

20 DE JULIO DE 2000

Una técnica muestra el movimiento progresivo de los ribosomas

Utilizando una técnica llamada criomicroscopía electrónica tridimensional, investigadores han detectado una rotación progresiva en el interior de la pequeña "fábrica" celular que produce las proteínas, en un momento clave del proceso de construcción proteica.

El movimiento progresivo del ribosoma, una gran organela productora de proteínas, consiste en una rotación rápida de una de las subunidades ribosomales respecto de la otra, a medida que el ARN mensajero (ARNm) y las moléculas unidas de ARN de transferencia (ARNt) avanzan codón a codón. El investigador del Instituto Médico Howard Hughes, Joachim Frank y su colega Rajendra Kumar Agrawal, en Health Research Inc., en el Centro Wadsworth en Albany, Nueva York, informaron su descubrimiento en el número del 20 de julio de 2000, de la revista *Nature*.

El descubrimiento resalta la creciente capacidad de los investigadores para desmenuzar los detalles de la síntesis de proteínas, un proceso biológico clave que tiene lugar en toda célula viva.

"Esto es sólo el comienzo de lo que está por venir", dijo Frank sobre la labor de su laboratorio para entender las contorciones intrincadas del ribosoma. "También hemos visto otros movimientos que desempeñan una función clave en la función ribosomal y que continuaremos explorando".

El ribosoma es un gran complejo molecular de ARN y proteínas. Cuando los ribosomas se aíslan de los extractos celulares, se obtienen dos fracciones distintas. Una fracción consiste en una subunidad pequeña, llamada subunidad 30S, y la otra fracción consiste en una subunidad mayor, que se llama subunidad 50 S. La subunidad 30S une tanto al ARNm como al ARNt, que lleva cada aminoácido específico que será adicionado a la molécula de proteína en crecimiento, que tiene forma de cadena. De esta manera, mientras la unidad 30S ayuda a la "lectura" del ARNm, la subunidad más grande, 50S, cataliza la formación del enlace entre cada aminoácido y la proteína creciente.

Después de que se lleva a cabo cada enlace, una molécula llamada factor de elongación G, se une al ribosoma. Esta unión, junto con la reacción química de la molécula GTP, que contiene energía, activa la translocación, o movimiento, del ARNm y de los ARNt unidos a él por una unidad, o codón.

Una vez que se mueve, el ARNm puede ser leído para determinar el aminoácido siguiente que se agregará.

Un interrogante central, dijo Frank, era si las dos subunidades ribosomales experimentaban alguna forma de movimiento relativo una con respecto a la otra, para facilitar la translocación.

"Por años han existido hipótesis sobre el movimiento de la subunidad", dijo Frank. "Pero nunca ha habido una confirmación directa de esto. El problema era que toda la evidencia era indirecta. Estudios de dispersión de rayos X, por ejemplo, indicaban cambios en regiones específicas de las subunidades entre un estado y el otro, pero nunca fueron observados directamente. Y recién ahora, con la criomicroscopia electrónica, podemos visualizar el ribosoma con tal claridad".

La criomicroscopia electrónica (crio-ME) es una de las pocas técnicas capaces de visualizar moléculas grandes y dinámicas. En la preparación para crio-ME, los investigadores primero sumergen a los ribosomas en una solución acuosa y luego los congelan abruptamente en etano líquido, sumamente frío. El congelamiento rápido encierra a los ribosomas en el hielo, preservando así su estructura nativa. Utilizando un microscopio electrónico con una intensidad de emisión extremadamente baja, para evitar dañar las moléculas, los científicos obtuvieron imágenes de los miles de los ribosomas capturados en el hielo. Los científicos emplearon un sofisticado análisis de imágenes computarizado para producir un mapa detallado y tridimensional del movimiento del ribosoma, a partir de las imágenes producidas por el microscopio electrónico que, de otra manera, serían poco claras y de bajo contraste.

Para capturar al ribosoma en el momento de la translocación de ARNm y ARNt, los científicos agregaron a los ribosomas un análogo inoperante del GTP junto con el factor de elongación G, deteniendo eficazmente la síntesis proteica en donde se encontraba.

"La utilización de este análogo permitió capturar un estado en el cual el factor de elongación está unido al ribosoma, pero no avanza", dijo Frank. "De esta manera, todo el sistema se congela por medios químicos".

Sus análisis de los ribosomas congelados químicamente revelaron que cuando el factor de elongación y el GTP se unen a la subunidad 30S, esta rota cerca seis grados con respecto a la subunidad 50S. Y luego de la reacción química del GTP, la subunidad 30S rota hacia atrás.

"Esta rotación prosigue con otros movimientos", dijo Frank. "Si uno mira el canal de entrada al ribosoma para el ARNm, normalmente parece angostarse y ensancharse a medida que la subunidad se mueve hacia adelante y hacia atrás. Es exactamente la abertura esperada si uno piensa que el ARNm en un estado tiene que estar libre para moverse y en el otro estado necesita estar afirmado e impedido de movimiento".

Según Frank, avances adicionales de crio-ME, junto con análisis detallados de resolución atómica de estudios de cristalografía de rayos X, deberían proporcionar una comprensión aún mayor del movimiento ribosomal durante síntesis proteica.

Frank y sus colegas están desarrollando, en este momento, una técnica para sincronizar los procesos ribosomales un instante antes de su congelamiento, para que los miles de ribosomas que se congelan en una preparación determinada, sean detenidos en el mismo momento durante la síntesis proteica. Tal sincronización le permitiría a los investigadores estudiar la masa de ribosomas en cualquier punto en particular, para entender mejor cómo los ribosomas dirigen la construcción de proteínas.