

DE LOS NÚCLEOS ATÓMICOS A LAS PROTEÍNAS¹

Ricardo A. Broglia

Un modelo basado en las interacciones entre los nucleones permite acotar las fases a través de las cuales una cadena lineal de aminoácidos se va plegando hasta adoptar la estructura tridimensional característica de las proteínas.

En muchos sucesos de la vida cotidiana, la regularidad con que se presentan los fenómenos es para nosotros tranquilizadora. Al despertarnos por la mañana no esperamos grandes sorpresas. El mundo funcionará en sus aspectos fundamentales como el día anterior. Las cosas no cambiarán por mucho que nos movamos de aquí a allá: volverá a estar llena la barra del bar donde tomamos el primer café y la pelota de tenis, si éste es nuestro deporte, seguirá la misma trayectoria independientemente de la dirección en que se lance, a igualdad de condiciones iniciales. Estas dos afirmaciones tan banales reflejan un hecho menos trivial: el espacio físico tiene un elevado grado de simetría, puesto que es homogéneo (invariante respecto a las traslaciones) e isótropo (invariante respecto a las rotaciones). En otras palabras, las leyes que gobiernan los fenómenos físicos no dependen del lugar ni de la dirección a la que se refieren. Todo ello también es aplicable a las partículas (electrones, átomos, fotones, etcétera).

A la homogeneidad y a la isotropía del espacio físico se debe que los electrones en órbita alrededor del núcleo atómico se muevan de tal forma, que el producto de su momento por su distancia al centro del átomo, momento angular, sea proporcional

a un número natural (0, 1, 2...). En el lenguaje de la mecánica cuántica, conjunto de leyes que gobiernan el comportamiento de lo infinitamente pequeño, se dice que los electrones tienen en el átomo un momento angular definido, cuantizado. Verdad que se predica también del movimiento de los nucleones (protones y neutrones) en el núcleo atómico, paradigma de los sistemas finitos de muchos cuerpos. De hecho, en este sistema la acción de todos los nucleones sobre uno de ellos forma una suerte de "jaula" esférica (campo medio), tal como quiere la isotropía del espacio, donde los nucleones describen órbitas con momento angular 0, 1, 2... Pero de vez en cuando, a causa del efecto de la polarización de los nucleones que se mueven con trayectorias con un momento angular elevado (orbitales calientes), el campo medio se deforma, por un fenómeno que se puede provechosamente asimilar al movimiento de las mareas por efecto del campo gravitatorio de la Luna. Esta deformación define una dirección privilegiada en el espacio. De acuerdo con las leyes de la mecánica cuántica no puede tolerarse semejante rotura espontánea de la simetría: el sistema empieza a girar en su conjunto, haciendo que el sistema sea isótropo. En la frecuencia más baja permitida, promediando entre las diversas orientaciones, se produce un sistema dinámico de simetría esférica y

¹ Investigación y Ciencia Junio 2002. 54-60 pag.

dotado de un momento angular nulo que constituye el estado fundamental, o de energía mínima. Junto con los estados de momento angular más elevado, correspondientes a frecuencias de rotación cuantizadas, el estado fundamental forma una banda rotacional. La energía de los miembros de la banda rotacional es, en promedio, mucho más baja que la asociada a excitaciones del sistema, donde los movimientos de los nucleones en los orbitales calientes se modifican para dar lugar a excitaciones intrínsecas del sistema. El espectro de estas excitaciones resulta un tanto caótico, mientras que el asociado a las bandas rotacionales es muy ordenado.

Como la transición experimentada por el sistema finito (núcleo) entre la fase esférica y la deformada está esencialmente inducida por muy pocos orbitales calientes, la estabilidad del estado fundamental y las propiedades de las bandas rotacionales (estados colectivos) se hallan, en gran medida, controladas por estos orbitales. Una descripción cuantitativamente precisa de la estructura nuclear y de sus correspondientes transiciones de fase demanda un cálculo *ab initio* de las contribuciones de los orbitales calientes a las correspondientes magnitudes físicas, mientras que la contribución de otros orbitales puede parametrizarse de forma aproximada.

La existencia de un campo medio que controla el movimiento independiente de las partículas y que, al deformarse, origina familias de estados rotacionales relacionados, con la misma estructura espacial estabilizada por los orbitales calientes del sistema, constituye la síntesis de la investigación sobre sistemas cuánticos finitos de muchos cuerpos en general y sobre el núcleo atómico en particular.

Plegamiento de proteínas

Podemos recurrir a estos resultados para resolver problemas importantes en otros campos del conocimiento, la biología sin ir más lejos. La secuenciación del genoma humano, es decir, el conocimiento del orden sucesivo de centenares de miles de bases en la molécula de ADN, encontrará significado cuando se puedan convertir las secuencias génicas en secuencias y estructuras de proteínas. Esto permitirá desentrañar el origen del desarrollo epigenético autónomo del organismo y el relativo a la formación en la fase embrionaria de las partes que no están presentes como tales en el huevo.

En este desarrollo se pueden acotar fases y niveles sucesivos: el plegamiento de las secuencias polipeptídicas para formar estructuras globulares dotadas de propiedades asociativas y esteroespecíficas; las interacciones asociativas entre proteínas o entre proteínas y otros constituyentes para la formación de organillos celulares; la interacción entre células para constituir tejidos y órganos; la coordinación y la diferenciación, en todas estas fases, de las actividades químicas mediante interacciones de tipo alostérico, en las que una enzima cambia de conformación en respuesta a la interacción con una pequeña molécula (efector). El principio de todas estas estructuras y las prestaciones teleonómicas de los seres vivos a través de las cuales se realiza el finalismo biológico fruto de la selección natural, se halla, por tanto, escondido en las secuencias de los polipéptidos.

En un sentido muy concreto, el secreto de la vida, o sea, la peculiaridad de las moléculas biológicas, si es que existe, debe buscarse en este nivel de organización química, en particular en la relación existente entre la estructura lineal unidimensional desnaturalizada (D) de la proteína y la estructura nativa tridimensional (N) biológicamente activa, en la que la secuencia lineal, una vez fabricada en el ribosoma, se

pliega en un tiempo comprendido entre el microsegundo y el segundo.

El conocimiento de los mecanismos en que se basa el plegamiento permitiría predecir la estructura nativa de una proteína a partir de la secuencia de sus veinte tipos diferentes de aminoácidos. Para nuestro infortunio no se ha hallado solución todavía al problema del plegamiento de las proteínas. Pero, aunque sólo en un modelo mínimo de proteínas, sí se ha encontrado solución al denominado problema inverso del plegamiento: dada una estructura nativa, podemos averiguar la secuencia lineal de los aminoácidos que la componen.

En este modelo, cada aminoácido está representado por una esfera limitada en su movimiento a uno de los vértices de un retículo, en interacción con los aminoácidos más próximos. La solución al problema inverso del plegamiento es fácil: la secuencia de aminoácidos que se repliega en una estructura nativa dada es la secuencia que en esta estructura alcanza el valor mínimo de energía. Esta condición se puede formular de forma menos restrictiva, precisando que la secuencia encuentre en la estructura nativa un valor de energía suficientemente pequeño, esto es, menor que la energía mínima E_c asociada al conjunto de conformaciones tridimensionales compactas que sean estructuralmente distintas de la nativa.

Lecciones del problema inverso

El principal resultado experimental a propósito del plegamiento de las proteínas monoglobulares radica en el carácter súbito, del "todo o nada", de la transición entre el estado desnaturalizado y el nativo, fenómeno análogo al observado en las transiciones de fase de diversos sistemas físicos. En el proceso de plegamiento este carácter parece sorprendente, por cuanto las proteínas son sistemas muy poco homogéneos, estructuralmente más

asimilables a un sólido desordenado que a un cristal. Erwin Schrödinger subrayaba esta última circunstancia en su libro *¿Qué es la vida?* publicado en 1944. Adopta allí la expresión cristal aperiódico para describir una biomolécula. La inhomogeneidad, una propiedad esencial de los sistemas finitos, se halla presente también en el núcleo atómico, donde los orbitales se caracterizan por valores de momento angular muy distintos entre sí.

Consecuentemente, para entender las propiedades de las proteínas diseñadas según el modelo del plegamiento inverso, hay que empezar por identificar los sitios calientes. A este fin, se introducen mutaciones en cada sitio, sustituyendo el aminoácido de la secuencia de baja energía por uno de los otros 19 aminoácidos y se estudia el comportamiento dinámico de la proteína. Si la mutación impide la transición del estado desnaturalizado al nativo, un fenómeno que se ha observado en alrededor del ocho por ciento de los casos, la mutación se ha producido en un sitio caliente, en general bien protegido y ocupado por aminoácidos apolares (hidrófobos). Por contra, si la secuencia resultante de la inserción de una mutación se pliega sobre la propia estructura nativa empleada para diseñar la proteína, algo que sucede en un 92 por ciento de los casos, la mutación (denominada neutra) ha ocurrido en un sitio "templado" o "frío".

Distintas secuencias, por tanto, pueden corresponder a la misma estructura nativa. En particular, mutaciones únicas y múltiples de composición constante (intercambio de aminoácidos) en la secuencia S36 dan lugar a 10^{30} secuencias que se repliegan en la misma estructura nativa de S36; esta familia de secuencias es el equivalente, en el núcleo atómico, al conjunto de estados que forman una banda rotacional. Aquí, la violación de la simetría es la del contenido de aminoácidos en cada sitio de la estructura nativa. En otras palabras, un núcleo atómico encuentra un estado de energía mínima colocando sus nucleones en orbitales que corresponden no

a un momento angular definido, sino a una combinación lineal de momentos angulares (rotura espontánea de la simetría de rotación. De la misma manera, una proteína disminuye su energía al instalar en cada sitio de su estructura nativa, no un aminoácido definido, sino una combinación lineal de aminoácidos (rotura espontánea de la conservación del contenido de los aminoácidos). La recuperación de estas simetrías, como exige la mecánica cuántica, engendra bandas rotacionales y familias de proteínas con la misma estructura intrínseca y nativa, respectivamente.

La estabilidad de la proteína, en definitiva, viene determinada por los aminoácidos presentes en los sitios calientes, comunes a las 10^{30} secuencias (aminoácidos conservados). Pero no sólo por ellos: los sitios calientes determinan también la jerarquía de los contactos que se establecen en el proceso de plegamiento de la proteína. De hecho, siguiendo la evolución de una secuencia de aminoácidos diseñada, de la configuración lineal desnaturalizada a la estructura nativa, se observa una sucesión de pasos perfectamente determinada. En primer lugar se asiste a la formación, casi instantánea, de estructuras locales elementales, estabilizadas por la interacción entre aminoácidos calientes. A continuación, se verifica la formación del núcleo de plegamiento postcrítico, resultante del engarce de las estructuras locales, que contiene el mínimo número de contactos nativos que aseguran el plegamiento. Por último, en un lapso brevísimo tras la formación del núcleo de plegamiento, aparece la relajación de los aminoácidos restantes en la estructura nativa que da lugar a un solo sistema de energía menor que E_c .

Un mecano molecular

En otras palabras, el plegamiento de las proteínas no está controlado por cada

aminoácido, sino por las estructuras locales elementales que funcionan como diminutas piezas de un mecano molecular. Si se combinan de la forma correcta, originan el núcleo de plegamiento y, por tanto, el mínimo número de contactos nativos que aseguran el plegamiento llevando el sistema del estado desnaturalizado a una estructura que se encuentra más allá de la barrera energética que lo separa del estado nativo. Se trata de una región donde, desde el punto de vista energético todos los pasos posteriores son cuesta abajo. La analogía utilizada explica también el mecanismo de plegamiento de los dímeros e incluso la agregación de proteínas en placas amiloides, el fenómeno observada en los que padecen la enfermedad de Alzheimer o la de Creutzfeldt-Jakob. En este caso y siguiendo con la analogía, las piezas de una proteína se unen fuertemente a las de otra y dan lugar a un sistema tan estable, que no puede plegarse y pone las bases para la formación de un depósito amiloide.

El mecanismo de plegamiento de las proteínas esbozado trasciende incluso viejas cuestiones relacionadas con las proteínas. De entrada, la paradoja de Levinthal, según la cual el número de las posibles conformaciones de una cadena polimérica de 100 aminoácidos supera la edad del universo expresada en segundos. Parece evidente que, en la naturaleza, para alcanzar su estructura nativa una cadena polipeptídica no pasa por todas las posibilidades de configuración: teniendo en cuenta un lapso de tiempo mínimo para pasar de una a otra, el tiempo empleado sería mucho mayor del que realmente se observa. De la misma manera parecen superfluas las consideraciones sobre la importancia relativa de los contactos nativos locales y no locales; sí reviste mayor interés el *criterio de replegabilidad* (muchas secuencias que se repliegan en la misma estructura tridimensional nativa en un tiempo corto) y el de diseño (muchas secuencias que tienen como estado más bajo de energía aquel en el que la secuencia se repliega en la estructura nativa).

La simplicidad y la economía con las que el modelo de los sitios calientes y de las estructuras locales explica el plegamiento de las proteínas han permitido desarrollar un protocolo para resolver el problema del plegamiento en un retículo. Para su aplicación es preciso conocer, además de la secuencia de aminoácidos, su interacción. El protocolo se estructura en tres puntos: determinación de las posibles estructuras locales elementales con un número limitado de aminoácidos (de un 10 a un 20 por ciento respecto al número de monómeros de la proteína); determinación de los posibles núcleos de plegamiento con energía de unión elevada juntando dos o más estructuras locales elementales, y relajamiento de los restantes aminoácidos. Entre las estructuras resultantes la única con energía menor que E_c es la estructura nativa.

La aplicación de esta estrategia a todos los ejemplos de cadenas de aminoácidos proyectados ha producido, sin excepción, el resultado correcto. Cabe señalar que ésta es la primera solución del problema del plegamiento de las proteínas en un retículo. Aún más, el protocolo empleado está particularmente adaptado para su generalización al caso de las proteínas reales. Para ello es necesario calcular *ab initio* la interacción entre los escasos aminoácidos calientes en presencia del solvente (agua). El empeño no es fácil, pero se ha identificado una vía de llevarlo a buen puerto gracias a la experiencia acumulada en el cálculo de los principios primeros de las propiedades de las agregaciones moleculares y en particular de los fullerenos.

Bibliografía complementaria.

WHAT IS LIFE? Erwin Schrödinger. Cambridge University Press; Cambridge. 1944.

NUCLEAR STRUCTURE, vol II. A. Bohr, B. R. Mottelson. Benjamin, Nueva York, 1975.

STRUCTURE AND MECHANISM IN PROTEIN SCIENCE. A. Fersht. W. H. And Co., Nueva York, 1999.

MECHANISM OF FOLDING AND AGGREGATION OF PROTEINS. R. A. Broglia y G. Tiana, en Proceedings of the International School of Physics Enrico Fermi. IOS Pres; Amsterdam. 2001.

PROTEIN FOLDING: MATCHING THEORY AND EXPERIMENT. L. Mirny, E. I. Shakhnovich. en Proceedings of the International School of Physics Enrico Fermi. IOS Press; Ámsterdam. 2001.