

27 DE ABRIL DE 01

Investigadores despliegan moléculas de ARN usando fuerza mecánica

Al aplicar precisas fuerzas mecánicas a los extremos de las moléculas individuales de ARN, unos investigadores han desplegado y replegado exitosamente las moléculas. Según los científicos, las mediciones de las fuerzas necesarias para desplegar y replegar estas moléculas producirán nueva información sobre cómo las moléculas de ARN consiguen sus estructuras tridimensionales estables.

En un artículo publicado en el número del 27 de abril de 2001, de la revista *Science*, el investigador del Instituto Médico Howard Hughes, [Carlos Bustamante](#) y los colegas Jan Liphardt, Bibiana Onoa, Steven B. Smith e Ignacio Tinoco, Jr., en la Universidad de California, en Berkeley, publicaron cómo utilizaron la fuerza mecánica para desplegar tres tipos de moléculas de ARN.

“Los investigadores han estado interesados en las fuerzas implicadas en el plegamiento de proteínas y ácidos nucleicos tales como el ARN, dado que su estructura tridimensional es crítica para su función”, dijo Bustamante. Además, las células parecen utilizar fuerzas mecánicas para desplegar proteínas y moléculas de ARN durante el proceso de degradación, y es poco lo que saben los científicos sobre cómo ocurre este proceso.

"En un primer momento, queríamos estudiar un ribosoma completo, pero cuando se hizo evidente la complejidad que estábamos observando cuando tirábamos del ribosoma, nos dimos cuenta que iba a ser imposible entender todo desde un principio."

- Carlos J. Bustamante

“Tradicionalmente, los científicos han intentado estudiar el desplegamiento fundiendo las moléculas con temperatura o desnaturalizándolas con

productos químicos. Pero el problema con esas metodologías es que medían masivos números de moléculas a la vez y hacían un promedio final de esa extensa población. Sumado al problema de que cada molécula puede tomar una vía diferente para desplegarse”, dijo Bustamante.

Para medir la fuerza necesaria para desplegar una sola molécula de ARN, Bustamante y sus colegas unieron a cada extremo de la molécula a estudiar una bolita de plástico microscópica a través de “manijas” de ARN/ADN”. Utilizaron una “trampa óptica” que consistía en un rayo láser que sostenía y medía la fuerza en una bolita, a medida que un actuador piezoeléctrico unido a la otra bolita proveía de las diminutas fuerzas que son requeridas para desplegar la molécula. Los científicos también utilizaron la técnica para medir el cambio en la longitud de la molécula a medida que ésta se desplegaba.

“Este sistema eliminó el problema de hacer el promedio de una gran cantidad de moléculas y el problema de las múltiples vías de reacción”, dijo Bustamante, “porque a medida que tiramos, seguimos el desplegamiento de una sola molécula a lo largo de una vía en particular”.

En sus experimentos, los científicos desplegaron tres clases de moléculas de ARN, cada una más compleja que la anterior:

- la más simple, una estructura de ARN en forma de “horquilla” plegada
- un ARN que también contenía una “hélice empalmada” más compleja que se encuentra en muchos ARNs plegados
- la más compleja, un ARN que tenía una “protuberancia” en su estructura, y que puede lograr una estructura terciaria.

“En un primer momento, queríamos estudiar un ribosoma completo”, dijo Bustamante, “pero cuando se hizo evidente la complejidad que estábamos observando cuando tirábamos del ribosoma, nos dimos cuenta que iba a ser imposible entender todo desde un principio. En última instancia, nos dimos cuenta que dado que las moléculas de ARN son jerárquicas en su estructura, siendo cada dominio relativamente independiente, sería posible sintetizar los diferentes dominios de la molécula y después tirar de cada tipo de dominio para entender sus características”.

Los resultados de los experimentos de los científicos revelaron que cada uno de los tres tipos de moléculas de ARN tenía características distintivas. Por ejemplo, los ARNs de la horquilla y de la hélice empalmada presentaron un fenómeno que los científicos llamaron “brinco”. En estos casos, si las moléculas eran sostenidas con una fuerza constante que fuera lo suficientemente grande para lograr las moléculas de transición entre los estados desplegado y plegado, éstas podrían brincar hacia adelante y atrás,

yendo de un estado al otro. A partir de este estado de brinco, los científicos podrían identificar las fuerzas requeridas para desplegar las moléculas, medir los índices de plegamiento y desplegado y la energía del proceso.

También encontraron que las fuerzas de desplegado coincidían con las fuerzas de plegamiento. “Esto significa que todo el trabajo mecánico que se hace para tirar de la molécula y para desplegarla, sólo va a romper los enlaces de la molécula que mantienen el plegamiento”, dijo Bustamante. “Esto significa que se puede llevar el proceso al equilibrio”.

Los científicos también investigaron las características del plegamiento en presencia de iones de magnesio, que están involucrados íntimamente en el plegamiento del ARN. “Una vez que se permite que la molécula logre su estructura tridimensional en presencia de magnesio, la molécula se hace más lenta para desplegarse y replegarse, y ya no se la puede llevar a un estado de equilibrio fácilmente”, dijo Bustamante.

En el ARN más complejo con el agregado de la “protuberancia”, los científicos observaron un desplegado más complejo que llamaron “rasgadura”. En este proceso, la molécula se puede desplegar parcialmente, luego detenerse y sólo después de un leve aumento en la fuerza se desplegará por completo y de forma repentina.

“Cuando se empieza a observar moléculas más complejas, se comienza a ver vías diferentes, con similares partes de desplegado de moléculas a fuerzas diferentes”, dijo Bustamante.

Tal riqueza de mediciones, dijo Bustamante, sugiere que la nueva técnica generará una abundancia de datos sobre el plegamiento del ARN.

“En la actualidad, si se le pregunta a un bioquímico cuán estable es una molécula mutante, él le puede dar una cifra de temperatura de fusión”, dijo Bustamante. “Quisiéramos darle a ese bioquímico una curva de la función de la energía, que le diga las barreras de energía que mantienen unida a la molécula y qué es lo necesario para desplegarla”. Eventualmente, dijo, la técnica de desplegado mecánico podría mejorar los modelos teóricos de plegamiento molecular, al permitir que los teóricos comparen sus predicciones de plegamiento con resultados experimentales de moléculas reales.