

PROYECTO X O ALGO ASÍ

FRANCISCO MURPHY PÉREZ
DR. ENRIQUE RUDIÑO PIÑERA

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

20 04 2020

INTRODUCCIÓN

Actualmente la cristalografía de rayos X (CRX), es el principal método con el cual se puede obtener detalle atómico de la proteína de interés. De 163141 estructuras depositadas en la base de datos de proteínas (PDB)¹, 145083 se han determinado gracias a este método². Esto representa el 88.93 % del total.

¹<https://www.rcsb.org/>.

²A 25 de abril del 2020.

EL EXPERIMENTO DE CRX

En breve, el experimento de CRX consiste en:

1. Incidir **rayos X** sobre el cristal de proteína.
2. Obtener el patrón de difracción.
3. Rotar el cristal en cierto eje.
4. Repetir n veces.

La fuente de rayos X más común para realizar un experimento de CRX, es la radiación sincrotrón. De 145083 estructuras determinadas por la CRX, 114781 fueron determinadas en un sincrotrón³. Esto representa el 79.11 %.

³A 25 de abril del 2020

DAÑO POR RADIACIÓN

Una de las limitantes de la CRX, es el daño por radiación.

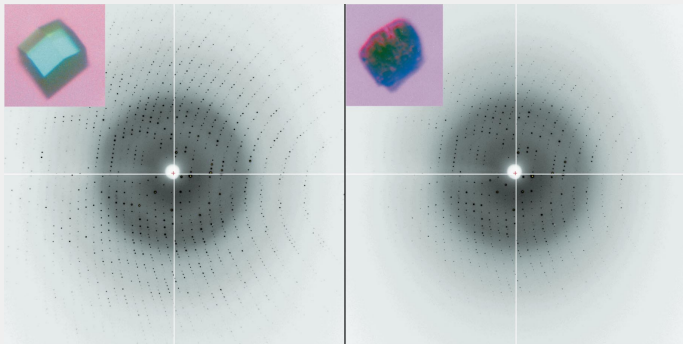


Figura: Cristal de lisozima y su patrón de difracción después de una dosis de radiación de 120 kGy (izquierda) y 16.7 MGy (derecha). Imagen tomada de [1].

El daño global se nota en la pérdida de reflexiones y su disminución en intensidad. Después de procesar los datos se nota: en el cambio del volumen de la celda unitaria, en el aumento del factor de escala y/o en las métricas que ayudan a evaluar la calidad de los datos o de la relación entre datos y modelo, pues tienden a empeorar.

DAÑO ESPECÍFICO

El daño por radiación sobre ciertos residuos de aminoácidos. No ocurre de manera idéntica. Modelo estructural *perturbado*.

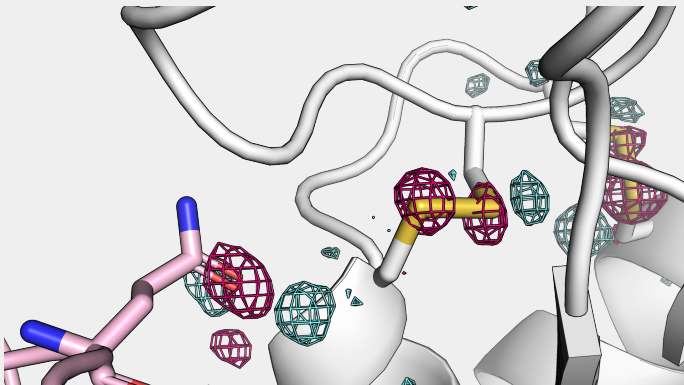


Figura: Diferencia de densidad electrónica para un cristal de lisozima entre dos colectas de datos. Estructuras y datos de [2].

Nada

En el peor de los casos, es imposible obtener un modelo.

CRIOPROTECCIÓN

Una de las primeras estrategias para minimizar el daño por radiación fue realizar el experimento de difracción a bajas temperaturas.

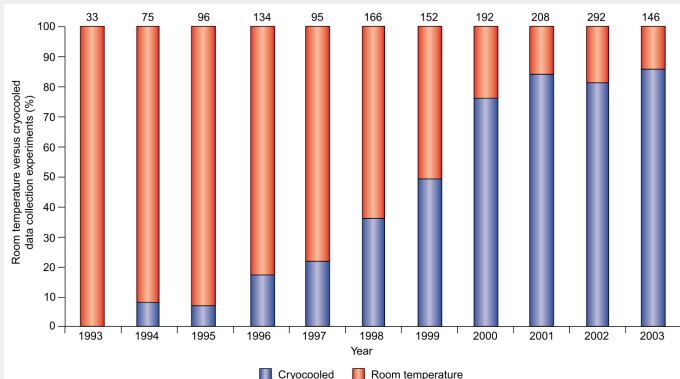


Figura: Adopción de la crioprotección. Imagen tomada de [3].

RADIOPROTECTORES

Interacción con los radicales libres antes que la proteína.

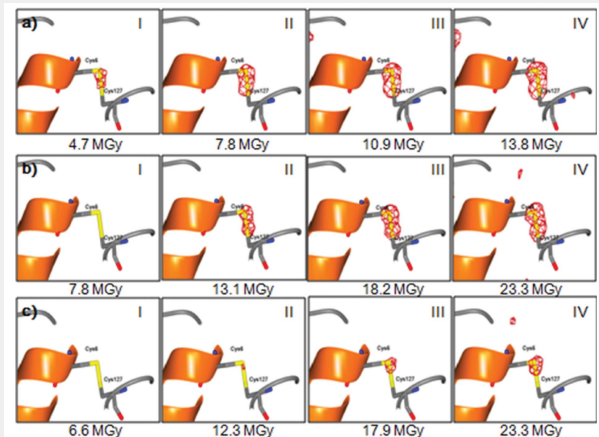


Figura: Radioprotectores en cristal de lisozima nativo (a), con ácido ascórbico (b) y con nitrato de sodio (c). Imagen tomada de [4].

A comparación de la crioprotección, el uso de radioprotectores todavía no se ha adoptado como parte de la rutina del experimento de CRX. Al menos dos artículos científicos han debatido sobre este punto [5, 6].

ANTECEDENTES

El principal radical libre generado por la radiación, es el electrón solvatado, el cual se encuentra en un equilibrio ácido base.



En una solución ácida el electrón solvatado se convierte en H^{\bullet} y esta especie se recombina generando H_2 , el cual se acumula dentro del cristal macromolecular [7]. En este caso el ion hidronio funciona como radioprotector.

En mi tesis de maestría se investigó el efecto del pH en cristales de lisozima: el cristal con el pH más ácido (3.7) presentó mayor daño por radiación que el cristal con el pH más básico (5.7).

MATERIALES Y MÉTODOS

DISCUSIÓN

Algo de texto por aquí y por allá.





Algo de texto por aquí y por allá.

Algo de texto por aquí y por allá.


CONCLUSIÓN

Algo de texto por aquí y por allá.

REFERENCIAS I


-  TSU YI TENG AND KEITH MOFFAT.
PRIMARY RADIATION DAMAGE OF PROTEIN CRYSTALS BY AN INTENSE SYNCHROTRON X-RAY BEAM.
Journal of Synchrotron Radiation, 2000.
-  MAX H. NANAQ, GEORGE M. SHELDRIK, AND RAIMOND B.G. RAVELLI.
IMPROVING RADIATION-DAMAGE SUBSTRUCTURES FOR RIP.
Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography, 2005.
-  ELSPETH GARMAN.
'COOL' CRYSTALS: MACROMOLECULAR CRYOCRYSTALLOGRAPHY AND RADIATION DAMAGE.
Current Opinion in Structural Biology, 13(5):545–551, 2003.
-  EUGENIO DE LA MORA, IAN CARMICHAEL, AND ELSPETH F. GARMAN.
EFFECTIVE SCAVENGING AT CRYOTEMPERATURES: FURTHER INCREASING THE DOSE TOLERANCE OF PROTEIN CRYSTALS.
Journal of Synchrotron Radiation, 2011.

REFERENCIAS II

 ELZBIETA NOWAK, ANNA BRZUSZKIEWICZ, MIROSLAWA DAUTER, ZBIGNIEW DAUTER, AND GERD ROSENBAUM.


TO SCAVENGE OR NOT TO SCAVENGE: THAT IS THE QUESTION.

Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography, 2009.

 ELIZABETH G. ALLAN, MELISSA C. KANDER, IAN CARMICHAEL, AND ELSPETH F. GARMAN.

TO SCAVENGE OR NOT TO SCAVENGE, THAT IS STILL THE QUESTION.

Journal of Synchrotron Radiation, 2013.

 ALKE MEENTS, SASCHA GUTMANN, ARMIN WAGNER, AND CLEMENS SCHULZE-BRIESE.

ORIGIN AND TEMPERATURE DEPENDENCE OF RADIATION DAMAGE IN BIOLOGICAL SAMPLES AT CRYOGENIC TEMPERATURES.

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010.

BACKUP SLIDE

This is a backup slide, useful to include additional materials to answer questions from the audience.

The package `appendixnumberbeamer` is used to refrain from numbering appendix slides.