

NOBEL DE QUÍMICA 2018

Una (r) evolución en química

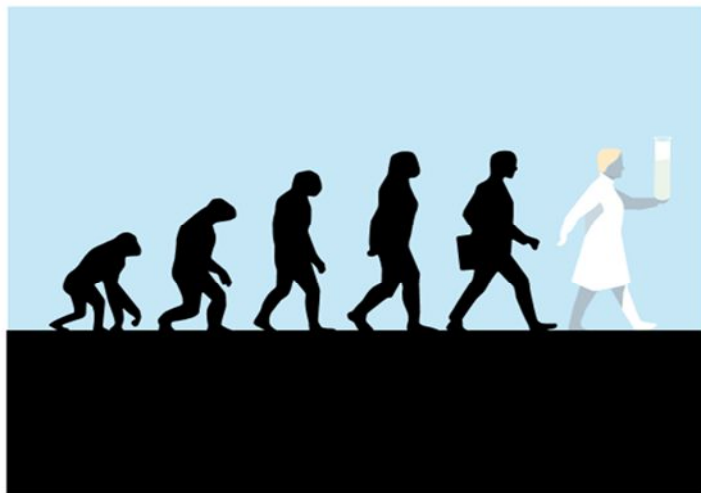
*El poder de la evolución se revela a través de la diversidad de la vida. El Premio Nobel de Química 2018 se otorga a **Frances H. Arnold, George P. Smith y Sir Gregory P. Winter** por la forma en la que han desentrañado algunos de los mecanismos usados en el proceso evolutivo y los han utilizado en beneficio de la humanidad. Las enzimas desarrolladas por la evolución se usan ahora para producir biocombustibles y fármacos, entre otras cosas. Los anticuerpos desarrollados, utilizando el método llamado **phage display**, pueden combatir las enfermedades autoinmunes y, en algunos casos, curar el cáncer metastásico.*

Vivimos en un planeta donde actúa una fuerza poderosa: la evolución. Desde que aparecieron los primeros seres vivos, hace unos 3700 millones de años, toda la Tierra ha sido colonizada por organismos adaptados a su entorno: líquenes que viven en laderas de montañas desnudas, arqueas que prosperan en aguas termales, reptiles adaptados a la vida en desiertos y medusas que brillan en la oscuridad de los océanos más profundos.

En el colegio, y en la asignatura de biología, aprendemos cosas sobre estos organismos, pero cambiemos de perspectiva y mirémosles desde el punto de vista de la química. La vida en la Tierra existe porque la evolución ha resuelto numerosos y complejos problemas químicos. Todos los organismos pueden extraer materiales y energía de su propio nicho ambiental y utilizarlos para sintetizar los compuestos que necesitan. Los peces pueden nadar en los océanos polares gracias a las proteínas anticongelantes que tienen en su sangre y los mejillones pueden adherirse a las rocas porque han desarrollado un pegamento capaz de actuar bajo el agua, por dar algunos ejemplos.

La asombrosa química de la vida está programada en nuestros genes, lo que permite que se herede y se desarrolle. Pequeños cambios aleatorios en los genes pueden producir cambios en esta química. Esos

cambios conducen unas veces a un organismo menos apto, otras a uno más apto, mejor adaptado. La nueva química se ha desarrollado gradualmente y la vida en la Tierra se ha vuelto cada vez más compleja.



Este proceso ha ido tan lejos que ha dado lugar a tres, sumamente complejos, que han logrado dominar la evolución. El Premio Nobel de Química 2018 se otorga a **Frances H. Arnold, George P. Smith y Sir Gregory P. Winter** por haber revolucionado tanto la química como la obtención de nuevos fármacos gracias a lo que se ha dado en llamar la **evolución dirigida**.

Empecemos con la estrella de la ingeniería de enzimas: **Frances Arnold**.

Figura 1. Los premiados con el Nobel de Química 2018 se han inspirado en la evolución para lograr importantes avances.

Enzimas, las herramientas químicas más específicas de la vida.

Ya en 1979, como ingeniera mecánica y aeroespacial recién graduada, **Frances Arnold** tenía un propósito claro: beneficiar a la humanidad gracias al desarrollo de nuevas tecnologías. Los Estados Unidos habían decidido entonces que el 20% de su energía provendría de fuentes renovables para el año 2000, y ella trabajaba en energía solar. Sin embargo las perspectivas respecto de esta industria cambiaron radicalmente después de las elecciones presidenciales de 1981, por lo Frances orientó su carrera hacia la nueva tecnología del ADN. Como ella misma comentó: *"estaba claro que una forma completamente nueva de hacer materiales y productos químicos, que necesitamos en la vida cotidiana, sería posible gracias a nuestra capacidad de reescribir el código de la vida"*.

En lugar de producir fármacos, plásticos y otros productos químicos utilizando la química tradicional, que a menudo requiere disolventes fuertes, metales pesados y ácidos corrosivos, su idea era utilizar las herramientas químicas de la vida: **las enzimas**, que catalizan las reacciones químicas que tienen lugar en los organismos vivos. Por tanto si aprendemos a diseñar nuevas enzimas podremos cambiar radicalmente la química.

El pensamiento humano tiene limitaciones.

Inicialmente, como muchos otros investigadores a fines de la década de 1980, Frances Arnold intentó usar un enfoque racional para reconstruir las enzimas y darles nuevas propiedades, pero las enzimas son moléculas extremadamente complejas. Se construyen a partir de veinte tipos diferentes de moléculas básicas (aminoácidos) que pueden combinarse infinitamente. Una sola enzima puede consistir en varios miles de aminoácidos unidos entre sí en largas cadenas plegadas en estructuras tridimensionales. La capacidad para catalizar una reacción química particular depende de su conformación estructural.

El uso de la lógica para tratar de descubrir cómo se debe remodelar esta arquitectura para darle a una enzima nuevas propiedades es muy difícil, incluso con los conocimientos actuales y utilizando la capacidad de cálculo de los ordenadores. A principios de la década de 1990, reconociendo la superioridad de la naturaleza, Frances Arnold decidió abandonar esta forma de trabajar, "*un enfoque un tanto arrogante*", según sus propias palabras, y pasó a inspirarse en el método que la naturaleza usa para optimizar la química: la evolución.

Arnold comienza a jugar con la evolución.

Durante varios años Frances intentó modificar una enzima llamada **subtilisina** (serina endopeptidasa) para que, en lugar de catalizar reacciones químicas en solución acuosa, funcionara en un disolvente orgánico, la dimetilformamida (DMF). Produjo cambios aleatorios (mutaciones) en el código genético de la enzima y luego introdujo estos genes mutados en bacterias que producían miles de variantes diferentes de subtilisina.

Después el desafío consistió en descubrir cuál de todas estas variantes funcionaba mejor en el solvente orgánico. En evolución hablaríamos de supervivencia del más apto; en evolución dirigida esta etapa se llama **selección**.

Frances Arnold utilizó el hecho de que la subtilisina descompone la proteína de la leche, la caseína. Luego seleccionó la variante de subtilisina que fue más efectiva para descomponer la caseína en una solución con un 35 % de DMF. Posteriormente introdujo una nueva ronda de mutaciones aleatorias en esta subtilisina, que produjo una variante que funcionó incluso mejor en DMF.

En la tercera generación de subtilisina, encontró una variante que funcionaba 256 veces mejor en DMF que la enzima original. Esta variante de la enzima tenía una combinación de diez mutaciones diferentes, cuyos beneficios nadie podría haber previsto de antemano.

Con esto Frances Arnold demostró el poder del azar y la selección dirigida para gobernar el desarrollo de nuevas enzimas frente a la racionalidad exclusivamente humana. Este fue el primer y decisivo paso hacia la revolución que hoy estamos presenciando.

El siguiente paso importante fue dado por **Willem P. C. Stemmer**, un investigador y empresario holandés, muerto en 2013, que mostró el camino hacia otra dimensión en la evolución dirigida de las enzimas: **el apareamiento en un tubo de ensayo**.

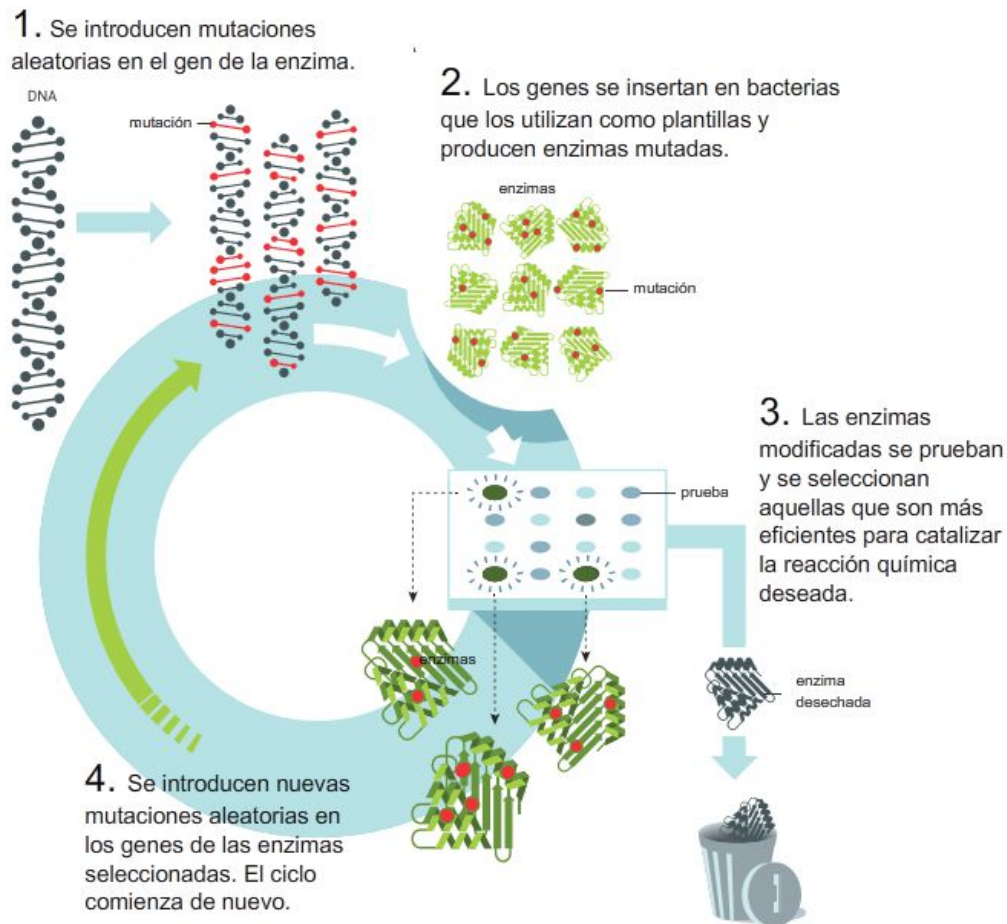


Figura 2. El principio subyacente en la evolución dirigida de las enzimas. Después de unos pocos ciclos de evolución dirigida una enzima puede ser varios miles de veces más efectiva.

Apareamiento para una evolución más estable.

Un requisito para la evolución natural es que los genes de diferentes individuos se mezclen por apareamiento o polinización, por ejemplo. Las características beneficiosas se pueden así combinar y dar lugar a un organismo más apto. Al mismo tiempo las mutaciones genéticas menos funcionales pueden desaparecer de una generación a otra.

Willem Stemmer reprodujo en el laboratorio algo equivalente al apareamiento: barajar el ADN. En 1994, demostró que era posible cortar un gen en pedazos pequeños y luego, con la ayuda de las herramientas de la tecnología de ADN, unir las piezas en un gen completo, un mosaico de las versiones originales.

Usando varios ciclos de mezcla de ADN, Willem Stemmer cambió una enzima para que se volviera mucho más efectiva que la enzima original. Demostró que el apareamiento de los genes, lo que los investigadores llaman **recombinación**, puede dar lugar a enzimas aún más eficientes.

Nuevas enzimas producen biocombustibles sostenibles.

La tecnología utilizada para manipular el ADN se ha refinado desde principios de la década de 1990 y los métodos utilizados en la evolución dirigida se han multiplicado. Frances Arnold ha estado a la vanguardia de estos desarrollos. Las enzimas que ahora se producen en su laboratorio pueden catalizar reacciones químicas que ni siquiera existen en la naturaleza, produciendo materiales completamente nuevos. Las enzimas adaptadas también se han convertido en herramientas importantes en la fabricación de diversas sustancias, como los fármacos. Las reacciones químicas se aceleran, se producen menos subproductos y, en algunos casos, ha sido posible excluir los metales pesados utilizados por la química tradicional, lo que reduce considerablemente el impacto ambiental.

El círculo se ha completado: Frances Arnold ha vuelto a trabajar de nuevo en la producción de energía renovable. Su grupo de investigación ha desarrollado enzimas que transforman los azúcares simples en isobutanol, una sustancia rica en energía que se puede usar para la producción de biocombustibles y plásticos verdes. Un objetivo a largo plazo es producir combustibles para un sector del transporte más respetuoso con el medio ambiente. Los combustibles alternativos, producidos por las proteínas de Arnold, se pueden usar en automóviles y aviones. De esta manera las enzimas están contribuyendo a un mundo más verde.

Veamos ahora la segunda mitad del Premio Nobel de Química de 2018, donde con la evolución dirigida se han logrado sintetizar fármacos que pueden neutralizar toxinas, combatir la progresión de enfermedades autoinmunes y, en algunos casos, incluso curar el cáncer metastásico. Aquí es donde un pequeño virus que infecta las bacterias juega un papel vital junto con el phage display.

Smith utiliza bacteriófagos

Como suele suceder, la ciencia ha tomado un camino impredecible. En la primera mitad de la década de 1980, cuando **George Smith** comenzó a usar bacteriófagos (virus que infectan bacterias) se tenía la esperanza de que pudieran usarse para clonar genes. La tecnología del ADN aún era joven y el genoma humano era un continente ignoto. Los investigadores sabían que el ADN contenía todos los genes necesarios para producir las proteínas del cuerpo, pero identificar un gen específico para sintetizar una proteína determinada era tan difícil como encontrar una aguja en un pajar.

Quien lo consiguiera obtendría enormes beneficios. Usando las nuevas herramientas disponibles podrían insertarse genes en bacterias que, con un poco de suerte, podrían producir la proteína a estudiar. Todo el proceso se denominó **clonación de genes** y George Smith tuvo la idea de que se podrían usar los bacteriófagos para identificar los genes.

Bacteriófagos: el vínculo entre la proteína y su desconocido gen

Los bacteriófagos son simples por naturaleza. Consisten en una pequeña cantidad de material genético encapsulado por proteínas protectoras. Cuando se reproducen inyectan su material genético en las bacterias quienes producen nuevas copias del material genético del fago y de las proteínas que forman la cápsula formando nuevos fagos.

Según George Smith podría usarse la reproducción de los fagos para encontrar el gen que codifica una proteína determinada. Se disponía de grandes bibliotecas moleculares que contenían fragmentos de varios genes desconocidos. Su idea era que estos fragmentos de genes desconocidos se podrían introducir en el fago y al producirse nuevos fagos las proteínas sintetizadas a partir del gen introducido aparecerían en la superficie del fago formando parte del revestimiento proteico de la cápsula (figura 3).

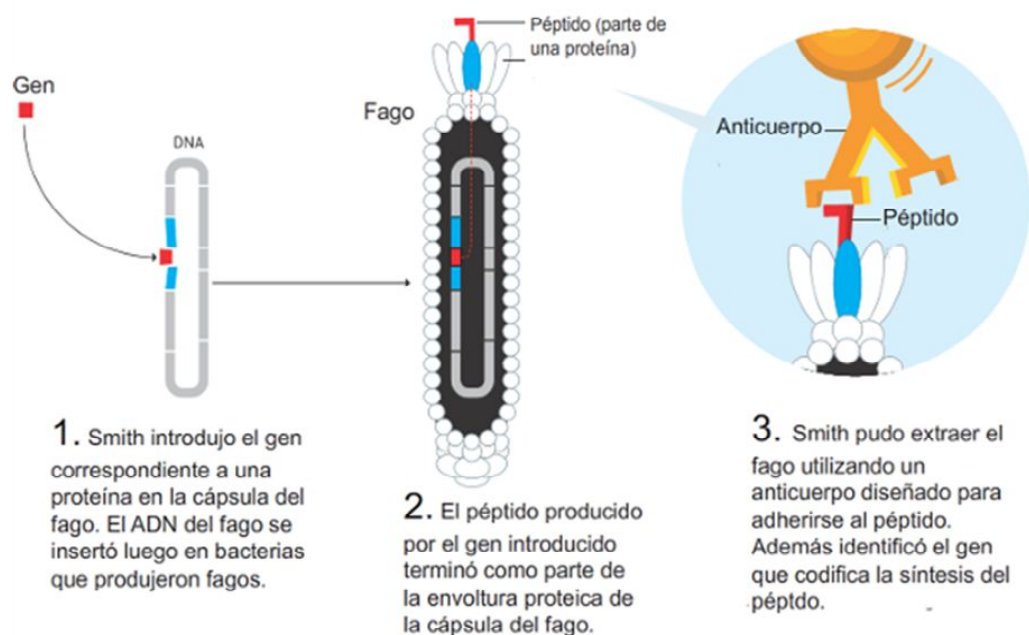


Figura 3. Phage display. George Smith desarrolló este método para identificar los genes que codifican una proteína conocida.

Los anticuerpos son capaces de extraer la proteína correcta

Esto daría lugar a una mezcla de fagos con multitud de proteínas en su superficie. En la siguiente etapa, postulada por George Smith, los investigadores pensaron que sería posible usar anticuerpos con fagos de peces para extraer proteínas conocidas. Los anticuerpos son proteínas que funcionan como misiles dirigidos; pueden identificar y unirse a una proteína específica entre decenas de miles con precisión extrema. De esta manera si un anticuerpo que se sabe se une a una determinada proteína, captura una proteína podrían detectar el gen de la proteína.

Fue una idea elegante y, en 1985, George Smith demostró que podía funcionar. Produjo un fago que llevaba parte de una proteína, un péptido, en su superficie. Usando un anticuerpo, fue capaz de pescar el fago que la había sintetizado entre una mezcla de muchos fagos.

Con este experimento, George Smith sentó las bases de lo que se conoce como **phage display**. El método es brillante por su simplicidad. El fago funciona como un enlace entre una proteína y su gen. Sin embargo, no fue con la clonación de genes con lo que el método tuvo su mayor avance pues alrededor de 1990 varios grupos de investigación **comenzaron a utilizar phage display para desarrollar nuevas biomoléculas**. Una de las personas que adoptó la técnica fue **Gregory (Greg) Winter** cuyas investigaciones utilizando phage display están brindando un gran beneficio a la humanidad. Para entender el por qué tenemos que echar un vistazo a los anticuerpos más de cerca.

Los anticuerpos pueden bloquear los procesos de la enfermedad.

Las células del sistema linfático humano pueden producir cientos de miles de diferentes tipos de anticuerpos. En condiciones normales los anticuerpos producidos no atacan a los diversos tipos de moléculas del cuerpo. Sin embargo siempre habrá un anticuerpo que detecte los virus o bacterias que nos infectan. Cuando un anticuerpo se adhiere a ellos, envía una señal a las células inmunes para destruir a los invasores.

Debido a que los anticuerpos son altamente selectivos y pueden unirse a una sola molécula entre decenas de miles, durante mucho tiempo se pensó que sería posible diseñar anticuerpos capaces de bloquear diversos procesos que producen enfermedades, funcionando como fármacos. Inicialmente para obtener estos anticuerpos terapéuticos, fueron inyectados ratones con distintas dianas para fármacos, como las proteínas de las células cancerosas. Sin embargo, en la década de 1980 se hizo cada vez más claro que este método tenía limitaciones; algunas sustancias eran tóxicas para los ratones y otras no producían ningún anticuerpo. Además se descubrió que los anticuerpos obtenidos fueron reconocidos como extraños por el sistema inmunitario de los pacientes, que los atacó. Esto llevó a que los anticuerpos producidos con ratones fueran destruidos con un alto riesgo de efectos secundarios para los pacientes.

Fue este obstáculo el que hizo que Greg Winter comenzara a investigar el potencial del phage display de George Smith. Quería evitar el uso de ratones y poder basar los productos farmacéuticos en anticuerpos humanos que son tolerados por nuestro sistema inmunológico.

Winter pone anticuerpos en la superficie de los fagos.

Los anticuerpos son moléculas en forma de Y; las sustancias extrañas se adhieren en el extremo alejado de cada brazo. Greg Winter recopiló información genética de esta zona del anticuerpo para una de las proteínas de la cápsula del fago y, en 1990, logró que el anticuerpo se uniera a la superficie del fago. El anticuerpo que usó fue diseñado para unirse a una pequeña molécula conocida como **phOx**. Cuando Greg Winter usó phOx como una especie de gancho molecular, logró identificar el fago con el anticuerpo en su superficie en una mezcla de cuatro millones de fagos.

Después de esto, Greg Winter demostró que podía usar phage display para la evolución dirigida de los anticuerpos. Construyó una biblioteca de fagos con miles de millones de variedades de anticuerpos en sus superficies. De esta biblioteca extrajo anticuerpos que se unían a diferentes proteínas diana. Luego cambió aleatoriamente esta primera generación de anticuerpos y creó una nueva biblioteca, en la que encontró anticuerpos que se unían más fuertemente con la dianas. Por ejemplo, en 1994, usó este método para desarrollar anticuerpos que se unían a las células cancerosas con un alto nivel de especificidad.

El primer fármaco del mundo basado en un anticuerpo humano.

Greg Winter y sus colegas fundaron una compañía basada en el phage display de anticuerpos. En la década de 1990 desarrolló un fármaco completamente basado en un anticuerpo humano: **adalimumab**. El anticuerpo neutraliza una proteína, TNF-alfa, responsable de procesos inflamatorios en muchas enfermedades

autoinmunes. En 2002, el producto fue aprobado para el tratamiento de la artritis reumatoide y ahora también se utiliza para tratar diferentes tipos de psoriasis y enfermedades inflamatorias del intestino.

El éxito de adalimumab ha estimulado un desarrollo significativo en la industria farmacéutica y phage display se ha utilizado para producir anticuerpos contra el cáncer, entre otros. Uno de ellos activa las células para que puedan atacar a las células tumorales. El crecimiento del tumor se ralentiza y, en algunos casos, pacientes con cáncer metastásico se han curado, lo que es un avance histórico en el tratamiento del cáncer. Otro anticuerpo que ha sido aprobado neutraliza la toxina bacteriana que causa el ántrax, mientras que otro frena la enfermedad autoinmune conocida como lupus; muchos más anticuerpos están actualmente en ensayos clínicos, por ejemplo para combatir la enfermedad de Alzheimer.

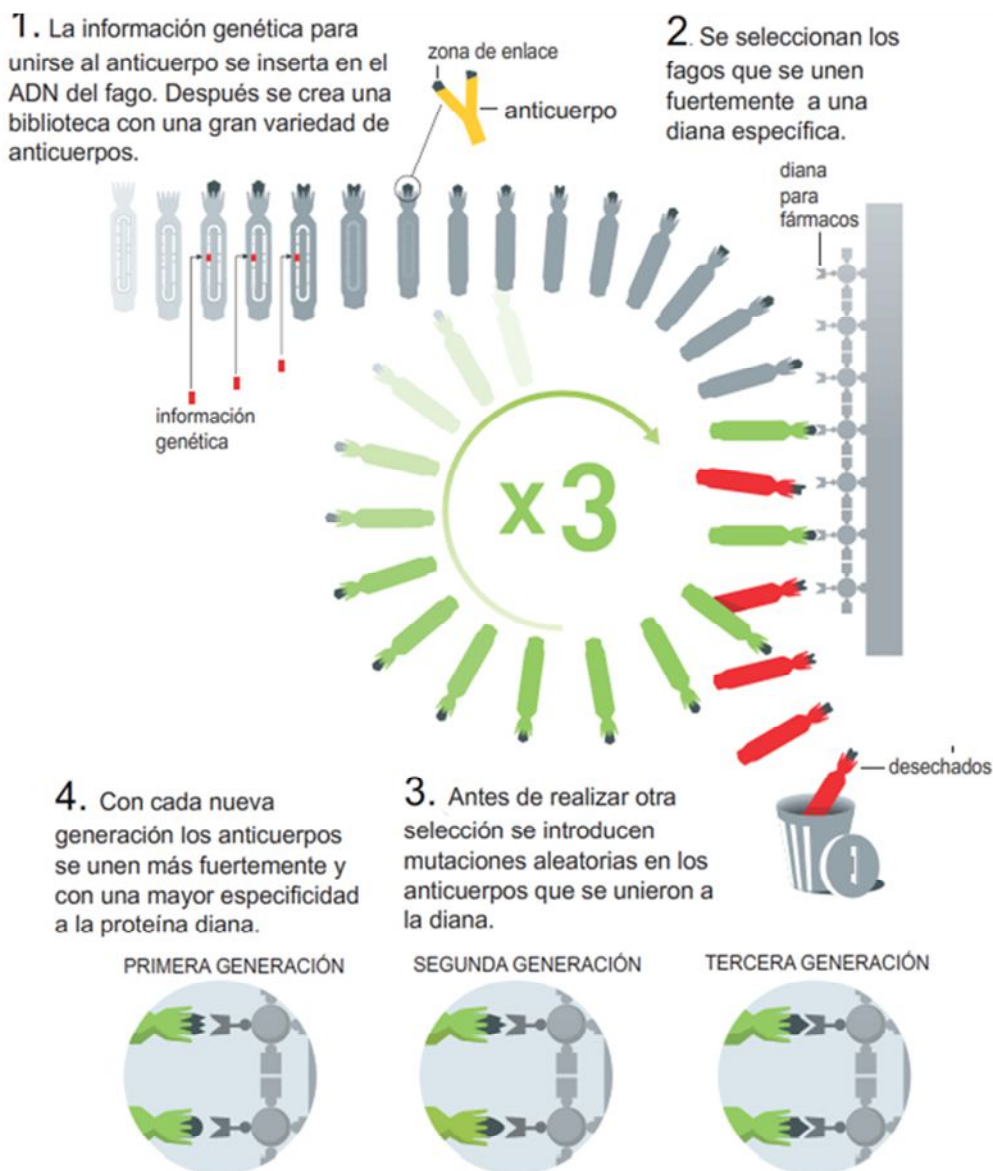


Figura 4. El principio para la evolución dirigida de los anticuerpos usando phage display. Este método se utiliza para producir nuevos fármacos.

El inicio de una nueva era en la química.

Los métodos que los Premios Nobel de Química 2018 han puesto a punto han promovido el desarrollo de una industria química más ecológica, han producido nuevos materiales, se han fabricado biocombustibles sostenibles y han mitigado enfermedades y salvado vidas. La evolución dirigida de las enzimas y el phage display de anticuerpos de **Frances Arnold, George Smith y Greg Winter** han aportado un enorme beneficio a la humanidad y han sentado las bases para una revolución en la química.

LINKS AND FURTHER READING

Additional information on this year's prizes, including a scientific background in English, is available on the website of the Royal Swedish Academy of Sciences, www.kva.se, and at <http://nobelprize.org>. There you can watch video footage of the press conferences, the Nobel Lectures and more. Information on exhibitions and activities related to the Nobel Prizes and the Prize in Economic Sciences is available at www.nobelcenter.se.

Articles

Arnold, F. & Macquere, K. A. (2016) The NAI Fellow Profile: An Interview with Dr. Frances Arnold. *Technology and Innovation*, 18, 79-82

Harding, A. (2006) Profile Sir Greg Winter—humaniser of antibodies. *Lancet*, 368, S50

Nightingale, K. (2013) Greg Winter: Pioneering antibody drugs. *Insight*, www.insight.mrc.ac.uk/2013/02/27/greg-winter-pioneering-antibody-drugs/

Trager, R. (2018) In situ with Frances Arnold. *Chemistry World*, www.chemistryworld.com/culture/in-situ-with-frances-arnold/3008732.article

Videos

MoleCluesTV (4 June 2017) Frances Arnold: New enzymes by evolution
www.youtube.com/watch?v=05r-FLGtsEQ

SlidesLive (23 Nov 2015) Therapeutics Antibodies: A Revolution in Pharmaceuticals
<https://slideslive.com/38895318/therapeutics-antibodies-a-revolution-in-pharmaceuticals>

The Royal Swedish Academy of Sciences has decided to award the Nobel prize in Chemistry 2018

with one half to	and the other half jointly to	
FRANCES H. ARNOLD	GEORGE P. SMITH	SIR GREGORY P. WINTER
Born 1956 in Pittsburgh, USA. Ph.D. 1985, University of California, Berkeley, USA. Linus Pauling Professor of Chemical Engineering, Bioengineering and Biochemistry, California Institute of Technology, Pasadena, USA. http://fhalab.caltech.edu	Born 1941 in Norwalk, USA. Ph.D. 1970, Harvard University, Cambridge, MA, USA. Curators' Distinguished Professor Emeritus of Biological Sciences, University of Missouri, Columbia, USA. http://biology.missouri.edu/people/?person=94	Born 1951 in Leicester, UK. Ph.D. 1976. University of Cambridge, UK. Research Leader Emeritus, MRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge, UK. www2.mrc-lmb.cam.ac.uk/group-leaders/emeritus/greg-winter/
"for the directed evolution of enzymes"	"for the phage display of peptides and antibodies"	