

## Laboratorio de Proteínica Estructural, Instituto de Biomedicina de Valencia, C.S.I.C.

*Juanjo Calvete*

Instituto de Biomedicina de Valencia. CSIC

### Componentes del grupo

Juanjo Calvete, Profesor de Investigación CSIC; Libia Sanz, Investigadora contratada; Paula Juárez, Postdoctoral contratada; Pedro Cid, Becario FPII; Alicia Pérez, Ayudante de Investigación CSIC; José Escolano, Ayudante FPII contratado; Alejandro Botella, FPII en prácticas

### Historia del grupo

El laboratorio de Proteínica Estructural se estableció hace casi una década cuando el Instituto de Biomedicina de Valencia comenzó a funcionar en 1998. Con anterioridad, el Investigador Principal había desarrollado su carrera investigadora en el campo de la Química de Proteínas (caracterización de la integrina plaquetaria  $\alpha_{IIb}\beta_3$ ) en Madrid (Instituto de Química-Física "Rocasolano", CSIC, Tesis Doctoral, 1981-1985), Toronto (Banting Institute, 1987), Max-Planck de Bioquímica (Martinsried, 1988-1992), y Hanover (Facultad de Veterinaria, 1993-1998; proteínas del plasma seminal de mamíferos que participan en la fecundación). La trayectoria investigadora del Investigador Principal puede resumirse en la frase de Francis Crick "*If you want to study function, study structure*", filosofía que sigue siendo esencialmente válida en los proyectos que el laboratorio de Proteínica Estructural lleva a cabo en la actualidad. Entendemos que la Química es el lenguaje de la Biología y que para comprender su gramática es necesario un abordaje multidisciplinar. Así pues, estudiamos cuestiones relativas a los mecanismos de la diversificación estructural, funcional y evolutiva de proteínas mediante las técnicas clásicas (aislamiento de proteínas, secuenciación de Edman) y modernas (espectrometría de masas) de la Química de Proteínas, los métodos biofísicos de determinación de estructuras proteicas (difracción de rayos X y RMN), y -cada vez con más intensidad-

los protocolos de la Biología Molecular (clonaje y expresión de proteínas recombinantes; caracterización de la estructura génica). Para diferenciar nuestro interés en estudiar detalladamente correlaciones estructura-función de proteínas de la corriente que aplica técnicas proteómicas para estudiar a gran escala de los componentes de los sistemas biológicos, hemos acuñado el término "Proteinómica": el estudio detallado de proteínas utilizando técnicas proteómicas, moleculares y estructurales. Actualmente estamos aplicando la proteinómica en la determinación de enlaces disulfuro y su impacto estructural y funcional en diversas proteínas, así como para dilucidar la evolución de la estructura y la función de las disintegrinas, un grupo de proteínas presentes en venenos de víboras y serpientes de cascabel que antagonizan la función de receptores de la familia de las integrinas. Además, hemos desarrollado protocolos para investigar la composición proteica de venenos de serpientes. La estrategia, denominada "snake venomics" incluye la separación por HPLC de fase reversa de las toxinas, la determinación de la secuencia N-terminal, masa y número de cisteínas (SH y SS) de fracciones proteicas puras y, para aquellas fracciones que contienen mezclas de proteínas, la caracterización mediante SDS-PAGE seguido de digestión triptica de las bandas proteicas y secuenciación *de novo* de los iones peptídicos (MS/MS). Para ello contamos con una unidad de proteómica compuesta por un sistema de cromatografía HPLC ETTAN (Amersham Biosciences), un secuenciador automático N-terminal Procise 492 (Applied Biosystems), un digestor automático de proteínas ProGest (Genomic Solutions), y espectrómetros de masas MALDI-TOF Voyager DE-Pro y ESI-MS/MS QTrap 2000 (ambos de Applied Biosystems). La venómica es un campo de investigación reciente, en parte debido a que el hecho de no disponer de ninguna base genómica de ningún reptil hace inviable la automatización de las identificaciones de proteínas. Quizás por ello, una búsqueda en PubMed utilizando "snake venomics" muestre sólo 3 trabajos,

todos ellos de nuestro laboratorio. No obstante, los estudios venómicos son relevantes para investigar la evolución de los venenos, descubrir nuevas toxinas de potencial interés biomédico, o para definir el conjunto mínimo de epítomos que un ideal suero anti-ofídico debiera bloquear para neutralizar la acción del veneno. A este respecto, el Laboratorio de Proteínica Estructural forma parte de una red temática CYTED, cuyo objetivo es el desarrollo de antivenenos más potentes y específicos frente a serpientes de Iberoamérica. A este respecto, el Laboratorio de Proteínica Estructural forma parte de una red temática CYTED (206PI0281, 2007-2010), cuyo objetivo es el desarrollo de antivenenos más potentes y específicos frente a serpientes de Iberoamérica, y tiene vínculos con el Instituto Clodomiro Picado, San José (CR) (Acciones Integradas CSIC-Universidad de Costa Rica: 2006CR0010 Caracterización proteómica de venenos de serpientes de relevancia médica en Centroamérica). Mantenemos también colaboraciones en el ámbito de la venómica con los investigadores estadounidenses Czarek Marcinkiewicz (Temple University, Philadelphia), H. Lisle Gibbs (Department of Evolution, Ecology and Organismal Biology, Ohio State University) y Steve P. Mackessy (School of Biological Sciences, University of Northern Colorado).

El laboratorio de Proteínica Estructural no participa en la red de servicios ProteoRed ni ofrece otro tipo de servicio, ni interno ni externo. Sin embargo, y aunque con nuestros propios proyectos estamos como la humedad de Valencia en un día de poniente, ¡saturados!, siempre hemos hecho un hueco a colaboraciones que nos reporten diversión en la ejecución y el rédito científico que representa llevar a cabo proyectos que requieren de un abordaje proteínico no convencional ni automatizado.

### Proyectos financiados en convocatorias públicas

- Venómica: Proteínica Estructural y Funcional de Disintegrinas y de otras Proteínas de Interés Biomédico.
- Enfoque “top-down” aplicado a la venómica.
- Evolución de la familia de las disintegrinas y evaluación del uso de la disintegrina jerdostatina para la visualización *in vivo* de angiogénesis dependiente de la integrina  $\alpha_1\beta_1$ .

### Publicaciones

- Pérez-Sánchez G, Gasset M, Calvete JJ, Pajares MA (2003) Role of an intrasubunit disulfide in the association state of the cytosolic homo-oligomer methionine adenosyltransferase. *J Biol Chem* 278: 7285-7293.
- Calvete JJ, Revert F, Blanco M, Cervera J, Tárrega C, Sanz L, Revert-Ros F, Granero F, Pérez-Payá E, Hudson BG, Saus J. (2006) Conformational diversity of the Goodpasture antigen, the noncollagenous-1 domain of the  $\alpha_3$  chain of collagen IV. *Proteomics* 6: S237-S244.
- Arolas JL, Bronsoms S, Ventura S, Avilés FX, Calvete JJ (2006) Characterizing the tick carboxypeptidase inhibitor: Molecular basis for its two-domain nature. *J Biol Chem* 281: 22906-22916.
- Calvete JJ, Marcinkiewicz C, Monleón D, Esteve V, Celda B, Juárez P, Sanz L (2005). Snake venom disintegrins: evolution of structure and function. *Toxicon* 45: 1063-1074.
- Calvete JJ (2005) Structure-function correlations of snake venom disintegrins. *Curr Pharm Des* 11: 829-835.
- Calvete JJ, Juárez P, Sanz L (2007) Snake venomomics. Strategy and applications. *J Mass Spectrom* (en prensa).

### Tesis Doctorales defendidas

- 2003: M<sup>a</sup> Paz Moreno Murciano, *Estudios estructurales de disintegrinas de venenos de serpientes*.
- 2006: Francisca Gallego del Sol, *Estudios estructurales de lectinas vegetales*.
- 2007: Paula Juárez Gómez, *Venómica. Mecanismos moleculares y evolutivos de la diversificación estructural de la familia de las disintegrinas*.
- 2007: Celso Shiniti Nagano, *Estudios estructurales de lectinas de algas marinas y vegetales superiores*.