

# Proteïnes en 3D: una estratègia contra la Cèliaquia

**ibmb**

Institut de Biologia Molecular de Barcelona  
Molecular Biology Institute of Barcelona 

Departament de Biologia Estructural i Molecular  
MitoLab i Laboratori de Proteòlisi  
Institut de Biologia Molecular de Barcelona (CSIC)

## La malaltia Celíaca

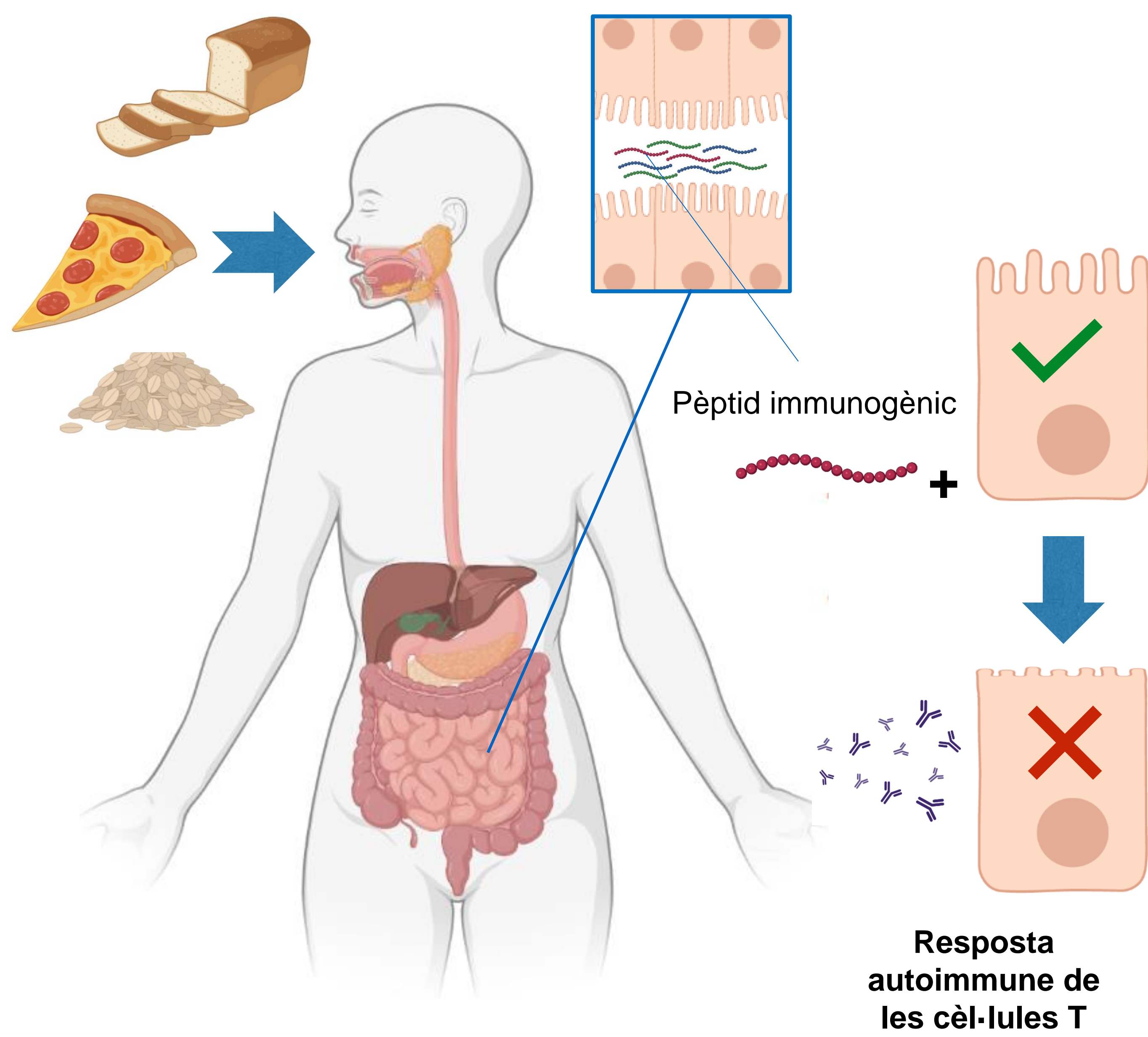
### Què és la cèliaquia?

És una afecció autoimmunitària en la qual el sistema immune del cos reacciona al gluten, una proteïna que es troba al blat, l'ordi i el sègol, i en alguns casos, a la civada.

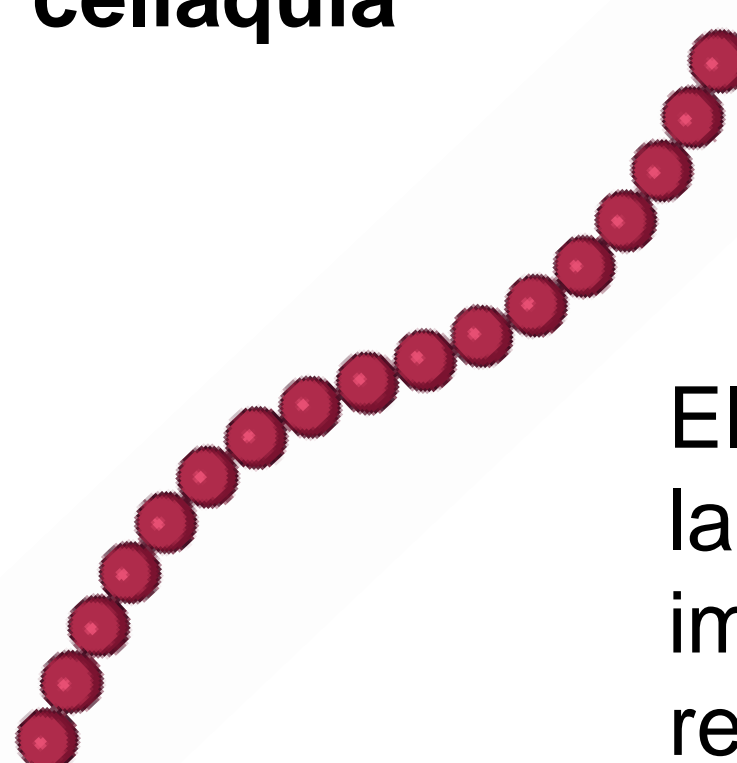
Aquesta reacció immune causa danys en el revestiment de l'intestí prim i pot provocar una varietat de símptomes, com ara dolor abdominal, diarrea, fatiga i pèrdua de pes.

### Els pèptids resultants de la digestió del gluten

S'ha identificat que els pèptids derivats del gluten, contenen certes seqüències d'aminoàcids riques en prolines que no poden ser digerides pels enzims que tenim al cos, aquests pèptids del gluten són especialment propensos a desencadenar la resposta immunitària en persones amb malaltia celíaca.



Efecte a l'intestí prim de la digestió del gluten en persones amb cèliaquia

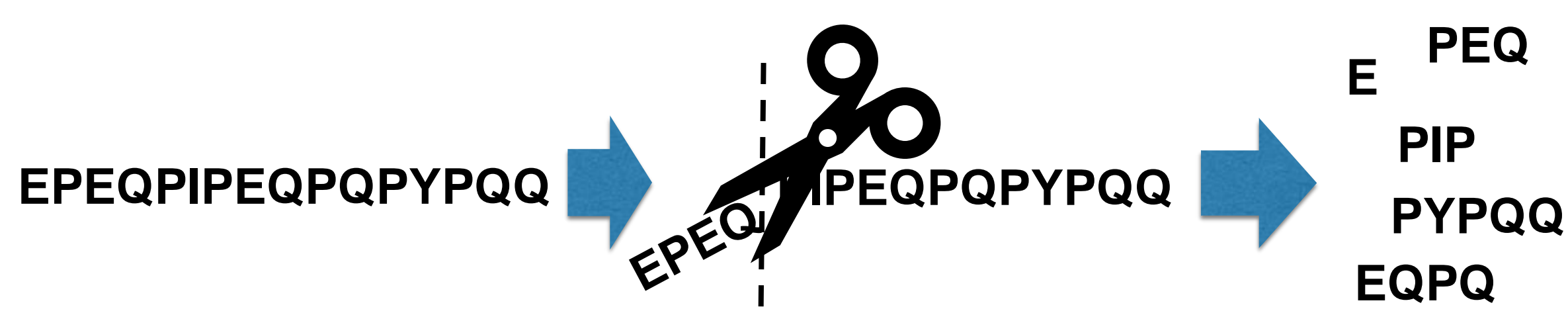


Els pèptids resultants són els principals causants de la producció d'anticossos i l'activació de cèl·lules immunològiques, que en última instància danyen el revestiment de l'intestí prim, perdent la vellositat.

## A la caça de la Superproteasa!

### Què són les proteases?

Són proteïnes que tenen com a funció tallar altres proteïnes o pèptids, funcionen com unes tisores moleculars. Els talls generats per les proteases són crucials perquè altres proteïnes, puguin fer la seva funció o deixin de fer-la. En el nostre cas volem que talli els pèptids que donen la resposta immunitària fins que no la puguin fer.



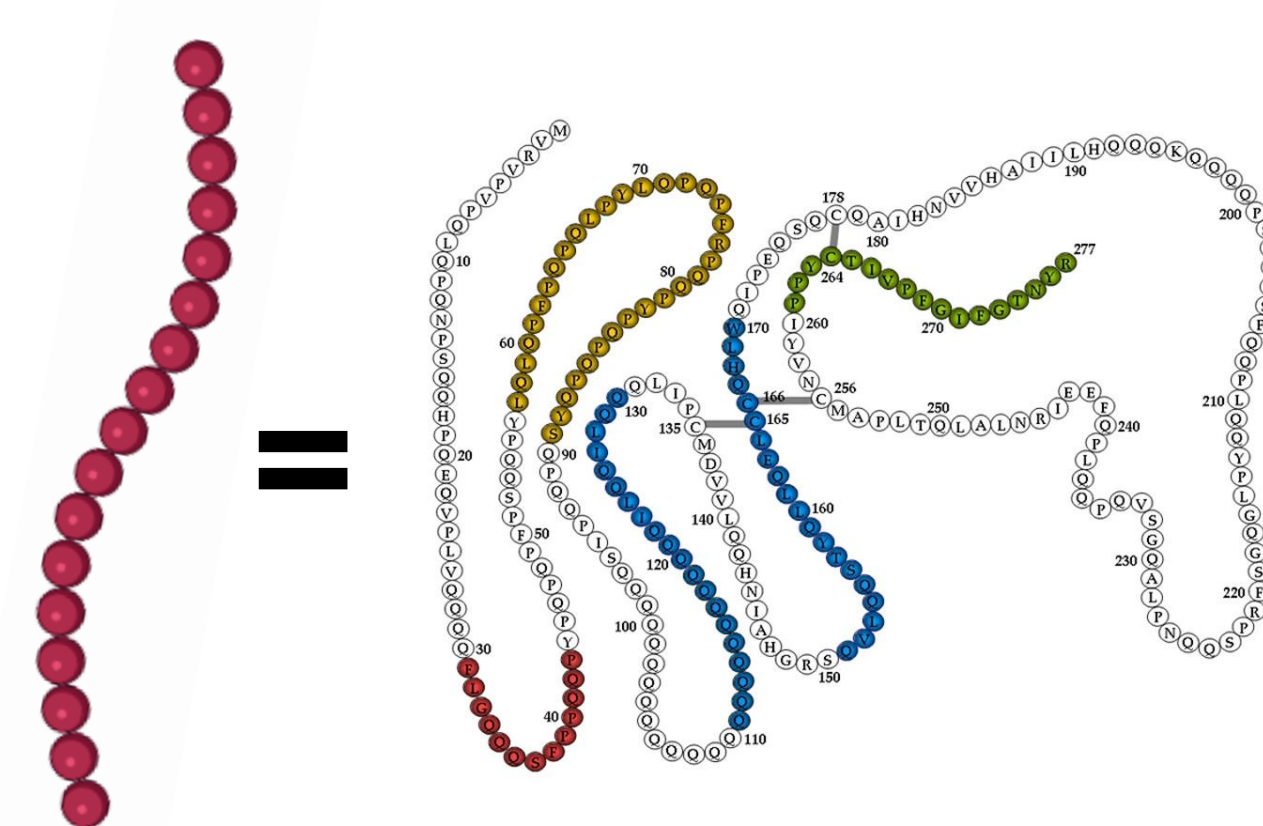
Representació gràfica de l'acció d'una proteasa. Les proteases són com tisores moleculars que poden fragmentar proteïnes i pèptids.

### A) Seqüències dels pèptids immunogènics del gluten

	Component del glúten	Seqüència del pèptid
Pèptid 1 (33-mer)	α-gliadina	LQLQFPF(QPQLPYP) <sub>3</sub> QPQPF
Pèptid 2	β-hordein	ELQFPFQPELPYPQPQ
Pèptid 3	α-gliadina	EPEQPIPEQPQPYPQQ
Pèptid 4	α-gliadina	QLQFPFQPELPY
Pèptid 5	α-gliadina	EPEQPIPEQPQPYPQ
Pèptid 6	ω-gliadina/C-hordein	EQFPFQPEQFPWQP

### B) Seqüències de tall que fa cada proteasa

	Procedència	Seqüència del lloc de tall
Proteasa 1	Verí de serp	FF P
Proteasa 2	Bacteri de l'estómac	X W
Proteasa 3	Planta carnívora	P X
Proteasa 4	Fong del gènere còrdyceps	QQ W
Proteasa 5	Archaea termòfil	X Y



Els pèptids immunogènics derivats del gluten els nomenem per la seva longitud d'aminoàcids, sent el 33-mer (33 aminoàcids) el més estudiat i reconegut. S'ha comprovat que aquest pèptid provoca una forta resposta immunitària en les persones celíacques.

### Anem de caça!

Com les proteases humanes no són capaces de degradar aquests pèptids, una bona estratègia seria buscar en altres éssers vius, com ara bacteris, fongs.

- Busquem aquella proteasa que sigui capaç de degradar amb més eficiència els pèptids immunogènics del gluten, com el 33-mer.
- Analitzem la seqüència amb eines de proteòmica per saber com i on talla.
- Estudiem la seva estructura molecular: Haurem de cristal·litzar la proteïna. L'estructura molecular ens permet conèixer el mecanisme d'acció i les característiques moleculars, així com quines modificacions podem afegir a la nostra Superproteasa per millorar els seus poders de tall sobre els pèptids immunogènics del gluten.

Organitza:

 Parc Científic de Barcelona  
UNIVERSITAT DE BARCELONA

Som Grup UB:  
 UNIVERSITAT DE BARCELONA

 EduCaixa  
"laCaixa"

Amb el suport de:

 GOBIERNO DE ESPAÑA  
 MINISTERIO DE CIENCIA E INNOVACION

 FECYT  
FUNDACIÓN ESPAÑOLA PARA LA CIENCIA Y LA TECNOLOGÍA

 RED DE UNIDADES DE CULTURA CIENTÍFICA Y DE LA INNOVACIÓN

 Ajuntament de Barcelona

19a FIRA

**RECERCA23**

**EN DIRECTE**  
PARC CIENTÍFIC DE BARCELONA

# A per l'estructura!

## Com m'asseguro que realment ets la nostra superproteasa?

### Mans a l'obra!

Farem servir organismes model que produiran la superheroïna.

Un cop hem seleccionat la nostra candidata, necessitem posar-la a prova.

**Primer l'hem de tenir aïllada i en grans quantitats!**

Gràcies a la Biologia Molecular i l'Enginyeria Genètica, podem modificar organismes com el bacteri *Escherichia coli*, que farà de fàbrica de producció del nostre candidat.

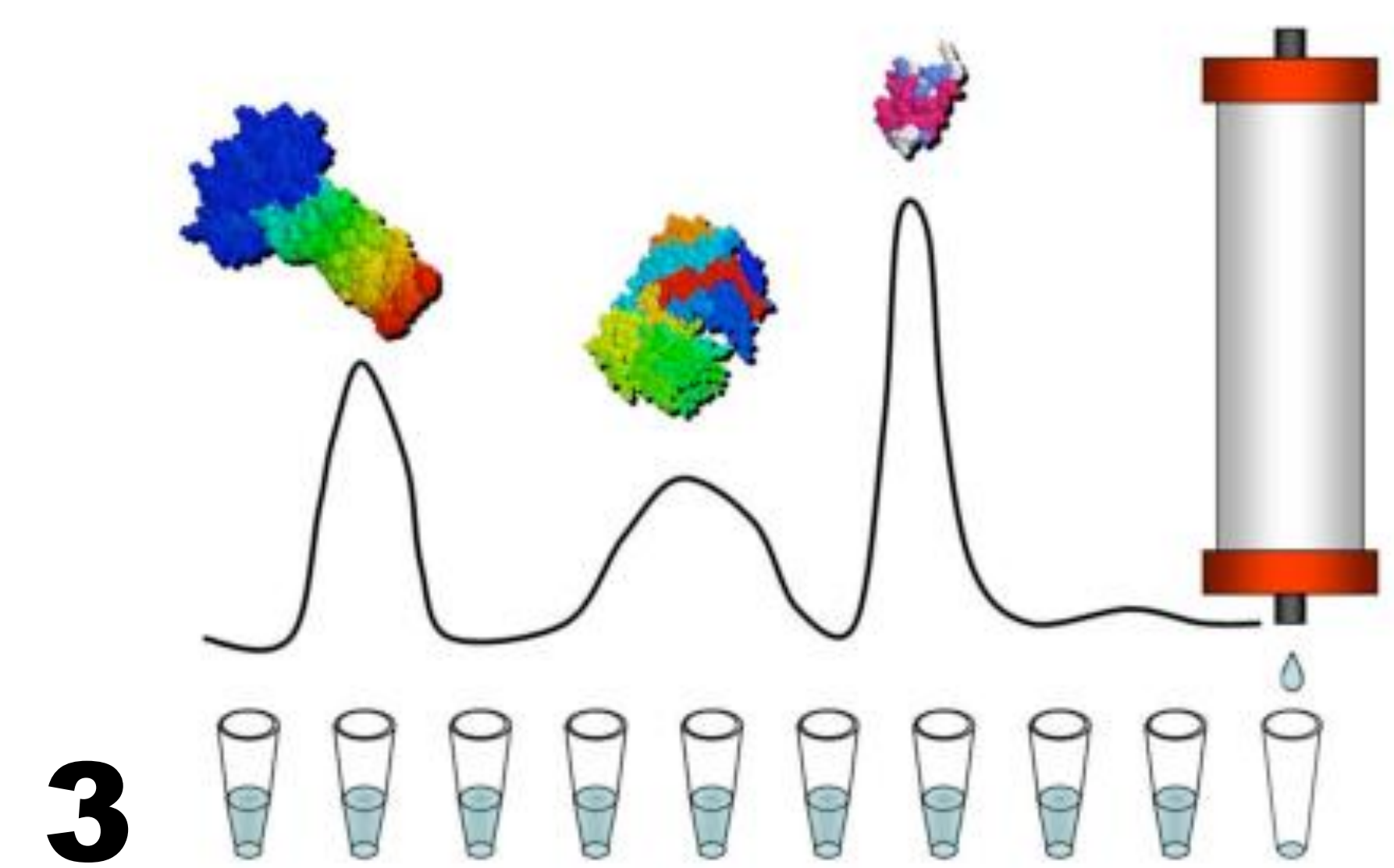
Conèixer les seves propietats bioquímiques ens permet aïllar-la de la resta del contingut cel·lular.



**1** Placa Petri amb colònies d'*E. Coli* > seleccionem les que tenen el gen de la nostra proteïna



**2** Mostra d'un cultiu de bacteris ja crescut > Fem créixer les bactèries i, per tant la quantitat de la proteïna



**3** Purifiquem la candidata a superheroïna mitjançant l'ús de resines químicament actives que retenen selectivament la nostra proteïna per afinitat

## La cristal·lització de proteïnes

### Assajos de cristal·lització

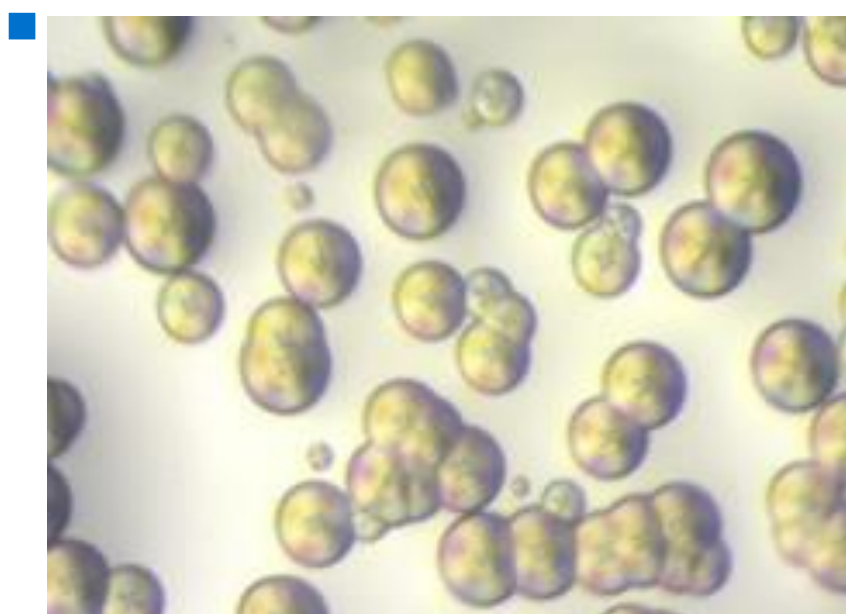
Un cop tenim la candidata a superheroïna pura i en gran quantitat, continuem amb les proves de cristal·lització.

Exposem la proteïna a diferents solucions químiques que la facin precipitar, però de manera ordenada, donant lloc a cristalls proteïcs.

### Millora dels cristalls

Poques vegades s'obtenen cristalls ordenats a la primera, sol ser necessari fer una millora de les condicions de cristal·lització.

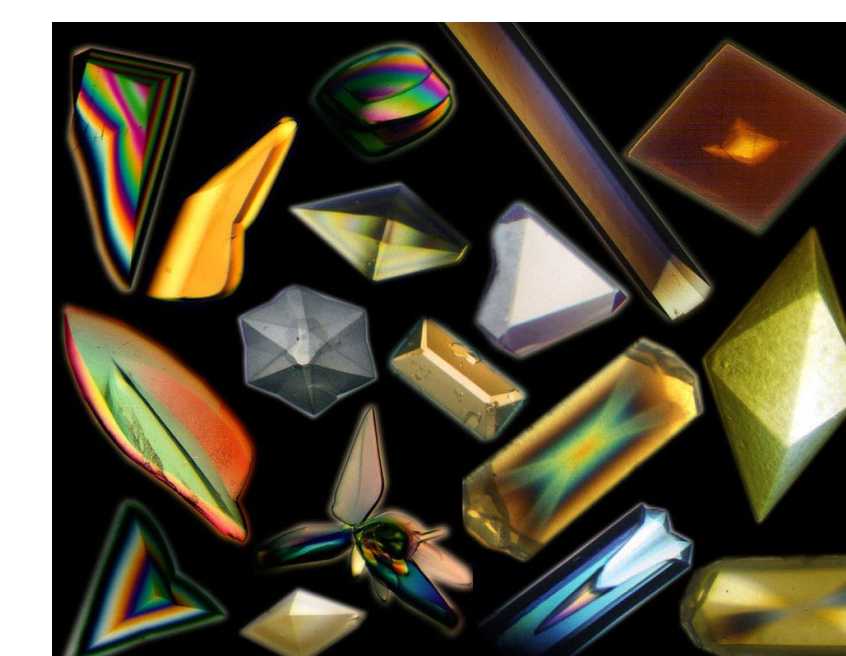
El cribratge consisteix a modificar les quantitats dels compostos químics presents a la barreja, substituir-los per anàlegs, o provar diferents valors de pH i temperatura.



A les proves inicials, sovint s'obtenen els anomenats **esferòlits**, són cristalls desordenats de proteïna.



Normalment, la matèria no és sempre totalment ordenada o desordenada en el cristall, hi ha diferents graus de cristal·lització.

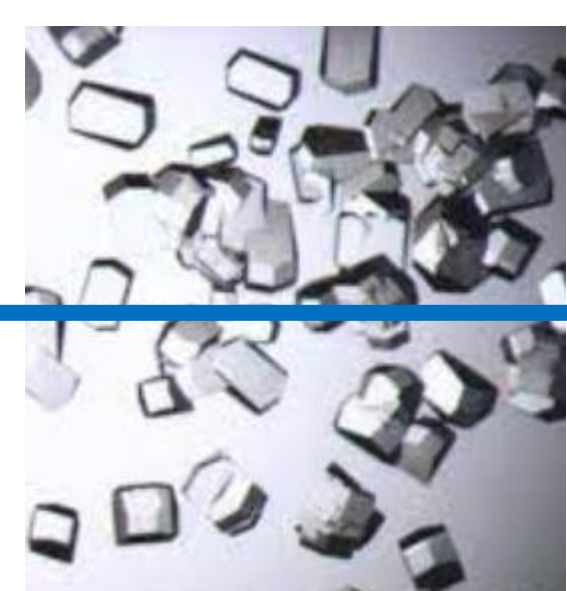


Els **cristalls proteïcs** poden adquirir formes molt variades segons les condicions en què hagin crescut.

## Com obtenim l'estructura a partir del cristall?

### Difracció de cristalls amb radiació sincrotró

Resolent l'estructura d'una proteïna!

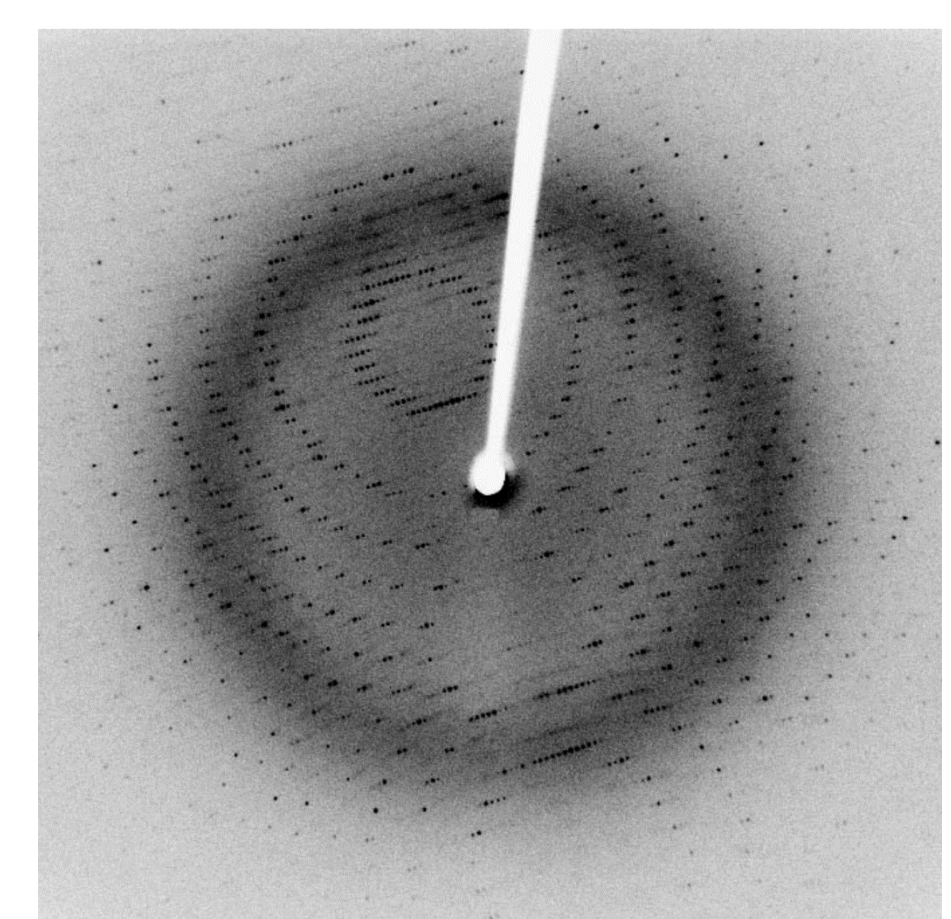


**Cristalls**

Irradiem els seus cristalls amb radiació sincrotró: un tipus de raigs X col·limat i d'alta energia.



A Europa trobem diverses infraestructures, com el sincrotró ALBA a Cerdanyola del Vallès, o l'ESRF a Grenoble (França). En aquestes instal·lacions s'obtenen fotografies que contenen la informació de l'estructura de la proteïna.



**Resultat:**  
**Patró de difracció**

La qualitat de la informació que es pot extreure depèn, entre altres factors, de la quantitat de punts, la separació entre ells, i com de lluny es propaguen des del centre de la imatge.

El gran repte de la cristal·lografia és poder extreure informació tridimensional a partir d'imatges bidimensionals. S'aconsegueix mitjançant programes informàtics que processen les dades, una vegada fet aquest processament i trobada l'estructura, aquesta es valida per garantir la coherència de les dades.

19a FIRA

**RECERCA23**

**EN DIRECTE**  
PARC CIENTÍFIC DE BARCELONA

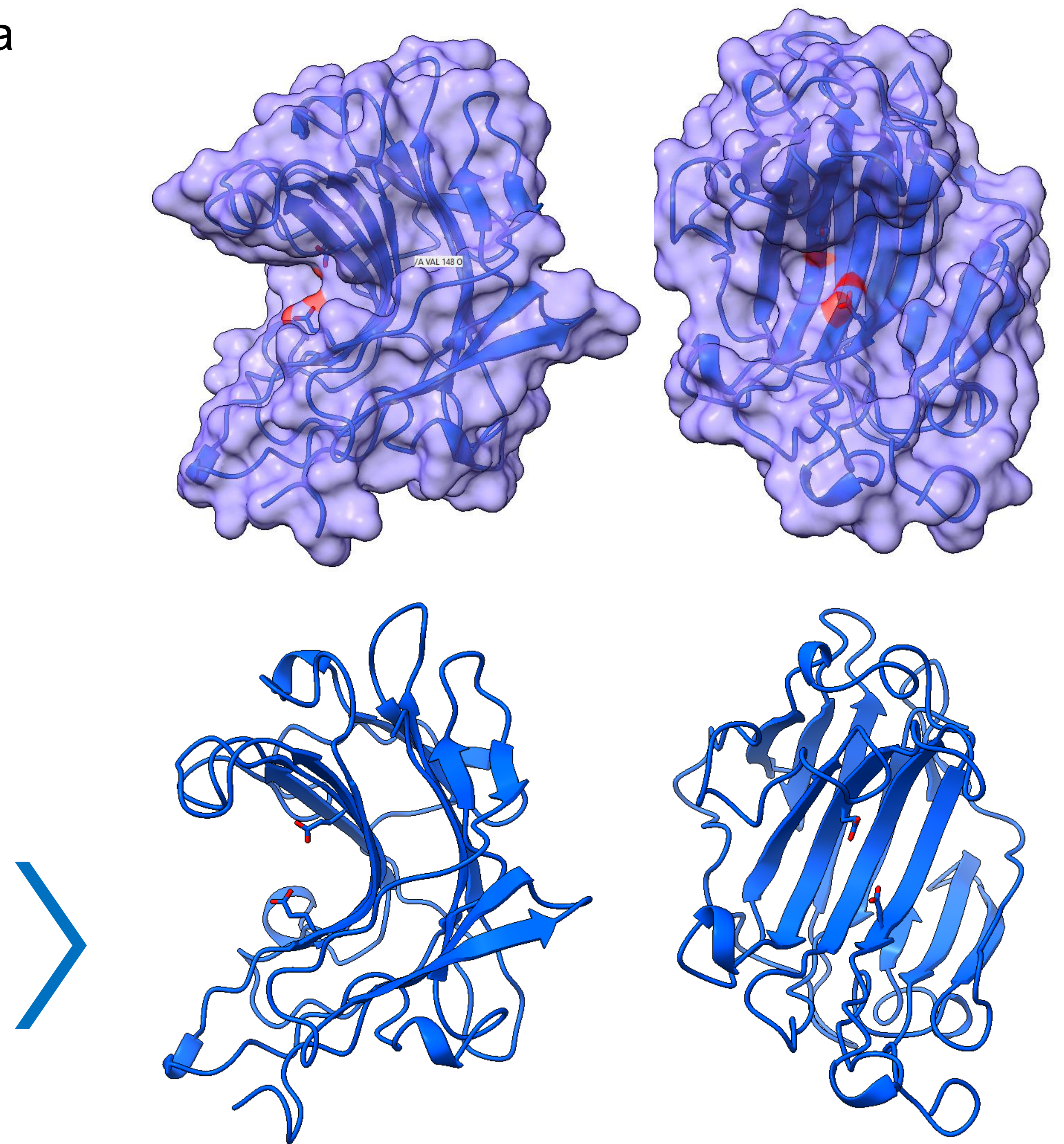
# Tenim l'estructura! Què fem ara?

Una vegada tenim caracteritzada l'estructura podem a partir d'aquesta:

- Estudiar i entendre els mecanismes moleculars de la seva funció.
- Dissenyar racionalment mutacions dirigides per millorar l'estabilitat i la funció de la nostra superproteasa donant-li més "superpoders", com ara fer-la més eficient o més estable.

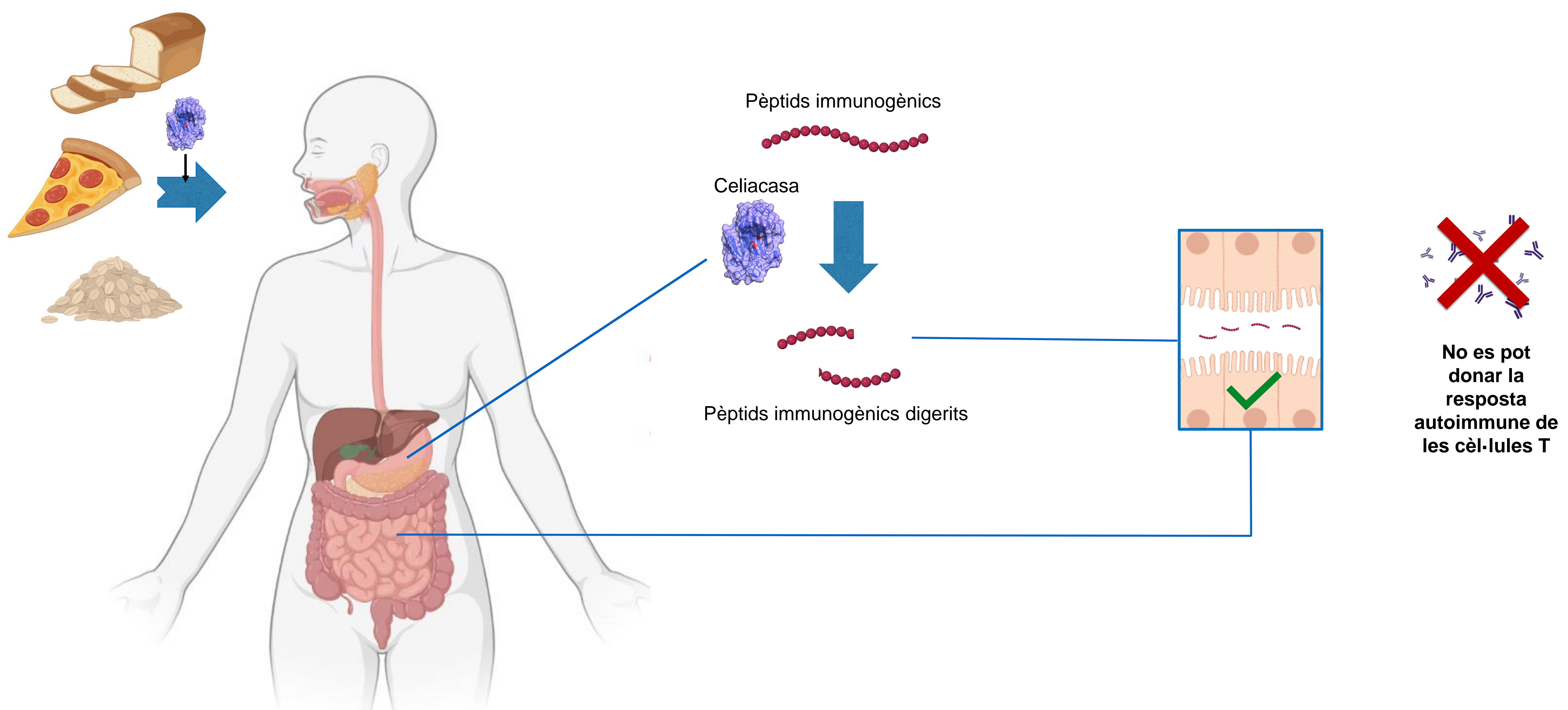
## Estructura 3D de la celiacasa, la nostra superproteasa!

A dalt podem veure la superfície i a sota els elements estructurals més importants. En vermell estan marcats els dos residus que fan la funció de tall en els pèptids com el 33-mer.



## Com podem fer servir la superproteasa per ajudar en contra de la celiaquia?

La celiacasa, la nostra superproteasa, actua abans que arribin els pèptids a l'intestí prim de manera que una vegada digerits o tallats, aquest ja no fan la resposta immune en persones que tenen la malaltia celíaca.



**A** La cristal·lografia de proteïnes és l'eina més utilitzada per trobar l'estructura macromolecular de les proteïnes.

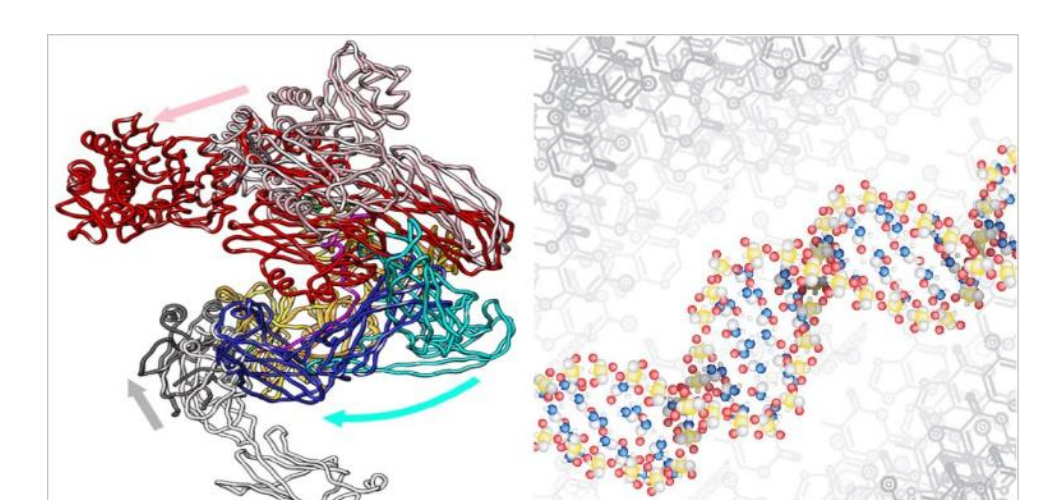
**B** Tenir l'estructura atòmica d'una proteïna pot servir per saber i estudiar com és una proteïna diana d'una certa malaltia i/o dissenyar fàrmacs per aquesta, i també per saber com i per on podríem modificar una proteïna per fer-la més eficaç o eficient en contra d'una malaltia.

## INSTITUT DE BIOLOGIA MOLECULAR DE BARCELONA

L'objectiu principal del nostre institut és promoure una investigació excel·lent i contribuir als avenços científics fonamentals en un ampli espectre de les ciències de la vida.

Els grups associats al **Departament de Biologia Estructural i Molecular** tenen com a objectiu general el coneixement precís dels àcids nucleics i proteïnes, i la regulació dels complexos i supra-complexos corresponents, per tal d'extreure les regles generals sobre la base mecanicista de com funcionen i es regulen les macromolècules.

**ibmb**  
Institut de Biologia Molecular de Barcelona  
Molecular Biology Institute of Barcelona CSIC



19a FIRA

**RECERCA23**

**EN DIRECTE**  
PARC CIENTÍFIC DE BARCELONA