

13 DE AGOSTO DE 2000

Una imagen de alta resolución esclarece el motor catalítico del ribosoma

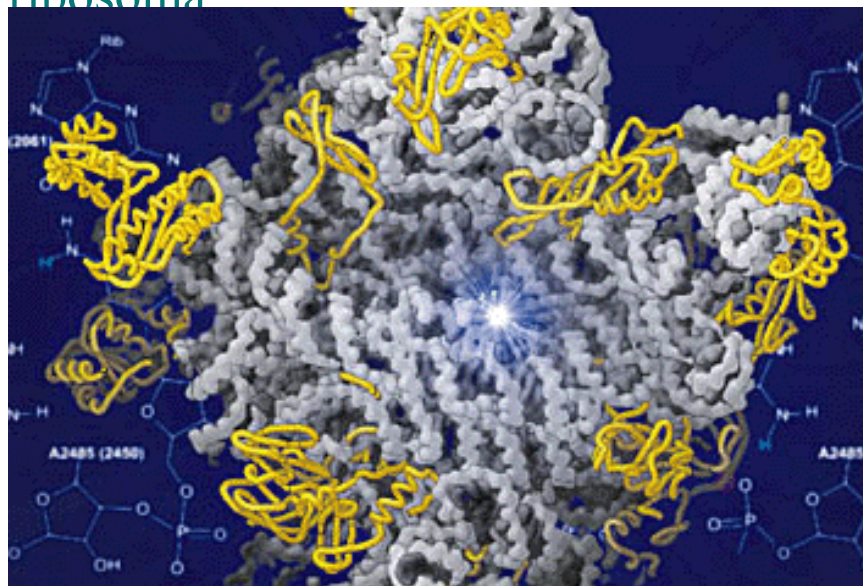


Image Title: La imagen en primer plano muestra la arquitectura del complejo entre ARN y proteína de la subunidad ribosomal grande, con el sitio activo resaltado. El fondo muestra un diagrama esquemático del sitio activo de la peptidil transferasa del ribosoma. - Nenad Ban, Poul Nissen, Jeffrey Hansen, Peter B. Moore, Thomas A. Steitz

Utilizando un haz de rayos X de alta energía para explorar frágiles cristales de ARN y proteína, unos investigadores han obtenido las imágenes más detalladas que se han producido de la fábrica celular en la cual los aminoácidos son ligados como los eslabones de una cadena para formar las proteínas.

Los estudios esclarecen la estructura básica del ribosoma, una máquina productora de proteínas que se encuentra en todas las células. Estos descubrimientos proveen la primera prueba inequívoca de que el ribosoma es una ribozima, una enzima de ARN.

En dos artículos publicados el 11 de agosto de 2000, en *Science*, los investigadores conducidos por Thomas A. Steitz, investigador del Instituto Médico Howard Hughes, en la Universidad de Yale, informan que han obtenido la estructura atómica de la subunidad 50S del ribosoma, en una resolución de 2,4 angstroms. Un angstrom es la diezmilmillonésima parte (10^{-10}) de un metro.

El ribosoma es un gran complejo molecular de ARN y proteína. Cuando los ribosomas se aíslan de los extractos celulares, se obtienen dos fracciones distintas que representan dos subunidades. La subunidad más pequeña 30S une tanto al ARN mensajero, que constituye el programa genético de la proteína, como al ARN de transferencia que transporta cada aminoácido específico que se agregará como un nuevo eslabón, a la cadena de la molécula creciente de proteína. La subunidad más grande 50S cataliza la formación del enlace entre cada aminoácido y la cadena creciente de proteína.

Steitz y sus colegas en la Universidad de Yale utilizaron el haz de 2,5 mil millones de electrovoltios, de la Fuente Nacional de Luz Sincrotrón del Laboratorio Nacional de Brookhaven para realizar la cristalografía de rayos X de las subunidades 50S, que fueron producidas con átomos de osmio e iridio unidos para que actúen como indicadores. Los datos adicionales fueron recopilados utilizando la Fuente Avanzada de Fotones en el Laboratorio Nacional de Argonne.

Para realizar la cristalografía de rayos X, los cristales de la proteína se bombardean con haces intensos de rayos X. A medida que los rayos X pasan a través del cristal o rebotan con los átomos del mismo, emiten un patrón de difracción que, entonces, se puede analizar para determinar la forma tridimensional de la proteína.

"Nuestros mapas anteriores de la subunidad 50S, con una resolución de nueve y cinco angstroms, nos proveyeron de algunas pistas sobre la estructura, pero sólo pudimos resolver la estructura atómica de todos los 100.000 átomos, que se encuentran ordenados en el cristal, cuando alcanzamos una resolución de 2,5 angstroms", dijo Steitz. "Esta estructura es alrededor de cuatro veces más grande que cualquier otra estructura semejante que jamás haya sido determinada, y los 3.000 nucleótidos de ARN aumentaron la cantidad de estructura conocida de ARN en alrededor de 4 a 5 veces".

Según Steitz, el proceso para alcanzar tal alta resolución requirió mejorar cuidadosamente el procedimiento para crecer cristales más grandes y más completos del ribosoma, y resolver las estructuras de esos cristales con una resolución progresivamente más alta. Cada mapa de baja resolución proporcionó información que pudo ayudar a los científicos a entender el mapa de alta resolución final, dijo.

"Pienso que lo que nos sorprendió en cada etapa era la complejidad abrumadora del plegamiento del ARN en el ribosoma", dijo Steitz. "No obstante, pienso que la observación más sorprendente fue que las proteínas estaban encajadas en las hélices de ARN, penetrando hacia el interior del ribosoma como tentáculos".

"Tal penetración de proteínas explica por qué los investigadores anteriores no habían podido demostrar que el ribosoma dependía sólo del ARN como su molécula catalítica", dijo Steitz.

"Desde que Thomas Cech (presidente del HHMI) demostró que el ARN podría tener actividad catalítica, habíamos sospechado que la subunidad 50S era básicamente una ribozima", dijo Steitz. "Sin embargo, no existían pruebas. Nadie había podido demostrar que el ARN por sí mismo mostraba características catalíticas, en ausencia de la proteína. Ahora podemos ver que, posiblemente, parte del problema era la naturaleza de las proteínas que mantienen unido al ribosoma".

"Nuestra estructura muestra que estas proteínas están encajadas profundamente en el ARN y que son esenciales para su plegamiento. Y demuestra claramente que el ribosoma es una ribozima porque podemos ver dónde se une el sustrato y también vemos que no hay ningún átomo proteico lo suficientemente cerca de ese sitio, para producir alguna actividad catalítica".

La estructura también proporciona intrigantes revelaciones sobre cómo el ribosoma pudo haberse desarrollado originalmente, quizás como máquina para hacer proteínas cortas o péptidos, dijo Steitz.

"Experimentos anteriores realizados por Cech y otros investigadores habían demostrado que era posible crear moléculas de ARN que tuvieran algunas de las características catalíticas del ribosoma, en la síntesis de péptidos", dijo. "Ahora podemos ver en esta estructura que algunos aspectos del ribosoma natural reflejan algunas características de esas moléculas de ARN, producidas a través de evolución *in vitro*. De esta manera, no es descabellado pensar que una molécula pequeña de ARN halla podido desarrollarse para catalizar la síntesis de enlaces peptídicos".

"Sin embargo, esa molécula de ARN productora de péptidos no habría sido dirigida por mensajeros de algún genoma primitivo", agregó. "No tenemos idea cómo la evolución logró avanzar desde la producción azarosa de un péptido hasta la síntesis dirigida por el mensajero".

Según Steitz, la última estructura de alta resolución ofrece una vía hacia una comprensión mucho más profunda de la maquinaria de ensamble de proteínas. Los investigadores están planeando otros estudios para entender cómo el ARN mensajero y los componentes de la proteína en crecimiento se orientan en el sitio activo, o catalítico, del ribosoma. También explorarán cómo la estructura del ribosoma influencia las características químicas de los grupos moleculares en el sitio activo. Además, los científicos intentarán entender cómo la multiplicidad de moléculas de agua y de iones magnesio y potasio se integran en el ribosoma y lo estabilizan.

"Ciertamente no hemos terminado con los desafíos científicos presentados por el ribosoma", dijo Steitz. "Aunque debo decir que me siento como si, en este momento, estuviéramos parados en el monte Everest y ahora estuviera

tratando de encontrar el K_2 ".