Divulga UAB

Revista de difusió de la recerca de la Universitat Autònoma de Barcelona

03/11/2026

La llum emesa per compostos fluorescents ens ajuda a estudiar una família clau de marcadors tumorals



Una recerca del Departament de Bioquímica i de Biologia Molecular ha estudiat la caracterització enzimàtica de diferents substrats fluorescents que permeten detectar activitat a uns enzims, algunes variants dels quals estan implicades en diversos tipus de càncer. Aquesta recerca és clau perquè ofereix més fiabilitat i precisió en aquest tipus d'estudis.

iStock / Maksim Tkachenko

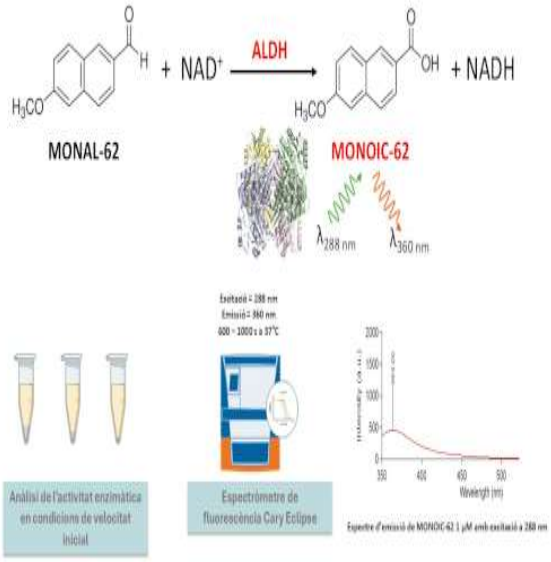
Les aldehid deshidrogenases (ALDH) són enzims especialitzats a oxidar aldehids als seus àcids carboxílics. Estan implicats en mecanismes de defensa cel·lular enfront de l'estrès oxidatiu i en el metabolisme de derivats de la vitamina A. Algunes variants d'aquests enzims, anomenades isoformes, estan molt augmentades en diversos tipus de càncer, especialment en subpoblacions de cèl·lules mare tumorals. Per aquest motiu s'utilitzen com a marcadors tumorals i són bons candidats a dianes terapèutiques.

El nostre grup de recerca disposa de la metodologia per obtenir ALDH humanes recombinants amb una elevada puresa, cosa que ens permet analitzar amb detall com responen a diferents substrats i inhibidors enzimàtics. En aquest treball ens hem centrat en la caracterització enzimàtica de diferents substrats fluorescents que, en emetre llum i

mitjançant la utilització d'un espectròmetre de fluorescència, ens permeten detectar activitat ALDH amb una elevada sensibilitat. El primer compost que vam estudiar, BODIPY-aminoacetaldehid, ja s'utilitza àmpliament en el diagnòstic del càncer, especialment per detectar cèl·lules resistents a la quimioteràpia, mitjançant citometria de flux. Fins ara, però, no es coneixia quin era el comportament d'aquest compost amb cadascuna de les variants d'ALDH. Hem demostrat que moltes de les isoformes d'ALDH oxiden BODIPY-aminoacetaldehid, mentre que altres pràcticament no hi reaccionen, posant en relleu les limitacions de l'assaig pel que fa a identificar les isoformes d'ALDH responsables de l'activitat.

En el mateix estudi, hem caracteritzat en profunditat dos isòmers del naftaldehid, anomenats 6-metoxi-2-naftaldehid (MONAL 62) i 7-metoxi-1-naftaldehid (MONAL 71). Amb aquests compostos, observem diferències de comportament molt marcades entre les diferents isoformes d'ALDH, que permeten identificar l'origen de l'activitat detectada. El MONAL 62 destaca per una sensibilitat extraordinària: podem arribar a detectar quantitats ínfimes d'activitat ALDH, de l'ordre de 2 attomol (10^{-18} mol) d'enzim per microlitre, molt inferior al que permetia fins ara l'assaig més habitual. El MONAL 71 és encara un substrat més específic, cosa que el converteix en una eina útil per identificar determinades isoformes d'ALDH de manera inequívoca. En paral·lel, hem efectuat simulacions computacionals d'interacció molecular, que ens han ajudat a comprendre aquestes diferències a escala estructural, mostrant com la topologia del compost i del centre actiu de l'enzim condicionen l'orientació adequada del substrat i, per tant, l'activitat enzimàtica.

En col·laboració amb l'empresa farmacèutica Advanced BioDesign, i com a part d'una altra investigació, hem caracteritzat els inhibidors d'ALDH DIMATE (S-metil 4-(dimetilamino)-4-metilpent-2-inetioat), que actualment es troba en assajos clínics, i el seu anàleg ABD0171. Per tal d'analitzar l'activitat ALDH en cèl·lules de càncer de mama triple negatiu, vam combinar els substrats fluorescents d'aquest estudi amb els inhibidors DIMATE i ABD0171, per desxifrar quines isoformes d'ALDH contribueixen més a l'activitat en extractes cel·lulars. Amb MONAL 62, aquests inhibidors van aconseguir bloquejar completament l'activitat ALDH en extractes cel·lulars, cosa que no havia estat possible amb l'assaig clàssic. En conjunt, la nostra metodologia basada en la utilització d'inhibidors sensibles i específics, ofereix una eina més fiable per mesurar i distingir isoformes d'ALDH, amb aplicacions directes en recerca bàsica i translacional en càncer.



Reacció enzimàtica del 6-metoxi-2-naftaldehid (MONAL-62) mediada per ALDH. *Els grups metoxi (−OCH_3) i aldehid (−CHO) es troben tots dos en posicions β del sistema aromàtic naftalènic. Els assajos enzimàtics es van dur a terme en 50 mM pirofosfat sòdic/NaOH, 0,5 mM EDTA, pH 8,1, en una cubeta de quars d'1 mL a 37°C, afegint 150 μM de NAD^+ com a cofactor. La reacció es va iniciar amb l'addició del substrat aldehid i la fluorescència del producte MONOIC-62 es va monitorar a 360 nm amb excitació a 288 nm. A més, es va afegir 1 μM de MONOIC-62 com a estàndard intern per obtenir la velocitat absoluta de reacció.*

Raquel Pequerul i Jaume Farrés
Departament de Bioquímica i de Biologia Molecular
Facultat de Biocències
Universitat Autònoma de Barcelona
raquel.pequerul@uab.cat; jaume.farres@uab.cat

Referències

Pequerul R, Covaleda D, Sánchez-Vaca AS, Torres L, Constantinescu A, Perez-Alea M, Parés X, Farrés J. (2025) **Fluorescent substrates enable specific detection and structure-function insights into human aldehyde dehydrogenase isoforms.** *Chemico-Biological Interactions.* https://doi.org/10.1016/j.cbi.2025.111609.

Aquest treball ha sigut realitzat per la Dra. Raquel Pequerul, conjuntament amb els estudiants Daniela Covaleda, Andrés Sánchez-Vaca i Laura Torres, del grup de recerca del Departament de Bioquímica i Biologia Molecular de la UAB, liderat pels Drs. Jaume Farrés i Xavier Parés, en col·laboració amb les Dres. Andrada Constantinescu i Mileidys Pérez-Alea, de l'empresa farmacèutica Advanced BioDesign. Agraïm al Dr. Salvador Bartolomé, del Servei de Genòmica i Espectroscòpia de Biomolècules (SGiEB), per proporcionar-nos accés a les instal·lacions del servei i suport en l'ús dels espectròmetres de fluorescència.

View low-bandwidth version