

# ESTUDI DE L'ESTRUCTURA I FUNCIÓ DE LA PROTEÍNA CEL·LULAR QUE UNEIX ÀCID RETINOIC (CRABP)

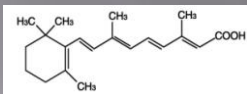
Gerard Aubanell Matamala

Tutor: Xavier Parés

Grau de Bioquímica

## CRABP

CRABP és una proteïna intracel·lular que uneix lípids, que s'associa a tot-trans àcid retinoic (RA) amb alta afinitat (de l'ordre de nanomolar) i 9-cis RA amb menor afinitat, que es va descobrir l'any 1974.



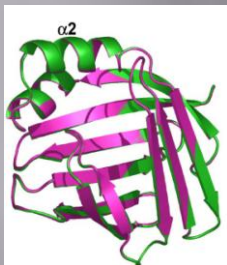
Existeixen dues isoformes que presenten un 75% d'homologia entre elles. CRABP-I s'expressa de forma ubíqua i se li ha atribuït un rol de modulador dels nivells de RA intracel·lulars retenint RA en el seu interior o portant-lo a endosomes on es pot degradar per citocroms p450 del gen CYP26. En canvi, CRABP-II s'expressa majoritàriament a pell, úter, ovari i plexe coroideu i se li atribueix una funció de potenciació de l'efecte de RA i de facilitador del transport de RA cap al nucli.

Aquest fet permet que RA s'uneixi als seus receptors nuclears (RAR i RXR) provocant una transcripció de gens prodiferenciatius i antiproliferants.

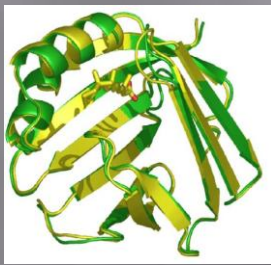
És per aquests efectes, que s'ha cregut que es podrien donar tractaments amb RA per lluitar contra càncers.

Cal remarcar que s'han produït ratolins transgènics per aquestes proteïnes i no presenten alteracions significatives.

## Estructura de CRABP-II



Estructura cristal·lina de apo-CRABP-II

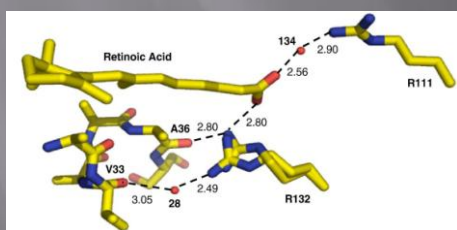


Estructura cristal·lina de CRABP-II amb RA

Actualment només es troba estudiada l'estructura de la isoforma II ja que a la I no se li atribueixen efectes rellevants.

CRABP-II està formada per 137 aminoàcids formant dues hèlix  $\alpha$  i deu fulles  $\beta$ . S'ha trobat que l'hèlix 2 és on es troben els aminoàcids que uneixen RA i que hi ha un loop que, en entrar RA, fa un canvi conformacional tancant l'RA dins la proteïna. Aquest canvi es dona degut a que els aminoàcids del centre de unió i d'aquest loop, en absència de RA, es troben interaccionant amb molècules d'aigua que, en entrar RA, són desplaçades.

També s'ha vist que la unió de RA provoca un canvi a l'hèlix 2 que exposa residus positius que es creu que podrien marcar la localització nuclear de la proteïna quan es troba unida a RA i no quan no en té.



Interacció entre els aminoàcids de la proteïna, l'aigua (boletes vermelles) i RA

A més, en aquests estudis, es va trobar que es donava la interacció proteïna-ligand mitjançant varis mutants. Així, van trobar que es dona una interacció mediada per poques molècules d'aigua establint un pont entre arginines de la proteïna i el grup carboxílic del RA donant, com a més important l'arg111 ja que es perdia la unió de RA amb la seva absència.

## Receptors RAR/RXR

Existeixen 2 tipus de receptors d'àcid retinoic, els RAR i els RXR. De cada tipus n'existeixen 3 subtipus ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ), presentant redundància funcional, i la seva expressió varia molt entre cèl·lules. Actuen en forma d'heterodimers (RAR/RXR) o homodimers (RXR/RXR) unint-se a seqüències de DNA, conegudes com a elements de resposta a àcid retinoic (RARE) que es solen trobar en regions de promotors de gens, mitjançant 2 dits de zinc.

S'ha vist que el tot-trans RA s'uneix amb alta afinitat a ambdós tipus de receptors mentre que el 9-cis RA només s'uneix amb alta afinitat als RXR. Tot i això es creu que el lligand normal és el tot-trans RA i s'associa el 9-cis RA amb els efectes teratogènics.

S'associen uns 500 gens a la regulació per aquests receptors tot i que només n'hi ha 27 de demostrats.

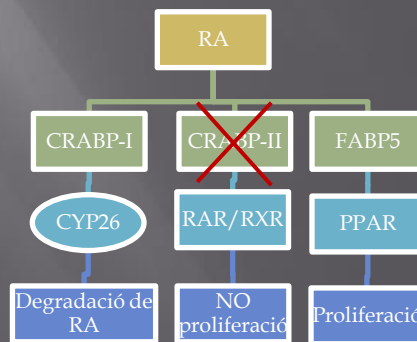
## Interacció CRABP-RAR

S'ha trobat que el fet que hi hagi CRABP-II permet una major resposta via RAR en presència de concentracions baixes de RA mentre que a concentracions altes no es troben diferències suggerint que CRABP-II facilita que es troben lligand i receptor. També s'ha vist que quan CRABP perd RA retorna immediatament a citosol.

Finalment, es va aconseguir coimmunoprecipitar el complex CRABP-II amb RA i RAR mitjançant un compost (CD270) que s'assembla a RA però li costa molt dissociar-se de CRABP-II.

## CRABP i càncer

Donats els efectes que té RA, aquesta molècula podria servir com a tractament del càncer. Tot i això, quan es va provar en pacients, es va veure que no feia cap efecte i, fins i tot produïa l'efecte invers.



Mecanismes de resistència a RA per part de les cèl·lules cancerígenes

Més tard, es va descobrir que molts càncers que no responen al tractament amb RA, no presentaven CRABP-II funcional mentre que altres línies cancerígenes que responien a RA, presentaven CRABP-II funcional.

També es va associar la resistència al tractament a RA amb un augment d'expressió del gen CYP26 i de CRABP-I que augmenta la degradació de RA.

Finalment, es va trobar que RA també s'unia a la proteïna que uneix àcids grassos 5 (FABP5) que té una funció semblant a CRABP-II però que senyalitza pels receptors de proliferació de peroxisomes i, per tant, provoca la proliferació i supervivència cel·lular.

## Bibliografia

- Blomhoff R., Blomhoff H. K., Journal of Neurobiology (2006) vol. 66 issue 7
- Budhu As, Noy N, Mol Cell Biol (2002) 22:2632-2641
- Vaezeslami S. et al., Mol. Biol. (2006) 363, 687-701