



MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT

Llegan las narices artificiales! En los aeropuertos, por ejemplo, una serie de equipos parecidos a aspiradoras, olfatean en busca de explosivos ocultos. A diferencia de los perros, no se cansan después de un tiempo. En cambio, son menos sensibles y, no pocas veces, ocasionan falsas alarmas. Únicamente equipos muy caros llamados espectrómetros, son capaces de superar a nuestros amigos de cuatro patas, aunque sólo para las sustancias odoríferas elegidas.

capacidad de procesamiento, juega un papel central en las percepciones”.

Las **células olfativas** se encuentran en la mucosa nasal. En los humanos, estas dos regiones olfativas, con unos cinco centímetros cuadrados, son más bien pequeñas. En perros, cada una mide 25 centímetros cuadrados. El hombre posee aproximadamente diez millones de células olfativas, que son células nerviosas especializadas. Una serie

La ciencia emula el olfato

Cómo los científicos desarrollan la nariz molecular

En el Instituto Max-Planck para Investigación de Polímeros de Maguncia, se está desarrollando una nariz artificial que no funciona de acuerdo con los principios de la física, sino siguiendo el modelo biológico de la naturaleza. Eva-Kathrin Sinner y su equipo de especialistas en desarrollo de materiales, se han inspirado en las células olfativas de narices verdaderas. La profesora de biología investiga lo que ocurre a escala de moléculas individuales en la membrana cobertora de las células nerviosas cuando olemos. Busca reproducir este proceso con membranas celulares artificiales, y ya ha podido presentar los primeros logros que en 2007 le valieron un premio. Llamó **biomimética** a su estrategia de imitar técnicamente los trucos de la evolución.

Mientras tanto, ya han sido descifrados los principales pasos moleculares del proceso olfativo. Eso les valió a los dos científicos estadounidenses, Linda Buck y Richard Axel, el premio Nobel de Medicina en 2004. Pero la compleja interacción de las biomoléculas plantea muchas incógnitas. Las percepciones sensoriales siempre fueron muy complejas, explica Sinner: “El sentido del olfato, al igual que el de la vista, es en realidad, una evaginación del cerebro, que con su enorme

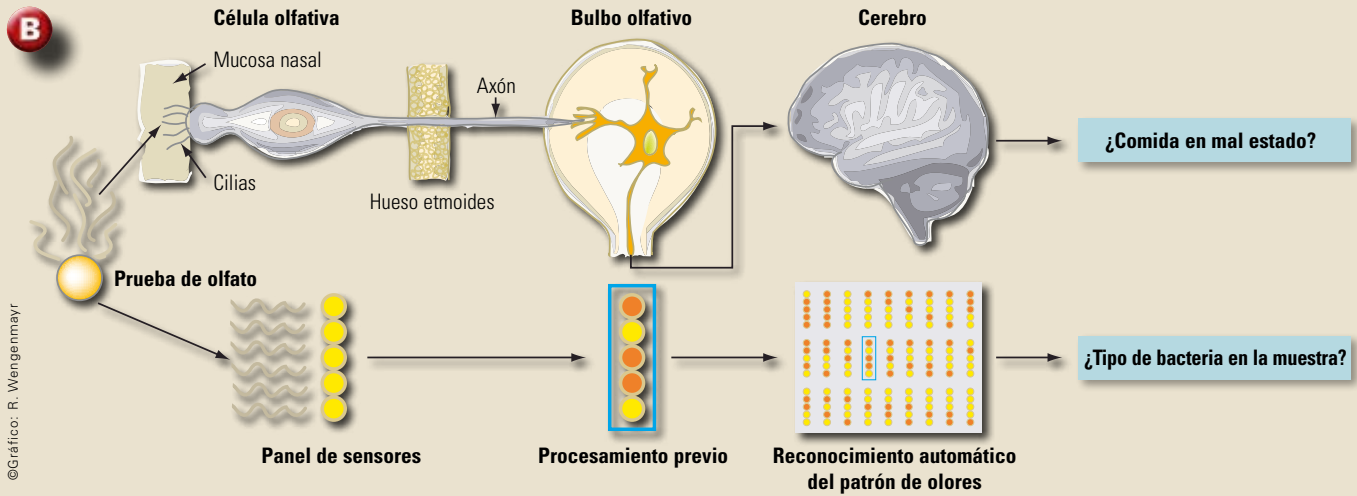
de vellos olfativos (cilias), sobresalen de la superficie libre y penetran en la mucosa, evitando que ésta se reseque. Con estas protuberancias, se amplía la superficie de la membrana celular, para que las células puedan capturar mayor cantidad de moléculas aromáticas del aire que alcanzan la mucosidad. Una vez allí, moléculas que ligan sustancias aromáticas las absorben y transportan a las cilias.

Las cilias tienen **receptores olfativos**: son grandes proteínas ancladas en la membrana celular mediante varios lazos moleculares. Poseen puntos de acople para moléculas odoríferas determinadas. Como la llave en una ce-

→

► Las células olfativas de la nariz identifican las moléculas odoríferas mediante receptores específicos (gráfico circular).

A



©Gráfico: R. Wengenmayr

▲ **Comparación entre el sentido del olfato humano (arriba) y una nariz electrónica (abajo). La nariz electrónica reconoce mediante patrones olfativos moleculares, guardados en la memoria, qué tipo de bacteria podría haber descompuesto la muestra de comida. Con la variante desarrollada por el Instituto Max-Planck de Investigación en Polímeros, el panel de sensores no tendrá ningún sensor físico (amarillo), sino campos, cada uno con un receptor olfativo biológico incorporado a una membrana artificial.**

→ rradura, la molécula odorífera encastra perfectamente en el “tambor” molecular del receptor. Cada célula sensorial posee sólo un tipo de receptor, aunque la cerradura química de cada receptor tiene cierta tolerancia. Por eso, la célula no sólo reacciona a una única molécula odorífera, sino a cuatro o cinco sustancias químicas estrechamente emparentadas. Según los conocimientos actuales, los seres humanos tenemos 350 receptores olfativos diferentes en la nariz, con los que somos capaces de diferenciar varios miles de olores. Las ratas y los perros, en cambio, poseen mil receptores diferentes.

Cuando una molécula odorífera adecuada se acopla, modifica la forma del receptáculo. Este cambio es transferido por el receptor al interior de la célula odorífera como un mecanismo de resorte químico. Las proteínas que transmiten señales (las llamadas proteínas G), que penden de los lazos moleculares que sobresalen en el interior de la célula, luego desatan una cascada múltiple de señales en la neurona. En el proceso, la señal odorífera se intensifica millones de veces. La célula envía esta señal a través de una línea de conexión, el axón, al bulbo olfativo. Éste procesa las señales odoríferas como si fuera un centro de control y las envía al cerebro.

Los receptores olfativos están en el foco de las investigaciones en Maguncia. Estas proteínas de gran tamaño, están formadas por cerca de mil aminoácidos que se entrelazan siete veces a través de la membrana de la célula olfativa. Por eso, pertenecen a la im-

portante familia de las “proteínas transmembrana de 7 lazos” (proteínas 7TM). Evidentemente, el siete no sólo es un número mágico en los cuentos, sino también en la biología: las **proteínas 7TM** desempeñan un papel central en todos los organismos vivos. Ya microorganismos primitivos como las arqueas, las utilizaban como sensores químicos para la búsqueda de alimento hace miles de millones de años. En los organismos superiores, están insertos en las células sensoriales o regulan, por ejemplo en forma de sustancias mensajeras (neurotransmisores), el traslado de estímulos entre las neuronas. “Los sentidos del olfato, gusto y de la vista funcionan con receptores muy similares”, explica Eva-Kathrin Sinner.

EL CORRECTO PLEGADO DE LOS RECEPTORES

Para los científicos como Sinner, las proteínas receptoras son interesantes, únicamente cuando poseen la configuración química que las torna biológicamente activas. Pero que los receptores adopten dicha estructura no es natural ni mucho menos. Al igual que todas las proteínas, éstas están formadas por cadenas moleculares extremadamente largas, que pueden plegarse de maneras diferentes para crear su estructura tridimensional. Pero sólo una variante es biológicamente activa. En el intento de reproducir en tubos de ensayo receptores olfativos con esta forma particular, muchos grupos de investigadores a lo largo y ancho del mundo se rompieron la cabeza; las proteínas siempre resultaban mal plegadas.

Poco a poco, fue quedando claro que las proteínas receptoras aparentemente sólo adoptan la forma biológicamente activa, cuando pueden insertarse en la membrana celular. Sólo allí se entrelazan formando la alfa hélice correcta, que luego se replica siete veces formando una suerte de colchón de resortes. Sinner tuvo la idea de ofrecer a las nuevas proteínas receptoras una membrana artificial para que se inserten.

Las membranas artificiales creadas por los científicos de Maguncia, están construidas de acuerdo con el modelo de la **doble capa lipídica**, la estructura básica de las membranas celulares verdaderas. Consisten, al igual que ellas, en los llamados fosfolípidos anfífilos. Estas moléculas poseen una cabeza soluble en agua (hidrófila), y colas de ácido graso solubles en grasa (lipófila), que repelen el agua. Dado que las membranas celulares verdaderas están rodeadas de agua, allí los lípidos anfífilos se organizan por sí mismos, formando una membrana de doble capa: mientras las cabezas hidrófilas de los fosfolípidos se dirigen hacia el agua, las colas de ácido graso que repelen el agua (hidrófugas), pueden ocultarse en su interior.

► **Dos capas de moléculas lipídicas anfífilas forman la estructura básica de la membrana celular, en la cual se encuentran insertas las proteínas receptoras (grandes bloques grises). Las cabezas solubles en agua se orientan hacia el exterior, mientras que las colas de ácido graso que repelen, lo hacen hacia el interior.**

EXPERIMENTO DE PERCEPCIÓN DE OLORES

Con aceites aromáticos de uso comercial, es posible realizar experimentos de percepción olfativa. Son aptos, por ejemplo, los aceites de canela, anís o manzana. Con estos aceites etéreos se realizan una serie de diluciones. Se mezcla 1 ml de aceite con 99 ml de agua destilada en una botella previamente preparada y se sacude bien la mezcla. De esta emulsión al uno por ciento se retira 1 ml y se lo agrega a una segunda botella que contiene 99 ml de agua. Se continúa este proceso hasta tener cuatro botellas. La cuarta contendrá únicamente 0,000001% de la concentración original. Si el aceite que compramos era 100% puro, en la cuarta botella nos quedarán únicamente diez nanolitros (una millonésima parte de un litro) diluidos en 100 ml.

A los respectivos probandos se les acerca a la nariz un hisopo embebido en esta dilución extrema y se lo deja adivinar. Según el resultado, se pasará al siguiente nivel de dilución. Se observará que la percepción de los olores es muy diferente según la persona. En este experimento, los participantes deben esperar su turno detrás de la puerta, para no saber de antemano qué respuesta es la correcta.

Advertencias de seguridad sobre los aceites puros: el aceite de canela irrita al tomar contacto con los ojos y la piel. La ingesta del aceite puede dañar los pulmones. El aceite de anís se transforma en una variante tóxica cuando se lo expone a la luz (isómero tóxico).

Con sus dos capas moleculares, la membrana artificial sólo tiene un espesor de cinco nanómetros (la mil millonésima parte de un metro). En las células verdaderas, el citoesqueleto las estabiliza. En el laboratorio de Maguncia, en cambio, se las coloca sobre una placa de cultivo estable, que consiste en una superficie de oro delgada y lisa sobre una plaqueta de vidrio. En comparación con otros metales, el oro tiene la ventaja de que no reacciona con el oxígeno contenido en el aire, ni con soluciones salinas, ni tampoco con proteínas, lo que podría interferir en el proceso posterior. Pero la doble capa lipídica no se puede fijar directamente sobre el oro. Por eso, los investigadores primero generan una capa delgada de moléculas peptídicas sobre el metal, que sobresalen como si fueran los pelos de una alfombra, sobre los cuales la membrana artificial puede apoyarse y sostenerse suavemente.

Sobre esta membrana es que los científicos insertan los receptores 7TM. ¿Pero cómo puede enhebrarse siete veces una molécula en una membrana tan delgada? No existe una "nanoaguja" que pueda hacerlo, pero por suerte, la naturaleza nos muestra elegantemente cómo proceder. Entonces, Eva-Kathrin Sinner tuvo la idea de utilizar para sus propios fines, los procesos biológicos con los que las células sensoriales verdaderas fabrican proteínas receptoras, y las insertan en sus membranas celulares. Para ello, los

científicos de Maguncia utilizan un llamado extracto celular. "Son, por así decirlo, las entrañas trituradas de células con los mecanismos de inserción de proteínas todavía activos", explica Sinner.

Durante años, la científica había intentado elaborar proteínas receptoras biológicamente activas, a partir de células olfativas. Luego, se le ocurrió la brillante idea de aplicar dicho extracto celular directamente por goteo sobre la membrana artificial. Esperaba que los receptores que se formaran en su interior la "reconocieran", que ingresaran en ella y que, ya en su interior, adoptaran la forma correcta. Y realmente funcionó, causando un fuerte revuelo entre los especialistas.

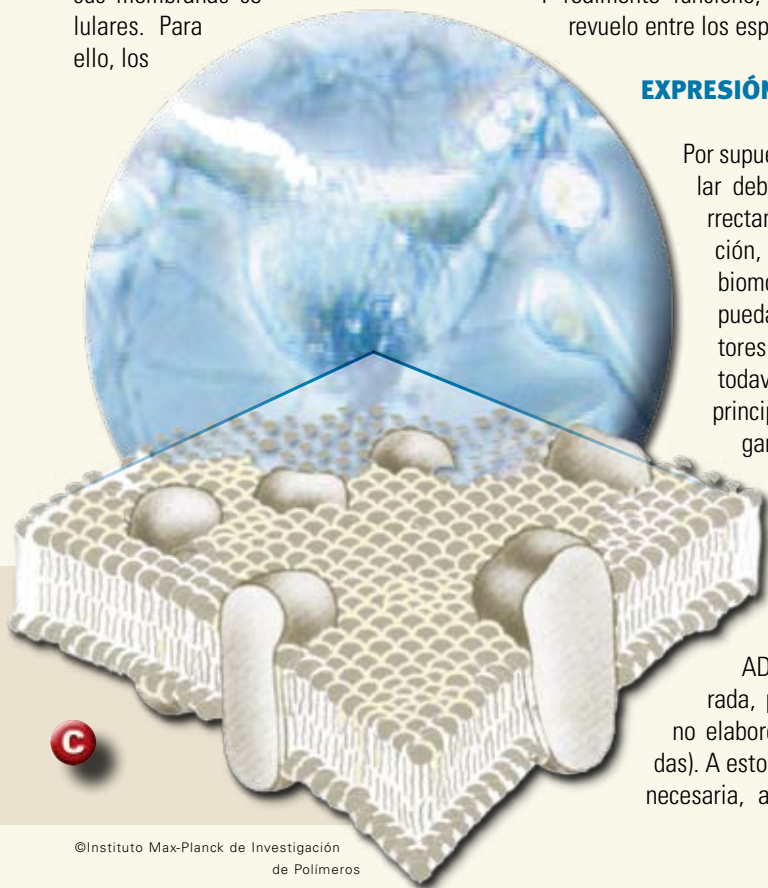
de moléculas de ATP (adenosin trifosfato), con lo cual, puede desarrollarse la expresión de genes "sin células". El extracto aún debe superar todos los pasos de la expresión genética: desde la lectura de la información en el ADN, hasta la síntesis completa de la proteína del receptor.

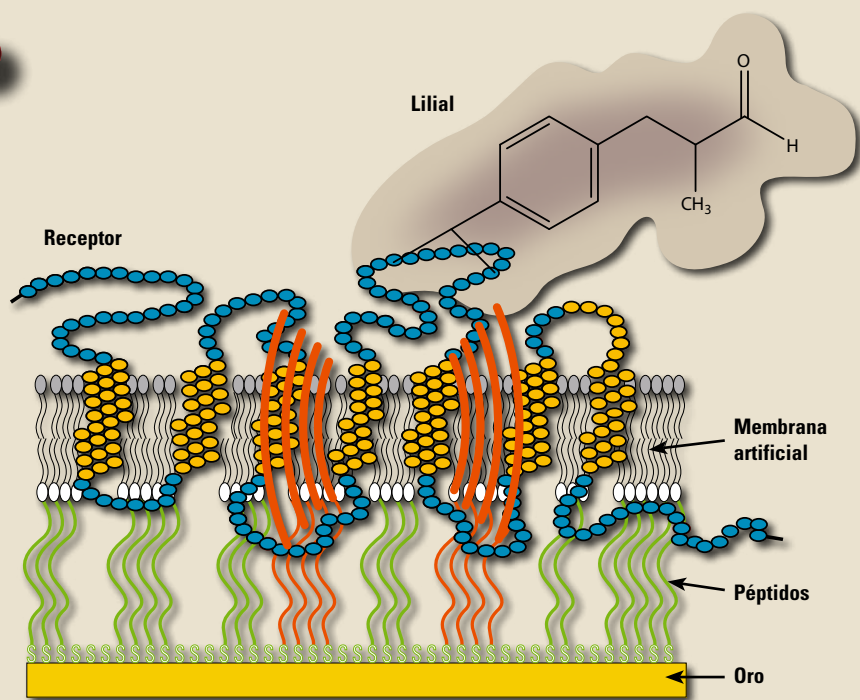
Para el receptor odorífero, los científicos de Maguncia toman un trocito de ADN de la rata Noruega, que porta la secuencia de un receptor odorífero determinado. No escogieron a *Rattus norvegicus* porque fuera un olfateador particularmente talentoso, sino, simplemente, porque se trata de un animal de uso habitual en laboratorios. Luego, los investigadores insertan el trozo de ADN en una pequeña molécula de ADN circular. Estos **plásmidos** se encuentran en las bacterias, donde cumplen la función de transportar ADN y ser portadores de una parte de la información genética. Además, son capaces de replicarse independientemente del genoma.

Las técnicas genéticas han logrado que los plásmidos relativamente simples, fueran legibles para la expresión genética en las células de mamíferos, y los científicos de Maguncia supieron sacar provecho de ello. Su plásmido consiste, principalmente, en un segmento de ADN pasivo sin función genética, y el trocito de ADN de la rata. Con métodos biomoleculares, los investigadores colocaron la señal bioquímica de arranque en el trozo, antes de insertarlo. Este promotor le comunica a la ARN polimerasa, que actúa como "lectora" molecular de la información genética, dónde debe comenzar la copia, es decir la llamada **transcripción**. La copia como ARN mensajero (o mRNA), le sirve a los ribosomas como plantilla para la **traducción** pos-

EXPRESIÓN DE GENES SIN CÉLULAS

Por supuesto, el extracto celular debe ser preparado correctamente y con anticipación, aplicando métodos biomoleculares para que pueda elaborar los receptores deseados. Si bien todavía contiene todas las principales moléculas y organelas celulares de la fábrica proteica de la célula seccionada, el núcleo celular no permanece intacto (también se ha desactivado el ADN de la célula triturada, para que el extracto no elabore proteínas indeseadas). A esto se agrega la energía necesaria, acumulada en forma





▲ Como "huele" la nariz molecular: la molécula odorífera "lialil" se conecta con el receptor, modificando levemente su estructura química. Las modificaciones continúan hasta los péptidos. Actualmente, los científicos pueden registrar este "tintineo" con una depurada tecnología infrarroja. El cambio en la estructura del receptor deja una "huella digital" en la señal luminosa reflectada. En el futuro, una técnica de lectura especial, podría transformar esta señal en bits electrónicos.

© Gráfico: E. Sinner, R. Robelek, A. Aislán, E. Lemker, R. Wengenmayr

→ terior: según la secuencia de nucleótidos del mRNA, a continuación ensamblan los módulos de aminoácidos de la proteína receptora.

Lo sensacional del descubrimiento de Sinner, consiste en que las proteínas de los receptores resultantes se colocan sin mayores intervenciones en la membrana artificial. Esto contradice la idea de gran cantidad de científicos moleculares, según la cual es necesario un "translocón" como auxiliar de inserción. Pero su existencia todavía no ha sido probada y en todo caso, en el procedimiento de Maguncia no fue necesario. "Tampoco sabemos con total precisión lo que pasa", dice Sinner, "hay otras moléculas en el extracto celular que también podrían estar implicadas". Sea como fuere, la "genial jugada" de los científicos funciona perfectamente, ya que desde el inicio de la expresión genética hasta la inserción mensurable de los receptores en la membrana, se demora, en el caso más rápido, apenas ocho minutos.

UN "TINTINEO" EN LA MEMBRANA

Sin embargo, la nariz molecular todavía requiere de mucho trabajo de investigación y desarrollo. En estos momentos, los investigadores sólo pueden establecer de manera indirecta si el sistema es capaz de "oler". Todavía falta una tecnología de lectura, que transforme la señal bioquímica en bits que puedan

procesarse electrónicamente por un chip verdadero. El Instituto de Tecnología en Microsistemas de Maguncia está desarrollando esta parte del sensor.

Para la "prueba de olfato", actualmente los científicos de Maguncia utilizan el lialil, que se encuentra también en numerosos perfumes. En mayor concentración, su extracto esparce un artificial y penetrante aroma a lirios. ¿Pero cómo determinan los científicos si el lialil se acopla a los receptores de la membrana artificial? Lamentablemente, todavía no hay ningún supermicroscopio con el cual se pueda observar lo que hacen las moléculas. Por eso, los investigadores tienen que hacerlo visible indirectamente, mediante algunos trucos. En esto, el Instituto Max-Planck de Investigación en Polímeros ofrece óptimas posibilidades. "Yo sólo tengo que pedirle consejo a mis colegas químicos o físicos", dice Sinner con una sonrisa de satisfacción. Contrariamente a sus pares naturales, las moléculas receptoras de Maguncia, no poseen proteínas G enganchadas a los lazos como emisoras de señales. Además, sin neurona carecerían de sentido. "En lugar de ello, nuestros receptor "tintinea", si podemos llamarlo así, en cuanto se acopla una molécula de lialil, comenta la científica. Al hacerlo, la proteína altera su estructura apenas un poco, y los científicos de Maguncia pueden registrarlo mediante una depurada tecnología de medición infrarroja.

El siguiente objetivo de Eva-Kathrin Sinner y su equipo, es reemplazar la tan sensible doble capa lipídica, por un material sintético robusto. Pero este material debe tener características "biocompatibles" muy similares. Sus moléculas también deben poder organizarse para formar membranas ultradelgadas. Recién en estas condiciones, los receptores se insertarán correctamente en la membrana sintética. Ahora, los científicos de Maguncia están experimentando con copolímeros de dos bloques. "Estos polímeros son extremadamente estables frente al aire, el agua y los disolventes", afirma Sinner.

Además, la nariz molecular de Maguncia es muchísimo menos sensible que las narices verdaderas. Esto ocurre por dos razones: en primer lugar, faltan las moléculas que se acoplan a los olores en la mucosa nasal, transportándolos a las cilias olfativas. Y segundo, a la membrana le falta la cascada neuronal, que intensifica la señal hasta un punto extremo. Esto último, podría ser compensado, al menos parcialmente, por un sistema electrónico de amplificación en el sensor terminado.

Pero los científicos de Maguncia no sólo tienen en vista el olfato electrónico, sino también otras aplicaciones muy diferentes. Su método les permite insertar las más diversas proteínas receptoras en las membranas artificiales. Receptores como estos, son la puerta de entrada para, por ejemplo, los principios activos de fármacos al interior de las células. Si una sustancia recientemente desarrollada no puede, en primera instancia, acoplarse a un receptor, tampoco es capaz de llegar al interior de la célula, para desplegar allí todo su efecto sanador. En este primer nivel de investigación farmacológica, fracasan muchos potenciales principios activos. Hasta la fecha, era imprescindible realizar ensayos con animales. Si bien un sensor artificial como el de Maguncia no podrá reemplazar la totalidad de estos ensayos, sí podría reducir al menos la cantidad. Para Eva-Kathrin Sinner éste también es un objetivo importante.

PIE DE IMPRENTA

Sociedad Max-Planck, Departamento de Información y Relaciones Públicas, Hofgartenstraße 8, 80539 München / e-mail: presse@gv.mpg.de

Redacción: Dra. Christina Beck

Traducción: Astrid Wenzel

Diseño: www.haak-nakat.de

La versión en español se hizo con el apoyo del DAAD y con fondos del Ministerio de Relaciones Exteriores de Alemania.



SIEMENS

DAAD Deutscher Akademischer Austausch Dienst Servicio Alemán de Intercambio Académico



200 AÑOS BICENTENARIO ARGENTINO

Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva Presidencia de la Nación