

CIÈNCIA TRIDIMENSIONAL

LLUÍS CORNUDELLA

Departament de Biologia Molecular i Cel·lular. Institut de Biologia Molecular de Barcelona. CSIC

Adreça: Departament de Biologia Molecular i Cel·lular. Institut de Biologia Molecular de Barcelona. CSIC. Jordi Girona, 18-26. 08036 Barcelona.

Adreça electrònica: lcmbmc@cid.csic.es

RESUM

En l'actualitat s'està vivint una enorme eclosió en la resolució d'estructures tridimensionals de proteïnes, d'àcids nucleics i dels seus diversos complexos. Sens dubte ens trobem enmig d'una autèntica revolució en la biologia molecular i cel·lular essencialment liderada per l'estructura, que ha donat lloc a una disciplina relativament jove anomenada *biologia estructural*. La millora de la instrumentació i la disponibilitat de noves eines de computació han accelerat el ritme d'adquisició d'informació estructural i s'han aconseguit acumular dades estructurals extensives. L'objectiu avui ja no és la simple descripció de noves estructures sinó abordar, comprendre i fins i tot predir la dinàmica funcional de les biomolècules naturals, així com les interaccions dels àtoms intrínseques als canvis reactius de les macromolècules, per proporcionar la possibilitat de manipular-les i modificar-les.

Paraules clau: estructura tridimensional / proteïnes / àcids nucleics / computació.

SUMMARY

Tridimensional science

The past few years have witnessed a tremendous explosion in the number of three-dimensional structures of proteins, nucleic acids and their various complexes. There is no doubt that we are in the midst of a revolution in molecular and cellular biology that is, in large part, being driven by structure. This latter has given rise to a relatively young discipline known as structural biology. Improved instrumentation and powerful computational

tools have greatly accelerated the rate at which structural information is accumulating and has led to extensive structural databases. The next important steps are to understand and even predict the functional dynamics of native biomolecules, but also the intrinsic interactions of atoms to reactive changes in macromolecules, bringing about the possibility of intervention.

Keywords: three-dimensional structure / proteins / nucleic acids / computation.

INTRODUCCIÓ

La vida depèn de macromolècules com els àcids nucleics, les proteïnes i els hidrats de carboni. L'estudi d'aquestes molècules, els seus complexos i les seves interaccions, ha estat de sempre competència de la bioquímica i de la biologia molecular. Amb el temps s'ha arribat a conèixer un gran nombre de macromolècules i a desxifrar molts dels processos biològics en els quals intervenen. Amb tot, però, el seu coneixement es limita sovint a la definició d'un fenotip, l'establiment d'una seqüència i, fins i tot, a la caracterització d'una banda en un gel. No és fins que s'aconsegueix resoldre l'estructura molecular que s'adquireix la visió de com les molècules realment condueixen els seus negocis, és a dir, com realitzen la seva funció. Probablement, l'estructura és el determinant singularment més important de les propietats d'una molècula.

Sempre es produeix una gran eufòria davant la primera ullada a una estructura. Invariablement, el desxiframent d'una estructura empeny els investigadors un pas endavant en el coneixement de la funcionalitat d'una molècula. Nogensmenys, aquesta circumstància planteja sovint més preguntes que no en respon, i s'emfasitza que la imatge estàtica d'una molècula rarament és una fi en si mateixa ans, al contrari, és l'inici de la seva comprensió.

A mesura que les estructures esdevinguin resolubles amb més facilitat, l'interès es desplaçarà des de la simple descripció,

òbviament un esglaó inicial important en qualsevol empresa científica, a la dissecció de la funció. Quines són les forces que determinen l'associació de les proteïnes amb els seus substrats? Com es pleguen les proteïnes en el seu estat natural? Quins són els elements que determinen l'estabilitat de les proteïnes? Com s'ho maneguen les molècules proteiques per a transformar l'energia química en força?

Recents avenços de les tecnologies del DNA recombinant, dels sistemes d'expressió de proteïnes i de la síntesi química de proteïnes i àcids nucleics han revolucionat tots els camps de la biologia molecular i cel·lular. Alhora, nous i potents sistemes de computació, juntament amb decisives millores de la instrumentació en microscòpia electrònica, cristal·lografia i ressonància magnètica nuclear, han accelerat considerablement el flux de la informació estructural. El repte avui no solament es limita a la resolució d'estructures sinó que abasta el plantejament de qüestions d'importància biològica real mitjançant la combinació d'estudis estructurals amb mètodes quantitius de mesura i anàlisi derivats de la física, la química i les matemàtiques.

BIOLOGIA ESTRUCTURAL

La biologia estructural, malgrat que és molt jove, ha adquirit ja naturalesa de disci-

plina científica. Solament durant l'any 1994 el ritme de les caracteritzacions estructurals fou, de mitjana, d'una nova estructura per dia. Si es manté aquesta cadència, l'any 2000 contemplarà la resolució de 2.800 estructures avui totalment desconegudes. En el banc de dades del Laboratori Nacional de Brookhaven amb prou feines hi havia enregistrades tres o quatre estructures de molècules de RNA i dels seus complexos amb DNA i proteïnes, l'any 1978. Aquest nombre d'estructures conegudes restà inamovible fins a 1986 quan se n'hi afegiren unes quantes més. La resolució i el subsegüent dipòsit d'estructures d'aquesta classe de macromolècules hagué d'esperar fins a 1994 per veure's incrementada substancialment. Avui, el nombre d'aquestes estructures conegudes ultrapassa el centenar. Pel que fa a les proteïnes, el mateix banc de Brookhaven contenia al voltant de 3.000 molècules proteïques l'any 1993. L'allau de noves estructures proteïques resoltes i di-

positades ha acabat saturant la capacitat d'emmagatzematge del laboratori de Brookhaven i ha forçat a crear un nou banc de dades de proteïnes, el Research Collaboratory for Structural Bioinformatics (RCSB). Aquest organisme, a més de complir la funció de dipòsit estructural, també està dedicat a millorar el coneixement de la funció dels sistemes biològics mitjançant l'estudi de l'estructura tridimensional de les macromolècules biològiques. El RCSB està organitzat en forma de consorci, integrat per la Divisió de Biotecnologia de l'Institut Nacional d'Estàndards i Tecnologia (NIST) americana, el Centre de Supercomputació de la Universitat de Califòrnia a San Diego i el Centre de Biofísica Molecular i Físicoquímica Biològica de la Universitat de Rutgers. El seu finançament prové essencialment de la National Science Foundation (NSF). El gràfic de la figura 1 mostra el nombre total d'estructures dipositades anualment en el PDB des del seu inici l'any 1973 fins a 12 de

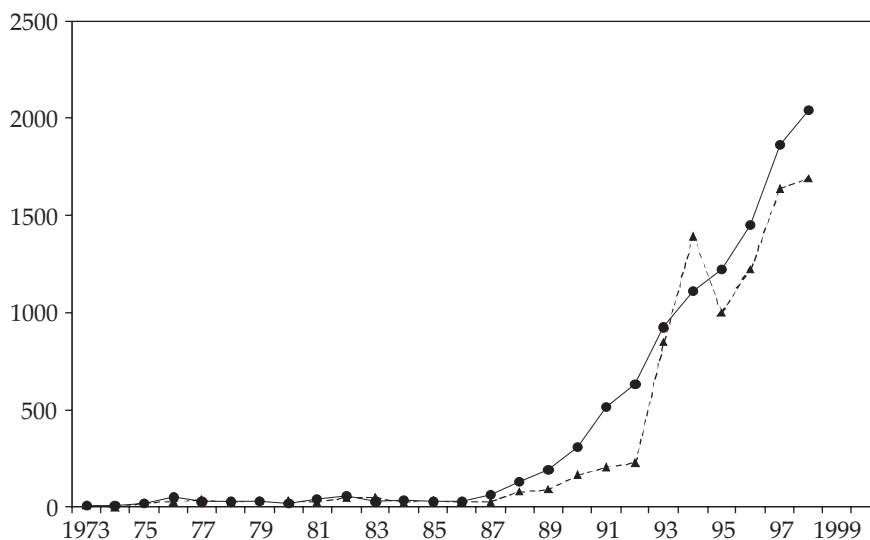


FIGURA 1. Nombre d'estructures de proteïnes dipositades anualment (●) i accessibles (▲) en el PDB des de 1973, actualitzades a 12 de setembre de 1998. El sumatori dels nombres anuals d'estructures d'accés públic dóna una quantitat superior a la que està realment disponible en el banc de dades. Això és degut a la supressió i/o substitució d'estructures que ocorre esporàdicament. La informació del gràfic es pot consultar a través del portal del RCSB a Internet (<http://www.rcsb.org/index.html>).

setembre de 1998, juntament amb el de les estructures l'accés de les quals és lliure i disponible públicament sense restriccions. S'aprecia clarament en el gràfic l'increment desmesurat, quasi exponencial, de la resolució estructural de proteïnes que té lloc a partir de 1990.

LES ESTRUCTURES TRIDIMENSIONALS

Aquestes estructures proteïques han estat classificades segons la composició estructural secundària, amb el resultat que prop de dos terços són similars. L'eliminació de les darreres dona una resta d'estructures, la meitat de les quals mostren homologies entre si. En segregar del grup de proteïnes no homòlogues les que contenen elements d'estructura terciària semblants, s'obté un conjunt final d'unes 160 formes específiques de plegaments estructurals que són els que es coneixen actualment. D'altra banda, s'ha estimat que el nombre total de plegaments estructurals proteïcs definits en el genoma humà s'apropa a un miler. Es dedueix fàcilment d'aquestes estimacions que manquen encara unes 840 conformacions estructurals per elucidar. Tenint en compte els avenços recents de la producció i la detecció de radiació X de sincrotró, així com la disponibilitat de potents mètodes de computació, es podria afirmar que no és utòpic pensar que la comunitat cristal·logràfica afronti la caracterització estructural de les 840 formes de plegament pendents de resolució en un futur proper.

No tot acaba amb l'elucidació d'estructures quiescents. Els avenços tecnològics permeten estudiar macromolècules biològiques *en acció*. Aquest és el cas de la difracció cinètica de Laué que permet visualitzar imatges en moviment com la de l'oncoproteïna p21 Ras unint-se al GTP i hidrolitzant-

lo. La combinació de tècniques també forneix una poderosa eina per a l'anàlisi estructural. La microscòpia electrònica de complexos macromoleculars juntament amb la cristal·lografia de raigs X n'és un exemple. Així, ha estat factible posicionar les estructures tridimensionals de l'actina i la miosina en imatges ultramicroscòpiques dels seus filaments amb el propòsit de visualitzar com es contreuen els músculs. La microscòpia de força atòmica s'està revelant molt apropiada per a l'estudi de complexos aperiòdics de grans dimensions. El potencial i la versatilitat de la ressonància magnètica nuclear en l'anàlisi tridimensional d'àcids nucleics i de proteïnes és prou ben conegut.

L'arsenal analític esmentat, juntament amb les fites recentment assolides en els estudis estructurals i funcionals, palesen fefamentment que ens trobem enmig d'una autèntica revolució de la biologia molecular i cel·lular, sens dubte encapçalada per l'estructura. Amb tot, no es pot oblidar que la imatge estàtica d'una macromolècula no és una finalitat en si mateixa, ans l'inici d'un camí que porta a comprendre-la. Cal preveure que, a mesura que es resolguin més i més estructures, l'interès i l'èmfasi es desplaçaran des de la simple descripció cap a la dissecció de la funció amb la finalitat d'esbrinar els suports estructurals de la funció molecular. Amb la comprensió de les bases estructurals de la funció s'assoleix la possibilitat d'intervenir. Les proteïnes i els àcids nucleics poden ser manipulats per fer-los més estables. Es poden construir enzims més eficients com també alterar les especificitats dels substrats enzimàtics. És factible dissenyar drogues noves que interfereixin amb fases crucials en la progressió de les malalties. Certament, el coneixement fornit pels estudis estructurals tindrà importants repercussions mèdiques i industrials.

CONCLUSIONS

En definitiva, ens trobem en un moment d'expansió singular de la biologia estructural. Podem predir que al llarg dels propers anys viurem una revolució encapçalada per l'estructura relativa al coneixement dels processos moleculars que han desenvolupat la vida a la nostra Terra. Potser, fins i tot, esbrinarem la manera en què la mateixa vida s'inicià. Les conseqüències d'aquesta revolució estructural repercutiran en tots els àmbits de la biologia.

BIBLIOGRAFIA

- BURLEY, S. K. (1994). «Forward to the Fundamentals». *Nature Struct. Biol.*, núm. 1, pàg. 8-10.
- RESEARCH COLLABORATORY FOR STRUCTURAL BIOINFORMATICS (RCSB). <<http://www.rcsb.org>>
- SARMA, R. H.; M. H. SARMA (1994). *Structural Biology: The State of the Art*. Nova York: Adenine Press.
- «The Changing Structure of Biology» (1994). [Editorial]. *Nature Struct. Biol.*, núm. 1, pàg. 1-2.
- THE PROTEIN DATA BANK (PDB). <<http://www.rcsb.org/pdb>>
- WILTZIUS, P. (1999). «Structural Catholicism». *Science*, núm. 284, pàg. 1280.

RESSENYA CURRICULAR

Lluís Cornudella és investigador del Consell Superior d'Investigacions Científiques

des de 1972. Adscrit a l'Institut de Biologia Molecular de Barcelona (IBMB) i cap del Departament de Biologia Molecular i Cel·lular. Llicenciat en ciències químiques i doctor en bioquímica per la Universitat de Barcelona. Becari postdoctoral de la Fundació Joan March als Estats Units al Department of Cell Biology del New York Blood Center (1970-72) i al Lindsley F. Kimball Research Institute de Nova York (1979-1981). Investigador visitant al Centre de Recherche en Cancérologie de l'Université Laval a l'Hôtel-Dieu de Québec (1989). Premi August Pi i Sunyer de l'IEC (1968) i Medalla Narcís Monturiol al Mèrit Científic i Tecnològic de la Generalitat de Catalunya (1987).

Les àrees d'interès científic inclouen l'anàlisi molecular de genomes d'invertebrats marins; l'aïllament i la caracterització de gens que codifiquen proteïnes bàsiques nuclears espermàtiques; les tendències evolutives dels gens de les variants espermatogèniques d'histones; l'organització i la variabilitat conformacional de la cromatina durant el desenvolupament cel·lular germinatiu i l'expressió gènica al llarg de l'espermioogènesi en els invertebrats marins. És autor d'un centenar d'articles en revistes científiques amb índex d'impacte.