

SOBRE ELS MECANISMES D'EVOLUCIÓ DE LES PROTEÏNES

per JOAN A. SUBIRANA

En l'evolució de les macromolècules i en particular en l'evolució de les proteïnes cal distingir dues etapes. En una primera etapa la proteïna evoluciona vers un òptim de funció, mentre que en una segona etapa conserva aquesta funció que ha trobat. La seva evolució aleshores es dirigeix vers conservar (o, potser, millorar) aquesta funció ja assolida. Actualment sembla més acceptada la hipòtesi que en aquesta segona etapa l'evolució té lloc fonamentalment a l'atzar. Així, per exemple, DICKERSON¹ ha posat de manifest que diferents proteïnes evolucionen o canvien els seus aminoàcids en el transcurs del temps a velocitats diferents. DICKERSON ha tractat de relacionar aquesta velocitat diferent en proteïnes, com és ara l'hemoglobina o els fibrinopèptids, amb l'estabilitat estructural requerida per la funció d'aquestes proteïnes.

Tanmateix és potser més important, des d'un punt de vista evolutiu, d'estudiar la primera fase d'evolució de les proteïnes en la qual aquestes cerquen d'optimitzar llur funció. Aquest és el punt que pensem discutir amb detall en aquesta comunicació. Hom es pot preguntar si aquesta funció sorgí de repent o durant un cert temps la proteïna tingué una funció més restringida. Un exemple tret del treball del nostre laboratori pot aclarir com pot tenir lloc aquesta evolució de les proteïnes. En el cas de les proteïnes de l'esperma, hom troba que hi ha canvis dràstics en llur composició d'aminoàcids en espècies bastant pròximes. Alhora es manifesten unes tendències que poden indicar-nos els mecanismes que foren seguits quan aquestes proteïnes cercaven llur òptim de funció. En la taula I podem veure com canvia el contingut de diversos aminoàcids en el transcurs de l'evolució. Hom troba una tònica general d'augment d'arginina, per exemple, a mesura que avança l'evolució dels organismes. En organismes més evolucionats, com pot ésser el cas de l'*Eledone*, apareixen altres aminoàcids com la cisteïna. En els mamífers apareix també aquest component. En els cefalòpodes en general, i en particular en el

TAULA I

COMPOSICIÓ EN AMINOACIDS DEL COMPONENT PRINCIPAL EN L'ESPERMA D'ALGUNES ESPÈCIES

	Arg	Lis	Tir	Cis	Ser	Altres
<i>Histones somàtiques</i>						
F ₁	1,8	26,8	0,9	0,0	5,6	64,9
F _{2b}	8,0	14,2	3,4	0,0	7,3	67,1
<i>Equinoderms (Arbacia lixula)</i>						
Ø ₁	10,8	25,9	1,1	0,0	6,9	55,3
Ø _{2b}	15,2	11,9	3,3	0,0	10,9	58,7
<i>Molluscs</i>						
<i>Mytilus edulis</i> (Ø ₁)	28,4	25,1	0,0	0,0	16,7	29,8
<i>Gibbula divaricata</i>	58,1	6,7	0,0	0,0	15,7	19,5
<i>Loligo pealeii</i>	76,1	0,9	7,7	0,0	8,9	6,4
<i>Eledone cirrosa</i>	17,7	18,6	1,3	12,3	5,9	44,2
<i>Mamífers</i>						
Toro	50,6	0,4	4,2	11,9	4,5	28,4
Rata	49,0	6,1	0,9	11,7	6,9	25,4

cas del calamars, hom troba també un cert contingut de tirosina. En resum, sembla que la tònica general és l'augment d'arginina, i en etapes posteriors hi ha també un augment de tirosina, de cisteïna o de tots dos aminoàcids. Aquestes tendències quant a la composició tenen un paral·lel en les dimensions de la proteïna. Aquestes es redueixen a mesura que ens trobem amb espècies més evolucionades. Tots aquests canvis podrien ésser justificats amb la hipòtesi que aquestes proteïnes en el curs de l'evolució han estat cercant una funció òptima, possiblement de protecció de l'ADN en el transcurs del viatge de l'espermatozoide en l'òvul que ha de fecundar, i al mateix temps aquesta recerca de funció ha estat matisada i influïda pels diversos mecanismes de fertilització que hi ha en diferents espècies. Cal també tenir en compte que això són només tendències i que hi ha excepcions en aquesta tònica general, excepcions que potser podrien ésser justificades per casos particulars de les espècies que les presenten. Tanmateix, les dades obtingudes fins ara permeten d'establir un diagrama com el que presentem a la figura 1 com a possible tònica general d'evolució de les proteïnes de l'esperma. En aquest diagrama hom veu que la base de tot el mecanisme és la duplicació gènica, molt

patent en el cas dels equinoderms. En aquests animals, i en particular en l'eriçó de mar, hom troba que en l'esperma són conservats la major part dels components de les histones, però d'altres són substituïts i hi són representats per components molt semblants als somàtics però que són evidentment diferents, i amb una basicitat més elevada en el cas de l'esperma. Això fa suposar que en els equinoderms aquestes proteïnes han sofert una evolució a partir d'una duplicació dels gens que codificaven les histones somàtiques. Els passos posteriors que apareixen en el diagrama poden ésser justificats per una tendència estructural de la proteïna de l'esperma, que veuria millorades les seves propietats en augmentar el seu

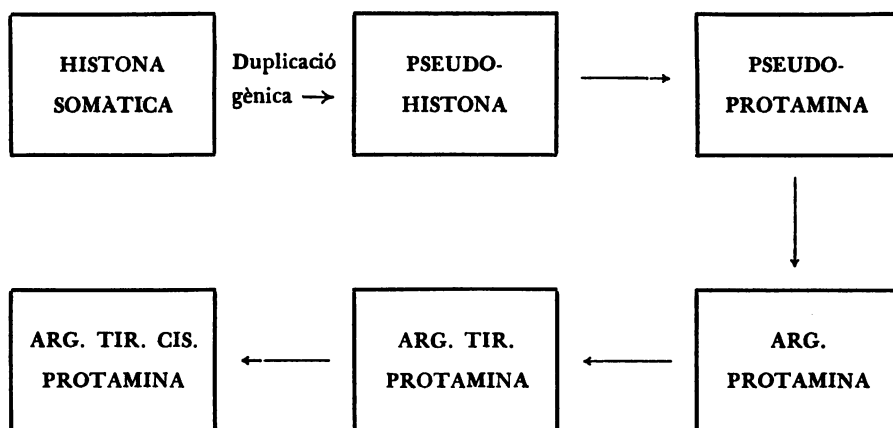


FIG. 1. — Esquema de l'evolució probable de les proteïnes bàsiques associades amb l'ADN en el nucli de l'espermatozoide, d'acord amb les dades de la taula I

contingut en arginina i en una etapa posterior en augmentar els seus continguts en tirosina i cisteïna. A fi de confirmar aquest esquema, caldria conèixer en detall la seqüència d'aminoàcids de les proteïnes de l'esperma en diferents organismes; i és fins aquesta etapa on han arribat els treballs del nostre laboratori.

Si hom accepta com a general aquesta hipòtesi que hem enunciat per al cas de les protamines, podem pensar en els diferents mecanismes que poden estar implicats en l'evolució de les proteïnes. En la primera etapa que consideràvem al començament d'aquesta discussió, és a dir, en aquella fase en la qual la proteïna cerca una estructura òptima per a la seva funció, aquests mecanismes serien els següents:

1. *Duplicació de gens.* Sembla que aquesta seria la fase prèvia, en la qual la informació continguda en un gen és duplicada. Aquest gen du-

plicat estarà aleshores disponible per a una evolució independent de la del gen primitiu, de manera que aquest gen primitiu podria mantenir la funció que ja tenia. El nou gen podria aleshores evolucionar independentment del gen que li havia donat origen, cercant així una nova funció.

2. *Ruptura de gens.* Com hem vist en el cas de les protamines, aquestes sembla que han aparegut com a resultat d'una llarga història a partir de les histones. D'aquestes ha estat seleccionat un fragment, el qual ha donat lloc a les protamines, com a resultat d'una evolució que ha tingut com a caràcter distintiu l'eliminació de la lisina i l'augment de l'arginina. Aquests canvis han permès d'arribar a una proteïna més petita amb un gran contingut d'arginina.

3. *Fusió de gens.* Aquest cas seria l'oposat del segon, en el qual gens diferents es podrien fusionar per tal de constituir una proteïna amb una nova funció. Aquest no sembla el cas normal en les proteïnes de l'esperma, bé que en algun cas com el de *Spisula solidissima* podria ésser que ens trobéssim amb aquest procés. Tanmateix hi ha altres casos en què sembla clar que hi ha hagut una fusió de gens que ha donat lloc a una proteïna amb una funció nova. És conegut per exemple el cas de la lactoglobina i de la lisozima que tenen un fragment molt gran de seqüència que és pràcticament idèntic.

A aquests mecanismes fonamentals, en podríem afegir d'altres. Per exemple, hom podria pensar que hi haguessin processos de mutació dirigida en el sentit que fossin afavorides mutacions d'uns aminoàcids cap a d'altres per raons desconegudes, és a dir, per tendències determinades dels factors que influeixen en les mutacions. Tanmateix, això no sembla probable. La tendència que trobem en el cas de les protamines, de transformar les lisines en arginines, sembla més aviat justificable per una causa estructural, puix que l'arginina podria acomplir una funció de protecció de l'ADN amb molta més eficàcia que la lisina. Un altre factor a tenir en compte és l'existència d'ADN repetitiu. Aquest ADN pot furnir seqüències addicionals per l'allargament de proteïnes donades a través dels mecanismes que hem vist abans, i pot així contribuir a aquesta fase de l'evolució de les proteïnes.

Finalment, voldria fer un petit comentari sobre la intervenció del doctor PALAU, que m'ha precedit. El doctor PALAU ha presentat evidència que suggereix fortament que les protamines puguin haver resultat com a duplicació d'un gen primitiu format per un pentapèptid. Encara que hom trobi aquestes duplicacions, cal pensar que poden ésser degudes a un requisit estructural afavorit en el cas de les protamines. És a dir, que l'aparent repetitivitat que tenen les seqüències de les protamines potser no sigui deguda a la repetició d'un petit gen ancestral, sinó més aviat a una repetitivitat que ha estat trobada per l'atzar de l'evolució en

descobrir que aquesta repetitivitat afavoria precisament la funció que tenen aquestes protamines de protegir l'ADN. En altres paraules, aquesta repetitivitat pot afavorir l'embolcallament de l'ADN en el cap de l'esperma.

BIBLIOGRAFIA

1. DICKERSON, R. E. — «J. Mol. Evol.», 1, 26 (1971).

DISCUSSIÓ

PARÉS

¿Quina és la vostra opinió sobre la possibilitat d'incorporació de fragments grossos d'ADN d'una forma similar a la transducció bacteriana? Aquest mecanisme permetria la transmissió de fragments de seqüència entre diferents organismes. Encara que només tingués èxit en casos excepcionals, a la llarga podria ésser significatiu per a l'evolució.

SUBIRANA

Penso que pot ésser acceptada aquesta possibilitat, que seria semblant a una fusió.

PARÉS

Això podria produir canvis molt dràstics.

GADEA

En el cas dels fosfàgens musculars, la major part dels vertebrats té creatina (excepte els tunicats). En els mol·luscs predomina la fosfoargina; en els equinoderms hi ha grups amb fosfocreatina, amb fosfoarginina i amb tots dos. ¿Hom hi pot veure un paral·lisme amb el repartiment protamines-histones?

SUBIRANA

La tendència a augmentar el contingut d'arginina pot ésser una convergència evolutiva. Calamarsos i peixos, per exemple, semblen haver trobat independentment avantatges en un augment del contingut d'arginina. La reserva d'ADN repetitiu pot haver donat lloc, en els peixos i en els calamarsos, a proteïnes que, en aquest cas, serien més aviat homòlogues. Falten dades d'altres espècies.

PARELLÓ

¿Hi ha dades concretes que permetin la comparació de seqüències de protamines i d'histones?

SUBIRANA

Només coneixem la seqüència de protamines de peixos. Actualment hom estudia, en laboratoris diferents, protamines d'altres grups biològics que proporcionaran dades més concretes per a fonamentar els punts de vista exposats.

PARELLÓ

En presència de proteïnes amb un elevat percentatge d'un aminoàcid, hi haurà sempre homologia entre aquestes proteïnes?

SUBIRANA

Evidentment, però la comparació decisiva en aquest esquema evolutiu té lloc entre les protamines i les histones, que no tenen en comú gaires aminoàcids.

PREVOSTI

¿Les proteïnes de l'esperma del músculo serien, llavors, histones que durant l'evolució donarien lloc a protamines en altres molluscs?

SUBIRANA

Són semblants de dimensions a les protamines, però hi ha diferències en la composició d'aminoàcids. Els organismes primitius conserven una alta quantitat de lisina. En organismes més avançats sembla que hi ha més arginina, però hi trobem excepcions. El *Chiton*, per exemple, és més primitiu i té més arginina que el *Mytilus*.

PREVOSTI

En el cas de musclos i de calamarsos, per tal com corresponen a branques divergents, hom pot pensar que les diferències són degudes sobretot al fet que unes espècies han evolucionat en un sentit i altres han evolucionat en una altra direcció.

SUBIRANA

Aquest és probablement un factor important, com podem veure en el cas dels bivalves. Aquests animals sembla que tenen una evolució radial; llur filogènia és difícil. En el cas de *Spisula*, una cloïssa americana, i de l'ostra, les proteïnes de l'esperma semblen de dimensions més grans que les histones, però també amb una gran quantitat d'arginina. Aquest és un exemple d'un cas insòlit, no trobat fins ara en altres grups.

PALAU

En relació amb la intervenció del doctor Prevosti, seria interessant de veure si en els equinoderms les histones s'assemblen o no a les somàtiques d'organismes superiors i de l'esperma. Sembla com si hagués existit una espècie primitiva en la qual hi hagué una duplicació i es diferenciaren una línia germinal que donà lloc a les protamines i una línia somàtica que donà lloc a les histones.

SUBIRANA

Hi ha branques que poden haver evolucionat molt i unes altres poc. En la granota, per exemple, les proteïnes de l'esperma pràcticament no han evolucionat, semblen histones molt semblants a les somàtiques. En els celenterats, la morfologia del nucli dels espermatozoides indica que hi ha protamines. Sembla haver estat descobert això abans que en els equinoderms.

GADEA

Des del punt de vista de l'homologia és més adient de comparar espermàtides que espermatozoides. Aquests ja estan diferenciats per a viure fora.

SUBIRANA

En l'espermàtida només hi ha histones somàtiques, no les de l'esperma; però seria molt interessant un estudi bioquímic de les espermàtides, perquè la síntesi d'ARN ja està aturada en aquest estadi de diferenciació.