

09 DE MARZO DE 2001

## El virus de la hepatitis C se fija a la maquinaria de síntesis proteica

Unos investigadores han descubierto que el virus de la hepatitis C (VHC) emplea una estrategia inusual para hacer que la maquinaria de producción de proteínas de la célula huésped sintetice las proteínas virales. La investigación podría proporcionar un blanco de ataque prometedor para el desarrollo de nuevas drogas que bloqueen la infección del VHC sin dañar los tejidos del cuerpo. De acuerdo a los científicos, los estudios también sugieren nuevos detalles sobre cómo el ARN mensajero (ARNm) induce la iniciación de la síntesis proteica.

Los resultados del equipo de investigación conducido por los investigadores del Instituto Médico Howard Hughes (HHMI), Jennifer A. Doudna y Joachim Frank fueron publicados en un artículo en el número del 9 de marzo de 2001, de la revista *Science*. Doudna y sus colegas se encuentran en la Universidad de Yale, y Frank y sus colegas están en Health Research Inc., en Albany, Nueva York.

---

"En realidad es un excelente truco evolutivo porque permite que el virus detenga la síntesis de proteínas del huésped, mientras continúa generando proteínas virales."

— Jennifer A. Doudna

---

La terapia existente de drogas para la hepatitis C falla a menudo, así que los investigadores han estado buscando nuevos blancos de ataque moleculares para la terapia del VHC. Sólo en los Estados Unidos, mueren anualmente 10.000 personas debido a la infección por VHC. El número de víctimas por el VHC es tan alto porque la mayoría de las personas infectadas con VHC desarrolla enfermedad hepática crónica, cirrosis, o cáncer de hígado. Centros para Control y Prevención de Enfermedades estima que en los Estados Unidos, la infección por el VHC es responsable de 600 millones de dólares al año en gastos de cuidado médico y pérdidas financieras.

En su estudio, Doudna, Frank y sus colegas intentaron determinar cómo el VHC, así como otros virus, utiliza un método alternativo de iniciación de síntesis proteica que requiere que los sitios internos de entrada al ribosoma

(IRES, por sus siglas en inglés) introduzcan su ARN mensajero en el componente principal de la maquinaria productora de proteínas, el ribosoma. Los ribosomas son "fábricas", compuestas de grandes proteínas globulares y ARN, que leen y traducen la información genética del ARNm a proteínas.

Los IRESes son secuencias estructuradas de ARNm viral que, esencialmente, toman control de la maquinaria de síntesis proteica, apartándola de su trabajo normal que es el de hacer proteínas celulares. La síntesis de proteínas se inicia normalmente cuando el ribosoma reconoce una cubierta nucleotídica característica que está presente en el extremo del ARNm de la célula. "Por mucho tiempo se ha sabido que muchos virus utilizan este mecanismo interno de iniciación de síntesis de proteínas", dijo Doudna. "En realidad es un excelente truco evolutivo porque permite que el virus detenga la síntesis de proteínas del huésped, mientras continúa generando proteínas virales".

"Sin embargo, lo que también es interesante sobre estos sitios internos de entrada al ribosoma es que algunas proteínas de la célula huésped también parecen utilizar este mecanismo para hacer ciertos tipos de proteínas. Y estas proteínas del huésped parecen estar involucradas en el control central de la transcripción o en otras funciones fundamentales de la célula. De esta manera, la teoría es que las células también utilizan los IRESes como una forma para expresar estas proteínas importantes ante situaciones difíciles, como infecciones virales, o cuando otra vía de síntesis de proteínas se detiene, dijo Doudna.

Los científicos estudiaron cómo el VHC utiliza su IRES, usando criomicroscopía electrónica (crio-ME) para crear mapas tridimensionales de alta resolución de IRES ARN virales unidos a una subunidad ribosómica, llamada subunidad 40S.

La crio-ME tridimensional es una de las pocas técnicas con las que se pueden visualizar grandes moléculas dinámicas. Para realizar las preparaciones necesarias para la crio-ME, los investigadores primero sumergen en solución acuosa a las partículas IRES de la subunidad ribosomal, y luego las congelan rápidamente en etano líquido sumamente frío. El rápido congelamiento atrapa los complejos en el hielo, preservando, de esta manera, la estructura natural de las partículas. Usando un microscopio electrónico con filamento de baja intensidad, para evitar de dañar las moléculas, los científicos obtuvieron imágenes de miles de partículas cautivas. Entonces, los científicos emplearon sofisticados análisis de imágenes automatizados para producir un mapa detallado y tridimensional de los complejos de partículas, a partir de imágenes producidas por el microscopio electrónico, que de otra forma serían ruidosas y de poco contraste.

"Esta fue una aplicación bastante directa de la crio-ME", dijo Frank. "El único problema que tuvimos fue que muchas de las partículas ribosomales no estaban ocupadas con IRES ARN, así que tuvimos que recoger los datos de más partículas para obtener un mapa útil. Sin embargo, la crio-ME era claramente la única forma de poder realizar estos mapas, dado que la cristalización de un complejo tan grande para el análisis por cristalografía de

rayos X simplemente no es factible".

Los mapas realizados por crio-ME de la subunidad 40S revelaron que la misma consiste en tres dominios, llamados "cuerpo", "cabeza" y "plataforma". Para identificar qué segmento de IRES viral se unía a la subunidad del ribosoma, los científicos primero produjeron mapas de la subunidad cuando ésta formaba un complejo con un IRES truncado, que carecía de un segmento llamado "dominio II". Encontraron que la eliminación de este dominio no afectaba la unión al ribosoma, aunque el IRES truncado no podía iniciar eficientemente la síntesis de proteínas. Seguidamente, los científicos produjeron los mapas del IRES normal, o "salvaje", cuando éste formaba un complejo con la subunidad del ribosoma. Estos nuevos mapas revelaron la probable función de la región, con forma de dedo, del dominio II del ARNm viral.

"Cuando comparamos los mapas del IRES truncado con los del IRES salvaje-y también con los del ribosoma vacío-encontramos lo que parece ser un gran cambio conformacional en el ribosoma, que es inducido por el IRES salvaje", dijo Doudna.

"Parece como si el IRES estuviera empujando la cabeza del ribosoma hacia abajo y haciendo que se funda con la plataforma y con la región del hombro", dijo. "En realidad, lo que esto hace es convertir a la hendidura, donde se cree que normalmente el ARN se une, en un túnel. De este modo, el IRES está básicamente fijando el ribosoma alrededor del ARN mensajero".

Según Doudna, el efecto probable de la fijación es que el ARN mensajero viral se traba en el sitio correcto del ribosoma, forzando al ribosoma a iniciar la producción de una proteína viral.

"Esta es la primera vez que se visualiza un tipo de complejo de iniciación con el ribosoma eucariota", dijo Doudna. "Una posibilidad muy emocionante es que este cambio conformacional podría resultar ser una vía general de manipulación de la maquinaria traduccional, incluso del más común mecanismo de iniciación dependiente de la cubierta".

Sin embargo, dijo, la universalidad y la detallada función del cambio conformacional en el inicio de síntesis de proteínas sólo serán determinadas luego de experimentos y análisis adicionales de los mapas de alta resolución. Doudna también dijo que serán necesarios estudios adicionales para determinar si las drogas que bloquean el mecanismo del IRES podrían ser útiles para un tratamiento eficaz contra el VHC.