

UN CONDUCTOR DE CARGA LLAMADO ADN

Silvia P. Centeno Benigno y Antonio Heredia Bayona

Durante las últimas semanas pocos medios de comunicación han olvidado dedicar algunas palabras o ediciones especiales acerca de la celebración de los 50 años de la publicación del modelo de la doble hélice del ácido desoxirribonucleico (ADN). Como se indica en la presentación del suplemento especial que la revista *Nature* dedicó el pasado mes de enero [*Nature*, **421**, (2003)] a este evento, hay pocas moléculas que cautivan del modo en que lo hace la molécula de ADN. Atrapa intelectualmente a científicos de muy diferente formación, inspira a artistas y ha sido capaz de cambiar las ideas de la tecnosociedad de comienzos del siglo XXI. La mayoría de nosotros hemos aprendido que la singular estructura del ADN proporciona la base química para entender la genética y cómo la disciplina que denominamos Biología Molecular tiende el puente entre la compleja química del ADN y su manipulación y posterior expresión en los seres vivos, pero en muy pocas ocasiones se nos informa acerca de las propiedades físicas de esta macromolécula. Propiedades, además, que no se diferencian mucho de la de los polímeros de síntesis que la química del siglo pasado fue capaz de desarrollar. Entre ellas se pueden destacar las propiedades mecánicas y eléctricas. Ambas son consecuencia del comportamiento microscópico de la materia, en este caso de las peculiares características estructurales de la macromolécula. En este artículo se pretende proporcionar una actualizada y breve información sobre algunas de las características eléctricas del ADN.

A lo largo de las dos últimas décadas tuvo lugar un gran controversia sobre la cuestión de si la molécula de ADN proporciona un conducto efectivo para el transporte de carga. Este tema ha fascinado a muchos científicos. El empaquetamiento de los pares de bases de la doble hélice, empaquetamiento o "stacking" de las bases aromáticas, no sólo confiere estabilidad al edificio estructural que supone el ensamblaje de la macromolécula, sino que también podría constituir la base molecular para la comunicación de electrones. En este sentido se han llevado a cabo un buen número de experimentos con el objetivo principal de extraer información concluyente sobre las propiedades de transferencia de carga del ADN.

Antes de pasar a exponer el mecanismo a través del cual se produce la conducción de electrones en el ADN, hay que aclarar que se trata de un mecanismo bastante complejo, y que existen multitud de factores que pueden influir en él,

como son el sistema de inyección de la carga, la existencia o no de donadores y aceptores de electrones, la naturaleza de los mismos, la fuerza directriz de la reacción y la secuencia de nucleótidos que va a ser soporte de la transferencia de carga. Pero, a grandes rasgos, puede hablarse de dos tipos de mecanismos: el denominado mecanismo de superintercambio de una etapa, que se produce en condiciones oxidantes; y un segundo mecanismo, multietapa, denominado de saltos ("hopping") y que es característico de condiciones reductoras o bien de aquellos casos en que el estado electrónico excitado del donador de electrones y los niveles vibrónicos del ADN están prácticamente en resonancia. Estos dos mecanismos son bastante distintos entre sí, siendo una de las diferencias más relevantes el hecho de que en el primero la velocidad de transferencia de carga depende de la distancia entre el donador y el aceptor de electrones y en el segundo no se ha observado esta dependencia.

Condiciones oxidantes. Mecanismo de superintercambio en una sola etapa.

En condiciones oxidantes, la inyección de una carga positiva en el ADN provoca la oxidación de una guanina (G), con menor potencial de ionización y mayor afinidad electrónica que adenina (A), timina (T) y citosina (C). Esta transferencia de carga positiva se produce en un solo paso desde el inyector a la guanina más cercana a lo largo de la misma hebra, de manera que los pares A:T no son oxidados, sino que actúan sólo como puentes de la transferencia. La carga positiva se transferirá a la siguiente guanina y así sucesivamente, saltando de guanina en guanina, hasta que llegue a un sumidero de carga, es decir, un "locus" de la molécula donde la energía de estabilización de la carga positiva es mayor que en el resto, como, por ejemplo, una secuencia rica en guaninas. La velocidad de la transferencia de carga no está influida por la naturaleza del puente pero sí por su longitud, disminuyendo con ésta: se puede establecer una correlación logarítmica de la velocidad con la distancia entre dos guaninas consecutivas. Por otro lado, la presencia de bucles, uniones, cruces, hebras triples, etc, no afectan a la transferencia de electrones; sólo los errores en los emparejamientos G:C podrían impedir la transferencia de carga ya que favorecen la desprotonación de la guanina: la migración de la carga positiva está asociada a un desplazamiento de un protón de la guanina hacia la citosina, con lo que si existe un error de emparejamiento aumenta notablemente la acidez de la guanina. [*Chem. Com.*, 667, (2002)].

Condiciones reductoras. Mecanismo multietapa o de “hopping”.

En condiciones reductoras el mecanismo es distinto porque, en primer lugar, la conducción de electrones está en este caso asociada a la formación de aniones, y, en segundo lugar, porque la carga negativa está deslocalizada en el sistema π de los pares de bases. De nuevo, si comparamos los potenciales de ionización y afinidades electrónicas de los pares G:C y A:T, el par G:C es el mejor donador y aceptor de electrones ya que, debido a los puentes de hidrógeno entre G y C, la conjugación de los sistemas π de ambas bases es mayor, y, por tanto, la energía de estabilización por resonancia. No obstante, la diferencia entre las afinidades electrónicas de G:C y A:T es de sólo 4 kcal/mol, del orden de la energía térmica a temperatura ambiente. Esto significa que una vez que se produjera la reducción del primer par G:C, el electrón saltaría al sistema π del próximo par de bases, ya sea G:C o A:T, y así sucesivamente. La conducción de electrones se produce gracias a las interacciones existentes entre los sistemas π de las parejas de bases a causa del apilamiento de éstas. No se observa, en este caso, una dependencia de la velocidad de conducción con la distancia entre donador y aceptor. Sólo puede hablarse de un factor entrópico en el sentido de que sí existe una dependencia con la temperatura y que las bases deben estar perfectamente apiladas para que la transferencia de carga sea efectiva. No obstante, la estabilización del electrón adicional lleva asociado unos cambios estructurales en cada par de bases: los puentes de hidrógeno se deforman en un movimiento denominado de “ábaco” y la base pirimidínica se desplaza fuera del plano definido por ambas bases en otro movimiento conocido como “flapper” (aleteo). Esto da lugar a una distorsión del apilamiento, que contribuye al balance global de energía para la conducción del electrón. De esta manera, podríamos imaginar el movimiento del electrón a lo largo de la doble hélice saltando de un par de bases al siguiente en una especie de efecto “dominó”. [*Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, **46**,15,(1998)].

Consideraciones biológicas

La existencia de procesos de transferencia de carga en el ADN permite llevar a cabo una serie de consideraciones de indudable importancia biológica. Así podríamos destacar las posibilidades de uso de estos procesos como sensores de ADN y para el desarrollo de nuevos métodos de secuenciación del mismo. Es conocida la relevancia, especialmente en investigaciones moleculares del cáncer, de las interacciones entre el ADN de doble cadena y moléculas aromáticas de geometría plana y cíclica. Estas moléculas, denominadas de modo genérico

agentes intercalantes, se sitúan entre el empaquetamiento de los pares de bases pudiendo, debido a sus peculiares características electrónicas, dado que suelen ser buenos aceptores de electrones, interrumpir el transporte electrónico a través del ADN. Las moléculas intercalantes de naturaleza metálica, tales como los complejos de rutenio (III) y rodio (III), son los más usados como “sondas” moleculares, proporcionando interesantes informaciones sobre el alcance de la migración de electrones a través del ADN.

Los agentes intercalantes no están sólo restringidos a moléculas de “diseño químico” que interactúan con el ADN. Las proteínas que se unen a esta macromolécula pueden influir también en la eficiencia de la transferencia electrónica a larga distancia. Así se ha demostrado que la metiltransferasa *HhaI* reduce el transporte de carga a la mitad y, más recientemente, que el enzima de restricción *BamHI* reduce la eficacia del transporte electrónico disminuyendo la densidad electrónica de la base guanina a través del enlace de hidrógeno por mediación del grupo guanidinio, cargado positivamente. Por el contrario, se ha documentado también recientemente que otros enzimas, que interactúan preferentemente con el surco mayor de la doble hélice, pueden aumentar la eficacia del transporte de carga. Es interesante recordar que aún no se conoce en detalle la base molecular del reconocimiento del sitio de unión entre determinadas proteínas y el ADN. Algunos autores postulan que, además de factores intrínsecos de geometría molecular, puede tener lugar un reconocimiento basado en la especial especificidad electrónica que supone las características electrónicas de los pares de bases. Dichas características están basadas en un modo peculiar de “huella electrónica”: los correspondientes potenciales de ionización y afinidades electrónicas de cada una de las bases, funcionando a modo de “código de barras” para un reconocimiento molecular. Los viejos conceptos de naturaleza quimicofísica ayudan, una vez más, a la moderna biología molecular.

Otro interesante impacto del transporte de carga a través del ADN radica en el papel de dicho transporte en la protección de genes frente a mutaciones. Bajo condiciones de estrés oxidativo las bases del ADN, especialmente las guaninas, son oxidadas, pudiendo causar mutaciones en el curso del proceso de replicación. Como sabemos, si la mutación tiene lugar en la región codificante, una proteína mutante puede llegar a ser sintetizada. No obstante, hay determinados genes que poseen secuencias ricas en pares guanina-citosina (G:C) localizadas justo fuera de la región codificante. Se postula que dichas secuencias actúan como

sumideros de carga positiva, a la vez que como fuerza directriz, para la migración de carga a través del ADN ionizado. Esta protección de naturaleza “catódica” de genes, tal y como se le ha denominado, está siendo objeto de importantes investigaciones.

De todos modos, no deja de ser intrigante cómo la naturaleza parece explotar procesos de transporte de carga en el ADN para detectar y resolver potenciales modificaciones de su información genética.

EL SENTIDO DEL OLFATO: EL GRAN DESCONOCIDO

M^a Ángeles Real

Nosotros, inconsciente y conscientemente, hacemos uso de nuestro olfato, y si nos preguntásemos por dónde olemos seguramente nuestra respuesta más inmediata sea que olemos por la nariz, pero como dice Gordon Shepherd, profesor de neurociencia de la Universidad de Yale “nosotros pensamos que olemos con nuestras narices, pero esto es un poco como decir que escuchamos con las orejas”. La nariz es un órgano que sirve para tomar y conducir el aire, mientras que el olfato es un sentido químico, percibe compuestos químicos presentes en el aire o moléculas odorantes que actúan como estímulos y que nos permite obtener información del ambiente que nos rodea, proporcionándonos valiosos datos sobre el mundo exterior, siendo este sentido de importancia vital para la supervivencia de muchos animales. La ciencia ha demostrado que el olfato es clave en las primeras horas de nuestra vida, de hecho diversas investigaciones han demostrado que el recién nacido se guía de su olfato para identificar a su madre, haciendo uso de uno de nuestros sentidos más primitivos. A través de la evolución se ha mantenido conectado con las partes del cerebro que se convirtieron en el archivo de la clasificación de nuestras respuestas emocionales, ligando íntimamente los olores con nuestras emociones. El sentido del olfato juega también un gran papel en la atracción sexual de los animales, e incluso en el hombre, aunque su importancia parece que ha disminuido considerablemente durante su desarrollo evolutivo.

El interés científico por este sistema sensorial tiene una larga historia, en un principio se fue buscando esencialmente la identificación de las vías neuronales y la caracterización de sus propiedades neurofisiológicas. Interiormente las fosas nasales están tapizadas por la mucosa nasal que presenta dos regiones: una inferior o región respiratoria y otra superior o región olfatoria. La primera es de color rojizo por la abundante irrigación sanguínea y su función específica consiste en calentar el aire inspirado impidiendo los enfriamientos bruscos. La segunda es de color amarilla - parduzco por el predominio de células y fibras nerviosas. Su función es exclusivamente

sensorial. Es en esta región donde se encuentran las células olfatorias que reciben los estímulos y los transmiten, por medio del nervio olfativo, al centro del olfato que se halla en la corteza cerebral. Las células sensoriales actúan como receptores primarios de la información, el axón de estas células constituirán una de las fibras del I par craneal u olfatorio y terminará en el bulbo olfatorio, donde se encuentran con las células mitrales, neuronas que ocupan el segundo elemento de esta vía olfativa. Es aquí en el bulbo olfatorio donde se genera un complejo procesamiento de la información olfativa. Los axones de las células mitrales junto con los axones de otras células presentes en el bulbo originan el tracto olfatorio que se dirige hacia distintas regiones cerebrales dianas, entre ellas la corteza piriforme, cuyas proyecciones hacia el tálamo están involucradas en la percepción y discriminación olfatoria consciente. Otras fibras del tracto olfatorio conectan con la corteza entorhinal y la amígdala que a su vez presentan proyecciones con el hipotálamo y el hipocampo, por lo que podrían intervenir en las respuestas emocionales relacionadas con los estímulos olorosos.

Mediante la clonación de receptores olfativos y gustativos se ha iniciado una nueva etapa en el estudio de estos sistemas que promete ayudarnos a responder a una serie de preguntas sobre los sentidos químicos como ¿qué pasa en nuestro sistema nervioso cuando olemos?, ¿cómo distinguimos los distintos sabores?, ¿en qué consiste la experiencia de oler? Aunque las respuestas aún no son satisfactorias, el progreso en los últimos diez años ha sido abismal.

A pesar de todo lo que se conoce sobre la neuronatología del olfato, la revolución de su estudio ha ocurrido tras la aplicación de técnicas de biología molecular. Hasta la pasada década de los noventa el sentido del olfato no fue muy tenido en cuenta, sino que los estudios prioritarios se realizaban en los campos de la visión o de la audición. Hasta hace muy pocos años no se sabía nada sobre cómo los compuestos químicos provocaban una respuesta en las neuronas olfativas, y es ahora cuando parece que se empieza a resolver el problema de cómo