

CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

- La estructura y estabilidad de las proteínas Omp1 y LacY, en solución, se encuentra condicionada por la concentración de surfactante presente en la misma, de acuerdo con las observaciones de AFM.
- Los liposomas formados, con las composiciones lipídicas: POPC, DMPC:POPC (1:1, mol:mol), POPE:POPG (3:1, mol:mol) y extracto lipídico de *E. coli*, fueron estables tras la incorporación de proteínas de membrana, permitiendo obtener tanto proteoliposomas como láminas lípido-proteicas.
- Los liposomas formados con POPE:POPG (3:1, mol:mol) fueron los que presentaron una menor solubilidad frente a la acción de los surfactantes.
- La utilización de surfactantes no iónicos (OG y DDM), en la reconstitución de liposomas o proteoliposomas, produce un cierto aumento de la rigidez de la bicapa lipídica, según indican los resultados de anisotropía de la fluorescencia.
- La incorporación de Cyt c, MLT, Omp1 y LacY a la bicapa lipídica produce, en los casos estudiados, variaciones positivas del valor del potencial electrostático de superficie.
- Los valores de $\Delta\psi$ demuestran que la incorporación de las proteínas estudiadas se produce tanto por interacción electrostática, como por su balance hidrofilia/lipofilia.
- Se observa una rigidificación de la bicapa lipídica al incorporar la LacY, debida a la reorganización de los lípidos, para conferir estabilidad a la proteína.
- La incorporación de la LacY puede inducir la segregación lateral de fosfolípidos, al formarse regiones enriquecidas en las mismas.
- La cristalización bidimensional de proteínas de membrana es un proceso similar a la formación de proteoliposomas, aunque requiere de una mayor proporción de proteína y una extracción más lenta del surfactante. La cristalización 2D, conduce a una mayor rigidificación del entorno lipídico, según indican los resultados obtenidos de anisotropía de la fluorescencia.
- La proteína LacY, en forma de dímero, fue cristalizada en 2D, obteniéndose los parámetros de celda: $a = 13,15 \text{ nm}$, $b = 16,74 \text{ nm}$, $\gamma = 116^\circ$.

- La incorporación óptima de proteínas de membrana para dar lugar a cristales 2D, se produce en fosfolípidos como la POPC, que se encuentran en estado fluido durante todo el proceso de cristalización y que no presentan dominios lipídicos.
- La inmovilización de proteínas sobre sustratos adecuados es un factor crítico en el control y manipulación molecular necesarios para posibles aplicaciones, como podría ser el diseño y fabricación de biosensores.