

RELACIONES ESTRUCTURA-FUNCION DE LAS SUBUNIDADES DE LAS PROTEINAS G

JOAN CODINA SALADA

Department of Cell Biology
Baylor College of Medicine
HOUSTON, Texas 77030, U.S.A.

A principios de los 70 el grupo de Martin Rodbell encontró que la producción de AMPc inducido por hormonas era un proceso dependiente de GTP. Este hecho fue ampliamente estudiado durante la década de los 70 y ello llevó al descubrimiento de un conjunto de proteínas llamadas G. Estas proteínas establecen el punto de conexión entre el receptor hormonal y la proteína que propiamente sintetiza el AMPc, llamada el componente catalítico de la adenilato ciclasa, del cual no voy a hablar en este breve artículo, pero que es objeto de intenso estudio en los distintos laboratorios en que se investiga el mecanismo de acción hormonal del tipo G.

Todas las proteínas G están compuestas de tres subunidades. La subunidad de peso molecular mayor se la conoce con el nombre de subunidad α , tiene un peso molecular comprendido entre 40.000 y 52.000. Le sigue en orden de tamaño la subunidad

β de peso molecular entre 35.000 y 36.000 y la menor de las subunidades es la γ de peso molecular comprendido entre 6.000 y 8.000.

SUBUNIDADES α

Estudios realizados en los últimos años han demostrado que las subunidades α se pueden subdividir en dos grandes grupos: las llamadas subunidades α_s , que inducen la producción de AMPc y las llamadas subunidades α_i que inhiben la producción de AMPc. Con técnicas de biología molecular se ha demostrado que existe gran diversidad en el número de subunidades α_s y hasta la fecha se han descrito cuatro α_s distintas que difieren en la presencia o ausencia de 14 aminoácidos, tras el aminoácido número 71 de la secuencia de α_s , y cada modalidad con la presencia o ausencia de una serina situada tras el aminoácido número 86 de la secuencia larga de α_s . (tabla 1).

Tabla 1

Secuencia de aminoácidos en la subunidad α_s en la única región en que presenta diferencias entre la forma corta y larga con la presencia o ausencia de serina ...significa que la secuencia de aminoácidos continúa. Significa aminoácidos que están ausentes. La presencia de la serina adicional se representa por Ser. El subíndice "S" significa corto; el subíndice "L" significa largo. (Las abreviaciones usadas corresponden a la nomenclatura standard del inglés).

α_{sL} (-Ser)	...Phe Asn Gly Glu Gly Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Ala Arg Ser Asn Ser Asp Gly Glu Lys...
α_{sL} (+Ser)	...Phe Asn Gly Glu Gly Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Ala Arg Ser Asn Ser Asp Gly Ser Glu Lys...
α_{sS} (-Ser)	...Phe Asn Gly -----Glu Lys...
α_{sS} (+Ser)	...Phe Asn Gly -----Ser Glu Lys...

Todos los estudios realizados hasta la fecha para comprender cual es el significado biológico de tal diversidad de subunidades α han resultado negativos y hasta ahora todas han tenido las mismas actividades biológicas independientemente de los ensayos realizados.

Con la llegada de las técnicas de biología molecular al campo de las proteínas se encontró que la diversidad de las subunidades tipo α_i era todavía mucho más notable que el de α_s . Desde muy al principio se encontraron tres subunidades que, (por orden como los resultados publicados), se les llamó $\alpha_{i,1}$, $\alpha_{i,2}$ y $\alpha_{i,3}$. Todas ellas demostraron tener gran similitud en cuanto a número de aminoácidos y composición de los mismos. Al mismo tiempo que estos estudios se venían realizando se encontró otra subunidad del tipo α_i , pero con un grado de diversidad mayor que el encontrado entre $\alpha_{i,1}$, $\alpha_{i,2}$ y $\alpha_{i,3}$, a esta subunidad se la llamó α_o (otra) que se supuso no debía inhibir la adenilato ciclasa y por tanto la producción de AMPc.

Con sorpresa, ningún grupo ha podido demostrar que las llamadas subunidades α_i sean capaces de inhibir la actividad adenilato ciclasa. Las razones por tales resultados negativos no están claras. Sin embargo, los grupos de Birnbaumer y Brown pudieron demostrar que la subunidad $\alpha_{i,3}$ era capaz de estimular la apertura de los canales de K^+ regulados por acetilcolina. Dada la homología existente entre las distintas subunidades del tipo α_i , se probó inmediatamente el efecto de las otras subunidades α . Se halló que no sólo $\alpha_{i,3}$ mediaba el efecto de los receptores de acetilcolina, sino que las subunidades $\alpha_{i,1}$ y $\alpha_{i,2}$ tienen igual eficiencia sobre este efecto biológico que $\alpha_{i,3}$, el cual no se demuestra con α_o ó α_s .

Todos estos datos indican que α_i es en realidad α_k , pero no excluye que, en realidad α_i sea α_i . Desde hace muchos años se sabe que el tratamiento de células con "Pertussis toxin" induce a un aumento en la producción de AMPc debido al bloqueo del efecto de las hormonas inhibitoras sobre las células. Este efecto del "Pertussis toxin" se ha demostrado que es mediado por

las subunidades del tipo α_i "in vivo", la razón de por la cual estos estudios fallan "in vitro" continúa siendo estudio de investigación y no se excluye que la inhibición de la actividad adenilato ciclasa requiera la adición de algún componente que no se ha podido identificar hasta la fecha. También existe la posibilidad de que el verdadero α_i no se ha identificado todavía.

En los últimos dos años se han ido describiendo otra serie de efectos de las subunidades α_i . Así, se ha demostrado que en células pancreáticas del tipo beta el canal de K^+ dependiente de ATP y que regula la secreción de insulina es regulado de forma positiva por, (al menos), $\alpha_{i,3}$. Este es el mismo canal que resulta cerrado por el receptor de las sulfonilureas, drogas de amplio uso en el campo de la diabetología.

Las subunidades de α_o , de forma análoga a las subunidades de α_i , tienen efectos múltiples regulando distintos efectores. Como se ha dicho al principio estas subunidades estimulan la producción de AMPc. Estudios realizados por Birnbaumer y Brown demostraron hace dos o tres años que tales subunidades tienen la capacidad de estimular la apertura de canales de Ca^{+2} dependiente de voltaje y de dihidropiridina.

Estudios más recientes, realizados en el laboratorio del Dr. Brown, demostraron que α_i no tiene siempre un efecto positivo, sino que en ciertos tipos de canales tiene efecto negativo. Así, en ciertas células neuronales median la inhibición de canales de Na inducida por isoproterenol.

Esto llevó a concluir que las proteínas del tipo G, a través de las subunidades α , inducen un efecto en ramificación en la célula, lo cual contribuye a dar una razón de la aparente disparidad de datos encontrados al estudiar la acción hormonal en distintos modelos fisiológicos.

Hasta ahora he estado comentando sobre las proteínas Gs, Gi y Go, pero diferentes laboratorios encontraron procesos que eran dependientes GTPcS pero cuyos resultados no podían ser justificados por la presencia de las proteínas G descritas hasta aquellos momentos, pues el proceso no era sensible a pertusis toxin, (que actúa só-

bre la subunidad de α de Gs).

Un ejemplo de procesos de tal categoría se da en la activación de la fosfolipasa del tipo C. Hace aproximadamente un año el grupo de Melvin Simos en USA y el de Kaziro en el Japón describieron la presencia, en cerebro, de una nueva subunidad α que llamaron α_2 o α_x . Tal subunidad se está expresando en *E. coli* utilizando técnicas de biología molecular para probar cuales son las actividades fisiológicas de esta proteína.

Otra proteína del tipo G es Golf que media los procesos olfatorios, que es muy parecida a la proteína Gs en la secuencia de aminoácidos y también presenta actividad de Gs.

Una primera proteína del tipo G, que se estudió con mucho detalle fue la transducina o Gt, que está relacionada con el proceso de la visión. En este proceso, la luz hace las funciones de hormona, la rodopsina hace las funciones de receptor, Gt hace las funciones de proteína G en el sistema de la adenilato ciclasa y la PDE dependiente de GMPc hace las funciones de componente catalítico de la adenilato ciclasa.

La distribución de las proteínas G es muy variada en los distintos tejidos del cuerpo. Así todos presentan una o más formas de Gs. Hasta la fecha solamente se ha encontrado una línea celular que carezca de Gs, a tales células que proceden de un cáncer de ratón se las conoce con el nombre de S49 cyc⁻. La distribución de Gi también es muy variada y la de más amplia distribución es Gi-2, mientras Gi-1 está localizada preferentemente en el cerebro.

SUBUNIDADES β y γ

Todas las proteínas del tipo G además de la subunidad α , están compuestas de dos subunidades adicionales; la subunidad β de peso molecular aproximado de 35.000 y la subunidad γ de peso molecular com-

prendido entre 6.000 y 8.000.

En principio se pensó que solamente había una subunidad del tipo β . Sin embargo esta teoría estuvo en problemas pues en ciertas ocasiones, en geles de acrilamida en presencia de SDS, se podía observar dos bandas en la región de las β s, que se las llamó β_{35} y β_{36} . Todas las proteínas G purificadas a partir de un mismo tejido tienen la misma distribución de subunidades β , independientemente de la subunidad α asociada. Así, en glóbulos rojos humanos existen cantidades parecidas o iguales de subunidad β 35 y 36; pero en la transducina solamente existe β_{36} y en placenta solamente existe la subunidad de peso molecular 35.000. Las dos subunidades β son muy parecidas en cuanto a secuencia de aminoácidos y la similitud llega a ser cercana al 80%. Con los estudios realizados hasta la fecha, no se ha podido describir ninguna diferencia fisiológica entre ambos tipos de β s, lo cual aumenta los interrogantes existentes sobre estas proteínas y su función fisiológica.

La subunidad γ es la más difícil de investigar y, en efecto, es la menos estudiada. Hasta la fecha no se ha podido separar de la subunidad β sin desnaturalizar dichas proteínas con SDS. Desde hace bastantes años se sabe que la subunidad γ de la transducina era diferente a la subunidad γ de las demás proteínas G. La secuencia en aminoácidos de γ_8 fue publicada hace varios años por el grupo de Khorana y recientemente el grupo de Melvin Simon ha publicado en la revista Science la secuencia de γ_8 y se ha podido comprobar una gran diferencia en la secuencia de aminoácidos entre ambas proteínas. Hasta la fecha no se sabe cual es la función de esta subunidad pero se le atribuyen misiones de anclaje del complejo $\beta\gamma$ a la membrana celular.

REFERENCIAS:

1. Mattera, R., Craziano, M.P., Yatani, A., Zhou, Z., Craef, R., Codina, J., Birnbaumer, L., Gilman, A.G. and Brown, A.M. *Science*, 243, 804-807, 1989.
2. Codina, J., Yatani, A., Grenet, D., Brown, A.M. and Birnbaumer, L. *Science*, 236, 442-445, 1987.
3. Yatani, A., Imoto, Y., Codina, J., Hamilton, S., Brown, A.M. and Birnbaumer, L. *J. Biol. Chem.*, 263, 9887-9895, 1988.
4. Yatani, A., Mattera, R., Codina, F., Graf, R., Okabe, K., Padrell, E., Iyengar, R., Brown, A.M. and Birnbaumer, L. *Nature*, 336, 680-682, 1988.
5. Mattera, R., Codina, J., Kidd, V., Woo, S.L. and Birnbaumer, L. *FEBS Letters*, 206, 36-41, 1986.
6. Fong, H.K.W., Amatruda, T.T., Birren, B.M. and Simon, M.I. *Proc. Soc. Natl. Acad. Sci.*, 84, 3792-3796.
7. Gautam, N., Baetscher, M., Aebersold, R. and Simon, M.I. *Science*, 244, 971-974, 1989.
8. Suki, W.N., Abramowitz, J., Mattera, R., Codina, J. and Birnbaumer, L. *FEBS Letters*, 220, 187-192, 1987.