

## **Reporte 2016**

### **Estudio de transferencia de electrones de enzimas del tipo oxidoreductasa**

**Dr. Sergio A. Aguila**

#### **Resumen**

En este proyecto están participando investigadores del Centro de Nanociencias y Nanotecnología (CNyN-UNAM) y del El Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California, (CICESE) y la Universidad de Concepción, Chile.

La metodología planteada esta consistiendo en realizar estudios de dinámica molecular para buscar la conformación de la proteína que más se ve representada durante la simulación y luego se procede a realizar un análisis por componentes principales para elegir la conformación mayor representada, que luego se realizan los estudios QM/MM desde la superficie hasta el sitio activo de la enzima. Estas metodologías son bien conocidas por el grupo y se pretende explorar otros tipos de paquetes que se encuentran instalados en la supercomputadora. Además, se incorporó al trabajo el estudio de la evolución de proteínas y aptámeros que interaccionan con sus respectivos receptores con el objeto de aumentar su afinidad con el método descrito anteriormente.

## 1. Breve descripción de avances (1 cuartilla).

El método implementado para seleccionar la conformación espacial de una proteína más representada refleja resultados acorde a lo esperado. También, se está probando con otros modelos diferentes a las proteínas, como son ADN y ARN con resultados favorables.

Al seleccionar la conformación más representada de la DM para realizar los resultados del estudio de las rutas de transferencia de electrones en una hidrogenasa están demostrando que dichos caminos mantiene una muy baja fluctuación en los residuos que lo componen, es decir, se comporta como un nanocable rígido intramolecular. Así, la hipótesis que tenemos hasta ahora se sigue corroborando, al menos en tres enzimas del grupo de la oxidorreductasas.

A partir de estos resultados hemos enviado un artículo a revisión y se está escribiendo un segundo en términos similares con citocromo c libre y acoplado a un fosfolípido.

De los resultados derivados del estudio in silico de los andamiajes proteicos del estudiante Salvador Dueñas a resultados una publicación aceptada y su graduación de Maestría en Ciencias de la Vida. También, producto de estos resultados, se comenzaron a estudiar la interacción de fármacos para inhibir el virus de la hepatitis c y del papiloma humano con dos estudiantes de maestría en colaboración con el Dr. Manzo-Merino, quien trabaja en el Instituto Nacional de Cancerología, quien utilizará los resultados de los cálculos in silico para realizar las pruebas in vitro e in vivo correspondientes. Además, una tercera estudiante de posgrado se encuentra trabajando en el aumento de la afinidad de un aptámero por proteínas transmembranales de células cancerosas de manera in silico con resultados prometedores, que serán utilizados para sintetizar aptámeros como medio de comunicación para transportar fármacos a las células enfermas.

## 2. Cálculos realizados (1 cuartilla).

Se estudió, mediante métodos híbridos mecánico cuánticos/mecánico moleculares (QM/MM), a la enzima hidrogenasa [Ni-Fe] tolerante al O<sub>2</sub> de *Salmonella typhimurium* (PDB: 4C3O) para conocer las rutas de transferencia electrónica en busca de un aumento en la síntesis de H<sub>2</sub> en condiciones aerobias. Por tanto, es de vital importancia estudiar la transferencia electrónica ya que se relaciona directamente con la actividad catalítica en condiciones oxidantes.

Primeramente fue necesario realizar una simulación, a través de técnicas de Dinámica Molecular para conocer las diferentes conformaciones que puede adoptar la proteína a través del tiempo y de esta manera escoger la conformación más observada durante la simulación.

Este proceso incluyó una preparación de la enzima de manera que se busquen defectos en la estructura (como cadenas laterales incompletas, átomos no reportados), y asignación del pKa a los aminoácidos con el algoritmo *propKa* [1]. Posteriormente la proteína se incluyó en una caja de moléculas de agua tipo SPC, cuyas dimensiones fueron de 10 Å por lado. Esto se realizó con el programa Maestro 9.5 Schrödinger, NY. Se realizaron cálculos de recalentado simulado (Simulated annealing) con el programa Desmond y los análisis con Maestro (Maestro-Desmond Intercomperability Tools, Schrödinger, NY). Esto utiliza dinámica newtoniana con el objeto de producir una trayectoria de las coordenadas de las partículas, velocidades y energías. Como resultado se obtuvo una simulación de 60 ns con un tiempo de integración de 1 fs. Se desarrolló un histograma de frecuencias de energía potencial que está asociada directamente al acomodo de los átomos. De esta manera se obtuvo la conformación proteica más frecuente.

Para la caracterización de las vías electrónicas se utilizó el algoritmo QM/MM (Et-pathway), el cual consistió en expandir paulatinamente la región cuántica, dando pauta a que el electrón sea capaz de encontrar el residuo más proclive a alojarlo. Al expandir las regiones cuánticas, se trazan rutas por las cuales la densidad de espín viaja más fácilmente.

Adicionalmente, se están realizando cálculos de Dinámica Molecular y estudios de acoplamiento molecular para montar una metodología de búsqueda de candidatos a fármacos de enfermedades de la hepatitis c y otros que desencadenan en cáncer, tal como, el virus del papiloma humano.

### 3. Software utilizado

5.1 Desmond

5.2 Namd

5.3 Qsite

### 4. Recursos utilizados

La mayor parte de los recursos utilizados fueron en Dinámica Molecular, debido a que nuestros sistemas necesitan altos tiempo de simulación, con el objeto de explorar adecuadamente el espacio conformacional. Nos vimos en la necesidad de disminuir algunos tiempos de simulaciones para adaptarnos al tiempo asignado. Sin embargo no fue posible terminar los trabajos adecuadamente con el 1,000,000 de horas.

### 5. Lista de colaboradores.

Dr. Carlos Brizuela Rodríguez

Dr. Joel B. Alderete

Dr. Oscar E. Contreras

Dr. Gabriel Alonso

Dr. José Romo Herrera

### 6. Lista de artículos publicados

1. Salvador Dueñas, \*Sergio A. Aguila and \*Genaro Pimienta, (2017) In silico design of ebvIL10 and hIL10 inhibitors using well-known mini-protein scaffolds”, Proteins: Structure, Function and Bioinformatics, aceptado.

2. Vidal-Limón, Abraham M.; Tafoya, Paulina; Santini, Brianda L; Contreras, Oscar E.; Aguila\*, Sergio A. (2017) Electron transfer pathways analysis of oxygen tolerant [NiFe]-hydrogenases for hydrogen production: QM/MM – SCA approach, International Journal of Hydrogen Energy.
3. Fabio A. Muñoz-Guerrero, Sergio A. Águila, Rafael Vazquez-Duhalt, Cristian H. Campos, Cecilia C. Torres, Joel B. Alderete, Substrate ionization energy influences the epoxidation of m-substituted styrenes catalyzed by chloroperoxidase from *Caldariomyces fumago*, Catalysis Communications, 2016, 77, 52-54. (doi:10.1016/j.catcom.2016.01.017)
4. Fabio A. Muñoz-Guerrero, Sergio A. Águila, Rafael Vazquez-Duhalt, Cecilia C. Torres, Cristian H. Campos, Joel B. Alderete, Biocatalytic performance of chloroperoxidase from *Caldariomyces fumago* immobilized onto TiO<sub>2</sub> based supports, Topics in Catalysis 2016, 59 (2) 387-393. (doi:10.1007/s11244-015-0438-1)

## 7. Lista de alumnos graduados

### 7.1 Alumnos graduados

1. Erick Guerrero González, Estudio electroquímico de lacasa de *Coriolopsis gallica* inmovilizada en nanotubos de carbono modificados con nanopartículas de renio para la detección de compuestos fenólicos, Bioingeniería, UABC, Ensenada, B.C., Director (terminada).
2. Enrique Argenis López, Inmovilización de lacasa en nanopartículas magnéticas con fines ambientales, Licenciatura en Nanotecnología, CNyN-UNAM, Ensenada, B.C. Director (terminada).

### 7.2 Alumnos en Proceso

#### 7.2.1 Doctorado

1. Carlos Belman Rodríguez, Síntesis y caracterización de nanopartículas de Au y Bi<sub>4</sub>Ge<sub>3</sub>O<sub>12</sub> para aplicaciones biomédicas, Posgrado en Física de Materiales, CICESE-UNAM, en proceso.

## 7.2.2 Maestría

- 1 Brianda Paola López Santini, Tesis de Maestría en Física de Materiales (Nanociencias), CICESE-UNAM, Estudio computacional de la afinidad del aptámero anti-muc1 con la glicoproteína transmembranal mucina 1, en proceso.
- 2 Joel Ricci, Posgrado en Ciencias de la Vida, CICESE, Análisis *in silico* de la proteína E6 del virus del papiloma humano para el descubrimiento de potenciales fármacos antivirales, en proceso (en codirección Dr. Carlos Brizuela CICESE)
- 3 Víctor Vargas, Posgrado en Ciencias de la Vida, CICESE, Estudio *in silico* del genoma del virus de la hepatitis C para buscar su interrupción viral mediante la identificación de fármacos candidatos, en proceso (en codirección Dr. Carlos Brizuela CICESE)

## 7.1.3 Licenciatura

- 1 Rafael Betanzos San Juan, Ingeniería en Agrobiotecnología, Universidad Tecnológica de la Selva, en proceso.
- 2 Límbano Aguilar López, Ingeniería en Agrobiotecnología, Universidad Tecnológica de la Selva, en proceso.

## 8. Lista de congresos nacionales e internacionales y participantes

1. Eduardo López Delgado, Ildefonso Esteban Pech Pech, José Romo-Herrera, Mariana J. Oviedo y Sergio A. Águila, Efecto del pH sobre el plasmón de superficie de nanovarillas de oro, II Simposio de Nanociencias y Nanomateriales, Ensenada del 7 al 10 de junio del 2016.
2. Erick Guerrero González, Esteban Ildefonso Pech Pech, José Romo-Herrera, Oscar E. Contreras, Gabriel Alonso-Núñez y Sergio A. Águila, Efecto de la modificación de nanotubos de carbono sobre la electrocatálisis de 1,2-dihidroxibenceno, II Simposio de Nanociencias y Nanomateriales, Ensenada del 7 al 10 de junio del 2016.
3. Michel Fernando Montañez Molina, Ildefonso Esteban Pech Pech, José Romo-Herrera, Mariana J. Oviedo y Sergio A. Águila, Estudio de la estabilidad plasmónica de nanovarillas de oro funcionalizados con L-cisteína, II Simposio de Nanociencias y Nanomateriales, Ensenada del 7 al 10 de junio del 2016.
4. Enrique Argenis López Olvera, Cristian Campos, Cecilia Torres, Joel B. Alderete, Sergio A. Águila, Inmovilización de lacasa sobre nanoestructuras magnéticas para aplicaciones medioambientales, II Simposio de Nanociencias y Nanomateriales, Ensenada del 7 al 10 de junio del 2016.
5. Ildefonso E. Pech-Pech, José Romo-Herrera, Mariana J. Oviedo, Oscar E. Contreras, Sergio A. Águila, Nanopartículas de oro soportadas sobre nanotubos de carbono para la detección electroquímica de catecol, II Simposio de Nanociencias y Nanomateriales, Ensenada del 7 al 10 de junio del 2016.
6. Ana Victoria Gutiérrez Montoya, Erick Guerrero González, Joel B. Alderete, Josué David Mota Morales y Sergio A. Águila, Inmovilización de lacasa de *Coriopsis gallica* en nanoestrellas de oro para la detección de fenoles, II Simposio de Nanociencias y Nanomateriales, Ensenada del 7 al 10 de junio del 2016.
7. Espinoza González, Claudia Alcira, Cruz Ríos, Darío Jaczael. Águila Puentes, Sergio A., Inmovilización de la enzima lacasa *Coriopsis gallica* sobre un soporte nanoestructurado de silicato (MSU-F) para oxidación de azul reactivo 19, II Simposio de Nanociencias y Nanomateriales, Ensenada del 7 al 10 de junio del 2016.

8. Ana C. Arana Olivares, Karina V. Chávez, Sergio A. Águila y Víctor Soto, Cinética de intercambio de cationes de  $\text{Ag}^+$  para la síntesis de cúmulos de Ag en zeolita tipo ZSM-5 y tipo Y, II Simposio de Nanociencias y Nanomateriales, Ensenada del 7 al 10 de junio del 2016.