

DE CÓMO ENTRAR EN EL SIGLO XXI DE LA MANO DE UN GRAN... ROBERTO

Raúl Herranz Barranco

Discípulo de Roberto Marco

Centro de Investigaciones Biológicas (CIB-CSIC), Madrid

Roberto fue siempre una gran persona. Digo persona porque me resultaría muy difícil tener que elegir entre sus múltiples perfiles, investigador, profesor, colega, incluso jefe, sin menospreciar por supuesto su faceta más familiar. Quizás por eso siempre estuvo tan comprometido con *Encuentros multidisciplinares*. Y digo Roberto porque no solo me resulta difícil sino ridículo referirme a él de otro modo. Durante los diez años que tuve el placer de compartir su compañía, como discípulo en su laboratorio, nunca use otro apelativo que no fuera su nombre de pila. Pido disculpas por adelantado porque intentando contar su historia he acabado contando la mía, pero es tan fuerte su huella en cada uno de mis pasos, que estoy seguro de que los que tuvieron la suerte de conocerlo le recordaran leyendo las próximas líneas. En las que he insistido que lo que hicimos durante estos años no fue más importante que el cómo lo hicimos.

EL SEÑOR DE LAS MOSCAS... ESPACIALES

La primera vez que me hablaron de Roberto fue en el penúltimo curso de carrera. Era el profesor que enviaba moscas al espacio. ¿Anecdótico? Quizá sí, pero quién podía imaginar que un profesor de la Facultad de Medicina de la UAM podría estar haciendo algo tan espectacular e inusual en España en el año 1998. Con el tiempo me daría cuenta de lo pionero que fue Roberto, metiendo la cabeza en la investigación espacial ya en el año 1981¹. En esos momentos, sus futuros alumnos esperábamos, expectantes, verle aparecer en nuestra aula para enseñarnos Biología del Desarrollo Animal. Tarde, pero *apareció, seguramente lo hizo con prisas, perdiendo algún papel por el camino* y con la chaqueta mal abotonada o incluso algún resto de comida aun en la comisura de los labios. Sinceramente, no parecía un eminente científico ni un visionario ni un pionero, parecía una persona, y sin embargo también era todo lo demás.

Y en esa asignatura tuvimos que hacer una investigación bibliográfica que en mi caso se centró en el impacto biológico de la redundancia génica, es decir, por qué los eucariotas superiores (particularmente los metazoos) poseen varios genes que cumplen aparentemente una función idéntica si los sistemas biológicos tienden a optimizar la relación coste/beneficio. Durante la evolución de los mamíferos se ha duplicado el genoma incluso hasta 4 veces, por lo que los genes “redundantes” han ido modificando sus propiedades (bien su estructura o bien su expresión) para adquirir nuevas funciones o refinar las originales (por ejemplo, especializándose en distintos tejidos). Poco podía yo imaginar que ese trabajo sería mi ticket de entrada al laboratorio B-20, a la sazón dirigido por Roberto.

Una de las líneas de trabajo del laboratorio, la que no estaba vinculada con la investigación espacial, pretendía desvelar por qué la Troponina C (la proteína que detecta los niveles de calcio celular que promueven la contracción muscular) estaba codificada por tres genes en un animal tan pequeño como *Drosophila*² cuando en mamíferos solo hay dos genes diferentes (específicos de músculo cardíaco y esquelético). En *Drosophila*, uno de los tres genes parecía ser específico de los

¹ Marco, R.: “Ciencia y Sociedad: Microgravedad y Biología”, Investigación y Ciencia, Vol. 59, pp. 42-43, 1981.

² Fyrberg, C.; Parker, H.; Hutchison, B.; Fyrberg, E.: *Drosophila melanogaster* genes encoding three troponin-C isoforms and a calmodulin-related protein. *Biochem Genet.* 1994; 32(3-4):119-35.

músculos de vuelo (IFM), especialmente interesantes por tener un mecanismo asincrónico de contracción (parecido al del músculo cardíaco) que se suponía basado en unos componentes moleculares específicos. El objetivo del laboratorio era encontrar esos genes en varias especies de *Drosophila* y comprobar cómo habían evolucionado. ¿Realmente se expresaban en distintos tejidos para ajustar su función? Y en ese caso ¿cómo habían llegado a ser tan eficaces y específicos? Así comenzó mi trabajo de último curso de carrera que se convertiría en tesis doctoral en 2004, y la gran aventura que supuso en mi vida unirme a los proyectos de Roberto.

EN VOLANDAS HACIA EL ESPACIO

Pero no vayamos tan rápido. No había prácticamente empezado a trabajar en la tesis, finalizaba el verano de 1999 y acaba de licenciarme en Bioquímica cuando recibí una llamada de Roberto. “Ven a todo prisa que acabo de conseguir una beca pero hay que pedirla ya, antes de que se acabe el plazo” me dice, y por más que quise correr, cuando llegué al laboratorio el plazo ya había pasado, pero de algún modo la solicitud llegó a su destino y la beca fue concedida. Ahora tenía que trabajar también en Biología Espacial, la segunda línea de investigación del laboratorio (o deberíamos decir la primera si revisamos *a posteriori* la financiación que se recibiría en los siguientes años de trabajo).

Al principio no pareció muy importante, Roberto ni siquiera me insistió mucho en ello, pero se trataba de colaborar con una empresa española, NTE, en el diseño y construcción de hardware específico para mantener una colonia permanente de *Drosophila* en la Estación Espacial Internacional. *¡¡¡Estábamos poniendo la primera piedra en la futura colonización interestelar...por parte de las moscas!!!* La cuestión es que lo hicimos, aunque desgraciadamente algunos problemas técnicos impidieron que nuestro prototipo llegara a volar en una misión real al espacio. El principal motivo fue la falta de estanqueidad del equipo. *Drosophila* es un animal demasiado pequeño y podía escapar por la holgura necesaria para no bloquear los débiles motores permitidos en el prototipo (la potencia es un recurso muy limitado en el espacio).³

Pero hubo más aventuras espaciales. Otro de los problemas de la investigación espacial es la preservación de las muestras. Congelar el material biológico no siempre es una buena opción porque impide la utilización de muchas técnicas posteriores. Por otro lado la utilización de frigoríficos y congeladores en la Estación Espacial Internacional o en los diferentes vehículos espaciales es limitada y cara (desgraciadamente solamente el cohete Soyuz ruso y el transbordador norteamericano tienen capacidad de descargar material desde la Estación Espacial Internacional (ISS)).

Por otro lado, los protocolos habituales de fijación biológica son demasiado potentes por utilizar sustancias peligrosas (y prohibidas) en el espacio. Para ello había que buscar nuevas opciones y Roberto las encontró (me temo que yo solo fui sus manos en el laboratorio en este asunto...) Combinando las ventajas de dos protocolos, una fijación inicial débil con un fijador no aldehído (NEOFIX®) y una post-fijación en tierra después de la misión espacial, preservamos las muestras durante varios meses sin necesidad de formaldehidos (y compatible tanto con técnicas inmunocitoquímicas como con la extracción bioquímica de ácidos nucleicos y de proteínas)⁴. Pero tampoco sería éste nuestro mayor logro común.

³ Husson, D.R.; Herranz, A.; Villa, C.; Díaz, J.; Mateos, J.; Leshner, M.; Pastor, F.J. Medina and Marco, R.: Design and development of hardware for long term cultivation of *Drosophila melanogaster* in the International Space Station. *Drosophila Information Service* 2004; 87. Special Report.

⁴ Herranz, R.D.; Husson, A.; Villa, M.; Pastor, F.J. Medina and Marco, R.: Modifications in basic handling techniques to study the consequences of the *Drosophila melanogaster* exposure to the space environment. *J Gravit Physiol* 2005; 12 (2): 51-60.

Y EL EXPERIMENTO ESPACIAL SE HIZO REALIDAD

Fue en 2003 cuando recibimos la noticia de que Pedro Duque, el astronauta español de la ESA, sería el tercer tripulante de la octava misión Soyuz que permanecería once días en la ISS. Siendo una misión financiada especialmente por el gobierno español (bautizada como Misión Cervantes) los políticos deseaban contar con experimentos españoles a bordo pero no había posibilidad de dar soporte externo a los experimentos. Gracias a la pericia y practicidad de Roberto diseñamos en tiempo record dos experimentos que permitían abordar, con la máxima sencillez técnica, las cuestiones científicas que seguían preocupándole tras 25 años de investigación espacial. Se trataba de comprobar cómo afectaba el ambiente espacial a dos fenómenos fundamentales que siguen sin ser bien conocidos aunque afectan directamente a los astronautas. Se trata del envejecimiento (experimento AGEing) y el desarrollo durante la organogénesis en la metamorfosis (experimento GENE). En el primer caso se pretendía corroborar los resultados anteriores en los que ya se había observado un importante descenso en la supervivencia de *Drosophila* en el espacio acompañado de un aumento en la motilidad. Quisimos comprobar el efecto con cepas seleccionadas de *Drosophila* por su longevidad, su respuesta gravitatoria, o simplemente su edad. El resultado fue que *ciertos individuos son más sensibles a la exposición a la microgravedad, concretamente los más jóvenes se adaptan peor a un cambio en las condiciones externas*⁵.

Con respecto a la expresión génica, el experimento GENE fue un quebradero de cabeza desde el principio. A pesar de nuestros trabajos previos con nuevos fijadores, estos protocolos requerían de la puesta a punto de hardwares específicos para su utilización en el espacio (lo que implica varios años de investigación y pruebas en los laboratorios de la Agencia Europea del Espacio, ESA, en Holanda), y solo teníamos un par de meses para prepararlo todo antes del lanzamiento. Finalmente se encontró una solución genial, utilizar acetona para preservar las muestras por unos días y mantener todo el dispositivo protegido por tres capas de contención para evitar riesgos de escapes. Aun así, el volumen máximo de acetona que podíamos utilizar en cada contenedor limitaba la cantidad de oxígeno disponible y el número de individuos que podían ser utilizados en cada uno⁶. Yo estaba desolado, cada parte del experimento funcionaba independientemente (recogida de las larvas en su momento oportuno, montaje sobre las ampollas de acetona, transporte a 12°C durante tres días para ralentizar el desarrollo, desarrollo durante cuatro días a 22°C, rotura de las ampollas liberando la acetona que fija las pupas, preservación a -20°C y recogida en tierra) pero cuando intentábamos reproducir el experimento completo siempre salía algo mal. Aun así Roberto confiaba en ello. Lo hicimos y... ¡funcionó!

La verdad es que en octubre de 2003 me tocó viajar primero a Toulouse para preparar el experimento que Roberto llevaría personalmente hasta el punto de lanzamiento en Baikonur, y más tarde a Moscú para la recuperación del experimento espacial. En ese momento de incertidumbre no supe disfrutarlo, aunque ahora lo recuerdo con mucho cariño. En Moscú debía recoger el experimento y hacer las fijaciones y extracciones oportunas. Todo tuvo que hacerse con tanta prisa que viajé a Rusia con una centrifuga de mesa a la espalda. La verdad es que no olvidaré el sentimiento de pánico que tuve al pasar la aduana soviética y los problemas de comunicación con el taxista que me llevó hasta mi hotel al lado de Star City, la base militar donde se recibirían las muestras. Esta, que fue mi primera misión internacional, me permitió colaborar codo con codo con un grupo alemán, el del

⁵ Juan, A.E. de; Benguría, A.; Villa, L.J.; Leandro, R.; Herranz, P.; Duque, E.; Horn, F.J. Medina, J. van Loon and Marco, R.: The "AGEING" Experiment in the Spanish Soyuz Mission to the International Space Station. *Microgravity Science and Technology*, 2007; 19 (3-4): 170-174.

⁶ Herranz, R.; D.A. Laván, A.; Benguría, P.; Duque, L.J.; Leandro, G.; Gasset, A.; Zaballos, F.J. Medina, J. van Loon; Marco, R.: The "Gene" Experiment in the Spanish Soyuz Mission to the International Space Station. Effects of cold transportation. *Microgravity Science and Technology*, 2007; 19 (3-4): 196-200.

Herranz, R, D.A. Laván, F.J. Medina, J.J. van Loon; Marco, R.: The "Gene" Experiment in the Spanish Soyuz Mission to the International Space Station. II. Effects of oxygen concentration constrain. *Microgravity Science and Technology*, 2008; DOI 10.1007/s12217-008-9097-1.

Profesor Eberhard Horn, que recientemente se ha retirado alcanzando una conclusión científica a toda su carrera muy similar a la que obtuvo Roberto.

Este corolario es que los organismos biológicos, aunque muy robustos en parte por la redundancia de sus mecanismos de control internos son especialmente sensibles a la microgravedad en ciertos momentos del desarrollo⁷. Todos juntos esperamos las “muestras del espacio”, y aunque llegaron 12 horas tarde y en condiciones térmicas peores de lo que esperábamos, pudimos completar el experimento. Esto provocó esperar aun más tiempo para que se recuperaran las moscas, y acabamos *trabajando hasta horas intempestivas casi sin comer ni dormir, aunque nunca he estado más motivado y concentrado*. Antes de volver a Madrid tuvimos la oportunidad de estar en una fiesta de recepción de astronautas y nos fotografiamos con el astronauta Pedro Duque, que nos deseó suerte con el análisis desde la ISS mediante una firma en los contenedores a pesar de su apretada agenda a bordo. Fue impresionante estar allí, brindando con vodka y confirmando el hambre voraz con el que vuelven los astronautas del espacio. Fue todo gracias a Roberto y si estoy en el centro de la foto es porque Roberto me cedió su puesto principal y me colocó allí. Es una muestra más de la generosidad con la que trataba a todos los que apreciaba. También le agradezco eso, esos pequeños empujones que me iba dando poco a poco para ponerme donde debía estar, aunque ni siquiera yo no tuviera tan claro qué ligar era ese.



De derecha a izquierda, Eberhard Horn, Pedro Duque, Raúl Herranz, Uta Kirschnick y nuestro querido Roberto Marco en la recepción en honor del astronauta español Pedro Duque en la Ciudad de las Estrellas (Rusia) tras el regreso de la octava misión Soyuz a la ISS en octubre de 2003.

LA EVOLUCIÓN DE TODAS LAS COSAS

Nunca llegué a preguntarle a Roberto porque me mandó a Moscú dos días antes de que llegaran las muestras (¡y de que él mismo llegara!) a Star City. La verdad es que la primera noche en el hotel, a una hora de taxi de Moscú con un paisaje totalmente blanco por la nieve y en un hotel en el que no hablaban ni una palabra de inglés (yo no sabía ni como pedir algo de comer) fue devastadora. Aunque este aislamiento me forzó a centrarme en el trabajo, tanto que la mitad de mi tesis doctoral fue escrita allí, en la habitación de un hotel en algún lugar de Rusia. A estas alturas de la historia parece que habíamos olvidado la línea que motivo que yo trabajara con Roberto sobre la evolución génica de los genes troponina C en *Drosophila*. Pues bien, como suele pasar en ciencia, al final la tesis no se quedó

⁷ Comunicación presentada por E. Horn “Search for the best animal model guided research on the susceptibility of neuronal systems to microgravity” en el Symposia ELGRA 2009 en Bonn (Alemania). ELGRA News 26, Septiembre 2009.

solo en eso. La cosa fue dando tanto de sí que donde ponía Troponina C pusimos complejo troponina (junto con la Troponina C hay dos subunidades adicionales, la Troponina I que mantiene inhibida la contracción hasta que la Troponina C detecta la señal del calcio, y la Troponina T que transmite la señal al filamento fino de actina) y donde ponía *drosophila* pusimos insectos (porque ampliamos el análisis a mosquitos (*Anopheles gambiae*) y abejas (*Apis mellifera*)).

¿Y por qué nos extendimos a todos los insectos? Simplemente para poder datar mejor cuando ocurrieron los cambios genéticos evolutivamente más interesantes. Cuando empezamos con el proyecto aún no se había secuenciado el genoma de ninguna especie, mucho menos el de un insecto, por lo que la secuenciación de los genes troponina C en tres especies de *Drosophila* era un objetivo en sí mismo, y así se plasmó en la tesis. También usamos, con mucho cuidado y recelo, los mosquitos que transmiten la malaria, aunque no conseguí sacar nada de ellos (RNA) y finalmente tuve que recurrir a los datos de su secuenciación que finalizó meses antes de la lectura de mi tesis.

Con las abejas tuvimos más éxito, y de nuevo fue gracias a la claridad de pensamiento de Roberto, *¿Dónde encontrarías abejas? ¿En alguna colección de referencia biológica? Puede, pero mejor ve a un panal.* Un día nos fuimos de excursión por la sierra norte de Madrid y unos apicultores nos proporcionaron ejemplares de *Apis mellifera*. También extrajimos distintos estadios larvarios de un panal y los usé en mis experimentos de la tesis. Fue otro gran momento, y aunque agradecemos a los apicultores su ayuda en la publicación de aquellos resultados, seguro que habrían disfrutado mucho más de una buena barbacoa, que quedo prometida pero que, por las cosas de las prisas, nunca se hizo. Por cierto, aunque realmente no se acercó demasiado a los panales, al único que le picaron las abejas ese día fue a Roberto.

Y la tesis se leyó en enero de 2004. Una vez más Roberto me dio un empujoncito incluyendo entre el tribunal de la tesis a John Sparrow, gran amigo suyo y experto en desarrollo del músculo en *Drosophila*. Así fue como los resultados de la línea evolutiva del laboratorio vieron la luz y acabarían representado las tres publicaciones más relevantes de esta última etapa del laboratorio⁸. Por un lado descubrimos que los genes troponina C en *drosophila* no son tres, sino cinco. Describimos su patrón de expresión y sus características fundamentales y analizamos cómo se habían especializado durante los últimos 60 millones de años en el género *Drosophila*. Lo más interesante fue descubrir que en *Anopheles* y *Apis* el número de genes es diferente, y aunque también hay genes especializados en músculo de vuelo no han aparecido a partir de los mismos precursores.

La conclusión es que, a partir de una colección inicial de tres genes precursores de la Troponina C, la presión evolutiva ha generado el repertorio actual de estos genes independientemente en cada especie, y lo que es más, que algunos de ellos han convergido funcionalmente (la secuencia de proteínas se ha acercado) a pesar de provenir de precursores diferentes. La consecuencia es que *el mecanismo por el que los insectos vuelan actualmente ha aparecido varias veces durante la evolución.*

Por último, y dando una vuelta de tuerca más a la cuestión, descubrimos cómo este fenómeno también aparece en los genes Troponina T e I, pero en este caso con los exones de procesamiento alternativo (solo hay un gen para cada especie), observándose una evolución independiente de los exones en cada especie y una posterior convergencia evolutiva vinculada a la función y asociada a los genes Troponina C con los que interaccionan. De hecho, el hallazgo más espectacular de esta etapa fue localizar que la llamada Troponina H (de heavy, pesada) se caracterizaba por un exón específico de músculo de vuelo que no era, sorprendentemente, específico de un gen concreto. Por ejemplo, está

⁸ Herranz, R.; Díaz-Castillo, C.; Nguyen, T.G.; Lovato, T.L.; Cripps, R.M.; Marco, R.: Expression pattern characterization of the whole Troponin C gene repertoire during *Drosophila* development. *Gene Expression Pattern* 2004; 4 (2): 183-90.

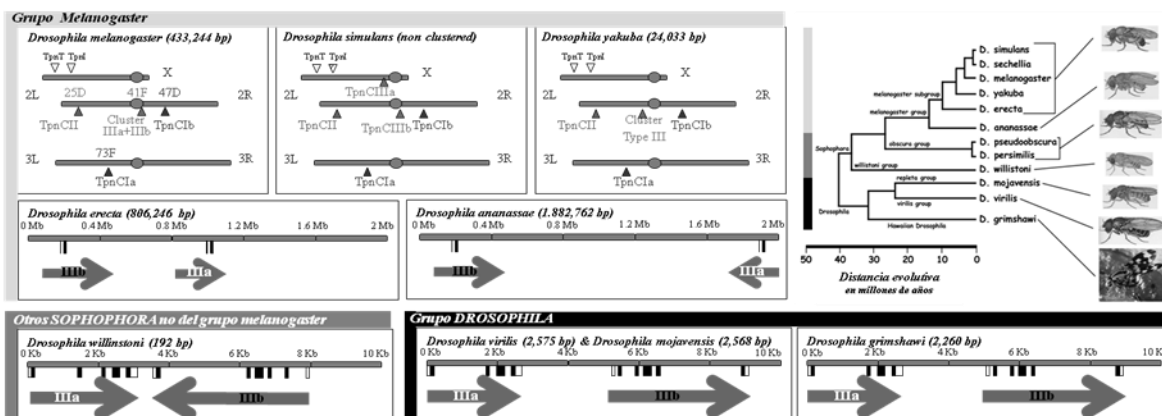
Herranz, R.; Mateos, J.; Marco, R.: Diversification and independent evolution of TpnC genes in insects. *J Mol Evol* 2005; 60 (1): 31-44.

Herranz, R.; Mateos, J.; Mas, J.A.; García-Zaragoza, E.; Cervera, M.; Marco, R.: The co-evolution of insect muscle TpnT and TpnI genes. *Mol Biol Evol* 2005; 22 (11): 2231-42. ISSN: 0737-4038

unido a la tropomiosina en *Drosophila*, a la Troponina I en *Anopheles* y a ambas en *Apis*. Junto con los datos de estequiometría del filamento fino que obtuvo el propio Roberto en una estancia de verano con el anteriormente mencionado John Sparrow en la Universidad de York, y el trabajo proteómico de mi compañero Jesús Mateos, se completó la publicación que nos permitía cerrar el círculo que habíamos abierto con esta línea de investigación⁹.

Algunos años después se fueron completando los proyectos genoma de hasta una docena de especies de *Drosophila* y otros tantos insectos. No pudimos evitar la tentación de seguir indagando en las secuencias de más insectos para analizar este curioso fenómeno evolutivo. Sin embargo el proyecto quedó interrumpido ante la falta de financiación y de personal en el laboratorio. Uno de los aspectos más interesantes que hemos observado, y no conseguimos concretar en una publicación, fue la vinculación genómica de los genes Troponina C específicos de vuelo (tipo III). En muchas de las especies de insectos analizadas encontramos dos genes muy próximos, incluso en tándem, siendo el caso de *Anopheles* el más espectacular con cuatro genes de tipo III en tándem en una secuencia de menos de 20 kB. Precisamente *Drosophila melanogaster* es la excepción dado que los genes están separados por 400 Mb de secuencia (aunque relativamente próximos en la región heterocromatínica próxima al centrómero del cromosoma 2).

Nuestra indagación demostró precisamente eso, que el subgénero melanogaster es la excepción y que otras drosophilas mantienen la organización en tándem. Sin embargo, la alta variabilidad de la secuencia codificante de estos genes es similar en todas las especies de insectos, por lo que parece estar más relacionada con la funcionalidad de los genes que con el carácter heterocromatínico del entorno, que quizás ha sido el motor que ha permitido que esos genes asociados se hayan desvinculado más y más en el genoma incluso saltando a otros cromosomas.



Organización genómica de los genes Troponina C del músculo indirecto de vuelo (TpnC tipo III) en las especies de *Drosophila* con genoma completamente secuenciado. Considerando el árbol filogenético que se ilustra en la parte superior derecha es evidente que estos genes surgieron por duplicación y permanecieron vinculados en tándem desde hace algo más de 50 millones de años. En las especies más cercanas a *Drosophila melanogaster*, esta regulación común parece haberse independizado de la localización cromosómica pues los genes están a unas distancias mucho mayores e incluso uno de ellos ha saltado a otro cromosoma en el caso de *D. simulans*¹⁰.

⁹ Mateos, J.; Herranz, R.; Domingo, A.; Sparrow, J.C.; Marco, R.: The structural role of high molecular weight tropomyosins in dipteran indirect flight muscle and the effect of phosphorylation. *J Muscle Res Cell Motil* 2006; 27 (3-4): 189-201.

¹⁰ Resultados presentados en el congreso *Functional Genomics & Systems Biology del Cold Spring Harbor Laboratory / Wellcome Trust Conference Centre, en Hinxton (Cambridgeshire, Reino Unido) del 10 al 13 de Octubre 2007.*

Y AL FINAL VOLVIMOS A PONER LOS PIES EN LA TIERRA

Y aunque estoy siendo desordenado, creo que es por narrar cronológicamente como evolucionamos todos en el laboratorio durante este periodo. Con el gran honor de haber obtenido el grado que me permite ahora decir orgulloso que soy el último de una larga lista de doctores dirigidos por Roberto, tocaba analizar los resultados de los experimentos espaciales de la Misión Cervantes a la Estación Espacial Internacional. En lo que se refiere al experimento AGEing, el análisis de supervivencia y motilidad fue realizado sin mayores problemas, que no sin esfuerzo y con el apoyo inestimable de Emilio de Juan de la Universidad de Alicante, y publicado en un tiempo prudencial con los resultados citados más arriba ⁵.

El experimento GENE sin embargo, al pretender un análisis de la expresión génica a nivel global requirió de un esfuerzo mucho mayor, y aún en estos momentos, seis años después de la misión espacial, está pendiente de ser publicado en su totalidad. Los primeros resultados fueron muy prometedores, con cifras muy altas de genes que cambiaban de expresión, estando afectados varios grupos ontológicos muy concretos y con una significación muy importante¹¹. No obstante, el número de replicas biológicas, dos, fue muy bajo debido a los problemas en la recuperación y transporte desde el lugar de aterrizaje a nuestra base en Star City. Era necesario encontrar un control adicional que prescindiera de los viajes espaciales por lo que nos embarcamos en nuevos proyectos, esta vez de simulación de microgravedad en tierra, lo que suponía... más viajes.

Un personaje peculiar, del que debería hablar con respeto dado que ahora es el presidente de la sociedad científica más representativa en microgravedad (ELGRA), que aparece ahora en escena es Jack van Loon. Jack, una vez más no puedo usar más que el nombre de pila para referirme a este enorme, en todos los sentidos, caballero holandés que dirigía y sigue dirigiendo el DESC (centro de apoyo para usuarios de microgravedad holandés). Con una visión de la ciencia y del mundo muy próxima a la de Roberto (por lo que he tenido ocasión de seguir comprobando durante estos años) nos invitó a usar su simulador de microgravedad, la RPM (del inglés *random positioning machine*), para reproducir los experimentos espaciales.

Probablemente por su *forma común de ver la vida y la ciencia*, Jack y Roberto llegaron a forjar una intensa amistad durante esos años. Teniendo en cuenta la importancia de reproducir las condiciones del experimento debíamos usar un incubador que proporciona la ESA para llevar las muestras refrigeradas a 12°C y que no puede viajar en un avión comercial sin obtener un permiso especialmente difícil de conseguir. Así que viví una aventura más con Roberto, un viaje en coche Madrid-Toulouse-Ámsterdam de dos días de duración (y vuelta a Madrid) para poner los contenedores en la RPM y dejarlos allí tres días antes de fijarlos con acetona. Aprovechando el viaje hicimos varios experimentos adicionales, puesto que había que respetar los tiempos de la misión espacial (11 días), y por tanto alquilamos un apartamento y tuve la inestimable oportunidad de enamorarme de la ciudad y sus canales que significaría el primer paso hacia una estancia posdoctoral en Holanda.

Finalmente los experimentos funcionaron y reprodujimos considerablemente bien las condiciones del experimento GENE (los niveles de expresión en los controles 1g de ambos experimentos fueron casi idénticos) concluyendo que la RPM es un buen simulador de microgravedad, aunque el número de genes alterados no fue tan elevado con en la ISS.

¹¹ Herranz, R.; Benguria, A.; Fernández-Pineda, E.; Medina, F.J., Gasset, G., van Loon, J.J.; Zaballos, A.; Marco, R.: Gene Expression Variations During *Drosophila* Metamorphosis in Space. The GENE Experiment in the Spanish Cervantes Mission to the ISS. *J Gravit Physiol* 2005; 12 (1): 253-4.

EL PRINCIPIO DEL FIN DEL MDBML (MADRID DEVELOPMENTAL BIOLOGY MICROGRAVITY LABORATORY)

Y entonces se acabó mi primera etapa en común con Roberto pues, como otros tantos jóvenes doctores, tuve que dejar el laboratorio en el año 2005 en busca de un futuro más estable en la empresa privada. La línea de músculo fue cerrada definitivamente y las investigaciones de microgravedad avanzaron lentamente. El único becario predoctoral que quedó en el laboratorio finalmente optó por cambiar de proyecto al considerar la dificultad de completar su tesis, aunque antes pudo aportar su grano de arena al proyecto espacial¹².

El que no paró fue Roberto. Durante esta etapa realizó nuevos contactos necesarios para aprovechar un simulador de microgravedad alternativo, el levitador magnético. Este equipamiento, con base en la Universidad de Nottingham, permitía simular a la vez la microgravedad (0g), gravedad normal (1g pero con campo magnético) e hipergravedad (2g). El propio Roberto se involucró personalmente en la realización de algunos experimentos preliminares porque, como me confesó en algún momento, estaba contento de retornar a sus orígenes en la poyata en esta última etapa de su carrera científica. Los resultados de los experimentos de expresión génica en microgravedad han sido difíciles de interpretar.

Finalmente, la principal conclusión a la que llegamos es que la microgravedad, como elemento de estrés que es, causa un efecto global sobre la expresión génica que puede reproducirse en simuladores en tierra e inversamente observado en simuladores de hipergravedad (centrifugas)). Este efecto se refuerza sinérgicamente si los experimentos se realizan en condiciones alejadas de la idealidad, es decir, si otros efectos ambientales (temperatura o cantidad de oxígeno) no se controlan adecuadamente¹³. Fue precisamente esta línea argumental fruto de *su labor investigadora la que le hizo interesarse por una disciplina científica emergente, la biología de sistemas, que incorporó rápidamente a sus tareas docentes* en la Universidad Autónoma de Madrid, porque quiero resaltar aquí que en ningún momento desplazo la docencia por la investigación, aunque es cierto que si gustaba de cambiar los horarios de las clases para asistir a múltiples reuniones científicas.

Mi regreso en 2007 sirvió para darle nuevas energías y aumentar exponencialmente la fuerza de trabajo del laboratorio de Roberto. En la última etapa acumulamos una cantidad de muestras ingente, no solo utilizando el simulador del Reino Unido, también en la RPM holandesa y más tarde en la centrifuga LDC de la ESA también en Holanda. Desgraciadamente, cuando Roberto estaba feliz por ver que podía bajar un poco la intensidad de su labor investigadora cediéndome progresivamente el testigo de su trabajo como director del MDBML, su enfermedad hizo que su guía me faltara justo antes de que ese plan pudiera ser concretado.

Es para mí un honor, y un compromiso con él, intentar que su legado llegue lo más lejos posible, así como él hizo todo lo posible por potenciar nuestras carreras y nuestra formación, como científicos y como personas. Actualmente continúo con el análisis de toda la información que hemos generado estos años aunque para bien o para mal lo estoy haciendo fuera de la Universidad Autónoma

¹² Leandro, L.J.; Szewczyk, N.J.; Benguría, A.; Herranz, R.; Laván, D.; F. J. Medina, G. Gasset, J. van Loon, Conley, C.A.; and Marco, R.: Comparative analysis of *Drosophila melanogaster* and *Caenorhabditis elegans* gene expression experiments in the European Soyuz Flights to the International Space Station. *Advances Space Research* 2007;40(4):506-12.

¹³ Herranz, R.; Benguría, A.; Laván, D.A.; López-Vidriero, I.; G. Gasset, F. J. Medina, J. van Loon; Marco, R.: Spaceflight-related suboptimal conditions can accentuate *Drosophila* genome-wide altered gravity response of *Drosophila* transcriptome. *Mol System Biology* (Enviado).
Herranz, R.; Larkin, O.; Dijkstra, C.; De Juan, E.; Anthony, P.; Hill, R.J.A.; Eaves, L.; F.J. Medina, M. Davey, J.J. van Loon; Marco, R.: Exposure of *Drosophila melanogaster* to Magnetic Levitation: Changes in the behaviour, development and gene expression profile and exploitation as a long-term altered gravity simulator. (En preparación).

de Madrid que no ha sido capaz de mantener la línea de investigación de biología espacial que Roberto desarrolló durante 30 años.

Acogido por un gran colaborador y amigo de Roberto, el también biólogo espacial Francisco Javier Medina, seguiré trabajando desde el Centro de Investigaciones Biológicas, curiosamente el centro en el que Roberto dio algunos de sus primeros pasos. Como ya he dicho, somos muchos los que hemos salido del MDBML como doctores, y él declaraba orgulloso en su currículum que de todos los doctorandos que había formado solo uno había abandonado los trabajos relacionados con la investigación biomédica. A punto estuve de ser el número dos de esa corta lista, pero gracias a él y a su forma de apoyar a todos los que le rodeábamos, aunque no siempre pareciera que estaba encima de nosotros, recuperé la fuerza que ahora me impulsa a seguir sus pasos y llegar, una vez más, hasta las estrellas.

Gracias, Roberto.