

---

# Centro de Reuniones Internacionales sobre Biología

---

Durante 1998 el Centro de Reuniones Internacionales sobre Biología, del Instituto Juan March de Estudios e Investigaciones, organizó un total de catorce reuniones científicas, a las que asistieron 281 científicos invitados y 408 participantes, seleccionados, estos últimos, entre 676 solicitantes. De este conjunto de investigadores, 228 eran españoles y 461 de otras nacionalidades. Se organizaron, además, dos sesiones públicas en conexión con algunas de las reuniones celebradas (los «workshops» tienen carácter cerrado), en las que participaron algunos de los ponentes invitados.

En uno de estos encuentros científicos, el titulado *NO: from Discovery to the Clinic* («Óxido nítrico: del descubrimiento a la clínica») y que, organizado por los doctores Salvador Moncada (Gran Bretaña) y Santiago Lamas (España), se celebró entre el 22 y el 24 de junio, participó el norteamericano Louis Ignarro, quien posteriormente, en el mes de octubre, obtendría, junto a otros dos farmacólogos de la misma nacionalidad, Robert Furchgott y Ferid Murad, el Premio Nobel 1998 de Medicina y Fisiología.

También, como es habitual, se celebró, abierto al público y en inglés con traducción simultánea, el XVII Ciclo de Conferencias Juan March sobre Biología, que convoca anualmente este Instituto y en el que cuatro especialistas extranjeros (entre ellos el Premio Nobel de Medicina Edmond H. Fischer), presentados por otros tantos investigadores españoles, se ocuparon, en esta ocasión, de «Señalización por fosforilación de tirosinas». Además de Edmond H. Fischer, intervinieron en este ciclo Tony Hunter, Joseph Schlessinger y James E. Darnell.

El Consejo Científico del Centro de Reunio-

nes Internacionales sobre Biología está compuesto por los siguientes investigadores: Miguel Beato, Institut für Molekularbiologie und Tumorforschung, Marburgo, Alemania; José Antonio Campos-Ortega, Institut für Entwicklungsbiologie, Colonia, Alemania; Gregory Gasic, Neuron Editorial Offices, Cambridge, EE. UU.; César Milstein, Medical Research Council, Cambridge, Gran Bretaña; Margarita Salas, Centro de Biología Molecular, CSIC-Universidad Autónoma, Madrid; y Ramón Serrano, Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas, CSIC, Valencia.

El Consejo Científico fija las líneas de actividad del Centro y propone iniciativas que puedan llevarse a cabo con la colaboración de laboratorios españoles o extranjeros. También analiza las propuestas de reuniones que sean sometidas al Centro. El Consejo Científico asesora al Centro de Reuniones Internacionales sobre Biología respecto a cualquier materia o circunstancia de carácter científico que pueda suscitarse. El director del Centro es Andrés González.

Los trabajos presentados en cada «workshop» se reúnen en volúmenes, que se publican periódicamente. En 1998 aparecieron quince de estos volúmenes. En el primero de ellos se recogen, con el título *1997 Annual Report*, todas las actividades realizadas en 1997 en el Centro de Reuniones Internacionales sobre Biología. Aproximadamente 400 ejemplares de cada una de estas publicaciones se reparten gratuitamente entre los laboratorios que trabajan en torno a los problemas biológicos discutidos en la reunión correspondiente.

De todas estas actividades se da cuenta en las páginas siguientes.

## XVII Ciclo de Conferencias Juan March sobre Biología: «Señalización por fosforilación de tirosinas»

*Signalling Through Tyrosine Phosphorylation* («Señalización por fosforilación de tirosinas») fue el tema elegido para el XVII Ciclo de Conferencias Juan March sobre Biología, que convoca anualmente el Centro de Reuniones Internacionales sobre Biología, del Instituto Juan March de Estudios e Investigaciones, y que se desarrolló, en sesiones públicas, entre el lunes 2 y el lunes 23 del mes de marzo. Cuatro científicos extranjeros, entre ellos un Premio Nobel, mostraron sus últimos trabajos en torno al tema general objeto del ciclo. El 2 de marzo, el Premio Nobel **Edmond H. Fischer** habló de *Cell Regulation by Protein Phosphorylation* y fue presentado por **Carmelo Bernabéu**. El 9 de marzo, **Tony Hunter** habló de *Structure and Function of Tyrosine Kinases and Phosphatases* y fue presentado por **César de Haro**. El 16 de marzo, **Joseph Schlessinger** habló de *Mechanism of Action of Growth Factor Receptors* y fue presentado por **Flora de Pablo**. El 23 de marzo, **James E. Darnell** habló de *Signalling*

*Genes from the Cell Surface* y fue presentado por **Rafael Fernández Muñoz**.

«Regulación celular por fosforilación de proteínas» fue el tema de **Edmond H. Fischer**. «Podemos considerar el paso de organismos unicelulares a pluricelulares como uno de los grandes hitos en la historia de la Evolución. La diferencia radica en que las células individuales compiten, mientras que las células de un organismo cooperan. Para ello tienen que producirse interacciones celulares, que transcurren a través de la matriz extra-celular. El tráfico constante de mensajes químicos entre células resulta indispensable para que las células individuales posean información sobre el ambiente que las rodea, y esto es un requisito para que pueda haber coordinación celular. En su forma más compleja, este tipo de interacción entre células neuronales da lugar a la memoria, el pensamiento y la consciencia. Una de las señales más frecuentemente empleadas para mantener todas las reacciones celulares bajo control es la fosforilación reversible. Comencé a estudiar este fenómeno hace más de 40 años, mientras investigaba la degradación del glucógeno. Uno de los primeros pasos enzimáticos consiste en la fosforilación de glucosa a glucosa 1-fosfato. La fosforilasa correspondiente está regulada por AMP, siendo activa la forma enzimática ligada a dicha molécula. Nuestro objetivo era descubrir el papel del AMP en este proceso: nunca lo logramos (el fenómeno de regulación alostérica fue descubierto diez años más tarde). Lo que sí descubrimos, en parte por casualidad, fue el fenómeno de regulación enzimática por fosforilación reversible. En estos casos, la actividad de una enzima es regulada por una pareja de enzimas adicionales: una quinasa, que añade un grupo fosfato a la proteína volviéndola activa, y una fosfatasa que cataliza la reacción contraria revertiendo el proceso. Este tipo de regulación está implicado en prácticamente todos los aspectos del metabolismo. En la mayoría de los casos, los aminoácidos fosforilados son serina o treonina, pero Tony Hunter y sus colaboradores descubrieron hace veinte años que la fosforilación de tirosinas tiene gran importancia en procesos de diferenciación y transformación.»



Edmond H. Fischer (Shanghai, China, 1920) se integró en el Departamento de Bioquímica de la Universidad de Washington, en Seattle, de la que es profesor emérito, y en donde inició con Edwin Krebs los estudios sobre la glucógeno-fosforilasa. En 1992, Fischer y Krebs obtuvieron el Premio Nobel de Medicina.



Tony Hunter (Kent, Inglaterra, 1943) se doctoró en la Universidad de Cambridge, en 1969. Tras una etapa postdoctoral en los Institutos Salk de La Jolla, en 1975 se instaló allí como investigador y toda su carrera científica se ha desarrollado en este centro, donde es profesor desde 1982.

«Estructura y función de tirosina-quinasa y fosfatasa» fue el tema de **Tony Hunter**. «Podemos dividir los receptores de tirosina-quinasa (TKR) en dos grupos: los binarios y los intrínsecos; en el primer grupo el dominio extracelular se encuentra asociado de manera no covalente con una proteína intracelular que tiene actividad tirosina-quinasa, mientras que en el segundo grupo ambas funciones coexisten en la misma proteína. Dentro de los receptores intrínsecos, se distinguen las siguientes regiones: 1) un dominio extracelular, que es el que se une al ligando y en el que se da una gran variabilidad de estructuras; 2) un dominio transmembranal; 3) una región intracelular con actividad catalítica tirosina-quinasa; y 4) una región intracelular no catalítica donde tiene lugar la autofosforilación. El mecanismo de activación de estos receptores incluye las siguientes etapas: 1) unión al ligando; 2) dimerización del receptor; 3) fosforilación recíproca de las subunidades del dímero, lo que lleva a su activación; y 4) fosforilación de otros sustratos, lo que inicia una cascada de fosforilaciones que en último término dan lugar a una respuesta celular.»

«Mecanismo de acción de los receptores de factores de crecimiento», fue el tema de **Joseph Schlessinger**. «Se conoce desde hace tiempo que los receptores con actividad tirosina-quinasa (TKR) juegan un papel crucial en el control del crecimiento, diferenciación y metabolismo celulares. El mecanismo de activación comienza por la dimerización de los receptores inducida por la unión con el ligando; esta dimerización es responsable de la activación de tirosina-quinasa mediante autofosforilación, lo que desencadena una compleja cadena de fosforilaciones. Sin embargo, quedan aún numerosas preguntas sin contestar; por ejemplo, cómo median los TKR las respuestas celulares, cómo se produce la activación, de qué forma se controla la especificidad y cómo se produce la inhibición.»

«Señalización de genes desde la superficie celular» fue el tema de **James E. Darnell**. «Una de las cuestiones básicas de la Genética Molecular es la activación de la transcripción de determinados genes, mediada por polipéptidos.

En general, puede que existan dos sistemas principales. El primero tiene lugar mediante factores 'constitutivos', como es el caso de los receptores con actividad tirosina-quinasa que activan la proteína Ras.»

«El segundo sistema se produce mediante traslocación al núcleo inducida por ligando: esto ocurre, por ejemplo, en la activación del receptor TGF $\beta$  seguida por la traslocación al núcleo de la proteína SMAD. En 1982, el estudio de la estimulación de la transcripción mediada por interferones llevó al descubrimiento de la ruta de transducción JAK-STAT. Cuando una célula entra en contacto con un interferón se produce la activación de la transcripción de una serie específica de genes. Esta activación se debe a que ciertas proteínas se unen a cortas secuencias de ADN denominadas IRSE (elemento de respuesta estimulado por interferón) y que están situadas en las regiones reguladoras de los genes activados.»



Joseph Schlessinger (1945) ha impartido la docencia en Israel y en Estados Unidos. Es jefe del Departamento de Farmacología del New York University Medical Center. Es pionero en la comprensión de múltiples aspectos de la señalización celular mediada por receptores tirosina-quinasa.



James E. Darnell (Columbus, Mississippi, 1930) trabaja en la Universidad Rockefeller, de Nueva York, de la que es profesor desde 1974; antes estuvo en el Massachusetts Institute of Technology y en la Universidad de Columbia. Es coautor de *General Virology* y *Molecular Cell Biology*.

## «Iniciación de la replicación en elementos extra-cromosómicos en procariontas»

**Entre el 9 y el 11 de febrero se celebró en el Centro de Reuniones Internacionales sobre Biología, el *workshop* titulado *Initiation of Replication in Prokaryotic Extrachromosomal Elements*, organizado por los doctores M. Espinosa y R. Díaz-Orejas (España), D. K. Chattoraj (EE. UU.) y E. G. Wagner (Suecia). Hubo 18 ponentes invitados y 28 participantes.**

La replicación del ADN, fenómeno mediante el cual una célula fabrica una copia exacta de su material genético, constituye uno de los procesos más importantes de la Biología Molecular de la célula. Como es natural, este fenómeno ha sido estudiado en profundidad, tanto en bacterias como en seres eucariotas. No acaba aquí, sin embargo, el estudio de la replicación, ya que existen elementos genéticos extracromosómicos, en los cuales el fenómeno de la replicación del ADN reviste características propias, a menudo diferentes en muchos aspectos del proceso que tiene lugar

en la célula hospedadora. Los elementos extracromosómicos más comunes en procariontas son los denominados plásmidos, que pueden definirse como una molécula de ADN circular que posee un replicón, lo que le hace capaz de mantenerse y replicarse dentro de una célula bacteriana. Los plásmidos confieren frecuentemente características especiales a la célula hospedadora, como la resistencia a antibióticos o la capacidad de infectar animales o plantas; además, pueden facilitar el intercambio de material genético entre distintas cepas de la misma especie, y aun entre especies alejadas filogenéticamente. Por todo ello, los plásmidos tienen una importancia considerable en la fisiología, ecología y evolución de las bacterias; en todo caso, resulta difícil determinar si estos elementos constituyen una parte separada del genoma bacteriano o si constituyen una entidad completamente distinta que sobrevive en el interior de la célula bacteriana, bien como simbiote, bien como parásito de ésta.

## «Mecanismos implicados en la percepción visual»

**Entre el 23 y el 25 de febrero se desarrolló el *workshop* titulado *Mechanisms involved in Visual Perception*, organizado por los doctores J. Cudeiro (España) y Adam M. Sillito (Gran Bretaña). Hubo 20 ponentes invitados y 29 participantes.**

A veces se compara el proceso de visión con la captación de imágenes por fotografía. Esto puede estar justificado si lo limitamos a las estructuras externas del ojo, ya que en ambos casos existe una lente capaz de enfocar y un mecanismo de tipo diafragma que controla la cantidad de luz. El paralelismo desaparece por completo una vez que se forma una imagen en la retina. A partir de ese momento la luz va a impresionar a diversas células fotorreceptoras que tapizan la retina y comienza un mecanismo de procesamiento de la información visual que requiere el concurso de numerosas estructuras cerebrales (de hecho un porcentaje significativo del cerebro humano está implicado en visión)

y que culmina con una percepción visual. Este proceso es complejo y plantea muchos interrogantes. A diferencia de la cámara fotográfica, el cerebro efectúa operaciones complejas sobre las señales visuales que recibe, seleccionando aquellas que pueden ser significativas y descartando otras, de manera que «ver» e «interpretar lo que se ve» son procesos indisolublemente unidos. De hecho, existen pruebas de que este procesamiento de la información visual comienza en la propia retina, donde puede haber entre 10 y 20 tipos diferentes de células ganglionares, lo que representa otros tantos filtros que codifican aspectos diferentes y paralelos de la imagen proyectada en la retina. La información visual viaja a través de los nervios ópticos hasta el quiasma óptico, donde se produce la convergencia y entrecruzamiento de las fibras que parten de ambas retinas. De ahí pasa a los cuerpos laterales geniculados, que constituyen la vía principal de acceso de la información visual a la corteza cerebral.

## «Señalización mediante Notch/Lin-12»

Entre el 9 y el 11 de marzo se celebró en el Centro de Reuniones Internacionales sobre Biología el *workshop* titulado *Notch/Lin-12 Signalling*, organizado por los doctores Alfonso Martínez-Arias (Gran Bretaña), Juan Modolell y Sonsoles Campuzano (España), con la colaboración de la National Science Foundation. Hubo 23 ponentes invitados y 29 participantes.

El envío y transducción de señales biológicas mediante receptores situados en la superficie celular es uno de los mecanismos centrales en la regulación de múltiples procesos vitales. Han sido descritos centenares de estos receptores, muchos de los cuales están ligados a actividades enzimáticas, como tirosina quinasa o tirosina fosfatasa, y que permiten a la célula integrar información sobre su entorno y desencadenar una respuesta apropiada, como por ejemplo, limitar su proliferación o iniciar una respuesta inmunológica. Durante el desarrollo embrionario, los procesos de comunicación

célula-célula resultan particularmente importantes, ya que cada grupo de células necesita información sobre los grupos vecinos, de manera que cada uno asuma un camino correcto de diferenciación, lo que a gran escala se traduce en el desarrollo normal del organismo de acuerdo con sus características específicas. La proteína receptora Notch juega un papel central en el denominado proceso de inhibición lateral. Este proceso se inicia dentro de un grupo homogéneo de células en desarrollo; sucede que algunas de éstas adquieren ventaja al iniciar un camino de diferenciación hacia un determinado tipo celular; las células «adelantadas» envían señales a las células vecinas con el fin de alejarlas del mismo camino de desarrollo que ellas han emprendido. De esta forma, cuando una célula toma ventaja, el proceso de inhibición lateral acrecienta esta ventaja, condicionando el desarrollo de las células vecinas. El gen Notch fue identificado en la mosca *Drosophila melanogaster* como responsable de este proceso de inhibición.

## «Inserción, plegamiento y dinámica de proteínas de membrana»

Entre el 30 de marzo y el 1 de abril se desarrolló el *workshop* titulado *Membrane Protein Insertion, Folding and Dynamics*, organizado por los doctores José Luis R. Arondo y Félix M. Goñi (España), Ben de Kruijff (Holanda) y B. A. Wallace (Gran Bretaña). Hubo 19 ponentes invitados y 30 participantes.

Las membranas biológicas son esenciales para la vida. Estas estructuras definen la frontera entre la célula y el medio exterior, generalmente acuoso, y también permiten la compartimentación interna de las células eucarióticas. Sin embargo, aunque la estructura básica de las membranas biológicas está constituida por lípidos, son las proteínas de membrana las que llevan a cabo la mayor parte de las funciones específicas de éstas. Entre estas funciones podemos destacar la obtención de energía por medio de gradientes químicos, la comunicación célula-célula, la secreción, o la absorción espe-

cífica de nutrientes. Por otra parte, las proteínas de membrana deben poseer características estructurales que permitan su interacción con la capa lipídica; de aquí que la relación estructura-función, así como los procesos de plegamiento y ensamblaje de estas proteínas planteen problemas muy diferentes a los de las proteínas citoplásmicas. En esta reunión se revisaron aspectos muy diferentes de la Biología de las proteínas de membrana, empezando por la metodología. Numerosas técnicas físico-químicas nos proporcionan información sobre las interacciones entre proteínas y membranas. La Resonancia Magnética Nuclear en estado sólido, el Dicroísmo Circular, la Espectroscopía de Infrarrojo o el Marcaje Dirigido de spin, constituyen nuevas y poderosas herramientas para examinar la estructura, plegamiento y función de las proteínas de membrana. Cabe también mencionar el desarrollo de nuevos abordajes teóricos, como la Dinámica Molecular de proteínas de membrana.

## «Plasmodesmos y el transporte de virus y macromoléculas en plantas»

**Entre el 20 y el 22 de abril se celebró en el Centro de Reuniones Internacionales sobre Biología el workshop titulado *Plasmodesmata and Transport of Plant Viruses and Plant Macromolecules*, organizado por los doctores F. García-Arenal (España), P. Palukaitis y K. J. Oparka (Gran Bretaña). Hubo 22 ponentes invitados y 28 participantes.**

Los plasmodesmos son estructuras celulares especializadas que atraviesan las paredes celulares vegetales y establecen conexiones citoplásmicas entre células contiguas. Estas estructuras fueron descubiertas mediante microscopía electrónica hace aproximadamente cuarenta años, y desde entonces han sido objeto de polémica. Mediante el uso de nuevas técnicas microscópicas (tales como microscopía electrónica de barrido por emisión de campo y microscopía electrónica de barrido de alta resolución), combinadas con técnicas inmuno-citoquímicas, se ha podido establecer

un modelo fiable de la arquitectura tridimensional de los plasmodesmos. Estos constan de una estructura central constituida por un cilindro ondulado, procedente del retículo endoplásmico. Este cilindro contiene inclusiones espirales particuladas de actina, las cuales se conectan con la membrana plasmática mediante radios de miosina. Los plasmodesmos sólo aparecen en células vegetales y tras su descubrimiento se mantuvo la hipótesis de que su función sería conectar células contiguas, dando lugar a un sistema simplástico que compensara el aislamiento en que se encuentran las células vegetales como consecuencia de poseer una pared celulósica. Curiosamente, los avances que se han producido en el conocimiento de los plasmodesmos en los últimos diez años se deben fundamentalmente al trabajo de virólogos vegetales y no de fisiólogos como podría suponerse. La razón estriba en que los plasmodesmos establecen un límite de exclusión o tamaño máximo de una molécula para que pueda atravesarlos libremente.

## «Mecanismos de regulación celular: opciones, tiempo y espacio»

**Entre el 11 y el 13 de mayo se desarrolló el workshop titulado *Cellular Regulatory Mechanisms: Choices, Time and Space*, organizado por los doctores Paul Nurse (Gran Bretaña) y Sergio Moreno (España). Hubo 19 ponentes invitados y 33 participantes.**

Toda célula nace, crece, se divide y muere. Bajo esta aparente simpleza se esconden algunos de los mecanismos más complejos y, ciertamente, más relevantes del mundo biológico. Ya que toda célula tiene que «saber» cuál es el momento más apropiado para dividirse, cuándo debe cesar en su crecimiento o cuándo debe «suicidarse» en beneficio del organismo multicelular que la alberga. A su vez, estas decisiones celulares se producen como respuesta a estímulos internos y externos, muchas veces procedentes de células vecinas. En esta reunión se ha examinado el «estado del arte» de nuestros conocimientos acerca de los

mecanismos de control celular, prestándose particular atención a cuatro temas concretos: el control del ciclo celular, los ritmos circadianos, el cáncer y el desarrollo embrionario.

Antes de dividirse, las células tienen que crecer y replicar su ADN, esto ocurre durante la denominada fase S; durante la fase M (mitosis) se produce la condensación y división equitativa de los cromosomas. Este ciclo requiere la coordinación precisa de sucesos nucleares y citoplásmicos y está controlado fundamentalmente por tres tipos de proteínas: (1) las quinasas dependientes de ciclinas (*cdks*) fosforilan determinadas proteínas clave en residuos de serina o treonina, activando o desactivando procesos; (2) las ciclinas son proteínas que controlan la actividad de las *cdks* y su nivel de expresión en la célula oscila cíclicamente; y (3) recientemente se han aislado inhibidores específicos de *cdks*, tales como Rum1.

## «Conectando el cerebro: mecanismos que controlan la generación de especificidad neural»

Entre el 25 y el 27 de mayo se celebró en el Centro de Reuniones Internacionales sobre Biología el *workshop* titulado *Wiring the Brain: Mechanisms that Control the Generation of Neural Specificity*, organizado por los doctores Corey S. Goodman (EE. UU.) y Roberto Gallego (España). Hubo 22 ponentes invitados y 26 participantes.

Es uno de los problemas importantes en la Biología del Desarrollo explicar cómo aparecen los distintos tipos celulares y cómo ocupan sus posiciones respectivas dentro de los tejidos. Al estudiar el desarrollo del sistema nervioso surge una pregunta adicional: cómo se producen las conexiones precisas entre las neuronas, teniendo en cuenta que el mapa de todas las conexiones posibles es increíblemente complejo. Una neurona está formada por un eje longitudinal (axón) y numerosas expansiones laterales (dendritas), las cuales tienen que conectar con otras células. Para que pueda realizarse un correcto ensamblaje, los axones en crecimen-

to tienen que seguir una trayectoria precisa hasta sus células diana. De aquí surge una de las preguntas más candentes de la Neurobiología actual: qué tipos de moléculas y señales controlan la trayectoria de los axones en crecimiento. Un concepto importante para entender este proceso es el de «especificidad neuronal». Las neuronas en desarrollo que van a tener distintos destinos, por ejemplo, inervar diferentes músculos, son no-equivalentes; esto es, pueden distinguirse unas de otras no sólo por su posición sino por características intrínsecas, que son precisamente las que controlan el tipo de célula diana a la que se dirige la neurona. Según la hipótesis aceptada, la guía de los axones en crecimiento se realiza por la acción de sustancias que actúan como quimio-atrayentes o quimio-repelentes. Uno de los casos más estudiados es el de las semaforinas. Estas proteínas están codificadas por una pequeña familia multigénica, y se ha probado que actúan como señales de guía, tanto en vertebrados como en invertebrados.

## «Factores de transcripción en bacterias implicados en regulación global»

Entre el 11 y el 13 de junio se desarrolló el *workshop* titulado *Bacterial Transcription Factors Involved in Global Regulation*, organizado por los doctores Akira Ishihama (Japón), Roberto Kolter (EE. UU.) y Miguel Vicente (España). Hubo 19 ponentes invitados y 30 participantes.

La regulación génica es un proceso fundamental en todos los seres vivos. De todos los genes presentes en un organismo, sólo una fracción se traduce a proteína en un momento dado. Para ello, una compleja maquinaria celular se encarga de regular «cuánto» y «cuándo» se expresa cada gen, de manera que la cantidad de cada producto génico presente sea la adecuada. El estudio de la regulación génica a nivel molecular comenzó realmente en los años cincuenta, cuando Jacob y Monod formularon el modelo del operón, lo que constituía el primer intento de explicar cómo se regula un gen bacteriano. Desde entonces se han

producido grandes avances en el campo, y actualmente los mecanismos de regulación génica en bacterias son mucho mejor conocidos que los correspondientes en eucariotas.

Sin embargo, a pesar de las evidentes similitudes, existen profundas diferencias en la regulación génica de las bacterias y de los animales y plantas. Las bacterias, como seres unicelulares, se encuentran constantemente expuestas a fluctuaciones en su medio ambiente y a una fiera competencia con otras bacterias por los nutrientes. Por lo tanto, para su supervivencia es fundamental una respuesta rápida a los cambios ambientales, de manera que su maquinaria de crecimiento se encuentre en condiciones óptimas. Para ello es necesario una rápida y exquisita regulación de todos sus genes. Prácticamente toda la regulación génica en bacterias se realiza a nivel de transcripción, proceso que lleva a cabo la ARN polimerasa.

## «Óxido nítrico: del descubrimiento a la clínica»

**En octubre, tres farmacólogos norteamericanos, Robert Furchgott, Ferid Murad y Louis Ignarro obtuvieron el Premio Nobel de Medicina y Fisiología, por sus descubrimientos que llevaron a la identificación del óxido nítrico (NO) como la molécula clave que regula la presión sanguínea. Precisamente, Louis Ignarro participó en el workshop titulado *NO: from Discovery to the Clinic* que, organizado por los doctores S. Moncada (Gran Bretaña) y S. Lamas (España), tuvo lugar entre el 22 y el 24 de junio. Al mismo asistieron 22 ponentes invitados y 27 participantes.**

Hace poco más de una década se realizó el descubrimiento sorprendente de que las células endoteliales liberan óxido nítrico (NO), generándolo a partir del aminoácido arginina. Este hecho reveló la existencia de una ruta metabólica que tiene lugar en diversos tejidos y que realiza muchas y muy importantes funciones fisiológicas. Desde entonces, el estudio

del NO ha atraído la atención de los científicos por la fantástica capacidad de esta molécula para actuar como mediador biológico, siendo fundamental en procesos tales como el control de la presión sanguínea, la transmisión de los impulsos nerviosos y la respuesta inmunológica. Además, está claro que puede actuar como un importante regulador general de los procesos celulares, tales como la expresión génica y función de las mitocondrias. Dentro del organismo, el NO es sintetizado por una familia de enzimas denominadas NO sintetasas (NOS), de las que se han identificado tres isoformas principales: dos constitutivas (nNOS y eNOS) y una inducible (iNOS). En todas ellas es posible distinguir claramente dos dominios proteicos diferenciados: un dominio oxigenasa N-terminal y un dominio reductasa, que es muy similar al que se encuentra en el citocromo P-450. La estructura tridimensional del dominio oxigenasa ha sido determinada recientemente, lo cual permitirá estudiar algunos aspectos del funcionamiento de esta enzima.

## «Cromatina y modificación del ADN: expresión génica y silenciamiento en plantas»

**Entre el 5 y el 7 de octubre se desarrolló el workshop titulado *Chromatin and DNA Modification: Plant Gene Expression and Silencing*, organizado por los doctores Timothy C. Hall, Alan P. Wolffe y R. J. Ferl (EE.UU.) y Miguel Ángel Vega-Palas (España). Hubo 19 ponentes invitados y 29 participantes.**

En los seres vivos existen niveles de organización y por lo tanto el estudio de un mismo fenómeno puede abordarse desde diferentes niveles. Por ejemplo, los citogenéticos comenzaron el estudio de la herencia a nivel celular, describiendo la estructura y dinámica de los cromosomas. Posteriormente, se descubrió que dichos cromosomas están formados por una larga molécula de ADN, la cual se encuentra estrechamente asociada a un grupo de proteínas básicas (histonas), formando estructuras precisas –denominadas nucleosomas– las cuales permiten el empaquetamiento de la molécula

de ADN. Al mismo tiempo, la genética molecular ha descrito los procesos básicos de replicación del ADN y la transcripción de los genes en ARN y proteínas. Dado el rápido avance de la Biología en las últimas décadas, inevitablemente ambos abordajes se han aproximado y, en cierto modo, colisionan.

Existe un buen número de datos genéticos y bioquímicos que relacionan la modificación química de histonas –particularmente acetilación y fosforilación– y la expresión génica. El descubrimiento reciente de que una quinasa capaz de fosforilar histonas es, al mismo tiempo, un componente del complejo de transcripción, constituye la prueba que liga ambos procesos. También se ha descubierto recientemente que algunos activadores transcripcionales pueden acetilar o de-acetilar histonas y que este proceso puede modular el nivel de transcripción de algunos promotores, mediante cambios locales en la estructura de la cromatina.



## «Factores de transcripción implicados en el desarrollo y función de linfocitos»

Entre el 19 y el 21 de octubre se celebró en el Centro de Reuniones Internacionales sobre Biología el *workshop* titulado *Transcription Factors in Lymphocyte Development and Function*, organizado por los doctores Juan Miguel Redondo (España), Patrick Matthias (Suiza) y Sven Pettersson (Suecia). Hubo 19 ponentes invitados y 29 participantes.

Los vertebrados han desarrollado un complejo sistema inmunológico que sirve como mecanismo protector frente a la constante amenaza de microorganismos invasores. Este sistema actúa mediante dos mecanismos principales. El primero, denominado inmunidad humoral, se basa en anticuerpos solubles producidos y secretados por linfocitos de tipo B. El segundo, denominado inmunidad celular, actúa mediante proteínas receptoras situadas en la superficie de los linfocitos T; estas células cumplen diversas misiones, tales como destruir células invasoras (T citotóxicos), ayudar a los linfocitos B a producir anticuerpos (T «helper»)

o inhibir determinadas reacciones (T supresores). Para que el sistema inmunológico pueda funcionar correctamente, es necesario que los diversos tipos celulares que intervienen se encuentren circulando constantemente por los tejidos. Estos tipos celulares deben producirse y desarrollarse también en el individuo adulto a partir de las células madre de la médula ósea. El proceso de diferenciación y desarrollo de los linfocitos B empieza por una especialización irreversible hacia el linaje B, seguido por una activación de maquinaria de recombinación génica para la producción de anticuerpos. Los genes que codifican anticuerpos no están presentes en el genoma como tales genes, sino como fragmentos, los cuales tienen que pasar primero por una reorganización en parte aleatoria; este proceso de «lotería» explica la inmensa variabilidad de los anticuerpos y su capacidad para unirse a virtualmente cualquier antígeno. En los genes que codifican  $\beta$ -globinas, el mecanismo de regulación más importante se debe a la activación de los genes LCR.

## «Nuevas aproximaciones al estudio de los factores de crecimiento en plantas»

Entre el 16 y el 18 de noviembre se desarrolló el *workshop* titulado *Novel Approaches to Study Plant Growth Factors*, organizado por los doctores J. Schell (Alemania) y A. F. Tiburcio (España). Hubo 20 ponentes invitados y 30 participantes.

Nuevas aproximaciones para un viejo problema. En fecha tan temprana como 1880, Julius Sachs postuló que el crecimiento de los diferentes órganos de las plantas está regulado por sustancias biológicamente activas a concentraciones muy pequeñas, denominadas hormonas o factores de crecimiento. En los años cuarenta de este siglo, F. Went realizó un experimento clave que demostraba que un compuesto químico, la auxina, promovía la elongación de coleóptilos de avena. Desde entonces, el estudio del mecanismo de acción de las hormonas ha ocupado un papel central en la fisiología de las plantas y, sin embargo, este estudio ha avanzado, hasta hace poco, a una ve-

locidad exasperantemente lenta, no por falta de interés por parte de los científicos, sino de las técnicas que permitieran nuevos abordajes. Esta situación es radicalmente distinta a finales de los 90. Ello es debido a distintas causas. Primero, el desarrollo de las técnicas de ingeniería genética y de transformación de plantas ha permitido el aislamiento y caracterización de muchos genes de interés, así como estudiar el fenotipo resultante de la sobre-expresión de un determinado gen. En segundo lugar, el uso sistemático de *Arabidopsis thaliana* como modelo, unido al avance vertiginoso de la secuenciación de ADN y el uso de grandes bases de datos genéticas, han permitido un abordaje genético, basado en el aislamiento de dichos factores. En la reunión se revisó el «estado del arte» de nuestros conocimientos sobre el mecanismo de acción de las hormonas vegetales conocidas hasta ahora, cuyo número, por cierto, ha aumentado vertiginosamente en los últimos años.

## «Estructura y mecanismos de canales iónicos»

**Entre el 30 de noviembre y el 2 de diciembre se celebró en el Centro de Reuniones Internacionales sobre Biología el workshop titulado *Structure and Mechanisms of Ion Channels*, organizado por los doctores J. Lerma (España) y R. MacKinnon (Estados Unidos). Hubo 18 ponentes invitados y 31 participantes.**

Dada la importancia biológica de estos procesos de transmisión de señal, se revisó nuestro conocimiento de las proteínas que constituyen los canales iónicos; en particular su estructura tridimensional, en la relación estructura-función y en la descripción a nivel molecular del mecanismo de acción. Idealmente, este conocimiento permitirá describir la compleja cinética de los canales iónicos en condiciones fisiológicas. Los canales de potasio son proteínas que controlan el flujo de estos iones a través de la membrana plasmática; este flujo es necesario para que la señal eléctrica tenga lugar en el sistema nervioso,

para controlar el latido del corazón o para la secreción de determinadas hormonas, como la insulina. Existen muchos tipos de canales de potasio, pero todos conservan características comunes y están formados por cuatro subunidades idénticas que rodean el poro que atraviesa la membrana y que sólo permite el paso de potasio. El control de la apertura y cierre de estos canales requiere un alto grado de cooperatividad entre los cambios conformacionales de las subunidades. Estos cambios pueden estudiarse mediante técnicas modernas, como espectroscopía EPR o el marcaje dirigido de spin. Otro tipo de canales iónicos son los denominados «dependientes de ligando», dado que su apertura y cierre está gobernado por una determinada sustancia. Estos canales están implicados en la transmisión sináptica entre neuronas. En el sistema nervioso central, los receptores de glutamato (GluR) constituyen el grupo predominante de moléculas mediadoras de la señal sináptica.

## Sesión pública de los doctores Nigel Unwin y Roderick MacKinnon

Los *workshops* tienen carácter cerrado, pero en ocasiones se celebra alguna sesión pública como la que tuvo lugar el lunes 30 de noviembre y en la que intervinieron **Nigel Unwin** («How Do Ion Channels Work? Recent Insights from Electron Images») y **Roderick MacKinnon** («Potassium Channels»).

Si los canales iónicos funcionan como interruptores en la membrana, entonces deben tener una posición de encendido y una de apagado. Al tratarse de poros, es más sencillo imaginar que el canal tiene realmente una puerta que puede abrirse o cerrarse según sea necesario. ¿Cómo es esta puerta y qué hace que se abra? Nigel Unwin ha tratado de responder estudiando dos clases de canales iónicos: el canal que conforma a las llamadas *uniones comunicantes*, complejos necesarios entre otras cosas para que todas las células cardíacas latan al unísono, y el receptor de la *acetilcolina*, receptor responsable de la contracción muscular y blan-

co específico de la acción de la nicotina. Su análisis ha requerido del uso de microscopios electrónicos muy poderosos aunado a la utilización de técnicas de cristalografía para observar de forma directa la estructura del canal inmerso en la membrana. Las observaciones que Unwin ha realizado en ambos tipos de moléculas son similares. Una vez que se ha abierto, un canal debe decidir cuáles iones pueden pasar y cuáles no, problema particularmente grave en los canales que gobiernan las propiedades eléctricas de las células nerviosas. Por una parte, estas proteínas deben permitir el paso de cargas positivas y descartar al mismo tiempo a las negativas. Por otra, no deben dejar pasar a toda carga positiva, sino que deben ser capaces de distinguir entre iones que difieren en tamaño de manera casi insignificante como el sodio y el potasio. Roderick MacKinnon ha realizado una serie de estudios que nos han acercado más que nunca a entender la solución que la naturaleza ha ideado para este predicamento.

## «Plegamiento de proteínas»

Entre el 14 y el 16 de diciembre se celebró en el Centro de Reuniones Internacionales sobre Biología el *workshop* titulado *Protein Folding*, organizado por los doctores A. R. Fersht (Gran Bretaña), M. Rico (España) y L. Serrano (Alemania). Hubo 21 ponentes y 30 participantes.

La simulación del proceso de plegamiento proteico mediante ordenador requiere datos experimentales a resolución atómica, con objeto de validar los resultados. Esta información está siendo suministrada por técnicas de ingeniería de proteínas, tales como el análisis de los valores F, las cuales permiten monitorizar el progreso desde cada extremo de la cadena, a medida que transcurre el plegamiento. Por ejemplo, es posible describir completamente, a nivel atómico, el plegamiento de la barnasa a partir de su estado desnaturalizado. Otros estudios realizados con  $\beta$ -péptidos muestran la capacidad de la simulación dinámica para reproducir con exactitud el mecanismo de ple-

gamiento en solución y para reproducir las preferencias conformacionales como una función de la secuencia de aminoácidos. En general, puede afirmarse que nuestro conocimiento de cómo se pliegan las proteínas ha aumentado enormemente en los últimos años, mediante una combinación de técnicas de ingeniería proteica, nuevos e ingeniosos métodos experimentales y el rápido desarrollo de aproximaciones teóricas. El interés por el plegamiento de proteínas no es sólo teórico. Hoy sabemos que ciertas enfermedades están causadas por el plegamiento incorrecto de ciertas proteínas. Tal es el caso de las enfermedades causadas por priones, como el síndrome de Creutzfeldt-Jakob o la enfermedad de las vacas locas; estos priones son agentes infectivos de naturaleza proteica y su mecanismo de acción parece estar relacionado con la inducción de determinados plegamientos proteicos «incorrectos». Otro grupo de enfermedades de «plegamiento» son las amiloidosis, entre las que destaca la enfermedad de Alzheimer.

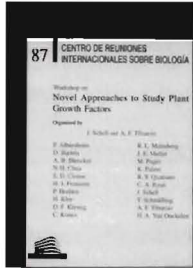
## Sesión pública de los doctores Alan R. Fersht y Luis Serrano

El 14 de diciembre se celebró una sesión pública (los *workshops* son cerrados) en la que intervinieron Alan R. Fersht («Protein Folding and Cancer») y Luis Serrano («Advances in Protein Design»).

Dentro de las proteínas reguladoras está la codificada por el gen p53. La proteína p53 humana es un homotetrámero (es decir, la proteína funcional está formada por cuatro unidades iguales) que actúa como un supresor natural de tumores, conduciendo a la muerte de la célula cuando existe una mutación en la información genética, que pudiera ser letal para las siguientes generaciones celulares. Cada monómero de p53 consta de, al menos, cinco regiones. Alan R. Fersht ha abordado el problema de estudiar la estabilidad y el plegamiento de dos de las regiones de p53: el «core» (la región de unión a ADN), donde se produce la mayor parte de las mutaciones implicadas en cáncer, y el dominio de tetramerización, fundamental para conse-

guir una correcta oligomerización y, por tanto, para generar la actividad de p53. El conocimiento de las interacciones que determinan la estabilidad y el plegamiento de proteínas constituye una firme base para el diseño racional de nuevas proteínas. Según Luis Serrano, en el diseño de nuevas proteínas es necesario considerar una serie de factores: a) se ha de prevenir el proceso de oligomerización y la posible tendencia a la agregación de la proteína diseñada; b) la estructura diseñada ha de ser la más estable termodinámicamente (esto es, la de menor energía); c) es importante considerar asimismo el problema combinatorio: las proteínas son polímeros en los que pueden entrar indistintamente los veinte aminoácidos naturales; y d) la metodología usada hasta ahora estaba basada en un análisis estadístico de las estructuras de proteínas disponibles en los bancos de datos, a partir del cual habrían de determinarse las interacciones que estabilizan los diferentes motivos estructurales.

## Publicaciones del Centro de Reuniones Internacionales sobre Biología



En 1998 se publicaron quince títulos de la colección que publica el Centro de Reuniones Internacionales sobre Biología.

- N° 75: *1997 Annual Report*. Recoge todas las actividades realizadas a lo largo de 1997 en el Centro de Reuniones Internacionales sobre Biología.
- N° 76: *Initiation of Replication in Prokaryotic Extrachromosomal Elements*, organizado por **M. Espinosa, R. Díaz-Orejas, D. K. Chattoraj** y **E. G. H. Wagner**.
- N° 77: *Mechanisms Involved in Visual Perception*, organizado por **J. Cudeiro** y **A. M. Sililito**.
- N° 78: *Notch/Lin-12 Signalling*, organizado por **A. Martínez-Arias, J. Modolell** y **S. Campuzano**.
- N° 79: *Membrane Protein Insertion, Folding and Dynamics*, organizado por **J. L. R. Arrondo, F. M. Goñi, B. de Kruijff** y **B. A. Wallace**.
- N° 80: *Plasmodesmata and Transport of Plant Viruses and Plant Macromolecules*, organizado por **F. García-Arenal, K. J. Oparka** y **P. Palukaitis**.
- N° 81: *Cellular Regulatory Mechanisms:*

*Choices, Time and Space*, organizado por **P. Nurse** y **S. Moreno**.

- N° 82: *Wiring the Brain: Mechanisms that Control the Generation of Neural Specificity*, organizado por **C. S. Goodman** y **R. Gallego**.
- N° 83: *Bacterial Transcription Factors Involved in Global Regulation*, organizado por **A. Ishihama, R. Kolter** y **M. Vicente**.
- N° 84: *Nitric Oxide: From Discovery to the Clinic*, organizado por **S. Moncada** y **S. Lamas**.
- N° 85: *Chromatin and DNA Modification: Plant Gene Expression and Silencing*, organizado por **T. C. Hall, A. P. Wolffe, R. J. Ferl** y **M. A. Vega-Palas**.
- N° 86: *Transcription Factors in Lymphocyte Development and Function*, organizado por **J. M. Redondo, P. Matthias** y **S. Pettersson**.
- N° 87: *Novel Approaches to Study Plant Growth Factors*, organizado por **J. Schell** y **A. F. Tiburcio**.
- N° 88: *Structure and Mechanisms of Ion Channels*, organizado por **J. Lerma, N. Unwin** y **R. MacKinnon**.
- N° 89: *Protein Folding*, organizado por **A. R. Fersht, M. Rico** y **L. Serrano**.

## Reflejo del Centro en publicaciones científicas

Durante 1998, algunas reuniones celebradas en este Centro quedaron reflejadas en los artículos y libros siguientes:

- Akam, M. (1998). «The Yin and Yang of Evo/Devo». *Cell* **92**: 153-155. (Sobre el *workshop* titulado *Development and Evolution*, noviembre 1997.)
- Khan, S. A. y Chattoraj, D. K. (1998). «Initiation of DNA Replication in Phages and Plasmids. A Workshop Summary». *Plasmid* **40**: 1-11. (Sobre *Initiation of Replication in Prokaryotic Extrachromosomal Elements*, febrero 1998.)
- Linden, D. E. J. (1998). «Visual perception: myths and mechanisms». *Trends in Neurosciences* **21** (6): 225-226. (Sobre *Mechanisms Involved in Visual Perception*, febrero 1998.)

- Bray, S. (1998). «A Notch Affair». *Cell* **93**: 499-503. (Sobre *Notch/Lin-12 Signalling*, marzo 1998.)
- Lamas, S., Pérez-Sala, D. y Moncada, S. (1998). «Nitric oxide: from discovery to the clinic». *Trends in Pharmacological Sciences* **19**: 436-438. (Sobre el *workshop* del mismo título celebrado en junio de 1998.)
- **Oxygen Regulation of Ion Channels and Gene Expression** (1998). Eds. J. López-Barneo y E. K. Weir. Futura Publishing Company, Inc. Armonk, N.Y. (Sobre el *workshop* del mismo título celebrado en noviembre de 1996.)
- Glimcher, L. H. Y Singh, H. (1999). «Transcription Factors in Lymphocyte Development-T and B Cells Get Together». *Cell* **96**: 13-23. (Sobre *Transcription Factors in Lymphocyte Development and Function*, octubre 1998.)