

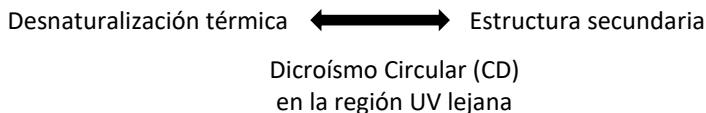
Ballatore, Martín¹; Carlucci, Adriana^{2,3,4}; Delfino, José María^{1,2}; Curto, Lucrecia^{1,2,3}

¹Instituto de Química y Físicoquímica Biológicas (UBA-CONICET); ²Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA; ³Carrera de Especialización en Biotecnología Bioquímica Farmacéutica, UBA; ⁴Instituto Universitario del Hospital Italiano de Buenos Aires.

Objetivo: Evaluar el riesgo de un análisis sobre-simplificado o incompleto de la estabilidad proteica

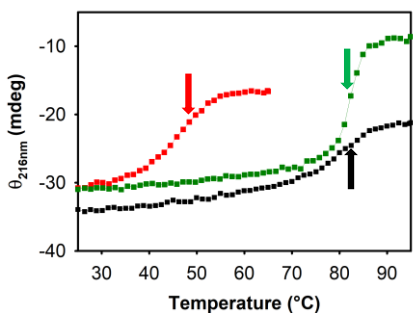
Conclusión:

Información valiosa =
Experimentos simples + Practicidad y estandarización + equipamiento de avanzada + apropiado análisis.



Basal
Desnaturalizante
Estabilizador

Buffer
1.25M **GdmCl** (Cloruro de guanidinio)
0.75 M **TMAO** (N-óxido de trimetilamina)

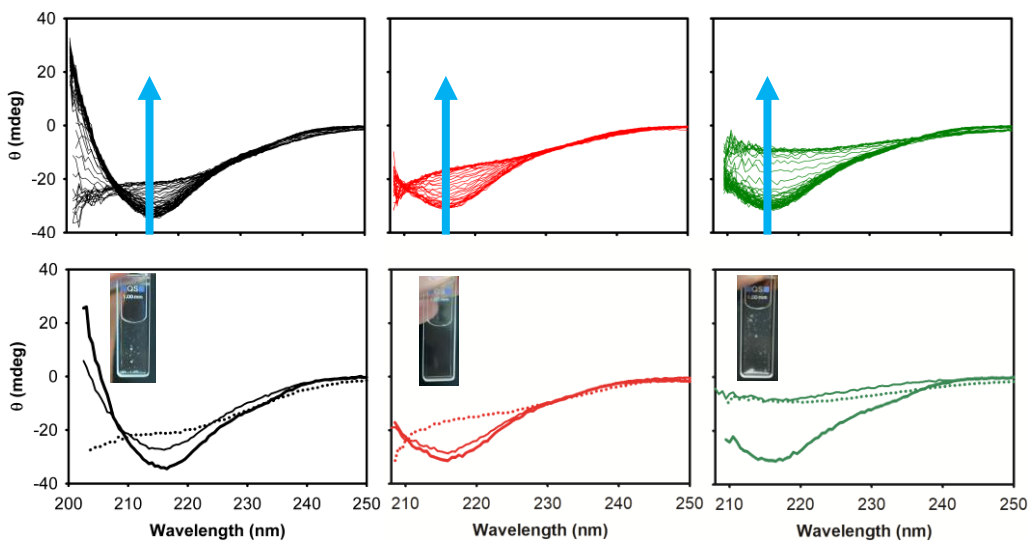


Comúnmente se evalúa el cambio en la señal dicroica a longitud de onda fija en función de la temperatura. La estabilidad estructural suele estimarse a través de **Tm** (temperatura media de la transición, indicado mediante flechas). Este parámetro se obtiene tras ajustar una ecuación a los datos.

	Tm (°C)
Basal	81.2
Desnaturalizante	47.2 ↓
Estabilizador	82.3 ↑

Los aditivos ejercerían el efecto predicho

Desconocer el mecanismo de plegado de la proteína o, simplemente ignorar si este proceso es o no reversible, puede llevar a errores en la estimación del valor de **Tm**.

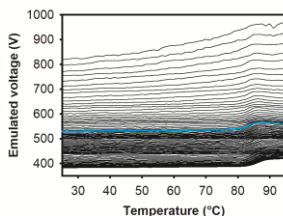


En cambio, si colectamos los espectros de CD, la absorción y/o el voltaje emulado a lo largo de la rampa de calentamiento se enriquece el análisis, pues se descubren nuevas dimensiones del fenómeno. Realizado en un **Chirscan - V100** (Applied Photophysics, UK).

Flecha: aumento de temperatura
Celeste: 216 nm

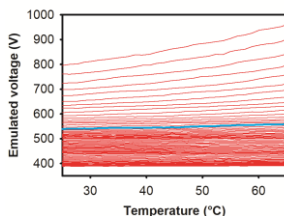
— 25 °C
- - - Máxima temperatura
— Enfriado a 25 °C

IRREVERSIBLE AGREGACIÓN



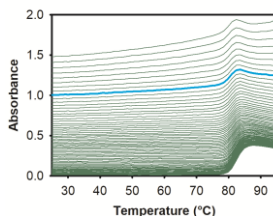
Ton = 78.1 °C

REVERSIBLE SIN AGREGACIÓN

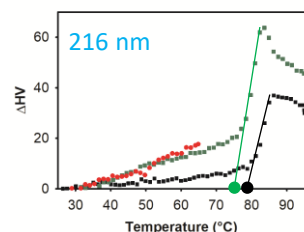


Tm = 47.2 °C

IRREVERSIBLE AGREGACIÓN



Ton = 74.5 °C



Los círculos representan el valor de **Ton** (temperatura a partir de la cual se evidencia el fenómeno de agregación).

En condición **basal** y en presencia de **TMAO**, los fenómenos de desnaturalización y agregación coexisten