

06 DE FEBRERO DE 04

## Técnica que espía la vida interior de las proteínas

Investigadores del Instituto Médico Howard Hughes han desarrollado una técnica analítica que se puede utilizar para descubrir cuáles son los aminoácidos que son claves en las relaciones que existen en la red interna de comunicaciones de proteínas.

Estas redes, que se encuentran en el interior de intrincadas estructuras proteicas globulares, son rutas por las cuales las distintas partes de las moléculas de proteínas comunican información importante, como por ejemplo si se han activado los receptores de la superficie de la proteína. Esta estricta coordinación de la actividad es crítica para la función de las proteínas como reguladores claves de la función celular.

Según los investigadores, su herramienta -llamada análisis estadístico de acoplamientos (SCA, por sus siglas en inglés)- podría ayudar a guiar el desarrollo de nuevas clases de drogas que puedan afectar específicamente una única actividad de una proteína compleja sin alterar globalmente su función, lo que podría llevar a efectos secundarios indeseados.

Los investigadores, conducidos por los investigadores del Instituto Médico Howard Hughes, [David Mangelsdorf](#) y [Rama Ranganathan](#), publicaron sus resultados en el número del 6 de febrero de 2004, de la revista *Cell*. Los laboratorios de ambos investigadores se encuentran en el Centro Médico de la Universidad Texas Southwestern, en Dallas.

“El interrogante básico sobre muchas proteínas de señalización es la forma en la que estas moléculas pueden de alguna manera comunicar un evento de unión molecular en un sitio de la proteína a un sitio de interacción molecular diferente situado a cierta distancia”, dijo Ranganathan. En muchas proteínas, la unión de un ligando a una proteína receptora afecta la estructura proteica en una región completamente separada, permitiendo que esa proteína transmita la actividad a una proteína que actúa en etapas posteriores de una vía de señalización celular común.

“Si se quiere, es esencial para la vida que tales proteínas tengan mecanismos estructurales que puedan transportar tal información”, dijo Ranganathan. “Por muchos motivos, la comprensión de estos mecanismos sigue siendo uno de

los problemas centrales de la biología estructural actual”, dijo.

Los sistemas de comunicación internos se conocen como redes alostéricas. Las redes transmiten señales a través de la estructura proteica mediante cambios en la forma de aminoácidos individuales, que son los pequeños ladrillos de construcción que forman la proteína.

A pesar de que las técnicas para determinar las estructuras de proteínas completas, tales como la cristalografía de rayos X, son cruciales para la comprensión de la función de las proteínas, con frecuencia no pueden revelar las redes funcionales de los aminoácidos que interaccionan, dijo Ranganathan, cuyo laboratorio se dedica a estudiar los mecanismos de señalización de proteínas. Y los esfuerzos para revelar tales redes al alterar selectivamente aminoácidos individuales mediante mutaciones son demasiado complicados como para rastrear redes complejas, dijo.

Debido a las limitaciones de las metodologías de laboratorio, Ranganathan y sus colegas decidieron “espíar” los experimentos que la naturaleza ya había llevado a cabo en la evolución de grandes familias de proteínas con funciones levemente distintas. El análisis estadístico de la forma en la que los patrones de aminoácidos se modifican en tales proteínas podría revelar cuáles participan en las redes alostéricas que coordinan las distintas funciones de las proteínas.

“La idea básica es que a pesar de que no podríamos hacer todos los experimentos de mutagénesis para revelar redes alostéricas, quizás la evolución ya haya hecho los experimentos por nosotros al realizar mutagénesis sistemáticas al azar a medida que selecciona para esta función”, dijo Ranganathan. “De este modo, si podemos echarle un vistazo al registro que nos ha dejado la evolución en todas estas secuencias de miembros relacionados de una familia de proteínas, podríamos extraer estas relaciones energéticas posicionales entre los aminoácidos”.

Los investigadores eligieron como modelo al receptor retinoide X (RXR, por sus siglas en inglés), una proteína que se activa mediante la unión de una hormona retinoide y transmite esa señal de activación a través de su estructura para desencadenar la activación en el núcleo celular. “Esta proteína resultó ser un muy buen sistema para estudiar, dado que tiene varias superficies moleculares distintas cuyas actividades tienen que ser integradas para producir el resultado final, que es el control de la expresión génica”, dijo Mangelsdorf, cuyo laboratorio estudia la función de los receptores nucleares de hormonas.

Un excelente ejemplo de tal integración funcional en el RXR surge del hecho que el RXR usualmente se une a una proteína similar para formar una estructura llamada heterodímero. Esta doble proteína exhibe un fenómeno inexplicado llamado “efecto de ligando fantasma”, en el cual la activación de un miembro del heterodímero, de alguna manera, reverbera a través del

complejo proteico para activar al otro compañero.

Al utilizar SCA para revelar la red alostérica de la proteína RXR, los investigadores compararon estadísticamente las secuencias de aminoácidos de los dominios de unión a ligandos de 560 miembros de la superfamilia de proteínas receptoras relacionadas a RXR. El análisis fue diseñado para determinar si la variación evolutiva de un único aminoácido se relacionaba con la variación en otro. Tal asociación sugeriría que los dos aminoácidos habrían coevolucionado y que serían probablemente parte de una red alostérica necesaria para la función de la proteína.

El análisis que realizaron de la superfamilia de proteínas RXR reveló una serie de aminoácidos que parecían serpentear a través de la proteína, formando una vía contigua que conectaba las superficies funcionales de la proteína. Es importante, dijeron los investigadores, que la red parecía extenderse a través de los dos componentes del heterodímero y podría explicar el efecto del ligando fantasma. Los investigadores también realizaron experimentos en los cuales alteraron aminoácidos individuales en la red, descubriendo que estas mutaciones podrían afectar la comunicación del ligando de unión en las proteínas compañeras.

Los investigadores advierten que sólo las familias de proteínas con características estructurales y una historia evolutiva que permitan tales comparaciones de secuencias son compatibles con SCA. Sin embargo, dijeron que parece existir una cantidad considerable de tales familias de proteínas.

El mapeo de redes no revela los mecanismos por los cuales éstos comunican la información de una parte de una proteína a la otra -tal comprensión requerirá considerables estudios adicionales-. “En este momento, el análisis estadístico de acoplamiento es un generador de hipótesis que le permitirá a los investigadores diseñar experimentos”, dijo Mangelsdorf.

Los investigadores creen que SCA podría ofrecer considerables ventajas a los investigadores cuyo objetivo es el desarrollo de drogas que afecten selectivamente funciones particulares de proteínas complejas, para evitar efectos secundarios indeseables. “Se sabe que distintas drogas que interaccionan con la misma molécula receptora pueden tener efectos muy diversos -actuando como agonistas o antagonistas, o con una posición intermedia-”, dijo Mangelsdorf. “Creemos que la utilización del análisis SCA para mapear redes alostéricas les permitirá a los investigadores realizar mutaciones que afecten la actividad de un ligando, pero no de otro. Esta capacidad ofrecerá una posible estrategia para realizar búsquedas de drogas que afecten una vía de respuesta en lugar de otra”.