

PROYECTO N° 12

Glioxalasa I-Estudio del sitio activo de la enzima y la relación entre la naturaleza del ión metálico presente en el mismo y la actividad de la enzima.

El sistema enzimático de las glioxalosas cataliza la conversión de 2-oxoaldehídos (sustancias citostáticas a bajas concentraciones y citotóxicas a altas) en los correspondientes ácidos 2-hidroxicarboxílicos usando glutatión como coenzima. Este sistema está compuesto por dos enzimas, glioxalasa I y glioxalasa II, que están presentes en distintos tipos de organismos de la escala evolutiva, incluidos los seres humanos. Uno de los principales sustratos endógenos de este sistema es el metilglioxal, metabolito tóxico. Adicionalmente al rol de detoxificación anterior, se ha hipotetizado que este sistema enzimático podría tener un papel en la regulación del crecimiento celular y en el ensamblaje de microtúbulos, actividad que podría llegar a ser relevante en cáncer y diabetes. Se ha planteado que la inhibición de la enzima glioxalasa I (con la consiguiente acumulación del metilglioxal hasta niveles tóxicos) podría ser entonces empleada en el desarrollo de nuevos agentes antitumorales, antiprotosoos y antibacteriales. La estructura humana de estas dos enzimas ha sido determinada cristalográficamente hace unos años (1997 y 1999). La glioxalasa I humana es un dímero de 43 kDa que contiene 183 aminoácidos por monómero. Cada unidad contiene en su sitio activo un ión Zn^{2+} , determinándose que si bien la presencia de un ión metálico es esencial para mantener la actividad catalítica de la enzima, su sustitución por Mg^{2+} mantiene dicha actividad, pero usando Fe^{2+} la misma se pierde.

Objetivo: Suponga que desea identificar las razones por las que la actividad de la enzima se mantiene o se pierde al cambiar el metal presente en su sitio activo. Sabiendo que cuenta con la estructura cristalográfica de la enzima humana con Zn^{2+} , proponga una estrategia para estudiar los cambios estructurales globales y detallados a nivel electrónico del sitio activo y del complejo de unión con su sustrato tiohemiacetal si dicho ión se sustituye por Mg^{2+} en primer lugar y luego por Fe^{2+} .

Se proporciona a los estudiantes copia del siguiente artículo:

1. Cameron, A.D.; Olin, B.; Ridderström, M.; Mannervik, B.; Jones, T.A. Crystal Structure of Human Glyoxalase I-evidence for Gene Duplication and 3D domain swapping. *EMBO J.* **1997**, *16*, 3386-3395.

Instrucciones generales: Realice una búsqueda de información adicional sobre el tema que incluya la obtención de estructuras cristalográficas o cualquier otro tipo de dato estructural disponible. Seleccione uno o más de los métodos introducidos en el curso para realizar el estudio o solicitado, fundamentando en base a qué elementos realiza su elección. Elabore un protocolo detallado (en el que se indique si es necesario construir las estructuras a estudiar o si las mismas se obtienen de archivos, si es necesario realizar optimizaciones de geometría o cálculos *single-point*, etc.) y como procesaría la información a obtener. Recuerde incluir en el informe escrito las referencias bibliográficas consultadas.

La fecha límite para la entrega del informe grupal es en la semana del 8 al 14 de noviembre.

Tutor asignado para el desarrollo del trabajo: XX