

## Premio Nobel otorgado a Roger Kornberg por su contribución al conocimiento de la base molecular de la transcripción eucarionte

*Tzvetanka Dimitrova Dinkova\**

**E**l norteamericano Roger D. Kornberg recibió el pasado diciembre el Premio Nobel de Química por sus trabajos sobre uno de los elementos clave de la vida, la transcripción de los genes, siguiendo así las huellas de su padre, Arthur Kornberg, Premio Nobel de Medicina hace cerca de medio siglo. Sus investigaciones le han permitido ser el primero en explicar «la historia familiar sobre la vida», según definición de la Real Academia Sueca de las Ciencias. Kornberg decodificó el proceso de copiado de la información genética contenida en la molécula de ADN a una molécula intermediaria llamada ARN mensajero en el grupo de organismos denominados eucariontes (cuyas células tienen núcleo delimitado y de los cuales los humanos formamos parte). Para que el cuerpo pueda utilizar la información almacenada en sus genes es necesario primero hacer una copia de esa información en el núcleo y transferirla hacia el exterior, donde es utilizada para la producción de proteínas.

La transcripción es fundamental dentro de la vida. Si este proceso se detiene, el organismo muere, ya que las proteínas que se requieren para la función especializada de cada célula en los diferentes tejidos de nuestro cuerpo dejarían de ser sintetizadas. Si por el contrario, la transcripción ocurre de forma descontrolada copiando a ARN mensajero la información de muchos genes que codifican para proteínas que la célula no requiere en este momento para su funcionamiento normal, entonces ocurren alteraciones graves que causan enfermedades como cáncer, procesos inflamatorios dañinos, enfermedades cardíacas, y otros padecimientos. La capacidad de las células madre para diferenciarse a tipos celulares específicos y para formar los diferentes tejidos reside en un mapa de regulación precisa de la expresión genética. Por esto, entender el proceso de transcripción es también importante para el desarrollo de

aplicaciones terapéuticas a las células. Las investigaciones que ameritaron el premio Nobel en Química-2006 son básicas para entender los mecanismos de la vida en sí misma: su origen, su desarrollo y su destrucción.

En el año 1959, cuando apenas tenía 12 años de edad, Kornberg asistía a la entrega del Premio Nobel en Medicina otorgado a su padre, Arthur. En aquella ocasión, la distinción era otorgada por el descubrimiento de la enzima bacteriana responsable de polimerizar los desoxirribonucleótidos durante el copiado de ADN en una molécula idéntica de ADN (hija) en el proceso que se conoce como replicación. Este proceso también es esencial para la vida, dado que la información genética reside en el ADN. Sin embargo, había muchas cosas que aún faltaban por conocerse. El ambiente científico que imperaba en su casa marcó a Roger Kornberg para su futuro desarrollo como investigador. «En casa, hablábamos de ciencia durante la cena, a veces por las tardes y durante las actividades de fin de semana. La ciencia era un placer y algo completamente natural para mis hermanos y para mí», declaró el químico a una revista científica.

Nacido en 1947 en Saint Louis (Missouri, Estados Unidos), Roger Kornberg se doctoró en Química en la Universidad de Stanford, California. Posteriormente, se marchó a Cambridge (Inglaterra) para hacer un posdoctorado en el laboratorio MRC de Biología Molecular de dicha universidad y luego trabajó durante un breve período en el Departamento de Bioquímica de la Escuela Médica de Harvard. En 1978, regresó a la Universidad de Stanford, donde estuvo al frente del Departamento de Biología Molecular durante ocho años, de 1984 a 1992. Desde

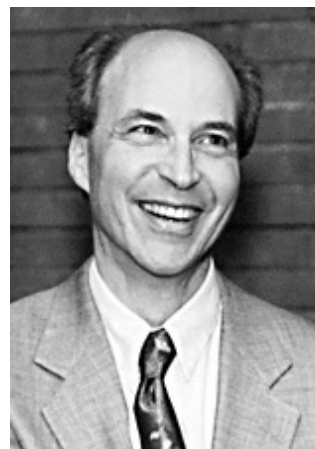


Foto 1. Roger D. Kornberg.

\* Departamento Bioquímica, Facultad de Química, UNAM. 04510 México, D.F.

*Educación Química* agradece a la doctora Dimitrova la amabilidad de elaborar esta reseña del trabajo de Kornberg.

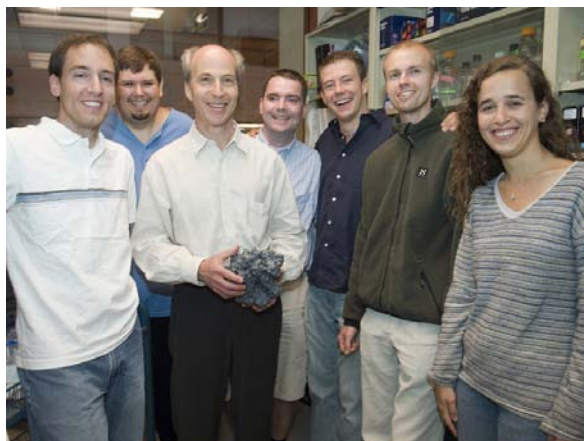


Foto 2. Foto del grupo de trabajo de Roger Kornberg en la Universidad de Stanford (California).

2003 Roger Kornberg ostenta la cátedra George A. Winzer de Biología Estructural en la Escuela de Medicina de la Universidad de Stanford. Pionero en el campo de la regulación genética, Kornberg atesora un buen número de prestigiosos galardones, como el Alfred P. Sloan de la Fundación General Motors para la investigación del Cáncer, el premio Pasarow en investigación del cáncer de la Fundación Pasarow y el Charles-Leopold Mayer de la Academia de las Ciencias francesa. El premio internacional Gairdner y el Merck, otorgado por la Sociedad Americana de Bioquímica y Biología Molecular figuran también en el currículo de este prestigioso investigador que ha recibido el galardón del premio Nobel en Química con absoluta humildad. «Es un honor y un reconocimiento para mí. Pero sobre todo ahora me acuerdo de los colaboradores que han trabajado conmigo en el proyecto».

Los trabajos de investigación de Roger Kornberg sobre el proceso de transcripción comenzaron en los años 70, desde los inicios mismos de su carrera. La información genética reside en el ADN, pero esta larga molécula helicoidal no puede ser leída directamente por la maquinaria encargada de sintetizar las proteínas necesarias para la célula. Los genes son copiados de ADN a ARN por la enzima ARN polimerasa. Hay muchas preguntas que debemos resolver sobre el mecanismo de la transcripción, su regulación y las señales que indican a la ARN polimerasa cuáles genes debe transcribir.

Una de las metas que el joven Roger Kornberg se había propuesto era resolver la estructura tridimensional de la proteína encargada de llevar a cabo la transcripción del ADN a ARN mensajero en

organismos eucariontes, la ARN polimerasa II. Tarea nada fácil, ya que la polimerasa es un complejo de 12 subunidades protéicas que actúan en conjunto durante la transcripción. Para obtener la estructura de cualquier proteína, ésta primero debe ser purificada y posteriormente hay que obtener cristales de la misma. Si bien muchas veces es difícil cristalizar una sola proteína, qué decir de un complejo grande de varias proteínas de un tamaño superior a los 500 kilodaltons. Los trabajos se iniciaron utilizando un organismo eucarionte que ha sido utilizado como modelo en muchos estudios bioquímicos y de biología molecular, la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Hoy, la mayoría de los estudios estructurales se realizan con proteínas recombinantes producidas en bacterias para obtener elevadas cantidades de la proteína deseada con relativamente poco volumen de cultivo. Sin embargo, con la ARN polimerasa II, no se podía utilizar este método, ya que el objetivo era purificar el complejo multimérico intacto, tal cual está trabajando en la célula eucarionte. Para obtener la cantidad suficiente de polimerasa para ser cristalizada, Kornberg y sus colaboradores tuvieron que crecer cultivos enormes de levadura (10,000 litros para los primeros datos de difracción a baja resolución). Poner a punto el método de purificación que permitiera obtener intacto y en cantidad suficiente el complejo de la ARN polimerasa II de levadura llevó más de 10 años de trabajo hasta que consiguieron purificar y cristalizar 10 de las 12 subunidades en complejo de la ARN polimerasa.

Para poder visualizar a escala atómica la estructura de una proteína se emplea la técnica de difracción de rayos X. Los rayos de la luz visible son mucho más largos que las dimensiones de los átomos que constituyen a las proteínas, pero los rayos X son justo del tamaño requerido. Sin embargo, la intensidad de los rayos X empleados en esta técnica debe ser mucho mayor a la comúnmente empleada en hospitales. Los cristales de moléculas complejas como las proteínas son bombardeados con un finísimo haz de rayos X de altísima intensidad lograda mediante el empleo de un sincrotrón. Con las imágenes de difracción obtenidas se llega a reconstruir, tras complicados cálculos matemáticos y mediante el empleo de métodos gráficos en computadora, la estructura tridimensional. Sin embargo, los primeros cristales obtenidos para la ARN polimerasa II no fueron adecuados para resolver la estructura tridimensional, ya que difractaban los rayos X a baja resolución.

En 1999 se incorporó al laboratorio de Kornberg en una estancia posdoctoral Patrick Cramer, un investigador alemán que dio con la clave para superar el problema de los cristales del complejo de la ARN polimerasa II. Él observó que los cristales podían encogerse al deshidratarlos añadiendo paulatinamente cantidades crecientes de una sustancia llamada polietilenglicol (el polímero del anticongelante del radiador de un automóvil). Esta pérdida de agua aumentaba el orden interno de los cristales y difractaba los rayos X a mucha mayor resolución. Pero los problemas no parecían acabar aún. Debido al enorme tamaño del complejo, fue necesario introducir agregados de metales pesados en los cristales, los cuales al poder ser localizados primero, sirvieron para obtener un mapa molecular interpretable del camino que siguen las cadenas polipeptídicas que forman parte del complejo enzimático.

En el año 2000, en la revista *Science* se publicó un impactante artículo del grupo de investigación que dirige Kornberg, cuyo primer autor fue Patric Cramer (Cramer *et al.*, 2000). En este resumen de un largo camino, salió la primera estructura tridimensional del complejo de la ARN polimerasa II de levadura a una resolución atómica de 3 Ångström (diezmillonésima de milímetro). Por si fuera poco, las imágenes incluyeron una molécula de ADN como molde y un transcrito de ARN como producto. Con estos detalles asombrosos se describía al aparato de transcripción en plena acción en la célula eucariote. Menos de un año después, se mejoró la resolución del complejo a 2.8 Ångström (Cramer *et al.*, 2001) permitiendo apreciar cambios sutiles en la conformación que ocurren durante la transcripción activa.

El mecanismo de transcripción que proporcionó Roger Kornberg mediante la estructura de la ARN polimerasa II de levadura constituye exactamente el tipo de “descubrimiento químico más importante” al cual se refería Alfred Nobel en su legado para los premios que otorga la Real Academia Sueca de las Ciencias. Además de estos estudios el científico norteamericano ha realizado muchas otras investigaciones que han marcado pauta en el entendimiento de las bases moleculares de la transcripción en células eucariotes. Parte de estos trabajos profundiza en el estudio de interacciones entre el complejo de la ARN polimerasa II y reguladores de la transcripción eucariote. La pregunta que ahora trata de responder Kornberg es ¿cómo se puede regular la acción de la ARN polimerasa para transcribir sola-

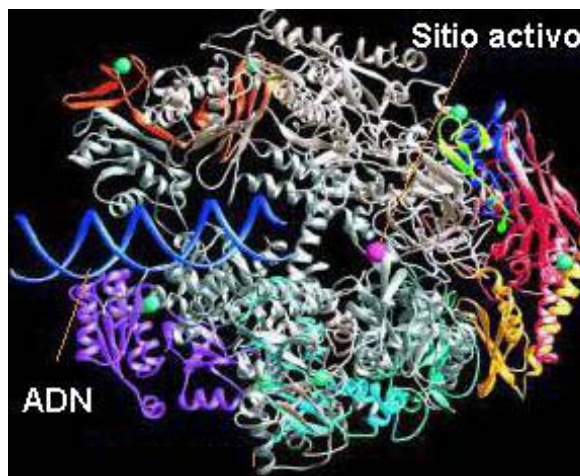


Foto 3. Estructura tridimensional del complejo ARN polimerasa II eucariote (tomada de Cramer *et al.*, 2000).

mente algunos genes en cada etapa del desarrollo del organismo y en respuesta al entorno que lo rodea?

Se conocen muchas proteínas accesorias involucradas en el proceso de transcripción de los genes. A éstas les llamamos activadores o represores de la transcripción, según sea el resultado de su acción. Algunas de estas proteínas han sido incluso establecidas como marcadores genéticos de ciertos tipos de cáncer, de la diabetes y de otras enfermedades. Sabemos también que el resultado de su acción sobre

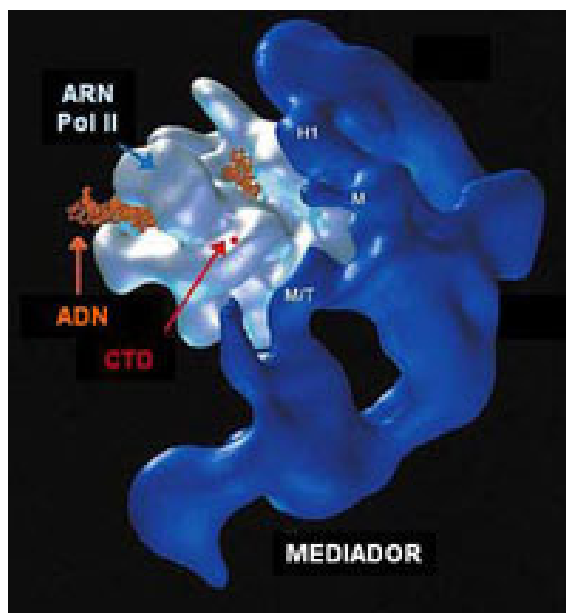


Foto 4. Interacción ARN polimerasa II y Mediador señalando la cadena de ADN y sitios de regulación (CTD) de la polimerasa II (imagen de microscopía electrónica tomada de Davis *et al.*, 2002).



Foto 5. Roger Kornberg (izquierda) saluda a Andrew Fire, Nobel en Medicina, en Stanford junto a su padre, también premio Nobel.

los genes debe ser finalmente asimilado por el complejo de la ARN polimerasa II. El conocer la estructura del complejo de la polimerasa abre el camino para saber cuál es el mecanismo que emplean los activadores y represores para regular la transcripción.

El grupo de investigación de Kornberg se encuentra enfrascado en el estudio de un complejo de proteínas particularmente interesante que interactúa con el complejo de la ARN polimerasa II para transmitir la acción de los activadores y represores de la transcripción de genes. Este complejo es denominado “Mediador”, justo para designar su papel en el proceso y lo tenemos tanto los humanos como el eucarionte más simple que es la levadura. En esta ocasión Kornberg y sus colaboradores hacen uso de un microscopio electrónico de alta resolución para recrear una imagen tridimensional de la ARN polimerasa II en interacción con el Mediador (Davis *et al.*, 2002). Aunque esta imagen no fue creada con la tecnología de difracción de rayos X que se utilizó en el resultado que ameritó el premio Nobel, es un complemento para el conocimiento de la ARN polimerasa en plena acción.

Roger Kornberg fue el segundo laureado con premio Nobel en la Facultad de Medicina de la Universidad de Stanford (California) este año. Dos días antes de esta notificación, Andrew Fire, profesor de Patología y Genética en la misma universidad ganó el premio Nobel en Fisiología o Medicina por el descubrimiento del mecanismo de ARN interfe-

rente. El Dogma Central de la Genética dicta que el flujo de información va desde ADN de doble cadena para producir una molécula ARN mensajero de simple cadena, que a su vez va a dar lugar a la proteína correspondiente encargada de realizar el trabajo en la célula. Como ya hemos visto, el trabajo de Kornberg desentraña el mecanismo de hacer el ARN mensajero de simple cadena. Andrew Fire y su colaborador Craig Mello de la Universidad de Massachusetts demuestran que una molécula pequeña de 20-22 nucleótidos de ARN de doble cadena puede ser producida en la célula y destruir los ARN mensajeros que contienen secuencias idénticas al ARN pequeño de doble cadena. Al eliminar el ARN mensajero se impide el paso hacia la producción de proteína correspondiente. Este proceso al que denominaron ARN de interferencia o interferente está conservado en plantas, animales e incluso eucariontes inferiores, con la notable excepción de la levadura del pan (*Saccharomyces cerevisiae*). Tal ha sido la perspectiva que ha abierto este mecanismo para la medicina que apenas descubierto en el año 1998, ameritó la entrega del premio Nobel en Medicina en 2006.

Dos hombres brillantes trabajando en el mismo lugar, haciendo contribución en campos estrechamente relacionados y poniendo el centro de atención científica y médica en la molécula de ARN, más antigua para la vida aún que el ADN y las proteínas. ¿Qué mayor regocijo para la ciencia que estos acontecimientos? ■

## Referencias

- Cramer, P., Bushnell, D. A., Fu, J., Gnatt, A. L., Maier-Davis, B., Thompson, N. E., Burgess, R. R., Edwards, A. M., David, P. R. and Kornberg, R. D., Architecture of RNA polymerase II and implications for the transcription mechanism, *Science*, 288, 640-649, 2000.
- Cramer, P., Bushnell, D. A. and Kornberg, R. D., Structural basis of transcription: RNA polymerase II at 2.8 Ångström resolution, *Science*, 292, 1863-1876, 2001.
- Davis, J. A., Takagi, Y., Kornberg, R. D. and Asturias, F. A., Structure of the yeast RNA polymerase II holoenzyme: mediator conformation and polymerase interaction, *Molecular Cell*, 10, 409-415, 2002.