

Caracterización biofísica de péptidos sintéticos derivados del segmento n-terminal de la proteína alfa-sinucleína

Exiquio Maldonado, Abelardo Chávez, Dvorak Montiel, Brenda González, Azucena González*
Universidad Autónoma de Nuevo León, FCB, Av. Universidad s/n Ciudad Universitaria San Nicolás de los Garza Nuevo León
66451 México
*email: azucena.gonzalezhr@uanl.edu.mx

Palabras clave: *α-sinucleína, membrana mitocondrial interna, Parkinson*

Introducción:

La enfermedad de Parkinson es una enfermedad que deteriora el sistema nervioso central y que se manifiesta principalmente por alteraciones en el control motor. A nivel fisiológico, la causa de la enfermedad es la severa pérdida de neuronas dopaminérgicas en la *substancia nigra pars compacta* sin embargo, el origen de la muerte de las células dopaminérgicas se desconoce aunque varios estudios bioquímicos, histológicos y genéticos han implicado a la proteína neuronal α -sinucleína en la patogénesis de la enfermedad. La α -sinucleína es una proteína neuronal de 140 aminoácidos y 14.5 kDa cuya agregación y deposición como fibras amiloides semejan a las encontradas en los cuerpos de Lewy de los pacientes con Parkinson¹. Los mecanismos más aceptados para explicar la neurotoxicidad de la α -sinucleína son: la permeabilización de membranas y la disfunción mitocondrial originada por los oligómeros proteicos, siendo esta última, relacionada al daño mitocondrial por alteración de la membrana mitocondrial interna (MMI). Dentro de los mecanismos señalados como responsables de la permeabilización pueden mencionarse, la disrupción de membranas, el adelgazamiento de la bicapa, la permeabilización a través de la formación de un poro y la liberación de contenidos acuosos inducida por la extracción de lípidos. Dado que el segmento N-terminal de la α -sinucleína es el que facilita las interacciones lípido-proteína y, que los detalles de esta interacción con la membrana mitocondrial interna aún se desconocen se diseñaron péptidos correspondientes a este segmento, siguiendo ensayos previos que, señalaban los residuos 2-11 del segmento como los responsables de la unión a las membranas² y otro, que señalaba los residuos 20-35 como los más importantes para tal interacción³. Por tanto se diseñaron péptidos que abarcaran esas partes del segmento y uno de los residuos 30-45 para tener mayor idea de la interacción del segmento con liposomas, teniendo como objetivo del presente trabajo caracterizar la interacción del segmento N-terminal a partir de péptidos sintéticos derivados de su secuencia aminoacídica y evaluar su interacción con bicapas fosfolipídicas que semejen la MMI.

Parte experimental:

Se diseñaron 3 péptidos sintéticos P2 (aa del 1 al 15), P4 (aa del 16 al 30) y P5 (aa 31 a 45) derivados del segmento N-terminal de la α -syn. Se prepararon liposomas de 100 nm mediante el método de evaporación-hidratación. La mezcla lipídica empleada para simular la MMI fue DOPC/DOPE/CL (45:28:22 p/p)⁴. La estructura secundaria de los péptidos se obtuvo por difracción circular en el UV-

lejano (190-240nm) con y sin bicapas lipídicas. Para analizar la capacidad de los péptidos de interactuar con las bicapas fosfolipídicas se empleó el triptófano como sonda intrínseca y se monitorizó su emisión de fluorescencia de 300 a 450 nm empleando una longitud de excitación de 280 nm.

Resultados y discusión:

Los péptidos P2 y P4 correspondientes a los primeros 30 aminoácidos de la α -sinucleína mostraron una estructura secundaria α -helicoidal similar a la observada por el segmento N-terminal de la α -sinucleína al interactuar con bicapas fosfolipídicas. Mientras que el péptido P5 mostró una estructura aleatoria característica de su secuencia aminoacídica. Al evaluar la capacidad de estos péptidos para perturbar bicapas fosfolipídicas con composición similar a la MMI pudo observarse que sólo el segmento N-terminal completo es capaz de originar cierto grado de permeabilidad en la membrana, alcanzándose tan solo un 16% de liberación de contenidos acuosos desde liposomas a la máxima concentración empleada (20 μ M), indicando que la afinidad de unión del segmento N-terminal de la α -sinucleína no es uniforme. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Robotta y colaboradores (2012) quienes sugieren que la afinidad de unión de las regiones próximas del N-terminal es más fuerte que la de las regiones distales del mismo segmento.

Conclusión:

Los péptidos sintéticos empleados tienen un comportamiento similar al segmento N-terminal de la proteína en cuanto a estructura secundaria. Los primeros 30 aminoácidos del segmento N-terminal adoptan una estructura alfa-helicoidal y por tanto, se deduce que son los responsables de la interacción con liposomas que semejan la MMI. Las secuencias peptídicas utilizadas en este trabajo, son útiles para analizar los detalles de la interacción del segmento N-terminal de la α -sinucleína con la MMI y para continuar investigando el mecanismo por el cual se origina la disfunción mitocondrial y su relación con la enfermedad de Parkinson.

Referencias:

1. Ghio S., Kamp F., Cauchi R. *Progress in Lipid Research*. **2016**. 61. 73-82
2. Robotta M., Hitze C., Schildknecht S. *Biochem*. **2012**, 51: 3960.
3. Zigoneanu I., Yang Y., Krois A. *BBA*. **2012**. 1818. 512-519.
4. Shen J., Du T., Wang X., Duan C., Gao G., Zang J., *BrainResearch*. **2014**. 1591. 14-26.