

27 DE NOVIEMBRE DE 2005

La más reciente herramienta química de la biotecnología

Utilizando la caja de herramientas químicas de la biología, unos investigadores han desarrollado una nueva técnica que les permitirá modificar secuencias específicas de una molécula de ADN. La metodología no sólo ayudará a revelar el impacto de las alteraciones bioquímicas del ADN, sino que también podría tener aplicaciones de gran alcance para el diagnóstico médico en base al ADN y la nanobiotecnología.

Saulius Klimasauskas, becario internacional de investigación del Instituto Médico Howard Hughes (HHMI) en el Instituto de Biotecnología de Vilnius, Lituania, y químicos del Instituto de Química Orgánica, de Aquisgrán, Alemania, han combinado química con biotecnología y así han utilizado un grupo de enzimas esenciales para agregar varios grupos químicos al ADN, alterando así su función. El trabajo fue publicado en una publicación avanzada en Internet el 27 de noviembre de 2005, en *Nature Chemical Biology*.

"Las metiltransferasas de ADN se convertirán en una herramienta de laboratorio estándar como las endonucleasas de restricción."

— **Saulius Klimašauskas**

Las enzimas del corazón del estudio, conocidas como metiltransferasas de ADN, son una de las herramientas que las células utilizan para activar y desactivar los genes. Al agregar un simple grupo de cuatro átomos -un átomo de carbono unido a tres hidrógenos, conocidos entre los químicos como grupo metílico- a bases específicas de una secuencia de ADN, las metiltransferasas pueden desactivar a un gen. La metilación cumple una función importante en el desarrollo embrionario, la marcación para la desactivación genómica y la carcinogénesis porque regula la expresión génica.

Las metiltransferasas requieren de una fuente de grupos metílicos que unen al ADN, y muy frecuentemente esa fuente es una molécula llamada S-Adenosil-L-metionina (AdoMet), conocida a veces como SAM o S-AdoMet. Las metiltransferasas toman el grupo metílico de la AdoMet y lo transfieren directamente al ADN, colocándolo en la secuencia con una especificidad

envidiable. Esta especificidad sugiere que las enzimas pueden ser una herramienta útil en el laboratorio. Pero Klimasauskas y sus colegas querían la flexibilidad de unir más de sólo un grupo metílico simple.

En este estudio, los científicos demostraron que las metiltransferasas, en efecto, se pueden utilizar para transferir grupos químicos más grandes a grandes moléculas de ADN, conservando la misma especificidad de secuencias.

Para probar su técnica, los científicos sintetizaron moléculas semejantes a la AdoMet, pero que tenían grupos químicos con cadenas de carbón más largas en la posición donde usualmente se localizaba al grupo metílico. Las enzimas pudieron tomar el grupo más grande y transferirlo al ADN. Dado que la familia de metiltransferasas de ADN incluye enzimas capaces de reconocer más de 200 secuencias distintas, esta nueva metodología proporcionó una capacidad sin precedente de manipular el ADN experimentalmente.

Para demostrar el potencial de la técnica para alterar la función del ADN, los investigadores modificaron al ADN en una posición que bloqueaba la capacidad de otra enzima de cortar la molécula en su sitio diana. “Nadie había pensado realmente sobre las posibles aplicaciones [de esto] antes porque nadie pensaba que fuera posible”, dijo Klimasauskas. Predice que las metiltransferasas de ADN se convertirán en una herramienta de laboratorio estándar como las endonucleasas de restricción.

Estudios anteriores habían sugerido que la transferencia de grupos químicos más grandes que un grupo metílico no era posible, en parte porque la sustitución del grupo metílico de la AdoMet disminuía la reactividad química del compuesto. Para superar este problema, los autores siguieron algunos consejos de libros de texto de química orgánica y estabilizaron la transferencia con un enlace de carbono múltiple.

“Resultó que nuestra primera apuesta, un enlace de carbono doble o triple, ubicado al lado de la unidad transferible de carbono, ayudó a aliviar los problemas que habían plagado la reacción en estudios anteriores”, dijo Klimasauskas. Comparó la reacción química con un resorte mecánico, explicando que la energía química atrapada en la AdoMet es suficiente para entregar un grupo metílico pequeño a su compuesto diana. Pero la entrega de un compuesto más grande requería de un “resorte” auxiliar para asegurarse de que alcanzaría el blanco. Por lo tanto, dijo, “el pensamiento químico” ayudó a resolver la problemática reacción enzimática.

“Al demostrar la transferencia de cadenas de carbonos de hasta 4 o 5 unidades, proporcionamos la prueba del precepto de que cadenas de otras longitudes también deberían ser toleradas”, dijo Klimasauskas.

Debido a la naturaleza específica de secuencia, los científicos encontraron que las metiltransferasas tienen una ventaja clara sobre otras técnicas de marcado que se utilizan comúnmente para el ADN y otros biopolímeros. “Nuestra metodología permite que se marquen grandes moléculas de ADN nativas en locus internos o terminales”, explicó Klimasauskas.

A pesar de que las posibles aplicaciones son muchas, los investigadores planean sintetizar nuevos análogos de la AdoMet para expandir la colección de los grupos químicos que pueden ser transferidos al ADN por las metiltransferasas. El grupo de Klimasauskas está trabajando actualmente en la adición de grupos funcionales útiles para las cadenas extendidas. Por ejemplo, los investigadores a menudo marcan componentes celulares con una molécula llamada biotina, porque se une firmemente a otra molécula, la estreptavidina, y por lo tanto la estreptavidina se puede utilizar para recuperar la molécula de interés. Si la biotina se construyera en un análogo de la AdoMet, dijo Klimasauskas, entonces podría ser utilizada como gancho molecular para pescar todas las moléculas que serían naturalmente metiladas en la célula. “No hay una forma comparable para el análisis global de los blancos celulares de la metilación”, observó Klimasauskas.

El ADN no es la única molécula que se metila naturalmente en la célula -el ARN y las proteínas también experimentan metilación, y las enzimas que realizan estas reacciones también dependen de la AdoMet como fuente metílica-. Dado que la química es igual, esta técnica probablemente también sea aplicable a esas biomoléculas, ampliando aún más su utilidad. Klimasauskas dijo que un uso posible podría ser el marcar varios sitios del ribosoma -sitio compuesto principalmente por ARN que se encarga de la producción de proteínas- con fluoróforos brillantes utilizando metiltransferasas de ARN apropiadas, permitiendo estudios dinámicos en tiempo real del complicado mecanismo de traducción proteica.