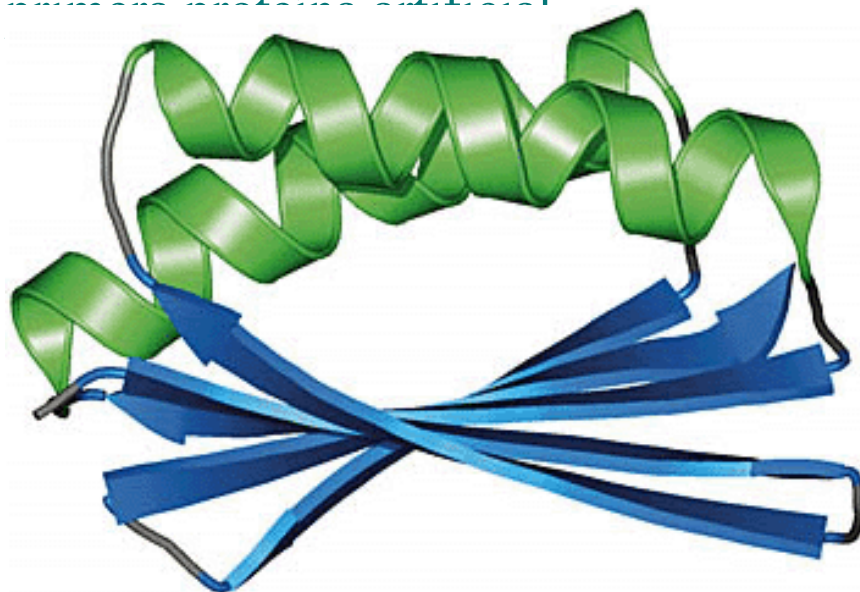


21 DE NOVIEMBRE DE 2003

## Investigadores diseñan y construyen la primera proteína artificial



**Image Title:** Imagen generada por computadora de la proteína artificial llamada Top7. - Gautam Dantas/Universidad de Washington

Utilizando sofisticados algoritmos computacionales ejecutados en computadoras estándares, unos investigadores han diseñado y construido una proteína funcional nueva que no se encuentra en la naturaleza. El logro debería permitir que los investigadores exploren preguntas más amplias sobre la forma en la que evolucionaron las proteínas y la razón por la que la naturaleza “eligió” ciertos plegamientos de proteínas en lugar de otros.

La capacidad de especificar y diseñar proteínas artificiales también abre el camino para que los investigadores diseñen enzimas proteicas artificiales para que sean usadas como medicamentos o como catalizadores industriales, dijo el investigador principal del estudio, el investigador del Instituto Médico Howard Hughes David Baker , en la Universidad de Washington.

---

"Imagen generada por computadora de la proteína artificial llamada Top7."

---

Baker y sus colegas Brian Kuhlman, quien actualmente se encuentra en la Universidad de Carolina del Norte, en Chapel Hill, y Gautam Dantas, estudiante de doctorado de la Universidad de Washington, publicaron sus estudios en el número del 21 de noviembre de 2003, de la revista *Science*. Los científicos colaboraron en la realización de los estudios con otros investigadores de la Universidad de Washington y del Centro de Investigación del Cáncer Fred Hutchinson, en Seattle.

Las proteínas se sintetizan inicialmente como largas cadenas de aminoácidos y no pueden funcionar correctamente hasta que se pliegan en intrincadas estructuras globulares. La comprensión y predicción de las reglas que gobiernan este complejo proceso de plegamiento -incluyendo el plegamiento de la columna principal y el empaquetamiento de las cadenas moleculares laterales de aminoácidos- es uno de los interrogantes centrales de la biología.

Según Baker, la capacidad de especificar una estructura proteica plegada de una determinada forma y de crear esa proteína ofrece ventajas científicas y prácticas de gran alcance. “Primero, la especificación del plegamiento de una proteína y luego su diseño es una prueba muy rigurosa de nuestra comprensión actual de las fuerzas y de la energética de sistemas macromoleculares”, dijo. “Dado que el diseño de algo que es totalmente nuevo significa que no se puede copiar ningún aspecto de la naturaleza”.

“En segundo lugar, si se pueden diseñar estructuras completamente nuevas, potencialmente se pueden diseñar máquinas moleculares nuevas -proteínas que realicen nuevas funciones para ser utilizadas como medidas terapéuticas, catalizadores, etc.-. Y finalmente, existe el interrogante evolutivo de si los plegamientos que se toman de la naturaleza son el límite de lo que es posible; o si existen plegamientos completamente distintos que también son posibles”, dijo. “Básicamente, deseamos comprender si la naturaleza utiliza solamente un subconjunto de lo que es posible”, dijo Baker.

Los desafíos de diseñar una secuencia de aminoácidos para que se pliegue formando una estructura nueva fueron considerables, dijo Baker. “Si se bosqueja una estructura proteica arbitraria, simplemente se puede dar el caso de que ninguna secuencia de aminoácidos se pliegue para originar la estructura deseada. Tuvimos que desarrollar métodos para tomar muestras de forma computacional de estructuras posibles que fueran similares a las bosquejadas, para encontrar una conformación para la cual existiera una secuencia de aminoácidos de energía muy baja”, dijo.

Baker y sus colegas aprovecharon los métodos para analizar estructuras proteicas alternativas que habían estado desarrollando por algún tiempo como parte de la metodología de predicción de estructura proteica *ab initio* Rosetta. “En efecto, la integración de los algoritmos de diseño proteico (para identificar las secuencias de aminoácidos de baja energía para una estructura proteica determinada) con algoritmos de predicción de estructuras proteicas (que identifican las estructuras proteicas de baja energía para una secuencia de aminoácidos determinada) fue un ingrediente clave de nuestro éxito”, dijo Baker. Equiparó el problema con la versión tridimensional del intento de

crear un bosquejo específico para un rompecabezas, sólo con un cierto número de piezas -el equivalente a los 20 aminoácidos conocidos que se encuentran en la naturaleza-. Además, dijo, estos aminoácidos pueden rotar en muchas conformaciones distintas.

“En cada posición, se puede tener uno de los veinte aminoácidos, y para cada uno de esos aminoácidos se puede tener alrededor de diez formas distintas”, dijo. “Por lo tanto, se tienen doscientas formas posibles para cada pieza. Con esas restricciones, puede ser que existan algunos bosquejos para este rompecabezas que no se pueden lograr. Por ello, se necesita tener una forma de cambiar el límite para encontrar una proteína que realmente se pueda realizar, porque la restricción principal es que las cadenas laterales encajan perfectamente en el interior de la proteína.

“Por lo tanto, el problema es que el número de alternativas puede ser enorme. Incluso para una conformación determinada de la columna de la proteína, se tiene un número astronómico de secuencias de aminoácidos posibles”, dijo Baker. “Así que necesitábamos una metodología computacional para buscar de forma eficiente entre la enorme cantidad de conformaciones y secuencias de aminoácidos posibles”.

Al realizar su trabajo de diseño y construcción, los científicos eligieron una versión de una proteína globular de un tipo llamado conformación alpha/beta que no se encontraba en la naturaleza. “Elegimos esta conformación porque muchas de ellas se encuentran actualmente en la naturaleza, pero hay claros ejemplos de plegamientos posibles que aún no se han observado”, dijo. “Elegimos un plegamiento que no se ha observado en la naturaleza”.

Su metodología de diseño computacional fue iterativa, ya que especificaron una conformación inicial de la columna proteica e identificaron la secuencia de aminoácidos de energía más baja para esta conformación, utilizando el programa que habían desarrollado previamente, llamado RosettaDesign, el cual se encuentra disponible de forma gratuita para grupos académicos en [www.unc.edu/kuhlmanpg/rosettadesign.htm](http://www.unc.edu/kuhlmanpg/rosettadesign.htm).

Luego, mantuvieron la secuencia de aminoácidos determinada y utilizaron la metodología de predicción de la estructura Rosetta que anteriormente habían utilizado con éxito para predecir *ab initio* la estructura proteica para identificar la conformación de la columna proteica de menor energía para esa secuencia. Finalmente, cargaron los resultados nuevamente dentro del proceso de diseño para generar una secuencia nueva que se predecía se plegaría para originar la conformación de la nueva columna. Después de repetir 10 veces los pasos de optimización de la secuencia y predicción de la estructura, obtuvieron una secuencia y una estructura proteica que se predecía tendría una energía menor que las proteínas que existen naturalmente dentro del mismo rango de tamaño.

El resultado fue una estructura de 93 aminoácidos que llamaron Top7. “Se llama Top7 porque había una generación anterior de proteínas que parecían plegarse de forma correcta y que eran estables, pero no parecían tener el empaquetamiento perfecto que se observa en las proteínas nativas”, dijo

Baker.

Los investigadores sintetizaron a Top7 para determinar su estructura tridimensional real, utilizando cristalografía de rayos X. A medida que los rayos X atraviesan y rebotan en los átomos del cristal, dejan un patrón de difracción, que luego se puede analizar para determinar la forma tridimensional de la proteína.

“Nos llevamos una verdadera sorpresa cuando resolvimos la estructura del cristal y encontramos que era asombrosamente cercana a la que estábamos intentando crear”, dijo Baker. “Eso nos dio el indicio de que estábamos en el camino correcto”.

Según Baker, lograr el diseño de un plegamiento proteico específico tiene implicaciones importantes para el futuro del diseño proteico. “Probablemente, lo más importante que hemos aprendido es que ahora podemos diseñar proteínas totalmente nuevas que son muy estables y que se asemejan bastante a la estructura que deseamos obtener”, dijo. “En segundo lugar, este diseño demuestra que nuestra comprensión y descripción de la energética de proteínas y de otras macromoléculas no pueden estar muy erradas; en caso contrario, nunca habríamos podido diseñar una molécula totalmente nueva con tal precisión”.

El siguiente gran desafío, dijo Baker, es el diseño y construcción de proteínas con funciones específicas, trabajo que se está realizando actualmente en su laboratorio.