



## Premio Nobel de Medicina y Fisiología 2009

### Las tapas del libro de la vida

Una característica común en el trabajo científico es el uso de un cuaderno para anotar todos los detalles de las observaciones y experimentos que se realizan. Antes de comenzar el trabajo en el laboratorio, el tutor de mi trabajo de fin de máster me habló de la importancia de que en este cuaderno se describa con precisión las características con las que se han realizado todas las experiencias y los resultados, indicando siempre la cronología de los acontecimientos. Además me obsequió con mi primer cuaderno de laboratorio.

A los pocos días una de las tapas de la libreta se salió del alambre del encuadernado y poco después sucedió lo mismo con la otra. Seguí utilizando el cuaderno como si nada pero cuando de verdad me alarmé es cuando me di cuenta que las primeras hojas también se estaban desprendiendo a un ritmo acelerado. Por razones obvias no me ha quedado más remedio que sustituirlo por otro con unas tapas mucho más robustas que también me regaló mi tutor.

Permítanme que utilice esta historia cotidiana de alguien que intenta dar sus primeros pasos en la ciencia para hablarles de un descubrimiento que ha merecido a los investigadores Elizabeth H Blackburn, Jack W Szostak y Carol W Greider nada menos que el Premio Nobel de fisiología o medicina este año. Se trata de los extremos del ADN cromosómico denominados telómeros (del griego *telos*, final, y *meros*, parte) que protegen la información de la vida como las tapas protegen a un cuaderno y la enzima que cataliza su síntesis, la telomerasa.

### El problema del final de la replicación

Para entender la importancia de estos extremos telómeros es necesario examinar el problema del final de la replicación del ADN. En la mayoría de los seres vivos la replicación del ADN ocurre en las dos hebras de la doble hélice al mismo tiempo pero este proceso sólo puede darse en un sentido. Así, para una de las hebras el sentido de replicación coincide con el sentido del desenrollamiento del ADN (hebra conductora) mientras que para la otra la replicación se da en sentido contrario (hebra retardada). La replicación en la hebra retardada ocurre gracias a la incorporación sucesiva de oligonucleótidos de ARN iniciadores en el sentido de avance de la horquilla de replicación a partir de los cuales la ADN polimerasa prosigue el proceso de replicación en sentido contrario, formándose así los denominados fragmentos de Okazaki. Posteriormente los nucleótidos de ARN son sustituidos por los correspondientes de ADN y los fragmentos son ligados, completándose la síntesis de la hebra complementaria.

El problema es que las diferentes características topológicas del extremo final impiden que la síntesis de la nueva hebra complementaria a la hebra retardada pueda completarse, quedando un hueco al final. Este problema desaparece cuando el ADN molde de la replicación es circular, como ocurre en la mayoría de las células procariotas y los virus de ADN.

De este modo, si no hubiera mecanismos que soslayaran este problema en eucariotas, resultaría en la pérdida progresiva de material genético tras cada división celular lo cual compromete la estabilidad cromosómica a lo largo de las generaciones. Esto se puede comprobar experimentalmente al introducir minicromosomas sintéticos (fragmentos de cromosoma de una molécula de ADN lineal) en células de levadura. Después de varias mitosis, se puede observar que estos minicromosomas se han degradado en mayor o menor medida.

### Experimento con *Tetrahymena* y levaduras

Lo contrario ocurre con el ADN que codifica el ARN de los ribosomas (ADNr), que es una molécula lineal independiente de los cromosomas en el protozoo *Tetrahymena thermophila*, cuyo tamaño y secuencia resulta muy estable tras someterse a un gran número de replications. Elizabeth Blackburn demostró que los extremos finales o telómeros de este ADNr están constituidos por varias decenas de repeticiones de una secuencia de seis nucleótidos.

Por otra parte, Elizabeth Blackburn y Jack Szostak usaron las técnicas de la ingeniería genética para unir los fragmentos finales del ADNr de *Tetrahymena* a ambos extremos de un plásmido lineal de levadura. A continuación, se utilizaron estos plásmidos lineales recombinados para transfectar células de levadura. Tras varias generaciones se observó que los plásmidos se mantenían estables (fig 1), quedando demostrado el papel de los telómeros para el mantenimiento de la integridad de los cromosomas a lo largo de las generaciones. Además, el reconocimiento de los telómeros del protozoo *Tetrahymena* por parte de las levaduras sugiere que la función de los telómeros se ha conservado en la evolución de las células eucariotas.

Más adelante, se identificaron las secuencias características de los telómeros propios de las levaduras y se comprobó que existía un número de copias en cada célula igual al número de cromosomas, de lo cual

se puede concluir que cada cromosoma dispone de estas secuencias repetitivas en sus extremos para asegurar su mantenimiento después del ciclo celular.

### Telomerasa

Carol Greider y Elizabeth Blackburn investigaron la síntesis de los telómeros. Primero, sintetizaron telómeros *in vitro* a partir de oligonucleótidos de secuencia similar a los telómeros, desoxinucleótidos trifosfato y extracto de células de *Tetrahymena*. Además, pudieron demostrar que la síntesis de telómeros tenía lugar de forma secuencial, añadiéndose una repetición de la secuencia de seis nucleótidos característica en cada paso, gracias al marcaje isotópico de dGTP y electroforesis del extracto del crudo de reacción.

Posteriormente experiencias demostraron que esta actividad se debe a un complejo ribonucleoproteico (ARN y proteína) al que denominaron telomerasa. Se determinó la secuencia del ARN de la telomerasa y se observó que un fragmento es complementario a la secuencia repetitiva de los telómeros. Así, se propone un modelo que explica la síntesis de los telómeros por parte de la telomerasa usando un molde de ARN intrínseco, desempeñando una actividad tipo transcriptasa inversa. También se explica el hecho de que se repita una secuencia de unos pocos nucleótidos al utilizarse el mismo molde durante toda la síntesis.

### Aplicaciones: cáncer, envejecimiento, enfermedades hereditarias

Los anteriores descubrimientos son clave para comprender los mecanismos que permiten conservar la información genética después de cada ciclo celular. También podemos comprender la limitación del número de veces que podemos cultivar una misma línea celular en el laboratorio si suponemos que los telómeros se acortan progresivamente tras cada replicación.

Actualmente, el estudio de los telómeros y la telomerasa es, por sus aplicaciones biomédicas, un campo de investigación de gran actividad. Por ejemplo, el acortamiento progresivo de los extremos del ADN cromosómico a la largo de las replications da lugar a una inestabilidad genética, una vez que los telómeros se han perdido y el ADN codificante se empieza a degradar. Esta inestabilidad suele resolverse en la muerte celular, pero también puede conducir a la aparición de un tumor por un mecanismo dependiente de p53.

Por otra parte, la actividad telomerasa de células tumorales suele ser anormalmente elevada, lo cual es necesario para que estas células puedan dividirse un número ilimitado de veces. También otros procesos como el envejecimiento y algunas enfermedades hereditarias se estudian desde la perspectiva de los telómeros y la telomerasa.

