



¡ Hágase la luz !

Miquel Coll

La construcción de un sincrotrón en la comarca barcelonesa del Vallés abre grandes expectativas para los biólogos moleculares españoles.

Si los plazos se cumplen, en el año 2009 tendremos electrones circulando a una velocidad cercana a la de la luz por un anillo de 266 metros en lo que será la mayor instalación científica española. Una extraordinaria máquina, el sincrotrón *ALBA*, se construirá en la comarca del Vallés, cerca de Barcelona. Los electrones acelerados por un estrecho tú-

nel de alto vacío y desviados, cada cierta distancia, por potentes electroimanes emitirán radiación electromagnética de altísima intensidad en un espectro muy amplio de longitudes de onda, desde los rayos gamma hasta la luz visible. Alrededor del anillo se situarán, tangencialmente, las llamadas líneas de luz, que es donde en realidad se harán los experimentos (figs. 1 y 2). Los sincrotrones son

como pequeñas estrellas y, aunque más de uno se sorprenda, lo cierto es que su luz ha hecho posible algunos de los descubrimientos clave de la biología molecular. Sin ir más lejos, los datos para la resolución de las estructuras de los canales de Na^+ y K^+ , que le valieron el premio Nobel de Química a Roderick MacKinnon en el año 2003, fueron tomados en diversos sincrotrones.



Figura 1. Imagen interior del sincrotrón de Grenoble. Las líneas de luz salen tangencialmente del anillo por el que circulan electrones a velocidades cercanas a las de la luz

«Una de las propuestas de aplicación del sincrotrón, impulsada por una amplia comunidad de biólogos moleculares estructurales, es la de una línea de cristalografía de macromoléculas.»

El sincrotrón *ALBA* será de tipo medio, con una energía de 3,0 GeV, suficiente para la mayoría de aplicaciones y comparable a los nuevos sincrotrones de tercera generación que se están construyendo en Francia, cerca de París, y en el Reino Unido, no lejos de Oxford. Por cierto, los nombres de estas máquinas también

son comparables y tan evocadores como el de la española: el francés se llamará *SOLEIL* y el británico *DIAMOND*. El diseño del anillo *ALBA* ya ha concluido, mientras que los estudios geológicos del terreno arcilloso sobre el que se asentará empezaron hace más de un año, incluyendo la instalación de marcadores controlados por satélite para comprobar la estabilidad del mismo. Está previsto que las excavadoras empiecen a trabajar después del verano.

La luz de sincrotrón se puede utilizar para muchas cosas. Se entiende fácilmente que una luz tan brillante, sintonizable en un amplio abanico de longitudes de onda que incluyen los rayos X, debe tener múltiples aplicaciones, en todo tipo de disciplinas científicas. Las más importantes son en las ciencias de materiales y las ciencias de la vida. El presupuesto inicial del sincrotrón cubre la construcción de las primeras cinco líneas de luz y el año pasado se abrió una convocatoria de propuestas. Las diversas propuestas, fruto de un año de discusiones dentro de variadas comunidades españolas de usuarios de sincrotrón, han sido presentadas recientemente. Una de las propuestas, impulsada por una amplia comunidad de biólogos moleculares estructurales, es la de una línea de cristalografía de macromoléculas.

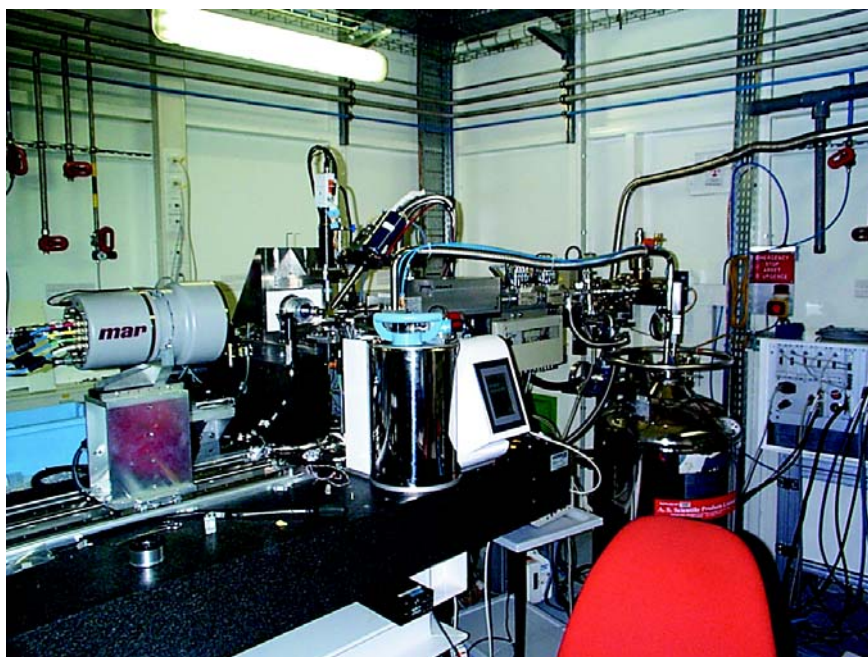


Figura 2. Una línea de cristalografía de proteínas en el sincrotrón de Grenoble

► Una línea de luz para la biología estructural del futuro

Dentro de las ciencias de la vida (y posiblemente para todo el conjunto de disciplinas), la cristalografía de proteínas o macromoléculas es la aplicación principal de un sincrotrón, por el número de

usuarios y por el número e impacto de las publicaciones resultantes. Tal como ha ocurrido en otros países, el número de grupos de cristalografía de proteínas no ha hecho más que crecer en España. Aquí, como en tantas otras cosas, empezamos un poco tarde, pero el crecimiento ha sido exponencial (fig. 3). Hoy tenemos

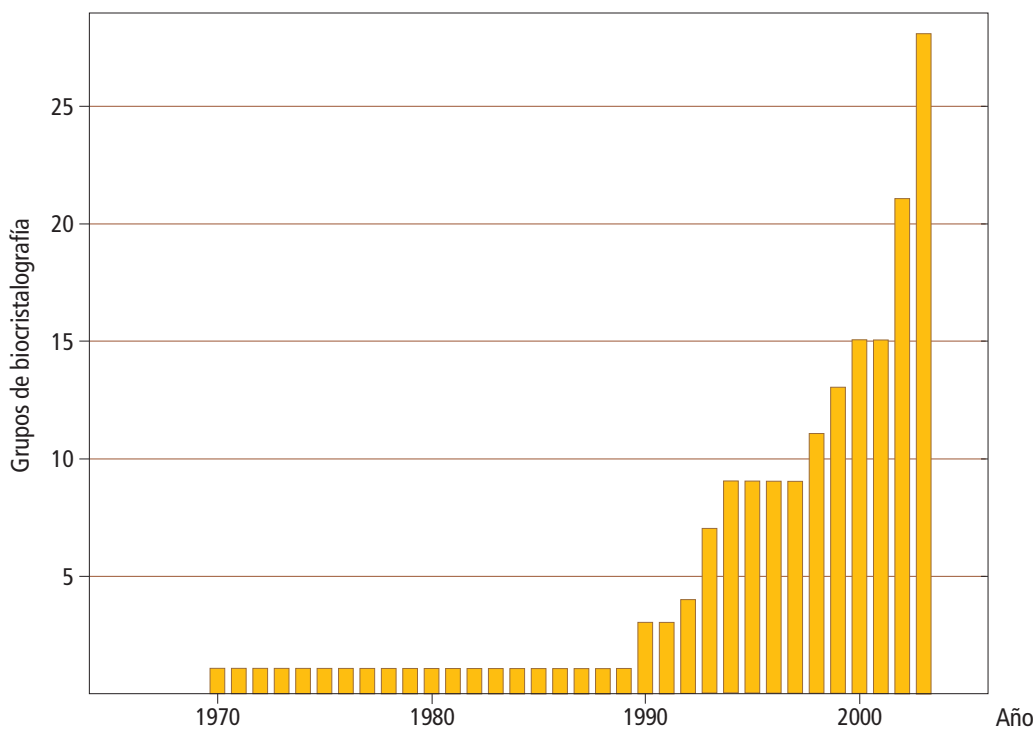


Figura 3. Crecimiento exponencial del número de grupos españoles de cristalografía de proteínas. (Figura elaborada por M. van Raaij.)

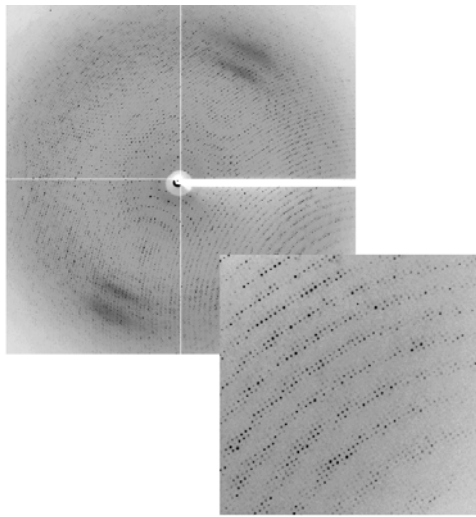


Figura 4. Imagen de difracción de rayos X del virus del resfriado común, tomada en el sincrotrón de Grenoble. (Imagen cedida por Núria Verdaguer.)

cristalógrafos de proteínas por todo el país: en Barcelona, en Bilbao, en Madrid, en Granada, en Salamanca, en Santiago y en Valencia, en un total de 14 institutos o universidades. Un recuento del año pasado daba 26 grupos y éstos, a su vez, colaboraban con 244 grupos de biología molecular o bioquímica. Y es que ésta es una de las características de este tipo de investigación, su gran amplificación. Lo normal es que los cristalógrafos colaboren con otros grupos que producen las proteínas o realizan estudios funcionales con ellas. Hoy parece difícil estudiar a fondo cualquier sistema en el que participen proteínas sin acabar necesitando información estructural sobre el mismo.

Por otra parte, la secuenciación de múltiples genomas ha abierto la puerta al estudio de miles de productos génicos y ha dado lugar a nuevas disciplinas como la genómica (o proteómica, según los gustos) estructural. Es parte de la era posgenómica y consiste en la determinación masiva y rápida de estructuras de proteínas. La necesidad de una línea en ALBA que dé salida a la avalancha que se avecina parece obvia.

Pero hay más: al final, para entender realmente cómo funcionan las proteínas y, en definitiva cómo funciona la célula, habrá que estudiar las interacciones en-

tre los diversos actores. Los complejos – algunos puramente transitorios– o ensamblados de proteínas y de éstas con otras macromoléculas, como los ácidos nucleicos, nos darán la clave para comprender muchos procesos. La biología estructural del futuro irá seguramente por ahí. Las implicaciones técnicas de esta visión no son nimias: una línea de luz

«Una línea de luz para difracción de macromoléculas para el futuro debe ser capaz de tomar datos de difracción de rayos X de cristales de grandes celdas unidad.»

para difracción de macromoléculas para el futuro debe ser capaz de tomar datos de difracción de rayos X de cristales de grandes celdas unidad (fig. 4). Es decir, si esperamos analizar grandes estructuras de complejos, agregados, grandes proteínas multiméricas (figs. 5 y 6) y partículas, éstas van a dar cristales en los que la unidad periódica o de repetición (la celda unidad) será enorme. Sin entrar en farragosos detalles técnicos, el haz de rayos X adecuado para estas celdas unidad gigantes debe ser muy brillante, muy fino y tener muy poca divergencia. Esto es lo que se propone.

Actualmente en Grenoble, en el sincrotrón europeo ESRF, España dispone de una línea parcialmente dedicada a la cristalografía de proteínas. Esta línea, BM16, por estar colocada en un *bending magnet* (uno de los electroimanes que se utilizan para cambiar la trayectoria de los electrones en el anillo), es poco brillante y no sirve para cristales de celdas grandes, ni tampoco para cristales de pequeño tamaño. Y es que este es otro de los problemas que la nueva línea de proteínas en ALBA debería superar. En los laboratorios de cristalografía se está generalizando el uso de robots de cristalización que preparan placas de 96 pozos con gotas de unos 100 nanolitros. La gran ventaja de estos instrumentos, aparte del ahorro de trabajo manual, es que reducen, en un orden de magnitud, la cantidad de proteína necesaria para realizar *screenings* de cristalización. El susto mayúsculo que se llevaba el biólogo molecular estándar cuando su amigo el cristalógrafo estándar le decía que su proyecto era muy interesante, pero que necesitaba 10 o 20 miligramos de proteína pura para seguir hablando del tema, tal vez sea cosa del pasado. Pero no todo tenían que ser ventajas: los robots hacen gotas más pequeñas y las gotas pequeñas dan cristales más pequeños. Y, por desgracia, los cristales pequeños necesitan más fotones por unidad de superficie para difractar decentemente. Es una razón más para que la línea de proteínas en ALBA sea muy brillante, lo que conlleva que esté situada en uno de los tramos rectos del anillo. En estos tramos se insertan unos dispositivos llamados onduladores que confieren una trayectoria sinusoide a los electrones, emitiendo éstos una radiación intensísima.

► Una línea de luz para la industria farmacéutica y biotecnológica

Si uno entra en el web del sincrotrón europeo de Grenoble y mira la lista de usuarios industriales verá que la mayoría de ellos son industrias farmacéuticas y biotecnológicas. Son usuarios de las líneas de cristalografía de proteínas. En efecto, para el desarrollo de nuevos fármacos la cristalografía se ha convertido en una herramienta imprescindible. La visión, a alta resolución, de la estructura

tridimensional de las dianas terapéuticas –las proteínas– complejadas con las moléculas activas o ligandos proporciona una información extraordinaria para rediseñar y optimizar estos últimos.

Pero la cristalografía no sirve sólo para optimizar lo ya existente, también es útil para encontrar nuevas moléculas que se unan a las dianas terapéuticas. Una nueva estrategia, llamada *fragment screening*, consiste en difundir dentro de los cristales de proteína, pequeños fragmentos o trozos de posibles fármacos. La aceleración de las técnicas de resolución de estructuras permite analizar muchos cristales y comprobar cómo y dónde se han unido los fragmentos. Con la información de varios de estos complejos proteína–fragmento se puede diseñar un nuevo ligando que contenga, en una sola molécula, los diversos grupos o fragmentos que se han observado unidos a la diana.

La industria farmacéutica y biotecnológica española ya está utilizando cristalografía de proteínas. Que nosotros sepamos, Almirall-Prodesfarma, Laboratorios Esteve, Uriach, Biokit y CrystaX Pharmaceuticals tienen proyectos en marcha en

este campo. La posibilidad de disponer de un instrumento de alta tecnología próximo y de fácil acceso conferirá competitividad a un sector industrial que ciertamente la necesita, dada la concentra-

ción mundial de grandes *farmas* y su penetración directa y creciente en el mercado español.

► Competir en igualdad de condiciones

La pequeña estrella del Vallés ayudará a nuestras empresas farmacéuticas y biotecnológicas a pelear, en condiciones de mayor igualdad, con sus homólogas de otros países, ya que Gran Bretaña, Alemania, Francia, Suecia, Suiza e Italia –por sólo citar países europeos– disponen de sincrotrones propios, todos con líneas de cristalografía de proteínas. El mismo argumento vale para los biólogos moleculares españoles que, si bien no tienen que competir con sus colegas del otro lado del océano o de los Pirineos por patentes y mercados, sí que deben competir con ellos por ser los primeros en ver –y publicar!– las sorprendentes estructuras tridimensionales de las moléculas de la vida. Y para ver, hace falta luz. #

Miquel Coll

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR DE BARCELONA, CSIC.
PARC CIENTÍFIC DE BARCELONA

Para más información:

Sincrotrón español ALBA: www.cells.es
Asociación de Usuarios de Sincrotrón de España: www.ause.uma.es

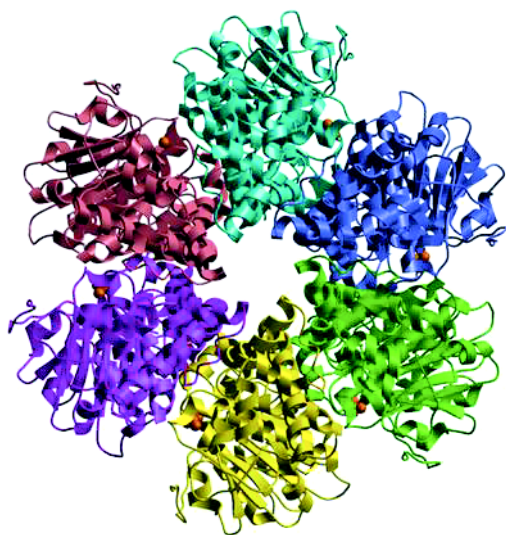


Figura 5. La estructura de la proteína acopladora de membrana TrwB, resuelta en el laboratorio de Miquel Coll, utilizando datos de sincrotrón. Su peso molecular es de 300 kDa

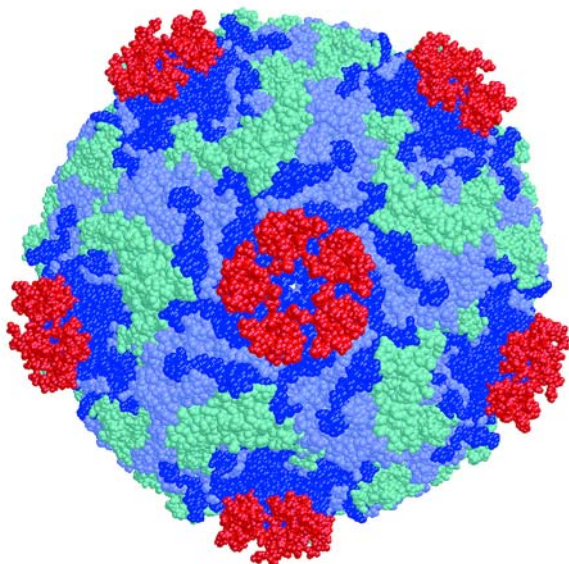


Figura 6. Estructura de la cápside del virus del resfriado común, determinada a partir de los datos tomados en el sincrotrón de Grenoble. Aquí se muestra el complejo con un fragmento del receptor de las lipoproteínas de muy baja densidad (en rojo), que también actúa como receptor de este virus. (Imagen cedida por Núria Verdguer.)