

Biofísica de las interfases de ácido fosfatídico

El ácido fosfatídico es un lípido que interviene en diversos procesos biológicos ya que es un sustrato para la biosíntesis de otros lípidos. Además el ácido fosfatídico actúa como lípido señal, reclutando proteínas citosólicas y direccionándolas a determinadas membranas. Por otro lado, es un componente de las membranas biológicas otorgándoles propiedades singulares que dan lugar a fenómenos como la fototransducción de *Drosophila*. En particular, es un agente modulador de la curvatura de membrana debido a su estructura con dos colas de ácido graso y una cabeza polar pequeña cargada negativamente (fig. 1). Así, el ácido fosfatídico puede intervenir en procesos críticos como la fusión o fisión de membranas (fig. 2) aunque los mecanismos que regulan este fenómeno a nivel celular no han sido descritos completamente. Es en este aspecto relacionado con las propiedades biofísicas del ácido fosfatídico como generador de singularidades de membrana, en el que nos centraremos en este proyecto.

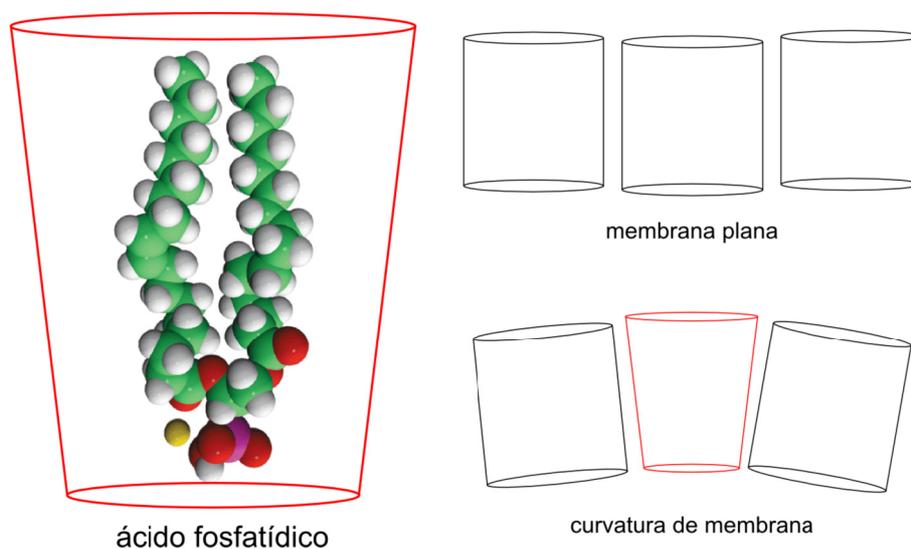


Figura 1. Propiedades emergentes del ácido fosfatídico. Izquierda: estructura con cabeza polar pequeña (morada) y dos colas hidrófobas (verdes). Derecha: inducción de curvatura de membrana.

Las membranas de ácido fosfatídico son aniónicas por lo que adsorben cationes divalentes y trivalentes de manera espontánea. A nivel nanoscópico, los cationes multivalentes se unen fuertemente a los grupos fosfato del ácido fosfatídico. La naturaleza de la interacción es eminentemente electrostática, aunque el proceso de complejación puede estar gobernado por fuerzas directrices más específicas como la contribución covalente con determinados metales o la inserción de las moléculas de agua en la parte polar de la interfase. Por parte de las moléculas de ácido fosfatídico, el grado de ionización de la cabeza polar jugará un papel importante en la atracción de cationes ya que de él dependerá el número de grupos fosfato disponibles para unirse a cationes. Por ello, esperamos completar los resultados ya existentes sobre la estructura del complejo monocapa-cación con una discusión sobre el papel del empaquetamiento lateral, el pH y la fuerza iónica de la disolución ya que estos agentes pueden inducir la estabilización o la desestabilización del complejo monocapa-cación a través del grado de ionización. Para tal fin, la medida de isothermas de presión superficial-área es útil ya que nos informa sobre la resistencia de la interfase a variar su área, permitiéndonos hacer un seguimiento de las interacciones intramembrana y membrana-disolución al mismo tiempo. Adicionalmente, registraremos la diferencia de potencial de la interfase en función del empaquetamiento lateral, a fin de hacer un seguimiento de la distribución de la carga eléctrica en los distintos estados de compresión de la monocapa.

La asociación entre los grupos fosfato y los cationes multivalentes es susceptible de inducir un cambio en la conformación y en la hidratación tanto de las cabezas polares como en el exceso superficial de iones produciendo una redistribución de las moléculas de fosfolípido en la interfase. De este modo, el Ca^{2+} y el La^{3+} se adsorben fuertemente sobre la monocapa de ácido fosfatídico y la geometría del complejo metal-fosfato se ha descrito a partir de experiencias de difracción de rayos X. Este comportamiento se ha podido explicar a partir de simulaciones de dinámica molecular basadas en modelos atomísticos. Sin embargo, las implicaciones del empaquetamiento lateral aún no han sido analizadas y podrían permitirnos descifrar aspectos clave sobre la dinámica del ácido fosfatídico en las membranas y su capacidad para inducir curvatura y la formación de los cuellos característicos en los procesos de fisión y fusión (fig. 2).

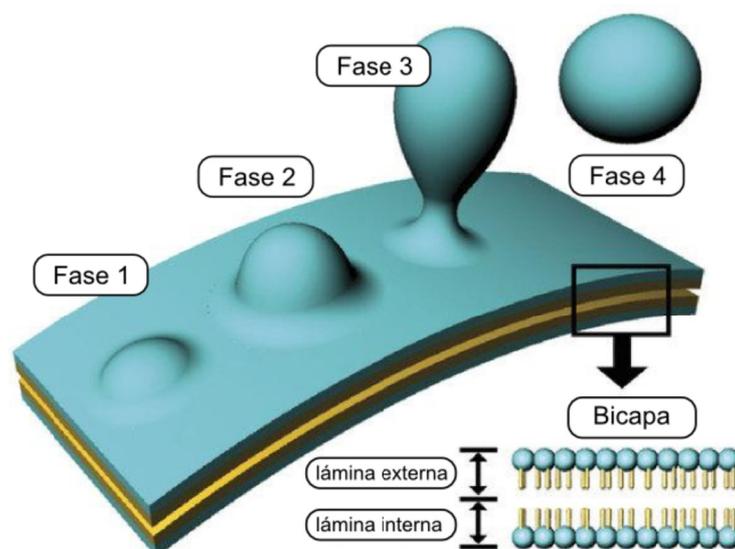


Figura 2. Fisión de una bicapa lipídica. Aumento local de la curvatura de la membrana (fases 1 y 2); estado intermedio con estructura de cuello (fase 3) y producción de una vesícula (fase 4).

Los cationes multivalentes unidos a la parte polar de las membranas lipídicas actúan como punto de nucleación para la formación de dominios donde cambia la orientación de las cadenas laterales de los lípidos, siendo esta más perpendicular al plano de la interfase para permitir un mayor empaquetamiento respecto a la fase continua con la que coexiste. En particular, el empaquetamiento lateral junto con otros factores como la composición de la membrana y la disolución condicionan la separación de fases a una temperatura determinada, influyendo en el tamaño, geometría y composición de los dominios. Estos fenómenos tienen una repercusión directa en la capacidad de la interfase lipídica para adaptarse a una deformación, es decir, su carácter viscoelástico. Esta es una de las dianas de nuestro estudio que abordaremos mediante la reología interfacial ya que estas propiedades viscoelásticas son críticas en la formación de singularidades topológicas en membranas tales como los cuellos que se forman en los procesos de fusión y fisión de membranas, donde la curvatura de la membrana es máxima.

Por otro lado, la microscopía de fuerzas atómicas permite la observación a escala submicrométrica de los dominios presentes en la interfase fijada sobre un soporte sólido, permitiendo caracterizar su forma y tamaño en función del empaquetamiento lateral y la presencia de iones multivalentes (fig. 3). De esta forma esperamos obtener información relevante a fin de interpretar los factores que modulan la curvatura y la presencia de singularidades en las membranas de ácido fosfatídico.

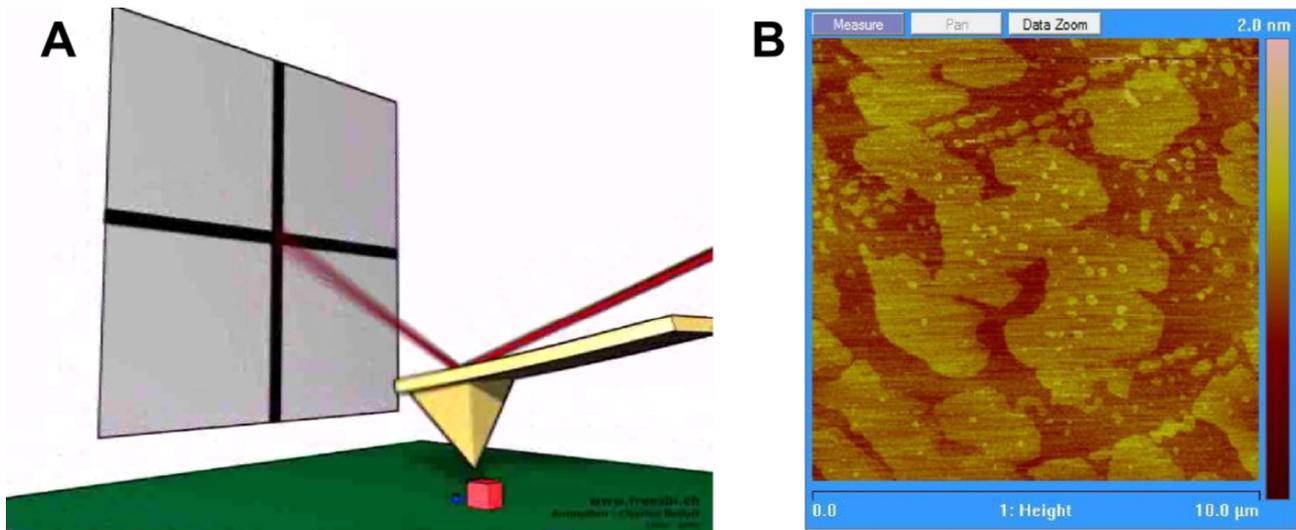


Figura 3. (A) Microscopía de fuerzas atómicas (AFM): el mapeo de la superficie se basa en registrar la posición de una sonda (cantilever) que oscila sobre el relieve de la superficie problema. (B) Imagen de AFM de una monocapa de Langmuir-Blodgett obtenida en nuestros laboratorios: se observan dominios en fase líquido-condensado (amarillo) dispersos en la fase líquido-expandido (marrón).

En conclusión, nos basaremos en una combinación de enfoques experimentales y teóricos para ampliar la caracterización de la dinámica de las membranas de ácido fosfatídico con objetivo de desentrañar su función en las membranas biológicas como agente modulador de la curvatura de membrana y la inducción de puntos singulares capaces de catalizar otros procesos.