

Título: Identificación y caracterización estructural de los motivos de unión a hidroxiapatita y calcio en las proteínas no colágenas de los tejidos óseos y órganos dentarios

Resumen

Las enfermedades de los tejidos mineralizados (hueso, esmalte, dentina, cemento radicular y, cartílago calcificado, etc) son una de las principales causas de discapacidad a nivel mundial. En México, se estima que 1 de cada 3 mujeres mayores de 50 años están en riesgo de sufrir una alteración ósea y 24.5 millones de mexicanos podrían requerir alguna intervención terapéutica relacionada con los tejidos mineralizados. El depósito de los cristales de hidroxiapatita (HA) en tejidos mineralizados es un proceso complejo y pobremente entendido. Se considera que durante la formación de la HA, la colágena y proteínas no-colágenas (NCPs) regulan (promueven e inhiben) el crecimiento y la morfología cristalina. La mayoría de las NCPs de los tejidos mineralizados tienen estructura desordenada o al azar y son clasificadas como proteínas intrínsecamente desordenadas (IDPs). La estructura flexible de las IDPs les proporciona la capacidad de unirse a distintos ligandos (colágena, HA y calcio, por ejemplo). Las fibras de colágena son la plantilla sobre la cual se deposita la HA, mientras las NCPs unidas a las fibras de colágena regulan el crecimiento de HA e incluso dirigen la fibrilogénesis de la colágena. Desafortunadamente, la naturaleza de las interacciones fisicoquímicas entre HA-colágena-NCPs, y por ende la estructura de este complejo permanece aún desconocida. Mediante las técnicas como bioinformática y simulaciones por dinámica, además de otras técnicas experimentales (CD, ITC, FTIR y SAXS) representan a las estrategias más robustas y con mayor utilidad a la hora de determinar la función, estructura y las interacciones de las IDPs con sus ligando fisiológicos. En este proyecto de investigación se pretende en particular trabajar con péptidos de las proteínas fosfoproteína dentinaria (DPP), osteopontina (OPN) y la proteína de la matriz de la dentina 1 (DMP1). Nuestro proyecto propone determinar las estructuras y morfologías de las proteínas asociadas a la mineralización biológica y sus entender cuáles son sus características para unirse a sus ligandos específicos.

Este proyecto tiene especial énfasis en las interacciones proteína-mineral, ya que actualmente el modelado molecular es el único medio por el cual se pueden obtener coordenadas atómicas para los estados de asociación proteína-mineral y estos resultados serán sustentados por las técnicas experimentales. El conocimiento generado nos servirá para generar nuevas estrategias en el diseño de biomateriales y en terapias de regeneración de los tejidos mineralizados.

Breve descripción de los avances

El proyecto se desarrollara en tres fases y/o etapas fundamentales para desarrollar resultados publicables en revistas internacionales. La primera etapa nos enfocamos a realizar simulaciones de dinámica molecular con péptidos de la proteína DPP y sus interacciones con Ca^{+2} y HA, mientras las simulaciones de DM de las proteínas OPN y DMP1 están en un estatus de pendientes. En la segunda etapa se estudiarán las propiedades biofísicas y estructurales de los péptidos mediante las técnicas experimentales y se realizaran ajustes a los modelos iniciales de la primera etapa. Se evaluaron los péptidos de DPP con mejores propiedades de unión a sus ligandos y se utilizaron para corroborar sus características biofísicas y estructurales (resultados preliminares en artículos publicados). En la tercera etapa se realizarán simulaciones de dinámica molecular de usando el método de intercambio de réplicas a distintas temperaturas (REST) para ser comparados con los datos experimentales. Medir las energías de afinidad entre los péptidos de las NCPs y los distintos modelos de colágena I y HA con simulaciones de metadinámica.

Las metas cumplidas en este año fueron las siguientes:

- Selección de secuencias con mayor representatividad en la proteína DPP y se modelaron *in silicio*.
- Diseño una caja virtual con los péptidos de DPP y HA, se solvató con el modelo de agua SPC y los

sistemas fueron neutralizados por la adición de iones Cl⁻ o Na⁺.

-Se realizaron simulaciones de DM durante 20 nanosegundos de los péptidos de DPP con y sin la presencia de HA. Se determinaron los sitios con mayor probabilidad de fosforilación y su efecto en la estructura de los péptidos de DPP.

-Se determino que P5P promueve la formación de HA, mientras P5 inhibe la formación de HA.

-Los resultados preliminares se presentaron en los foros nacionales de la "4th International Workshop: Frontiers in Protein Folding, Evolution and Function", que se realizaron en Oaxaca y en el "Congreso Nacional e Internacional de Posgrado e Investigación en Odontología" realizado en Cancun.

-Se publicó un artículo de investigación en revistas con arbitraje internacional y con un impacto de 4.1. .

-Finalmente, se incorporaron a dos alumnos para realizar tesis de licenciatura. Para el desarrollo de recursos humanos.

Cálculos realizados

Se realizaron distintas simulaciones de DM de 10 péptidos provenientes de la secuencia de la proteína DPP. Los sistemas contiene un promedio de 31,200 átomos y se simularon durante 20 ns.

Software utilizado

Se utilizo la suite de programas GROMACS en la versión 4.0.3 usando el campo de fuerza GROMOS43A1P suplementado con los parámetros de la HA. Las simulaciones fueron realizadas con un ensamble de NVT y NPT a 300 K y en condiciones periódicas. La caja virtual tiene unas dimensiones aproximadas de 6 x 6 x 8 nm. Los sistemas contiene un promedio de 31,200 átomos y se simularon durante 20 ns.

Lista de colaboradores.

ADELE BOSKEY, Cornell University & Hospital for Special Surgery.

RAMON GADUÑO JUAREZ, ICF-UNAM.

Lista de artículos publicados.

Nombre de la revista: BONE

Título del artículo: Phosphorylation Regulates the Secondary Structure and Function of Dentin Phosphoprotein Peptides

Situación: Publicado

Año de envío: 2016

Año de publicación 2016

DOI BONE-D-16-00618

Núm. de páginas de la publicación: 6

Difusión: Internacional

Con agradecimiento al Centro de super computo Miztli, SC16-1-IR-90: Sí

Arbitrado Sí

Idioma Inglés

Revista indexada Sí

Lista de congresos nacionales e internacionales y participantes.

Título de la ponencia: Phosphorylation Regulates the Secondary Structure Transitions of Dentin Phosphoprotein and control hydroxyapatite formation.

Nombre del evento: 4th International Workshop Frontiers in Protein Folding, Evolution and Function - 5o Congreso de la Rama de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas de la Sociedad Mexicana de Bioquímica.

Lugar donde se realizó: Oaxaca, México

País donde se realizó: México

Difusión Internacional: Si.

Este producto es Resultado directo de la investigación.

Participantes : EDUARDO VILLARREAL RAMIREZ

Título de la ponencia: PAPEL DE LAS PROTEINAS INTRINSECAMENTE DESORDENADAS EN LA FORMACION DE LOS ORGANOS DENTARIOS.

Nombre del evento: 1a REUNION DEL EQUIPO GRUPO UNIVERSITARIO DE INVESTIGACION EN ESTOMATOLOGIA.

Lugar donde se realizó: SAN LUIS POTOSI

País donde se realizó: México

Difusión Nacional

Participantes: EDUARDO VILLARREAL RAMIREZ

Título de la ponencia: Proteínas Intrínsecamente desordenadas y Biomineralización: Una visión reciente.

Nombre del evento: INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR DENTAL RESEARCH IADR DIV. MEXICANA.

Lugar donde se realizó: CANCUN

País donde se realizó: México

Difusión Internacional: Si

Participantes:

EDUARDO VILLARREAL RAMIREZ