

## Resumen

En este trabajo se ha estudiado el mecanismo involucrado entre el complejo Ro/SSA, compuesto también por las proteínas *tripartite motif 21* (TRIM21 $\alpha$ ) y *trove domain 2* (TROVE2) con respecto a autoanticuerpos de pacientes que tienen lupus eritematoso sistémico, en comparación con autoanticuerpos de personas sanas. El estudio comprende tres capítulos: I- Base Estructural para el funcionamiento de TRIM21 $\alpha$  en Lupus Eritematoso Sistémico; II- Mecanismo Funcional de la proteína enlazante TROVE2 RNA en Lupus Eritematoso Sistémico y III- Biosensor piezoeléctrico sin marcaje para la determinación de autoanticuerpos circulantes para el diagnóstico del Lupus Eritematoso Sistémico.

Las muestras de pacientes lúpicos y personas sanas fueron proporcionadas por el hospital La Fe de acuerdo con los protocolos establecidos. Tras una etapa de extracción y purificación de las inmunoglobulinas fueron estudiadas la interacción de proteínas *in vitro* utilizando una microbalanza de cristal de cuarzo con atribución de factor de disipación e interferometría de polarización dual. Técnicas de caracterización como espectroscopía infrarroja de reflexión-absorción por modulación de la polarización, espectroscopía fotoelectrónica de rayos-x y análisis de ángulo de contacto fueron utilizadas con la finalidad de caracterizar superficies. El análisis del estado pre estacionario ha revelado un mecanismo de puente bipolar para las dos proteínas, TRIM21 $\alpha$  y TROVE2.

Tras su identificación, fue mapeado el epítipo inmunodominante lineal para TRIM21 $\alpha$ , utilizando una serie de polipéptidos sintéticos superpuestos de 21 aminoácidos. Los epitopos reconocidos por autoanticuerpos para esta proteína abarca la secuencia lineal a partir del aminoácido 151 hasta el 183 para epitopos de pacientes lúpicos y sujetos sanos, respectivamente. El suero de pacientes lúpicos fue reconocido por los epitopos de SLE, permitiendo la discriminación de pacientes sanos. Los resultados de la unión del Complejo Mayor de Histocompatibilidad clase II con el péptido de unión corroboraron la secuencia cómo el epítipo lineal inmunodominante, codificado como el alelo HLA DRB1 \* 1304 para pacientes con LES y HLA DRB1 \* 0806 para los controles. El epítipo subdominante corresponde al dominio PRY-SPRY, recientemente conocido receptor Fc de mamífero. Finalmente, la estructura

de la proteína TRIM21 $\alpha$  fue determinada utilizando un nuevo modelo de homología no presentado antes.

De la proteína TROVE2, el epitopo lineal inmunodominante reconocido por los autoanticuerpos corresponde a la secuencia que pudiera corresponder del aminoácido 160 hasta 210 para sujetos sanos. Sin embargo, el epitopo mayoritario en sueros lúpicos no fue determinado. Se sugiere que la diferencia entre los epitopos se corresponde mayoritariamente a una necrosis-inducida en pacientes lúpicos, y a una vía apoptótica en pacientes sanos.

TROVE2 presentó la habilidad de unirse a Fcs dependiendo de los cationes alcalinos presentes en la disolución. Los resultados sugieren que la unión TROVE2-TRIM21 $\alpha$  es dependiente de la interacción con calcio vinculada a través del motivo MIDAS en el dominio vWFA.

Finalmente, una consecuencia práctica de todo el estudio fue el desarrollo de un biosensor libre de marcaje para diagnóstico *in vitro* de lupus eritematoso sistémico, permitiendo la detección prematura de autoanticuerpos anti TRIM21 $\alpha$  y anti TROVE2, varios años antes de la aparición de los síntomas clínicos de la enfermedad.