



# “La cristalografía en Biología”

**M.C. Noe Baruch Torres**

Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad  
Guanajuato, México.



**Dr. Francisco (Paco)  
Barona Gómez**  
Evolución de la diversidad  
metabólica

+ INFO



**Dr. Luis Gabriel  
Brieba de Castro**  
Bloquímica estructural

+ INFO



**Dr. Alexander de  
Luna Fors**  
Sistemas genéticos

+ INFO



**Dr. Fabien Plisson**  
Péptidos terapéuticos

+ INFO





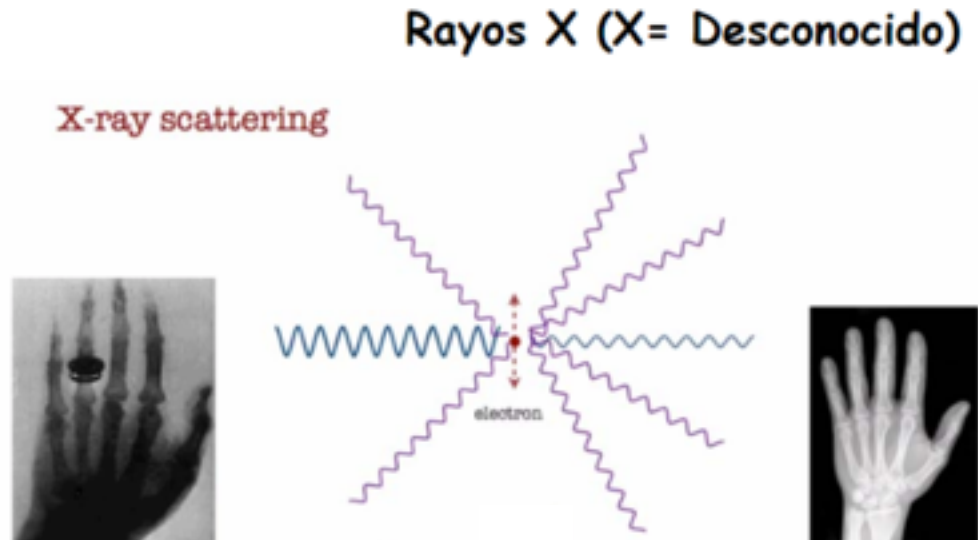
**Cristal:** es un sólido que presenta un patrón de difracción bien definido

La **Difracción** un fenómeno característico de las ondas que se basa en la desviación de estas al encontrar un obstáculo o al atravesar una rendija

# Los rayos X y la cristalografía



Bertha Roentgen, 1895



Max Von Laue, 1912

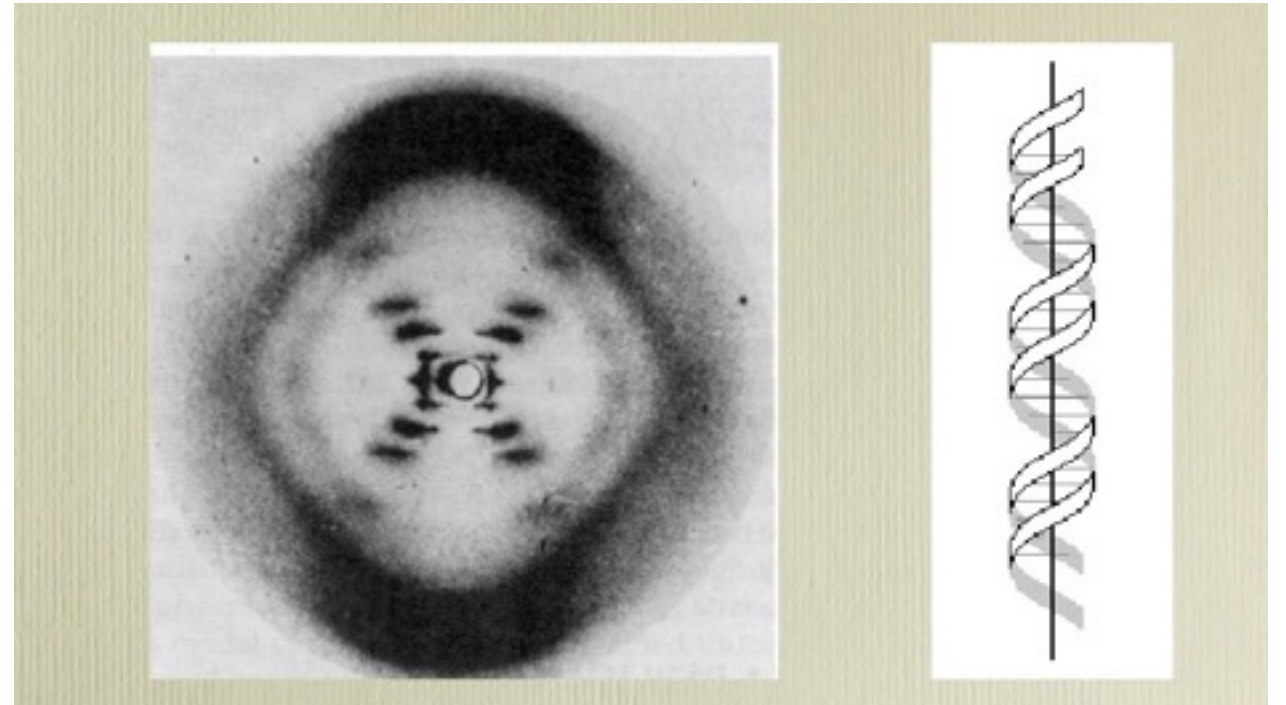
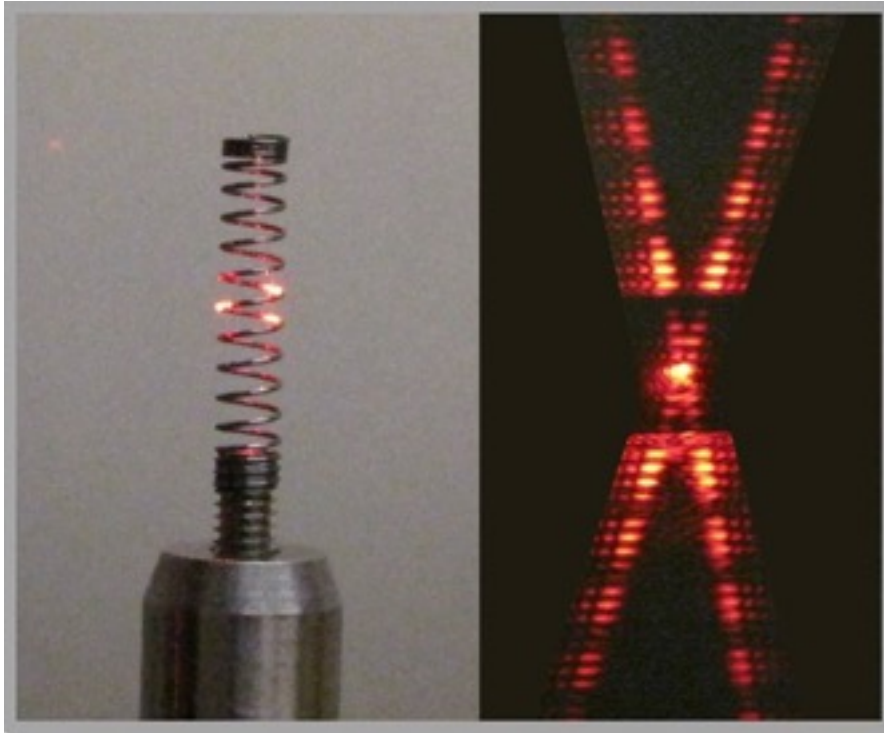


Los cristales son propuestos como redes de difracción, para entender la estructura atómica de las moléculas.

# La imagen 51... Eureka!!!



R. Franklin, 1953

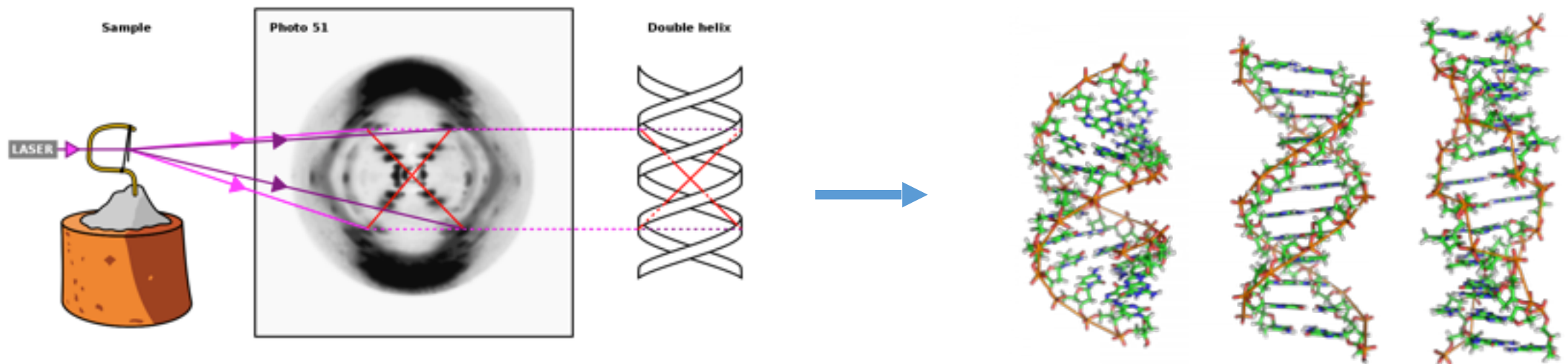
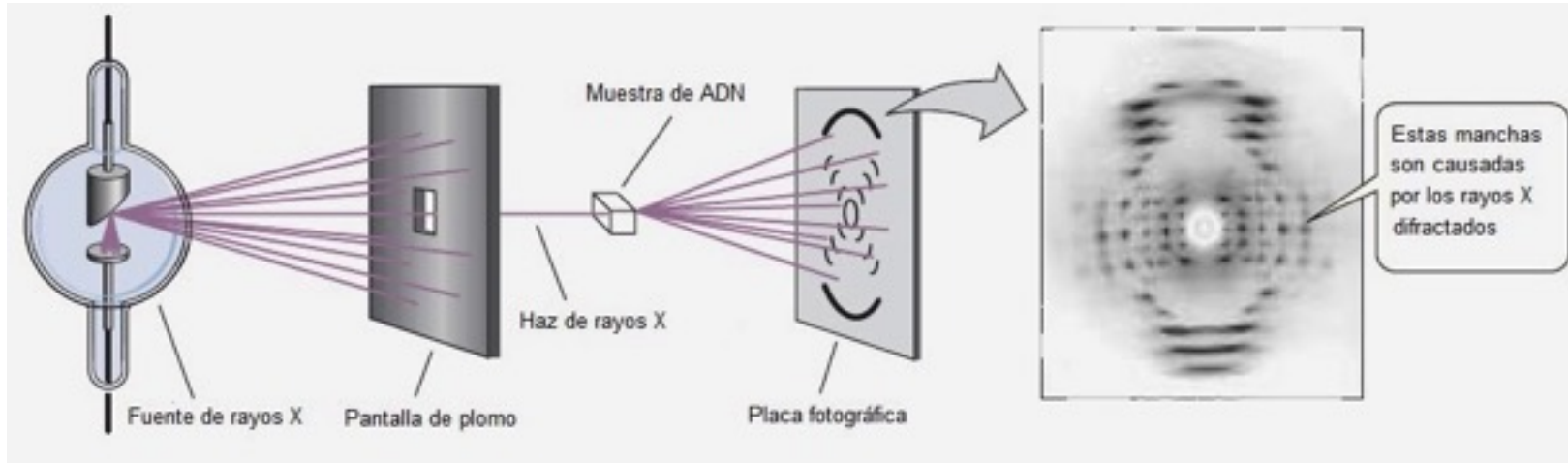


Difracción de un resorte helicoidal Primer patrón de difracción de ADN

# ¿Cuál fue el principio para resolver la estructura del ADN?

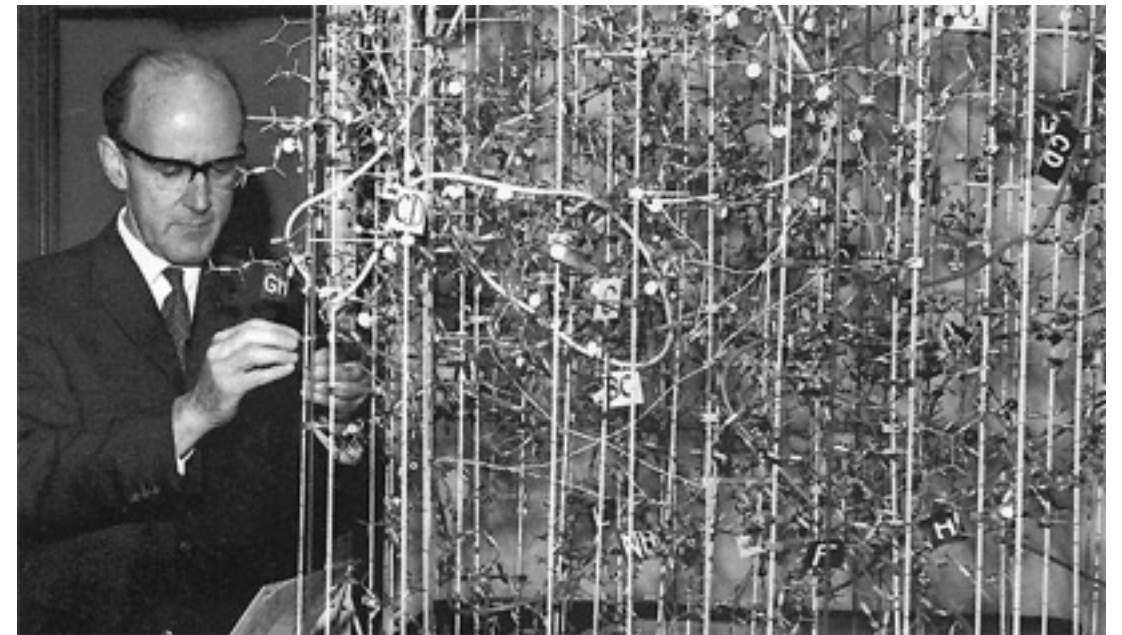
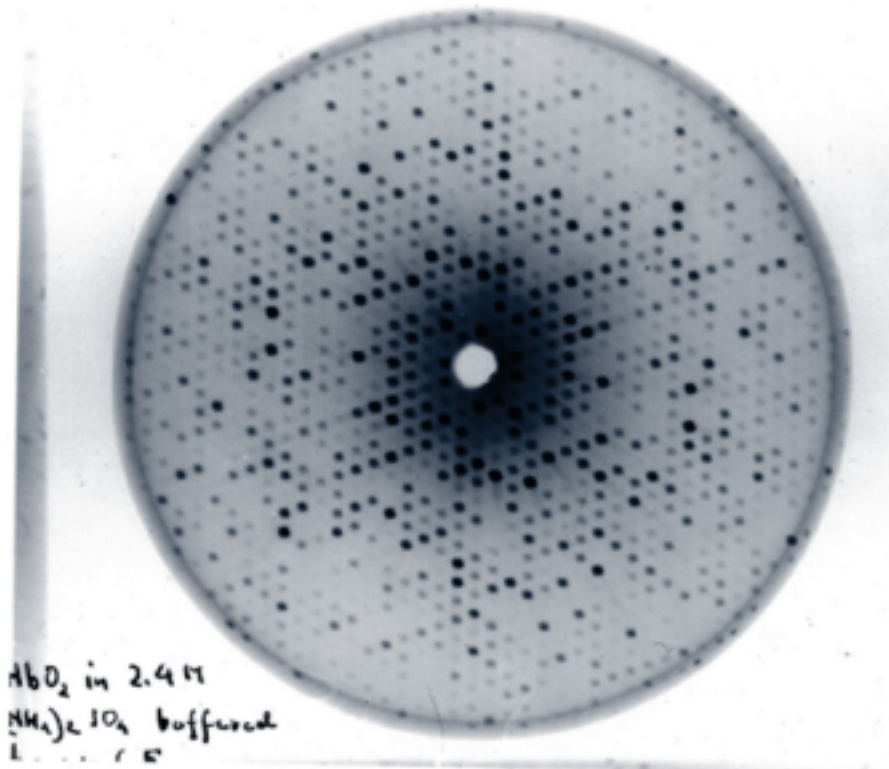


Premio Nobel 1962



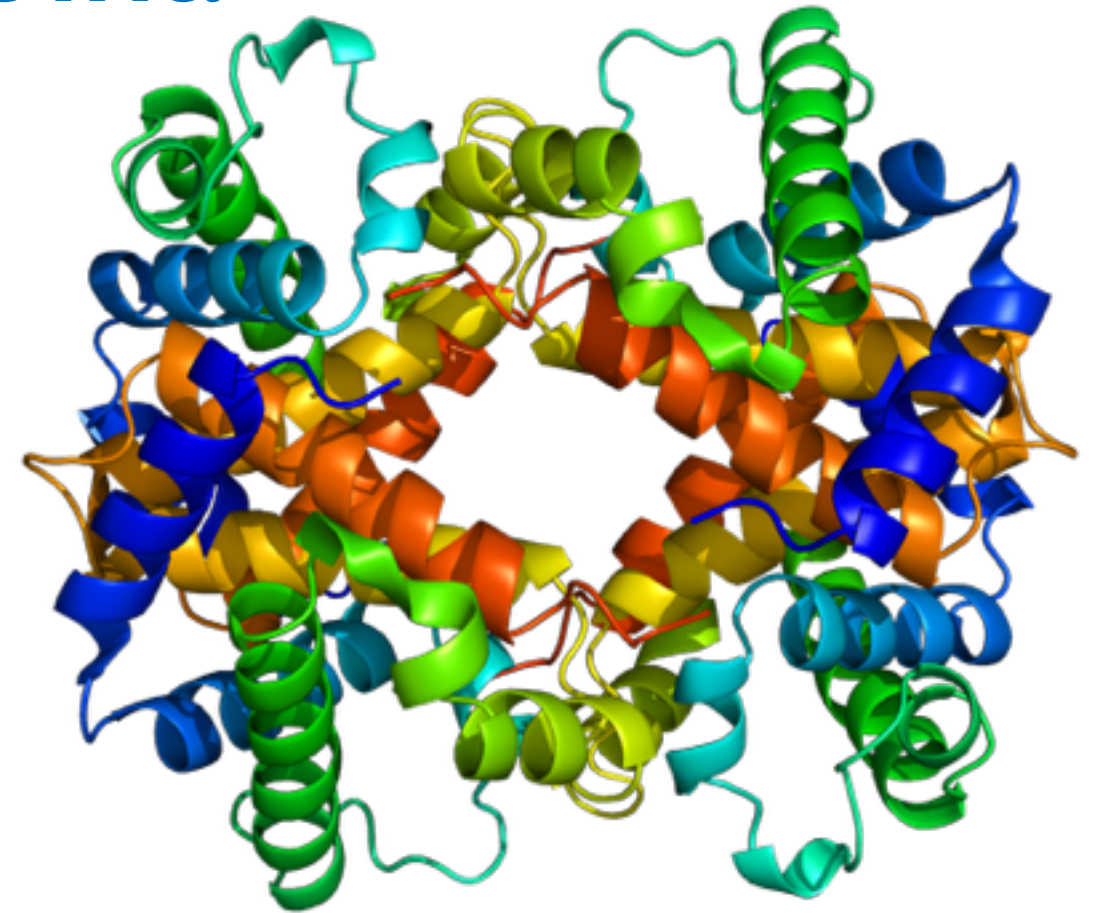
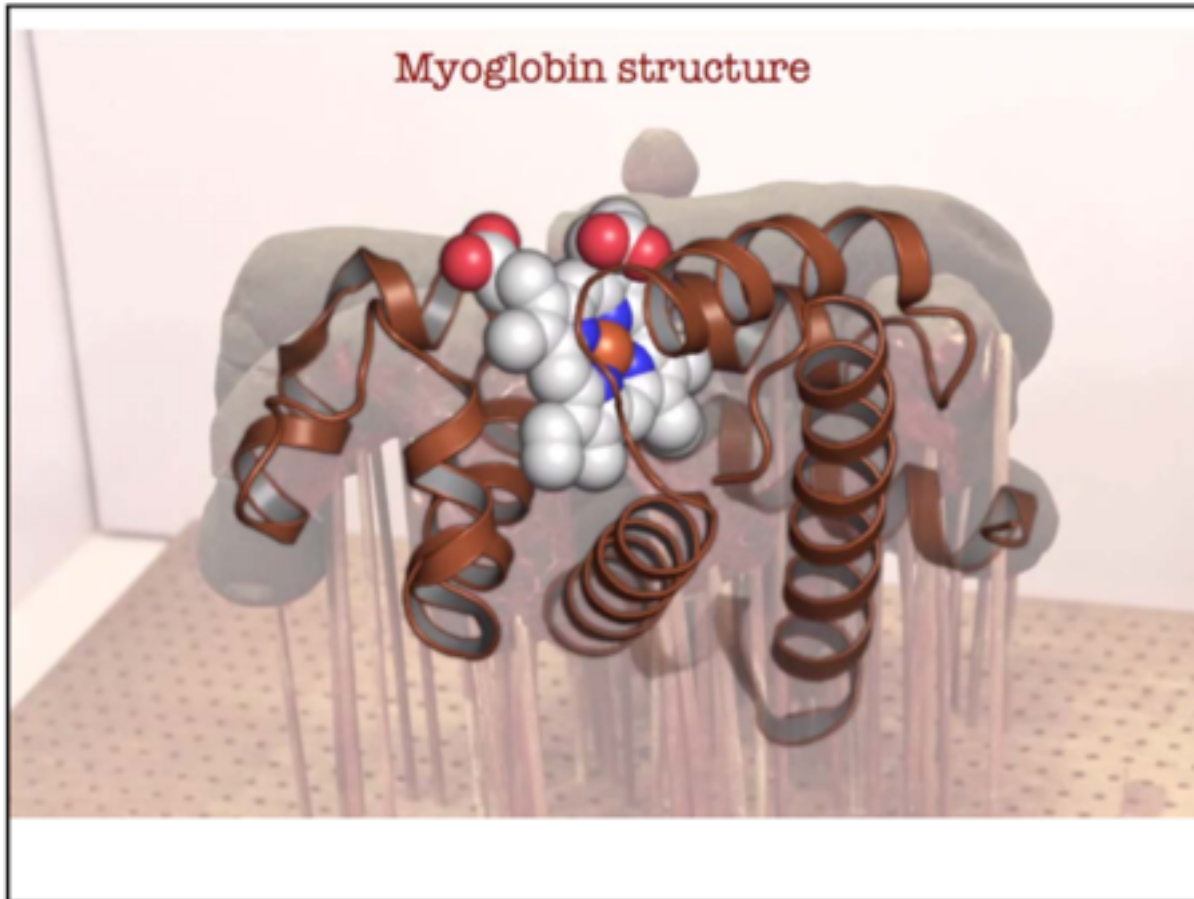
# ¿Cristales de proteínas? El legado de Max Perutz

Premio Nobel 1962



Patrón de difracción de la mioglobina boceto de la hemoglobina

# Estructura tridimensional de la mioglobina



**HBA1**



# El año de la cristalografía de macromoléculas



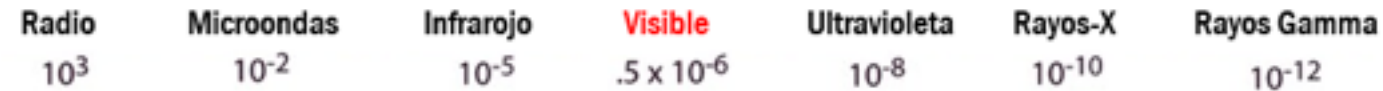
Ceremonia de entrega del Premio Nobel de 1962

# ¿Pero cómo ver macromoléculas?

¿Penetra la atmósfera terrestre?



Longitud de onda (metros)



Del tamaño de...

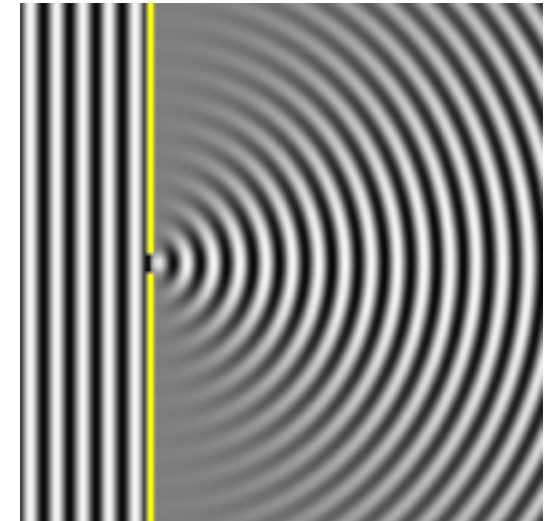


Frecuencia (Hz)

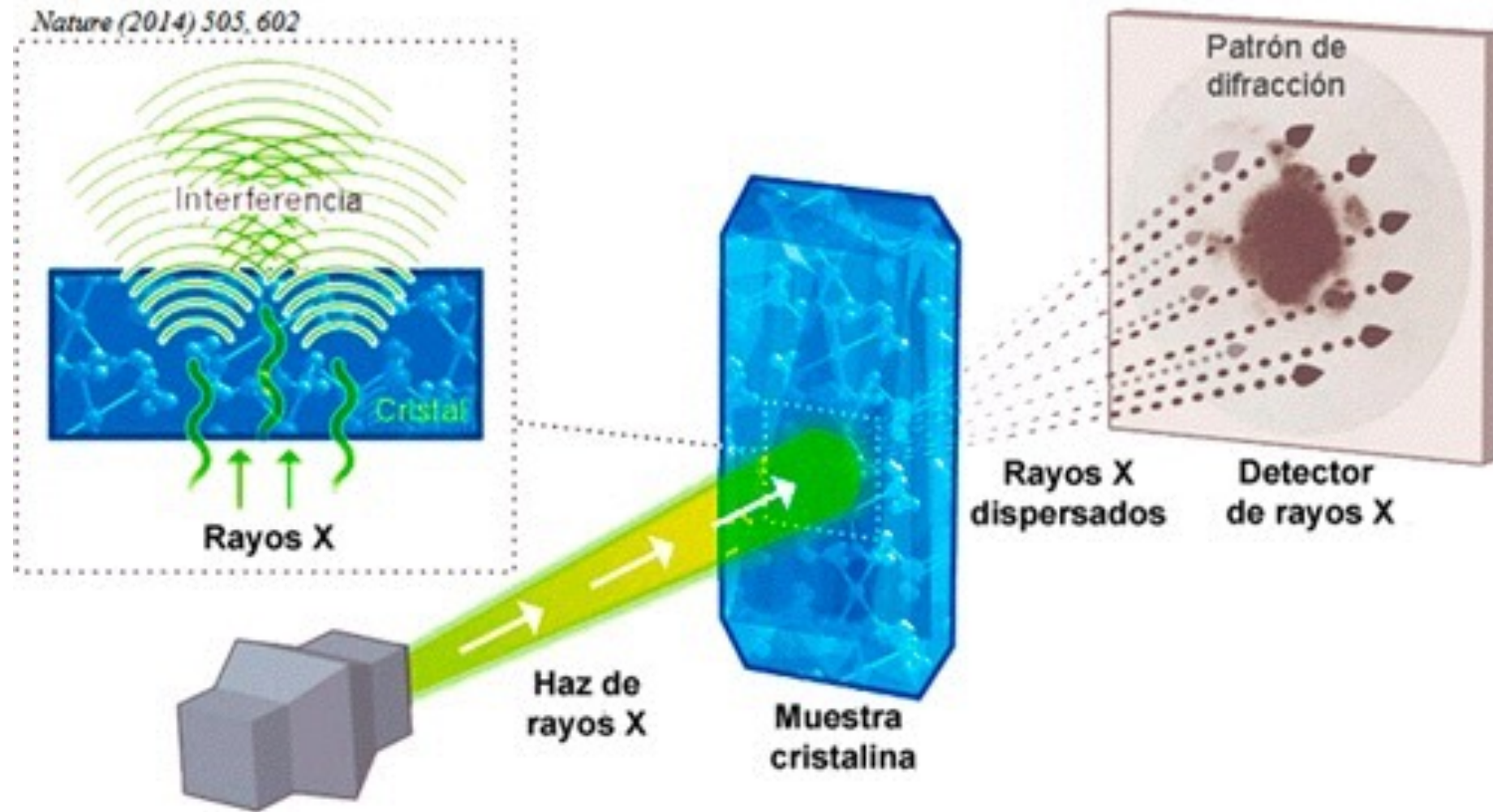


La **longitud de onda** debe ser menor a la molécula que deseo “ver”

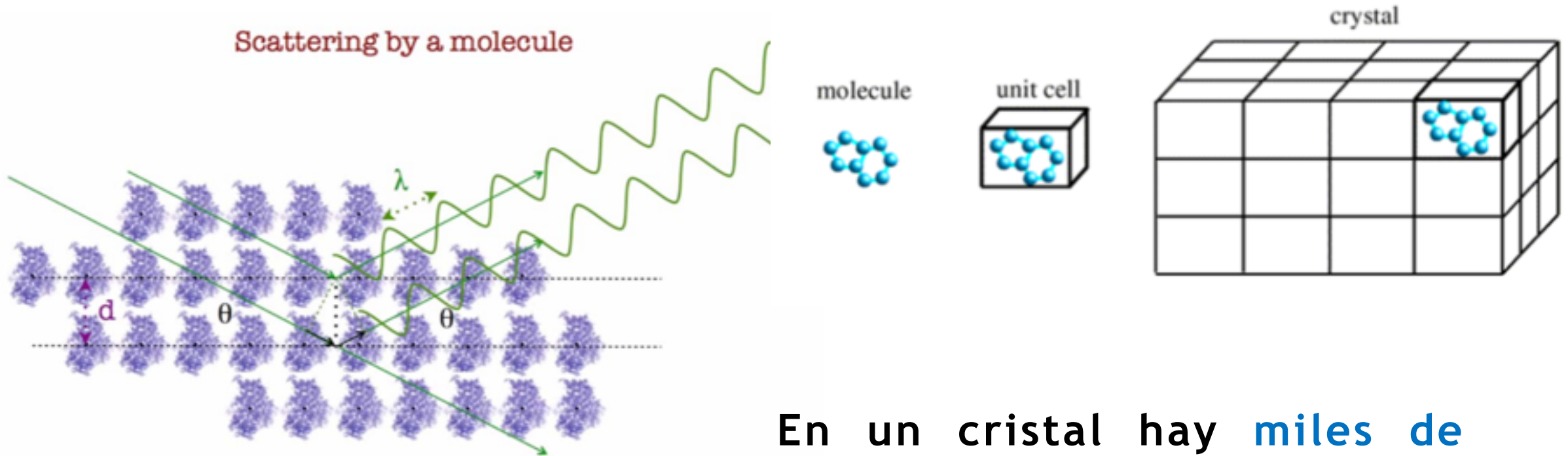
Distancias interatómicas son de 1.5 Å (en la región de los **rayos X**)



# ¿Pero cómo ver macromoléculas?



# ¿Por qué cristales de proteínas?



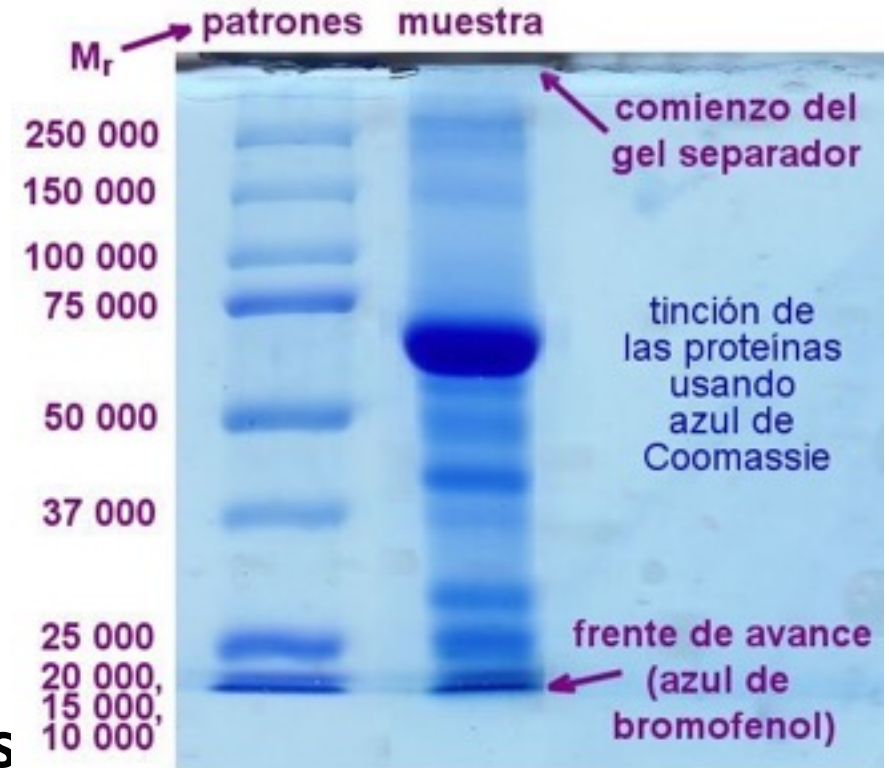
En un cristal hay **miles de moléculas** de la proteína que están acomodadas en la **misma orientación**

# Cristalización de la proteína

- Muestra pura, estable y homogénea
- Control de calidad: Geles de acrilamida
- Cromatografía de exclusión molecular

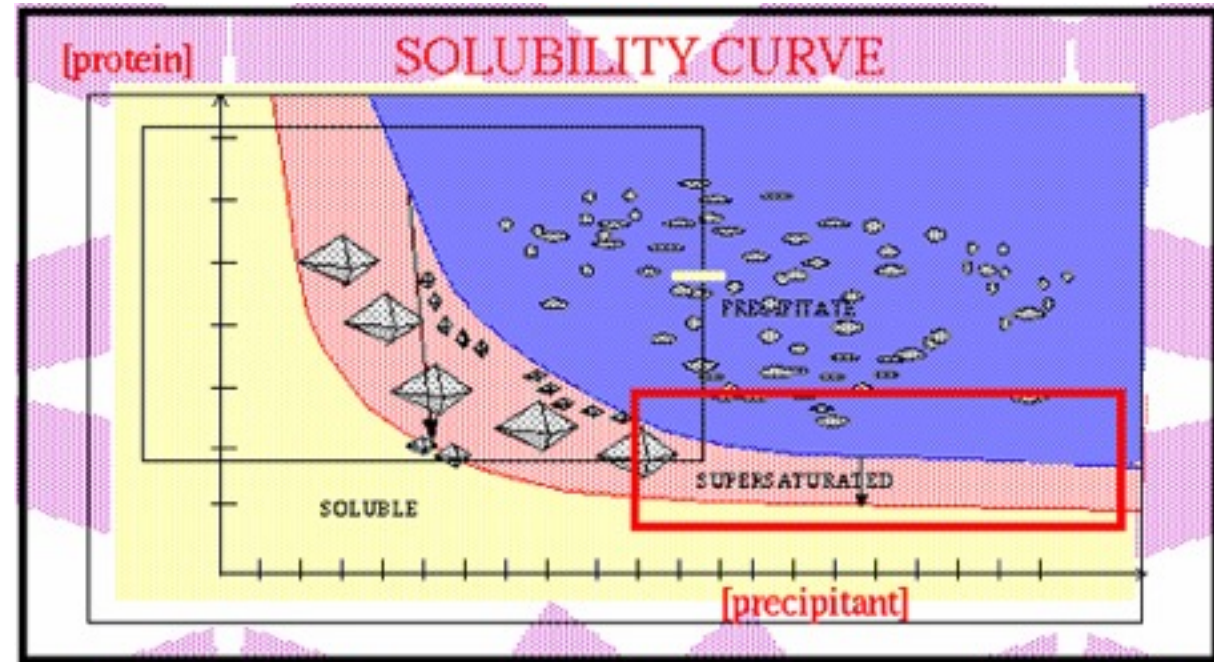
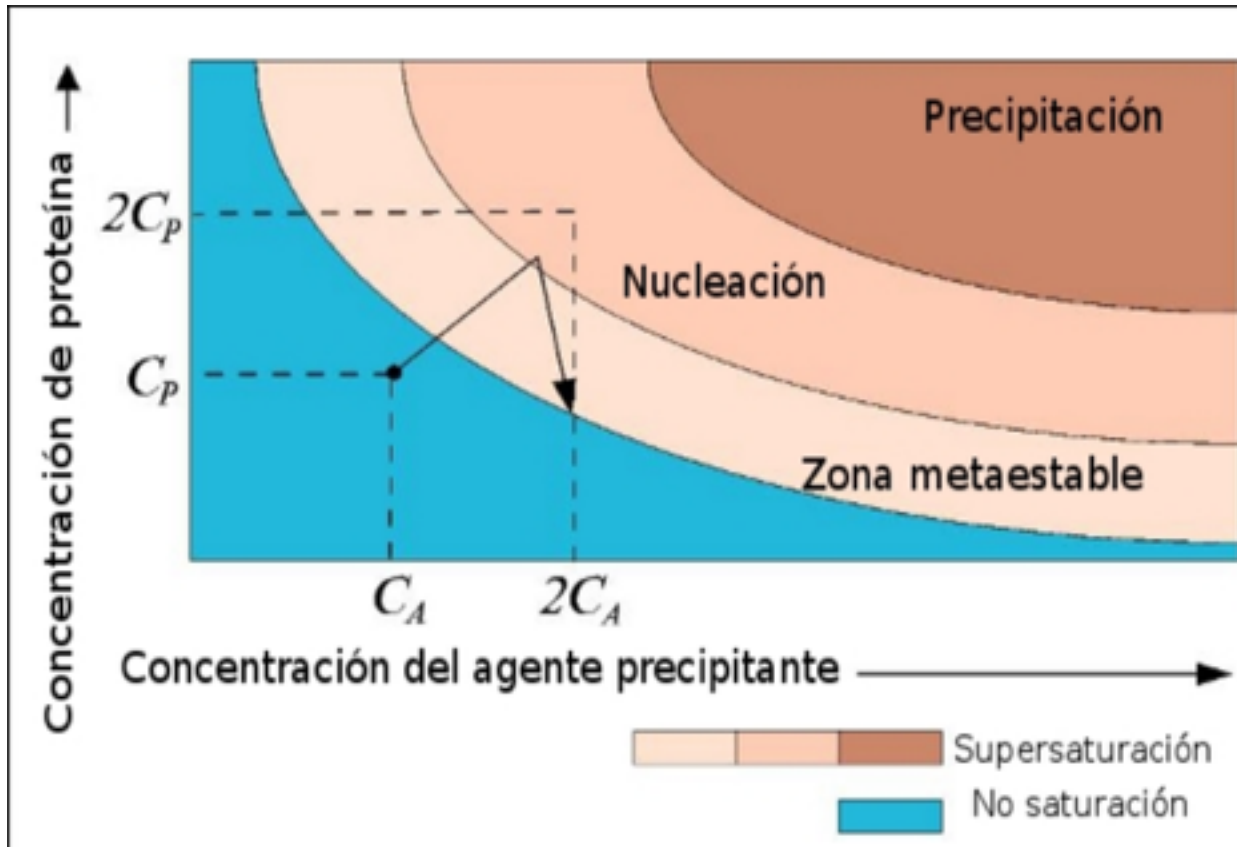
## ¿Cuánta proteína necesitamos?

- De 5 mg/ml a 200 mg/ml
- Amortiguadores con bajas cantidades de s



# Solubilidad de las proteínas

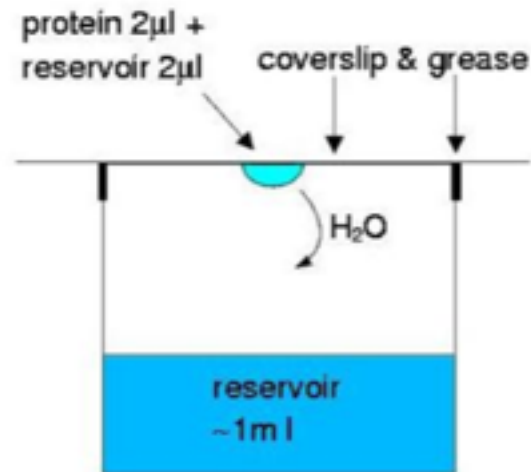
Diagrama de fases Mejores cristales en la zona meta estable



# Métodos más usados en la cristalización de proteínas

## Gota colgante (hanging drop)

---

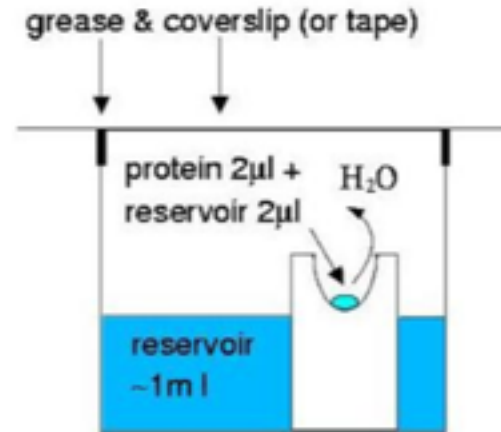


- ✓ cristales caen sobre la interfase agua-aire
- ✗ Difícil de automatizar



# Métodos más usados en la cristalización de proteínas

## Gota “sentada” (sitting drop)

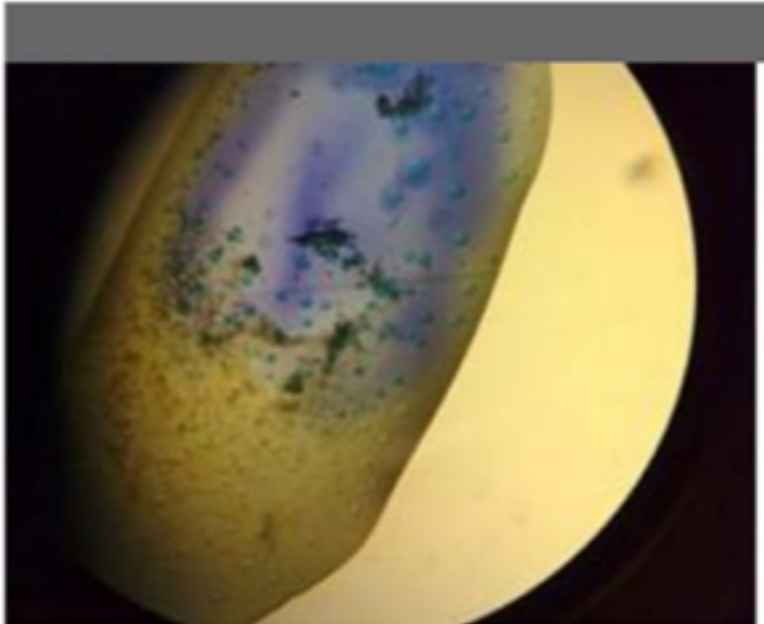


- ✓ cristales caen sobre el plástico
- ✗ Fácil de automatizar (gotas de nanolitros)

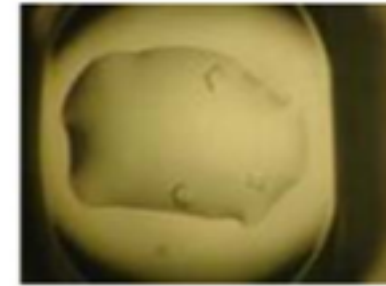


# Son cristales de proteínas o de

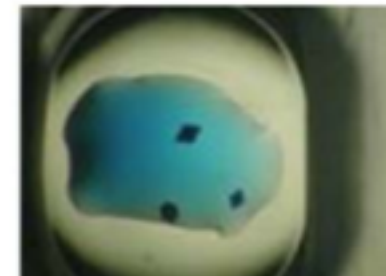
Tinción de cristal



Izit coloreando la fase de la proteína

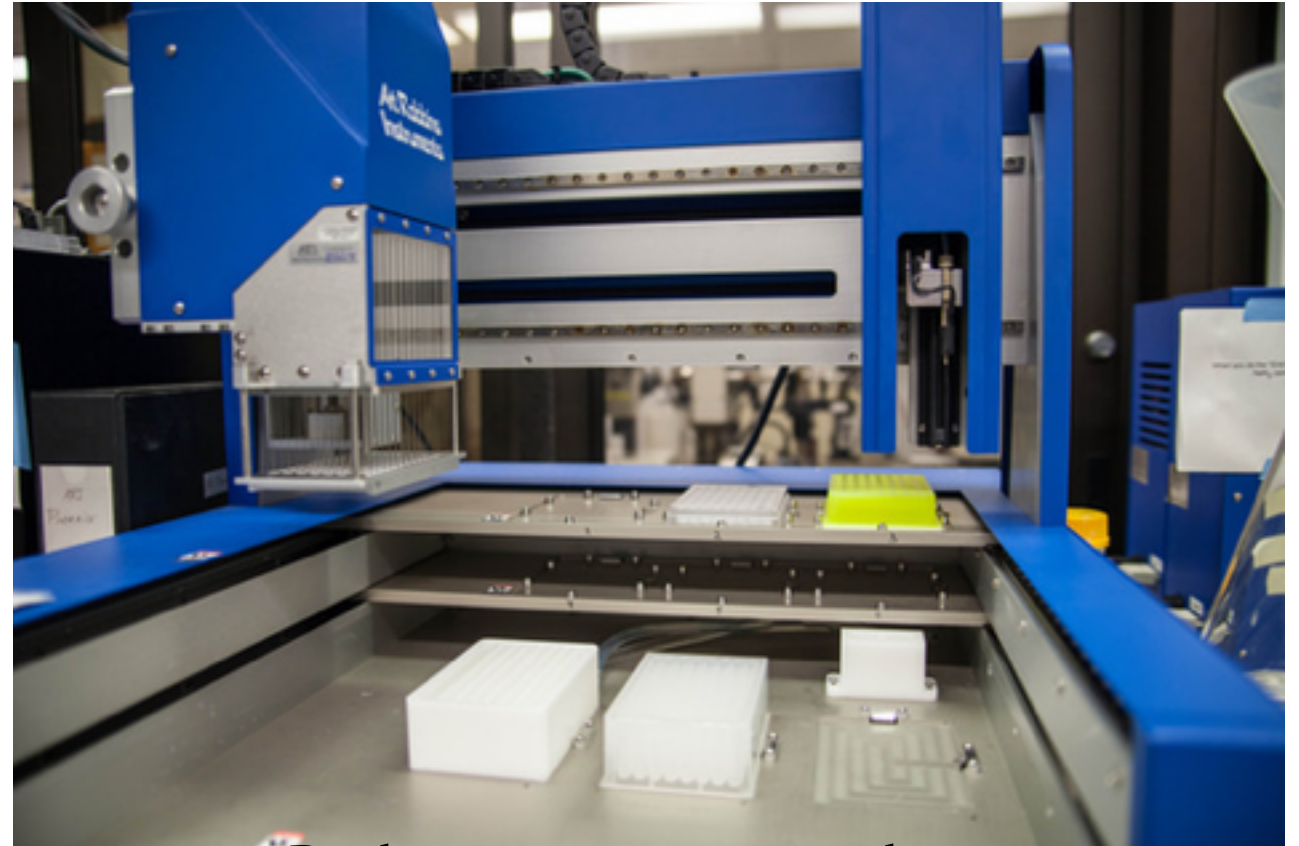
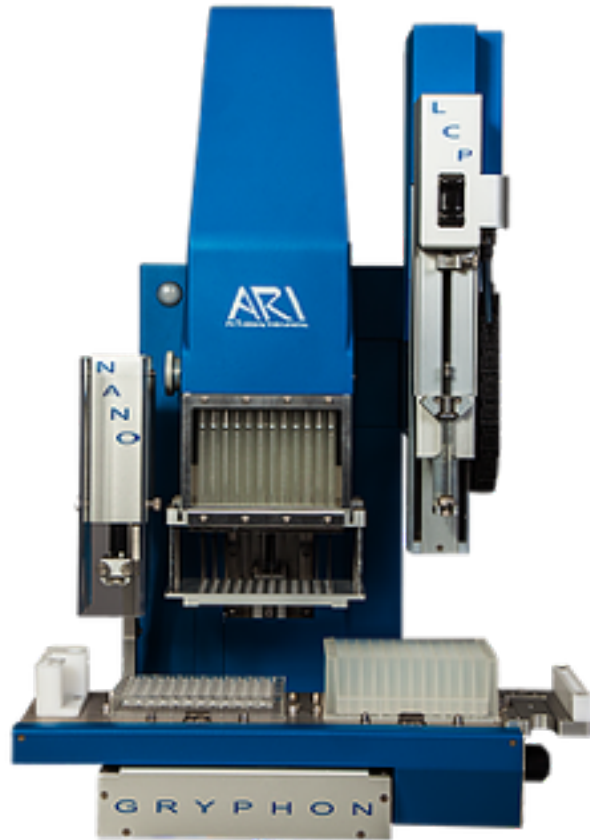


antes



después

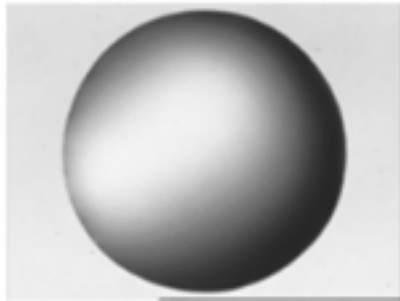
# ¿Se puede hacer más eficiente poner gotas de cristalización?



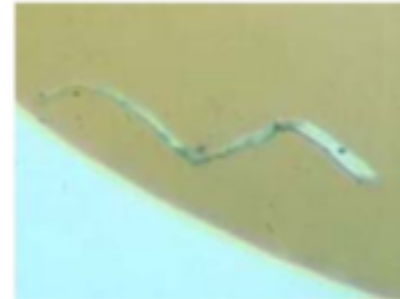
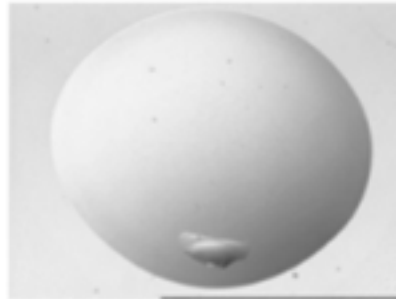
Robots para colocar gotas

# ¿Qué puedo observar en las gotas de cristalización?

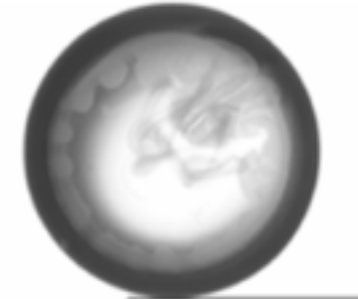
Clear Drop



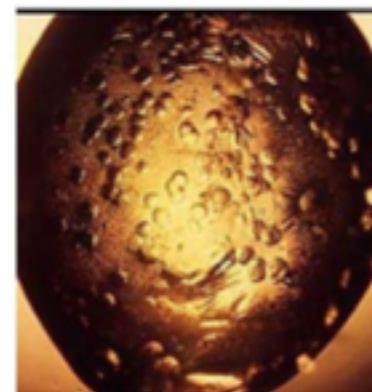
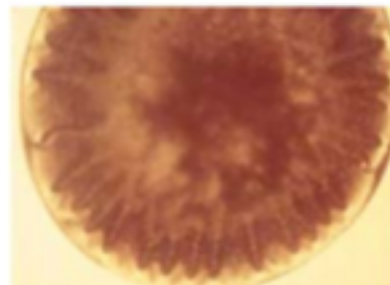
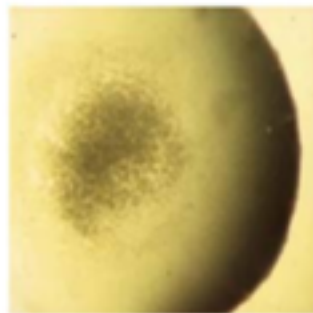
Matter in Drop



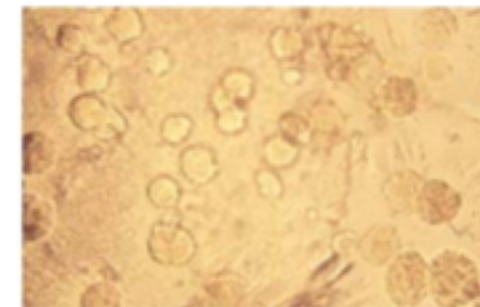
Gels



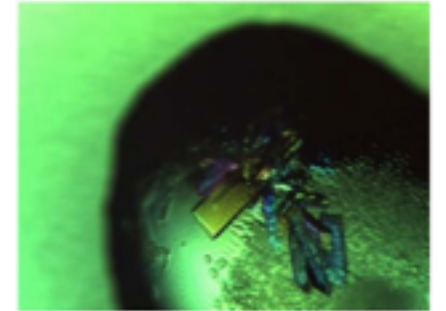
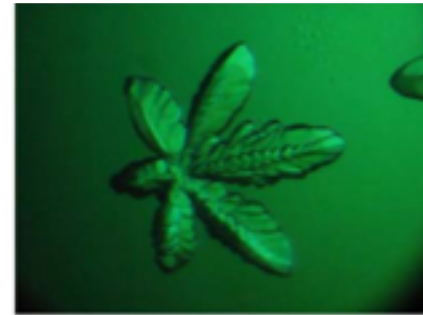
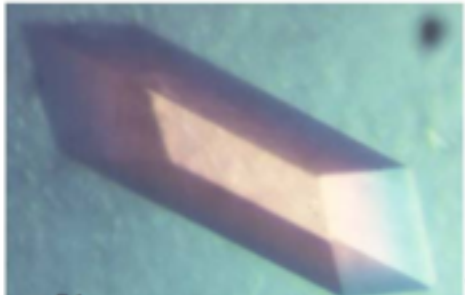
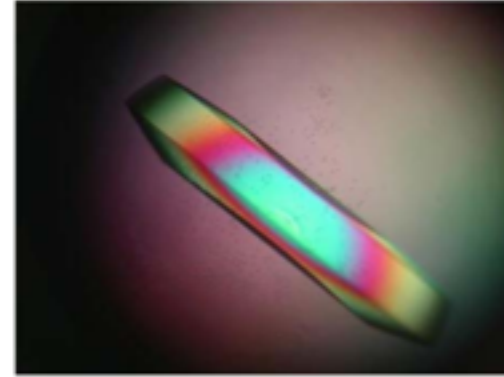
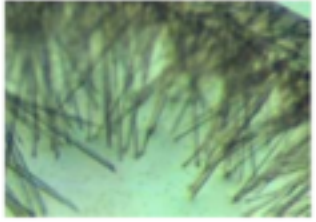
Precipitate



Oils

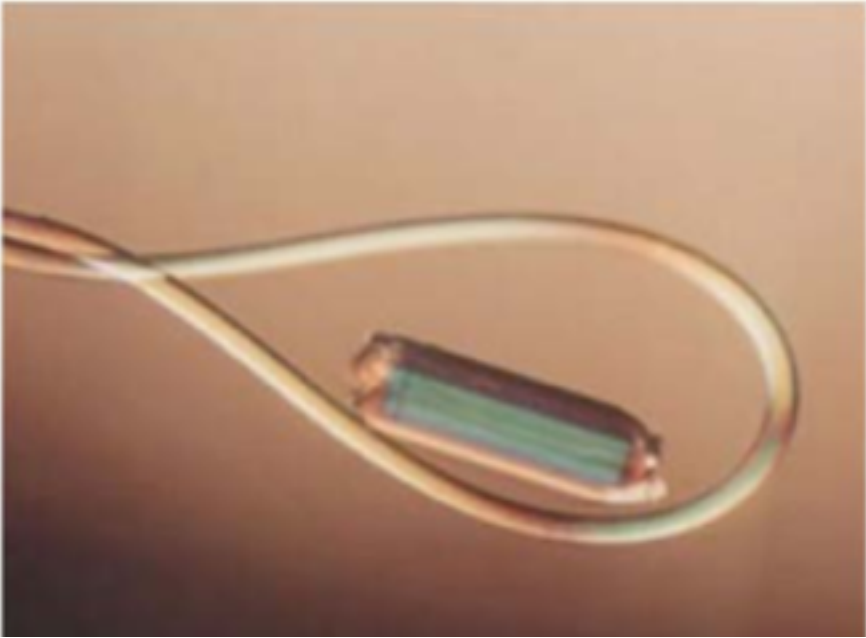


# ¿Y si la proteína cristaliza...?



**Arreglos de cristales**

# ¿Cómo se monta un cristal para difracción?

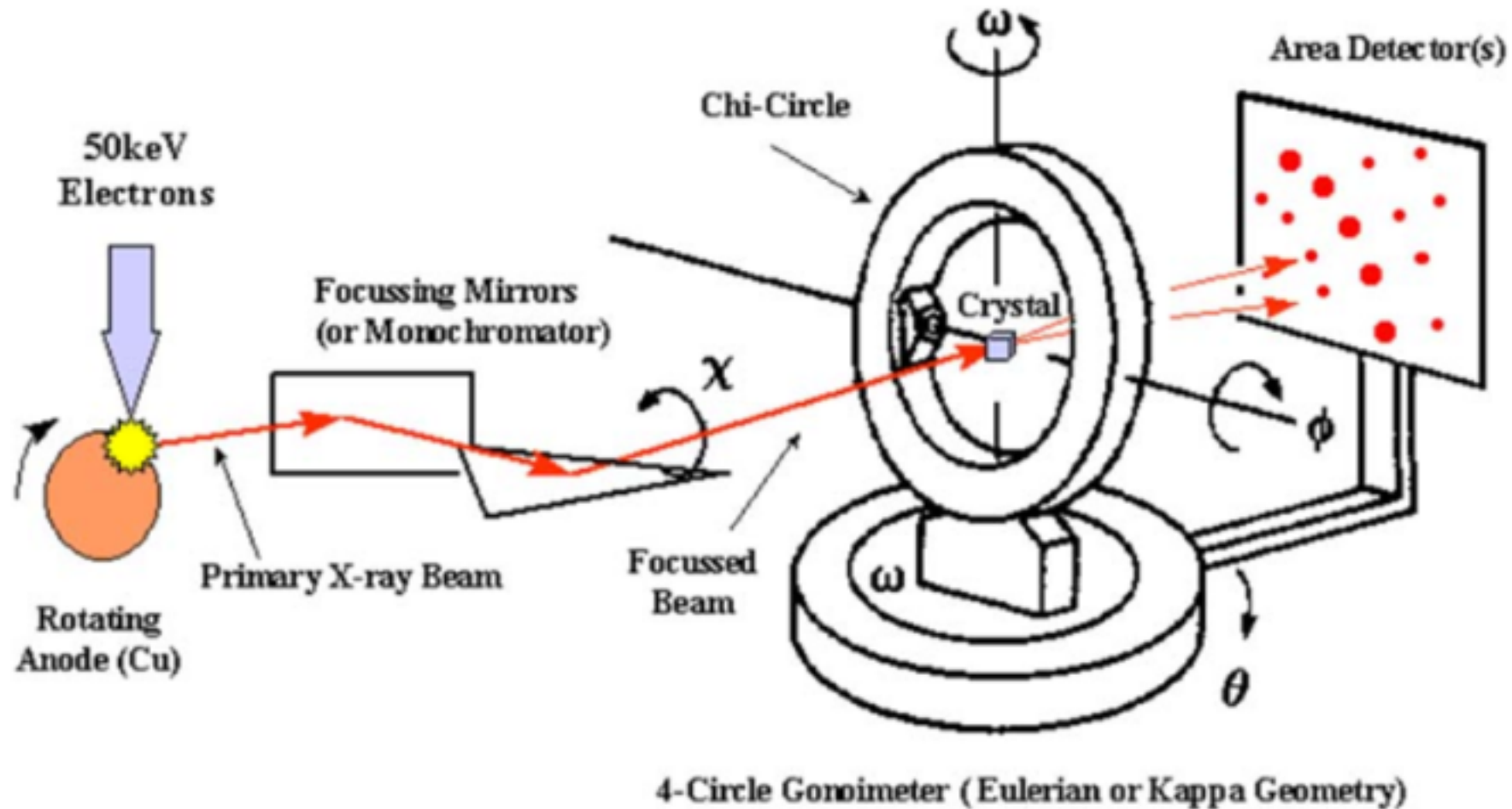


Lazo de 100  $\mu\text{m}$  con un cristal

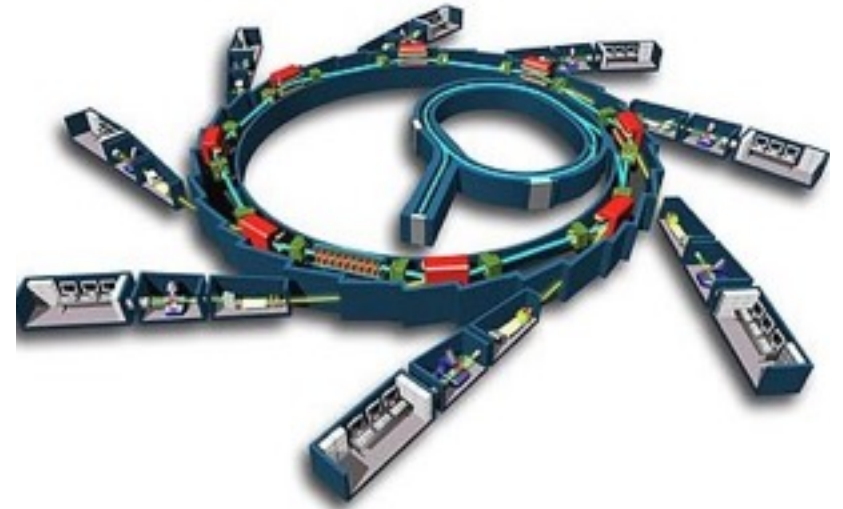
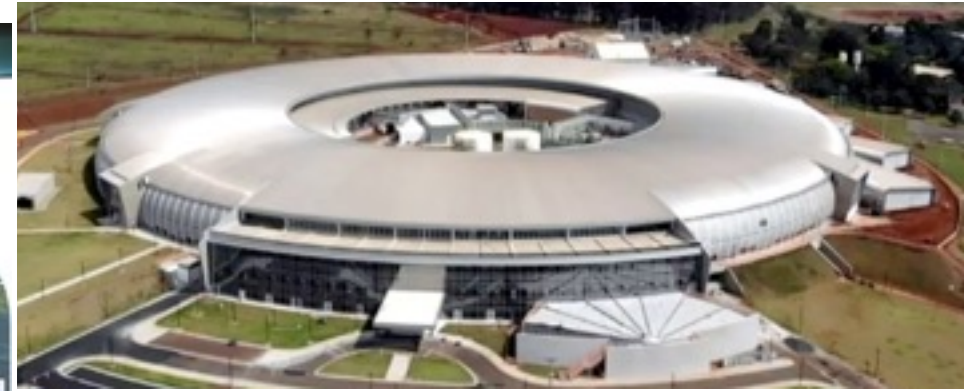


Difractómetro de rayos X

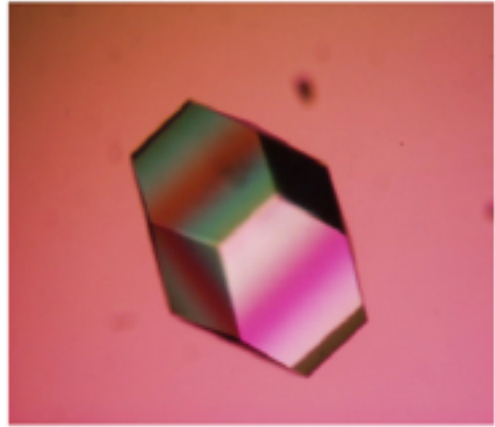
# Esquema de colecta de datos de difracción



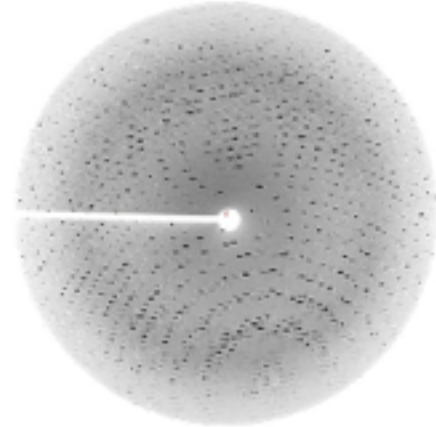
# Los sincrotrones y su poder colosal de recolección de datos



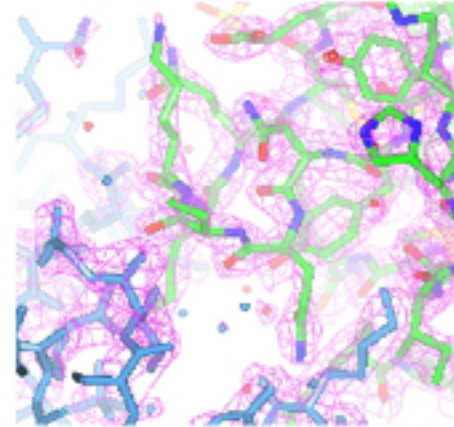
# Como se procesan los datos de difracción de una proteína?



cristal



patrón de difracción

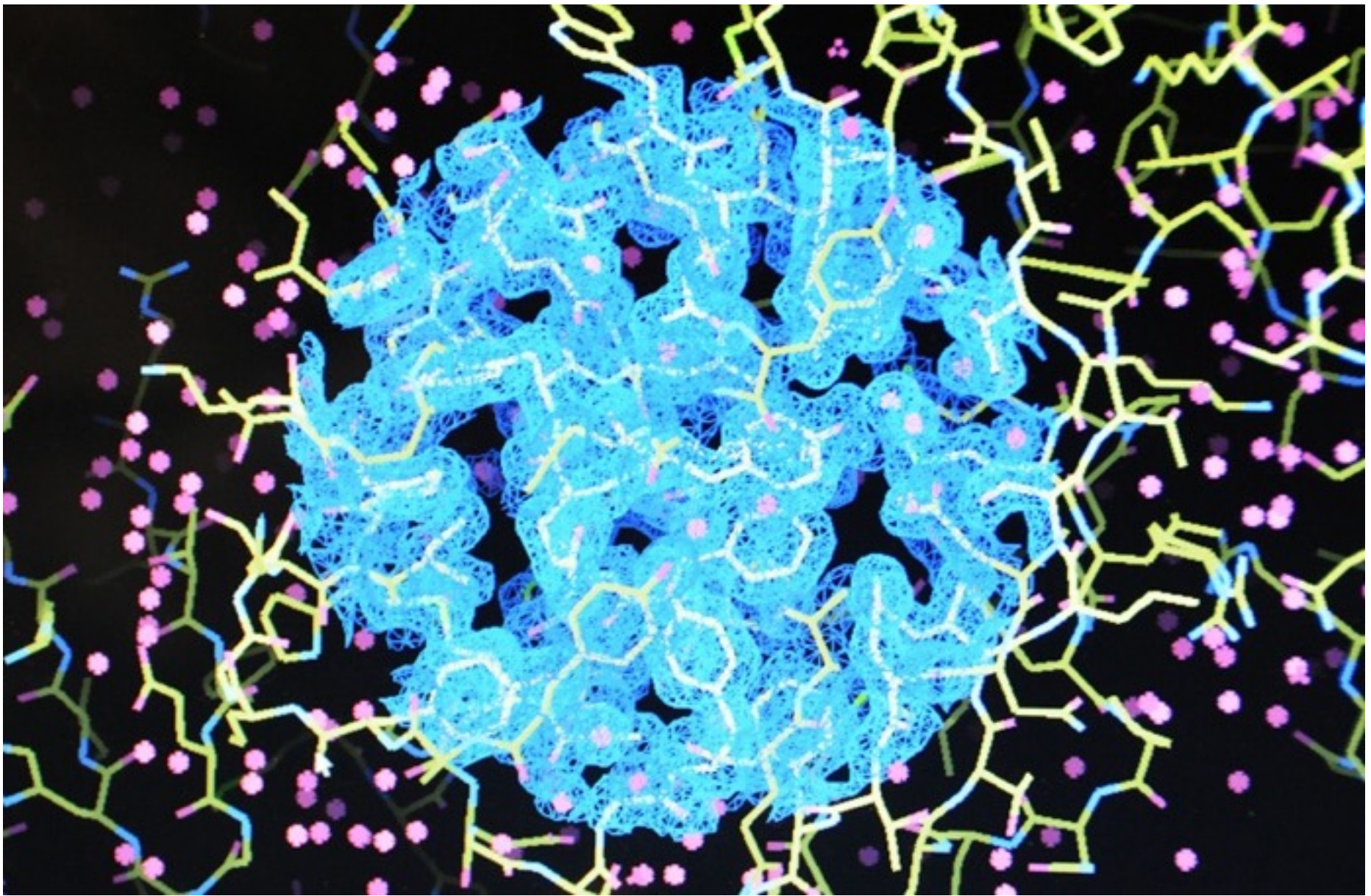


mapa de densidad



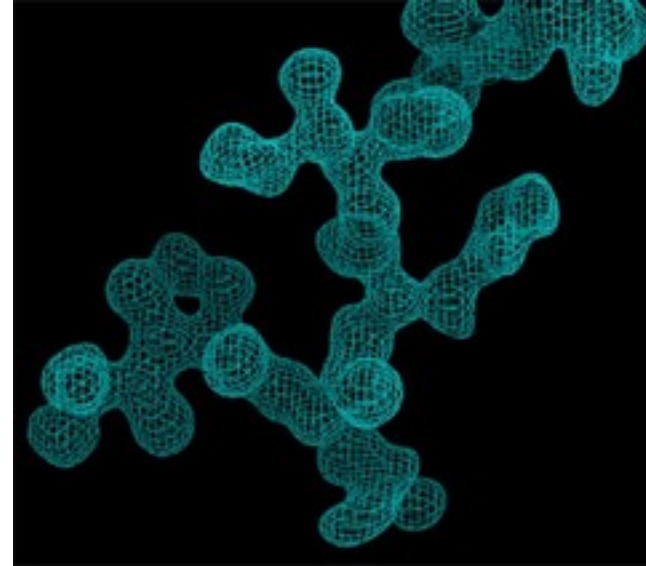
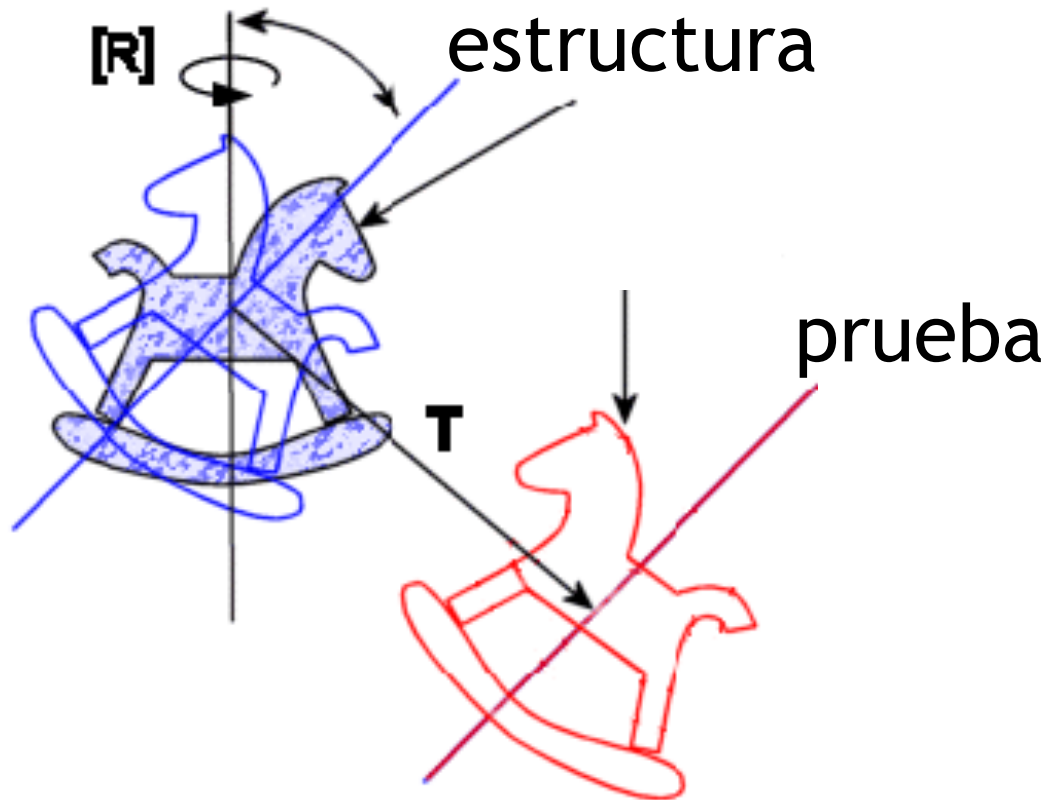
modelo 3D



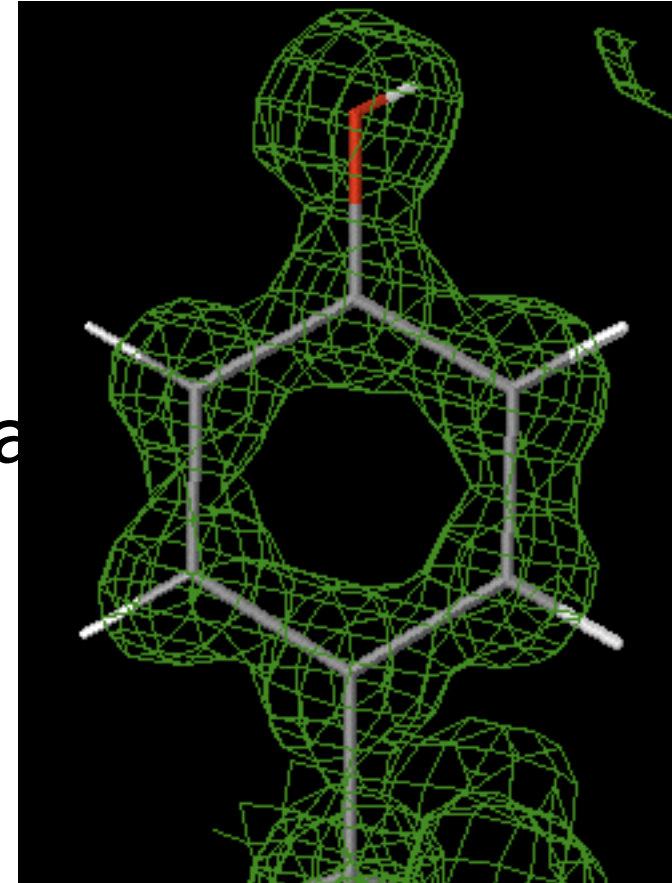


Mapa de densidad electrónica de una proteína

# Reemplazo molecular

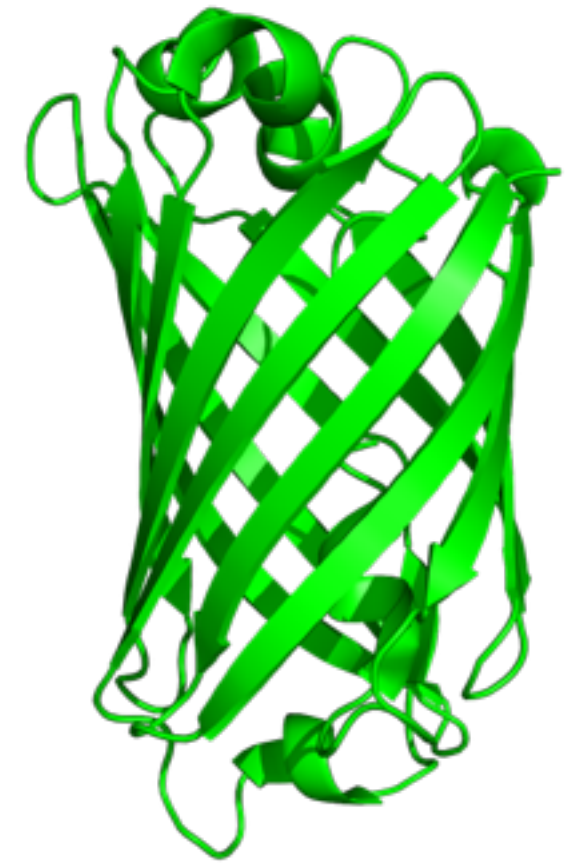
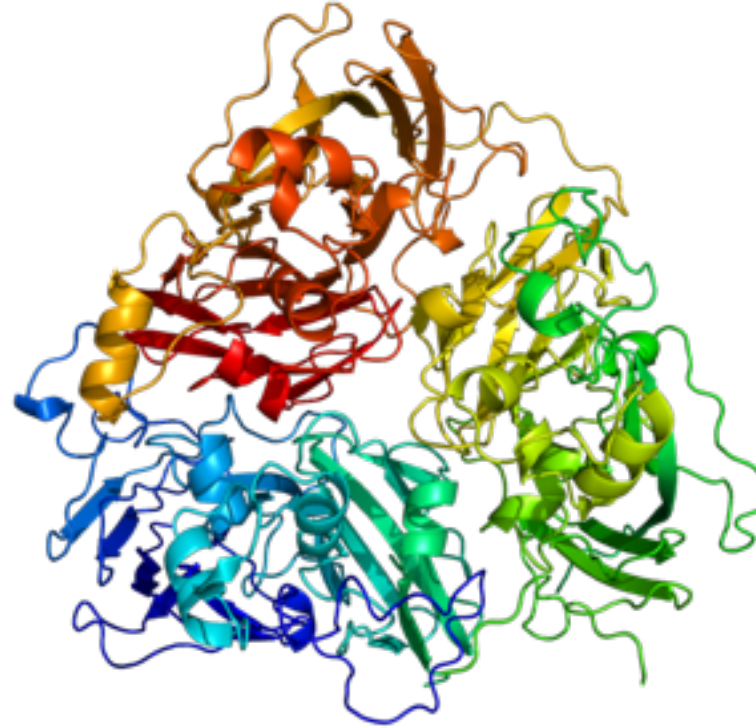
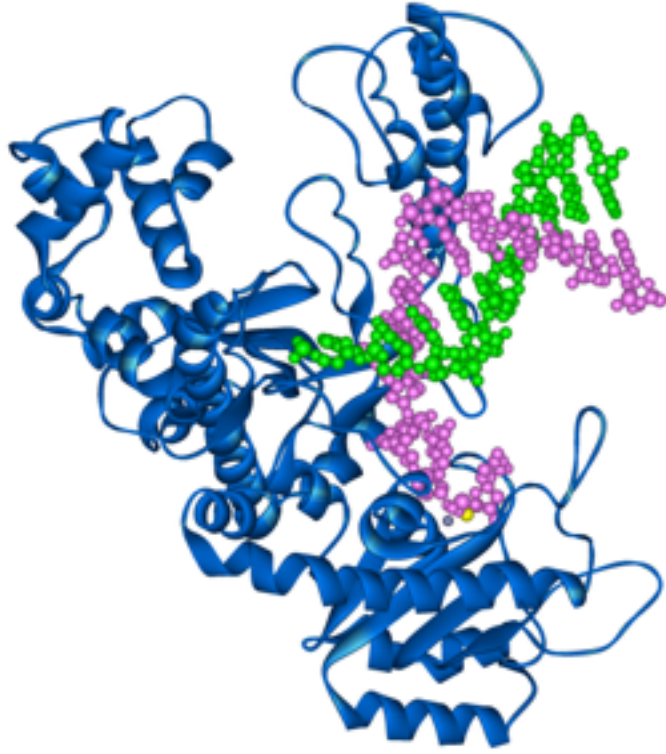


Densidad electrónica



Tirosina con representación de esqueleto

# Banco de datos de proteínas



RCSB **PDB**  
PROTEIN DATA BANK



**Muchas gracias!!**