



**Sociedad
Argentina de
Biofísica**

> novedades >

información general

programa científico

actividades relacionadas

inscripción

resúmenes

becas

premio Jorge Ponce Hornos

sede y alojamiento

transporte

conferencia Gregorio Weber

organizadores

English

contacto



XLIV Reunión Anual SAB 2015

La Sociedad Argentina de Biofísica tiene el agrado de invitar a usted a participar en la XLIV Reunión Anual SAB 2015 que tendrá lugar los días 4 al 6 de Noviembre del corriente año en Santiago del Estero, Argentina.

Programa Reunión SAB 2015

Resúmenes SAB 2015

Sponsors SAB 2015

Simposio de posters seleccionados

Como se realiza anualmente, una comisión designada para este fin, elegirá cinco presentaciones de posters para participar de un simposio. Las exposiciones serán de 15 minutos cada una, en idioma español o inglés. Los interesados en participar de esta selección deberán indicarlo por mail a reunionsab2015@gmail.com, poniendo en el asunto: Poster Seleccionado

Descargar Circulares Reunión 2015

2da Circular

1ra Circular



It was observed that SAXS pattern for myelin DIG's shows similar spacings to the non-native phase of whole myelin, this is a compacted phase in presence of divalent cations and an expanded phase in presence of monovalent cations. Moreover, the spacing pattern of DIG's is different from the pattern to the total lipid fraction, whose peaks always correspond to a compacted phase in presence of ionic strength. Although DIG's are lipid domains, their behavior is not equal to the total lipid extract.

References:

- 1) Worthington and McIntosh. *Biochimica et Biophysica Acta*. **1976**. 436(707-718).
- 2) Taylor et al. *Journal of Neurochemistry*. **2002**. 81(993-1004).

Afiliaciones

1 - Adherente

2 - Activo

Tipo de presentación: Póster

Tópico: Biomembranas

#47

Modulación de la actividad enzimática de la acetilcolinesterasa eritrocitaria bovina (AEB) en membranas naturales transferidas a filmes de Langmuir-Blodgett (LB)

1.- *Felsztyna, Iván*, 2.- *Perillo, María A.*, 3.- *Clop, Eduardo M.*

La AEB es una enzima de membrana plasmática con un anclaje hidrofóbico tipo GPI. Este contacto permitiría la transmisión de información proteína-interfase, afectando su actividad. En consecuencia, los filmes LB podrían ser utilizados para evaluar los efectos del empaquetamiento molecular de la membrana en la actividad de la AEB.

Se prepararon filmes de Langmuir (FL) a partir de suspensiones de vesícula de membranas eritrocitarias bovinas purificadas (MEB) y se estudiaron sus propiedades interfasiales.

Las isothermas π -área mostraron una transición bidimensional $\pi_t=15,5\pm 1,4$ mN/m correspondiente con módulo de compresibilidad $K_t=66,04\pm 2,52$ mN/m. La π de colapso fue $\pi_c=45,4\pm 1,2$ mN/m, con un $K_c=36,6\pm 0,7$ mN/m. K_t y K_c indican un comportamiento de tipo líquido expandido a lo largo de toda la isoterma.

Los FL se transfirieron a soportes hidrofóbicos planos a dos π , 10 y 35 mN/m (LB₁₀ y LB₃₅), que se utilizaron para estudiar la cinética de hidrólisis de acetiltiocolina obteniendo tiocolina más acetato. En todos los tratamientos obtuvimos una cinética de tipo michaeliana, a diferencia de lo observado para otras proteínas incorporadas a membranas, donde el aumento de π indujo un cambio de cinética. Con MEB en suspensión obtuvimos una $V_{max}=3,41\pm 0,15$ y $K_M=0,11\pm 0,02$. En LB₁₀, se obtuvo una $V_{max}=0,021\pm 0,002$ y una $K_M=0,037\pm 0,017$, mientras que en LB₃₅, $V_{max}=0,047\pm 0,003$ y $K_M=0,079\pm 0,023$ (V_{max} se expresa en nmoles P/min· μ g prot. y K_M en mM)

La exposición de AEB a la interfase aire-agua, modificaría su estructura 3D hacia una conformación de mayor afinidad para la formación del complejo E-S. La disminución de V_{max} en los filmes LB respecto a la observado en vesículas, podría deberse a una transferencia selectiva de proteínas desde el FL al soporte sólido. La recuperación de la AEB mejoraría con un mayor empaquetamiento molecular a mayor π de transferencia, reflejado por el aumento significativo en la V_{max} si se comparan los LB₁₀ con los LB₃₅.

Agradecimientos: Foncyt, Conicet, Secyt y CIN.

Afiliaciones

1,2,3 - IIByT (CONICET-UNC). Cát. de Q. Biológica, FCEfyN, UNC. Av. V. Sarsfield 1611, Cba. Argentina

Tipo de presentación: Póster

Tópico: Biomembranas

#48

Iván Felsztyna; María A. Perillo; Eduardo M. Clop

IIBYT (CONICET-UNC). Cát. de Q. Biológica, FCFyN, UNC. Av. V. Sársfield 1611, Cba. Argentina

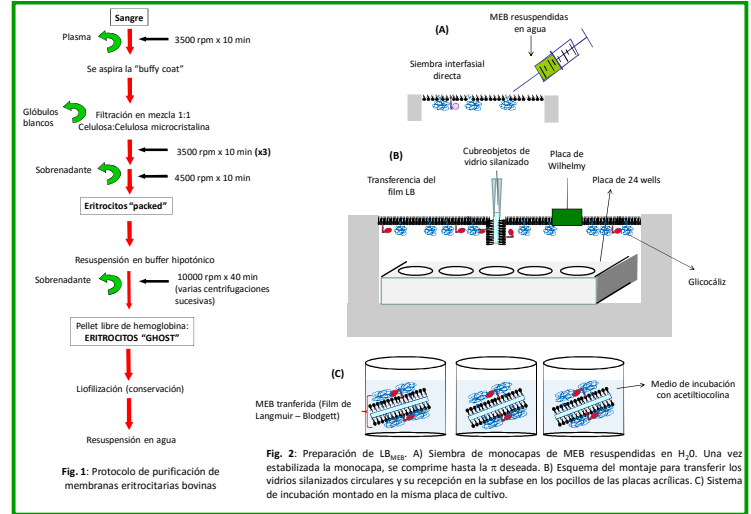
Introducción

La actividad de enzimas integrales de membranas puede ser modulada por cambios en el entorno molecular, como por ejemplo cambios en la microviscosidad, la curvatura y la organización dipolar. La AEB es una enzima anclada a la membrana plasmática que cataliza la hidrólisis del neurotransmisor acetilcolina, el cual se hidroliza rápidamente en colina y ácido acético. AEB es un dímero cuyas subunidades catalíticas son idénticas, con una masa molecular aparente de 77 kDa (cada monómero), unidas por puentes disulfuro. Ambas subunidades contienen un anclaje hidrofóbico de tipo glicofosfatidilinositol (GPI). En el presente trabajo, se prepararon capas monomoleculares en la interfase agua-aire a partir de membranas eritrocitarias bovinas purificadas (MEB). La suspensión acuosa de membrana fue dispersada en la interfase aire-agua y se estudiaron las propiedades reológicas de las monocapas obtenidas. Estas monocapas se transfirieron a soportes hidrofóbicos planos (LB_{MEB}) a dos presiones laterales (π), 10 mN/m ($LB_{MEB,10}$) y 35 mN/m ($LB_{MEB,35}$), y fueron utilizados como fuente de enzima para estudiar la cinética de hidrólisis del sustrato artificial acetilcolina a 37°C. El objetivo del proyecto es aplicar los filmes de LB_{MEB} como método de concentración del parásito *Anaplasma marginale*, y estudiar su efecto sobre la actividad catalítica de la AEB, como posible método de diagnóstico de la anaplasmosis en la etapa crónica de la enfermedad.

Referencias:

- Heider et al., (1991) Cellular and molecular neurobiology, 11, (1), 105-118.
 Sussman, J. L., et al., (1991) Science, 253, (5022), 872-879.
 Clop, E. M., & Perillo, M. A. (2010) Cell biochemistry and biophysics, 56 (2-3), 91-107.
 Ellman, G.L., et al., (1961) Biochemical pharmacology, 7 (2), 88-95

Materiales y Métodos



Resultados

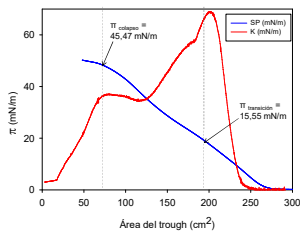


Tabla 1: Comportamiento interfasial de los filmes de Langmuir de MEB

Isotermia	$\pi_{colapso}$ (mN/m)	$\pi_{transición}$ (mN/m)	$\pi_{colapso}$ (mN/m)	$\pi_{transición}$ (mN/m)
Isot 1	47,63	13,33	35,3	63,62
Isot 2	45,49	14,37	37	68,56
Isot 3	43,3	13,9	34,88	64,3
MEDIA	45,47	13,55	36,6	65,46
DESVIÓ	1,25	1,42	0,7	1,57

Se muestran réplicas de los valores de las presiones laterales de colapso y de transición ($\pi_{colapso}$ y $\pi_{transición}$), con sus respectivos módulos de compresibilidad ($K_{colapso}$ y $K_{transición}$)

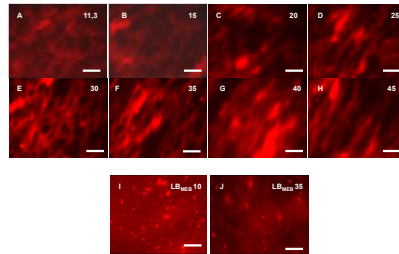
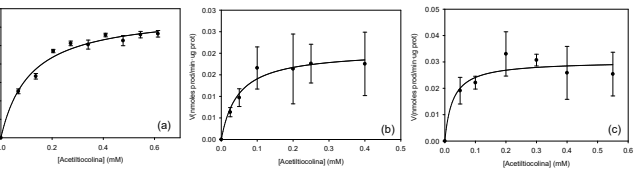
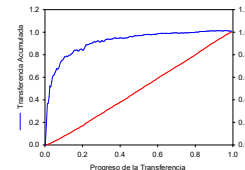
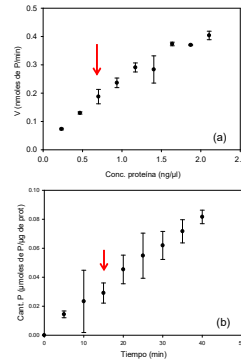
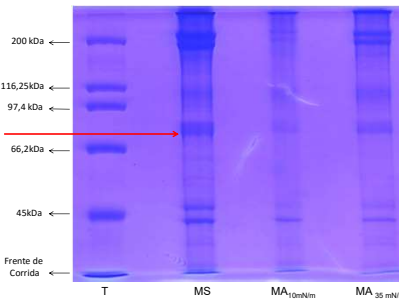
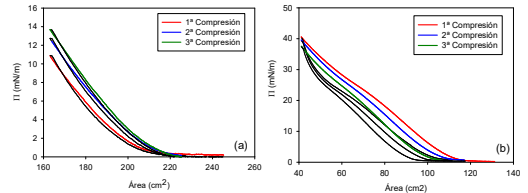


Fig. 5: Ciclos de compresión – descompresión de MEB dispersadas en la interfase agua-aire. En (a) se comprimió hasta 10 mN/m, en (b) se alcanzaron presiones cercanas a la $\pi_{colapso}$. En (a) se observa un aumento del área en los sucesivos ciclos de compresión, lo que sugiere que hay incorporación de material desde la subfase. En (b) se observa que la histéresis aumenta a mayores valores de π .



Conclusiones

- Los valores del módulo de compresibilidad a la $\pi_{colapso}$ y a la $\pi_{transición}$ indican que la MEB posee un comportamiento de tipo líquido expandido a lo largo de toda la isoterma.
- A diferencia de lo observado para otras proteínas incorporadas a membranas, donde el aumento en la π indujo un cambio hacia una cinética sigmoidea, en este caso se obtuvo una cinética de tipo michaeliana para todos los tratamientos.
- La disminución de K_m en los LB respecto a las MEB en suspensión sugiere que un posible desplegamiento de AEB, al exponerse a la interfase aire-agua, modificaría su estructura 3D hacia una conformación de mayor afinidad para la formación del complejo enzima-sustrato. Se observa una disminución de $V_{máx}$ en los filmes LB, lo que sugiere que ocurre una transferencia selectiva de proteínas desde el film de Langmuir hacia el soporte sólido, con pérdida de AEB en relación a otras proteínas. El aumento significativo en la $V_{máx}$ de los LB_{35} respecto a los LB_{10} indica que la recuperación de la AEB mejora con un mayor empaquetamiento molecular, reflejado en la mayor π de transferencia.