

ANÁLISIS ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL DE LAS INTERACCIONES REDOX ENTRE COMPLEJOS DE MEMBRANA Y PROTEÍNAS SOLUBLES

Miguel A. De la Rosa

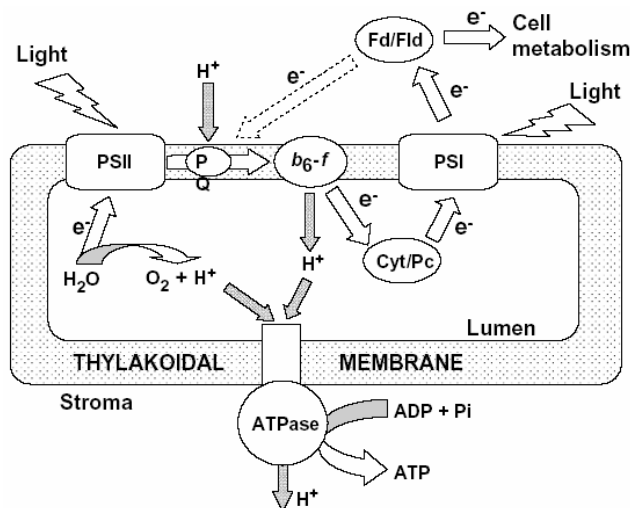
Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis, Centro de Investigaciones Científicas
Isla de la Cartuja, Universidad de Sevilla y CSIC, Américo Vespucio 49, 41092-

Sevilla, Spain

E-mail: marosa@us.es

La amplia diversidad de interacciones y fuerzas que intervienen en la formación de los complejos transitorios en los que participan las proteínas dan idea de las complicaciones que entraña el estudio de dichos complejos, tanto en lo que respecta a la formación del complejo en sí como al mecanismo de la reacción que tiene lugar en su interior antes de que se separen las moléculas reaccionantes.

En los últimos años, nuestro grupo ha investigado con detalle estos mecanismos utilizando como sistema modelo el fotosistema I (PSI) y sus dos proteínas donadoras de electrones, el citocromo c_6 (Cyt) y la plastocianina (Pc). El primero es una hemoproteína, en la que el átomo de hierro forma parte del grupo hemo (el Fe presenta una coordinación octaédrica, con cuatro valencias a los cuatro nitrógenos del plano hemínico y dos valencias axiales a dos residuos aminoacídicos de la cadena polipeptídica), mientras que la plastocianina contiene un átomo de cobre directamente unido por cuatro ligandos aminoacídicos en disposición tetraédrica. Además, el citocromo c_6 está constituido por cuatro hélices alfa y la plastocianina adopta una conformación de barril formado básicamente por una lámina plegada de cadenas beta. En



En el estroma, el ATPase utiliza el gradiente de protones para sintetizar ATP a partir de ADP y Pi. El diagrama también muestra la liberación de electrones (e-) desde el agua en PSII y la transferencia de electrones desde PSI a Fd/Fld y Cyt/Pc.

principio, las diferencias estructurales entre las dos metaloproteínas no permiten explicar su equivalencia funcional, pero al analizar comparativamente las dos estructuras se observa toda una serie de parámetros físico-químicos comunes, tales como la masa molecular (ca. 10 kDa) y el potencial redox (ca. 350 mV).

Además, se ha observado que estas dos metaloproteínas reaccionan de modo distinto con el fotosistema I, según procedan de cianobacterias, algas eucarióticas o plantas, lo que ha permitido avanzar una hipótesis evolutiva de acuerdo con la cual el mecanismo de reacción ha ido ganando en complejidad y eficiencia con el transcurso del tiempo. Así, se pueden distinguir tres tipos de mecanismos. El mecanismo tipo I -el más simple y, por consiguiente, menos evolucionado- se encuentra en ciertas cianobacterias y conlleva la transferencia de electrones tras una colisión simple entre la proteína donadora y el fotosistema I. El mecanismo tipo II, de complejidad media, se caracteriza por la formación de un complejo intermediario transitorio entre la proteína donadora y el fotosistema I antes de que tenga lugar la transferencia de electrones en una segunda etapa. Finalmente, el mecanismo tipo III, propio de organismos eucarióticos (algas verdes y plantas), transcurre en tres etapas: primero, formación del complejo transitorio; segundo, reorientación de los grupos funcionales para que alcancen una disposición adecuada; y tercero, transferencia de electrones propiamente dicha. De acuerdo con esta hipótesis evolutiva, el modo en que interaccionan las proteínas no responde a un modelo cinético único, sino que es capaz de evolucionar y modificarse hasta alcanzar la máxima eficiencia funcional.

Asimismo, se ha realizado un exhaustivo análisis evolutivo comparado del citocromo c_6 y la plastocianina de cianobacterias, algas verdes y plantas superiores como modelo de evolución convergente de dos proteínas con estructuras totalmente diferentes pero que desempeñan la misma función fisiológica: el transporte de electrones entre complejos fotosintéticos de membrana. Esto ha permitido proponer una hipótesis evolutiva según la cual el citocromo c_6 fue “descubierto y probado” primero por la Naturaleza como elemento idóneo del transporte de electrones en los inicios de la fotosíntesis oxigénica, cuando la biodisponibilidad de hierro era muy elevada, aunque no así la de cobre, dado el carácter reductor de la atmósfera primitiva. La sustitución del citocromo c_6 por la plastocianina en el curso de la evolución obedecería a la paulatina disminución de la biodisponibilidad de hierro y

aumento de la de cobre como consecuencia de la actividad fotosintética y consiguiente incremento en el contenido en oxígeno de la atmósfera. Por último, el descubrimiento de que el citocromo c_6 ha perdido su función original en plantas superiores (en las que sólo se encuentra la plastocianina como transportador de electrones) viene a confirmar el discurrir evolutivo de esta proteínas, cuya adaptación final resulta en el desempeño de una nueva función fisiológica, todavía por descubrir.

Dicha hipótesis evolutiva se basa en las interdependencias geoquímicas y biológicas de la superficie terrestre, de tal modo que los cambios en las disponibilidades relativas de los elementos hierro y cobre, a su vez resultantes de las modificaciones habidas en las condiciones geoquímicas del planeta al pasar de una atmósfera reductora a otra oxidante, han servido de fuerza de presión selectiva para promover la transición de las proteínas férricas a las proteínas de cobre.

Las analogías cinéticas de citocromo c_6 y plastocianina se pueden explicar, con lógica estructural, en base a las similitudes observadas entre ambas moléculas a nivel de superficie. Así, se han identificado dos áreas funcionales, o sitios activos, equivalentes en el citocromo c_6 y en la plastocianina: sitio 1, de naturaleza hidrófoba, en el que se localiza el centro redox para la transferencia de electrones y sitio 2, de carácter electrostático, para la unión a los complejos de membrana como paso previo a la reacción redox. Entre ambos sitios se localiza un único residuo de arginina, absolutamente conservado en los citocromos c_6 y en las plastocianinas cianobacterianas, que es esencial para el correcto funcionamiento de ambas proteínas.

Los resultados obtenidos han permitido establecer, de manera integrada, la complejidad de factores que controlan el entramado estructural del citocromo c_6 y la plastocianina, así como las fuerzas que gobiernan sus interacciones funcionales, y revelar las analogías de conformación en los sitios activos que determinan la identidad funcional de dos moléculas estructuralmente muy diferentes que han convergido en el curso de la evolución.

Referencias bibliográficas

1. *Convergent evolution of cytochrome c_6 and plastocyanin* (artículo de revisión).
M.A. De la Rosa, F.P. Molina-Heredía, M. Hervás & J.A. Navarro. En:

Photosystem I. The Light-Driven Plastocyanin/Cytochrome c₆:Ferredoxin/Flavodoxin Reductase (J. Golbeck, ed.), pp. 683-696, Springer, Dordrecht, 2006.

2. *Photosynthesis: A new function for an old cytochrome?* F.P. Molina-Heredia, J. Wastl, J.A. Navarro, D.S. Bendall, M. Hervás, C. Howe & M.A. De la Rosa. *Nature* (2003) 424, 33-34.
3. *Electron transfer between membrane complexes and soluble proteins in photosynthesis* (artículo de revisión). M. Hervás, J.A. Navarro & M.A. De la Rosa. *Accounts of Chemical Research* (2003) 36, 798-805.
4. *A comparative structural and functional analysis of cyanobacterial plastocyanin and cytochrome c₆ as alternative electron donors to Photosystem I* (artículo de revisión). A. Díaz-Quintana, J.A. Navarro, M. Hervás, F. Molina-Heredia, B. De la Cerda & M.A. De la Rosa. *Photosynthesis Research* (2003) 75, 97-110.