



## Entrevista a Antonio J. Díaz Quintana (Profesor Titular de la Universidad de Sevilla e Investigador del IBVF)

### “Nuestro trabajo marca nuevas estrategias a seguir en el tratamiento de las proteínas azules de cobre y amplía sus aplicaciones biotecnológicas”

**Sevilla, 21/3/2011.** Bioquímica, biología molecular y ciencia de materiales se han dado la mano en un artículo publicado recientemente por la revista *Chemistry & Biology*. Esta investigación, surgida en el seno del cicCartuja, ha contado con la participación de científicos del Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis (IBVF), del Instituto de Ciencia de Materiales de Aragón (ICMA) y de la Diamond Light Source, el sincrotrón inglés, que se ha encargado de analizar la estructura y las propiedades de las proteínas azules de cobre.

Este estudio, encabezado por el IBVF, gira en torno a la plastocianina, la más ubicua de estas proteínas, al ser esencial para la fotosíntesis. El trabajo marca nuevas estrategias a seguir en el diseño de nuevas proteínas azules de cobre y, por tanto, contribuye a ampliar las posibles aplicaciones biotecnológicas de estas moléculas. Sobre estos asuntos hablamos con Antonio J. Díaz Quintana, uno de los firmantes del artículo “How the Local Geometry of the Cu-Binding Site Determines the Thermal Stability of Blue Copper Proteins”.

#### ¿De qué hipótesis parciais en este estudio?

Se sabía que la estabilidad de las proteínas azules de cobre (BCPs), que tienen múltiples aplicaciones, dependía de la unión del átomo de cobre. Sin embargo, no se sabía cuál era el factor que la determinaba, y cómo éste se afectaba por alteraciones en lugares de la proteína alejados del cobre. Experimentos anteriores nos indicaban que la distribución de los electrones en el cobre y su entorno se correlacionaba con la estabilidad. Dado



Antonio J. Díaz Quintana se reincorporó al IBVF en 1997, después de realizar una estancia en el Centro de Estudios Nucleares de Saclay.

#### Perfil científico

Antonio J. Díaz Quintana es Doctor en Biología por la Universidad de Sevilla desde el año 1995. Durante su doctorado realiza dos estancias en el extranjero: una en la Universidad de Arizona y otra en la de Florencia, tras la cual se incorpora como investigador postdoctoral en el Centro de Estudios Nucleares de Saclay (Francia). En 1997 se reincorpora al Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis (IBVF), obteniendo una plaza de profesor asociado de la Universidad de Sevilla en el año 2000 y, luego, de Profesor Titular de Universidad desde 2002.

Desde su reincorporación en 1997 es miembro del equipo “Proteómica Estructural y Funcional”, liderado por el Dr. Miguel Ángel de la Rosa, habiendo participado en múltiples proyectos, entre ellos, “Determinantes de la Estabilidad de Proteínas de Interés Biotecnológico”, del que ha sido el investigador responsable y al que corresponde el artículo que aquí se reseña. Es autor de 41 publicaciones científicas internacionales.

que dicho entorno se altera durante la desnaturalización de la proteína, decidimos estudiar si algún enlace específico entre el cobre y la proteína podría ser crítico para la estabilidad de la proteína.

#### ¿Qué conclusiones aportáis?

Tal y como habíamos planteado, existe un enlace entre el cobre y la proteína que es particularmente crítico para la estabilidad de este tipo de proteínas.

#### ¿Cuáles son las novedades?

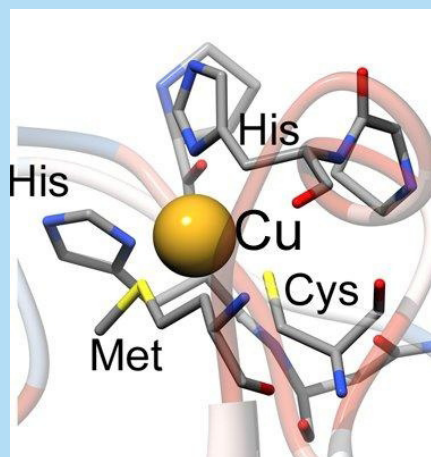
Existen muchísimos trabajos a nivel teórico sobre la geometría de la esfera de coordinación del cobre de las BCPs; es decir, sobre cómo el entorno proteico del cobre afecta a las propiedades de las proteínas. Muchas de dichas propiedades se asignan a la fuerza de uno de los cuatro enlaces –el más débil– de los que unen el metal a la proteína.

En nuestro trabajo, determinamos que es otro enlace, cuya fuerza está inversamente relacionada con el primero, el que determina la estabilidad de las proteínas. Además, mostramos que la fuerza de ese enlace puede modificarse por alteraciones remotas en sitios flexibles en la proteína.

Cabe destacar que el enlace que nosotros hemos descrito como crítico ha sido modificado recientemente para conseguir que la proteína transfiera electrones a dispositivos de forma muy rápida, pero no se había evaluado el efecto de la modificación sobre la estabilidad de la proteína. Nuestro trabajo marca nuevas estrategias a seguir para que las modificaciones en el entorno del cobre tengan una viabilidad biotecnológica.

#### ¿Qué métodos habéis empleado en la investigación?

## Proteómica Estructural y Funcional



La imagen muestra el entorno del átomo de cobre en las BCPs. Gran parte de los trabajos teóricos en la literatura apuntan a que el enlace entre el átomo de cobre (esfera amarilla) y el azufre (vértice amarillo) del aminoácido Met determina la estabilidad de la proteína.

Hemos combinado herramientas de bioquímica y biología molecular para modificar los genes que codifican estas proteínas y expresarlos en la bacteria *Escherichia coli* y luego purificarla. Las proteínas azules obtenidas de esta manera se han analizado mediante absorción de rayos X (XAS), fluorimetría y dicroísmo circular. El grueso del trabajo ha consistido en la simulación y análisis de los resultados, utilizando cálculos de alto nivel teórico para el análisis de la región XANES de los XAS. Esta parte la ha realizado el Dr. Jesús Chaboy, del ICMA de Zaragoza, utilizando las coordenadas atómicas de las distintas proteínas aportadas por nuestro equipo.

### ¿Cuáles podrían ser las aplicaciones de este estudio a nivel social? ¿Podría tener alguna utilidad en el ámbito empresarial o industrial?

Las proteínas azules de cobre están ya presentes en la sociedad. Por ejemplo, los medidores de niveles de glucosa que se utilizan en los análisis clínicos utilizan una enzima, la oxidasa de glucosa, que es una BCP. Sin embargo, muchas de las posibles aplicaciones requieren una mayor estabilidad de la enzima, y una mayor capacidad para conducir electricidad.

También se están utilizando BCPs para generar pilas de biofuel implantables, para hacer funcionar dispositivos tales como marcapasos. Recientemente, se ha publicado la implantación de una pila de este tipo en ratones. La pila se mantuvo estable en el ratón durante un mes, aproximadamente.

### ¿Cómo ves el panorama actual de los investigadores científicos en temas relacionados con la fuga de cerebros, la escasez de oferta laboral o la reducción de inversión en I+D+i?

Estamos en un momento realmente complicado. España no tiene suficiente tejido industrial que catalice la aplicación de los conocimientos al desarrollo tecnológico. Básicamente, somos un país de servicios; y la mayor parte de la investigación está financiada con fondos públicos.

Los recortes en el presupuesto de investigación están ya suponiendo un retroceso importante para la investigación de este país, y se notará en los años venideros. Como ocurrió en la crisis del 92, muchos de los doctores que se acaban de formar no podrán reincorporarse tras su post-doc. De hecho, existen ya excelentes investigadores que, tras haberse reincorporado y llevar años aquí, se han tenido que volver a ir.

### ¿Qué propondrías para mejorar esta situación?

Aunque me gustaría, no tengo la fórmula magistral. Claramente, necesitamos una mayor inversión pública en investigación y desarrollo. Además, hay que facilitar la transferencia de conocimiento y fomentar la inversión privada en I+D+i. Para ello hace falta favorecer la creación de empresas con una sustancial carga tecnológica. De todos modos, cualquier medida que se adopte tendrá efectos a largo plazo, lo que obliga a evitar las fluctuaciones en el apoyo a la investigación, que pueden hacer que éste sea inefectivo. También se puede mejorar la eficiencia en la gestión de los recursos.

En cuanto a la fuga de cerebros, el mercado de trabajo de los científicos también requiere una mayor flexibilidad, incluso en el sector público. Es lamentable ver cómo personas con alto prestigio internacional tienen que buscarse un hogar de nuevo en el extranjero, mientras otras llevan una carrera de estabilización protegida de la competencia incluso antes de llegar al funcionariado.

### ¿Qué destacarías del cicCartuja como centro de investigación? ¿Consideras útiles las sinergias con investigadores de otras ramas?

Creo que el trabajo que aparece en la sección 'En portada' es un buen ejemplo de las ventajas de estar en un Centro donde trabajan científicos de áreas diversas. Gran parte del trabajo que realizo en la actualidad se debe a la inestimable ayuda de personas que están o han estado en el Instituto de Investigaciones Químicas, como Pedro M. Nieto y Ezequiel Quintana, y en el Instituto de Ciencias de Materiales de Sevilla

Artículos como el que ha aparecido en la revista *Chemistry & Biology* parten del trabajo realizado de forma conjunta por el grupo de investigación "Proteómica Estructural y Funcional". Antonio J. Díaz Quintana forma parte de este equipo del IBVF que encabeza Miguel Ángel de la Rosa.

Entre los objetivos del grupo se encuentran la elaboración de estudios que tengan utilidad tanto a nivel básico como a nivel aplicado en el campo de la proteómica o, lo que es lo mismo, en el conocimiento de las estructuras y las funciones de las proteínas, organismos vivos esenciales en las rutas metabólicas de las células.

Las líneas de investigación principales de este grupo son:

- Relación estructura-función de metaloproteínas transportadoras de electrones.
- Papel del citocromo c respiratorio en apoptosis y muerte celular programada.
- Proteómica de organismos procariontes y eucariontes en respuesta a estreses bióticos y abióticos.
- Factores estructurales determinantes de la termoestabilidad de proteínas.
- Búsqueda y optimización de nuevas enzimas para la producción de bioetanol a partir de restos agroalimentarios.

Dichas investigaciones tienen, por lo general, un enfoque interdisciplinar y se sirven de metodologías diversas, como la espectrometría de RMN o la espectrofotometría cinética.

(ICMS), como Sofía Díaz Moreno, coautora del trabajo.

Nosotros también aportamos nuestra experiencia, como muestra nuestras colaboraciones en el proyecto de Arantxa Díaz (ICMS) sobre inclusión de proteínas en silicatos para uso terapéutico, y en el de José Manuel García (IIQ), en el análisis de la interacción entre la concanavalina A y diversos carbohidratos.

### ¿Qué balance harías de tu trayectoria en el cicCartuja?

La integración del Instituto de Bioquímica Vegetal (IBVF) con los otros dos centros mixtos CSIC-Universidad de Sevilla en

cicCartuja ha marcado profundamente mi trayectoria. No sabría decir si personalmente me habría ido mejor o peor si el IBVF no se hubiese integrado en el Centro, pero puedo decir que el ambiente multidisciplinar del Centro es para mí muy estimulante, como lo fue mi estancia postdoctoral en el CEN de Saclay. Tampoco habría sido igual sin el apoyo que he recibido por parte de los miembros del equipo al que pertenezco, particularmente del investigador principal, Miguel Ángel de la Rosa, y excelentes compañeros como José A. Navarro, Manuel Hervás e Irene Díaz Moreno. ●