

Disfunción, actividad y disactividad proteica: estudios de la proteína E7 del virus del papiloma mediante biología molecular reversa

Ignacio Enrique Sánchez

Laboratorio de fisiología proteica, Departamento de Química Biológica, IQUIBICEN-CONICET, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

Recibido:

Recibido en: 20/05/2015

| Aceptado:

Aceptado en: 10/06/2015

Contacto: Ignacio Enrique Sánchez - isanchez@qb.fcen.uba.ar

Resumen

Reviso algunos conceptos aplicados a las proteínas en investigaciones biológicas de distintas escalas, tomando como ejemplo a la proteína E7 del virus del papiloma. Discuto los conceptos tradicionales de actividad y función (llamada más adecuadamente disfunción) junto con los conceptos complementarios de proceso y disactividad. Mientras que actividad y proceso son definiciones positivas, disfunción y disactividad son definiciones negativas. A continuación uso estas cuatro definiciones para discutir los métodos de trabajo de la fisiología, la biología molecular/celular, la bioquímica/biofísica y la biología de sistemas. Propongo que la biología molecular directa parte de los procesos para investigar hacia las disfunciones, actividades y disactividades. De manera complementaria, se puede definir la biología molecular reversa como una investigación que parte de las disactividades para progresar hacia las actividades, disfunciones y finalmente los procesos.

Palabras clave: disfunción, disactividad, biología molecular reversa

Summary

I review several concepts commonly applied to proteins in biological research at various scales, using the papillomavirus E7 protein as an example. I discuss the traditional concepts of activity and function (more accurately termed dysfunction), together with the complementary concepts of process and disactivity. While process and activity are positive definitions, dysfunction and dysactivity are negative definitions. Next, I use these four definitions to discuss the research approaches of physiology, molecular/cell biology, biochemistry/biophysics and systems biology.

I propose that direct molecular biology takes processes as a starting point to do research towards dysfunctions, activities and dysactivities. In a complementary manner, I can define reverse molecular biology as a research that takes dysactivities as a starting point and progresses towards activities, dysfunctions and, finally, processes.

Keywords: dysfunction, dysactivity, reverses molecular biology

La función proteica no existe (la disfunción proteica sí)

¿Por dónde comienza entonces la investigación? Los seres humanos observamos que los seres vivos están involucrados en procesos. Por ejemplo, una partícula del virus del papiloma infecta una célula y se reproduce [1] (Tabla 1). Podemos estudiar las relaciones entre *input* (variables genéticas y ambientales) y *output* (observables clínicas o evolutivas) en el proceso de infección del sistema virus-célula, lo cual suele llamarse fisiología. En paralelo, también se puede adoptar el reduccionismo y tratar de aislar e identificar los componentes del sistema virus-célula involucrados en el proceso de infección. Un experimento muy habitual sería sacarle un gen al virus (por ejemplo, E7) y observar si el proceso de infección se ve alterado o tal vez desaparece. Si eso ocurre, se suele decir que la función de la proteína codificada por el gen E7 (que podemos llamar E7) es la infección de la célula hospedadora. ¡Error! En primer lugar, la infección es una propiedad del sistema virus-célula y no de la proteína. En segundo lugar, el experimento por la negativa consistió en eliminar un componente del sistema, y el resultado fue la desaparición de un proceso. Así, sería más adecuado describir el resultado por la negativa: “la disfunción de la proteína E7 es la infección de la célula hospedadora” (Tabla 1). En conclusión, las proteínas son componentes de un sistema y se les puede asignar disfunciones en relación a procesos.

Concepto	Sistema	Experimento	Resultado	Interpretación
Proceso	Virus-célula	Observación en distintas condiciones	La infección ocurre en algunas condiciones. Se pueden definir subprocesos como la transformación y la transactivación	Por la positiva
Disfunción	Virus-célula	Deleción del gen E7	La infección se ve alterada	Por la negativa
Actividad	E7-retinoblastoma	Observación en distintas condiciones	La formación de complejos ocurre en algunas condiciones.	Por la positiva
Disactividad	E7-retinoblastoma	Mutaciones puntuales en E7	La formación de complejos se ve alterada	Por la negativa

Tabla 1: Función, disfunción, actividad y disactividad de la proteína E7 del virus del papiloma

La actividad proteica sí existe (la disactividad proteica también)

Por otro lado, es posible caracterizar el comportamiento fisicoquímico de proteínas purificadas en presencia de una o varias biomoléculas relacionadas con su disfunción, como un sustrato o un ácido nucleico. Esta forma de trabajo suele recibir el nombre de **bioquímica** o **biofísica**. En el caso de la proteína E7 del virus del papiloma, se observó que forma complejos de afinidad nanomolar con la proteína retinoblastoma de la célula hospedadora [1]. La formación del complejo E7-retinoblastoma es un ejemplo de **actividad** proteica del par de proteínas E7 y retinoblastoma (Tabla 1). Al contrario que la disfunción, la actividad proteica se define por la positiva: si añadimos E7 y retinoblastoma a un tubo de ensayo en determinadas condiciones, aparecen los complejos. Otra importante diferencia es que la actividad proteica es una propiedad de un número reducido de moléculas (dos en el caso de los complejos E7-retinoblastoma) y de un conjunto de condiciones de entorno que pueden definirse de manera formal, como la temperatura, pH o fuerza iónica. Se podría ir un poco más lejos y alterar los aminoácidos que componen la proteína E7 mediante técnicas de mutagénesis dirigida. En algunos casos, la actividad de formación de complejos con la proteína retinoblastoma se vería alterada o tal vez desaparecería. Se diría entonces, por ejemplo, que la **disactividad** de los aminoácidos Leu22, Cys24 y Glu26 de E7 es la formación de complejos E7-retinoblastoma [2] (Tabla 1). La disactividad es por tanto una propiedad de los componentes de la proteína y definida por la negativa.

Múltiples disactividades, actividades y disfunciones de las proteínas y su integración

En lo que sí se parecen la actividad proteica y la disfunción proteica es en su **multiplicidad**: una proteína dada puede asociarse con múltiples disactividades, actividades y disfunciones. En el caso de E7, se ha reportado que la ausencia de E7 está asociada con la pérdida de los siguientes subprocesos de la infección: desregulación del ciclo celular (también llamada transformación celular) y activación de la transcripción de ciertos genes (también llamada transactivación) [1]. Desde el punto de vista de la actividad, se conocen más de cien complejos formados entre la proteína E7 y proteínas de la célula hospedadora [2]. A su vez, se ha establecido una jerarquía de disactividades que abarca buena parte de la secuencia de E7 [2]. La integración de las disactividades de E7 permite explicar con una resolución de unos pocos residuos qué átomos y fuerzas median las actividades de E7. Es lo que se llama establecer **relaciones estructura-función**. Conectando con el nivel de descripción superior mediante la **biología molecular y celular**, las actividades de la proteína E7 pueden representarse en un diagrama de proteínas conectadas con flechas para explicar así las disfunciones. De manera complementaria, un modelo físico-matemático que usara valores cuantitativos para describir dichas **relaciones actividad-disfunción** pertenecería al campo de la **biología de sistemas**.

La biología molecular directa y reversa

La observación de un proceso biológico suele llevar a la búsqueda de disfunciones proteicas asociadas, para después perseguir caracterizar actividades relacionadas, cuyo descubrimiento

dispara a su vez proyectos dedicados a comprender las disactividades correspondientes. Podríamos llamar a esta poderosa cadena de investigaciones **biología molecular directa** (Figura 1). No obstante, existe una vía alternativa de conocimiento que trabaja a la inversa. Podemos ejemplificarla con dos estudios recientes acerca de la proteína E7 del virus del papiloma. En el primer estudio [2] se usaron técnicas computacionales para estudiar la evolución de la secuencia de la proteína E7 en la filogenia de los papilomavirus. Uno de los resultados reportados fue una abundancia inusualmente alta de cisteínas en ciertas posiciones de la secuencia. En el momento de publicarse ese estudio, se desconocía a qué actividad (si es que había alguna) correspondía esta disactividad huérfana. El estudio bioinformático motivó un estudio bioquímico realizado con la proteína E7 del tipo viral 16 del virus del papiloma humano [3]. Los resultados indicaron que las cisteínas en cuestión regulan la estructura tridimensional y la formación de complejos E7-retinoblastoma según el potencial redox del entorno. En otras palabras, se pudo ir desde una disactividad postulada para la proteína E7 hasta la regulación de una actividad conocida (formación de complejos) y el descubrimiento de una nueva actividad (conformación). Se podría llamar a esta vía de conocimiento poco transitada **biología molecular reversa** (Figura 1). La pregunta pendiente en el caso de la proteína E7 es si la nueva actividad podrá guiar la mejor comprensión de disfunciones ya conocidas y/o el descubrimiento de nuevas disfunciones relacionadas con el proceso de infección.

fig1

Figura 1: Biología molecular directa y reversa de la proteína E7 del virus del papiloma.

Referencias:

1. **Chemes LB, Sánchez IE, Alonso LG, de Prat-Gay G** (2011) Intrinsic disorder in the human papillomavirus E7 protein. *Flexible Viruses: Structural Disorder in Viral Proteins* 313-346
2. **Chemes LB, Glavina J, Alonso LG, Marino-Buslje C, de Prat-Gay G, Sánchez IE** (2012) Sequence evolution of the intrinsically disordered and globular domains of a model viral oncoprotein *PLoS One* 7(10):e47661.
3. **Chemes LB, Camporeale G, Sánchez IE, de Prat-Gay G, Alonso LG** (2014) Cysteine-rich positions outside the structural zinc motif of human papillomavirus E7 provide conformational modulation and suggest functional redox roles *Biochemistry* 53(10):1680-96.

El autor es investigador de CONICET

Química Viva

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista Química Viva

Volumen 14, Número 2, Agosto de 2015

ID artículo: F0225

DOI: no disponible

[Versión online](#)