

17 DE NOVIEMBRE DE 05

## Aumentando el canal que transporta proteínas

Unos investigadores han logrado la imagen más detallada hasta el momento del corazón del translocón, canal a través del cual las proteínas recientemente construidas se insertan en la membrana celular. El proceso de transportar proteínas a través de las membranas o hacia el interior de las mismas es una función crítica que ocurre en todas las célula.

El investigador del Instituto Médico Howard Hughes Joachim Frank, del Centro Wadsworth, y sus colegas publicaron su estudio detallado del centro del translocón, llamado canal conductor de proteínas (CCP), en un artículo publicado en el número del 17 de noviembre de 2005, de la revista *Nature*. Los coautores líderes del artículo fueron Kakoli Mitra, del laboratorio de Frank, y Christiane Schaffitzel, del Eidgenössische Technische Hochschule Hönggerberg, en Suiza, quien se encuentra en el laboratorio del otro autor senior, Nenad Ban. Los otros coautores fueron del Instituto de Investigación Scripps y de la Universidad del Estado de Nueva York, en Albany.

Los investigadores estudiaron el CCP, que toma la proteína recientemente hecha a medida que sale de la maquinaria de síntesis proteica constituida por el ribosoma. Entonces, el CCP abre un poro que es perpendicular o lateral a la membrana celular para hacer que la nueva proteína ya sea pase a través de la membrana o permanezca en su interior.

---

"Lo que hemos logrado es un salto enorme hacia la resolución de este complejo."

- Joachim Frank

---

Para los estudios, los investigadores suizos crearon un complejo que consistía en el CCP de *E.coli* unido a un ribosoma que contenía un segmento proteico recientemente formado. El ribosoma es el complejo de proteína y ARN que constituye la maquinaria de formación de proteínas de la célula.

Mitra exploró la estructura del complejo entre el CCP y el ribosoma utilizando microscopía electrónica criogénica tridimensional (crio-ME), así

como también métodos computacionales. La crio-ME tridimensional es una de las pocas técnicas mediante las que se puede visualizar moléculas grandes y dinámicas.

Para preparar la muestra para la crio-ME, los investigadores sumergieron el complejo que contenía CCP en agua y después lo congelaron abruptamente en etano líquido superfrío. El congelamiento rápido aprisionó el complejo en hielo vítreo, forma de hielo no cristalina y vidriosa, preservando así su estructura original. Utilizando un microscopio electrónico con un haz de baja intensidad para evitar dañar las moléculas, los científicos luego obtuvieron imágenes de los miles de complejos proteicos prisioneros. Después, utilizaron análisis de imágenes por computadora para producir, a partir de las imágenes ruidosas y de contraste bajo producidas por el microscopio electrónico, mapas tridimensionales detallados del complejo en dos estados distintos.

”Lo que hemos logrado es un salto enorme hacia la resolución de este complejo”, dijo Frank. “Sin embargo, esta resolución no nos permitiría estudiar el complejo en detalle atómico o incluso observar las hélices individuales”. Dijo que los resultados del análisis de crio-ME fueron ayudados por datos cristalográficos de rayos X sobre la estructura del CCP realizados por otros investigadores. En cristalografía de rayos X, se dirige un haz de rayos X a través de los cristales de una proteína diana. A medida que los rayos X pasan a través del cristal, se difractan. Los investigadores pueden entonces analizar el patrón de difracción para determinar la estructura atómica de la proteína.

El análisis realizado por Frank y sus colegas reveló que cada canal consiste en dos subunidades del CCP unidas de tal forma que parecen una concha de almeja. Los datos de la crio-ME también revelaron dos conformaciones distintas del CCP -una que estaba al parecer en el estado funcional o de “translocación” y una en un estado de no translocación-.

Los datos de cristalografía de rayos X del laboratorio del investigador del HHMI, Tom A. Rappaport sugerían que las mitades de la concha de almeja del CCP estaban unidas por la parte posterior. Sin embargo, dijo Frank, las estructuras de cristalografía de rayos X no representan a menudo las conformaciones de proteínas en su estado funcional original.

Por lo tanto, él y sus colegas aplicaron un método analítico computacional llamado “ajuste flexible basado en el modo normal” (NMFF, por sus siglas en inglés) para modelar qué tan bien las dos estructuras posibles del canal podían explicar los datos estructurales de la crio-ME. El método NMFF fue desarrollado y aplicado por los coautores Florence Tama y Charles Brooks, del Instituto de Investigación Scripps. La técnica proporciona información dinámica sobre la multiplicidad de vibraciones y movimientos que las moléculas complejas experimentan.

El análisis de NMFF reveló que los datos de la crio-ME se explicaban mejor mediante un modelo en el cual las dos conchas de almeja del CCP estaban unidas “por el frente”. Este arreglo produjo pistas significativas sobre la forma en la que funciona el canal para translocar proteínas a través de las membranas o hacia su interior, dijo Frank.

“Ahora que tenemos estas nuevas pistas sobre la arquitectura del CCP en su estado de translocación y posiblemente de no translocación, podemos explorar los mecanismos de transporte perpendicular versus los de transporte lateral”, dijo Frank.