

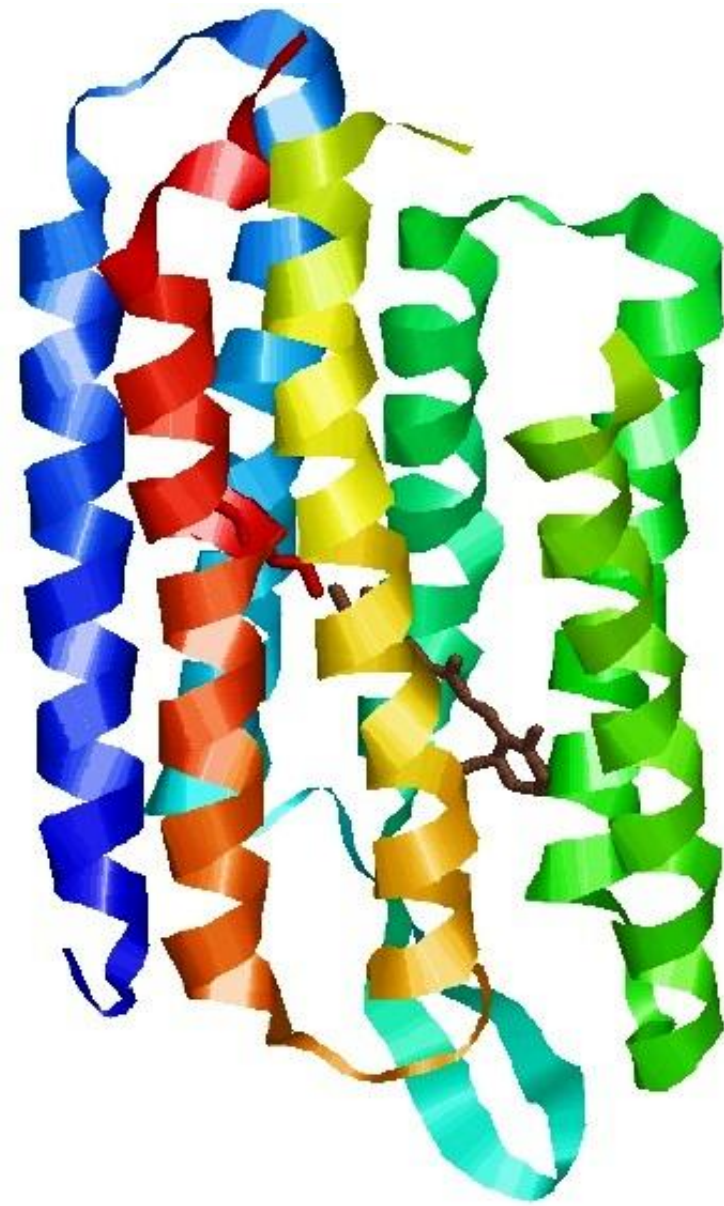
Reconstitución de bacterioropsina mediante análogos merocianínicos del retinal

Guillem Marco¹, Ana Cajaraville², Susana López², Esteve Padrós¹

1. Unitat de Biofísica, Departament de Bioquímica i Biologia Molecular, Facultat de Medicina, y Centre d’Estudis en Biofísica, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra
2. Catàlisi Organometàlica, Departamento de Química Orgànica, Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela

Resumen

En este trabajo se han usado cuatro nuevos derivados merocianínicos del retinal para analizar su capacidad para reconstituir la bacteriorodopsina (bR). Este proceso se ha estudiado mediante espectroscopia de UV-Vis, siguiendo el cambio en los espectros de absorción a lo largo del tiempo. Los resultados muestran que con los cuatro análogos usados, el pico de absorción característico del análogo libre desaparece y en su lugar aparece otro pico en una longitud de onda mayor. Además, para estudiar la estabilidad de esta unión, se realizaron experimentos de competencia añadiendo retinal nativo a la preparación de BO-análogo y siguiendo los cambios en el espectro de absorción. En ningún caso se observaron cambios importantes del espectro inicial. En conclusión, los cuatro análogos merocianínicos son capaces de reconstituir la BR dando lugar a complejos BO-análogo del retinal con máximos de absorción característicos. Ello demuestra que los análogos ocupan el bolsillo del retinal, y que los complejos son suficientemente estables para que el retinal nativo no desplace a los análogos.



Introducción

La bR es una proteína integral de membrana transportadora de protones dependiente de la luz, que se encuentra en la membrana de *Halobacterium salinarum*. En este proceso es clave el retinal unido covalentemente a la Lys216, ya que es la molécula que absorbe los fotones e inicia el fotociclo. Este retinal puede ser eliminado de forma sencilla de la proteína mediante reacción con hidroxilamina, dando lugar a bacterio-opsina (bOP) [1]. La bR puede reconstituirse a partir de la bOP añadiendo nuevamente retinal.

Resultados

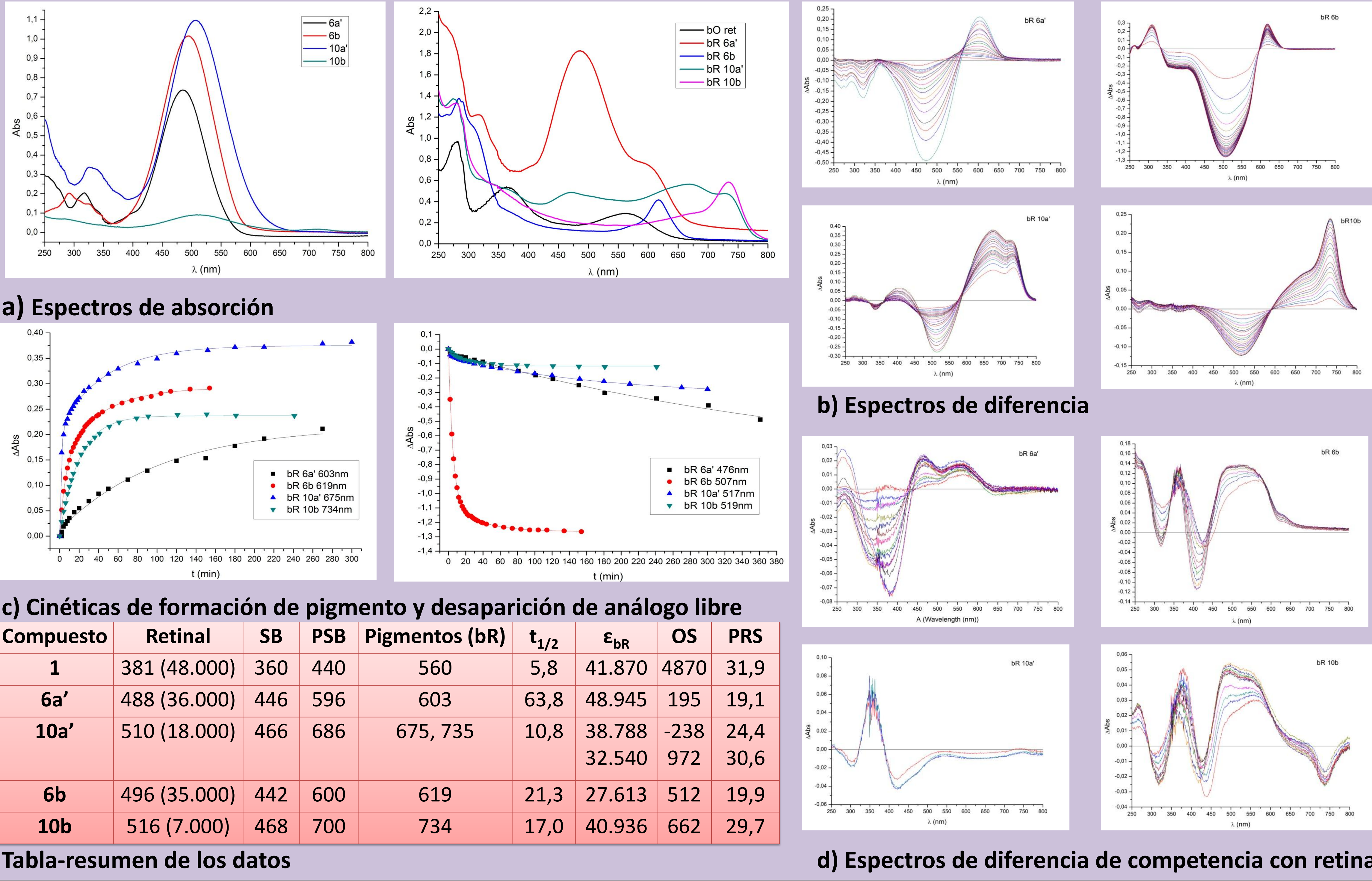


Tabla-resumen de los datos

Discusión

- Los cuatro análogos reconstituyen la bR ya que el pico del retinal libre disminuye y aparece el del análogo unido a la proteína.
- Los análogos 10a' y 10b, con 4 enlaces dobles, tienen un valor de PRS [3] similar al retinal nativo. Los 6a' y 6b, con tres enlaces dobles, tienen valores menores.
- Los valores de OS son menores que los del retinal, por lo que la interacción de la proteína con los análogos es menor [4].
- El volumen de los anillos o una baja coplanaridad explicarían los bajos valores de OS [5].

Conclusiones

- Los cuatro análogos sintéticos reconstituyen la bR con máximos de absorción característicos.
- Los complejos son suficientemente estables para no ser desplazados por el retinal *all trans*.

Referencias

[1] Oesterhelt, D., *Reconstitution of the retinal proteins bacteriorhodopsin and halorhodopsin*. Methods in Enzymology, 1982. **88**.

[2] Oesterhelt, D. and W. Stoekenius, *Isolation of the cell membrane of Halobacterium halobium and its fractionation into red and purple membrane*. Methods Enzymol, 1974. **31**(Pt A): p. 667-78.

[3] Muthyala, R., et al., *The nature of the delocalized cations in azulenic bacteriorhodopsin analogs*. Photochem Photobiol, 2001. **74**(6): p. 837-45.

[4] Lasogga, L., et al., *Model systems for the investigation of the opsin shift in bacteriorhodopsin*. J Phys Chem A, 2010. **114**(5): p. 2179-88.

[5] Hu, J., R.G. Griffin, and J. Herzfeld, *Synergy in the spectral tuning of retinal pigments: complete accounting of the opsin shift in bacteriorhodopsin*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1994. **91**(19): p. 8880-4.