Diseño y caracterización funcional de un factor de transcripción homodimérico de cadena única sensible al mercurio

Bryan Chero Calle[1] [0009-0007-7577-304X], Joel P. Kirschaum-Chrem[1] [0009-0007-2628-1372], Robert Sosa[2] [0000-0002-7828-7633], Daniel Guerra Giraldez[1] [0000-0002-2410-722X], Wilfredo Evangelista Falcón[1] [0000-0002-2410-722X]

[1] Universidad Peruana Cayetano Heredia

[2] Department of Molecular and Cell Biology, University of California, Berkeley, USA

Resumen:

Palabras clave: MerR, dimero de cadena única, biosensor, mercurio.

MerR es un regulador transcripcional bacteriano altamente conservado que controla el operón mer en presencia de mercurio (Hg^{2+}) (1). En su forma nativa actúa como homodímero; al unirse a Hg^{2+} induce un cambio conformacional en el promotor subóptimo Tn501, realineando las regiones -35 y -10 activando así la transcripción de genes implicados en la respuesta al metal (2). Esta característica ha sido aprovechada previamente en el diseño de biosensores basados en MerR para la detección de Hg^{2+}(3).

Este estudio propone diseñar una versión homodimérica de cadena única del factor de transcripción MerR, y llevar a cabo su caracterización funcional, buscando preservar su funcionalidad y facilitando su implementación en aplicaciones biotecnológicas.

Para lograrlo, se diseñó un polipéptido (linker) que conecte el extremo N-terminal de un monómero con el C-terminal del siguiente. Se combinaron herramientas de modelado estructural (Alphafold3), seguidas de una etapa de minimización de energía utilizando Rosetta, y posteriormente las variantes de los polipeptidos acopladas a MerR, pasaron por simulaciones de dinámica molecular en GROMACS. La variante de cadena única con un polipeptido de 10 aminoácidos mostró un comportamiento estructural estable (RMSD global estable, comparable al MerRWT durante 100 ns).

Dicha secuencia seleccionada fue incorporada en un plásmido que contiene el factor de transcripción y un reportero colorimétrico ubicado aguas abajo del promotor Tn501. Se comparó la intensidad del color entre el biosensor que porta MerR nativo y el que incorpora la versión de cadena única. Se comprobó que esta última conservó su actividad, al producir señales colorimétricas a distintas concentraciones de Hg^{2+} de manera similar al sensor nativo.

En conclusión, MerR puede ser usado como un homodímero de cadena única sin comprometer su funcionalidad, potencialmente mejorando su eficiencia de plegamiento y estabilidad estructural, demostrando su potencial en futuros estudios y aplicaciones biotecnológicas.

Referencias bibliográficas:

1. Tulin G, Figueroa NR, Checa SK, Soncini FC. The multifarious MerR family of transcriptional regulators. Molecular Microbiology [Internet]. febrero de 2024 [citado 31 de marzo de 2025];121(2):230-42. Disponible en: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/mmi.15212

2. Wang D, Huang S, Liu P, Liu X, He Y, Chen W, et al. Structural Analysis of the Hg(II)-Regulatory Protein Tn501 MerR from Pseudomonas aeruginosa. Sci Rep [Internet]. 19 de septiembre de 2016 [citado 12 de marzo de 2025];6(1):33391. Disponible en: https://www.nature.com/articles/srep33391

3. Zevallos-Aliaga D, De Graeve S, Obando-Chávez P, Vaccari NA, Gao Y, Peeters T, et al. Highly Sensitive Whole-Cell Mercury Biosensors for Environmental Monitoring. Biosensors [Internet]. 13 de mayo de 2024 [citado 7 de agosto de 2025];14(5):246. Disponible en: https://www.mdpi.com/2079-6374/14/5/246