

20 DE MARZO DE 2008

Construcción de enzimas a partir de la nada

Mediante una empresa muy exigente a nivel computacional y que requirió que miles de personas en todo el mundo permitieran la utilización de sus computadoras por cierto tiempo, investigadores del Instituto Médico Howard Hughes (HHMI) han diseñado y construido dos enzimas funcionales nunca antes vistas en la naturaleza.

Las enzimas son los catalizadores de la naturaleza y, sin ellas, tareas biológicas vitales como convertir azúcar en energía o como la replicación del ADN les llevaría a las células un tiempo mil millones de veces mayor, o incluso billones de veces mayor. Los investigadores han intentado por mucho tiempo imitar la eficacia de la naturaleza para crear enzimas que aceleren procesos industriales lentos en la producción de productos farmacéuticos y de combustibles. La complejidad de las moléculas, sin embargo, ha obstaculizado sus esfuerzos.

"Las enzimas son una de las creaciones más milagrosas de la naturaleza, pero todavía no sabemos realmente cómo funcionan. El intentar crear nuevas enzimas a partir de la nada nos dirá lo que es crítico para que algo sea un buen catalizador."

— David Baker

El equipo conducido por el grupo del HHMI aprovechó su comprensión de las reglas básicas que gobiernan la función de proteínas para superar los problemas y para crear a partir de la nada dos enzimas artificiales y funcionales.

Según el autor senior David Baker, investigador del HHMI en la Universidad de Washington, los métodos pueden, en principio, ser aplicados a cualquier reacción química, y podrían llevar a avances en la manufacturación farmacéutica, la limpieza de desperdicios tóxicos y muchas otras áreas.

El equipo de investigación publicó sus resultados en dos artículos, uno fue publicado en el número del 7 de marzo de 2008, de la revista *Science*, y el segundo fue publicado el 19 de marzo de 2008, en una publicación avanzada en Internet de la revista *Nature*.

Al igual que otras proteínas, las enzimas se construyen a partir de largas cadenas de aminoácidos. Veinte aminoácidos son las unidades estructurales básicas de construcción de proteínas y cada uno tiene distintas propiedades. A medida que se sintetiza una proteína, se pliega espontáneamente en una forma tridimensional precisa que representa un equilibrio entre las interacciones de repulsión y de atracción de los átomos de sus aminoácidos y las moléculas de agua que los rodean.

La forma de una enzima es crítica para su función porque crea una hendidura llamada sitio activo formado específicamente para unir la molécula diana de la enzima. Una vez que la molécula diana se une, los átomos que revisten el sitio activo interactúan con esa molécula -por ejemplo, cortar una molécula de almidón en moléculas individuales de glucosa-. Si no encaja de forma precisa, la enzima no funciona.

Para su proyecto de diseño de enzimas, el equipo eligió dos reacciones modelo del mundo de la química. Los químicos habían estudiado esto por algún tiempo, dijo Baker, así que teníamos una buena idea sobre qué se necesitaría [en un sitio activo] para catalizarlas. Según Baker, la clave para crear sus nuevas enzimas era diseñar una secuencia de aminoácidos que se plegara para crear ese sitio activo.

La predicción de la forma que tomará una dada cadena de aminoácidos es una especialidad de Baker. En octubre de 2007, su equipo publicó sobre el progreso significativo en la predicción de la estructura de proteínas naturales basadas sólo en sus secuencias de aminoácidos. Para hacer las predicciones, el equipo de Baker utilizó Rosetta, que es un programa computacional que ellos mismos desarrollaron para modelar las interacciones atómicas que gobiernan la forma de proteínas. Sin embargo, dijo Baker, los cálculos involucrados requieren la utilización de computadoras por largos períodos de tiempo. Tanto tiempo es necesario, que Baker necesita acceso a miles de computadoras.

Cuando comenzó por primera vez a predecir las estructuras de proteínas, Baker utilizó grupos de computadoras de su laboratorio. Hace varios años, se dio cuenta que la cantidad de computadoras requerida para hacer avances significativos era mucho mayor de lo que podría proporcionar su laboratorio. Pero la capacidad computacional que necesitaba Baker estaba alrededor suyo, en los hogares y negocios de personas comunes y corrientes.

Por lo tanto, Baker creó Rosetta@home, una comunidad en Internet que aparea Rosetta a la Infraestructura Abierta de Berkeley para Computación en Red (BOINC, por sus siglas en inglés). BOINC reparte los cálculos en pedazos manejables y envía esos pedazos a un ejército de voluntarios alrededor del mundo que donan tiempo cuando sus computadoras están inactivas al plegamiento de proteínas. Hoy, Rosetta@home tiene casi 190.000

miembros.

Para el proyecto del diseño de enzimas, el equipo de Baker, conducido por los investigadores senior Daniela Rothlesberger y Eric Althoff y del que forman parte los estudiantes de doctorado Lin Jiang y Alex Zanghellini, diseñaron sitios activos que pensaban acelerarían las reacciones químicas. Entonces utilizaron la red Rosetta@home para encontrar secuencias de aminoácidos que se plegarían para producir esos sitios activos. Después de ese primer paso, crearon genes reales que codificaban esas secuencias de aminoácidos y las insertaron en bacterias para ver si las proteínas que producían aceleraban sus reacciones.

Según Baker, las enzimas funcionaron, aunque no tan bien como las encontradas en la naturaleza. En lugar de acelerar los índices de la reacción un billón de veces, sólo estamos logrando una aceleración en el orden de mejoras de índices de 100.000 veces, dijo. Hay claramente algo que nos falta y es muy importante [para nuestra investigación] intentar descubrir qué es.

Para ayudar, los colaboradores israelíes de Baker, Dan Tawfik y Olga Khersonsky (coautores del artículo publicado en *Nature*), tomaron una de las enzimas y la forzaron a evolucionar. Trabajando con un tubo de ensayo, los dos crearon miles de versiones de la enzima con mutaciones al azar. Por casualidad, algunas de estas mutaciones aceleraron la enzima. Según Baker, varias rondas de evolución dirigida mejoraron la velocidad de la enzima unas 200 veces, y el análisis de los cambios ayudará a que el equipo ajuste sus modelos computacionales para proyectos futuros.

Según Baker, los resultados de los estudios son importantes por dos motivos. Dice que el primer motivo es que las enzimas son una de las creaciones más milagrosas de la naturaleza pero todavía realmente no sabemos cómo funcionan. Este proyecto de intentar crear nuevas enzimas a partir de la nada realmente nos dirá lo que es crítico para que algo sea un buen catalizador. Baker dice que el segundo motivo es que hay enormes cantidades de usos prácticos importantes para las enzimas. Por ejemplo, menciona la aceleración de la producción de productos farmacéuticos, la creación de nuevos combustibles o la limpieza de contaminantes. Podríamos imaginar nuevas enzimas que nos ayudarán a todos nosotros, dijo.