

Conformación, organización vectorial y estabilidad termodinámico-estructural de péptidos bioactivos y hormonas en biointerfases.

El proyecto consistirá en el estudio de direccionamiento controlado de la adsorción/de adsorción, penetración, autoensamble y reorganización de lípidos, péptidos bioactivos y hormonas en biointerfases por efecto de la presión lateral, electrostática interfacial, efecto hidrofóbico y campos eléctricos locales externos.

Relevancia del problema. El estudio de nanoestructuras biomoleculares así como los métodos y técnicas físico-químicas, biofísicas y matemático-informáticas para la modelización y análisis de sistemas biomiméticos constituye una nueva frontera interdisciplinaria del conocimiento. Las propiedades de estas nanoestructuras pueden determinar procesos biocatalíticos, de bioreconocimiento y de bioinducción con potencialidad de aplicación en procesos biológicos, funcionales y patológicos. Para desarrollar estos conocimientos es necesario primero individualizar y definir los códigos moleculares, estructurales y de interacción entre las biomoléculas para luego dirigirlos de manera controlada. Uno de los grandes problemas de nanoestructuras autoensambladas es que su regulación molecular y supramolecular es altamente dinámico y se realiza en diferentes niveles de complejidad.

Estudios específicos. Nuestro grupo de trabajo ha encarado desde hace tiempo estudio de de los siguientes sistemas: a) fusión, b) interacción de péptidos bioactivos y c) interacción de hormonas con nanoestructuras lipídicas autoensambladas.

a) *Fusión.* Las nanoestructuras lipídicas autoensambladas no tienen tendencia a fusionarse o recombinarse en un medio acuoso. Sin embargo estos procesos son muy comunes en distintos procesos celulares. Para que este fenómeno ocurra es necesaria la bioinducción por agentes tales como proteínas, péptidos o iones. A pesar de los estudios realizados el mecanismo de fusión de membranas no se conoce. Por lo tanto es necesaria la reconstrucción del evento biológico en sistemas biomiméticos para estudiar el proceso.

b) *Interacción de péptidos bioactivos.* Algunos péptidos y proteínas tienden a interactuar con lípidos específicos afectando la estabilidad de las superficies, induciendo separación lateral y/o formación de dominios de fases diferentes lo cual permite el control topográfico de la organización interfacial. Microcina J25 es un péptido antibiótico de bajo peso molecular sintetizado por *E. coli*, purificado a homogeneidad en

nuestro laboratorio. Posee una estructura casi única y por su carácter hidrofóbico interacciona con bicapas lipídicas modificando su microviscosidad según determinaciones realizadas por espectroscopia de fluorescencia. Microcina J25 forma monocapas estables en la interfase aire-agua. La adsorción del péptido desde una subfase a una interfase limpia lleva a un aumento de la presión y del potencial de superficie. De estos datos se deduce que microcina J25 es un pobre surfactante por si mismo. Sin embargo, la interacción con monocapas lipídicas incrementa la estabilidad del péptido en la interfase. Los lípidos y la microcina J25 forman una mezcla no ideal con expansión e hiperpolarización de componentes en la interfase. A altas presiones de superficie, el péptido es excluido de la monocapa dejando al fosfolípido puro. La obtención por mutaciones genéticas de péptidos análogos con modificaciones en determinados amino ácidos, nos da la posibilidad de correlacionar aspectos estructurales con la inserción controlada de los péptidos en biointerfases.

c) *Hormonas tiroideas*. Estas biomoléculas regulan un amplio rango de procesos metabólicos y para su acción deben primero integrarse y luego dissociarse de la biointerfase lo cual implica un cambio en la dinámica y en la organización molecular. Sin embargo, no han sido dilucidados aún los detalles de estos mecanismos. Estudios de las interacciones de estas hormonas con sistemas biomiméticos (liposomas) indican que mientras la organización del sistema lipídico permita la difusión de los mismos (fase fluida) tanto T3 como T4 pueden incorporarse al sistema induciendo un ordenamiento del mismo. En cambio, si los lípidos están altamente organizados sólo T3 es capaz de incorporarse pero, en este caso, induciendo una desorganización del sistema. Se sugiere que este comportamiento diferencial obedece a factores estructurales relacionados al número y posición de los átomos de Iodo en la molécula. Sosteniendo esta hipótesis, numerosas evidencias indican que las características estereoquímicas de las mismas juegan un rol importante para la determinación de sus actividades biológicas, por ejemplo: a) derivados de T3 y T4 con grupos alquilo en lugar de Iodo dan como resultado conformaciones geométricas necesarias para interaccionar con biointerfases; b) en ensayos biológicos, T3 es aproximadamente cinco veces más activa que T4 indicando que la asimetría del anillo β es importante para la actividad hormonal. El estudio de interacciones hormona-lípido se realiza en nuestro laboratorio mediante un análisis

vibracional comparativo de T2, T3 y T4 en estado puro con bicapas lipídicas, basado en los espectros IR y Raman y en cálculos teóricos. Este trabajo constituye la base para la obtención de datos estructurales referente a las hormonas a partir de los espectros de las distintas mezclas hormona-lípido.