

SVANTE PÄÄBO

# El hombre de Neandertal

En busca de genomas perdidos

Traducción de:  
Federico Zaragoza

ALIANZA EDITORIAL

Título original:  
*Neanderthal Man. In Search of Lost Genomes*

Primera edición: 2015  
Primera reimpresión: 2018

Reservados todos los derechos. El contenido de esta obra está protegido por la Ley, que establece penas de prisión y/o multas, además de las correspondientes indemnizaciones por daños y perjuicios, para quienes reprodujeran, plagiaran, distribuyeran o comunicaran públicamente, en todo o en parte, una obra literaria, artística o científica, o su transformación, interpretación o ejecución artística fijada en cualquier tipo de soporte o comunicada a través de cualquier medio, sin la preceptiva autorización.

© 2014 by Svante Pääbo. All rights reserved  
© de la traducción: Federico Zaragoza Alberich, 2015  
© de esta edición: Alianza Editorial, S. A., Madrid, 2015, 2018  
Calle Juan Ignacio Luca de Tena, 15; 28027 Madrid  
[www.alianzaeditorial.es](http://www.alianzaeditorial.es)  
ISBN: 978-84-9104-062-0  
Depósito legal: M. 10.858-2015  
Printed in Spain

---

SI QUIERE RECIBIR INFORMACIÓN PERIÓDICA SOBRE LAS NOVEDADES DE ALIANZA EDITORIAL, ENVÍE UN CORREO ELECTRÓNICO A LA DIRECCIÓN:

*Para Linda, Rune y Freja*



[alianzaeditorial@anaya.es](mailto:alianzaeditorial@anaya.es)

---

## ÍNDICE

LISTADO DE ILUSTRACIONES .....	11
PREFACIO .....	15
1. NEANDERTAL <i>EX MACHINA</i> .....	17
2. MOMIAS Y MOLÉCULAS.....	43
3. LA AMPLIFICACIÓN DEL PASADO .....	61
4. DINOSAURIOS EN EL LABORATORIO .....	77
5. FRUSTRACIONES HUMANAS.....	95
6. UNA CONEXIÓN CROATA .....	111
7. UN NUEVO HOGAR.....	119
8. CONTROVERSIAS MULTIRREGIONALES .....	133
9. TEST NUCLEARES.....	145
10. HACIA LO NUCLEAR.....	153
11. INICIO DEL PROYECTO GENOMA .....	171
12. HUESOS DUROS.....	187
13. EL DIABLO ESTÁ EN LOS DETALLES .....	203
14. CARTOGRAFÍA DEL GENOMA.....	215
15. DE LOS HUESOS AL GENOMA .....	223
16. ¿FLUJO DE GENES?.....	235

17. PRIMERAS REVELACIONES .....	247
18. ¡FLUJO DE GENES! .....	255
19. LA MUCHEDUMBRE DE REEMPLAZAMIENTO .....	269
20. ¿ESENCIA HUMANA? .....	279
21. LA PUBLICACIÓN DEL GENOMA.....	291
22. UN DEDO MUY PECULIAR .....	305
23. EL PARIENTE NEANDERTAL .....	321
EPÍLOGO.....	337
ÍNDICE ANALÍTICO .....	341

## LISTADO DE ILUSTRACIONES

1.1 Esqueleto neandertal reconstruido (izquierda) y esqueleto humano actual (derecha). Ken Mowbray, Blaine Maley, Ian Tattersall, Gary Sawyer, American Museum of Natural History.

1.2 Reconstrucción de una muestra de mtDNA del neandertal del valle de Neander. Arriba se muestra una secuencia de referencia moderna. Cada línea de debajo representa una molécula clonada amplificada a partir del espécimen tipo de neandertal. Donde esas secuencias son idénticas a la secuencia de referencia, he puesto un punto; donde difieren del nucleótido, las he escrito. En la línea inferior está la secuencia del nucleótido de neandertal reconstruida. En cada posición, requerimos que se vea un cambio con respecto a la secuencia de referencia en una mayoría de los clones y en al menos dos experimentos de PCR independientes (los mostrados u otros). En Matthias Krings *et al.*, «Neandertal DNA sequences and the origin of modern humans», *Cell* 90, 19-30 (1997).

1.3 Árbol de mtDNA, que ilustra cómo los mtDNA de personas vivas en la actualidad rastrean su ascendencia hasta un mtDNA de ancestro común (el llamado Eva mitocondrial, indicado por un círculo) que existió más recientemente que el ancestro de mtDNA compartido con el neandertal. Las diferencias de nucleótidos se usan para inferir el orden de ramificación, y los números refieren el apoyo estadístico al orden de ramificación mostrado. Modificado a partir de Matthias Krings *et al.*, «Neandertal DNA sequences and the origin of modern humans», *Cell* 90, 19-30 (1997).

2.1 Imagen microscópica de tejido de cartílago de una momia egipcia de Berlín. En algunas lagunas, los restos celulares se mantienen iluminados, lo cual sugiere que puede haberse conservado DNA. Foto: S. Pääbo, Universidad de Upsala.



- 3.1 Una rata canguro de cien años de antigüedad y una actual del Museo de Zoología de los Vertebrados de la Universidad de California en Berkeley. Foto: UC en Berkeley.
- 4.1 Oliva y Matthias en el primer «cuarto limpio» de Múnich. Foto: Universidad de Múnich.
- 5.1 Reconstrucción de un esqueleto de perezoso de tierra.
- 5.2 Árbol que muestra que el *Mylodon* está más estrechamente relacionado con el perezoso de dos dedos que con el de tres, lo que sugiere que los perezosos empezaron a vivir en los árboles dos veces durante su historia. En Matthias Höss *et al.*, «Molecular phylogeny of the extinct ground sloth *Mylodon darwini*», *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 93, 181-185 (1996).
- 5.3 Hueso de la parte superior del brazo derecho del espécimen tipo neandertal con la muestra sacada por Ralf Schmitz en 1996. Foto: R. W. Schmitz LVR-LandesMuseum Bonn.
- 6.1 Cueva de Vindija en Croacia. Foto: J. Krause, MPI-EVA.
- 7.1. La más interior de nuestras habitaciones limpias en el Instituto Max Planck de Leipzig. Foto: MPI-EVA.
- 8.1 Árbol de humanos y grandes simios que muestra tiempos aproximados en que pudieron haber compartido ancestros comunes (aunque estas fechas son muy imprecisas). Modificado a partir de Henrik Kaessmann y Svante Pääbo, «The genetical history of humans and the great apes», *Journal of Internal Medicine* 251: 1-18 (2002).
- 9.1 Secuencias clonadas de DNA a partir de tres amplificaciones de un fragmento de gen nuclear de un mamut de 14.000 años de edad. La flecha señala la primera posición heterocigótica o SNP nunca antes vista del Pleistoceno tardío. En A. D. Greenwood *et al.*, «Nuclear DNA sequences from Late Pleistocene megafauna», *Molecular Biology and Evolution* 16, 1466-1473 (1999).
- 12.1 El hueso 33.16 de la cueva de Vindija que utilizamos para secuenciar el genoma neandertal. Ha sido aplastado, presumiblemente para sacarle el nutritivo tuétano. Foto: Christine Verna, MPI-EVA.
- 12.2 Svante Pääbo en la entrada de la cueva de El Sidrón (Asturias) junto al equipo de excavación de la campaña arqueológica de 2007. Sentado en el centro, Svante Pääbo; de pie con gafas, Javier Fortea; detrás con los brazos cruzados, Carles Lazuela, biólogo de la Universidad de Barcelona; y detrás con barba, Marco de la Rasilla, actual director de estas excavaciones. En ese momento, 2007, Javier Fortea y Marco de la Rasilla eran codirectores de las excavaciones. © Equipo de

## Investigación de El Sidrón.

12.3 Svante Pääbo y Antonio Rosas, paleobiólogo del Museo Nacional de Ciencias Naturales de Madrid, que establecieron un acuerdo de colaboración científica en el proyecto Genoma Neandertal, Madrid, 20 de marzo de 2007. Foto: Efe.

12.4 Pavao Rudan, Željko Kučan e Ivan «Johnny» Gušić, los tres miembros de la Academia Croata de Ciencias que hicieron posible que pudiéramos muestrear huesos neandertales de la cueva de Vindija. Foto: P. Rudan, HAZU.

12.5 Muestreado de un hueso neandertal con una fresa estéril. Foto: MPI-EVA.

13.1 El grupo del genoma neandertal en Leipzig en 2010. De izquierda a derecha: Adrian Briggs, Hernan Burbano, Matthias Meyer, Anja Heinze, Jesse Dabney, Kay Prüfer, yo, un esqueleto neandertal reconstruido, Janet Kelso, Tomi Maričić, Qiao-mei Fu, Udo Stenzel, Johannes Krause, Martin Kircher. Foto: MPI-EVA.

17.1 Reunión del consorcio en Dubrovnik, Croacia, en febrero de 2009. Foto: S. Pääbo, MPI-EVA.

18.1 Si los neandertales se mezclaron con los primitivos humanos modernos que dejaron África, y estos siguieron poblando el resto del mundo fuera de África, llevarían consigo DNA neandertal a regiones en las que los neandertales nunca habían existido. Por ejemplo, incluso en China, aproximadamente un 2% del DNA de personas procede de los neandertales.

22.1 Anatoly Derevianko con sus colegas. Foto: Bence Viola, MPI-EVA.

22.2 El pequeño hueso del dedo meñique descubierto en 2008 por Anatoly Derevianko y Michael Shunkov en la cueva de Denisova. Foto: MPI-EVA.

22.3 El molar de Denisova. Foto: Bence Viola, MPI-EVA.

23.1. Monty Slatkin, Anatoly Derevianko y David Reich, en una reunión en la cueva de Denisova en 2011. Foto: Bence Viola, MPI-EVA.



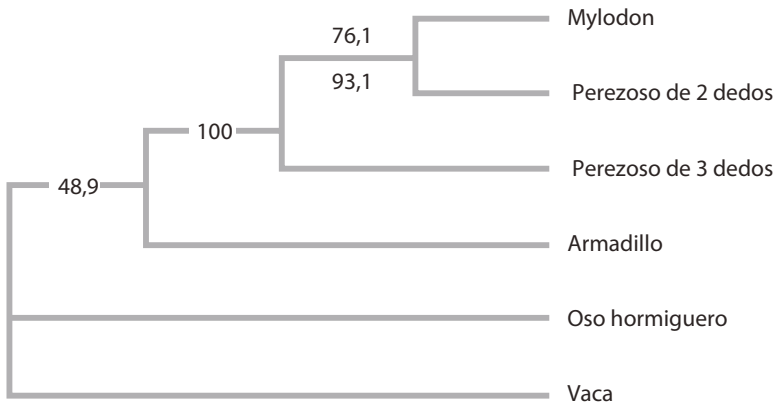
3.1 Una rata canguro de cien años de antigüedad y una actual del Museo de Zoología de los Vertebrados de la Universidad de California en Berkeley. Foto: UC en Berkeley.



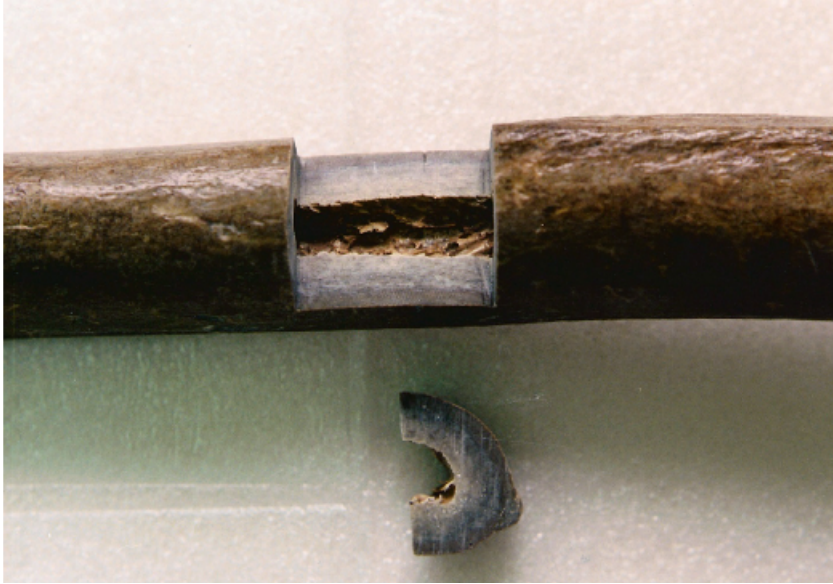
4.1 Oliva y Matthias en el primer «cuarto limpio» de Múnich. Foto: Universidad de Múnich.



5.1. Reconstrucción de un esqueleto de perezoso de tierra.



5.2. Árbol que muestra que el *Mylodon* está más estrechamente relacionado con el perezoso de dos dedos que con el de tres, lo que sugiere que los perezosos empezaron a vivir en los árboles dos veces durante su historia. En Matthias Höss *et al.*, «Molecular phylogeny of the extinct ground sloth *Mylodon darwini*», *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 93, 181-185 (1996).



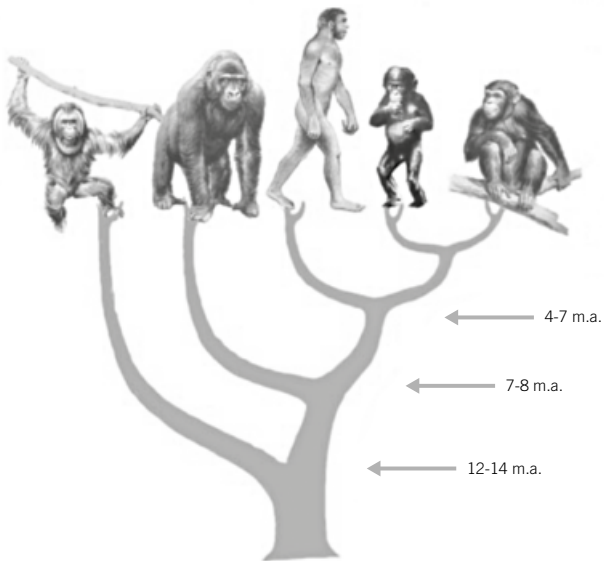
5.3. Hueso de la parte superior del brazo derecho del espécimen tipo neandertal con la muestra sacada por Ralf Schmitz en 1996. Foto: R. W. Schmitz LVR-LandesMuseum Bonn.



6.1 Cueva de Vindija en Croacia. Foto: J. Krause, MPI-EVA.



7.1. La más interior de nuestras habitaciones limpias en el Instituto Max Planck de Leipzig. Foto: MPI-EVA.



8.1. Árbol de humanos y grandes simios que muestra tiempos aproximados en que pudieron haber compartido ancestros comunes (aunque estas fechas son muy imprecisas). Modificado a partir de Henrik Kaessmann y Svante Paäbo, «The genetical history of humans and the great apes», *Journal of Internal Medicine* 251: 1-18 (2002).





12.1 El hueso 33.16 de la cueva de Vindija que utilizamos para secuenciar el genoma neandertal. Ha sido aplastado, presumiblemente para sacarle el nutritivo tuétano. Foto: Christine Verna, MPI-EVA.



12.2 Svante Pääbo en la entrada de la cueva de El Sidrón (Asturias) junto al equipo de excavación de la campaña arqueológica de 2007. Sentado en el centro, Svante Pääbo; de pie con gafas, Javier Fortea; detrás con los brazos cruzados, Carles Lalueza, biólogo de la Universidad de Barcelona; y detrás con barba, Marco de la Rasilla, actual director de estas excavaciones. En ese momento, 2007, Javier Fortea y Marco de la Rasilla eran codirectores de las excavaciones. © Equipo de Investigación de El Sidrón.





12.3 Svante Pääbo y Antonio Rosas, paleobiólogo del Museo Nacional de Ciencias Naturales de Madrid, que establecieron un acuerdo de colaboración científica en el proyecto Genoma Neandertal, Madrid, 20 de marzo de 2007. Foto: Efe.



12.4 Pavao Rudan, Željko Kučan e Ivan «Johnny» Gušić, los tres miembros de la Academia Croata de Ciencias que hicieron posible que pudiéramos muestrear huesos neandertales de la cueva de Vindija. Foto: P. Rudan, HAZU.



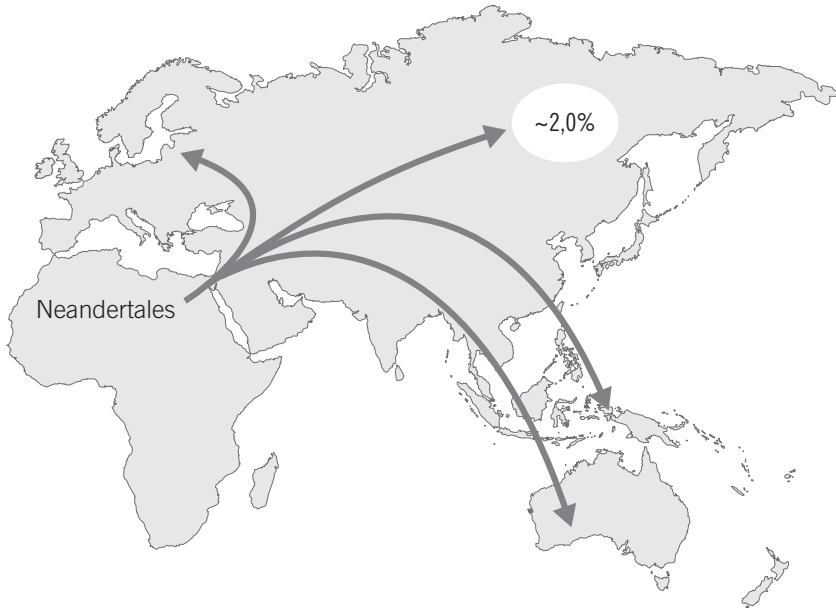
12.5 Muestreado de un hueso neandertal con una fresa estéril. Foto: MPI-EVA.



13.1 El grupo del genoma neandertal en Leipzig en 2010. De izquierda a derecha: Adrian Briggs, Hernan Burbano, Matthias Meyer, Anja Heinze, Jesse Dabney, Kay Prüfer, yo, un esqueleto neandertal reconstruido, Janet Kelso, Tomi Maričić, Qiaomei Fu, Udo Stenzel, Johannes Krause, Martin Kircher. Foto: MPI-EVA.



17.1 Reunión del consorcio en Dubrovnik, Croacia, en febrero de 2009. Foto: S. Pääbo, MPI-EVA.



18.1 Si los neandertales se mezclaron con los primitivos humanos modernos que dejaron África, y estos siguieron poblando el resto del mundo fuera de África, llevarían consigo DNA neandertal a regiones en las que los neandertales nunca habían existido. Por ejemplo, incluso en China, aproximadamente un 2% del DNA de personas procede de los neandertales.



22.1 Anatoly Derevianko con sus colegas. Foto: Bence Viola, MPI-EVA.



22.2 El pequeño hueso del dedo meñique descubierto en 2008 por Anatoly Derevianko y Michael Shunkov en la cueva de Denisova. Foto: MPI-EVA.



22.3 El molar de Denisova. Foto: Bence Viola, MPI-EVA.



23.1 Monty Slatkin, Anatoly Derevianko y David Reich, en una reunión en la cueva de Denisova en 2011. Foto: Bence Viola, MPI-EVA.

## PREFACIO

La idea de escribir este libro me fue sugerida por primera vez por John Brockman. Sin su iniciativa y sus ánimos, nunca me hubiera tomado el tiempo de escribir un manuscrito mucho más largo que los breves artículos científicos que acostumbro firmar. Sin embargo, una vez que me puse a ello, disfruté del proceso. ¡Gracias por conseguir que ocurriera!

Muchas personas me han ayudado leyendo el texto y sugiriéndome mejoras. En primer lugar, le doy las gracias a mi mujer, Linda Vigilant, quien además siempre apoyó mi esfuerzo, aunque ello supusiera estar alejado de la familia. Fueron excelentes editores Sarah Lippincot, Carol Rowney, Christine Arden y, sobre todo, Tom Kelleher, de Basic Books. Espero haber aprendido de ellos. Carl Hannestad, Kerstin Lexander, Viola Mittag y otros leyeron partes o la totalidad del texto y me hicieron sugerencias útiles. Souken Danjo me proporcionó hospitalidad en Saikouji durante parte del tiempo en que necesité retirarme del mundo.

Relato los acontecimientos según los recuerdo. Pero sospecho que puedo haber mezclado o confundido algunos en concreto aquí y allá —por ejemplo, a propósito de varias reuniones y viajes a Berlín, a la empresa 454 Life Sciences, etcétera—. También, como es obvio, relato los acontecimientos desde mi propia experiencia subjetiva, intentando darles crédito (y lo contrario) cuando, en mi opinión, es preciso. Soy consciente de que esta perspectiva no es la única manera posible de considerar estos acontecimientos. Para no recargar el texto con demasiados nombres y detalles, me he contenido a la hora de mencionar a muchas personas que sin embargo eran importantes. Pido disculpas a todas las que se sientan indebidamente ignoradas.



## CAPÍTULO 1

### NEANDERTAL *EX MACHINA*

Una noche de 1996, tarde, cuando acababa de adormilarme en la cama, sonó mi teléfono. Quien llamaba era Matthias Krings, un estudiante de grado de mi laboratorio en el Instituto zoológico de la Universidad de Múnich. Todo lo que dijo fue: «No es humano».

«Voy para allá», murmuré, me puse algo de ropa, y atravesé la ciudad en coche hacia el laboratorio. Aquella tarde, Matthias había puesto en marcha nuestras máquinas de secuenciación de DNA, alimentándolas con fragmentos de DNA que había extraído y amplificado a partir de un fragmento de hueso de un brazo neandertal conservado en el Rheinisches Landesmuseum de Bonn. Años de resultados decepcionantes me habían enseñado a mantener bajas mis expectativas. Con toda probabilidad, lo que fuera que hubiéramos extraído sería DNA bacteriano o humano que se hubiera infiltrado en el hueso en algún momento de los 140 años desde que se había desenterrado. Pero por teléfono Matthias sonaba emocionado. ¿Podía haber recuperado material genético de un neandertal? Parecía demasiado esperar.

En el laboratorio me encontré a Matthias con Ralf Schmitz, un joven arqueólogo que nos había ayudado a conseguir el permiso para sacar el fragmento de hueso del brazo del fósil neandertal almacenado en Bonn. Apenas podían controlar su entusiasmo al mostrarme la tira de A, C, G y T que salía de uno de los secuenciadores. Ni ellos ni yo habíamos visto nada igual hasta entonces.

Lo que para los no iniciados puede parecer una secuencia casual de cuatro letras es de hecho la abreviatura de la estructura química del DNA, el material genético almacenado casi en cada célula del cuerpo. Las dos cadenas de la famosa doble hélice de DNA se componen de unidades que contienen los nucleótidos adenina, timina, guanina y citosina, abreviados A, T, G y C. El orden en el que aparecen estos nucleótidos establece la información genética necesaria para formar nuestro cuerpo y dar soporte a sus funciones. La pieza concreta de DNA que estábamos viendo era parte del genoma mitocondrial —abreviado, mtDNA— que se transmite en las células del óvulo de todas las madres a sus hijos. Varios centenares de copias de este mtDNA se almacenan en las mitocondrias, diminutas estructuras en las células, y este mtDNA especifica la información necesaria para que estas estructuras cumplan su función de producir energía. Cada uno de nosotros tiene solo un tipo de mtDNA, que comprende un mero 0,0005% de nuestro genoma. Como tenemos en cada célula muchos miles de copias de solo ese único tipo, es bastante fácil de estudiar, a diferencia del resto de nuestro DNA, del cual solo hay dos copias almacenadas en el núcleo de la célula, una de nuestra madre y una de nuestro padre. En 1996 ya se habían estudiado secuencias de mtDNA en miles de humanos de todo el mundo. Normalmente, estas secuencias se comparaban con la primera secuencia determinada de mtDNA humano, y a su vez esta secuencia de referencia común pudo utilizarse para elaborar una lista de qué diferencias se veían en qué posiciones. Lo que nos emocionaba era que la secuencia que habíamos determinado del hueso neandertal contenía cambios que no se habían visto en ninguna de las de miles de humanos. Apenas podía creerme que lo que estábamos viendo fuera real.

Como siempre me ocurre frente a resultados emocionantes o inesperados, fui pronto presa de las dudas. Busqué cualquier posibilidad de que pudiéramos estar equivocados. Quizá alguien había utilizado cola elaborada con piel de vaca para tratar los huesos en algún momento, y estábamos viendo mtDNA de vaca. No: lo comparamos de inmediato con mtDNA de vaca (que otros habían secuenciado ya) y descubrimos que era muy distinto. Esta nueva secuencia de mtDNA estaba claramente cerca de las secuencias humanas, aunque era un poco distinta de todas ellas. Empecé a pensar que, en efecto, esta era la primera muestra de DNA extraída y secuenciada de una forma humana extinguida.

Abrimos una botella de champán que guardábamos en un frigorífico de la sala de café del laboratorio. Sabíamos que, si lo que estábamos viendo era de verdad DNA neandertal, se habían abierto enormes posibilidades. Podría ser posible algún día comparar genes completos, o cualquier gen específico, de neandertales con los genes correspondientes a personas vivas actuales. Mientras volvía a casa andando por un Múnich oscuro y callado (había tomado demasiado champán como para conducir), apenas podía creer lo que había ocurrido. De vuelta a la cama, no pude dormir. Seguí pensando en los neandertales, y en el espécimen cuyo mtDNA parecía que acabábamos de capturar.

En 1856, tres años antes de la publicación de *El origen de las especies* de Darwin, los trabajadores que despejaban una pequeña cueva en una cantera en el valle de Neander, unos diez kilómetros al este de Düsseldorf, descubrieron la parte superior de un cráneo y algunos huesos que pensaron que procedían de un oso. Pero en pocos años los restos fueron identificados como los de una forma de humano extinta, quizá ancestral. Esta era la primera vez que se habían descrito este tipo de restos, y el hallazgo sacudió el mundo de los naturalistas. A lo largo de los años, se ha continuado investigando sobre estos huesos y muchos más como ellos encontrados desde entonces, tratando de discernir quiénes eran los neandertales, cómo vivían, por qué desaparecieron hace unos 30.000 años, cómo interactuaron con ellos nuestros ancestros modernos a lo largo de miles de años de

coexistencia en Europa, y si eran amigos o enemigos, nuestros ancestros o simplemente nuestros primos perdidos (ver ilustración 1.1). Surgían de los yacimientos arqueológicos impactantes muestras de comportamientos que nos son familiares, como el cuidado de los heridos, los enterramientos rituales, y quizá incluso la producción de música, y nos decían que los neandertales se parecían mucho más a nosotros que cualquier simio vivo. ¿Cómo eran de parecidos? Si sabían hablar, si eran la última rama del árbol de la familia de los homínidos, o si alguno de sus genes están ocultos en nosotros hoy, son todas preguntas que se han convertido en parte integrante de la paleoantropología, la disciplina académica que se puede decir que se inició con el descubrimiento de aquellos huesos en el valle de Neander, de los que parecíamos capaces de extraer ahora información genética.

Por interesantes que fueran estas preguntas en sí mismas, me parecía que el fragmento de hueso neandertal encerraba la promesa de un premio aún mayor. Los neandertales son los parientes próximos más cercanos de los humanos contemporáneos. Si pudiéramos estudiar su DNA, sin duda podríamos encontrar que sus genes eran muy semejantes a los nuestros. Algunos años atrás, mi grupo había secuenciado un gran número de fragmentos de DNA del genoma de chimpancé y había mostrado que en las secuencias que compartíamos con los chimpancés, solo difería un porcentaje de nucleótidos algo superior al 1%. Está claro que los neandertales tienen que estar mucho más cerca de nosotros que esto. Pero —y esto es lo que era muy emocionante— entre las pocas diferencias que uno esperaría encontrar en el genoma neandertal, tienen que estar las que nos separan de todas las formas anteriores de predecesores humanos: no solo de los neandertales, sino también del muchacho de Turkana, que vivió hace unos 1,6 millones de años; de Lucy, hace unos 3,2 millones de años; y del «hombre de Pekín», hace más de medio millón de años. Estas pocas diferencias tienen que constituir los cambios biológicos de la dirección radicalmente nueva que tomó nuestro linaje con el surgimiento de los humanos modernos; el advenimiento de una tecnología de desarrollo rápido, del arte en una

forma que hoy reconocemos inmediatamente como arte, y quizá del lenguaje y la cultura como los conocemos hoy. Si pudiéramos estudiar el DNA neandertal, todo esto estaría a nuestro alcance. Arropado por estos sueños (o ilusiones de grandeza), acabé cayendo en el sueño al amanecer.

Al día siguiente, tanto Matthias como yo llegamos tarde al laboratorio. Después de comprobar la secuencia de DNA de la noche anterior para asegurarnos de que no habíamos cometido errores, nos sentamos y planificamos qué había que hacer a continuación. Una cosa era conseguir la secuencia de un trocito de mtDNA del fósil neandertal que parecía interesante, pero otra bien distinta sería convencernos, y no digamos convencer al resto del mundo, de que era mtDNA de un individuo que vivió (en este caso concreto) hacía unos 40.000 años. Mi propio trabajo a lo largo de los doce años anteriores dejaba bastante claro nuestro siguiente paso. Primero, necesitábamos repetir el experimento —no solo los últimos pasos, sino todos ellos, empezando con un nuevo trozo de hueso para demostrar que la secuencia que habíamos obtenido no era una casualidad derivada de una molécula moderna muy estropeada y modificada del mtDNA del hueso—. Segundo, necesitábamos amplificar la secuencia de mtDNA que habíamos conseguido recuperando fragmentos de DNA superpuestos en el extracto de hueso. Esto nos permitiría reconstruir una secuencia de mtDNA más larga, con la cual podríamos empezar a apreciar cómo de distinto era el mtDNA de los neandertales del de los humanos actuales. Y hacía falta un tercer paso. Yo mismo había sugerido a menudo que las afirmaciones extraordinarias sobre secuencias de DNA de huesos antiguos requerían pruebas extraordinarias, a saber, la repetición de los resultados en otro laboratorio, un paso inusual en un campo científico muy competitivo. La afirmación de que habíamos recuperado DNA neandertal sin duda sería considerada extraordinaria. Para excluir fuentes desconocidas de error en nuestro laboratorio, necesitábamos compartir una parte del precioso material óseo con un laboratorio independiente y esperar que se las pudiera arreglar para repetir nuestro resultado. Todo esto lo discutí con Matthias y Ralf. Trazamos

planes de trabajo y nos juramos a nosotros mismos guardar absoluto secreto fuera de nuestros grupos de investigación. No queríamos atención ninguna hasta estar seguros de que lo que teníamos era de verdad.

Matthias empezó a trabajar enseguida. Como se había pasado casi tres años en intentos infructuosos de extraer DNA de momias egipcias, le llenaba de energía la perspectiva del éxito. Ralf parecía frustrado por tener que volver a Bonn, donde no podía hacer más que esperar con ansiedad noticias de nuestros resultados. Intenté concentrarme en otros proyectos míos, pero era difícil quitarme de la cabeza lo que Matthias estaba haciendo.

Lo que Matthias necesitaba hacer no era tan fácil. Después de todo, estábamos lidiando con algo distinto del DNA intacto y prístino que procede de una muestra de sangre extraída de una persona viva. La molécula limpia y nítida de doble cadena de DNA helicoidal de los libros de texto —con sus nucleótidos A, T, G y C, sujetos en pares complementarios (adenina con timina, guanina con citosina) a las dos columnas vertebrales de azúcar-fosfato— no es una estructura química estática cuando está almacenada en los núcleos y mitocondrias de nuestras células. Por el contrario, el DNA sufre constantemente daños químicos, que son localizados y reparados por medio de intrincados mecanismos. Además, las moléculas de DNA son muy largas. Cada uno de los veintitrés pares de cromosomas del núcleo constituye una enorme molécula de DNA; la longitud total de un conjunto de veintitrés cromosomas alcanza los 3.200 millones de pares de nucleótidos. Como el núcleo tiene dos pares de cada genoma (cada copia almacenada en un conjunto de veintitrés cromosomas, de los cuales heredamos uno de nuestra madre y uno de nuestro padre), contiene unos 6.400 millones de pares de nucleótidos. En comparación, el DNA mitocondrial es diminuto, con un poco más de 16.500 pares de nucleótidos; pero dado que el mtDNA que teníamos era antiguo, el reto implicado en la secuenciación era grande.

El tipo más común de daño que se da de forma espontánea en las moléculas de DNA, ya sea DNA nuclear o mtDNA, es la pérdida de

un componente químico, un grupo amino, del nucleótido citosina (C), lo cual le convierte en un nucleótido que no se da de manera natural en el DNA llamado uracilo, abreviado U. Hay sistemas de enzimas en las células que suprimen estos U y los sustituyen por el nucleótido correcto C. Los U descartados acaban como basura celular, y del análisis de los nucleótidos dañados excretados en nuestra orina se ha calculado que se transforman en U cada día unos diez mil C por célula, solo para ser suprimidos y después sustituidos. Y este es solo uno de los diversos tipos de ataques químicos que nuestro genoma sufre. Por ejemplo, se pierden nucleótidos, dejando lugares vacíos que provocan rápidamente la rotura de las cadenas de moléculas de DNA. Luchando contra ello hay enzimas que llenan esos nucleótidos que faltan antes de que se pueda dar una rotura. Si no se da una rotura, otras enzimas vuelven a unir las moléculas de DNA. De hecho, los genomas de nuestras células no permanecerían intactos ni siquiera una hora si no existieran estos sistemas de reparación para mantenerlos.

Estos sistemas de reparación requieren por supuesto energía para funcionar. Cuando nos morimos, dejamos de respirar; las células de nuestro cuerpo se quedan entonces sin oxígeno, y como consecuencia su energía se acaba. Esto detiene la reparación del DNA, y se acumulan con rapidez varios tipos de daño. Además del daño químico espontáneo que se da continuamente en las células vivas, hay tipos de daño que se dan después de la muerte, una vez que las células empiezan a descomponerse. Una de las funciones esenciales de las células vivas es mantener compartimentos en los que las enzimas y otras sustancias se mantienen separadas unas de otras. Algunos de estos compartimentos contienen enzimas que pueden cortar cadenas de DNA y son necesarias para ciertos tipos de reparación. Otros compartimentos contienen enzimas que separan el DNA de diversos microorganismos que la célula puede encontrarse y absorber. Una vez que un organismo muere y se queda sin energía, las membranas del compartimento se deterioran, y estas enzimas se filtran y empiezan a degradar el DNA de manera incontrolada. En unas horas y a veces días después de la muerte, las cadenas de DNA de nuestro

cuerpo se cortan en trozos cada vez más pequeños, mientras que se acumulan otras diversas formas de daño. Al mismo tiempo, las bacterias que viven en nuestros intestinos y pulmones empiezan a crecer de manera incontrolada cuando nuestro cuerpo fracasa en mantener las barreras que normalmente las contienen. Estos procesos acabarán disolviendo la información genética contenida en nuestro DNA, la información que una vez permitió que nuestro cuerpo se formara, se mantuviera y funcionara. Cuando este proceso se completa, el último rastro de nuestra unidad biológica ha desaparecido. En cierto sentido, es entonces cuando nuestra muerte está completa.

Sin embargo, casi cada una de los billones de células de nuestro cuerpo contiene el conjunto completo de nuestro DNA. Así, aunque el DNA de algunas células de algún rincón remoto de nuestro cuerpo escape a la descomposición completa, sobrevivirá algún vestigio de nuestra composición genética. Por ejemplo, los procesos enzimáticos que degradan y modifican el DNA requieren agua para funcionar. Si algunas partes de nuestro cuerpo se desecan antes de que la degradación del DNA haya completado su curso, estos procesos se detendrán, y algunos fragmentos de nuestro DNA pueden sobrevivir un tiempo más largo. Esto ocurre, por ejemplo, cuando se deposita un cuerpo en un lugar seco donde se momifica. Esta desecación de todo el cuerpo puede darse de forma accidental, debido al entorno en el que el cuerpo ha terminado, o puede darse de forma deliberada. Como es sabido, en el antiguo Egipto se llevaba a cabo a menudo la momificación ritual de los muertos y los cuerpos de cientos de miles de personas que vivieron entre hace 5.000 y 1.500 años fueron momificados para proporcionar moradas *post mortem* a sus almas.

Aun cuando no se produzca la momificación, algunas partes del cuerpo, como los huesos y los dientes, puede sobrevivir durante mucho tiempo después del entierro. Estos tejidos duros contienen células, responsables de tareas como formar nuevo hueso cuando un hueso se rompe, que están alojadas en orificios microscópicos. Cuando estas células de hueso mueren, su DNA puede filtrarse y ligarse al componente mineral del hueso, donde puede escudarse contra un ataque enzimático posterior. Así, con suerte, puede sobrevivir algo



de DNA al embate de la degradación y el daño que se da en las inmediatas secuelas de la muerte.

Pero incluso cuando parte del DNA sobrevive al caos corporal que sigue a la muerte, otros procesos seguirán degradando nuestra información genética, aunque a un ritmo más lento. Por ejemplo, el flujo continuo de radiación medioambiental que choca contra la Tierra desde el espacio crea moléculas reactivas que modifican y rompen el DNA. Aún más, los procesos que requieren agua —como la pérdida de los grupos amino del nucleótido C, que se transforman en nucleótidos U— continúan incluso cuando se conserva el DNA en condiciones relativamente secas. Ello se debe a que el DNA tiene tal afinidad con el agua que incluso en entornos secos las moléculas de agua están casi siempre ligadas a los enlaces entre las dos cadenas de DNA, permitiendo que se den reacciones químicas hidrógenas espontáneas. La pérdida del grupo amino, o desaminación, del nucleótido C es uno de los más rápidos de estos procesos, y desestabilizará el DNA hasta que sus cadenas acaben por romperse. Estos y otros procesos, la mayoría aún desconocidos, continúan deteriorando nuestro DNA incluso cuando ha sobrevivido a los estragos que la muerte misma causa a nuestras células. Aunque la tasa de expoliación dependerá de muchas circunstancias, como la temperatura, acidez, y más, está claro que incluso bajo condiciones favorables, en último término incluso los últimos fragmentos de información del programa genético que hizo posible a una persona acabarán por ser destruidos. Parece que en el hueso neandertal que mis colegas y yo habíamos analizado, todos estos procesos no habían completado del todo su tarea destructiva después de 40.000 años.

Matthias había recuperado la secuencia de un trozo de mtDNA de una longitud de 61 nucleótidos. Para hacerlo, tuvo que fabricar muchas copias de este fragmento de DNA, lo cual implicaba un procedimiento llamado reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés). En este intento por confirmar nuestro hallazgo, empezó repitiendo su experimento de PCR tal y como lo había hecho la primera vez. Este experimento supone utilizar dos piezas cortas sintéticas de DNA llamadas cebadores, que fueron di-

señadas para enlazar los dos lugares del mtDNA, separados de 61 pares de nucleótidos. Estos cebadores se mezclan con una cantidad diminuta del DNA extraído del hueso y una enzima llamada DNA polimerasa que puede sintetizar nuevas secuencias de DNA que empiezan y acaban en los cebadores. La mezcla es calentada para permitir que las dos secuencias de DNA se separen, de manera que los cebadores puedan encontrar y enlazarse con sus secuencias diana cuando la mezcla se enfría, emparejando A con T y G con C. La enzima utilizará entonces los cebadores enlazados a las secuencias de DNA como puntos de partida para sintetizar dos nuevas secuencias, duplicando las dos secuencias originales del hueso, de manera que estas dos secuencias originales se conviertan en cuatro secuencias. Este procedimiento de amplificación se repite para producir ocho secuencias, y luego de nuevo para producir dieciséis, y luego treinta y dos, y así sucesivamente hasta un total de treinta o cuarenta turnos de duplicación.

La PCR, una técnica simple, aunque elegante, inventada por el científico disidente Kary Mullis en 1983, es muy poderosa. A partir de un solo fragmento de DNA, se puede obtener en principio más o menos un billón de copias, después de cuarenta ciclos. Esto es lo que hizo posible nuestro trabajo, por lo que en mi opinión Mullis se merecía el Premio Nobel de Química que se le concedió en 1993. Sin embargo, la exquisita sensibilidad de la PCR también dificultó nuestro trabajo. En un extracto de un hueso antiguo, que puede contener muy pocas moléculas supervivientes, o ninguna, de DNA antiguo, podría haber una o más moléculas de DNA humano moderno que hubieran contaminado el experimento: a partir de los productos químicos utilizados, los artículos de plástico del laboratorio o el polvo del aire. Las partículas de polvo de las habitaciones en las que viven los humanos, son, en gran medida, fragmentos de piel humana, que contienen células llenas de DNA. Otra posibilidad es que el DNA humano hubiera contaminado la muestra cuando la hubiera manejado una persona en, pongamos, un museo o una excavación. Fue con estas preocupaciones en la cabeza como escogimos estudiar la secuencia de la parte más variable del mtDNA neander-

tal. Como muchos humanos difieren entre ellos en esa parte en particular, por lo menos podríamos decir si había más de un humano que hubiera aportado DNA a nuestro experimento y así estar advertidos de que algo faltaba. Por esto estábamos tan emocionados por haber encontrado una secuencia de DNA con cambios nunca vistos antes en ningún humano; si la secuencia hubiera parecido la de un humano vivo, no habríamos tenido forma de determinar si ello quería decir, por una parte, que el de neandertal era efectivamente idéntico al mtDNA de algunas personas de hoy, o, por otra parte, que estábamos viendo solo un fragmento de DNA moderno que se había abierto camino en nuestros experimentos desde alguna fuente insidiosa, como una mota de polvo.

Para entonces, yo ya estaba muy familiarizado con el hecho de la contaminación. Había estado trabajando durante más de doce años en la extracción y análisis de DNA antiguo de mamíferos extintos como osos de las cavernas, mamuts lanudos y perezosos gigantes. Después de una serie de resultados frustrantes (detecté DNA humano en casi todos los huesos de animales que analicé con la PCR), pasé muchísimo tiempo pensando y diseñando maneras de minimizar la contaminación. Así, Matthias llevó a cabo todas las extracciones y otros experimentos, hasta el primer ciclo de temperatura de la PCR, en un pequeño laboratorio que manteníamos meticulosamente limpio y separado por completo del resto de nuestro laboratorio. Una vez que se habían puesto en un tubo los antiguos DNA, los cebadores y los demás componentes necesarios, el tubo se sellaba, y los ciclos de temperatura y todos los experimentos subsiguientes se llevaban a cabo en el laboratorio normal. En el laboratorio limpio se fregaban todas las superficies con lejía una vez por semana, y todas las noches se irradiaba el laboratorio con luz ultravioleta para destruir cualquier DNA traído por el polvo. Matthias entraba en el laboratorio limpio a través de una antecámara, en la que él y los demás que trabajaban allí se ponían batas protectoras, máscaras faciales, gorros para el cabello y guantes estériles. Todos los reactivos e instrumentos se llevaban directamente al laboratorio limpio; no se permitía que entrara nada procedente de otros lugares del Instituto.

Matthias y sus colegas tenían que iniciar su día de trabajo en el laboratorio limpio en lugar de en otras partes de nuestro laboratorio, donde se analizaban grandes cantidades de DNA. Una vez que entraban en cualquier laboratorio de este tipo, se les prohibía la entrada en el laboratorio limpio el resto del día. Por decirlo de manera suave, yo estaba paranoico con el DNA contaminado, y creía que tenía una buena razón para estarlo.

Aun así, en los experimentos iniciales de Matthias habíamos visto pruebas de cierta contaminación humana del hueso. Después de usar la PCR para amplificar un trozo de mtDNA del hueso, él había clonado el lote resultante de copias de DNA supuestamente idénticas en bacterias. Lo hizo para ver si podía existir más de un tipo de secuencia de mtDNA entre las moléculas clonadas; cada bacteria portará solo una molécula de 61 nucleótidos unida a una molécula portadora llamada plásmido, y crecerá hasta constituir un clon de millones de bacterias en el que cada una lleva copias de la molécula de 61 nucleótidos que portaba la primera bacteria, por lo que podíamos conseguir, secuenciando cierta cantidad de clones, una visión de conjunto de cualesquiera secuencias diferentes de DNA que existieran en la población de moléculas. En los primeros experimentos de Matthias, vimos diecisiete moléculas clonadas que eran semejantes o idénticas unas a otras, y a la vez diferentes de las de los más de dos mil mtDNA humanos modernos que estábamos usando para compararlos. Pero también vimos una que era idéntica a una secuencia vista en algunos humanos actuales. Esto mostraba con claridad la presencia de contaminación, quizá de los conservadores del museo u otros que hubieran manejado el hueso a lo largo de los 140 años desde su descubrimiento.

Así que lo primero que hizo Matthias en su intento de reproducir nuestro resultado original fue repetir la PCR y la clonación. Esta vez encontró diez clones con la secuencia única que nos había emocionado tanto, y dos que parecía que podían proceder de cualquier persona moderna. Entonces volvió al hueso e hizo otro extracto, hizo la PCR y la clonación de nuevo, y consiguió diez clones del tipo interesante y cuatro que parecían mtDNA de humanos actuales.

Ahora estábamos satisfechos: nuestro resultado original había pasado las primeras pruebas, pudimos repetir las y ver la misma inusual secuencia cada vez.

Matthias empezó entonces a «recorrer» el mtDNA, utilizando otros cebadores diseñados para amplificar fragmentos que se superponían a una parte del primer fragmento, pero que se extendían más allá a otras regiones del mtDNA (ver ilustración 1.2). Una vez más, observamos que algunas de las frecuencias de estos fragmentos tenían cambios en los nucleótidos nunca vistos en humanos contemporáneos. A lo largo de los pocos meses siguientes, Matthias amplió trece fragmentos diferentes de distintos tamaños, cada uno de ellos al menos dos veces. La interpretación de las secuencias era complicada por el hecho de que cualquier molécula de DNA puede llevar mutaciones que pueden deberse a varias causas: antiguas modificaciones químicas, errores de secuenciación, o incluso variación rara pero natural que puede existir entre las moléculas de mtDNA encontradas dentro de la célula de un individuo. Por tanto, usamos una estrategia que yo había diseñado previamente para DNA de animales antiguos (de nuevo, ver ilustración 1.2). Para cada posición en cada experimento, consideramos auténtico el llamado nucleótido de consenso, es decir, el nucleótido (A, T, G o C) que tienen en esa posición la mayoría de las moléculas examinadas. También requeríamos que cada posición fuera idéntica en al menos dos experimentos independientes, ya que un PCR podría, en un caso extremo, haberse iniciado desde una sola cadena de DNA, en cuyo caso todos los clones, debido a algún error en el primer ciclo de PCR o en alguna modificación química en esa cadena de DNA en particular, llevarían el mismo nucleótido en la misma posición. Si dos PCR diferían incluso con respecto a una sola posición, repetíamos la PCR una tercera vez, para ver cuál de los dos nucleótidos era reproducible. Matthias acabó utilizando 123 moléculas de DNA clonadas para componer una secuencia de 379 nucleótidos de la parte más variable del mtDNA. Según los criterios que habíamos establecido, esta era la secuencia de mtDNA que este o esta neandertal tenía cuando estaba vivo o viva. Una vez que tuvimos esta secuencia más larga, pu-

dimos empezar el emocionante trabajo de compararlo con las variaciones vistas en los humanos actuales.

En este punto, comparamos nuestra secuencia de mtDNA neandertal de 379 nucleótidos con las secuencias correspondientes de mtDNA de los 2.051 humanos actuales de todo el mundo. De media, diferían veintiocho de las posiciones entre el neandertal y una persona contemporánea, mientras que las personas vivas de hoy tienen una media de solo siete diferencias entre uno y otro. El mtDNA neandertal tenía cuatro veces más diferencias.

Buscamos entonces cualquier indicio de que el mtDNA neandertal fuera más parecido al mtDNA encontrado en los europeos modernos. Bien podíamos esperararlo, puesto que los neandertales evolucionaron y vivieron en Europa y Asia occidental; en efecto, algunos paleontólogos creen que los neandertales están entre los ancestros de los europeos actuales. Comparamos el mtDNA neandertal con el de 510 europeos y descubrimos que tenían de media 28 diferencias. Luego lo comparamos con el mtDNA de 478 africanos y 494 asiáticos. El número medio de diferencias entre el mtDNA de estas personas también era de veintiocho. Esto quería decir que, de media, el mtDNA europeo no era más semejante al mtDNA neandertal de lo que lo eran los mtDNA de los modernos africanos o asiáticos. Pero quizá el mtDNA neandertal era semejante al mtDNA encontrado en solo algunos europeos, como sería esperable si los neandertales hubieran aportado algo de mtDNA a los europeos. Lo comprobamos y hallamos que los europeos de nuestra muestra cuyo mtDNA era más parecido al de los neandertales mostraban veintitrés diferencias; los africanos y asiáticos más cercanos a los neandertales presentaban veintidós y veintitrés, respectivamente. Resumiendo, observamos no solo que el mtDNA neandertal parecía muy distinto del mtDNA de los humanos modernos de todo el mundo, sino que además no había indicios de ninguna relación especial entre el mtDNA neandertal y el de cualquier subgrupo de mtDNA europeo vivo en la actualidad.

Sin embargo, no basta con contar las diferencias para reconstruir la historia de la evolución de un fragmento de DNA. Las diferencias encontradas entre secuencias de DNA representan mutaciones que