

04 DE FEBRERO DE 05

Estudios estructurales mejoran la comprensión de blancos de drogas claves

Unos investigadores han entendido desde el punto de vista estructural la forma en la que funcionan las dos subunidades claves de una de las enzimas más importantes de la célula -la proteína quinasa A-. La proteína quinasa A y aproximadamente unas 600 quinasas "primas" se encuentran entre los componentes de activación más importantes de la célula porque controlan la actividad de otras proteínas al unir a ellas grupos fosfatos.

Dado que son moléculas de control celular centrales, las quinasas son blancos de ataque ideales para tratar una serie de enfermedades. La proteína quinasa A (PKA, por sus siglas en inglés) regula una variedad de procesos, entre los que se cuentan el crecimiento, el desarrollo, la memoria, el metabolismo, la activación génica y la degradación de lípidos.

Los investigadores creen que sus resultados más recientes ofrecen pistas que llegarán más allá del funcionamiento de PKA, y servirán como modelo general para la comprensión de la forma en la que funcionan las quinasas. Dijeron que tales pistas funcionales podrían ofrecer ideas nuevas que sirvan para el desarrollo de drogas para tratar enfermedades.

"Ahora que tenemos estos tipos de estructuras detalladas, podemos comenzar a disecar computacionalmente a estas moléculas y comprender la forma en la que funcionan."

- Susan S. Taylor

Los investigadores, conducidos por Susan S. Taylor, investigadora del Instituto Médico Howard Hughes en la Universidad de California en San Diego, publicaron sus resultados en el número del 4 de febrero de 2005, de la revista *Science*.

“La fosforilación de proteínas es probablemente el mecanismo más importante de regulación en células eucarióticas”, dijo Taylor. “Las quinasas son definitivamente una de las familias más importantes que sirven como interruptores para activar y desactivar vías. Los genes que codifican para quinasas constituyen una de las familias de genes más grandes, que corresponde a cerca del dos por ciento de los genes de mamíferos”, dijo.

Según Taylor, quien con sus colegas fueron los primeros en deducir la estructura de PKA en 1991, la enzima es un ejemplar particularmente bueno para estudiar quinasas porque la proteína se purifica y se manipula fácilmente. “Desde entonces, la PKA ha servido de modelo para el campo entero de estudios de quinasas”, dijo Taylor.

Al igual que otras quinasas, el diseño elegante y la función precisa de PKA ha llevado a algunos a compararla al equivalente molecular de un excelente reloj suizo. La enzima consiste en una subunidad catalítica formada por dos lóbulos que realizan dos funciones centrales: El lóbulo pequeño acepta la fuente de fosfato molecular -molécula adenosina trifosfato rica en energía-. Y el lóbulo más grande se acopla con la proteína diana que será fosforilada. La fosforilación ocurre en una región clave de la enzima, llamada sitio activo, en una apertura que se abre durante la activación.

La PKA también tiene una subunidad reguladora con dominios que se unen a la molécula mensajera química AMP cíclico (AMPC), que hace que PKA entre en acción. Esa subunidad reguladora contiene una extensión flexible que inhibe la subunidad catalítica al acoplarse con el sitio activo -manteniendo a PKA en un estado latente hasta que es activada por el AMPC-.

El AMP cíclico es un mensajero ancestral -conservado evolutivamente desde bacterias hasta seres humanos- que funciona como molécula de señalización universal. Su responsabilidad primaria es detectar cambios en el ambiente fuera de la célula y comunicar esos cambios a las estructuras del interior de la célula para activar una respuesta.

Además de las dos subunidades, PKA tiene características moleculares en la superficie que le permiten integrarse con la maquinaria de señalización de la célula. Básicamente, el AMPC activa a la PKA al conectarse a la subunidad reguladora, haciéndola liberar la subunidad catalítica. La subunidad catalítica expone el sitio activo, que procede a fosforilar la proteína diana. Las subunidades reguladoras también se unen a las proteínas de andamiaje de modo tal que crean unidades de señalización cerca de los substratos.

A pesar de que se comprendía la función de muchos de estos componentes a partir de otros estudios bioquímicos y estructurales, existía una laguna importante en la comprensión de PKA, dijo Taylor. Por ejemplo, los científicos todavía no habían podido ver la estructura detallada de la interfaz crítica entre las subunidades catalíticas y reguladoras.

En el artículo de *Science*, los investigadores publican información nueva sobre esta interfaz que mejora la comprensión estructural de la forma en la que las subunidades catalíticas y reguladoras interactúan a nivel molecular. Al principio de los estudios, los investigadores construyeron una versión especial de las dos subunidades unidas que era lo suficiente estable como para ser cristalizada y sujeta al análisis estructural utilizando cristalografía de rayos X. En esta técnica ampliamente utilizada, se dirigen los rayos X a través de cristales de la proteína o del complejo proteico que está siendo estudiado. Entonces, la estructura de la proteína es deducida por los investigadores que utilizan computadoras para analizar los patrones de rayos X que son difractados por los átomos de la proteína.

La estructura resultante de las subunidades de PKA, dijeron los científicos, revela más precisamente la forma en la que la secuencia inhibidora de la subunidad reguladora se acopla al sitio activo, y la forma en la que la unión del AMPc produce la activación. La estructura también revela que el lóbulo grande de la subunidad catalítica actúa como un andamiaje estable para funciones tales como la unión de la subunidad reguladora. En cambio, la nueva estructura revela que la subunidad reguladora experimenta cambios conformacionales importantes durante la unión y activación del AMPc.

Las pistas de la nueva estructura también revelan qué unidades individuales de aminoácidos, o residuos, en este lóbulo son comunes entre las quinasas y cuáles podrían contribuir a la diversidad que permite que las quinasas formen parte de la amplia variedad de mecanismos de señalización de la célula.

“Lo que es inusual sobre las proteínas quinasas es que son una familia de enzimas muy sofisticada”, dijo Taylor. “No sólo realizan catálisis, sino que se unen a muchas otras proteínas, y lo hacen de una forma muy dinámica. Utilizan su superficie para reconocer otras proteínas -en cierto sentido utilizando distintos conjuntos de superficies como ‘lenguaje’ molecular complejo-”. Cuando están en un estado inhibido, interactúan con un conjunto de superficies (moléculas); y cuando están activas, interactúan con un conjunto de moléculas totalmente diferente. Pueden relacionar todo un conjunto de proteínas de señalización al agregar fosfatos e interactuar con otras proteínas.

“Por lo tanto, las reglas que estamos descubriendo para la forma en la que la subunidad reguladora se une a la subunidad catalítica de PKA nos están permitiendo preguntarnos cuáles son algunas de las reglas generales para las quinasas”, dijo.

Tales estudios podrían llevar a una clase nueva de drogas para inhibir quinasas específicas para tratar enfermedades, dijo Taylor. “La mayoría de los inhibidores altamente específicos, tales como Gleevec, interfieren con el sitio de unión de ATP de la quinasa”, dijo. “Pero este tipo de comprensión de PKA presenta una oportunidad real de identificar otros tipos de moléculas que podrían atacar específicamente otros sitios en estas enzimas”.

“Las quinasas son una familia de enzimas realmente interesante para la biología porque su función en la regulación es muy importante”, dijo Taylor. “Y ahora que tenemos estos tipos de estructuras detalladas, podemos comenzar a diseccionar computacionalmente a estas moléculas y comprender la forma en la que funcionan. Y a partir de ahí, podemos extender nuestra comprensión a la forma en la que construyen redes de señalización con otras proteínas; así como la forma en la que funcionan internamente -por ejemplo, cómo puede un extremo de la proteína detectar la unión de una molécula en el otro extremo-”.