CONFERENCIA: “ANÁLISIS DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES MEDIANTE RESONANCIA PARAMAGNÉTICA ELECTRÓNICA”

Dr. José Manuel Bravo Arredondo

La resonancia paramagnética electrónica (RPE) es una técnica espectroscópica que detecta especies paramagnéticas, es decir, moléculas con electrones desapareados. Sin embargo, en el caso de proteínas, la mayoría no son paramagnéticas intrínsecamente, por lo que, para utilizar esta técnica, es necesario emplear marcadores de espín como el MTSL (*S*-(1-oxil-2,2,5,5-tetrametil-2,5-dihidro-1H-pirrol-3-il)metilmetanosulfonatotioato), que es un marcador de espín tiol reactivo que contiene un electrón desapareado en su estructura. Este compuesto se une covalentemente a residuos de cisteína, que pueden colocarse en regiones específicas de la proteína mediante ingeniería genética en proteínas recombinantes, lo cual hace posible analizar el entorno del marcador al aplicar un campo magnético externo y radiación de microondas mediante RPE.

La información que se obtiene en esta técnica se representa en espectros característicos que son muy útiles en el estudio estructural de proteínas debido a su alta sensibilidad de detección, especialmente en proteínas intrínsecamente desordenadas como la huntingtina (Httex1). Esta proteína está directamente relacionada con la enfermedad de Huntington, debido a que se presenta una expansión de poliglutaminas (poliQ), que altera la estructura de la proteína y causa toxicidad. Desafortunadamente, no es posible analizar la estructura de Httex1 mediante difracción de rayos X o RMN, ya que se requieren de cristales bien definidos, tamaños pequeños de proteínas y poco desorden, por lo que la RPE ha sido muy útil para estudiar esta proteína y analizar cómo las expansiones patológicas de glutaminas inducen cambios conformacionales que podrían desencadenar su agregación y toxicidad. Además, a través de RPE ha sido posible identificar la coexistencia de un estado dinámico y desordenado y otro más ordenado (probablemente α-helicoidal) en la región N17 de la Httex1. Este análisis es de gran importancia para comprender las diferencias estructurales dependientes de la longitud de poliQ en el monómero de Httex1, que podrían ayudar en el desarrollo de terapias que específicamente se dirijan a la huntingtina mutante sin afectar a la proteína normal.

Por lo anterior, en esta conferencia se abordarán los fundamentos de la RPE con el marcador MTSL como una herramienta versátil para analizar la estructura y dinámica de la proteína Httex1 recombinante.