido permanentemente a través de su amplia y tramada obra científica.

Margarita Salas Falgueras nació, el 30 de noviembre de 1938, en Canero, parroquia del concejo de Valdés atravesada por el río Esva, en la que fue casa solar familiar de los Salas, propiedad de sus abuelos paternos, el Palacio de Llamas. Fueron sus padres D. José Salas Martínez, de ascendencia valdesana, psiquiatra, con fuertes lazos familiares con luarqueños ilustres, primo político de Severo Ochoa de Albornoz y sobrino político de Álvaro de Albornoz Liminiana, y D.^a Margarita Falgueras Gatell, malagueña, maestra.

En Gijón, a donde se trasladó la familia a los pocos meses, «mi padre –recordaba Margarita– alquiló la casa a los Nespral con el propósito de montar un sanatorio psiquiátrico». Con los años, el padre construyó una pista de patines y otra de tenis, deporte que enganchó a Margarita. Entre estudios y deporte, los Salas, sin faltar un año, pasaban un mes del verano en Aviados, en la parte nororiental de León. «Para secarse», comentó Salas.

Margarita, para hablar con fluidez, esperó a ir al colegio. La Asunción, el colegio de El Bibio, cuyo lema, «Sin miedo», impondría carácter a su alumna, cuya promoción, la de 1955, se conoce como «la fetén». «Un colegio donde las mujeres que allí estudiaron –comentó Marga– pudieron, gracias

al espíritu de la institución, hablar, debatir y discutir de todo». Margarita asegura que recibió una educación clásica, muy reglamentada, en el colegio y en familia, que le inculcaron unos valores que nunca abandonó. Influyeron, decisivamente, la profesora de matemáticas, sor Gloria, y su tía-abuela Lucía, por la que siempre sintió pasión. Cursó los seis años de bachillerato común: humanidades –incluyendo latín, griego y francés– y ciencias. A los 16 años se desplazó a Madrid, para hacer el preuniversitario y decantarse por ciencias. Completó los primeros cursos de Medicina y Química para apostar, definitivamente, por las ciencias químicas.

En 1958, el verano correspondiente al tercer curso de Química fue decisivo para su futuro. Aquel año, Severo Ochoa, que había rehusado visitar España desde su salida en 1936, pasó dos semanas en su natal Luarca y otras dos en Gijón, donde nació su mujer, Carmen. Aparte de la relación familiar antes comentada, José Salas y Ochoa trabaron buena amistad en sus años de convivencia en la Residencia de Estudiantes. El padre de Margarita invitó al matrimonio a comer, con lo que Margarita tuvo la oportunidad de hablar de sus expectativas. Al día siguiente llevaron a Ochoa a dar una conferencia a Oviedo. Era un brillante orador; Margarita quedó fascinada. No había estudiado bioquímica, que figuraba en cuarto curso. Ochoa prometió enviarla un libro, y cumplió su palabra; envió la primera edición de *General Biochemistry* de Fruton y Simmonds, todo un clásico con una dedicatoria. Margarita finalizó sus estudios de licenciatura en Química con la decisión de dedicarse a la bioquímica y trabajar en un laboratorio.

Ochoa recomendó hacer la Tesis doctoral en España bajo la dirección de un excelente bioquímico, Alberto Sols y, luego, realizar una estancia postdoctoral en su laboratorio en la *New York University*. Ochoa escribió una carta de recomendación; Sols no pudo rehusar la petición a pesar de tratarse de una mujer; Ochoa era Premio Nobel desde un año antes, en 1959. Alberto Sols, años después, contó que, al verla, pensó: «¡Bah!, una chica; le daré un tema de trabajo sin gran interés y, así, si no lo saca adelante, no pasa nada». «Lo pasé mal –rememora Margarita–, yo era invisible para él. Hasta el punto que se dirigía a mí a través de mi futuro marido, Eladio». No cabe duda que el país es terco. En 2005, el Ministro del ramo, al imponerla la Medalla de Oro al Mérito en el Trabajo comentó: «Me viene muy bien porque eres mujer». Luego se retractó. En Julio de 2019, en la UIMP Margarita insistiría:

«De joven era discriminada por ser mujer y ahora, con 80 años, siento lo mismo por el hecho de ser mayor».

Margarita conoció a Eladio Viñuela Díaz en los últimos años de los estudios de Licenciatura. Coincidieron en el laboratorio de Sols. El trabajo de Tesis de ambos giró en torno al metabolismo de los hidratos de carbono. Fruto de ello fue su primer trabajo, conjunto, en 1963. Aquel año Margarita consiguió una beca de la Fundación Juan March, que permitió a la pareja seguir un año más en el laboratorio de Sols, casarse y alquilar un piso. Tras la lectura de la Tesis doctoral Severo Ochoa, como había manifestado años atrás, la ofreció a continuación hacer una estancia posdoctoral en su laboratorio. En agosto de 1964 llegó el matrimonio a Nueva York, justo a tiempo para asistir a las jornadas finales del *6th International Congress of Biochemistry*, donde Philip Leder y Marshall W. Nirenberg presentaron su trabajo sobre el proceso ordenado de ensamblaje de los diferentes aminoácidos en la cadena polipeptídica en crecimiento. El denominado «experimento de Nirenberg y Leder» representaba, en aquel momento, el paso final conocido en la determinación del código genético.

Corrían los años sesenta, un momento en que «no era nada habitual que una mujer con la Tesis recién leída saliera de España para hacer un posdoc». Aunque Salas recuerda que «no iba sola, ya fui casada, pero Ochoa tuvo el acierto de ponernos en grupos separados». «Así, por lo menos aprenderéis inglés», les dijo, pero «lo que pretendía era que cada uno desarrolláramos nuestra ciencia de forma independiente». «Durante los tres años de estancia en el laboratorio de Ochoa, no me sentí discriminada por ser mujer; simplemente me trataba como una persona».

El primer proyecto de Margarita en el laboratorio de Ochoa concluyó en que la lectura del mensaje genético presenta direccionalidad. A continuación, utilizando ARN mensajero del bacteriófago MS₂ –uno de los virus o fagos que infectan exclusivamente a las bacterias– y ribosomas purificados, demostró que la iniciación de la síntesis de la cadena polipeptídica requería proteínas específicas denominadas «factores de iniciación». También colaboró en la demostración de que el denominado «codón ocre» es una de las secuencias que dan lugar a la terminación de la elongación de la cadena polipeptídica.

«Tengo recuerdos imborrables de mi estancia en el laboratorio de Severo Ochoa», escribió Margarita. «Nos enseñó, a Eladio y a mí, no solo biología

molecular, que desarrollamos y enseñamos en España, sino también su rigor experimental, su dedicación y entusiasmo por la investigación. Seguía de cerca nuestro trabajo y diariamente discutíamos con él lo hecho y lo que pensábamos hacer. Particularmente agradable era el almuerzo, cuando además de hablar de ciencia, se discutía sobre música, arte, literatura y viajes. Era un rito el paso de Severo Ochoa a las «doce en punto» por nuestros laboratorios para recogernos de camino al comedor de la Facultad. Recuerdo las clases a los alumnos de Medicina por los profesores del departamento, a las que asistían todos sus miembros. Ello nos dio ocasión de aprender la Biología Molecular desde el punto de vista teórico de la mano de Severo Ochoa y de otros grandes profesores del Departamento».

Después de tres años de aquella experiencia llegó la hora de regresar. «Pensamos que no deberíamos seguir trabajando en nuestros temas de investigación respectivos, muy competitivos en aquella época, ya que éramos conscientes de que teníamos que organizar un laboratorio e iniciar, desde cero, un nuevo grupo de investigación», comentó Margarita. También «la condición autoimpuesta de que si no éramos capaces de seguir investigando en Madrid, nos volvíamos». La decisión de regresar exigió disponer de un puesto de trabajo en un laboratorio, de un tema y de dinero para desarrollar el proyecto. Poco antes de abandonar EE.UU. fueron asistentes privilegiados del *Bacteriophage Course* 1966 en los *Cold Spring Harbor Laboratories*. Precisamente el estudio de los bacteriófagos había dado lugar al nacimiento de la Genética Molecular en los años 50 mediante el trabajo del llamado «grupo de los fagos».

Eligieron un fago del *Bacillus subtilis* denominado $\phi 29$, que Eladio «descubrió» leyendo una publicación donde se describía la morfología de la partícula mediante una micrografía electrónica y el tamaño del ADN. Este fago tiene dos características: siendo muy pequeño es muy complejo y se sabía muy poco de él. Consiguieron una muestra del fago que les facilitó un laboratorio amigo. Mientras, habían solicitado sendas becas de colaborador científico en el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), que les fueron concedidas y, también, a través de la mediación de Ochoa, una ayuda de la de la *Jane Coffin Childs Memorial Fund for Medical Research* proponiendo el fago $\phi 29$ como sistema modelo para estudiar la morfogénesis y mecanismos de transferencia de la información genética.

El fago $\phi 29$ es un virus diminuto, pero suele ocurrir que las cosas pequeñas esconden grandes tesoros. Cuando un genoma es casi minúsculo, pero subsiste como tal, significa que tiene que ser muy eficiente para su replicación y mantenimiento, y los genes que contiene han tenido que ser muy bien elegidos. El fago en cuestión es como una versión bonsái de otros bacteriófagos; una suerte de *boutique*. Una tienda donde no hay de todo, pero sus productos elegidos tienen, sin duda, mucho valor para asegurar el negocio. Con el tiempo $\phi 29$ resultó un buen negocio.

Con el fago, puesto de trabajo y financiación para llevar a cabo su proyecto, retornaron a Madrid en julio de 1967 y se instalaron en el mismo Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) en el que hicieron sus Tesis doctorales. El director de uno de los institutos del Centro, el Instituto Gregorio Marañón del CSIC, les cedió un amplio laboratorio, por supuesto vacío pero que dotaron gracias a la beca *Jane Coffin*. En septiembre el laboratorio estaba listo; estaban ellos dos solos, pero con objetivos claros que recogió la Memoria anual del CIB en 1967.

A finales de aquel año dos acontecimientos abrirían el camino. A través de un investigador del CIB, amigo del recién nombrado Jefe del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Química en la Universidad Complutense y que con los años sería vicedirector de esta Casa, Ángel Martín Municio invitó a los doctores Viñuela y Salas a dictar un Curso sobre Genética molecular. Aquello les permitió integrarse en la docencia y tener contacto con estudiantes, cantera de futuros colaboradores. Ello coincidió con la convocatoria de las primeras becas del Plan de Formación de Personal Investigador, con lo que pudieron tener sus primeros doctorandos.

Margarita, que había trabajado con Ochoa en la síntesis *in vitro* de proteínas, empezó a trabajar en transcripción *in vitro* de ADN, descubriendo la estructura de la ARN polimerasa del huésped de $\phi 29$, formada por varias subunidades. Ello supuso una invitación de James (Jim) D. Watson –coautor de la doble hélice de ADN en 1953 y Premio Nobel de Fisiología o Medicina 1962– para asistir al *Cold Spring Harbor Symposium* sobre transcripción. Luego, siguiendo la dirección contraria a la que sigue el código genético: ADN \rightarrow ARN \rightarrow proteína, Margarita, tras trabajar en proteínas y ARN, se dedicó, junto a Eladio Viñuela, al estudio de la replicación del ADN de $\phi 29$. Este trabajo dio lugar al descubrimiento de un nuevo mecanismo de

replicación del ADN que no solo utiliza el fago $\phi 29$ sino varios tipos de virus de interés sanitario y económico, como el adenovirus humano, que produce transformación oncogénica, el virus de la poliomielitis o los de las hepatitis B y C, para la replicación de su genoma. Casi simultáneamente llevó a cabo la secuenciación del genoma del fago: 20 genes, frente a los aproximadamente 25 000 del genoma humano. Fue el primer genoma de un organismo que se secuenció en España.

En los primeros años de la década de 1970 tuvo lugar un cambio profundo en el grupo del fago $\phi 29$. Eladio se aventuró en un nuevo tema de trabajo: el estudio del virus de la Peste Porcina Africana. Esto tuvo un doble aliciente: por una parte, se iniciaba un tema muy importante tanto desde el punto de vista básico como agropecuario y comercial de un problema que afectaba gravemente a la cabaña porcina española; por otra parte, dejaba a Margarita el camino independiente en el estudio del bacteriófago $\phi 29$, aunque el apoyo de Eladio se mantuvo de por vida.

En 1977 el grupo se trasladó al nuevo Centro de Biología Molecular, fundado en 1975 como un centro mixto entre el CSIC y la Universidad Autónoma de Madrid (UAM) y construido con la idea de incorporar a Severo Ochoa de retorno a España. No fue posible. Pero sí el Centro, que ocupó el módulo V y algún despacho en el módulo X, de la Facultad de Ciencias de la UAM. Margarita ocupó la dirección los años 1992 y 1993.

La llegada de nueva tecnología de Ingeniería Genética y las nuevas técnicas de imagen mediante microscopía electrónica abrieron nuevos caminos en el estudio del fago $\phi 29$ que permitieron a Margarita obtener, en 1980, una ayuda de los *National Institutes of Health*, EE. UU., que mantuvo durante 25 años. Estos fondos fueron cruciales para la investigación del grupo, complementados con ayudas de fuentes españolas públicas y privadas. También, desde 1980 hasta 1996 Salas organizó en el Hotel Regio de Salamanca, cada cuatro años, el *International Workshop on Bacteriophages*, bajo los auspicios de la *European Molecular Biology Organization* (EMBO). En la primera reunión quedó de manifiesto que era posible hacer investigación de calidad en España. «Pienso –comentaría Margarita– que aquello fue el comienzo de su reconocimiento internacional».

En 1982 Luis Blanco abandonaba A Coruña para iniciar su Tesis doctoral bajo la dirección de Salas. La lectura tuvo lugar en 1985. El título, escueto:

DNA polimerasa del bacteriófago $\phi 29$. Esa polimerasa, producto del gen 2 del fago, se encarga del paso de iniciación de la replicación utilizando un *primer* proteico, y ella misma es responsable de completar la replicación del ADN viral. Además, la polimerasa de $\phi 29$ tiene la capacidad de corregir los errores de inserción de nucleótidos. Nadie en España trabajaba en aquellas fechas con ADN polimerasas. Con Salas se demostró que la relación estructura-función de esta polimerasa resultó ser extrapolable a todas las ADN polimerasas eucarióticas, incluidas las ADN polimerasas replicativas humanas. Demostraron la extraordinaria capacidad de amplificación, algo muy útil para realizar análisis genéticos y forenses como obtener el ADN de un individuo a partir de uno de sus pelos, su enorme procesividad y su capacidad de emular una helicasa. Todo ello fue la base de una patente histórica en nuestro medio.

En el Congreso sobre bacteriófagos de 1988, Luis Blanco, Antonio Bernard y Margarita Salas presentaron las excepcionales propiedades de la ADN polimerasa de $\phi 29$, lo que despertó el interés de Charles Richardson, de la Universidad de Harvard, presente en el Congreso y que tenía licenciado el uso en secuenciación de la ADN polimerasa del fago T7 a la compañía americana *United States Biochemicals* (USB). Unos meses más tarde informaron a Richardson sobre cómo conseguir una versión mejorada de su ADN polimerasa, y que permitió la comercialización de una nueva versión. Richardson devolvió el favor, facilitó el contacto con USB, lo que supuso una rápida y robusta redacción de la patente de aplicabilidad de la ADN polimerasa de $\phi 29$, así como un acuerdo inmediato de licencia entre USB y el CSIC en 1989.

La patente tuvo que «madurar» pacientemente en los cajones durante diez años, mientras se incorporaban los conocimientos y técnicas según avanzaba el Proyecto Genoma Humano. Hubo que esperar a 2001 cuando se desarrollaron los primeros kits de amplificación, mejorados, de ADN basados en la ADN polimerasa de $\phi 29$. Este sistema de amplificación resultó ser más eficiente que la hasta entonces dominante PCR desarrollada en 1986 por Kary B. Mullis, por lo que fue galardonado con el Premio Nobel de Fisiología o Medicina 1993. El mérito de la investigación radica en haber convertido al $\phi 29$ en un modelo con el que estudiar procesos básicos aplicables a todos los seres vivos.

Desde el año 2002 hasta diciembre de 2006, la comercialización que hizo General Electric de los kits de amplificación del ADN ha generado unos ingresos netos de varios millones de euros. O dicho de otra forma: el minúsculo virus resultó ser la gallina de los huevos de oro. «Nuestra patente supone el 50% de los ingresos que el Consejo Superior de Investigaciones Científicas, mi patrono –de Margarita–, obtiene por *royalties*».

A comienzos de 2008 Luis Blanco constituyó la compañía X-Pol Biotech, una *spin off* del grupo Genetrix. Esta compañía nació con la idea de desarrollar polimerasas innovadoras. Por ello y por la enorme relación que tenían Margarita y Luis, Salas se unió al accionariado a los pocos meses de haber fundado la compañía. El primer producto que lanzaron a libre competencia de mercado fue la ADN polimerasa de $\phi 29$ que ya había dejado de estar protegida por la vieja patente.

En 2012 Salas y Blanco organizaron en el CBM Severo Ochoa un congreso internacional sobre ADN polimerasas. En este *meeting* tuvo lugar el «bautizo científico» de una nueva quimera ADN primasa/polimerasa humana, que permitió el desarrollo de un nuevo método de amplificación de ADN capaz de ampliar trazas de ADN genómico o de ADN tumoral circulante obtenido mediante biopsia en fase líquida o, simplemente, biopsia líquida. Ese año, Genetrix sacó la compañía X-Pol Biotech a la bolsa alemana y se pasó a llamar Sygnis, cuyo objetivo fue comercializar el desarrollo descrito. En 2017 se fusionaron con una compañía inglesa, Expedon, que en 2018 se convirtió en un consorcio internacional de varias empresas radicadas en España, Reino Unido, EE.UU. y Australia. Los desarrollos de Luis y Margarita son la base de la tecnología de la compañía, y Salas ha sido accionista y asesora de dicha empresa hasta su muerte. Pocos científicos españoles han sido tan internacionales y han tenido tanto éxito, incluso en la explotación empresarial de sus descubrimientos, como Margarita.

«La aplicación biotecnológica de la ADN polimerasa de $\phi 29$ es un buen ejemplo de la importancia y el potencial de la investigación básica» –insistió Margarita. «A la vista es claro –remacha Salas– que sin investigación básica no hay investigación aplicada y ello cierra la cadena del desarrollo industrial». También en su discurso de recepción en esta Real Academia se refirió a la necesidad de la contribución de varias disciplinas en el estudio de los problemas complejos.

Conocer, instruir y aprender que no son sino educación. Tras el éxito del Curso de genética en la Universidad Complutense, Margarita impartió clases regulares en aquel Departamento de Química durante 23 años. Las últimas actas que llevan su firma corresponden al Curso académico 1991-1992. Por otro lado 55 doctorandos y otros muchos doctores que han obtenido una formación postdoctoral y los técnicos que han pasado y/o que están actualmente en el laboratorio. Una gran familia formada por hijos, nietos y hasta bisnietos científicos. Ello se resume en 407 publicaciones en revistas internacionales, 291 comunicaciones a congresos internacionales, 508 conferencias, las correspondientes tesis doctorales dirigidas y 9 patentes licenciadas. En 2017 se celebró el 50 aniversario de ϕ 29 en España y, un año después, el 80 cumpleaños de Margarita. Por otro lado, numerosos doctorados *Honoris causa* y medallas de Oro por numerosas universidades. También, sendos Institutos de Educación Secundaria, Unidades de Formación e Inserción Laboral o aulas y laboratorios por toda la Geografía llevan el nombre de *Margarita Salas*. Y, no puede faltar, la Academia.

La profesora Salas fue electa en la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales el 17 de diciembre de 1986, tomó posesión el 25 de mayo de 1988. En noviembre de 2017 la profesora Salas recibió, en presencia de los reyes eméritos, la Medalla Echegaray, el más alto galardón científico concedido por la Real Academia de Ciencias; instituido a instancias de D. Santiago Ramón y Cajal en 1905, tras la concesión del Premio Nobel a D. José Echegaray, y viene a reconocer una eminente trayectoria científica.

El 20 de diciembre de 2001 fue elegida para ocupar la plaza de número de la silla «i», vacante en la Real Academia Española por fallecimiento de don José García Nieto. Su candidatura fue firmada por D. Antonio Colino López, D. Ángel Martín Municio y D. Valentín García Yebra. Ingresó el 4 de junio de 2003, leyendo un discurso titulado «Genética y Lenguaje», al que respondió D. Gregorio Salvador Caja. La profesora Salas escribió: «[...] el azar ha hecho que a mí me haya correspondido el sillón “i”, letra que, inmediatamente, asocio con investigación. Investigación que, sin duda, ha llenado mi vida». Desde su ingreso fue designada para formar parte de la Comisión de Vocabulario Científico y Técnico, que presidió. Desde 2009 formó parte de la Comisión Delegada del Pleno para el Diccionario. Formó parte de la Junta de Gobierno de la Corporación, desempeñando el cargo de

Censora y, en representación de la Real Academia Española, formó parte de varios jurados de Premios Nacionales. Al fallecimiento contaba con 1074 asistencias al Pleno de la Corporación.

Margarita Salas Falgueras fue nombrada Presidenta del Instituto de España el 22 de diciembre de 1995, cargo que ostentó hasta el 26 de diciembre de 2003.

Margarita fue operada de un cáncer de mama en 1984, siendo sometida inmediatamente después a radioterapia. A pesar de ello la actividad de Margarita no se vio limitada: «La férrea voluntad» por la que clamaba Don Santiago Ramón y Cajal, quién definió las «cualidades de orden moral que debe poseer el investigador»: independencia de juicio, perseverancia y pasión en y por el trabajo, y gusto por la originalidad científica. Margarita falleció el 7 de noviembre de 2019.

Ya sabéis vosotros que de todos los dones que decía Jenofonte que compramos a los dioses con el trabajo es, en el mercado de los valores humanos, uno de los más costosos el del nombre, si es de buena ley. *Margarita Salas* lo es. Nombre refrendado por innumerables reconocimientos nacionales e internacionales. Mencionaré unos pocos. Entre los primeros: Premio Rey Jaime I a la Investigación, Medalla del Principado de Asturias, Premio de Investigación –hoy «Miguel Catalán»– y Medalla de Oro de la Comunidad de Madrid, Miembro de los Patronatos de la Biblioteca Nacional y del Instituto Cervantes, Premio Nacional de Investigación Ramón y Cajal, Embajadora Honoraria de la Marca España, Gran Cruz de la Orden Civil de Alfonso X el Sabio, la ya mencionada Medalla al Mérito en el Trabajo, título de Marquesa de Canero o la concesión, título póstumo, de la Medalla al Mérito en la Investigación y en la Educación Universitaria en su categoría de Oro. Entre las internacionales: Miembro de EMBO, de la *Academia Europeae*, de la *InterAmerican Medical and Health Association* (USA) y de la *European Science and Technology Assembly* de la *European Commission*; Medalla Gregor Johann Mendel de la Academia de Ciencias de Checoslovaquia; premios Carlos Juan Finlay de UNESCO, México de Ciencia y Tecnología, L'Oreal-UNESCO *for Women in Science*; Sillón «Isabel la Católica» de la Academia Europea de Yuste; de la *National Academy of Sciences* (USA), *Nature Mentoring Award in Science for «a life time achievement in mentoring»* o el Premio al Inventor Europeo 2019, obtenido en las categorías de «Logro de toda una

vida» y «Premio Popular» otorgados por la Oficina de Patentes Europea.

A modo de resumen del talento de Margarita Salas, valga la conclusión de una carta del luarqués Tomás Pérez de Valdés dirigida a Felipe II: «[...] y a esto no me mueve ambición, sino el celo de mi oficio y el ser verdadero vasallo de mi vocación».

VALE.
PAZ y BIEN.

PEDRO R. GARCÍA BARRENO
Real Academia Española

