

08 DE SEPTIEMBRE DE 2000

Chips de proteínas ofrecen un poderoso método para escudriñar la función de las mismas

Utilizando portaobjetos de microscopios, robots de precisión y otros equipos disponibles, unos investigadores han creado microarreglos de proteínas que pueden evaluar, simultáneamente, la función de miles de proteínas. Estos "chips de proteínas"-que son la contraparte de los mucho muy publicitados "chips de genes", que revelan la actividad de miles de genes-impulsarán la nueva ola de investigación proteómica.

Según los investigadores, la técnica permitirá el rápido examen genético de miles de pequeñas moléculas que serían posibles drogas, con el fin de determinar su potencial para afectar a proteínas específicas. Y en última instancia, la técnica permitirá que los científicos creen "instantáneas" proteicas de células-estudio masivo del perfil de enzimas y de otras proteínas en sus estados diferentes.

"El estudio del perfil de las proteínas será invaluable, por ejemplo, para distinguir entre las proteínas de las células normales, de las células cancerígenas en estadios tempranos y de las células cancerígenas malignas y metastáticas, que son los verdaderos asesinos."

— **Stuart L. Schreiber**

En un artículo publicado en el número del 8 septiembre de 2000, de la revista *Science*, el investigador del Instituto Médico Howard Hughes, Stuart L. Schreiber y Gavin MacBeath, ambos en la Universidad de Harvard, informaron que habían desarrollado y evaluado exitosamente microarreglos de proteínas. Cada microarreglo contenía más de 10.000 puntos de proteína que fueron depositados, por un robot, en la superficie de un portaobjeto común de microscopio. La técnica preservó la función de las delicadas proteínas, hecho que los investigadores demostraron al mostrar que las proteínas depositadas reaccionaron con otras proteínas y moléculas pequeñas.

"Tomamos la iniciativa a partir de los microarreglos de ADN que se están utilizando con tanto éxito para medir la actividad de los genes, basándose en la amplia técnica de medición de los niveles de ARN", dijo Schreiber. "Pero, entonces, surge la pregunta de lo que nos estamos perdiendo por sólo mirar los niveles de ARN. Y, claramente, la respuesta es que en las células suceden muchas cosas en materia de proteínas".

Para desarrollar un método de microarreglo para medir proteínas, que se pueda utilizar fácilmente en otros laboratorios, MacBeath y Schreiber emplearon equipo y materiales que pueden ser adquiridos fácilmente por laboratorios académicos. "Estamos particularmente orgullosos de haber podido desarrollar una técnica que se puede realizar en un ambiente universitario típico, y bajo condiciones compatibles con un presupuesto típico de investigación universitaria", dijo Schreiber.

Durante la creación de los chips de proteínas, los científicos utilizaron un robot de impresión por contacto, que había sido desarrollado anteriormente por el investigador del HHMI en la Universidad de Stanford, Patrick O. Brown. El robot libera, con gran precisión, minúsculas gotitas de proteína -cada una tiene el espesor de un cabello humano- en un portaobjeto de microscopio. El robot colocó muestras líquidas de la proteína en los portaobjetos de microscopio con una densidad de 1.600 puntos por centímetro cuadrado. Las muestras de proteínas se realizaron de forma que se adhieran a los portaobjetos que están cubiertos con un reactivo de naturaleza aldehídica, que une a las aminas primarias que son productos químicos que se encuentran comúnmente en las proteínas. Los científicos también tomaron medidas para prevenir la evaporación y la desnaturalización de las proteínas, asegurándose, de tal modo, que las proteínas conserven su forma y actividad natural en el portaobjeto.

Los científicos realizaron tres clases de experimentos para demostrar que sus microarreglos de proteínas se podrían utilizar para determinar la funcionalidad de las proteínas. En un conjunto de experimentos, los investigadores demostraron que los arreglos podían detectar interacciones entre proteínas. Crearon microarreglos de proteínas y trataron esos microarreglos con proteínas marcadas fluorescentemente, que se sabía que interaccionaban con las proteínas del portaobjeto. Los puntos fluorescentes que eran claramente visibles en los portaobjetos indicaron que las proteínas se habían unido unas con otras.

En otro grupo de experimentos, los científicos demostraron que los microarreglos podrían revelar interacciones entre las enzimas y sus substratos, moléculas sobre las cuales actúan las enzimas. Los investigadores trataron un arreglo de quinasas con substratos radiactivos de las mismas. Cuando los microarreglos tratados fueron "revelados" utilizando una emulsión fotográfica, las marcas radioactivas se hicieron perceptibles como puntos en los microarreglos.

En un tercer tipo de experimentos, al incubar los microarreglos de proteínas con moléculas pequeñas en solución, los científicos demostraron que los

microarreglos de proteínas se podían utilizar para detectar interacciones entre pequeñas moléculas y proteínas. Anteriormente, los científicos habían creado arreglos de moléculas pequeñas (microarreglos de pequeñas moléculas), usando una técnica llamada síntesis orgánica de diversidad orientada. Cuando los arreglos fueron tratados con proteínas marcadas fluorescentemente, que contenían los receptores dianas que interactuaban con las moléculas, los puntos del microarreglo revelaron que la unión había sido normal.

"Creemos que los microarreglos de proteínas y de moléculas pequeñas se pueden utilizar para dos propósitos esencialmente distintos", dijo Schreiber. "Y estos experimentos iniciales demuestran el más simple-el análisis de funciones proteicas tales como la unión".

"Este es solamente el punto de partida", enfatizó. "La aplicación futura más importante de esta técnica consistirá en realizar estudios del perfil de proteínas que existe en las células que están bajo condiciones diferentes, así como el estudio del perfil del ARN revela los niveles relativos del ARN presente en una célula".

"El estudio del perfil de las proteínas será invaluable, por ejemplo, para distinguir entre las proteínas de las células normales, de las células cancerígenas en estadios tempranos y de las células cancerígenas malignas y metastáticas, que son los verdaderos asesinos". Sin embargo, resaltó Schreiber, será mucho más difícil realizar el perfil proteico que el perfil del ARN.

"El proteoma-es decir, el arreglo de las proteínas de la célula-es más complejo que el genoma", dijo. "Aunque un gen puede codificar una proteína, las proteínas se modifican de muchas formas después que son construidas. De esta manera, cada producto del gen puede dar lugar a docenas de proteínas que han sido reorganizadas, fragmentadas o que se han modificado químicamente para producir una actividad apenas diferente. Y se podría pensar que estas proteínas modificadas van a ser elementos claves para entender su función y, eventualmente, su fisiología".

"Pensamos que en poco tiempo resolveremos los desafíos técnicos que permitirán el estudio del perfil de proteínas con esta técnica", dijo Schreiber.