

07 DE JULIO DE 2000

Experimentos revelan nuevos detalles sobre la arquitectura de los canales iónicos

Experimentos realizados utilizando cristalografía de rayos X y electrofisiología han revelado nuevos detalles acerca de la arquitectura de los canales de potasio dependientes de voltaje. Los investigadores en el Instituto Médico Howard Hughes (HHMI) en la Universidad Rockefeller, han resuelto la estructura cristalina de la porción citoplasmática de estos canales, que controlan el flujo de potasio hacia el exterior de la célula.

Los canales del ion potasio, dependientes de voltaje, son máquinas moleculares precisas que son fundamentales para propagar los impulsos eléctricos en el cerebro y el corazón. Los canales están compuestos por grandes proteínas que forman un poro cónico que atraviesa la membrana celular. Cuando un impulso eléctrico viaja a lo largo de un nervio, la membrana celular se despolariza, activando a estos canales iónicos para que se abran y para que permitan que el potasio fluya hacia el exterior de la célula. Esta salida de potasio permite que la membrana vuelva a su estado de reposo y se prepare para el impulso siguiente.

Los experimentos realizados por el investigador del HHMI, Roderick MacKinnon y sus colegas en la Universidad Rockefeller ofrecen una nueva información estructural sobre las porciones de los canales iónicos que se encuentran en el interior de la célula. Los hallazgos, publicados en el número del 7 de julio de 2000, de la revista *Science* representan un avance hacia una comprensión más completa sobre cómo se controlan los canales del ion potasio.

En un trabajo previo, MacKinnon y sus colegas demostraron que la región del poro, del canal de potasio, está construida por cuatro subunidades α idénticas y que presenta la forma de una tienda indígena invertida. A pesar de que luego los investigadores también resolvieron la estructura de la subunidad β que se extiende en el interior de la célula, quedaban muchas preguntas sin resolver sobre la función de esa subunidad.

"Basados en la estructura de la subunidad β , encontramos que esta tenía la capacidad de actuar como una enzima oxidorreductasa", dijo MacKinnon. "El entender por qué las células tienen tal enzima unida a los canales de potasio dependientes de voltaje se ha convertido en un objetivo central de la

investigación sobre la subunidad β , en nuestro laboratorio". MacKinnon supone que la enzima representa la parte de la maquinaria utilizada por la célula para controlar la apertura y el cierre del canal de potasio.

Durante la exploración de la naturaleza de la actividad enzimática, uno de los primeros objetivos del equipo fue ver cómo la subunidad β estaba acoplada al resto del canal de potasio. De esta manera, MacKinnon y sus colegas iniciaron esfuerzos para cristalizar los componentes principales del complejo que se encuentran dentro del citoplasma de la célula y dedujeron la estructura utilizando cristalografía de rayos X. En esta técnica analítica extensamente usada, los rayos X son emitidos a través de los cristales de una proteína y los patrones de los rayos X difractados se analizan usando una computadora para deducir la estructura de la proteína.

Además de la subunidad β , la estructura citoplasmática del canal de potasio también contiene un segmento proteico conocido como dominio T1. La estructura de T1 había sido previamente resuelta por Senyon Choe del Instituto Salk.

"Basado en la hipótesis de que el dominio proteico T1 se debía unir, de alguna manera, a la subunidad β , expresamos conjuntamente ambas proteínas en células y fuimos capaces de purificar y cristalizar un complejo en el cual las dos proteínas estaban ligadas", dijo MacKinnon. Dado que se había demostrado que la proteína T1 y la subunidad β existían como tetrámeros, cuatro unidades unidas, "era lógico pensar que, de alguna manera, estas se juntaran en un eje paralelo cuádruple", dijo MacKinnon.

En efecto, a pesar de que la cristalografía de la radiografía reveló una arquitectura tetramérica para el complejo formado por la subunidad β y T1, seguían existiendo preguntas claves, dijo MacKinnon.

"Incluso después de ver la estructura de este complejo, todavía no sabíamos qué dirección tenía en la membrana", dijo. "Para entender esa disposición, estudiamos los efectos de mutaciones en el complejo y realizamos experimentos electrofisiológicos, y éstos nos dijeron que el dominio T1 está más cerca de la membrana y que la subunidad β está más alejada.

"De esta manera, a pesar de que este trabajo no responde la pregunta central sobre la función de la subunidad β como enzima, nos acerca la respuesta al decirnos cómo se une", dijo MacKinnon.

La información sobre la estructura y la unión del complejo entre la subunidad β y T1, sin embargo, contesta un importante misterio sobre el dominio T1, dijo.

"Un problema conceptual significativo con la estructura desarrollada por Choe-que era ciertamente una estructura correcta-era que el orificio en el centro del tetrámero T1 era demasiado estrecho para permitir que los iones potasio pasaran a través del mismo. Parecía que los canales de potasio tenían un tapón.

"Así, un buen resultado de nuestros estudios de mutagénesis fue el descubrimiento de que parecen existir aperturas al costado y arriba del dominio T1, y de esta manera es cómo el poro transmembrana se comunica con el citoplasma", dijo MacKinnon.

Los experimentos del equipo de MacKinnon demostraron que las aperturas laterales ofrecen una ruta a través de la cual las puertas de inactivación del canal de potasio puedan alcanzar al poro central. Estas puertas de inactivación son los medios por los cuales la maquinaria de control del canal puede cerrar rápidamente el canal cuando es necesario controlar el flujo iónico, por ejemplo, para alterar un impulso nervioso.

Según MacKinnon, el siguiente desafío de investigación es entender cómo la actividad enzimática de la subunidad β se acopla al canal de potasio, lo que debiera ocurrir si la enzima tuviera una función en la maquinaria de control del canal. Entre las hipótesis, dijo, tenemos que parte del canal podría extenderse hacia la enzima para actuar como un interruptor de activación o desactivación. Alternativamente, el estado de la enzima podría, de alguna manera, transmitir una señal desde la célula que afecte el estado del canal. Estudios adicionales se centrarán también en la identificación del sustrato sobre el cual actúa la enzima, lo que podría ofrecer indicios vitales sobre la vía de control celular en la que esta participa.