

05 DE ABRIL DE 01

## Investigadores desarrollan nuevas proteínas en un tubo de ensayo

Para estudiar cómo evolucionaron las proteínas funcionales, unos investigadores someten a un tipo de selección natural en tubo de ensayo a proteínas obtenidas a partir de una enorme biblioteca de 400 billones de secuencias aleatorias de ADN. Su técnica de selección hizo que evolucionen proteínas diferentes a cualquier otro tipo de proteínas encontradas en la naturaleza. No obstante, las proteínas poseen una característica clave de muchas enzimas-la habilidad de reconocer y unir específicamente pequeñas moléculas, tales como el común substrato biológico ATP-.

Según los investigadores, el experimento ayuda a clarificar cómo la evolución pudo haber seleccionado originalmente a las proteínas que funcionan como enzimas y que realizan tareas críticas en la célula.

En un artículo publicado en el número del 5 de abril de 2001, de la revista *Nature*, el investigador del Instituto Médico Howard Hughes, [Jack W. Szostak](#) y su colega Anthony Keefe, ambos en el Hospital General de Massachusetts, publicaron la creación una biblioteca aleatoria de ADN, a partir de la cual obtuvieron seis billones de proteínas. Cada una de las proteínas obtenidas de dicha biblioteca de ADN, fue sometida a selección *in vitro* y se evaluó su capacidad para unirse al ATP. El propósito del experimento, dijo Szostak, era entender con qué frecuencia la selección natural produciría proteínas que pudieran plegarse para tomar una forma que les permitiera ser funcionales.

---

"Asumimos que las primeras proteínas deberían provenir de secuencias aleatorias. Pero en realidad, no se sabe cuántas secuencias aleatorias pueden ser funcionales, así que no se sabe cuán fácil o cuán difícil es que surjan nuevas proteínas. Con este experimento, queríamos intentar darle un número aproximado al proceso-para ver si la evolución de nuevas proteínas era algo que podía suceder fácilmente y con frecuencia, o si era un acontecimiento increíblemente raro."

- Jack W. Szostak

---

"Asumimos que las primeras proteínas deberían provenir de secuencias aleatorias", dijo Szostak. "Pero en realidad, no se sabe cuántas secuencias aleatorias pueden ser funcionales, así que no se sabe cuán fácil o cuán difícil es que surjan nuevas proteínas. Con este experimento, queríamos intentar darle un número aproximado al proceso-para ver si la evolución de nuevas proteínas era algo que podía suceder fácilmente y con frecuencia, o si era un acontecimiento increíblemente raro-".

Keefe y Szostak eligieron la unión al ATP como criterio de selección por dos motivos: porque es una actividad que se mide fácilmente y porque antes habían realizado experimentos similares con bibliotecas de ARN y querían poder comparar los resultados.

Los investigadores comenzaron con un grupo de 400 billones de secuencias aleatorias de ADN; primero quitaron aquellas secuencias de ADN que contenían codones de terminación, que de otra forma detendrían la síntesis proteica. Luego, manipularon la biblioteca para producir secuencias de ADN que produjeran proteínas que tendrían una longitud de 80 aminoácidos-longitud suficiente para producir una proteína que pueda plegarse tomando una forma tridimensional estable-.

Entonces, partiendo de las secuencias de ADN, Keefe y Szostak produjeron los correspondientes ARN mensajeros (ARNm)-moléculas que llevan la información genética del ADN a la maquinaria productora de proteínas-. Diseñaron a estos segmentos de ARNm para asegurarse que las proteínas producidas siguieran unidas a sus ARNm. Esta unión permitió que los científicos utilizaran métodos genéticos para amplificar la información genética para las proteínas raras que surgieron durante el proceso de

selección *in vitro*.

Durante el proceso de selección *in vitro*, los investigadores lavaron las bibliotecas de proteínas con ARNm fusionados a través de columnas que contenían ATP unido a bolitas de plástico. Luego, los científicos recogieron aquellas proteínas que unen ATP y convirtieron al ARNm unido en ADN. Entonces, el ADN fue amplificado para producir más ARNm, de modo que los procesos de síntesis y de selección de proteínas pudieran ser repetidos. A través de sucesivas rondas de selección *in vitro*, que también incluyeron mutación de proteínas para alterarlas levemente, los científicos desarrollaron artificialmente nuevas proteínas que podían unirse firmemente al ATP.

"Con nueve rondas iniciales de selección, supimos que teníamos proteínas que se estaban uniendo al ATP y que descendían de cuatro moléculas originales", dijo Szostak. "Pero no se unían al ATP eficientemente, así que comenzamos a introducir mutaciones. Después de otras nueve rondas de selección, todo lo que quedó había descendido de una de las primeras moléculas".

"Y cuando observamos las cuatro secuencias originales, y más atentamente a la secuencia optimizada superviviente, no vimos nada que se asemeje a lo visto en la naturaleza, hasta dónde sabemos". Szostak advirtió que cuando él y sus colegas determinen las estructuras tridimensionales de las proteínas desarrolladas artificialmente, probablemente vean, algunas estructuras que nos recuerden a las enzimas naturales.

"Hicimos este experimento para ver si nos encontrábamos con estructuras que se encontraran en la naturaleza o que fueran totalmente diferentes, porque en realidad no conocemos *a priori* si la naturaleza utiliza todas las estructuras posibles que podría formar, o sólo un pequeño subconjunto de ellas", dijo Szostak. "La metodología que utilizamos era la única forma de conseguir una visión imparcial de lo que las proteínas pueden hacer realmente". Al menos en este estadio inicial de los estudios, dijo Szostak, pareciera que la naturaleza pudiera optar por distintas estructuras proteicas de unión al ATP.

"Lo sorprendente será si, a medida que hacemos más experimentos, resulta haber muchas soluciones posibles para tal problema bioquímico", dijo. "Sugeriría que la naturaleza sólo utiliza un subconjunto pequeño de esas posibilidades, quizás las primeras que evolucionaron por casualidad".

"O, alternativamente, puede haber muchas opciones y las que sobreviven quizás lo logren porque pueden ser optimizadas para otras funciones, además de simplemente unirse al ATP". Por ejemplo, dijo Szostak, la célula viva podría seleccionar estructuras proteicas con ciertas cualidades de estabilidad o de capacidad para interactuar con otras proteínas.

La investigación fue realizada gracias a subsidios de los Institutos Nacionales de la Salud y del Instituto de Astrobiología de la NASA.