

Incorporación de Triptófano en membranas. Estudio mediante espectroscopía de fluorescencia y dinámica molecular

A. N. González Paz¹, Arias Marcelo², H. A. Pérez³ & A. Disalvo³

¹Facultad de Agronomía y Agroindustrias, UNSE

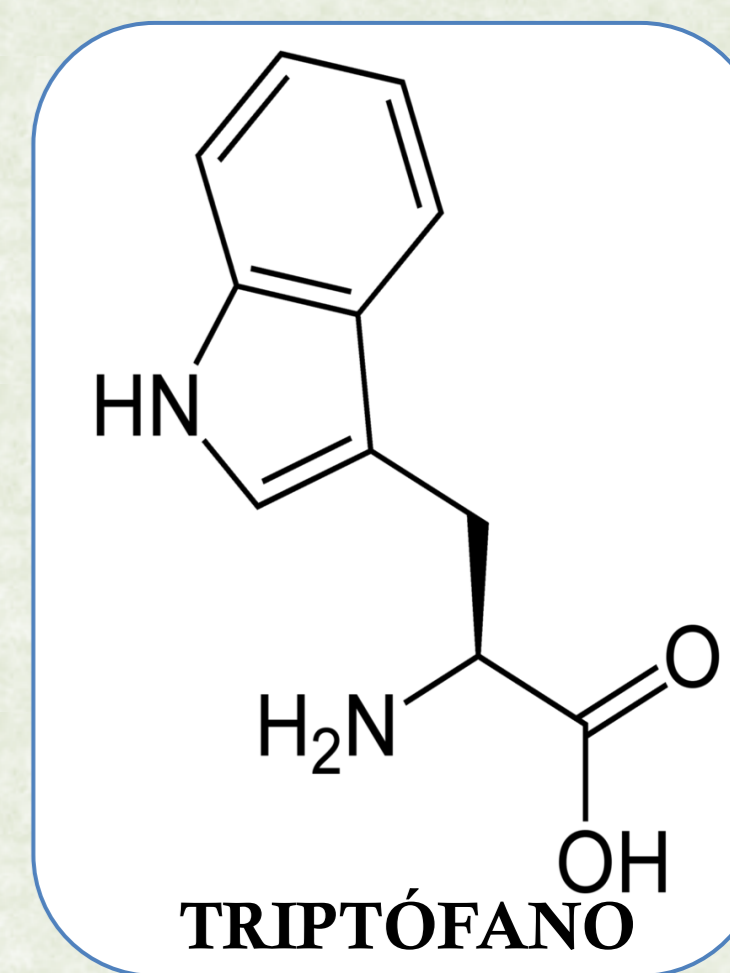
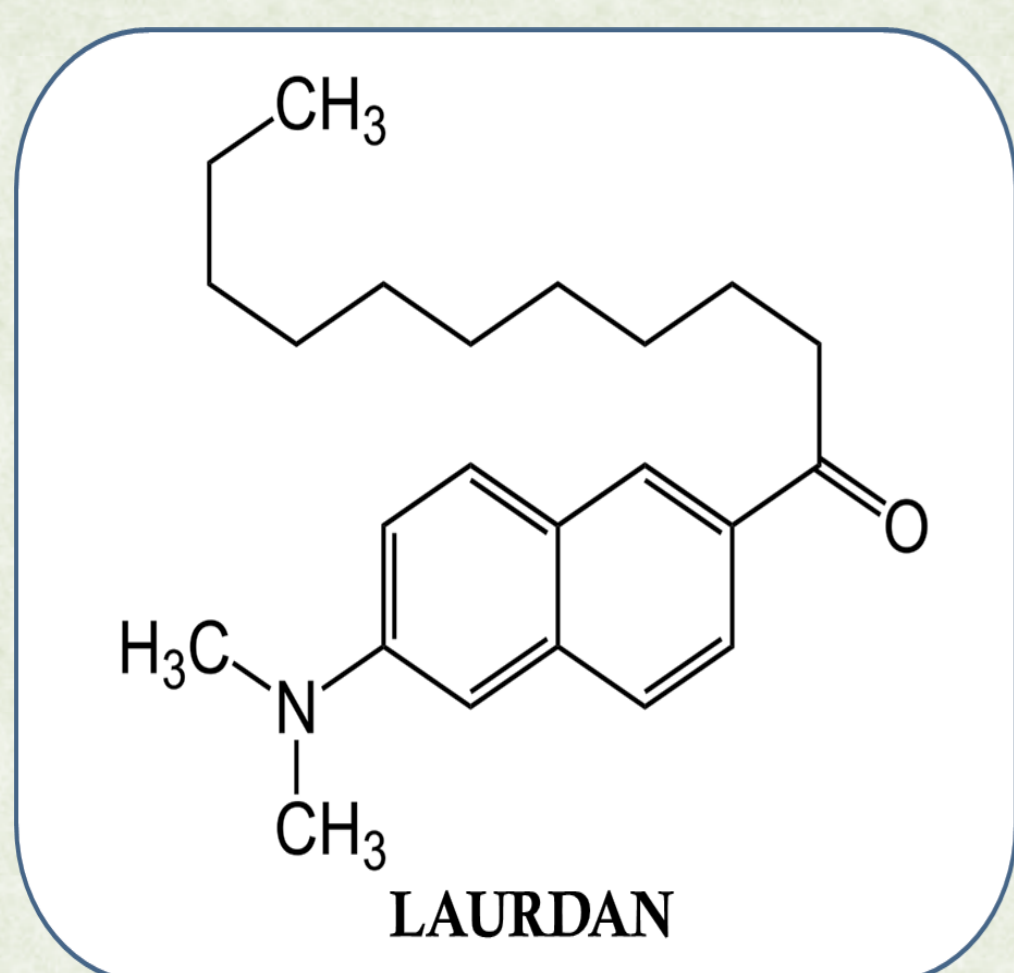
²Instituto de Investigaciones para la Industria Química (INIQUI), Universidad Nacional de Salta – CONICET

³Centro de Investigaciones en Biofísica Aplicada y Alimentos (CIBAAL), Universidad Nacional de Santiago del Estero – CONICET Argentina

¹agustin.gp10@gmail.com

Introducción y Objetivos

Estudios previos revelaron que muchas proteínas y péptidos que interaccionan con membranas lipídicas contienen aminoácidos aromáticos Phe, Tyr y Trp [1–3]. En este estudio, es de interés estudiar los efectos del Trp sobre membranas conteniendo Laurdan, a los efectos de establecer la influencia del estado de fase, largo de cadena y presencia de grupos carbonilos. Los estudios de espectroscopía de fluorescencia se correlacionan con un análisis de dinámica molecular en vesículas de dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC), de 14:0 dieter fosfatidilcolina (DTPC), de dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y de 16:0 dieter fosfatidilcolina (DHPC)



Resultados y Discusiones

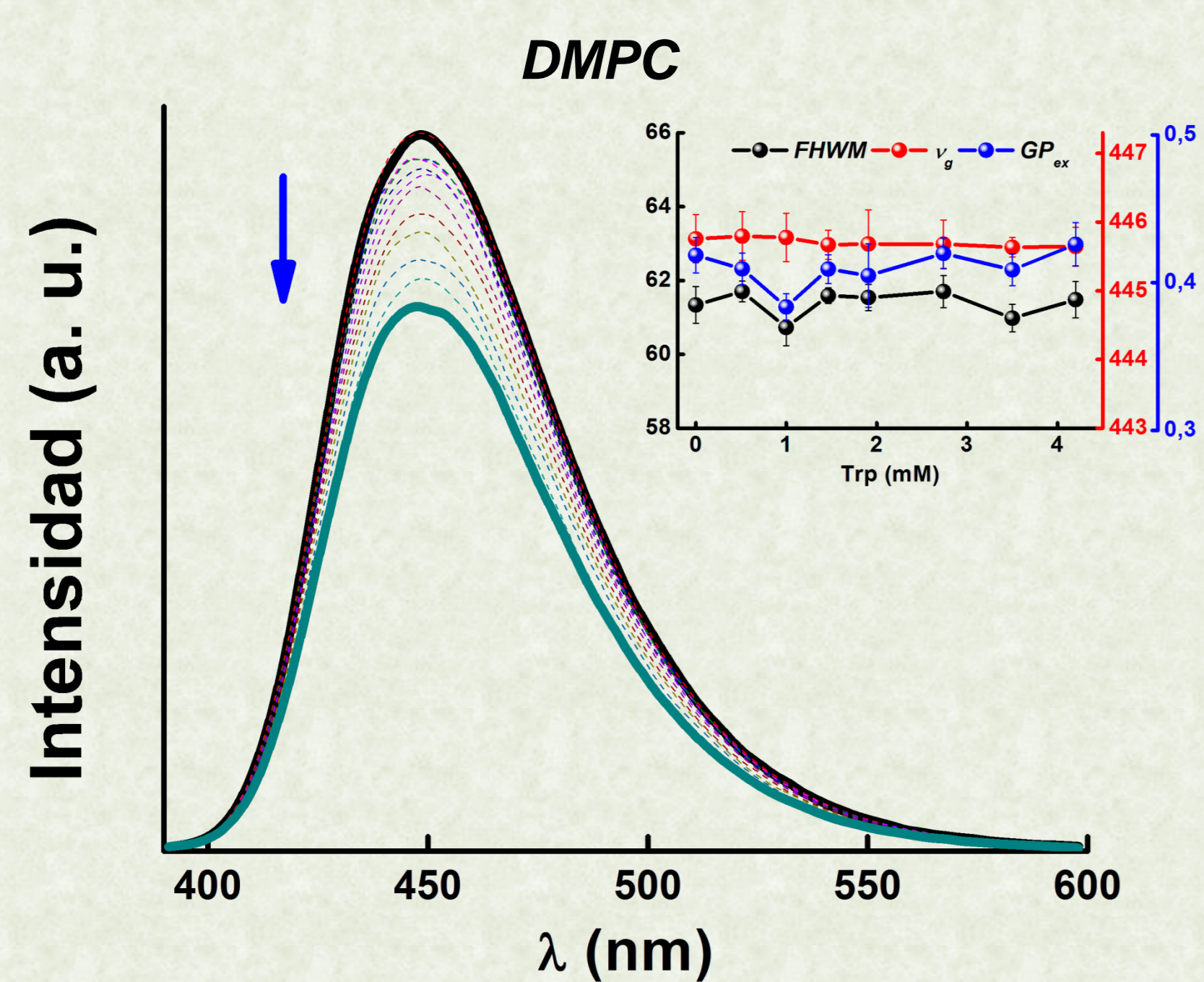


Figura 1.

La intensidad de emisión del Laurdan disminuye por la presencia de Trp (Fig. 1). Los valores del ancho de banda a la mitad del máximo (FWHM), el centro de masa espectral (ν_0) y GP no se ven afectados por el aminoácido (Inserto de Fig. 1).

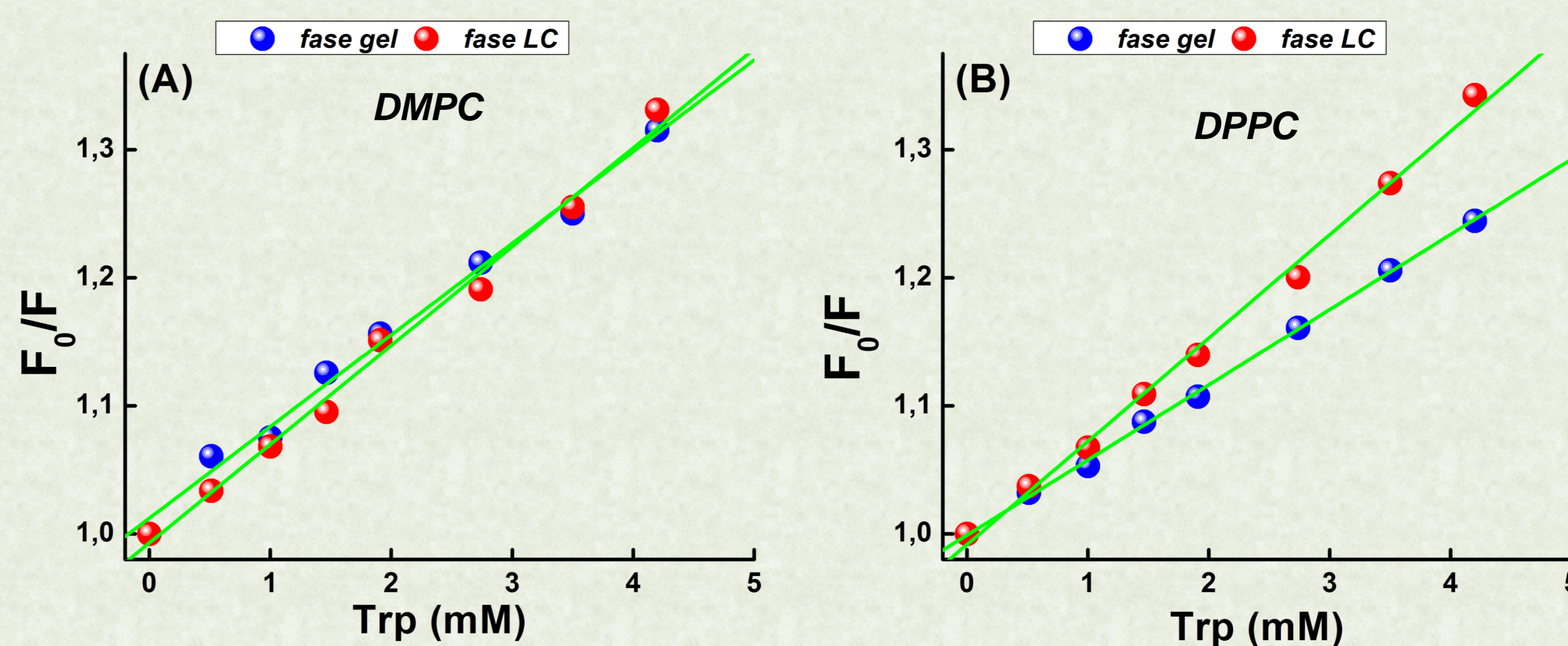


Figura 2.

En la Figura 2A, tanto para vesículas unilamelares de DMPC como DTPC, no se observa un cambio significativo en los valores de K_{SV} en fase gel y líquido cristalino (LC) ($K_{SV} \approx 72 \pm 2$). En cambio, se detectaron diferencias entre las fase gel y LC de DPPC y DHPC, siendo mayor en LC ($K_{SV} \approx 81 \pm 1$) que en fase gel ($K_{SV} \approx 57 \pm 3$). La presencia de grupos carbonilos no afectó el valor de K_{SV} .

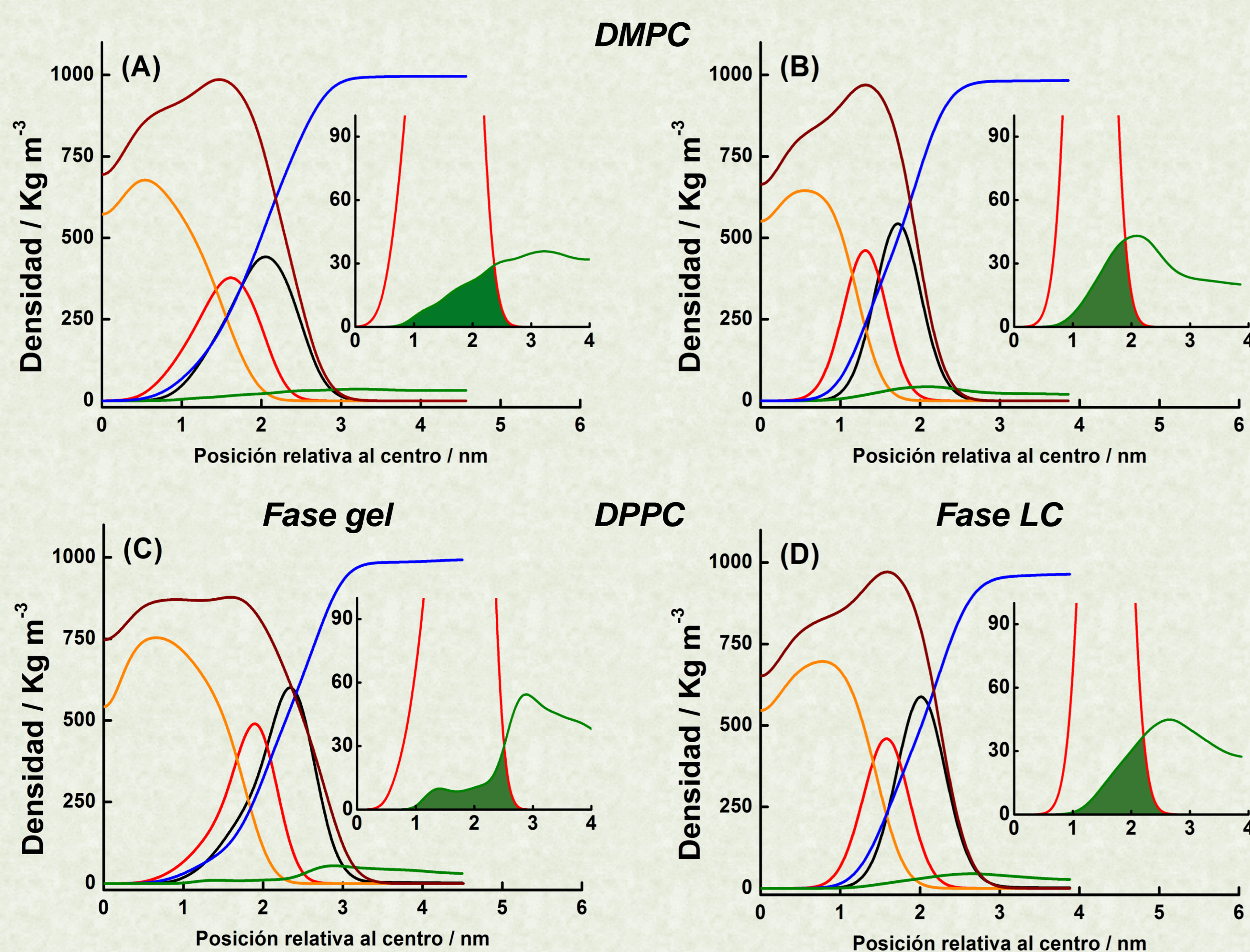


Figura 3.

El área bajo la curva de densidad de Trp en la región del grupo carbonilo (línea roja) son iguales para DMPC (Fig. 3 A y B) y para DPPC en líquido cristalino (Fig. 3D). En cambio, el área cambia para DPPC en fase gel (inserto Fig. 3C), en coincidencia con la disminución de K_{SV} .

Lípido	Fase gel			Fase LC		
	A (Å ²)	D _B (nm)	S _{C-D}	A (Å ²)	D _B (nm)	S _{C-D}
DMPC	54.82 ± 12.11	4.82 ± 0.20	0.34	63.61 ± 13.84	4.20 ± 0.19	0.23
DMPC-Trp	54.58 ± 10.31	4.94 ± 0.19	0.30	67.02 ± 13.67	4.43 ± 0.20	0.22
DTPC	61.86 ± 14.14	4.00 ± 0.95	0.29	65.90 ± 12.79	4.28 ± 0.32	0.22
DTPC-Trp	56.80 ± 12.53	4.38 ± 0.95	0.28	64.13 ± 15.16	4.43 ± 0.32	0.22
DPPC	54.71 ± 11.07	5.16 ± 0.21	0.34	65.36 ± 13.65	4.46 ± 0.14	0.23
DPPC-Trp	51.61 ± 12.41	5.28 ± 0.21	0.31	64.38 ± 15.15	4.62 ± 0.14	0.23
DHPC	56.99 ± 10.93	5.22 ± 0.43	0.34	68.43 ± 16.09	4.54 ± 0.26	0.22
DHPC-Trp	54.77 ± 11.77	4.92 ± 0.43	0.35	66.17 ± 17.18	4.58 ± 0.26	0.21

Tabla I. El parámetro de orden de la cadena acílica ($-S_{CD}$), área por lípido (A) y grosor de la bicapa (D_B), no cambian en presencia de Trp en las membranas, independientemente del estado de fase en el cual se encuentren.

Conclusiones

Los resultados indican que el valor de K_{SV} está ligado al estado de la membrana en lípidos de cadena larga. Para DPPC y DHPC en estado gel, los valores de K_{SV} son menores comparado al estado líquido cristalino. Este descenso está relacionado con el cambio en la distribución de Trp en la zona de los grupos CO.

Referencias

- [1] Killian J., Von Heijne G. Trends Biochem. Sci. 2000, 25, 429–434.
- [2] Persson S., Killian J., Lindblom G. Biophys. J. 1998, 75, 1365–1371.
- [3] Situ A., Kang S., Frey B., An W., Kim C., Ulmer T. J. Phys. Chem. B. 2018, 122, 1185–1194.