

psicobiología y permitiendo el estudio de las funciones cerebrales de orden superior.

La labor de Paul Lauterbur y Meter Manfield ha sido seguida por numerosos investigadores de todo el mundo y también en nuestra Universidad. Como un recuerdo nostálgico que ahora cobra un valor especial, la Figura 4 muestra los asistentes a la Gordon Conference de Resonancia Magnética de 1990. En ella se puede distinguir al Prof. Lauterbur y al Dr. Francisco Chapa Gabriel, primer becario de la UNED en hacer su Tesis Doctoral en Resonancia Magnética Biomédica.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Bloch, F.; Hansen, W. W.; Packard, M.E. *Phys. Rev.* **1946**, *69*, 127.
- [2] Purcell, E. M.; Torrey, H. C.; Pound, R. V. *Phys. Rev.* **1946**, *69*, 37.
- [3] Lauterbur, P. C. *Nature*, **1973**, *242*, 190.
- [4] Kumar, A.; Welti, D.; Ernst, R. R. *J. Magn. Resn.* **1975**, *18*, 69.
- [5] Mansfield, P. J. *Phys. C: Solid State Phys.* **1977**, *10*, 155.

**Pilar López Larrubia y
Paloma Ballesteros García**

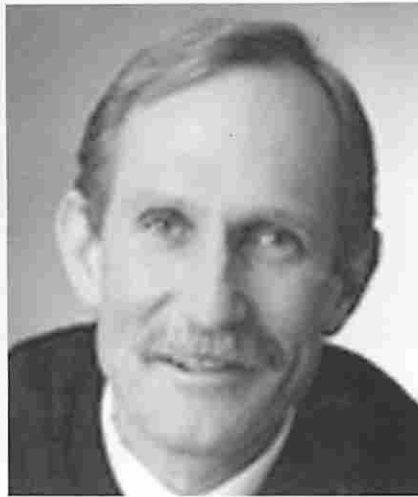
*Dpto. de Química Orgánica y Biología
Sebastián Cerdán García-Esteller
Laboratorio de Imagen y Espectroscopía por Resonancia Magnética*

Premios Nobel en Química 2003

PETER AGRE Y RODERICK MACKINNON. PROTEÍNAS DE TRANSPORTE DE IONES Y AGUA EN LA MEMBRANA DE LAS CÉLULAS

El Premio Nobel de Química de 2003 ha sido compartido por dos científicos que han realizado una importante contribución para entender, a nivel químico, el funcionamiento de la membrana de la célula y, en concreto, de las proteínas canal que regulan el paso del agua y de los iones.

Peter Agre (1949) es profesor de Química Biológica en la Escuela de Medicina de la Universidad Johns Hopkins en Baltimore. Su grupo de investigación descubrió las proteínas de membrana responsables del transporte de agua, aislando la primera de ellas, a la que denominaron acuaporina (1991).



Roderick MacKinnon (1956) es profesor de Neurobiología Molecular y Biofísica y trabaja en el Instituto Médico Howard Hughes de la Rockefeller University en Nueva York. Su grupo investiga los canales de iones y descubrió la estructura química y el mecanismo de funcionamiento de la proteína canal de potasio K^+ (1998).



Los descubrimientos de Agre y MacKinnon son fundamentales para entender el transporte a través de la membrana de las células. La membrana controla el contenido interno de la célula y la comunicación con el

exterior, ya que regula el paso de moléculas y detecta las señales y situaciones del entorno. Todas las membranas están formadas por una doble capa de fosfolípidos, que constituyen una barrera protectora y aislante para las células, prácticamente impermeable al agua, a los iones y a cualquier otra molécula polar. Las proteínas, embutidas en esta membrana, realizan las labores finas y selectivas de discriminar lo que entra y sale de la célula. Agre y MacKinnon han descubierto la existencia de una fantástica familia de proteínas que funcionan como máquinas moleculares a modo de canales, con compuertas o válvulas, en las membranas. Si para todas las células estas funciones son importantes, resultan críticas en el caso de la comunicación entre neuronas, la contracción muscular, la función cardíaca y la reabsorción en los riñones. Las implicaciones futuras de sus descubrimientos son de gran relevancia en el campo médico, ya que se conocen bastantes enfermedades cuya patología es consecuencia de un incorrecto funcionamiento de los canales de agua y de iones. Conocer cómo son y cómo funcionan constituye el primer paso para poder desarrollar nuevos medicamentos y vías alternativas de curación.

LOS CANALES DE AGUA

La existencia de canales que mediaran la entrada de agua y otros pequeños solutos en la célula fue postulada a finales del siglo XIX. Sin embargo, el concepto de canales específicos para el agua era muy controvertido. A lo largo de los años, los datos experimentales apoyaban la existencia de un filtro muy selectivo, que permitía que el flujo de H_2O neutra alcanzara las 10^9 moléculas por segundo, mientras que impedía la entrada de agua protonada (H_3O^+). De no ser así cambiaría el pH de la célula. Además, no todas las células tenían el mismo comportamiento con respecto a la permeabilidad al agua. A pesar de las numerosas pruebas sobre su existencia, los intentos para aislar o identificar moléculas o estructuras

específicas para el transporte del agua fracasaron.

Los elusivos canales de agua fueron finalmente descubiertos de forma totalmente casual. El grupo de Peter Agre no estaba interesado en el transporte, ni mucho menos en los canales de agua, sino en la caracterización de los antígenos Rh en las membranas de los glóbulos rojos. Sin embargo, hacia finales de los 80, detectaron una nueva banda en los extractos de proteínas de membrana de los eritrocitos que correspondía a una proteína relativamente pequeña (28 kDa) y de función desconocida que decidieron caracterizar. Pronto sospecharon que se trataba de una proteína canal. Después de obtener la secuencia parcial de esta proteína, pudieron determinar la secuencia de DNA, y aislar el gen que la codifica. Tras unos elegantes experimentos, en los que expresaron este gen en células que no son permeables al agua, como los oocitos de anfibios, vieron que se convertían en permeables, estallando en un medio hipotónico. Este y otros experimentos en los que la adición de la proteína purificada a liposomas los convertía en permeables, les permitieron confirmar definitivamente que se trataba de la proteína que constituía el canal de agua, a la que denominaron acuaporina. Desde entonces se han descrito unas 200 acuaporinas en todos los seres vivos, desde las bacterias hasta los humanos, donde existen al menos 11 acuaporinas diferentes. La importancia fisiológica de las acuaporinas es quizás más evidente en el riñón, cuyas células reabsorben del orden de 200 litros diarios de agua de la orina primaria. Estas células tienen unas acuaporinas específicas y su función está regulada por la hormona vasopresina.

La estructura fina tridimensional de las acuaporinas, descrita en el año 2000, ha permitido elaborar un modelo muy detallado para explicar el paso de las moléculas de agua y las interacciones a nivel atómico con los aminoácidos que constituyen el canal interno de la proteína

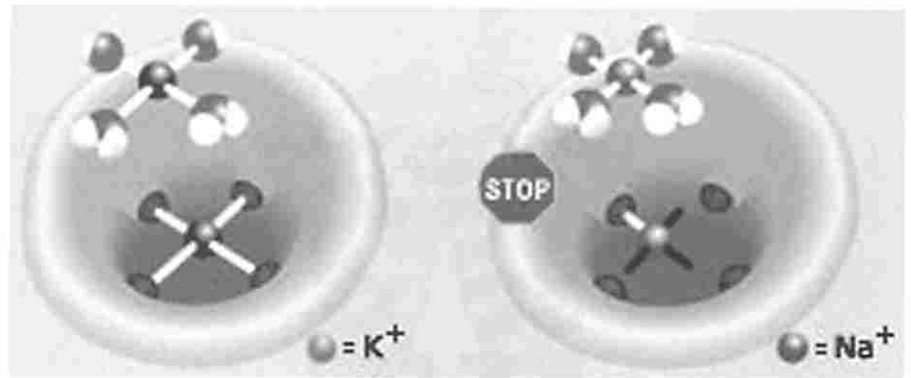


Figura 1. Los canales de potasio son muy selectivos para este ión. El ión sodio, aun teniendo un tamaño menor, no atraviesa el canal y permanece fuera rodeado de moléculas de agua.

por el que fluyen las moléculas de agua en fila india.

Los resultados obtenidos por el grupo de Agre han revolucionado el estudio del transporte de agua a través de las membranas y han sentado las bases bioquímicas para este importante campo de la fisiología y la medicina.

LOS CANALES DE IONES

Los canales iónicos regulan, entre otras, las funciones del sistema nervioso y de los músculos. Por su enorme importancia han sido objetivo de numerosos estudios y de algunos Premios Nobel anteriores. El químico físico alemán Wilhelm Ostwald fue el primero en proponer, a finales del XIX, que las señales eléctricas medidas en determinados tejidos vivos eran debidas al movimiento de iones a través de las membranas. Sus aportaciones le valieron el Premio Nobel de Química en 1909. Bastantes años después, en 1963, el Nobel de Fisiología y Medicina premió a los científicos ingleses Hodgkin y Huxley que habían demostrado cómo el movimiento de iones sodio y potasio, Na^+ y K^+ , genera el pulso eléctrico y su propagación desencadena el impulso nervioso que se transmite de una neurona a su vecina.

Durante más de cincuenta años se han ido acumulando evidencias sobre las propiedades que tenían estos canales tan selectivos, capaces de discernir entre iones muy parecidos. Se postuló que debían tener compuertas que podían abrirse o cerrarse, y conducir los iones en un sentido o en el contrario; pero resul-

taba un misterio el comportamiento de esta exquisita maquinaria molecular. ¿Cómo es posible que un canal de K^+ (véase Figura 1) permita la entrada de millones de iones potasio por segundo y sólo se le cuele ocasionalmente un ion sodio por cada 1000 iones de potasio, si tienen la misma carga y el sodio es más pequeño? Esto ha representado durante muchos años un verdadero rompecabezas para los biofísicos.

Finalmente, en 1998, el equipo de Roderick MacKinnon logró descifrar, por primera vez, la estructura tridimensional, en alta resolución, de un canal iónico de potasio (K^+) bacteriano (véase Figura 2). Como ocurre a menudo en Biología, donde forma y función están íntimamente relacionadas, la sola observación de la estructura de esta proteína, a nivel atómico, permitió rápidamente comprender cómo podía funcionar y el por qué de esta exquisita selectividad. En disolución los iones están rodeados por moléculas de agua que los estabilizan (esfera de hidratación). Cuando el potasio choca con la entrada del canal pierde su abrigo de agua y queda inmediatamente arropado por los átomos de oxígeno de los aminoácidos del interior del canal, que tienen exactamente la misma disposición espacial que los oxígenos de las moléculas de agua que lo rodeaban previamente. Sin embargo, el sodio es demasiado pequeño y perder el agua lo dejaría en una situación muy desfavorable, desnudo en el interior del canal con los oxígenos muy alejados, por lo que se queda fuera del canal de potasio.

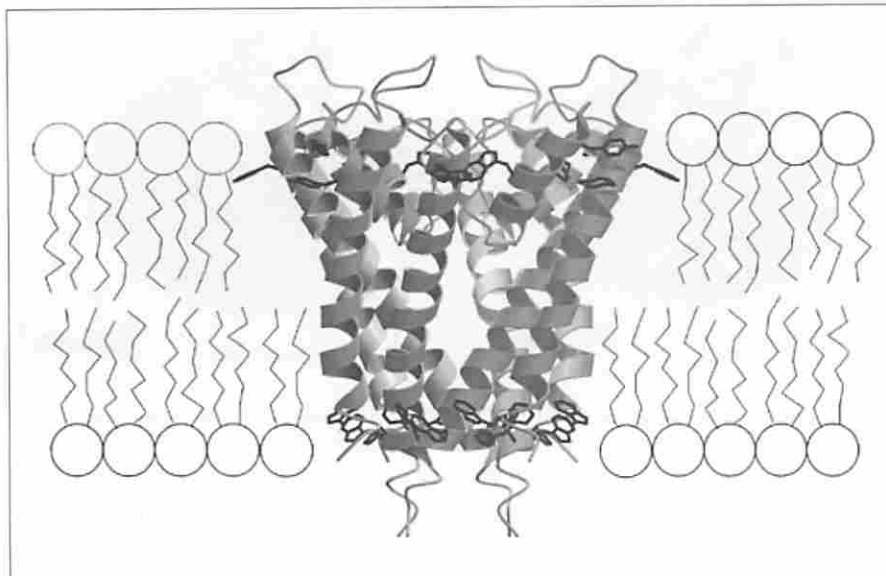


Figura 2. Diagrama de bandas que muestra una imagen lateral de la proteína canal de potasio KcsA. El canal se encuentra embebido en la membrana celular con la cara extracelular arriba y la cara citoplasmática hacia abajo.

Pudieron observar que el canal está formado por cuatro subunidades idénticas de la misma proteína, dispuestas en forma de tienda de campaña india invertida, es decir, como un embudo. Además, existe un mecanismo de compuerta que es capaz de abrir y cerrar el poro del canal en respuesta a ligandos químicos, como el calcio, o a cambios de voltaje. La flexibilidad del aminoácido glicina permite que funcione como una bisagra (véase Figura 3).

Posteriormente, extendieron sus estudios a los canales de potasio en diferentes organismos, insectos y mamíferos, demostrando que su forma y su funcionamiento es equivalente al de las bacterias.

Los trabajos de Agre y MacKinnon ponen de manifiesto dos formas diferentes de hacer ciencia. Si Agre tuvo la suerte de encontrarse con una proteína que no buscaba y la sabia intuición de volcarse en su estudio, abandonando su tema de trabajo anterior, MacKinnon, que inició la carrera científica después de ejercer la medicina durante 8 años, ha perseguido con constancia y tenacidad el objetivo que entonces se propuso: descubrir el funcionamiento de los canales de potasio.

Durante más de diez años, el grupo de MacKinnon abordó el estudio de los canales de potasio tratando de averiguar que aminoáci-

dos eran esenciales para su funcionamiento. Las largas y tediosas técnicas de mutagénesis dirigida, es decir, mutar el gen y estudiar la funcionalidad de la proteína de canal

mutada, le dieron una excelente información; pudo determinar los ocho aminoácidos clave que constituían el poro del canal, pero esto no le permitió entender el verdadero mecanismo de su funcionamiento. Convencido de que era necesario “ver” la proteína para entenderla, se adentró él mismo en el estudio de la cristalografía por Rayos X, y su equipo en la clonación del gen para la obtención de grandes cantidades de proteína muy pura cristalizada, un prerequisite de esta técnica. Esta apuesta dio sus frutos y la arquitectura de la proteína canal de potasio de la bacteria *Streptomyces* pudo ser interpretada.

Los Premios Nobel de este año ilustran bien un concepto clave de la Biología actual y es que para lograr entender los procesos fundamentales de los seres vivos es necesario llegar finalmente hasta el nivel atómico.

Gloria Morcillo Ortega
Fac. de Ciencias, UNED

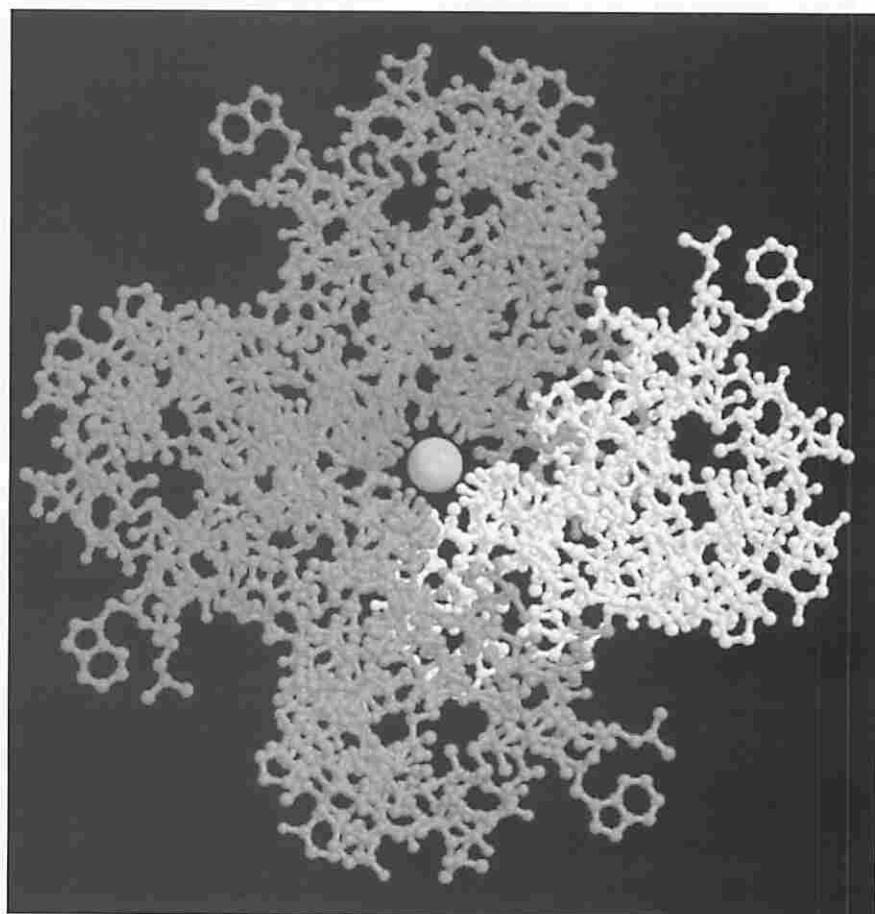


Figura 3. Esta imagen muestra las cuatro subunidades idénticas que constituyen la proteína del canal de potasio de la bacteria “*Streptomyces lividans*”, el centro del canal contiene un ión potasio.