



MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT

Tomé cien ladrillos de juguete Lego, colóquelos en fila e intente construir con ellos una figura lo más esférica posible. Cuenta con cinco segundos para hacerlo. ¿Difícil, verdad? Aunque no imposible. De hecho, las células de nuestro cuerpo logran formar incesantemente y, a veces, en cuestión de segundos, proteínas tridimensionales a partir de pliegues realizados en cadenas lineales de aminoácidos. Recién después de este proceso se vuelven biológicamente activas.

diferenciación, y participan tanto de la percepción de impulsos sensoriales específicos (por ejemplo mediante la rodopsina, el fotopigmento presente en nuestros ojos) como de la transmisión de impulsos nerviosos. El desarrollo exitoso de todos estos procesos moleculares requiere de información específica que prácticamente se encuentra almacenada en la misma estructura de las moléculas. Ésta sólo puede transmitirse, cuando las estructuras moleculares que interactúan son comple-

Damas de compañía en la célula

Cómo las chaperonas moleculares dan forma a las proteínas

Las proteínas representan más de la mitad del peso seco de una célula. Determinan su forma y estructura, y participan decisivamente en todas las funciones vitales. Mientras el ADN almacena la información necesaria para construir una célula, las proteínas actúan como verdaderas herramientas que se ajustan exactamente a los "componentes" de la estructura celular. En términos informáticos, podríamos decir que la secuencia del ácido nucleico es el "software", mientras que las proteínas son el "hardware" – el equipo físico que ejecuta el programa almacenado (Fig. A).

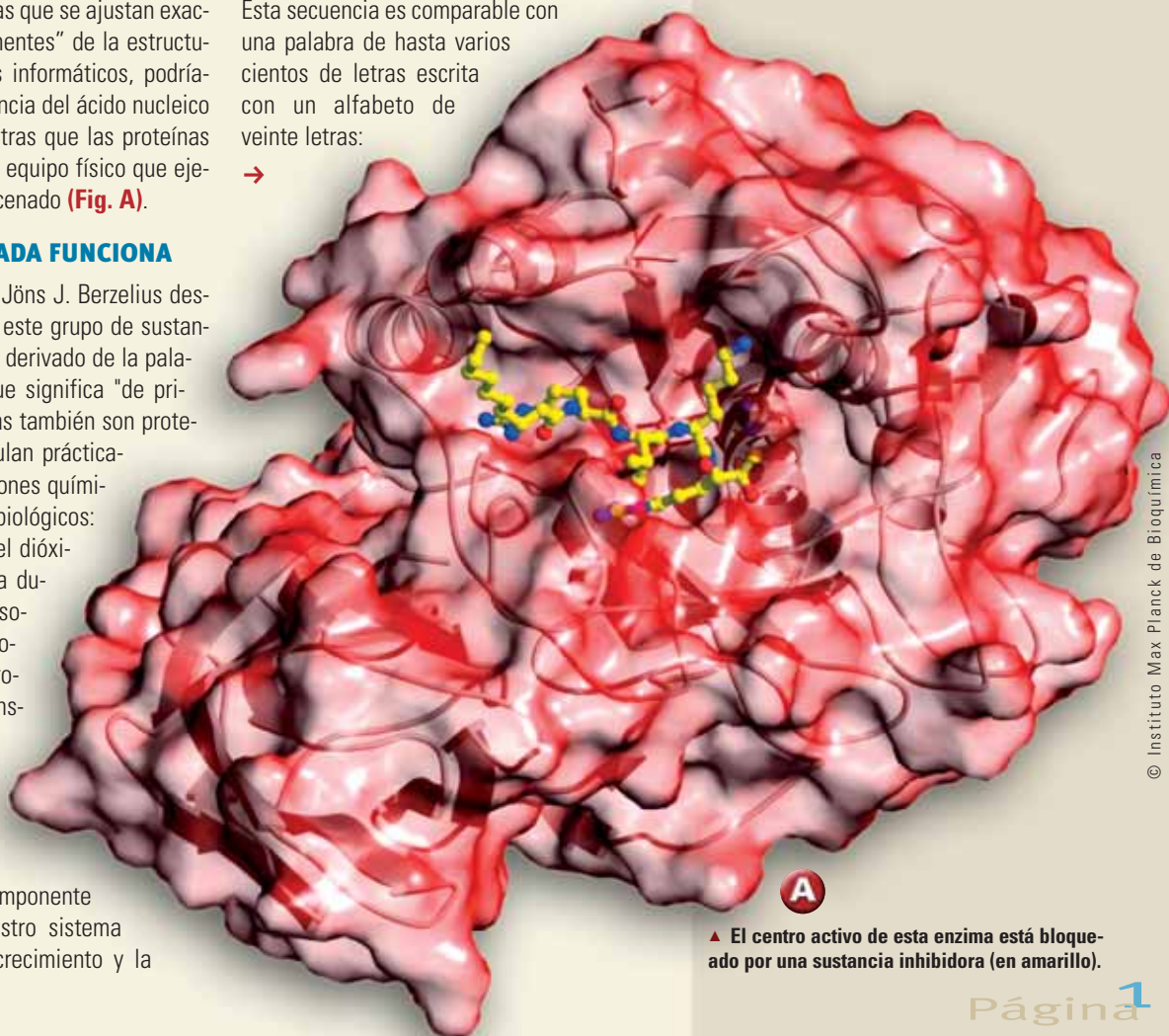
SIN PROTEÍNAS NADA FUNCIONA

Ya en 1836 el químico Jöns J. Berzelius destacó la importancia de este grupo de sustancias al crear el término derivado de la palabra griega *proteios*, que significa "de primer orden". Las enzimas también son proteínas que dirigen y regulan prácticamente todas las reacciones químicas en los sistemas biológicos: desde la hidratación del dióxido de carbono hasta la duplicación de un cromosoma. En el cuerpo, las proteínas cumplen numerosas funciones de transporte o, como en el caso del colágeno, importantes funciones mecánicas. Como anticuerpos, constituyen un componente imprescindible de nuestro sistema inmune; controlan el crecimiento y la

mentarias. Para ello, las proteínas deben haber adquirido su forma espacial exacta. Toda la información para hacerlo está incluida en la estructura primaria, es decir en la secuencia de los aminoácidos.

Esta secuencia es comparable con una palabra de hasta varios cientos de letras escrita con un alfabeto de veinte letras:

→



▲ El centro activo de esta enzima está bloqueado por una sustancia inhibidora (en amarillo).



◀ El interior de una célula – aquí la bacteria intestinal *E. coli* – repleta de proteínas, ribosomas y ácidos nucleicos.

B

logrado por Frederick Sanger en 1953. El científico pudo demostrar por primera vez que una proteína posee una **secuencia de aminoácidos** exactamente definida. Actualmente

→ los veinte aminoácidos presentes en las proteínas. Se conocen más de 200 aminoácidos de origen natural, sin embargo, apenas uno de cada diez es utilizado en la construcción de proteínas. Aún así, las posibles combinaciones son ilimitadas, ya que cada uno de los aminoácidos posee una característica química propia y, en principio, cualquiera puede encontrarse en cualquier posición dentro de la cadena polipeptídica. De modo que, por ejemplo, para una cadena de apenas cuatro aminoácidos, podemos encontrar $20 \times 20 \times 20 \times 20 = 160.000$ diferentes secuencias posibles. En realidad, sólo una mínima fracción de las posibles secuencias adopta una forma tridimensional biológicamente útil; éstas, aparentemente, pudieron imponerse en el transcurso de la evolución. Las proteínas están construidas con tanta precisión, que la pérdida o el cambio de posición de un solo aminoácido puede afectar considerablemente su función y tener consecuencias catastróficas para el organismo.

Uno de los hitos en la historia de la bioquímica fue la determinación de la secuencia de aminoácidos de la hormona insulina, hecho

se conoce la secuencia de aminoácidos completa de más de 120.000 proteínas. Sin embargo, como ya se mencionó, una cadena polipeptídica extendida linealmente carece de actividad biológica. A fines de la década de 1930, los científicos estadounidenses Linus Pauling y Robert Corey, testearon gran cantidad de potenciales estructuras polipeptídicas mediante la construcción de modelos moleculares exactos ateniéndose rigurosamente a los ángulos y longitudes de los enlaces determinados experimentalmente en aminoácidos y pequeños péptidos.

TODO ES CUESTIÓN DE QUÍMICA

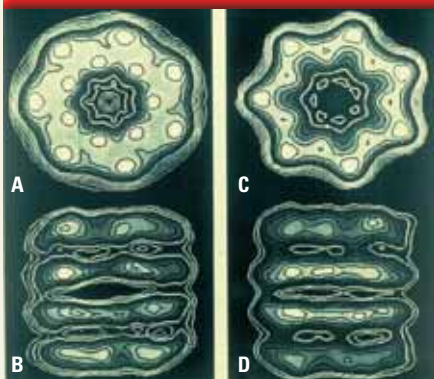
En aquel entonces, los científicos ya sabían que casi cualquier cadena de polipéptidos se pliega en una estructura de "patrones" regularmente recurrentes. Pauling y Corey buscaron las bases de esta periodicidad. En 1951, ambos científicos finalmente propusieron dos estructuras periódicas de polipéptidos: la α **hélice** y la β **lámina**.

Los dos estadounidenses habían determinado estas estructuras mediante derivaciones teó-

ricas. Seis años más tarde se confirmó la existencia de la estructura de la α hélice mediante la difracción de rayos X de la mioglobina, transportadora del oxígeno en el tejido muscular. La cadena de polipéptidos de la mioglobina se compone de 153 aminoácidos y presenta ocho segmentos de α hélice, que constituyen aproximadamente el 70% de la cadena principal; gran parte de la cadena restante forma lazos entre las hélices. La cadena principal – al igual que en otras proteínas – es compleja y está plegada asimétricamente. ¿Qué fuerzas determinan su estructura tridimensional? Se trata, principalmente, de tres tipos: **fuerzas de atracción electrostáticas** entre los radicales con carga eléctrica, **enlaces puente de hidrógeno** y fuerzas que repelen agua entre restos hidrófobos, las llamadas **fuerzas de Van der Waals**. *In vitro*, es decir en el tubo de ensayo, una cadena de polipéptidos de estas características puede plegarse espontáneamente en milésimas de segundo. Las cadenas laterales hidrófobas de los aminoácidos se ocultan en el interior de la molécula, mientras que los restos hidrófilos (que ligan agua) con carga polar se ubican en la superficie. Éste es, al mismo tiempo, el estado termodinámico más estable.

Las proteínas que se componen de más de una cadena de polipéptidos presentan, finalmente, otros niveles de organización estructural, entre los cuales encontramos unidades compactas de plegamiento globular, llamadas **dominios**, que abarcan restos de entre 50 y 300 aminoácidos. Estos dominios proteicos poseen una estructura conservada, pero son genéticamente móviles y, por eso, en el transcurso de la evolución se las ha vuelto a usar una y otra vez. Actualmente, los investigado-

VISTA DE ÁGUILA



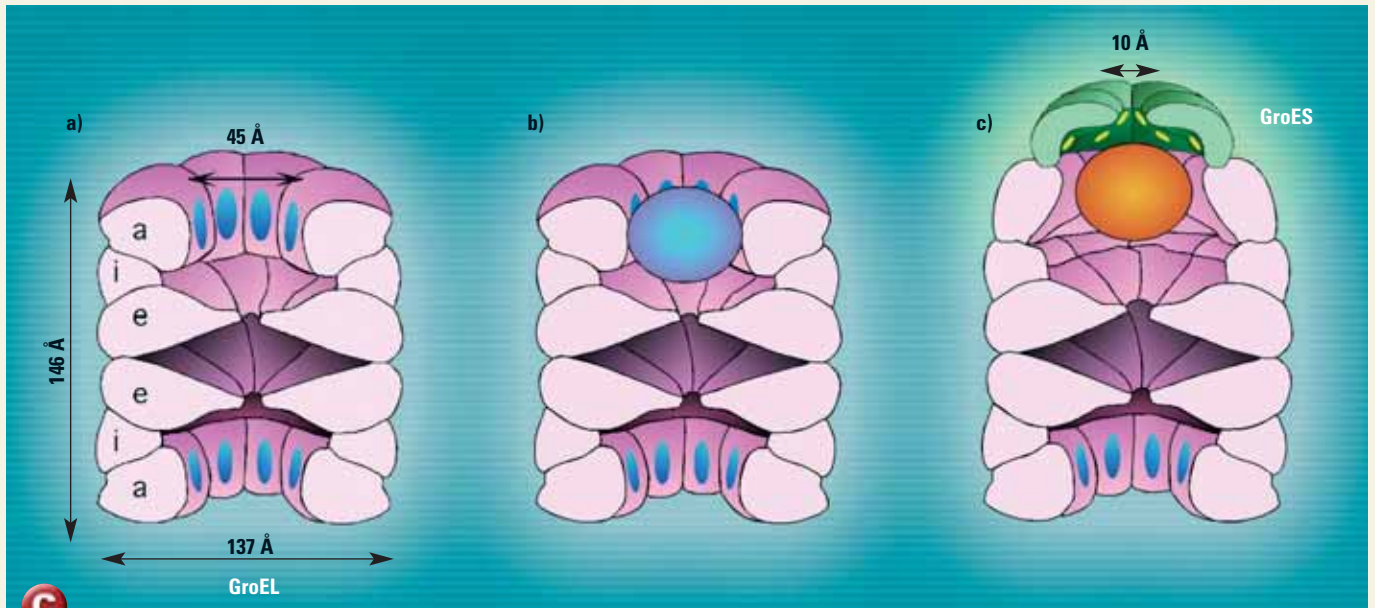
primeros microscopios. Con ayuda del microscopio electrónico, que irrumpió en la biología a fines de la segunda guerra mundial, por fin se pudieron reconocer en detalle las diferentes estructuras celulares. Finalmente, la Cristalografía de Rayos X, una técnica que permite ver la localización espacial exacta de casi todos los átomos en una molécula, enriqueció significativamente el conocimiento sobre la estructura y el funcionamiento de las proteínas.

(NMR) y la Cristalografía Electrónica, de modo que los científicos cada vez obtienen imágenes con mayor resolución e información más detallada sobre las biomoléculas. La figura sobre la izquierda, por ejemplo, muestra imágenes estructurales de la chaperona GroEL, obtenidas mediante rayos X.

A propósito: los científicos del Instituto Max Planck, Johann Deisenhofer, Hartmut Michel y Robert Huber, obtuvieron en 1988 el Premio Nobel de Química por el éxito en la determinación de la estructura espacial del centro de reacción fotosintético de la bacteria púrpura, un agregado compuesto por cuatro proteínas, con una resolución de 0,3 nm (un nanómetro equivale a un millonésimo de milímetro).

Durante mucho tiempo, el diminuto tamaño de las células dificultó su estudio. La existencia de las mismas recién se constató cuando, hace algo más de tres siglos, se desarrollaron los

Entretanto se lograron esclarecer las estructuras de varios cientos de proteínas hasta el nivel atómico. Para esta tarea, la Cristalografía de Rayos X se complementa con la Espectroscopía de Resonancia Nuclear Magnética



▲ **Modelo del mecanismo de reacción de GroEL:** se observa el doble anillo de GroEL sin sustrato (a), al igual que con sustrato ligado (b). En (c) el enlace de GroES (verde) genera la liberación de la proteína del sustrato (ahora anaranjada) en el cilindro de plegamiento cerrado.

res aplican este conocimiento en la búsqueda de nuevas moléculas diana o *target* para aplicaciones médicas. Desde hace tiempo que la investigación farmacéutica se encuentra varada en este punto: desde 1994 sólo se descubrieron 22 moléculas *target* realmente nuevas y revolucionarias. Después de que en 2001 se completó la decodificación del genoma humano, se sabe que éste comprende unos 22.000 genes. Los investigadores estiman que existen unas 200.000 proteínas. ¡Pero los 100 medicamentos más importantes que existen sólo actúan sobre 43 moléculas *target*! Aún así, los científicos no pierden la esperanza de que en el genoma pueda hallarse un importante número de nuevos sitios donde puedan actuar los fármacos. Por eso, en todo el mundo, los investigadores han iniciado la búsqueda de aquellos genes cuyas secuencias son similares a las de las moléculas "exitosas", es decir, las proteínas que son puntos eficaces para la acción del medicamento.

LOS INVESTIGADORES BUSCAN AL AZAR

¿Pero cómo encontrar en forma rápida y eficiente el compuesto activo correcto? Esto pareciera ser el equivalente a buscar una aguja en un pajar, porque en estos momentos, para cada punto de ataque molecular deben realizarse unos 10.000 enlaces para, recién entonces, encontrar el correcto. Herbert Waldmann

y un equipo de investigadores del Instituto Max Planck de Fisiología Molecular con sede en Dortmund buscan optimizar este proceso de búsqueda con ayuda de la química combinatoria. Para encontrar nuevas proteínas funcionales, se sirven de los dominios de proteínas conocidos que se han impuesto en la evolución como si fueran los bloques de un sistema modular. Mediante las bibliotecas de sustancias confeccionadas por los científicos del Instituto Max Planck efectivamente se ha logrado encontrar *targets* biológicamente activos con mayor frecuencia en comparación con el sistema de búsqueda de sustancias activas convencional.

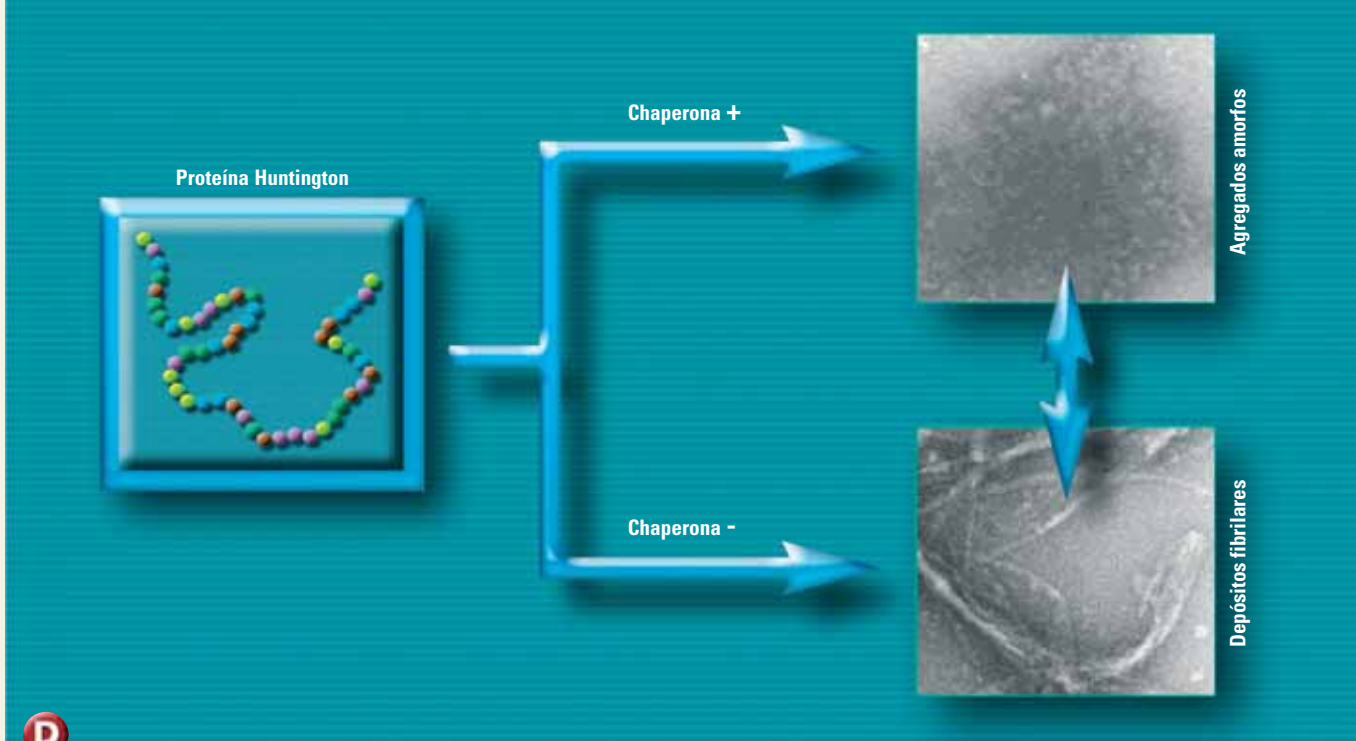
Volviendo a la célula: ¿cómo se logra unir allí estructuras α y β para conformar tal maraña de dominios y, sobre todo, garantizar la secuencia de plegamiento proteico correcta? Desde hace tiempo se sabe que este proceso no se desarrolla de manera espontánea en la célula. Por otra parte, las proteínas que, plegadas defectuosamente, pueden derivar en la deposición de agregados fibrilares de naturaleza proteica en el cerebro, generando una serie de enfermedades neurodegenerativas como Alzheimer, Parkinson, Creutzfeld-Jacob o Corea de Huntington. El riesgo de plegamientos anormales como éstos es relativamente alto. Se puede explicar de la siguiente manera: supongamos que en una cadena de polipéptidos cada bloque de aminoácidos puede adoptar por lo menos dos formas distintas que influyen en la conformación. Entonces, incluso para un polipéptido relativamente corto de 100 aminoácidos, resultan 2^{100} o 10^{30} formas espaciales posibles. Sólo una de estas formas

corresponde al estado natural de la proteína. Este estado tampoco puede encontrarse por búsqueda aleatoria ya que llevaría 10^7 años. Las proteínas, en cambio, se pliegan en segundos o minutos según su tamaño. Para ello, van adoptando estadios intermedios que tienden al aglutinamiento, en especial, las proteínas de plegamiento lento cuya estructura de dominios es compleja.

INSTRUCCIONES PARA QUE LA PASTA NO SE PEGUE

A nivel celular, rápidamente se produce una situación de aglutinamiento, porque un dominio de proteína recién puede completar su plegamiento cuando toda la secuencia ha emergido del **ribosoma**. Esto depende de la arquitectura de la fábrica celular de proteína: el canal de salida de un ribosoma sólo tiene unos 100 ångström de longitud (una millonésima de centímetro) —una distancia que corresponde a una cadena de unos 30 aminoácidos o a una α hélice de 65 aminoácidos. El diámetro del canal apenas tiene 15 ångström e impide el plegamiento de una hélice dentro del ribosoma.

El proceso de plegamiento fuera del ribosoma tarda más de un minuto e incrementa la probabilidad de que las nuevas cadenas de polipéptidos recién formadas, que se encuentran una muy cerca de la otra, se aglutinen o "se peguen" como si fueran espaguetis en una olla repleta de pasta. Además, el citosol de una célula está repleto de macromoléculas que también incrementan significativamente el riesgo de aglutinación (Fig. B). En la bacteria gastrointestinal *E. coli* se estima una →



D

▲ En el modelo de cultivo celular, la formación de chaperonas inducida farmacológicamente puede impedir la formación de depósitos de proteínas dañinos, como los que ocasionan el mal de Huntington.

→ concentración de proteínas y de otras macromoléculas de entre 300 y 400 gramos por cada litro de líquido celular.

A fines de 1980, Ulrich Hartl y sus colaboradores descubrieron un mecanismo celular que evita el aglutinamiento de proteínas recién conformadas: se trata de las **proteínas chaperonas**. Ellas toman las cadenas de polipéptidos recién formadas bajo su custodia y protegen las superficies interactivas de un mutuo empuje – un proceso regulado por ATP, la moneda de intercambio energético de la célula. Las chaperonas se han convertido recientemente en un campo de investigación “candente” y el Instituto Max Planck de Bioquímica de Martinsried, donde se encuentra el departamento de investigación de Ulrich Hartl, no es la excepción.

ESPACIO PARA PLEGARSE LIBREMENTE

¿Cómo es una chaperona molecular? GroEL, una chaperona de la ya mencionada bacteria *E. coli*, se compone de 14 subunidades que, dispuestas en dos anillos de siete subunidades cada uno, se superponen en capas encerrando una cavidad cilíndrica en el centro, similar a un barril (Fig. C). La chaperona reconoce las superficies hidrófobas orientadas hacia la solución de proteínas que aún no se han plegado por completo. Luego se liga a ellas y casi captura la cadena polipeptídica. Ni bien

queda trabada en la cavidad del cilindro de la chaperona, el complejo GroES cierra la abertura liberando al mismo tiempo al polipéptido dentro del pequeño barril. Ahora se encuentra virtualmente en “confinamiento solitario”, y así aislado, puede comenzar a plegarse según su verdadera estructura – esto equivale a cocinar cada espagueti por separado. Luego, con el correspondiente gasto de ATP, es enviado nuevamente al citosol. Si el plegamiento falla, el barril vuelve a cerrarse y se inicia un nuevo intento.

Las proteínas que ingresan al cilindro de la chaperona tienen un tamaño de entre 20 y 60 kilodalton (el equivalente a entre 200 y 600 aminoácidos) y lo abandonan en un tiempo promedio de entre 15 segundos y varios minutos. Si bien el mecanismo de la chaperona ya fue desentrañado, hasta hace tres años los sustratos naturales en *E. coli* todavía eran totalmente desconocidos. De las 2.500 proteínas del citosol de la bacteria sólo unas 300 necesitan “acompañantes”. Los científicos investigaron en detalle las 50 proteínas más frecuentemente acompañadas, entre ellas un importante número de enzimas metabólicas, y encontraron una propiedad estructural común: todas contienen dos o más dominios con estructuras de plegamiento α / β . Proteínas como éstas se pliegan con relativa lentitud, ya que en especial la formación de las láminas β depende de múltiples interacciones entre los residuos de aminoácidos muy alejados entre sí en la secuencia. Si una proteína se compone de más de un dominio α / β , como es el caso de los sustratos de GroEL, entonces pue-

den originarse plegamientos anómalos que pueden ser inhibidos eficazmente por el “tratamiento individual” del cilindro GroEL/GroES.

OVILLOS CEREBRALES

La combinación de técnicas de biología celular, bioquímica y biología molecular permitió tener una visión más profunda del mecanismo de plegado (ver recuadro página 2). La principal pregunta que se plantea ahora es: ¿pueden las chaperonas moleculares evitar las fallas de plegamiento en enfermedades neurodegenerativas? En efecto, mediante la formación de chaperonas farmacológicamente inducidas en un modelo de cultivo celular, los investigadores del Instituto Max Planck lograron impedir que se formaran depósitos de proteína dañinos (Fig. D). Los hallazgos que aportan estas investigaciones en materia de biología celular básica podrían abrir nuevos caminos en el tratamiento de enfermedades degenerativas graves.

PIE DE IMPRENTA

Sociedad Max-Planck, departamento de información y relaciones públicas, Hofgartenstraße 8, 80539 München / e-mail: presse@gv.mpg.de

Texto: Dra. Christina Beck

Traducción: Astrid Wenzel

Diseño: www.haak-nakat.de

La versión en español se hizo con el apoyo del DAAD y con fondos del Ministerio de Relaciones Exteriores de Alemania.



SIEMENS

DAAD Deutscher Akademischer Austausch Dienst
Servicio Alemán de Intercambio Académico

BASF
The Chemical Company

200 AÑOS
BICENTENARIO
ARGENTINO

Ministerio de
Ciencia, Tecnología
e Innovación Productiva
Presidencia de la Nación