

22 DE DICIEMBRE DE 2004

Las células se visten con colores festivos

Los regalos más recientes de estas fiestas que unos científicos del laboratorio del investigador del Instituto Médico Howard Hughes, Roger Y. Tsien, le han ofrecido a la comunidad científica vienen en una variedad deslumbrante de tonos -cereza, fresa, mandarina, tomate, naranja, banana y melón-. El espectro de colores enorgullecería a Pantone.

No, el grupo de Tsien no está regalando canastas de frutas; los nombres describen las nuevas y vibrantes variedades de proteínas fluorescentes que los investigadores han creado para marcar células y observar una variedad de procesos celulares.

"Una de las razones por las que llamamos a las proteínas como las frutas es para recordarle a las personas que no hay una fruta mejor que otra en el mercado."

— Roger Y. Tsien

Al unir los genes para proteínas fluorescentes con genes celulares específicos, los investigadores pueden detectar cuando esos genes se activan para producir proteínas. Entonces, pueden utilizar los colores fluorescentes indicadores para separar a las células visualmente. La disponibilidad de los nuevos colores permitirá que los científicos rastreen los efectos de alteraciones genéticas múltiples en una única célula.

Tsien y sus colegas de la Universidad de California, en San Diego, describen las nuevas proteínas fluorescentes en un artículo de investigación que publicaron en el número de diciembre de 2004 de la revista *Nature Biotechnology*. El autor principal del artículo fue Nathan C. Shaner, estudiante predoctoral del HHMI en el laboratorio de Tsien. En estudios separados, el equipo de Tsien "pidió prestada" la maquinaria del sistema inmune para generar una variedad de anticuerpos y la utilizó para desarrollar una nueva proteína fluorescente roja. (Para leer sobre esos estudios, consulte por favor <http://www.hhmi.org/news/tsien.html>).

Además de ofrecer proteínas fluorescentes en una gama de colores distintivos, el grupo de Tsien ha mejorado su diseño, creando proteínas "monoméricas" que están formadas por unidades proteicas únicas. Las proteínas fluorescentes encontradas en la naturaleza con colores que van desde el amarillo hasta el rojo están formadas invariablemente por aglomeraciones de cuatro unidades que a menudo son tóxicas o destructivas cuando están fusionadas a proteínas que los científicos esperan poder rastrear.

"Sería análogo a si hubiera un detective que se supone está siguiendo a sospechosos y ese detective tiene que dar vueltas en grupos de cuatro y seguir a cuatro sospechosos al mismo tiempo, los sospechosos probablemente sepan que está pasando algo", dijo Tsien.

La colección más reciente de proteínas fluorescentes se basa en el éxito anterior de los investigadores al diseñar nuevamente una proteína fluorescente de cuatro unidades aislada de una criatura de tipo coral de la especie *Discosoma*. A partir de esa proteína multimérica, los investigadores diseñaron una proteína monomérica, llamada mRFP1, que conservó propiedades fluorescentes. Sin embargo, algunas de estas propiedades no eran aún óptimas para un marcador fluorescente.

Shaner, Tsien y sus colegas se propusieron mejorar las propiedades fluorescentes de mRFP1 – haciendo mutaciones estratégicas en el gen para la proteína– para hacerla más útil como marcador biológico. "Básicamente, intentábamos adivinar a partir de la estructura del cristal de la proteína o del conocimiento anterior sobre las mutaciones, donde podríamos hacer mutaciones útiles", dijo Tsien. "En el proceso de intentar arreglar estas características, también descubrimos más colores", dijo. Otros ajustes en los genes hicieron que la fluorescencia de algunas de las proteínas tuvieran longitudes de onda más largas, completando los espacios del espectro de colores, dijo Tsien.

En el artículo de *Nature Biotechnology*, los investigadores también publicaron una demostración de la funcionalidad mejorada de las proteínas nuevas. Fusionaron la proteína mCherry (la "m" corresponde a monomérica) a las proteínas que eran parte del sistema de transporte de microtúbulos de la célula, y del citoesqueleto estructural de la célula. En ambos casos, mCherry marcó exitosamente las estructuras celulares. Sin embargo, en el caso de la proteína del microtúbulo, mRFP1 no la marcó correctamente.

Los investigadores también crearon una proteína roja "tdTomato" en la cual dos subunidades aún se pegan entre sí, pero se han unido permanentemente cabeza con cola. La unidad monolítica resultante no tiene ninguna tendencia a agregarse más, sin embargo fluoresce más brillantemente y resiste la decoloración mejor que los monómeros verdaderos. Pero en algunas aplicaciones celulares su mayor peso molecular podría interferir con los procesos celulares, dijo Tsien. Y el equipo de Tsien ha diseñado otras proteínas fluorescentes que podrían ser más o menos sensibles a los cambios en la acidez.

Tsien dijo que tal variedad de proteínas fluorescentes permitirá que los científicos tengan muchas posibilidades que balancear, "y una de las razones por las que llamamos a las proteínas como las frutas es para recordarle a las personas que no hay una "fruta mejor que otra" en el mercado, dijo.

Según Tsien, el nuevo surtido de proteínas fluorescentes les dará a los investigadores una forma más fácil de rastrear los efectos de las alteraciones genéticas múltiples en las mismas células. "Pueden aplicarse a células individuales, donde se desea rastrear distintas proteínas, a diferentes organelas hasta llegar a animales enteros", dijo.

Los futuros trabajos no sólo tendrán el objetivo de desarrollar proteínas monoméricas con nuevos colores, dijo Tsien, sino también el de trabajar en las que tengan propiedades más complicadas, tales como la capacidad de cambiar de color bajo condiciones diferentes. Dijo que su meta principal es ampliar la gama de herramientas que los biólogos tienen a su disposición para rastrear proteínas y células alteradas genéticamente.