

## DESDE EL AUTOENSAMBLE DE MOLÉCULAS ANFIPÁTICAS A LA ACTIVIDAD INTERFACIAL DE ENZIMAS: UN RECORRIDO POR LAS SUPERFICIES MEMBRANALES.

**Marta Susana Fernández, Depto. de Bioquímica, Cinvestav - IPN , A.P. 14-740, 07000 México D.F., México.**

**<msfernandez @ mail.cinvestav.mx>**

I) A ocho décadas de haberse sugerido la estructura de bicapa lipídica membranal, a siete del primer modelo de bicapa con proteínas periféricas y a tres del paradigma del mosaico fluido con proteínas integrales, nuevos resultados nos dicen que se requiere enfatizar el mosaicismo, que existe una organización lateral de los lípidos, que la fluidez está acotada por la presencia de dominios, que la mayor parte de las proteínas no está distribuida al azar. II) Fluidez membranal, difusión limitada, dominios, compartimientos, organización lateral, son conceptos ampliamente analizados en la actualidad al describir las propiedades fisicoquímicas de las membranas biológicas. Estos conceptos provienen, en gran medida, de los estudios realizados con sistemas generados por la capacidad de las moléculas anfipáticas en general, y de los lípidos, en particular, de mostrar el fenómeno de autoasociación en un medio acuoso. En esta presentación revisamos algunas de nuestras contribuciones al conocimiento de los modelos, que se refieren a fenómenos derivados del comportamiento colectivo de las organizaciones moleculares de lípidos tanto a nivel de las cadenas hidrocarbonadas como de los grupos polares, y que dan lugar a las transiciones de fase termotrópicas y a la generación del potencial electrostático de superficie, respectivamente. Se describe también la posibilidad de particionar y distinguir en la región interfacial propiamente dicha, entre un componente de carga y otro de constante dieléctrica que condicionan, para los grupos polares, grados de disociación muy diferentes respecto a la fase de volumen. III) El enfoque de nuestro trabajo a las propiedades fisicoquímicas de membranas nos ha conducido de manera natural a abordar el comportamiento de enzimas como las fosfolipasas A<sub>2</sub> de secreción cuya actividad es regulada, en gran medida, por las propiedades físicas del sustrato lipídico agregado. Estas enzimas participan en el metabolismo de los fosfolípidos, en su recambio membranal, en la digestión y en el disparo de la cascada de los eicosanoides. Actúan sobre sustratos organizados, y la hidrólisis en la que intervienen, consistente en la liberación del enlace éster *sn*-2 de los *sn*-3 fosfoglicéridos, se ha tomado como un paradigma de la catálisis heterogénea en interfases. Nuestros estudios se han centrado en la fase de latencia que presenta la fosfolipasa A<sub>2</sub> pancreática, la enzima más representativa y estudiada de este grupo. Hemos podido entender entre otras cosas, el papel del producto ácido graso en la modulación de la latencia al generar un potencial de superficie y alterar la concentración de calcio interfacial durante la hidrólisis. También, al diseñar y desarrollar un sistema que permite trabajar en virtual ausencia de productos, pudimos distinguir entre el efecto del ácido graso y el del estado de fase del sustrato lamelar sobre el fenómeno de la activación interfacial aparente. Así mismo, y por primera vez, utilizando monitores que no son sustrato de la enzima, demostramos la formación de dominios durante la hidrólisis. IV) En nuestras investigaciones con modelos membranales ha jugado un papel esencial el uso de fluoróforos para medir propiedades como el potencial de superficie, la fluidez, el empaquetamiento de las cadenas hidrocarbonadas, la actividad enzimática interfacial y la formación de dominios membranales. Han sido de gran utilidad los

derivados de cadena larga de las cumarinas en la determinación del potencial de superficie; el dipirenilpropano y la dipirenilfosfatidilcolina para investigar los procesos de excimerización y obtener datos de fluidez membranal y actividad de PLA<sub>2</sub>, respectivamente; los derivados del nitrobenzoxadiazol (NBD) y de la rodamina, en el seguimiento de la actividad fosfolipásica por FRET. En los últimos tiempos hemos incorporado también al Laurdan, un monitor que en el estado excitado alcanza altos valores de momento dipolar y que es sensible a la hidratación membranal e, indirectamente, al empaquetamiento de las cadenas lipídicas a través del parámetro de polarización generalizada. De esta manera, participamos de la nueva corriente que se ha dado en llamar **biofotónica**, mientras proseguimos abordando nuestros proyectos con el constante, pero renovado interés en la región interfacial, la organización lateral de los lípidos, y la coexistencia de fases en las biomembranas.

- (1) Vereb, G. *et al.* (2003) *PNAS* **100**, 8053-8058.
- (2) Vilallonga, F., Fernández, M.S., Rotunno, C. and Cereijido, M. *Biochim. Biophys. Acta* **183**: 98 - 109.
- (3) Fernández, M. S. and Cerbón, J. (1973) *Biochim. Biophys. Acta* **298**: 8 - 14.
- (4) Fernández, M. S., Célis, H. and Montal M. (1973) *Biochim. Biophys. Acta* **323**: 600 - 605.
- (5) Fernández, M. S. and Fromherz, P. (1977) *J. Phys. Chem.* **81**: 1755 - 176.
- (6) Fernández, M. S. (1980) *Biochim. Biophys. Acta* **597**: 83 - 91.
- (7) Fernández, M. S. (1981) *Biochim. Biophys. Acta* **646**: 23 - 26.
- (8) García-Soto, J. and Fernández, M. S. (1983) *Biochim. Biophys. Acta* **731**: 275 - 281.
- (9) Fernández, M. S., González M. T. and Calderón, E. (1986) *Biochim. Biophys. Acta* **863**: 156 - 164.
- (10) González-Martínez, M. T. and Fernández, M. S. (1988) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **151**: 851 - 858.
- (11) Fernández, M. S. Mejía, R. and Zavala, E. (1991) *Biochem. Cell Biol.* **69**: 722-727.
- (12) Fernández, M. S. (1988) *Biochim. Biophys. Acta* **942**: 199 - 204.
- (13) Fernández, M. S. and Calderón, E. (1991) *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **95**: 1669-1674.
- (14) Fernández, M. S. and Juárez, J. A. (1994) *Biochim. Biophys. Acta* **1192**: 132 - 142.
- (15) Mejía, R., Gómez-Eichelmann, M.C. and Fernández, M. S. *Biochim. Biophys. Acta* **1239**: 95-200.
- (16) Mejía, R., Gómez-Eichelmann M. C. and Fernández M. S. (1999) *Arch. Biochem. Biophys.* **368** : 156-160.
- (17) Morales, R. and Fernández, M. S (2002) *Arch. Biochem. Biophys.* **398** : 21-228.
- (18) Vallejo, A. A. (2003) *Tesis de Maestría en Ciencias*, Cinvestav.
- (19) Velázquez, J. B. and Fernández, M. S. (2004) *Resúmenes XXV Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Bioquímica*, Ixtapa.