

El infrarrojo arroja luz sobre complejos de proteínas individuales

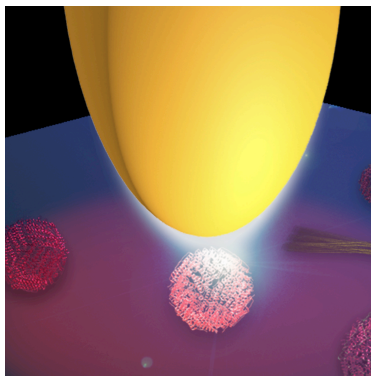
* **La técnica nano-FTIR supera el límite de difracción en la bioespectroscopia infrarroja**

* **La innovadora técnica analiza la estructura secundaria de los complejos de las proteínas individuales**

Investigadores del centro de investigación CIC nanoGUNE, la Universidad de Berlín y la compañía Neaspec emplean la espectroscopia nano-FTIR para la identificación química y estructural de las proteínas con una resolución espacial nanométrica y con sensibilidad a los complejos de proteínas individuales de menos de un attogrammo (10^{-18} gramos). El trabajo ha sido recientemente publicado en *Nature Communications*. (I. Amenabar et al., *Nature Communications*, 2013, DOI:10.1038/ncomms3890).

Donostia-San Sebastián, 16 de diciembre de 2013. Las proteínas son los ladrillos básicos de la vida. La química y la estructura de las proteínas son esenciales para su función biológica. De hecho, la estructura de las proteínas determina sus propiedades mecánicas y catalíticas, por ejemplo, en las enzimas. Tales funciones dan forma, literalmente, a todos los seres vivos. Además, la estructura de las proteínas también juega un papel importante en muchas enfermedades. Por ejemplo, la estructura secundaria de una proteína (si tiene una subestructura interna de hélice (alfa) o forma de hoja plegada (beta)) es de gran relevancia en el mecanismo patógeno que provoca el Alzheimer, Parkinson y otras enfermedades neurodegenerativas. Aunque se han desarrollado varios métodos para estudiar la química y la

estructura de las proteínas, el reconocimiento y el mapeado de la estructura secundaria a escala nanométrica, o incluso la sensibilidad de una única proteína sigue siendo un reto importante. Una nueva técnica de espectroscopia infrarroja, llamada nano-FTIR, permite obtener con una gran sensibilidad la identificación química de la estructura secundaria de las proteínas a escala nanométrica.



Fotografía: Ilustración de la nanoespectroscopia infrarroja de una proteína. Una punta de metal (amarillo) se ilumina con una luz infrarroja. Debido a la función de antena de la punta, la luz se concentra en el ápice de la punta y crea un nanofoco que ilumina las proteínas. Copyright: CIC nanoGUNE.

nano-FTIR es una técnica óptica que combina la microscopía óptica de barrido de campo cercano (s-SNOM) con la espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR). Se trata de una herramienta que se usa habitualmente para estudiar la estructura secundaria de las proteínas que, sin embargo, no permite, por sí misma, realizar el mapeado de las proteínas a escala nanométrica. En la espectroscopia nano-FTIR, iluminando la punta afilada metalizada con un láser infrarrojo de banda ancha, y analizando la luz de retorno diseminada con un espectrómetro de transformada de Fourier especialmente diseñado, los



investigadores han podido mostrar la espectroscopia local infrarroja de las proteínas con una resolución espacial inferior a 30 nm.

“La punta actúa como una antena para la luz infrarroja y la concentra en su vértice. El nanofoco en el vértice de la punta puede considerarse como una fuente de luz infrarroja ultrapequeña. Es tan pequeña que solamente ilumina una superficie de alrededor de 30x30 nm, que es la escala de los grandes complejos de proteínas”, dice el líder del proyecto Rainer Hillenbrand.

Con el fin de demostrar la versatilidad de la nano-FTIR en la espectroscopia de proteínas a escala nanométrica, los investigadores midieron los espectros infrarrojos de virus individuales, complejos de ferritina, membranas púrpuras y fibrillas de insulina. “Todos ellos presentan variaciones en la estructura secundaria —describe Iban Amenabar, quien realizó los experimentos de nanoespectroscopia—; los virus y la ferritina están hechos, principalmente, de estructura hélice-alfa, mientras que las fibrillas de insulina están hechas, principalmente, de estructuras de hoja-beta”. Simon Poly, el biólogo del equipo, explica que “en una mezcla de fibrillas de insulina y algunos virus la espectroscopia de FTIR estándar no reveló la presencia de los virus hélice-alfa. Al sondear las nanoestructuras de las proteínas una por una con la técnica de nano-FTIR pudimos identificar claramente el virus, es decir, las estructuras con forma alfa-helicoidal entre las de hojas-beta”.

Un aspecto relevante de gran importancia práctica es que el espectro del nano-FTIR es totalmente compatible con el espectro convencional del FTIR, mientras que la resolución espacial se ve incrementada por un factor de 100 comparada con la de la espectroscopia infrarroja convencional. “Podríamos medir los espectros infrarrojos de las partículas de ferritina individuales. Son complejos de proteínas de solo 24 proteínas. La masa de un complejo de ferritina es muy pequeña, solamente 1 attogramo, pero podríamos claramente reconocer su estructura hélice-alfa”, explica Amenabar.

Los investigadores estudiaron también las fibrillas de insulina individuales, que son un sistema de referencia para las enfermedades neurodegenerativas. Se conoce que las fibrillas de insulina tienen un núcleo de estructura de hoja-beta, pero su estructura completa todavía no está totalmente clara. “Gracias al espectro nano-FTIR de las fibrillas individuales reconocimos no solamente la estructura de hoja-beta, sino también estructuras de hélice-alfa que pueden resultar interesantes para la asociación de fibrillas” añade Alexander Bittner, líder del Grupo de Autoensamblaje de nanoGUNE.

“Estamos entusiasmados con las nuevas posibilidades que ofrece la nano-FTIR. Con puntas más afiladas y la función de antena mejorada, esperamos obtener espectros infrarrojos de proteínas individuales en el futuro. Vemos múltiples aplicaciones tales como el estudio de cambios conformacionales en las estructuras amiloides a nivel molecular, el mapeado de las modificaciones de las proteínas en nanoescala en tejido biomédico o el mapeado label-free de proteínas de membrana. Esto podría conducirnos a un nuevo campo de la nanobioespectroscopia infrarroja”, concluye Rainer Hillenbrand, líder del Grupo de Nanoóptica de nanoGUNE.



Publicación original

I. Amenabar, S. Poly, W. Nuansing, E. H. Hubrich, A. A. Govyadinov, F. Huth, R. Krutokhvostov, L. Zhang, M. Knez, J. Heberle, A.M. Bittner and R. Hillenbrand.
"Structural analysis and mapping of individual protein complexes by infrared nanospectroscopy"
Nature Communications, 2013, DOI: 10.1038/ncomms3890

CIC nanoGUNE

El Centro de Investigación Cooperativa CIC nanoGUNE, situado en Donostia-San Sebastián, es un centro de investigación creado con la misión de desarrollar investigación básica y aplicada en nanociencia y nanotecnología, impulsando la capacitación de alto nivel y la formación de investigadores en este campo, y promoviendo la cooperación entre los distintos agentes de la Red Vasca de Ciencia, Tecnología e Innovación (universidades y centros tecnológicos) y entre dichos agentes y la industria.

www.nanogune.eu

Freie Universität Berlin

La Universidad Libre de Berlin es una de las principales instituciones de investigación de Alemania. Es una de las universidades ganadoras en las tres líneas de inversión de la Iniciativa por la Excelencia federal y estatal. El objetivo de la Freie Universität es ofrecer a académicos, científicos y estudiantes las mejores condiciones de estudio e investigación.

www.fu-berlin.de/en/

Neaspec GmbH

Neaspec GmbH fue fundada en el año 2007 por expertos de la microscopía de campo cercano como un spin-off del Instituto Max-Planck de Bioquímica de Munich con la misión de ofrecer soluciones de vanguardia para la espectroscopia de imagen óptica en nanoescala para los laboratorios de investigación en la industria y las instituciones académicas.

www.neaspec.com

Para más información: com@nanogune.eu

Irati Kortabitarte (Gabinete de Prensa - Elhuyar): 688 860 706

Itziar Otegui (Responsable de Comunicación - CIC nanoGUNE): 943 574 000

Rainer Hillenbrand (Autor correspondiente - Grupo de Nanoóptica de CIC nanoGUNE):

r.hillenbrand@nanogune.eu

www.nanogune.eu

CIC nanoGUNE Consolider
Tolosa Hiribidea, 76
E-20018 Donostia – San Sebastian
+34 943 574 000 · nano@nanogune.eu