

Nadando en un mar de lípidos

Gerard Duart, Luis Martínez-Gil, Ismael Mingarro

Departament de Bioquímica i Biologia Molecular.

Institut BIOTECMED. Universitat de València

Si algo caracteriza a las proteínas de membrana es su íntima relación con los lípidos que componen las membranas biológicas. En términos generales, las interacciones entre lípidos y proteínas están controladas por el efecto hidrofóbico y las interacciones electrostáticas, como las interacciones de van der Waals y las de Coulomb. Todas las células tienen proteínas embebidas en sus membranas que desempeñan un papel central en eso que denominamos “vida”. Una prueba de su relevancia es que, en el genoma humano, y en la mayoría de los genomas secuenciados, alrededor del 30% de los genes codifican proteínas integrales de membrana, y aproximadamente el 70% de los fármacos comerciales tienen como diana terapéutica proteínas de membrana.

A pesar de su abundancia y relevancia tanto a nivel biológico como industrial, nuestro conocimiento sobre cómo estas proteínas alcanzan su estructura funcional es escaso en comparación con lo que sabemos de las proteínas solubles. Solo se han determinado las estructuras de alta resolución de alrededor del 0,6% de las aproximadamente 8.000 proteínas de membrana identificadas en células humanas, mientras que este porcentaje asciende al 12,5% para las proteínas solubles. Además, las estructuras de proteínas de membrana solo representan alrededor del 2% de todas las estructuras depositadas en el *Protein Data Bank* (PDB, <https://www.rcsb.org>) (Figura 1). Esta infrarrepresentación se debe a la dificultad intrínseca para su manipulación bioquímica, ya que estas proteínas presentan una elevada hidrofobicidad debido al entorno en el que se encuentran y requieren la presencia de una bicapa lipídica o un medio que la imite para mantener su estructura nativa durante su purificación.

Las membranas biológicas proporcionan un ambiente único con propiedades físicas y químicas particulares, y las regiones polipeptídicas que las atraviesan, llamadas dominios transmembrana (TMDs), deben tener propiedades fisicoquímicas acordes. La inserción de un TMD requiere una elevada hidrofobicidad, lo que implica abundancia de aminoácidos hidrofóbicos en estas regiones y la adopción de estructuras secundarias (hélices α

u hojas β) en las que se maximiza la formación de puentes de hidrógeno entre los grupos polares (CO y NH) del enlace peptídico, reduciendo así la polaridad intrínseca del esqueleto polipeptídico. Cabe resaltar que las proteínas de membrana basadas en TMDs α -helicoidales son las mayoritarias y desempeñan las funciones biológicas más relevantes. De hecho, solo encontramos proteínas de membrana basadas en hojas β en la membrana externa de procariontes, y en la de mitocondrias y cloroplastos, siendo éste un argumento que refuerza la teoría endosimbiótica.

BIOSÍNTESIS DE LAS PROTEÍNAS DE MEMBRANA HELICOIDALES

Las proteínas, incluidas las de membrana, son sintetizadas por ribosomas. En el caso de las proteínas de membrana (y de secreción) los ribosomas se encuentran generalmente asociados a las membranas de retículo endoplasmático (ER), o a la membrana plasmática en el caso de los procariontes. Esta asociación permite la inserción de las proteínas de membrana (o su traslocación en el caso de las proteínas de secreción) al mismo tiempo que están siendo sintetizadas. Los ribosomas deben ser por tanto “guiados” a la membrana al inicio de la síntesis proteica, proceso conocido como direccionamiento.

Durante el direccionamiento el ribosoma juega un papel fundamental. Por un lado, sirve como punto de encuentro para diferentes factores que “escanean” la cadena peptídica nascente y determinan dónde será insertada (o secretada) la futura proteína. Las proteínas cuentan con secuencias de direccionamiento que determinarán el destino de la proteína que está siendo sintetizada. La secuencia de direccionamiento, en la mayoría de los casos, se sitúa en el inicio de la proteína y está compuesta por 7-9 residuos hidrofóbicos flanqueados por residuos cargados positivamente en el extremo amino-terminal (N-terminal) y polares sin carga en el extremo carboxilo terminal (C-terminal). Estas secuencias son conocidas como péptidos señal y son generalmente escindidas por una peptidasa para generar la proteína madura. En aquellas proteínas de membrana sin péptido señal, será el primer TMD, generalmente de mayor longitud e hidrofobicidad que el péptido señal, el que actúe como señal de direccionamiento.

Según la posición y la hidrofobicidad de la secuencia de direccionamiento existen dos vías principales para el acceso de las proteínas de membrana a las membranas celulares: cotraduccional y postraduccional. La ruta cotraduccional es la más común en todos los organismos y se inicia mediante el reconocimiento del péptido señal por una chaperona citoplasmática denominada SRP (*Signal Recognition Particle*). La SRP es una ribonucleoproteína que reconoce las secuencias de direccionamiento próximas al extremo N-terminal de las cadenas nacientes cuando éstas emergen del túnel de salida del ribosoma, detiene temporalmente la traducción y direcciona el complejo ribosoma-cadena naciente-SRP a la membrana donde se encuentra su receptor asociado al translocón, a través del cual tiene lugar la inserción. La interacción de la SRP con su receptor produce un cambio conformacional que facilita el posicionamiento del ribosoma sobre el translocón y la transferencia de la secuencia de direccionamiento de la SRP al translocón. Seguidamente, en un proceso catalizado por la hidrólisis de GTP, la SRP y su receptor se disocian del ribosoma, reiniciándose la síntesis de la cadena naciente.

Cuando las señales de direccionamiento se hallan cerca del extremo C-terminal de la cadena naciente (o son poco hidrofóbicas) no son reconocidas por la SRP, de forma que el ribosoma completa la síntesis de estas proteínas en el citosol, por

lo que éstas deberán insertarse en la membrana postraduccionalmente. Para evitar que en la ruta postraduccional los TMDs queden expuestos al citosol, lo que podría inducir procesos de agregación, estas regiones son reconocidas por chaperonas, entre las que destacan en eucariotas la chaperona SGTA (*Small Glutamine-rich Tetratricopeptide repeat-containing protein α*), proteínas de la familia HSP (*Heat Shock Proteins*), proteínas de la familia GET (*Guided Entry of Tail-anchored proteins*), miembros de la familia de la ubiquitina o calmodulina, entre otras; y en procariotas las proteínas SecB/SecA en ruta compartida con las proteínas de secreción.

En eucariotas estas proteínas de membrana tail-anchored (TA) son reconocidas generalmente cerca de la superficie del ribosoma por la chaperona SGTA. En función de la hidrofobicidad del TMD se unen distintas chaperonas para evitar su agregación. Así, las proteínas TA con un TMD muy hidrofóbico son transferidas a GET3, que, a su vez, como una suerte de SRP para proteínas TA, transporta a las proteínas al complejo de membrana GET1-GET2 del ER. Este complejo se ha propuesto que actúe como insertasa, facilitando la inserción del TMD al interior de la bicapa, aunque todavía no disponemos de datos estructurales que lo corroboren. Por otro lado, si las proteínas TA presentan un TMD poco hidrofóbico pueden ser reconocidos por una amplia variedad de chaperonas citosólicas y finalmente guiadas al

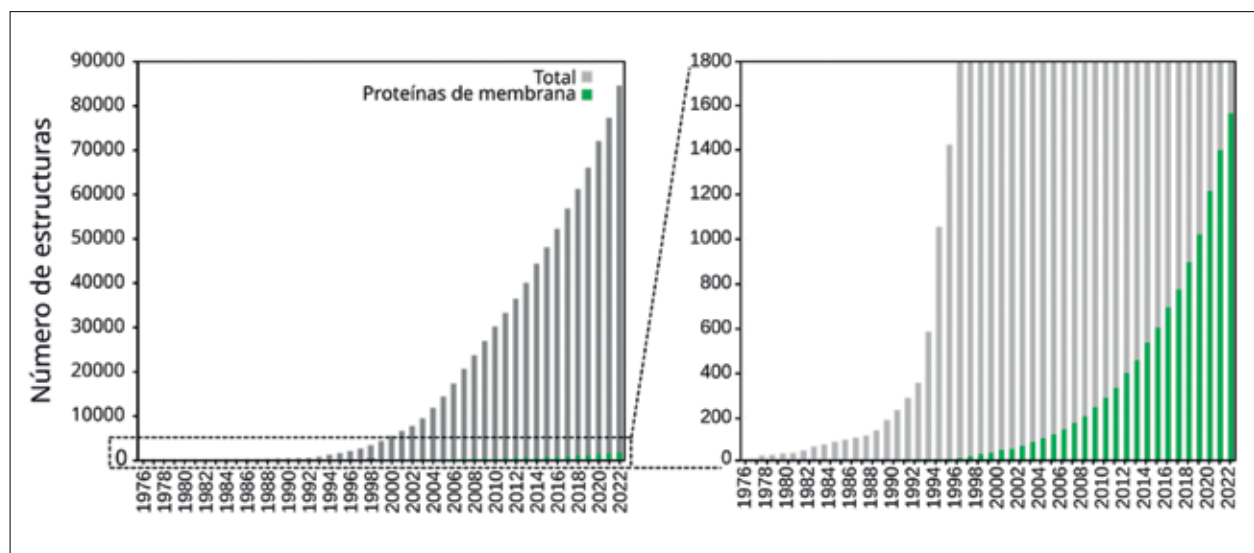


Figura 1

Comparación entre las estructuras de proteínas de membrana y proteínas totales (no redundantes) presentes en el PDB. Izquierda: Estructuras únicas de proteínas de membrana (verde; datos obtenidos de <https://blanco.biomol.uci.edu/mpstruc/>) comparadas con el número total de entradas de estructuras de proteínas no redundantes en el PDB (gris; datos obtenidos de <https://www.rcsb.org/>) en los años 1976-2022. Derecha: ampliación para visualizar las estructuras de proteínas de membrana únicas en el mismo periodo.

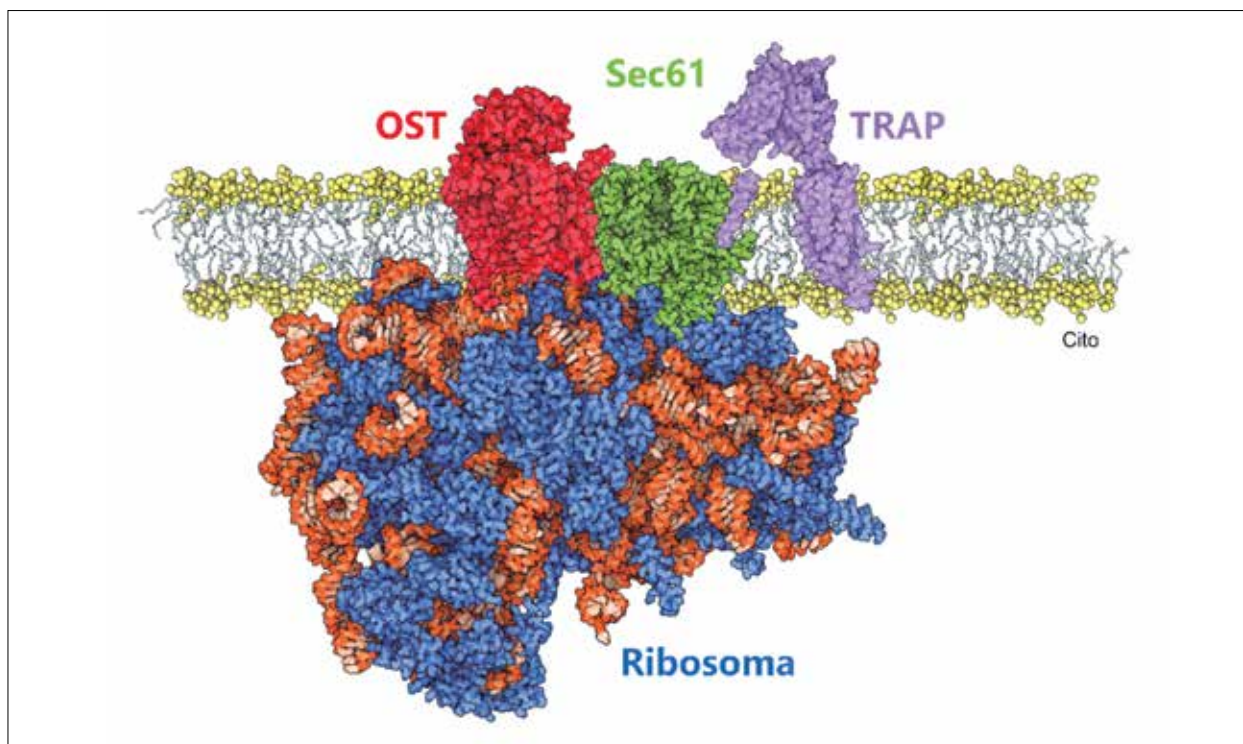


Figura 2

Componentes centrales del translocón eucariota. Representación del ribosoma (proteínas en azul y RNAs en naranja) asociado al translocón Sec61 (verde) formando un complejo con la OST (rojo) y TRAP (violeta). (PDB: 6FTJ y 8B6L).

complejo formado por el translocón Sec61/Sec62/Sec63 o al complejo EMC (*Endoplasmic reticulum Membrane Complex*), los cuales se encargarán de su inserción en la membrana del ER.

INSERCIÓN DE LAS PROTEÍNAS DE MEMBRANA HELICOIDALES

La mayoría de las proteínas de membrana helicoidales se insertan cotraduccionalmente a medida que emergen del ribosoma. Como hemos mencionado anteriormente, las regiones que atraviesan la bicapa lipídica no solo deben acumular residuos hidrofóbicos, sino que, además, el esqueleto polipeptídico debe adoptar estructuras helicoidales para reducir su polaridad. El ribosoma desempeña un papel importante en este proceso, dado que permite el plegamiento de las hélices transmembrana en el interior del túnel de salida del ribosoma. Este comportamiento, además de facilitar la inserción de los TMDs en la bicapa lipídica puede favorecer el reconocimiento de las hélices emergentes y el direccionamiento del complejo ribosoma-cadena naciente a la membrana adecuada. Precisamente, la

SRP interacciona con el péptido señal en estructura helicoidal.

El mecanismo de inserción mejor estudiado es el mediado por el translocón en el ER. El translocón está formado por varias subunidades y proteínas accesorias que participan en la inserción de proteínas de membrana y en la translocación de proteínas de secreción. El canal por el que se introduce la cadena naciente es el complejo heterotrimérico Sec61 (denominado SecYEG y SecYE β respectivamente en bacterias y arqueas) formado por las subunidades α , β y γ . Asociado a este se encuentran otros componentes como el complejo enzimático OST (*OligoSaccharyl Transferase*), encargado de N-glicosilar cadenas nacientes cotraduccionalmente y el complejo heterotetramérico TRAP (*Translocon Associated Protein*), relacionado con la orientación (topogénesis) de las cadenas nacientes en la membrana (*Figura 2*). Además de estas proteínas centrales, el translocón es un complejo dinámico al que pueden asociarse transitoriamente otros componentes como TRAM (*Translocation Associated Membrane protein*), o el receptor de la SRP anteriormente mencionado. El componente principal del translocón Sec61 es la proteína Sec61 α , que está formada por diez hélices- α y forma el poro que permite el paso por su interior de diferentes cadenas nacientes. Este canal es el único que conocemos que permite el paso de moléculas en dos direcciones: axialmente para permitir la

translocación de las proteínas de secreción y de las regiones extramembranas de las proteínas de membrana, y lateralmente para la inserción de los TMDs en la bicapa lipídica. Una vez que las proteínas de secreción se encuentran en el lumen del ER, serán transportadas por vesículas a través del aparato de Golgi y la membrana plasmática hasta ser secretadas al espacio extracelular.

Recientemente se han encontrado evidencias de la existencia de nuevos componentes especializados en la inserción de proteínas de membrana con múltiples (dos o más) TMDs. Estos estudios describen un gran complejo (~360 kDa) asociado al ribosoma, constituido por Sec61 y diferentes factores accesorios como los complejos GEL, PAT y BOS. Se ha sugerido que este “supertranslocón” puede acomodar proteínas enteras, ya que presenta una cavidad hidrofóbica lo suficientemente grande como para acomodar cadenas nacientes con múltiples TMDs y facilitar el plegamiento de proteínas de membrana, evitando el contacto con el resto de los componentes de la membrana antes de la adopción de su estructura terciaria.

Además, en los últimos años se ha caracterizado el complejo multiproteico EMC, formado por 10 subunidades presentes en la membrana del ER en una relación estequiométrica 1:1. EMC se ha descrito como una insertasa postraduccional de proteínas TA, y en algunos casos como una insertasa alternativa a Sec61 para la inserción cotraduccional. El descubrimiento reciente de estas últimas insertasas pone de manifiesto que probablemente todavía no conocemos todos los mecanismos de inserción, y que es necesario seguir investigando en este campo.

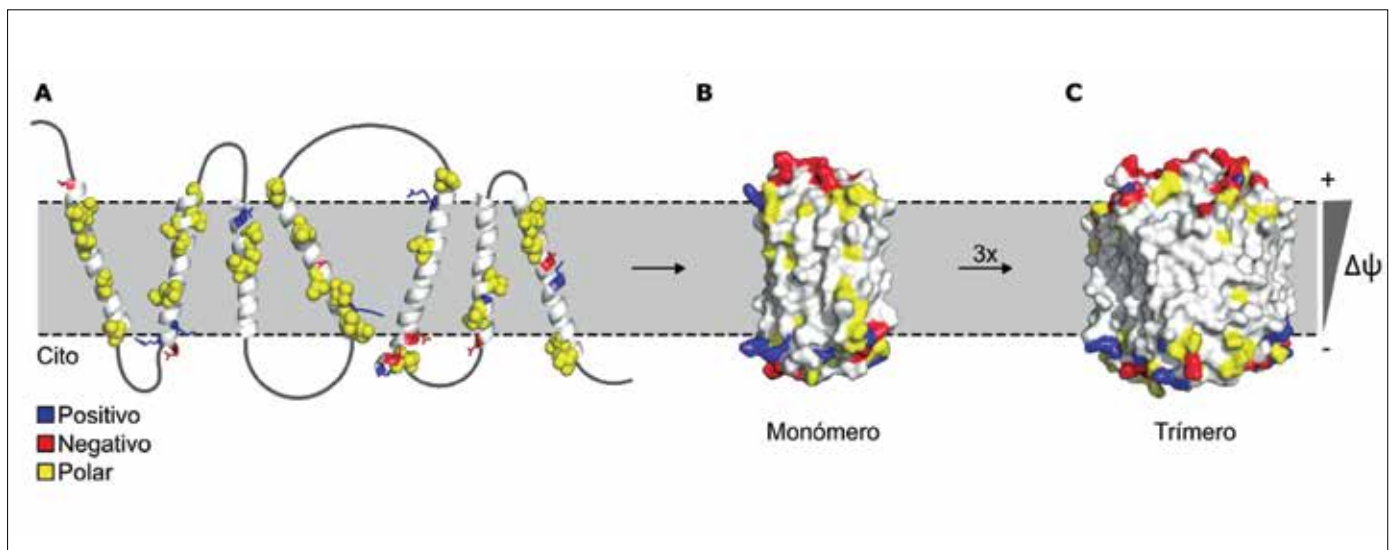
PLEGAMIENTO Y ENSAMBLAJE DE PROTEÍNAS DE MEMBRANA

Una vez que los TMDs de las cadenas nacientes están correctamente insertados en la membrana (*Figura 3 A*), las interacciones entre ellos son esenciales para adoptar las estructuras terciarias (*Figura 3 B*) y cuaternarias (*Figura 3 C*) en los procesos de plegamiento y ensamblaje respectivamente. A diferencia de las proteínas solubles, en las proteínas de membrana las interacciones de van der Waals son la principal fuerza impulsora del empaquetamiento entre hélices, junto con las interacciones con los lípidos circundantes. Por su naturaleza, las fuerzas de van der Waals requieren un área de contacto grande. Sin embargo, en los TMDs se observan frecuentemente aminoácidos con cadenas laterales pequeñas (como Gly o Ala) en las superficies de contacto hélice-hélice, lo que facilita la interacción entre los grupos del esqueleto polipeptídico. Por el contrario, las cadenas laterales no polares voluminosas se encuentran principalmente en las superficies expuestas a lípidos.

Los aminoácidos no hidrofóbicos también contribuyen al correcto plegamiento y ensamblaje de las proteínas de membrana. Su presencia implica que la maquinaria de inserción debe insertar

Figura 3

Inserción, plegamiento y ensamblaje del trímero de la halorodopsina de *Natronomonas pharaonis* (PDB: 3QBG). La representación lineal (A), plegada (B) y ensamblada (C) de una proteína de membrana trimérica ilustra como la mayoría de las cadenas laterales hidrofílicas (residuos destacados en azul, rojo y amarillo) en los TMDs quedan en el interior de la proteína durante su plegamiento y ensamblaje.



TMDs parcialmente hidrofílicos y estabilizarlos temporalmente para evitar los mecanismos de control de calidad del ER, que podrían degradar las proteínas recién insertadas. Para facilitar esta estabilización se ha propuesto la participación de chaperonas de proteínas de membrana asociadas al translocon, como TRAM o el complejo PAT. Estas chaperonas podrían ayudar a apantallar las cadenas laterales polares y así facilitar el plegamiento y ensamblaje de las estructuras nativas. No obstante, todavía no se ha podido definir con detalle molecular la actividad de estas chaperonas.

Los avances recientes en la comprensión de la biogénesis de proteínas de membrana nos han proporcionado nuevas ideas sobre cada una de las fases de este proceso y su relación con los lípidos. En particular, se ha demostrado el papel del ribosoma como centro de distribución de todo el proceso, así como la descripción de nuevas chaperonas citosólicas en el direccionamiento de las proteínas y de nuevas insertasas. Sin duda, sigue siendo necesaria la descripción funcional y estructural de chaperonas de membrana (proteínas y/o lípidos) que asistan a las proteínas recién sintetizadas en las fases finales de estos procesos, pero se está allanando el camino hacia

una comprensión más completa de estos complejos mecanismos. ■

PARA LEER MÁS

- Whitley P, Grau B, Gumbart JC, Martínez-Gil L, Mingarro I. Folding and Insertion of Transmembrane Helices at the ER. *International Journal of Molecular Sciences* 22, 12778 (2021).
- Hegde RS, Keenan RJ. The mechanisms of integral membrane protein biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 23, 107–24 (2022).
- Bañó-Polo M. et al. Transmembrane but not soluble helices fold inside the ribosome tunnel. *Nat Commun* 9(1), 5246 (2018).
- Smalinskaitė L, Kim MK, Lewis AJO, Keenan RJ, Hegde RS. Mechanism of an intramembrane chaperone for multipass membrane proteins. *Nature* 611, 161–6 (2022).
- Sundaram A, et al. Substrate-driven assembly of a translocon for multipass membrane proteins. *Nature* 611, 167–172 (2022).
- Gemmer M, et al. Visualization and protein biogenesis at the ER. *Nature* 614, 160–7 (2023).

