

El premio Nobel 2009 en Fisiología o Medicina: Telómeros y telomerasa: de la investigación citogenética básica a la aplicación clínica. El premio Nobel 2009 en Química: Estructura atómica del ribosoma: estructura y función en el corazón de la genética

Juan-Ramón Lacadena Calero

Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia

Como ya viene siendo habitual, la Real Academia Nacional de Farmacia se reúne en Sesión Científica pública para conmemorar la concesión el presente año 2009 de los Premios Nobel en Fisiología o Medicina y en Química que tienen que ver con los intereses científicos de la Institución.

1. EL PREMIO NOBEL 2009 DE FISIOLOGÍA O MEDICINA: TELÓMEROS Y TELOMERASA: DE LA INVESTIGACIÓN CITOGENÉTICA BÁSICA A LA APLICACIÓN CLÍNICA

Como científico que he dedicado más de treinta años de mi vida a la investigación citogenética en el campo del «comportamiento cromosómico» —entendiendo por comportamiento cromosómico «cualquier cambio fisiológico, estructural o dinámico que experimentan los cromosomas en cualquier tipo de célula (somática o germinal) tanto en períodos de división (mitosis o meiosis) como en interfase»— ha supuesto una satisfacción que el Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2009 otorgado por la Asamblea Nobel del Instituto Karolinska haya recaído en un tema citogenético básico como es la estructura del cromosoma eucariótico (los telómeros y el mecanismo molecular que

los mantiene, la telomerasa) en las personas de tres científicos: Elizabeth H. Blackburn, Carol W. Greider y Jack W. Szostak, premiados por el descubrimiento de «cómo los cromosomas son protegidos por los telómeros y la enzima telomerasa». Los tres habían recibido en 2006 el premio Albert Lasker en Investigación Médica Básica, confirmando, una vez más, que los premios Albert Lasker son una antesala de los premios Nobel.

Frente al concepto clásico de la Genética como «la ciencia que estudia la herencia y la variación en los seres vivos» (Bateson, 1906), hace años que propuse yo la definición de la Genética como «la ciencia que estudia el material hereditario bajo cualquier nivel o dimensión» (1). De ahí se deduce que el objeto de la Genética son los genes y que el contenido formal trate de dar respuestas adecuadas a las siguientes preguntas: ¿qué son los genes?, ¿cómo se organizan y transmiten?, ¿cómo y cuándo se expresan?, ¿cómo cambian?, ¿cuál es su destino en el espacio y en el tiempo? (2, 3).

En este contexto, recordemos que el cromosoma se puede definir como «el material hereditario organizado cuya estructura adquiere complejidad creciente en la evolución, pasando de simples moléculas desnudas de ácidos nucleicos en algunos procariontes a asociaciones complejas de ácidos nucleicos con proteínas histonas y no histonas como componentes químicos mayoritarios en eucariontes. La función del cromosoma es conservar, transmitir y expresar la información genética que lleva» (1). Partiendo de esta definición y en paralelismo con la definición conceptual de la Genética, la Citogenética se puede definir como «la ciencia que estudia el cromosoma (el material hereditario organizado) bajo cualquier nivel o dimensión» (4).

Como he hecho en otras ocasiones similares, cuando me enteré por los medios de comunicación cuál era el tema de investigación galardonado y quiénes los científicos premiados, fui a comprobar en los libros de texto de los que soy autor —en este caso, el de «Citogenética» (4)— cómo había tratado el tema correspondiente y pude comprobar que en el Capítulo 4 referente a la «Estructura interna del cromosoma eucariótico: diferenciaciones estructurales y su función», dedico cinco páginas (págs. 103-107) a los telómeros y la telomerasa, incluyendo casi una veintena de referencias en las que aparecen alguno de los tres galardonados (Blackburn, Greider o Szos-

tak). Por ello, permítaseme recoger aquí lo que en 1996, en el texto aludido (4), decía al respecto:

Los télómeros son los extremos de los brazos cromosómicos; su denominación se debe a Muller (5)... Desde el punto de vista molecular, los télómeros —complejos de ADN terminal y proteínas— son estructuras especiales de ADN con funciones específicas esenciales para el normal comportamiento de los cromosomas eucarióticos lineales. Estas funciones incluyen su estabilidad (que no se puedan fusionar los extremos cromosómicos entre sí ni sean atacables por exonucleasas) y capacidad de replicación (6).

Dadas las características moleculares de la síntesis del ADN (semiconservativa, dirección 5'→3', semidiscontinua) surgió el problema de cómo explicar la replicación de una molécula lineal de ADN sin que se produjera pérdida de secuencias terminales (las correspondientes al ARN primer). De hecho, se propusieron varios modelos basados en la estructura palindrómica del ADN telomérico que resultaron ser incorrectos. Incluso, el propio Szostak, galardonado con el premio Nobel, propuso alguna modificación aunque manteniendo la estructura palindrómica (7).

Los primeros y fundamentales estudios sobre la estructura del ADN telomérico y su comportamiento durante la replicación mediante la actividad de una enzima específica —la *telomerasa*— fueron realizados principalmente por Elisabeth H. Blackburn y colaboradores (ver revisiones en 8-11).

El aislamiento del ADN telomérico de eucariontes inferiores (ciliados, flagelados, levaduras, etc.) demostró que cada télómero consta de varios centenares de pares de bases originados por la repetición de una secuencia del tipo 5'(T/A)_mG_n3'/3'(A/T)_mC_n5' (donde m = 1-4, n = 1-8), con la particularidad de que hay un extremo monocatenario 3' de 12-16 bases rico en G porque existen varias copias de la secuencia 5'(T/A)_mG_n3' sin las bases complementarias correspondientes (8). Posteriormente se comprobó que dicho modelo se ajustaba también a eucariontes superiores, tanto animales (vertebrados, insectos, etc.) como vegetales. Por ejemplo, en la especie humana se demostró que la secuencia que se repite en la hélice «rica en G» del ADN es 5'TTAGGG3' (12). La longitud total del ADN telomérico en los cromosomas de vertebrados es mayor que la de los

eucariontes inferiores (miles de pb frente a varios cientos). De cualquier manera resulta sorprendente la similitud del ADN telomérico de especies tan diversas como las que se indican a continuación aunque, por otro lado, no es ilógica dada la igualdad de la función a realizar:

Organismos	Secuencia repetida (hélice rica en G)
<i>Tetrahymena</i>	5'TTGGGG3'
<i>Paramecium</i>	5'TT(T/G)GGG3'
<i>Oxytricha</i>	5'TTTTGGGG3'
<i>Plasmodium</i>	5'TT(T/C)AGGG3'
<i>Trypanosoma</i>	5'TTAGGG3'
<i>Dictyostelium</i>	5'TG ₁₋₈ G3'
<i>Arabidopsis</i>	5'TTTAGGG3'
<i>Homo</i>	5'TTAGGG3'

Resulta interesante señalar la posibilidad de que las hélices ricas en G originen estructuras de ADN cuadruplexo al formarse cuartetos de guanina unidos mediante enlaces de tipo Hoogsteen que pueden tener una significación funcional como, por ejemplo, preservar a los extremos cromosómicos de una posible degradación enzimática. De hecho se ha demostrado que una proteína telomérica de *Oxytricha* promueve la formación de los cuartetos de guanina. También se ha demostrado que la secuencia telomérica humana 5'CCCTAA3' de la hélice «rica en C» puede producir una estructura cuadruplexa del ADN por apareamiento de la citosina con la citosina protonada.

Hay que señalar también que se ha detectado la existencia de proteínas teloméricas (10, 11). Las únicas proteínas que se interaccionan de forma específica con el ADN telomérico son la telomerasa y las proteínas teloméricas. De éstas algunas se unen al ADN dúplex telomérico y otras a la terminación monocatenaria 3'. El complejo proteína-ADN telomérico está yuxtapuesto, pero no sobrepuesto, al ADN cromosómico con estructura nucleosomal.

Simultáneamente a los trabajos de Blackburn, Jack W. Sostak comprobó que estructuras lineales de ADN (minicromosomas) eran degradadas muy rápidamente al ser introducidas en células de leva-

dura, pero que, sin embargo, cuando las secuencias de Blackburn eran añadidas a los minicromosomas de Szostak y se introducían en células de levadura, ambos investigadores comprobaron que las secuencias de ADN telomérico protegían a los minicromosomas de la degradación (13).

¿Y qué decir de la telomerasa? Durante la replicación del ADN telomérico, la hélice «rica en G» es sintetizada por una enzima específica —la *telomerasa*— que es una ribonucleoproteína cuyo componente ARN contiene una secuencia complementaria a la de la secuencia repetida telomérica, pudiendo actuar como una terminal transferasa (ver revisiones en 14 y 15). La existencia de la actividad telomerasa *in vitro* fue demostrada primero por las galardonadas Carol W. Greider y Blackburn (16-18) en extractos acelulares de cilios y por Morin (19) en humanos. El componente ARN de la telomerasa de *Tetrahymena* tiene 159b con la secuencia 5'CAACCCCAA3' entre las posiciones 43 a 51 que parece ser el molde para la repetición 5'TTGGGG3' del telómero (18). Por su parte, Romero y Blackburn mostraron que el ARN de la telomerasa tiene una estructura secundaria conservada (20).

En el presente contexto es interesante señalar que en organismos en los que se produce la fragmentación de los cromosomas dentro de su programa de desarrollo es evidente la necesidad de actuación de la telomerasa para «cicatrizarse» los extremos de los nuevos cromosomas construyendo las terminaciones teloméricas. Este proceso fue analizado por Yu y Blackburn (21) en *Tetrahymena*. Asimismo, en organismos que experimentan el fenómeno de *disminución cromatínica* (fragmentación cromosómica) como *Ascaris lumbricoides* se ha demostrado la creación de nuevos telómeros por acción de la telomerasa (22).

Dado que la ausencia en las células de la enzima telomerasa podría repercutir en la viabilidad de las mismas, Szostak y Greider relacionaron la falta de actividad telomerasa con procesos de envejecimiento y muerte celulares (23, 24) así como la actividad extemporánea con la inmortalidad de las células en los procesos cancerosos (25).

Por ello, además del interés que tiene desde el punto de vista de la investigación citogenética básica el premio Nobel de este año, no hay que olvidar su aplicación clínica en temas de cáncer y envejeci-

miento. Precisamente de eso nos hablará la Dra. María A. Blasco que trabajó bajo la dirección de la laureada Nobel 2009 Carol W. Greider y cuyo tema de investigación trata, precisamente, sobre los telómeros y la telomerasa y el papel que juegan en el envejecimiento y el cáncer. Durante su estancia en Cold Spring Harbor Laboratory (1993-1997) trabajando con Carol W. Greider, la Doctora Blasco clonó uno de los genes de la telomerasa en mamíferos y generó el primer ratón *knockout* para la telomerasa, demostrando que la actividad telomerasa es necesaria para prevenir el envejecimiento del organismo (26). Entre 1995 y 2000 publicó más de media docena de artículos en colaboración con la galardonada. Asimismo, la Doctora Blasco ha investigado el papel de la telomerasa en la obtención de células troncales pluripotentes inducidas (iPS) (27).

No puedo terminar este breve comentario al Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2009 sin hacer referencia al caso especial del galardonado Doctor Jack W. Szostak. Cuando se consulta en su página web cuáles son sus líneas de investigación actuales, uno se encuentra con que nada tienen que ver con los cromosomas ni con los telómeros, sino con el origen de la vida: 1) explorar la replicación del ácido nucleico prebiótico, y 2) explorar la biofísica de nuestro sistema de vesículas replicantes, ambos enfoques para tratar de comprender cómo en el origen de la vida pudo producirse la encapsulación de un ácido nucleico capaz de replicar espontáneamente. Una vez conseguido el sistema se tratará de estudiar qué fuerzas evolutivas entran en juego que favorezcan el valor adaptativo (*fitness*) de la célula artificial; es decir, la clave de la ventaja selectiva a nivel celular (28-31).

De hecho, fue a partir de las investigaciones de Cech y Altman, galardonados con el Premio Nobel 1989 en Química, quienes demostraron la capacidad catalítica del ARN, cuando Szostak decidió cambiar el rumbo de sus investigaciones planteándose la posibilidad de que el ARN existiera mucho antes que el ADN y las proteínas puesto que podría ser capaz de catalizar su propia replicación. En 1991, Szostak y sus colaboradores dieron un giro de 180° en sus investigaciones centrando su trabajo en el estudio de la evolución en el tubo de ensayo de moléculas funcionales de ARN y otras moléculas. Para ello pusieron a punto la técnica de «selección *in vitro*» para estudiar la evolución de moléculas biológicas para funciones prede-

terminadas, como la capacidad de catalizar una reacción química específica o unirse a una molécula diana.

En los ensayos que he realizado sobre la Historia de la Genética a la luz de los premios Nobel (2, 32) (apartado 3.5. ¿Cuál es el destino de los genes?) decía que:

«Desde el punto de vista genético y biológico, no cabe la menor duda de que el papel de los genes en la evolución —su destino en el espacio y en el tiempo— es un tema importante. Sin embargo, en la historia genética de los premios Nobel —que es el objeto del presente estudio— no ha habido ninguno que tuviera que ver con el tema.

(...) Otro tanto podríamos decir de las investigaciones en torno al origen de la vida, desde el punto de vista de la evolución química (síntesis prebiótica) o de la evolución del “mundo del ARN” y del “mundo de las ribonucleoproteínas” que llevó al “mundo del ADN” y a la aparición del *progenote* como precursor de los *urcariotas*, las *eubacterias* y las *arqueobacterias*.

(...) Posiblemente, el descubrimiento de la actividad catalítica del ARN por los premios Nobel Altman y Cech, antes citados, pueda representar la espada que rompió el nudo gordiano. Un dato experimental adicional que, de alguna manera, confirmaría las especulaciones en torno al tema fue aportado por Doudna y Szostak (1989) (33), quienes demostraron que un derivado de la ribozima de Cech tenía propiedades de replicasa, catalizando la unión de múltiples oligonucleótidos alineados sobre un molde externo».

Sería de desear que Jack W. Szostak pudiera recibir en el futuro otro premio Nobel por sus estudios sobre el origen de la vida. En el contenido formal de la Genética que consiste en dar respuesta a las preguntas sobre los genes: ¿qué son?, ¿cómo se organizan y transmiten?, ¿cómo y cuándo se expresan?, ¿cómo cambian?, ¿cuál es su destino en el espacio y en el tiempo?, solamente las investigaciones encaminadas a responder a la última cuestión no han sido galardonadas todavía con algún premio Nobel. Ojalá Szostak sea acreedor del galardón Nobel y rellene ese vacío (véase el Cuadro 4 en la referencia 2 y el Cuadro 3.1 en la referencia 32). Yo, particularmente, me siento satisfecho de que mi intuición me llevara a relacionar hace ya catorce años a Szostak con los premios Nobel y el origen de la vida (2).

2. BIBLIOGRAFÍA

1. Lacadena, J. R. (1981) *Genética* (3.^a ed.) Prólogo, pág. VIII, AGESA, Madrid.
2. Lacadena, J. R. (1995) Historia «nobelada» de la Genética: Concepto y método. Discurso de Ingreso en la Real Academia de Farmacia, Madrid, págs. 7-76.
3. Lacadena, J. R. (1999) *Genética General: Conceptos fundamentales*, Editorial Síntesis, S. A., Madrid, 623 págs.
4. Lacadena, J. R. (1996) *Citogenética*. Editorial Complutense, S. A., Madrid, 931 págs.
5. Muller, H. J. (1938) The remaking chromosomes. *Collet. Net.* 13: 181-195.
6. Szostak, J. W.; Murray, A. W.; Claus, T. & Dunn, B. (1984) Telomeres and artificial chromosomes in yeast. *Chromosomes Today.* 8: 59-68.
7. Szostak, J. W. (1982) Replication and resolution of telomeres in yeast. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 47: 1187-1194.
8. Blackburn, E. H. & Szostak, J. W. (1984) The molecular structure of centromeres and telomeres. *Ann. Rev. Biochem.* 52: 163-194.
9. Szostak, J. W. (1989) The beginning of the ends. *Nature.* 337: 303-304.
10. Blackburn, E. H. (1991) Structure and function of telomeres. *Nature.* 350: 569-573.
11. Blackburn, E. H. (1991) Telomeres. *Trends in Biochemistry.* 16: 378-381.
12. Moyzis, R. K. *et al.* (1988) A highly conserved repetitive DNA sequence (TTAGGG)_n, present at the telomeres of human chromosomes. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 85: 6622-6626.
13. Szostak, J. W. & Blackburn, E. H. (1982) Cloning yeast telomeres on linear plasmid vectors. *Cell.* 29: 245-255.
14. Blackburn, E. H. (1992) Telomerases. *Ann. Rev. Biochem.* 61: 113-129.
15. Lee, M. S.; Gallagher, R. C.; Bradley, J. & Blackburn, E. H. (1993) *In vivo* and *in vitro* studies of telomeres and telomerase. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 58: 707-718.
16. Greider, C. W. & Blackburn, E. H. (1985) Identification of a specific telomere terminal transferase activity in Tetrahymena extracts. *Cell.* 43: 405-413.
17. Greider, C. W. & Blackburn, E. H. (1987) The telomere terminal transferase of Tetrahymena is a ribonucleoprotein enzyme with two kinds of primer specificity. *Cell.* 51: 887-898.
18. Greider, C. W. & Blackburn, E. H. (1989) A telomeric sequence in the RNA of Tetrahymena telomerase required for telomere repeat synthesis. *Nature.* 337: 331-337.
19. Morin, G. B. (1989) The human telomere terminal transferase enzyme is a ribonucleoprotein that synthesizes TTAAGGG repeats. *Cell.* 59: 521-529.
20. Romero, D. P. & Blackburn, E. H. (1991) A conserved secondary structure for telomerase RNA. *Cell.* 67: 343-353.
21. Yu, G.-L. & Blackburn, E. H. (1991) Developmental programmed healing of chromosome by telomerase in Tetrahymena. *Cell.* 67: 823-832.
22. Müller, F.; Wicky, C.; Spicher, A. & Tobler, H. (1991) New telomere formation after developmentally regulated chromosomal breakage during the process of chromatin diminution in *Ascaris lubricoides*. *Cell.* 67: 815-822.

23. Lundblad, V. & Szostak, J. W. (1989) A mutant with a defect in telomere elongation leads to senescence in yeast. *Cell*. 57: 633-643.
24. Greider, C. W. (1990) Telomeres, telomerase and senescence. *BioEssays*. 12: 363.
25. Greider, C. W. (1993) Telomerase and telomerase-length regulation: Lessons from small eukaryotes to mammals. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 58: 719-723.
26. Blasco, M. A.; Lee, H. W.; Hande, M. P.; Samper, E.; Lansdorp, P. M.; DePinho, R. A. & Greider, C. W. (1997): Telomere shortening and tumor formation by mouse cells lacking telomerase RNA. *Cell*. 91: 25-34.
27. Marion, R. M.; Strati, K.; Li, H.; Tejera, A.; Schoeftner, S.; Ortega, S.; Serrano, M. & Blasco, M. A. (2009) Telomeres acquire embryonic stem cells characteristics in induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell*. 4: 141-154.
28. Hanczyc, M. M.; Fujikawa, S. M. & Szostak, J. W. (2003) Experimental models of primitive division. *Science*. 302: 618-622.
29. Chen, I. A.; Roberts, R. W. & Szostak, J. W. (2004) The emergence of competition between model protocells. *Science*. 305: 1474-1476.
30. Mansy, S. S.; Schrum, J. P.; Krishnamurthy, M.; Tobé, S.; Treco, D. & Szostak, J. W. (2008) Template-directed synthesis of a genetic polymer in a model protocell. *Nature*. 454: 122-125.
31. Zhu, T. F. & Szostak, J. W. (2009) A robust pathway for protocell growth and division under plausible prebiotic conditions. *J. Am. Chem. Soc.* 131: 5705-5713.
32. Lacadena, J. R. (2007) Conmemorando los 100 años del término «Genética» (1905-2005): Una historia «nobelada» de la Genética. Conferencia plenaria, Congreso de la Sociedad Española de Genética, Almería, 2005, Secretariado de Publicaciones, Universidad de León, VII + 109 págs.
33. Doudna, J. A. & Szostak, J. W. (1989) RNA-catalysed synthesis of complementary-strand RNA. *Nature*. 339: 519-522.

3. EL PREMIO NOBEL 2009 EN QUÍMICA: ESTRUCTURA ATÓMICA DEL RIBOSOMA: ESTRUCTURA Y FUNCIÓN EN EL CORAZÓN DE LA GENÉTICA

«Aventurando una predicción, no sería de extrañar que los estudios sobre otro de los tres procesos esenciales en la transmisión de la información genética, la traducción del ARNm por los ribosomas, se vean reconocidos, en un futuro no muy distante, con el Premio Nobel. La estructura del ribosoma, una gigantesca maquinaria molecular que entronca directamente con el mundo prebiótico, ha sido desvelada (de nuevo mediante cristalografía de rayos-X, pero también con aportaciones de microscopía electrónica y bioquímicas) en los albo-

res del nuevo siglo, incluyendo diversos estados funcionales y en interacción con ARNm, ARNt, cofactores proteicos y antibióticos de gran interés farmacológico». Estas palabras proféticas fueron pronunciadas hace tres años en esta misma sala por boca del doctor Rafael Giraldo Suárez (1) cuando esta Real Academia Nacional de Farmacia celebró la sesión científica conmemorativa del premio Nobel en Química 2006, concedido a Roger Kornberg «por sus estudios de la base molecular de la transcripción eucariótica». Además, el Doctor Giraldo recogía al respecto en su bibliografía seis referencias de las que cuatro de ellas pertenecían a trabajos seminales de los grupos de investigación de los doctores Venkatraman Ramakrishnan, Thomas A. Steitz y Ada E. Yonath, galardonados este año por la Real Academia Sueca de Ciencias con el Premio Nobel en Química 2009 «por los estudios de la estructura y función del ribosoma» y que hoy conmemoramos en esta sesión científica. Quizá algún otro científico reunía también méritos para haber sido premiado (por ejemplo, H. F. Noller), pero la norma que limita a un máximo de tres los galardonados con cada premio (de no ser colectivo) lo ha dejado fuera.

Parafraseando el título de una conocida novela de García Márquez, para el Doctor Giraldo ésta es la «crónica de un premio anunciado». Tan «cantado» estaba el premio que el documento «Scientific background on the Nobel Prize in Chemistry 2009» de la Real Academia de Ciencias de Suecia, que hace una revisión científica del tema de investigación galardonado firmado por Måns Ehrenberg (2) estaba fechado en Uppsala el 30 de septiembre, siete días antes de hacerse público el premio. Si además se tiene en cuenta el tiempo que el autor necesitó para elaborar dicha revisión, uno se puede preguntar desde cuándo tenía tomada su decisión la Academia de Ciencias.

En términos generales, el «dogma central de la biología molecular» (3) establece que la información genética contenida en el ADN en forma de secuencia de bases nitrogenadas, capaz de autoconservarse (*replicación*, ADN polimerasa), es transcrita (*transcripción*, ARN polimerasa-ADN dependiente o transcriptasa) al ARN mensajero y traducido este mensaje a proteínas (*traducción*). En el presente contexto hay que señalar que los tres procesos han sido objeto de sendos premios Nobel: Arthur Kornberg en 1959, por su descubrimiento del mecanismo de replicación del ADN (ADN polimerasa); Roger D. Kornberg en 2006, por el estudio de la base molecular de la transcripción,

y en 2009, Ramakrishnan, Steitz y Yonath, por sus estudios sobre la estructura y función de los ribosomas en la traducción.

Como resaltaba la propia institución Nobel al hacer público el premio, el ADN y el ARN son moléculas portadoras de la información genética, pero con ellas solas no habría vida porque son las proteínas las que construyen y controlan la vida. Es en los ribosomas donde se produce la síntesis de las proteínas.

El ribosoma bacteriano (70S) es una ribonucleoproteína que consta de dos subunidades, grande (50S, 1.500.000 Da) y pequeña (30S, 800.000 Da). La subunidad grande (50S) está constituida por unas 33 proteínas diferentes y por dos moléculas de ARN (ARNr 23S, 2.900b y ARNr 5S, 120 b) y la subunidad pequeña (30S) está formada por 20 proteínas y una molécula de ARN (ARNr 16S, 1.600 b). Ambas subunidades están separadas hasta que se unen al iniciarse el proceso de traducción, al término del cual vuelven a disociarse. Desde el punto de vista funcional, en el ribosoma hay tres sedes de unión al ARNt: la sede A (aminoacil) de entrada del complejo de transferencia que lleva el aminoácido correspondiente a un nuevo codón; sede P (peptidil) donde se realiza el enlace peptídico entre el último aminoácido de la cadena peptidil-ARNt_{n-1} y el nuevo aminoácido recién incorporado en el aminoacil-ARNt_n, y la sede E (exit, salida) por donde se libera el ARNt_{n-1}.

Resumidamente, además de los ribosomas, los elementos que intervienen en el proceso de traducción en los procariontes son los aminoácidos y los ARN transferentes correspondientes (ARNt, unas 80 b, extremo CCA 3' donde se une el aminoácido, anticodón) a los que se unen por un enlace éster en el extremo 3' gracias a las aminoacil-ARNt sintetetas formando los complejos de transferencia (aminoacil-ARNt), el ARN mensajero (ARNm) con la secuencia líder Shine-Dalgarno de iniciación y codones de iniciación (AUG) y terminación (UAA, UAG, UGA) además de los codones intermedios que codifican para los diferentes aminoácidos que habrán de formar la cadena polipeptídica sintetizada, factores de iniciación (IF1, IF2 GTPasa, IF3), factores de elongación (EF-T_s, EF-T_u GTPasa, EF-G GTPasa o translocasa), actividad peptidil transferasa, factores de liberación (RF₁, RF₂), factores de disociación, fuentes de energía (ATP, GTP) y Mg⁺⁺.

La dirección de lectura del ARNm es $5' \rightarrow 3'$ y la de síntesis del polipéptido $\text{NH}_2 \rightarrow \text{COOH}$. Las etapas del proceso de traducción son: iniciación, elongación y terminación. El ribosoma cataliza dos procesos químicos que implican la formación de enlaces covalentes, a saber: la formación del enlace peptídico entre los sucesivos aminoácidos que se van incorporando en la síntesis del polipéptido (fase de elongación) y la hidrólisis del enlace éster en la fase de terminación de la síntesis.

En Biología, el binomio estructura-función implica que cuando existe una determinada estructura es para realizar una cierta función y, recíprocamente, para que se lleve a cabo una función es necesaria una estructura adecuada. Por eso, esta breve introducción al tema lleva como título «Estructura atómica del ribosoma: estructura y función en el corazón de la Genética». Además, el conocimiento de ese dualismo estructura-función del ribosoma tiene una aplicación clínica muy importante porque muchos de los antibióticos que se utilizan hoy en día actúan bloqueando alguna de las funciones específicas de los ribosomas bacterianos impidiendo su funcionamiento normal y, en consecuencia, curando las enfermedades provocadas por las infecciones bacterianas.

Como señala el informe de la Real Academia de Ciencias de Suecia (2), durante décadas fue desconocida la manera en que el ribosoma realizaba los mencionados mecanismos químicos de estas etapas de reacción covalente. Hubo que esperar a la posibilidad de estudiar en alta resolución las estructuras cristalinas de las subunidades ribosomales, los complejos funcionales del ribosoma y el propio ribosoma en su totalidad (70S).

Fue la Doctora Ada E. Yonath quien abrió el camino, logrando en los primeros años de la década de los ochenta la cristalización y análisis tridimensional de la subunidad grande (50S) de la bacteria termófila *Geobacillus stearothermophilus* (4, 5). No obstante, en estos y otros trabajos de la década los cristales obtenidos difractaban a una resolución en torno a los 10 Å que todavía no permitía la construcción de un modelo atómico detallado. Tendrían que pasar todavía 10 años hasta que los grupos de los otros dos galardonados Thomas Steitz (6-8) y Venkatraman Ramakrishnan (9, 10) llegaban a unos niveles de resolución de 5 Å, 4 Å e inferiores a 3 Å. Obvia-

mente, también el grupo de Yonath alcanzó el nivel de resolución adecuado (11, 12).

Una vez conocida la estructura de las subunidades ribosómicas, el paso siguiente fue analizar los mecanismos que aseguraban la exactitud de la selección de los ARNt (es decir, de los respectivos complejos de transferencia) y la realización del enlace peptídico durante la fase de elongación. El mecanismo de interacción codón-anticodón en la subunidad 30S, que asegura la exactitud del proceso de lectura por el ribosoma del mensaje genético contenido en el ARN mensajero fue analizado por Ramakrishnan y colaboradores (13-15).

En cuanto Steitz y colaboradores (8) obtuvieron la estructura de la subunidad 50S en alta resolución (4.5 Å) se planteó el estudio de los mecanismos mediante los que el ribosoma cataliza la formación del enlace peptídico transfiriendo el péptido naciente (peptidil-ARNt) de la sede P a la sede A (aminoacil-ARNt) (16). En 2004, otros grupos de investigación hicieron importantes contribuciones demostrando, por un lado, la dependencia de la temperatura de la tasa de transferencia (17) y, por otro lado, la demostración cuantitativa de la naturaleza esencial del grupo 2'-OH de A76 del peptidil-ARNt con el componente peptidil unido al O3' de A76 (18).

Basándose en los datos estructurales previamente conocidos y utilizando métodos computacionales moleculares, Trobo y Åkvist (19, 20) propusieron un modelo del mecanismo de formación del enlace peptídico en el ribosoma: el grupo α -amino del aminoacil-ARNt en la sede A ataca al enlace éster del peptidil-ARNt en la sede P.

Como señala Ehrenberg en su revisión Nobel (2), el modelo estructural de la subunidad 50S descubierto por Steitz y colaboradores —con la publicación en 2005 de su «joya de la corona» (21)— fue la base fundamental para clarificar cómo el ribosoma cataliza la formación de los enlaces peptídicos en la etapa de elongación de la cadena polipeptídica.

Otros aspectos importantes en el proceso de la síntesis de proteínas, como son el papel de los factores de liberación (RF1 y RF2) que leen los codones de terminación (UAA, UAG, UGA), fueron analizados en 2008 por los grupos de Noller y de Ramakrishnan estudiando con alta resolución las estructuras de los complejos correspondien-

tes del ribosoma 70S con el factor RF1 (22) y RF2 (23, 24). Asimismo, por un lado, el grupo de Steitz analizó el comportamiento de LepA, que es una GTPasa que cataliza la translocación inversa tanto en el ARNt como en el ARNm y, por otro lado, al analizar en alta resolución la estructura del complejo ribosoma-factor EF-P sugirieron que dicho factor podría facilitar la colocación del complejo de transferencia fMet-ARNt para la rápida formación del primer enlace peptídico una vez iniciado el proceso de traducción (25).

En 2006, el grupo de Ramakrishnan analizó las interacciones del ARNt y ARNm con el ribosoma 70S en la fase de pre-translocación (26) y, finalmente, en 2009, demostraron que las proteínas L27 y L16 de la subunidad 50S del ribosoma estabilizan los extremos CCA de las dos moléculas de ARNt que participan en la reacción peptidil-transferasa, sugiriendo que ambas proteínas intervienen en el mecanismo catalítico de la formación del enlace peptídico (27). En otras palabras, que aunque el ARNt y el ARNr actúan como los principales catalizadores de la formación del enlace peptídico, no se puede descartar que proteínas ribosomales puedan jugar también un papel importante.

La revisión de Ehrenberg (2) terminaba con el siguiente colofón:

«Al principio se creía que la proteína ribosomal llevaba a cabo las acciones catalíticas del ribosoma. Luego se pensó que el catalizador era el ARN ribosomal. Ahora sabemos que la formación del enlace peptídico en el ribosoma bacteriano y quizá en los ribosomas de todos los organismos está catalizado por el ARN y por la proteína ribosomal, así como por el grupo 2'-OH del sustrato peptidil-ARNt en la sede P del ribosoma. [Desde el punto de vista evolutivo] esta triada catalítica puede reflejar un punto de partida más complejo de la ruta hacia el actual mundo de las proteínas que un puro mundo del ARN».

Este colofón de matiz evolutivo en torno al papel del ARN en el origen de la vida nos lleva a recordar el comentario que he hecho en la primera parte de mi intervención en relación con Jack W. Szostak, galardonado con el Premio Nobel en Fisiología o Medicina. Por ello, me permito recoger aquí las palabras que incluí en un cierto pasaje de mi discurso de ingreso en esta Real Academia de Farmacia (28):

«Aunque nuestro conocimiento de la transición prebiótica al “mundo del ARN” está plagado de incertidumbres por falta de datos experimentales, es hora de situar la evolución del ARN en el contexto de la química que le precedió y de la biología que le siguió (29). Por ello pienso que, en términos de evolución del aparato genético, habría que gritar, parafraseando la antigua fórmula de proclamación de los reyes en la monarquía francesa: el ADN ha muerto, ¡viva el ARN!»

4. BIBLIOGRAFÍA

1. Giraldo, R. (2007) Roger Kornberg y la RNAPol II: El mecanismo de síntesis del ácido ribonucleico desvelado al medio siglo de Severo Ochoa y su polinucleótido fosforilasa. *An. R. Acad. Nac. Farm.* 73(1): 125-140.
2. Ehrenberg, M. (2009) Structure and function of the ribosome, *Scientific Background on the Nobel Prize in Chemistry 2009, The Royal Swedish Academy of Sciences*, 22 págs.
3. Crick, F. H. C. (1970) Central dogma of Molecular Biology. *Nature.* 227: 561-563.
4. Yonath, A.; Mussig, J.; Tesche, B.; Lorenz, S.; Erdmann, V. A. & Wittmann, H. G. (1980) Crystallization of the large ribosomal subunits from *Bacillus stearothermophilus*. *Biochem. Int.* 1: 428-435.
5. Yonath, A.; Bartunik, H. D.; Bartels, K. S. & Wittmann, H. G. (1984) Some x-ray diffraction patterns from single crystals of the large ribosomal subunit from *Bacillus stearothermophilus*. *J. Mol. Biol.* 177: 201-206.
6. Ban, N.; Freeborn, B.; Nissen, P.; Penezek, P.; Grassucci, R. A.; Sweet, R.; Frank, J.; Moore, P. B. & Steitz, T. A. (1998) A 9Å resolution X-ray crystallographic map of the large ribosomal subunit. *Cell.* 93: 1105-1115.
7. Ban, N.; Nissen, P.; Hansen, J.; Capel, M.; Moore, P. B. & Steitz, T. A. (1999) Placement of protein and RNA structures into a 5Å-resolution map of 50S ribosomal subunit. *Nature.* 400: 841-847.
8. Ban, N.; Nissen, P.; Hansen, J.; Moore, P. B. & Steitz, T. A. (2000) The complete atomic structure of the large ribosomal subunit at 2.4 Å resolution. *Science.* 289: 902-920.
9. Clemons, W. M. Jr.; May, J. L.; Wimberly, B. T.; McCutcheon, J. P.; Capel, M. S. & Ramakrishnan, V. (1999) Structure of a bacterial 30S ribosomal subunit at 5.5 Å resolution. *Nature.* 400: 833-840.
10. Wimberly, B. T.; Brodersen, C. E.; Clemons, W. M.; Morgan-Warren, R. J.; Carter, A. P.; Vonrhein, C.; Hartsch, T. & Ramakrishnan, V. (2000) Structure of the 30S ribosomal subunit. *Nature.* 407: 327-339.
11. Schluenzen, F.; Tocilj, A.; Zarivach, R.; Harms, J.; Gluehmann, M.; Janell, D.; Bashan, A.; Bartels, H.; Agmon, I.; Franceschi, F. & Yonath, A. (2000) Structure of functionally activated small ribosomal subunit at 3.3 Ångstroms resolution. *Cell.* 102: 615-623.

12. Harms, J.; Schluenzen, F.; Zarivach, R.; Bashan, A.; Gat, S.; Agmon, I.; Bartels, H.; Franceschi, F. & Yonath, A. (2001) High resolution structure of the large ribosomal subunit from a mesophilic eubacterium. *Cell*. 107: 679-688.
13. Ogle, J. M.; Brodersen, D. E.; Clemons, W. M. Jr.; Tarry, M. J.; Carter, A. P. & Ramakrishnan, V. (2001) Recognition of cognate transfer RNA by the 30S ribosomal subunit. *Science*. 292: 897-902.
14. Ogle, J. M.; Murphy, F. V.; Tarry, M. J. & Ramakrishnan, V. (2002) Selection of tRNA by the ribosome requires a transition from an open to a closed form. *Cell*. 111: 721-732.
15. Ogle, J. M. & Ramakrishnan, V. (2005) Structural insights into translational fidelity. *Annu. Rev. Biochem.* 74: 129-177.
16. Nissen, P.; Hansen, J.; Ban, N.; Moore, P. B. & Steitz, T. A. (2000) The structural basis of ribosome activity in peptide bond synthesis. *Science*. 256: 920-930.
17. Sievers, A.; Beringer, M.; Rodnina, M. V. & Wolfenden, R. (2004) The ribosome as an entropy trap. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 101: 7897-7901.
18. Weinger, J. S.; Parnell, K. M.; Dorner, S.; Green, R. & Strobel, S. A. (2004) Substrate-assisted catalysis of peptide bond formation by the ribosome. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 11:1101-1106.
19. Trobo, S. & Åqvist, J. (2005) Mechanism of peptide bond synthesis on the ribosome. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 102: 12395-12400.
20. Trobo, S. & Åqvist, J. (2006) Analysis of predictions for the catalytic mechanism of ribosomal peptidyl transfer. *Biochemistry*. 45: 7049-7056.
21. Schmeing, T. M.; Huang, K. S.; Kitchen, D. E.; Strobel, S. A. & Steitz, T. A. (2005) Structural insights into the roles of water and the 2' hydroxyl of the P site tRNA in the peptidyl transferase reaction. *Mol. Cell*. 20: 437-448.
22. Laurberg, M.; Asahara, H.; Korostelev, A.; Zhu, J.; Trakhanov, S. & Noller, H. F. (2008) Structural basis for translation termination on the 70S ribosome. *Nature*. 454: 852-857.
23. Weixlbaumer, A.; Hin, H.; Neibauer, C.; Voorhees, R. M.; Petry, S.; Kelley, A. C. & Ramakrishnan, V. (2008) Insights into translational termination from the structure of RF2 bound to the ribosome. *Science*. 322: 953-956.
24. Korostelev, A.; Asahara, H.; Lancaster, L.; Laurberg, M.; Hirschi, A.; Zhu, J.; Trakhanov, S.; Scott, W. G. & Noller, H. F. (2008) Crystal structure of a translation termination complex formed with release factor RF2. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 105: 19684-19689.
25. Blaha, G.; Stanley, R. E. & Steitz, T. A. (2009) Formation of the first peptide bond: the structure of EF-P bound to the 70S ribosome. *Science*. 325: 966-970.
26. Selmer, M.; Dunham, C. M.; Murphy, F. V.; Weixlbaumer, A.; Petry, S.; Kelley, A. C.; Weir, J. R. & Ramakrishnan, V. (2006) Structure of the 70S ribosome complexed with mRNA and tRNA. *Science*. 313: 1935-1942.
27. Voorhees, R. M.; Weixlbaumer, A.; Loakes, D.; Kelley, A. C. & Ramakrishnan, V. (2009) Insights into substrate stabilization from snapshots of the peptidyl transferase center of the intact 70S ribosome. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 16: 528-533.

28. Lacadena, J. R. (1995) Historia «nobelada» de la Genética: Concepto y método. *Discurso de Ingreso en la Real Academia de Farmacia*, Madrid, págs. 7-76.
29. Joyce, G. F. (1989) RNA evolution and the origins of life. *Nature*. 338: 217-224.

5. EPÍLOGO

Un año más, tengo que terminar mi intervención mostrando mi orgullo de pertenecer a un ámbito del conocimiento científico como es la Genética, merecedora del más alto reconocimiento, como son los premios Nobel. Así pues, repitiendo y actualizando lo que he venido diciendo en otras ocasiones, hoy, en 2009, como sucediera en años anteriores, podemos estar orgullosos, los amantes de la Genética, porque ya son 38 las veces en que el galardón Nobel ha correspondido a 84 científicos del campo de la Genética o ciencias afines. De los 38 premios considerados, 29 pertenecen al ámbito de la Fisiología o Medicina, ocho a la Química y uno de la Paz y, a su vez, de los 84 científicos galardonados, 65 corresponden a premios de Fisiología o Medicina, 18 de Química y uno de la Paz. Por cierto que, de estos 84 científicos, ¡solamente siete de ellos son mujeres!: Barbara McClintock (1983), Christiane Nüsslein-Volhard (1995), Linda S. Buck (2004), Françoise Barré-Sinoussi (2008), Elizabeth H. Blackburn, Carol W. Greider y Ada E. Yonath (2009), lo cual supone algo más del 8 por 100.

Finalmente, me gustaría destacar que en lo que va de década se ha premiado la investigación genética en ocho ocasiones: 2001 (Hartwell, Hunt y Nurse, «por sus descubrimientos de los reguladores clave del ciclo celular»), 2002 (Brenner, Horvitz y Sulston, «por sus descubrimientos sobre la regulación genética del desarrollo de los órganos y la muerte celular programada»), 2004 (Axel y Buck, «por sus descubrimientos de receptores olorosos y la organización del sistema olfativo»), 2006 (Fire y Mello, «por su descubrimiento de la interferencia por ARN: silenciamiento de genes por ARN de doble cadena»), 2006 (Kornberg, «por sus estudios de la base molecular de la transcripción eucariótica»), 2007 (Capecchi, Evans y Smithies, «por sus descubrimientos de los principios para introducir modificaciones génicas específicas en ratones mediante el uso de células troncales embrionarias»), 2008 (zur Hausen, «por su descubrimiento de los virus del papiloma humano causantes del cáncer cervical»; Barré-Sinoussi y Mon-

tagnier, «por su descubrimiento del virus de la inmunodeficiencia humana»), 2008 (Shimomura, Chalfie y Tsien, «por el descubrimiento y desarrollo de la proteína fluorescente verde, GFP»), 2009 (Blackburn, Greider y Szostack, «por el descubrimiento de cómo los cromosomas son protegidos por los telómeros y la enzima telomerasa») y 2009 (Ramakrishnan, Steitz y Yonath, «por los estudios de la estructura y función del ribosoma»). Sin duda, es una década prodigiosa para la Genética como una Alicia en el «País de las maravillas moleculares», que diría Lewis Carroll (pseudónimo del escritor británico Charles Lutwidge Dodgson, matemático y sacerdote anglicano). En 1995 inicié con mi discurso de ingreso en esta Real Academia (1) la historia «nobelada» de la Genética, que tuve la oportunidad de actualizar doce años después, en 2007 (2), y que, al paso que vamos, ya se me está quedando viejo.

Finalmente, permítaseme hacer alguna profecía (que saben que me gusta hacerlas), repitiendo la que hice el año pasado en las presentes circunstancias: que, antes o después, los grandes pioneros de la Genómica (¿Venter, Collins?) y la Reprogramación celular (¿Wilmot, Gurdon, Yamanaka, Thomson?) serán galardonados con el premio Nobel. ¡Ojalá tengamos ocasión de recordar estas palabras mías en una ulterior sesión científica de esta Real Academia Nacional de Farmacia!

BIBLIOGRAFÍA

1. Lacadena, J. R. (1995) Historia «nobelada» de la Genética: Concepto y método. *Discurso de Ingreso en la Real Academia de Farmacia*, Madrid, págs. 7-76.
2. Lacadena, J. R. (2007) Conmemorando los 100 años del término «Genética» (1905-2005): Una historia «nobelada» de la Genética. *Conferencia plenaria, Congreso de la Sociedad Española de Genética*, Almería, 2005. Secretariado de Publicaciones, Universidad de León. VII + 109 págs.