

21 DE NOVIEMBRE DE 04

Visualización del extremo del genoma humano

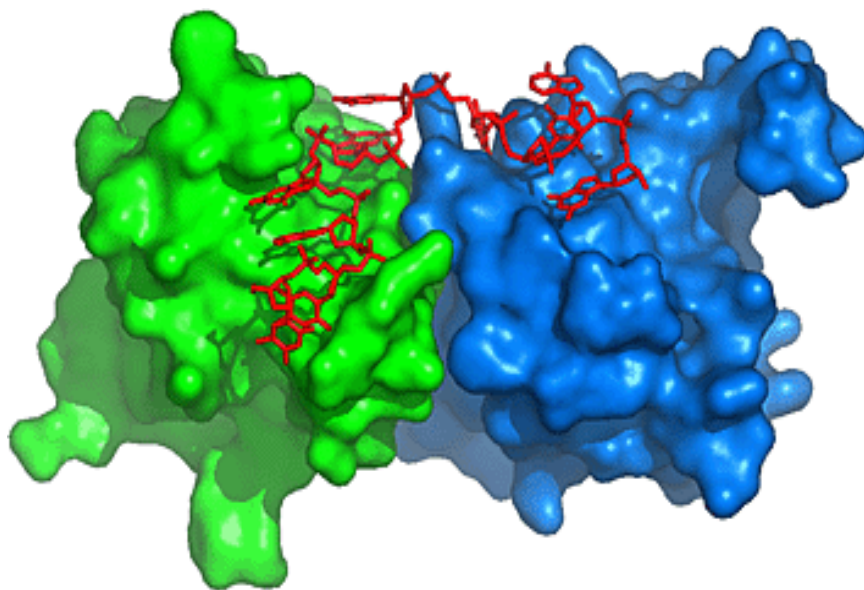


Image Title: La proteína POT1 se une al extremo de un cromosoma humano por medio de dos pliegues de unión de oligonucleótido/oligosacárido, que se muestran aquí en verde y azul. El ADN telomérico de una sola cadena está representado en rojo. - Thomas R. Cech

Científicos vislumbran la estructura tridimensional de una proteína que protege los extremos de los cromosomas humanos, función que es esencial para la división normal y supervivencia de las células. Al visualizar la proteína a medida que rodea el extremo de un cromosoma, los científicos han aprendido la forma en la que la proteína se dirige hacia una secuencia de ADN específica y actúa como una tapa protectora para prevenir la erosión de los extremos cromosómicos.

Los investigadores, conducidos por el Presidente del Instituto Médico Howard Hughes, Thomas R. Cech, cuyo laboratorio se encuentra en la Universidad de Colorado en Boulder, publicaron sus resultados en una publicación adelantada en Internet de *Nature Structural and Molecular Biology* el 21 de noviembre de 2004. Ming Lei y Elaine R. Podell del

laboratorio de Cech fueron coautores. Según Cech, los resultados plantean nuevos interrogantes sobre las funciones celulares esenciales que ocurren en el extremo del cromosoma.

"También podrían haber otros estados teloméricos, pero pensamos que ahí es donde está la acción."

- Thomas R. Cech

Durante la replicación normal del ADN, las partes finales de los extremos de una molécula de ADN se pierden. Para prevenir la erosión, los cromosomas se cubren con una región especializada de ADN conocida como telómero -secuencia corta y repetitiva de ADN que no codifica para ninguna proteína-. En seres humanos, un telómero completo tiene una longitud de miles de pares de bases y se compone de una secuencia repetitiva de seis nucleótidos. Los 100 a 300 nucleótidos finales del extremo se extienden más allá de la hélice doble como una "cola" de ADN de una sola cadena. Los telómeros de las células normales se vuelven, gradualmente, más y más cortos después de cada división celular, signo característico del envejecimiento celular.

Pero las células también poseen una enzima única conocida como telomerasa que puede alargar a los telómeros al agregar ADN a los extremos del cromosoma utilizando su propio molde de ARN. En la mayoría de las células, la actividad de la telomerasa es muy baja después del desarrollo embrionario, y la regulación de la telomerasa es crítica, porque demasiada actividad telomérica puede promover el desarrollo tumoral.

En 2001, el Dr. Peter Baumann del laboratorio de Cech descubrió a POT1 (por sus siglas en inglés que significan "protección de telómeros"), la única proteína que se sabe une las colas teloméricas de ADN humano. POT1 cumple una función importante al cubrir los extremos de los cromosomas y al regular la longitud de los telómeros. "Antes de ese descubrimiento", dijo, "las personas no se ponían de acuerdo sobre si había una proteína en el final de los extremos de los cromosomas humanos". Al mismo tiempo, el equipo de Cech encontró una versión de la proteína POT1 en la levadura de fisión. Otras versiones de POT1 se han encontrado desde entonces en plantas y ratones -cada una reconoce una secuencia telomérica que sólo existe en el organismo correspondiente-.

POT1 es crítica para la división normal y supervivencia de la célula; experimentos en la levadura de fisión han demostrado que sin ella, la mayoría de las células mueren inmediatamente. Las células que logran sobrevivir pierden rápidamente sus telómeros, lo que interfiere con la división celular normal y lleva eventualmente a errores masivos en el ADN y a cromosomas

anormales y circulares. En las células humanas crecidas en el laboratorio, demasiada POT1 puede ser perjudicial, lo que causa alargamiento o acortamiento anormales en los telómeros.

Antes de que se determinara la estructura de la POT1 humana, los investigadores predecían su forma basándose en la comprensión que tenían de la versión de la proteína en levadura. En levadura, POT1 envuelve el extremo de un cromosoma mediante una región conocida como pliegue de unión de oligonucleótido/oligosacárido (pliegue-UO) -forma que se encuentra en muchas proteínas que reconocen y se unen al ADN o al ARN-. La unión telomérica de seis nucleótidos repetitivos encaja justo dentro de este pliegue, con muchas moléculas POT1 que se unen a cada extremo del cromosoma.

Cech y sus colegas esperaban que la POT1 humana tuviera un diseño similar, pero los resultados de los análisis bioquímicos de la proteína no encajaban fácilmente con este modelo. Por ejemplo, cuando los científicos agregaron la proteína a pedazos cortos de ADN que contenían los seis nucleótidos que constituyen una repetición telomérica humana, la proteína humana POT1 se unió pobremente.

Para su sorpresa, encontraron que POT1 requería una porción de ADN telomérico que contuviera por lo menos diez nucleótidos para el reconocimiento y unión eficiente del ADN. “Estábamos confundidos con el hecho de que diez nucleótidos fueran un sitio de unión, porque diez no es múltiplo de seis”, dijo Cech. “Si se necesita cubrir algo que tiene un motivo de repetición de seis, se necesita unir un múltiplo de seis”.

Para comprender la forma en la que la POT1 humana reconocía y se unía al telómero, los investigadores cristalizaron una forma de POT1 unida al segmento crítico de diez nucleótidos de ADN. Entonces utilizaron difracción de rayos X para revelar la estructura del complejo. Inesperadamente, encontraron que a diferencia de la versión de la proteína en levadura, la POT1 humana contenía dos pliegues-UO distintos. Las ranuras de los dos pliegues se alinean entre sí, formando un canal continuo donde el ADN telomérico puede encajar.

También aprendieron que a pesar de que la proteína se unía a una secuencia de diez nucleótidos, la estructura también podía acomodar a doce nucleótidos. “Así que resultó que no une un grupo de seis, sino dos grupos de seis”, dijo Cech. En un único extremo cromosómico, dijo, podría haber entre ocho y veinticuatro moléculas POT1 cubriendo la cola de ADN.

La estructura del complejo sugiere que el extremo del cromosoma está muy protegido por POT1, y los investigadores pudieron verificarlo con experimentos bioquímicos adicionales. Cuando el complejo POT1-ADN fue tratado con una solución que modificaba normalmente al ADN en sitios específicos, ninguno de esos cambios ocurrieron -indicando que esos sitios estaban completamente encerrados por la proteína POT1-.

Según Cech, los resultados plantean interrogantes importantes sobre la regulación de la telomerasa. Cuando el ADN telomérico se entierra dentro de POT1, la telomerasa no puede tener acceso al ADN para alargar el telómero. “Esto es algo que podría evitar que la célula haga telómeros todo el tiempo”, dijo. “Pensamos que éste es un nivel en el cual se regula la telomerasa”. Dijo que, por lo tanto, un siguiente paso importante será determinar el mecanismo celular que hace que el telómero se active para que pueda ocurrir el alargamiento.

“Éste es el fin del genoma humano. Si se va hacia los extremos del cromosoma humano, ¿qué hay allí? Ahora sabemos lo que hay -al menos parte del tiempo-”, dijo Cech. “También podrían haber otros estados teloméricos, pero pensamos que ahí es donde está la acción”.