

14 DE OCTUBRE DE 2004

Investigadores sorprendidos por la elegante arquitectura del transportador de glutamato

Una proteína transportadora que aspira el neurotransmisor glutamato tiene una estructura radicalmente diferente de cualquier otra proteína de membrana que haya sido estudiada hasta la fecha. Los investigadores están entusiasmados con los estudios porque esperan que aclaren mejor la actividad de los transportadores de glutamato, proteínas que transportan el neurotransmisor crítico entre las células nerviosas.

Los investigadores del Instituto Médico Howard Hughes (HHMI), que determinaron la primera estructura tridimensional de tal transportador de neurotransmisores, encontraron que la proteína tiene forma de bol y que se inserta profundamente en la membrana celular. La estructura muestra que el bol contiene segmentos proteicos que se comportan como las paletas de una máquina de pinball que atrapan al glutamato y lo devuelven a la neurona.

"Tuvimos que jugar bastante para lograr que esos cristales difractaran bien, principalmente porque estas proteínas son extraordinariamente hidrofóbicas, como esferas de grasa, y no tienden a formar buenos reticulados fácilmente."

— Eric Gouaux

Las neuronas que son activadas por el glutamato cumplen una función central en el aprendizaje y en la memoria. Su disfunción ha estado involucrada en una amplia gama de trastornos, entre los que se encuentran la esquizofrenia, la depresión y la apoplejía, dijo el investigador del HHMI, Eric Gouaux quien condujo al equipo de investigación. Gouaux y los coautores Dinesh Yernool y Olga Boudker de la Universidad de Columbia publicaron sus resultados en el número del 14 de octubre de 2004, de la revista *Nature*.

“Estos transportadores son absolutamente esenciales para el ciclo de señalación entre las neuronas que es fundamental para la función del

cerebro”, dijo Gouaux. “Las proteínas transportadoras de neurotransmisores son clínicamente importantes porque, por ejemplo, son los blancos de ataque de antidepresivos utilizados ampliamente llamados ISRSs, o inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina”. Tales drogas incluyen Prozac, Celexa y Zoloft.

Gouaux dijo que la comprensión básica del transportador de glutamato podría ayudar al desarrollo de drogas nuevas para tratar una amplia gama de trastornos. La estructura del transportador también podría estimular la investigación básica porque los transportadores de glutamato están presentes en muchos órganos, incluyendo el corazón, el riñón y el intestino, aunque su función allí es desconocida.

Las neuronas del cerebro activan impulsos nerviosos en sus vecinas liberando abruptamente moléculas neurotransmisoras a través de la sinapsis, que es la unión entre las neuronas. Después de que una neurona descarga, debe pasar por un breve período de recuperación, durante el cual emplea moléculas transportadoras para reincorporar y reciclar las moléculas neurotransmisoras.

Pero antes de que Gouaux y sus colegas determinaran la estructura tridimensional del transportador de glutamato, se sabía poco sobre la forma en la que funcionaban tales transportadores de neurotransmisores o incluso la forma en la que se encajaban en la membrana de las neuronas.

“Una de las cosas más fascinantes sobre estas proteínas es que había ambigüedades substanciales en la comprensión básica de la forma en la que se insertaban en la membrana”, dijo Gouaux. Además, aunque se había determinado la secuencia de aminoácidos de la proteína transportadora de glutamato y se habían realizado experimentos bioquímicos para mejorar la comprensión de su forma total, todavía existían interrogantes principales sobre la arquitectura y el mecanismo de acción del transportador.

En sus estudios, Gouaux y sus colegas emplearon cristalografía de rayos X, técnica analítica utilizada extensamente, para determinar la estructura de la proteína transportadora. Para realizar esta técnica, se dirigen rayos X a través de los cristales de una proteína, y su estructura se deduce a partir del patrón de difracción de rayos X.

La producción de los cristales de la proteína transportadora resultó técnicamente difícil, dijo Gouaux. “El trabajo de estas moléculas es mover un substrato de un lado de la membrana al otro”, dijo. “Y para realizar este trabajo, tienen que ser sumamente flexibles. Esto complica su cristalización porque las moléculas flexibles, móviles, dinámicas no producen buenos cristales”. Lo que empeoró las cosas fue que tales proteínas son reacias a formar cristales utilizables porque contienen aminoácidos hidrofóbicos que “repelen el agua” y que les permiten ubicarse en la membrana lipídica de la célula.

Por lo tanto, los investigadores tuvieron que encontrar un análogo cercano de la proteína humana de transportador de glutamato que adoptara una conformación más estable, que hiciera más fácil la cristalización.

Encontraron su equivalente en un transportador de glutamato de la bacteria *Pyrococcus horikoshii*, que se ha adaptado a vivir en vertientes submarinas de agua hirviente y sus proteínas son, por lo tanto, menos frágiles.

Aún entonces, los investigadores tuvieron que inducir mutaciones selectivas en la molécula para hacer más posible su estudio. “Tuvimos que jugar bastante para lograr que esos cristales difractaran bien, principalmente porque estas proteínas son extraordinariamente hidrofóbicas, como esferas de grasa, y no tienden a formar buenos reticulados fácilmente”, dijo Gouaux.

La estructura de la proteína transportadora de glutamato resultante, dijo Gouaux, nos dio sorpresas extraordinarias. “Lo realmente fantástico de esta estructura es que tiene forma de bol, que llega hasta la mitad de la membrana y que se balancea de un lado al otro de la misma, exponiéndose al medio extracelular”, dijo. “Un interrogante importante del estudio de transportadores ha sido la forma en la que mueven el glutamato u otros substratos a través de la membrana. Y es absolutamente maravilloso observar cómo esta proteína lo ha logrado al tallar este bol en la membrana. No es que exista un canal pequeño que la molécula de glutamato tenga que atravesar hasta la mitad de la doble membrana. Existe este bol gigante así que puede simplemente difundirse alrededor y después encontrar estos sitios de unión”.

Los sitios de unión del transportador para el glutamato representan otra característica llamativa de la proteína, dijo Gouaux. “Los sitios de unión están flanqueados por estructuras de horquillas helicoidales que hemos propuesto actúan como puertas trampa o paletas. Cuando se abren, hacen que el sitio de unión se haga accesible en un lado de la membrana o en otro”. Cada sitio de unión tiene dos tipos de esas “paletas”, dijo Gouaux.

“Para explicarlo de forma sencilla, pensamos que estas dos paletas proporcionan el acceso alternante al sitio de unión de glutamato que permite que el glutamato se mueva desde el exterior al interior de la célula”, dijo.

El siguiente objetivo de los investigadores es comprender de una forma más detallada cómo funciona el transportador de *Pyrococcus*. Gouaux y sus colegas van a explorar la estructura de los transportadores humanos. Espera que ambos tipos de estudios proporcionen pistas que sean clínicamente útiles sobre la forma en la que las drogas se unen y afectan a las proteínas transportadoras de glutamato.