

SEBBM DIVULGACIÓN

LA CIENCIA AL ALCANCE DE LA MANO

Del imán al átomo: el bricolaje de las proteínas

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_RPC.2019.01.1



Angélica Partida-Hanon
www.dnangelica.com

Biografía

Doctora en Bioquímica, Biología Molecular y Biomedicina por la Universidad Complutense de Madrid (UCM). Realizó su Tesis en el Grupo de Estructura, Dinámica e Interacciones de Proteínas por RMN bajo la dirección de las Dras. Marta Bruix Bayés y María Ángeles Jiménez López. Bióloga y Máster en Bioquímica, Biología Molecular y Biomedicina por la UCM, donde colaboró en el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular bajo la tutela de los doctores Álvaro Martínez del Pozo y Lucía García Ortega. En México cursó sus estudios de Ingeniería Industrial e Ingeniería en Telecomunicaciones, centrando su interés en la Bioinformática. Actualmente realiza tareas de análisis e investigación centrados en el procesamiento masivo de datos en Santander Analytics, asimismo, ejerce como apoyo para la asignación de ayudas financieras a proyectos de investigación y desarrolla labores de divulgación e ilustración científica.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/la-ciencia-al-alcance-de-la-mano-articulos-de-divulgacion_29

Resumen

La espectroscopía por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) es una técnica altamente versátil que permite obtener información a escala atómica sobre el material de estudio.

Summary

Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy is a highly versatile technique that allows to obtain information at atomic level regarding a determined biological or chemical sample.

Uno de los retos de la Biología moderna consiste en conocer a fondo la naturaleza de los contactos que establecen entre sí distintas moléculas, dichos contactos pueden ser conocidos como interacciones de tipo fuerte, débil o intermedias. Las interacciones de tipo débil son las que más llaman la atención de los bioquímicos y biólogos moleculares debido a que pueden establecerse y romperse como consecuencia de pequeñas variaciones como la temperatura, la fuerza iónica o cambios en el pH. La posibilidad de establecer contactos en función del entorno es lo que otorga a las células su capacidad de adaptación al medio.

Existen diversas maneras de estudiar los procesos que regulan la vida, y una de ellas consiste en el análisis a nivel atómico de cada uno de los componentes, o moléculas, que establecen interacciones entre sí. Debido a que estos elementos son extremadamente pequeños y no

pueden ser analizados empleando microscopios ópticos, los investigadores necesitan valerse de una serie de técnicas que superen esta limitación. Una de estas técnicas es la espectroscopía por resonancia magnética nuclear (RMN), la cual, a grandes rasgos, se aprovecha de una serie de propiedades físicas que poseen los núcleos de los átomos que componen las moléculas de interés.

Sin embargo, la RMN posee también una serie de restricciones y una de ellas es el tamaño de la molécula a analizar, y cuanto más grande sea, más complicado será su estudio. Es por ello que una de las soluciones consiste en fraccionar los complejos o agregados grandes que componen la célula y proponer estos elementos simplificados como "sistemas modelo". Los sistemas modelo se analizan en profundidad y deben ser cuidadosamente diseñados para representar de una manera sencilla el conjunto biológico de interés. Una vez obtenida la información necesaria, se integran todas las partes para obtener una reconstrucción de la historia biológica.

Para proceder al estudio de los sistemas propuestos mediante RMN, es necesario preparar muestras altamente concentradas que contengan la molécula o moléculas de interés y que simultáneamente se encuentren, en la medida de lo posible, libres de contaminantes. En el caso en el que el sistema simplificado a estudiar sea relativamente grande para su análisis mediante RMN (en el orden

de 30 kDa), el someter las muestras a campos magnéticos más potentes, así como su marcaje isotópico con ^{13}C o ^{15}N puede solventar esta limitación. El marcaje resulta necesario en estos casos, pues los isótopos más abundantes de ^{12}C y ^{14}N poseen unas propiedades de distribución de carga que los hace inviables para su observación por RMN.

Una vez que la muestra está lista para ser analizada, se somete a un campo magnético muy potente y controlado. Los núcleos de los átomos que componen la molécula de estudio tienden a comportarse como pequeños imanes, los cuales pueden orientarse en la misma dirección o en dirección contraria al campo magnético. La aplicación de un pulso de radiofrecuencia es capaz de perturbar determinados núcleos si la energía del pulso coincide con su frecuencia de resonancia. Finalmente, cuando los núcleos vuelven a su estado de equilibrio, el detector del espectrómetro adquiere una serie de señales o espectros de resonancia que son posteriormente tratados matemáticamente.

El diseño y empleo de diferentes combinaciones de secuencias de pulsos de radiofrecuencia aporta una información determinada sobre la estructura y dinámica de la molécula sometida a estudio. De tal manera que un espectro COSY de una cadena polipeptídica aporta información sobre los átomos que se encuentran acoplados escalarmen-

te, como los átomos de $\text{H}\alpha_{\text{alfa}}$ de un mismo aminoácido (Figura 1A). En los espectros TOCSY se observan los átomos que pertenecen al mismo sistema de espín, o en el caso de las cadenas polipeptídicas, los que corresponden al mismo aminoácido (Figura 1B). Finalmente, los espectros de tipo NOESY aportan información de proximidad espacial entre los núcleos atómicos (Figura 1C).

Los distintos tipos de experimentos de RMN como son los espectros COSY, TOCSY y NOESY se componen de una serie de señales que permiten reconstruir la molécula ya que en su conjunto aportan unas coordenadas que los investigadores traducen en restricciones geométricas y de distancias. Por ejemplo: la información de los espectros NOESY es de gran utilidad para determinar qué aminoácidos de la cadena polipeptídica se encuentran espacialmente cercanos entre sí independientemente de su posición relativa en la secuencia. De esta forma, y mediante la ayuda de algoritmos computacionales, se computan dentro de un universo de posibilidades distintos modelos de plegamiento para la molécula que a su vez satisfagan las restricciones introducidas.

Finalmente, y en conjunto con otras técnicas de caracterización bioquímicas como son el dicroísmo circular, la difracción de rayos X o la espectrometría de masas; se obtiene información complementaria que debe ser coherente para permitir una reconstrucción sólida de la historia

biológica.

Referencias

1. Partida-Hanon, A. (2018). *NMR archivos*. Madrid, España: DNAngelica.com ciencia y divulgación. Recuperado de <https://DNAngelica.com/NMR>
2. Partida-Hanon, A. (2018). *Design and Structural Characterization of Minimized Systems to Study Biomolecular Interactions Through NMR. Diseño y Caracterización Estructural de Sistemas Minimizados para el Estudio de Interacciones Biomoleculares Mediante RMN*. Universidad Complutense de Madrid. Madrid, España.
3. Gómez-Moreno Calera, C., Sancho Sanz, J. (2003). *Estructura de proteínas*. Ariel Ciencia. Barcelona, España.
4. Wüthrich, K. (1986). *NMR of proteins and nucleic acids*. Wiley-Interscience, John Wiley Sons.
5. Keeler, J. (2010). *Understanding NMR Spectroscopy, 2nd edition*. Wiley. United Kingdom.
6. Cavanagh, J., Fairbrother, W., Palmer III, A., Rance, M., Skelton, N. (2007). *Protein NMR Spectroscopy, 2nd edition*. Academic Press. United Kingdom.
7. Nelson, D., Cox, M. (2008). *Lehninger Principles of Biochemistry, 5th edition*. Freeman and company. New York, USA.

Figura. Experimentos tipo COSY, TOCSY y NOESY.

