

Universidad Autónoma del Estado de México.

**Nombre de la Unidad de Aprendizaje:
SEMINARIO DE INVESTIGACIÓN IV
(Doctorado).**

**ANÁLISIS DINÁMICO MOLECULAR
ESTRUCTURAL DE LA ENZIMA
TRIOSA FOSFATO ISOMERASA DEL PARASITO
Trypanosoma cruzi.**

Autor: Dr. Jorge Mulia Rodríguez.

Coautora: Norma Elizabeth González Díaz

Septiembre de 2016

GUÍA EXPLICATIVA DE USO GENERAL PARA LA UNIDAD DE APRENDIZAJE DE SEMINARIO DE INVESTIGACIÓN IV (DOCTORADO)

I. Trayectoria Académica	3
II. Unidad de Aprendizaje	4
III. Análisis Dinámico Molecular de la enzima Triosafosfato Isomerasa de la proteína <i>Trypanosoma cruzi</i> .	5
IV. Objetivo General	6
V. Objetivos Particulares	7
VI. Introducción	9
VII. Enzima <i>Triosafosfato Isomeraza</i> .	12
VIII. Resumen	17
IX. Justificación	18
X. Metodología de simulación	20
XI. Propiedades Dinámicas	24
XII. Propiedades Termodinámicas	26
XIII. Avances	29
XIV. Referencias	35

I. TRAYECTORÍA ACADÉMICA

Área	Primer periodo lectivo	Segundo periodo lectivo	Tercer periodo lectivo	Cuarto periodo lectivo	Quinto periodo lectivo	Sexto periodo lectivo
Investigación	Seminario de investigación I HT: 0 HP: 2 Créditos: 2	Seminario de investigación II HT: 0 HP: 2 Créditos: 2	Seminario de investigación III HT: 0 HP: 2 Créditos: 2	Seminario de investigación IV HT: 0 HP: 2 Créditos: 2	Seminario de investigación V HT: 0 HP: 2 Créditos: 2	Seminario de investigación VI HT: 0 HP: 2 Créditos: 2
	Actividades de investigación de Doctorado I HT: 1 HP: 4 Créditos: 6	Actividades de investigación de Doctorado II HT: 1 HP: 10 Créditos: 12	Actividades de investigación de Doctorado III HT: 1 HP: 10 Créditos: 12	Actividades de investigación de Doctorado IV HT: 1 HP: 10 Créditos: 12	Actividades de investigación de Doctorado V HT: 1 HP: 10 Créditos: 12	Actividades de investigación de Doctorado VI HT: 1 HP: 10 Créditos: 12
Complementaria	Curso en Ciencias A HT: 3 HP: 2 Créditos: 8					
	Curso en Ciencias B HT: 3 HP: 2 Créditos: 8					

II. UNIDAD DE APRENDIZAJE

Unidad de Aprendizaje:		Seminario de Investigación IV		
Periodo lectivo	Horas totales	Horas Teóricas	Horas Prácticas	Créditos
Cuarto	2	0	2	2
Unidades de Aprendizaje Antecedentes		Unidades de Aprendizaje Consecuentes		
Seminario de Investigación III		Seminario de Investigación V		
Fecha de elaboración: Mayo 2014		Elaboró: Comité curricular y colaboradores		
Objetivo general: Intercambiar conocimientos básicos e interdisciplinarios en torno a los protocolos de investigación de los estudiantes y las LGAC del Plan de Estudios.				
Contenido temático: Exposiciones individuales del protocolo y avances en investigación por parte del estudiante de acuerdo a las actividades establecidas en su protocolo de tesis. Pláticas de especialistas invitados.				
Actividades de aprendizaje: Asistencia y participación en Coloquio semestral de doctorantes, así como en las actividades académicas relacionadas con las LGAC del posgrado. El titular de la UA promoverá actividades de reflexión sobre la ética en la investigación y aplicación del conocimiento para establecer el compromiso y responsabilidad de cada estudiante de incluirla en su quehacer científico. El titular de la UA promoverá actividades de reflexión sobre conceptos de justicia, dignidad y equidad de las personas en el ámbito científico. Adicionalmente el titular de los seminarios dará seguimiento a los avances de los alumnos conforme a los protocolo de tesis aprobados por la Comisión Académica.				
Procedimiento de evaluación: La calificación corresponde a una evaluación diagnóstica de la presentación por escrito y oral de acuerdo a las actividades establecidas en su protocolo de tesis, con la finalidad de conocer los conocimientos y avances previos adquiridos durante el semestre del estudiante. Se evaluará la presentación por escrito y la defensa oral, considerando los siguientes criterios con sus escalas respectivas: 1. Tema principal 50% (Antecedentes, objetivos e hipótesis, materiales y métodos, conocimiento del tema) 2. Técnicas de presentación 10% (Claridad de la exposición y secuencia de la presentación) 3. Ayudas visuales 10% 4. Reacción y discusión de la audiencia 10% 5. Desarrollo académico del estudiante a las preguntas formuladas durante sus intervenciones en el seminario. 20%				
Bibliografía Revistas y textos especializados acorde con las LGAC del Posgrado y el protocolo de investigación de cada alumno. Artículos especializados seleccionados por el titular de la Unidad de Aprendizaje. Bases de datos.				

**III. ANÁLISIS DINÁMICO MOLECULAR
ESTRUCTURAL DE LA ENZIMA
TRIOSAFOSFATO ISOMERASA DEL PARASITO
*Trypanosoma cruzi.***

IV. Objetivo General

- Estudiar por medio del método de simulación molecular, la dinámica estructural de la enzima Triosafofato Isomerasa (TcTIM) causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*.

V. Objetivos Particulares

- Analizar el comportamiento de las propiedades dinámicas y estructurales de los residuos aminoácidos que Conforman el asa catalítica.
- Analizar el comportamiento de las propiedades dinámicas y estructurales de los residuos aminoácidos que Conforman el asa interdigitante.

V. Objetivos Particulares

- Analizar el comportamiento de las propiedades dinámicas y estructurales de los residuos catalíticos.

VI. Introducción

- La enfermedad conocida como el Mal de Chagas o tripanosomiasis americana es una enfermedad causada por el parásito unicelular microscópico llamado *Trypanosoma cruzi*



Figura 1

Trypanosoma cruzi. Parásito causante del Mal de Chagas [1]

[1] <http://www.uta.edu/chagas/html/biolTcru.html>

VI. Introducción



Figura 2

Triatoma Infestans. [2]

- La enfermedad se transmite por la picadura de insectos hematófagos.

VII. Enzima *Triosafofato Isomerasa*

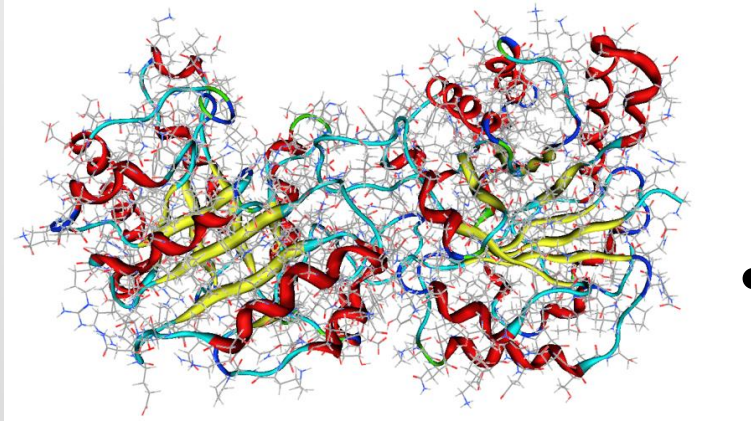


Figura 6.

Triosafofato Isomerasa
especie dimérica

- Se muestra una vista de la estructura molecular TIM
- Se ha planteado inhibir una enzima constitutiva de la ruta metabólica de la glucólisis

VII. Enzima *Triosafofato Isomerasa*

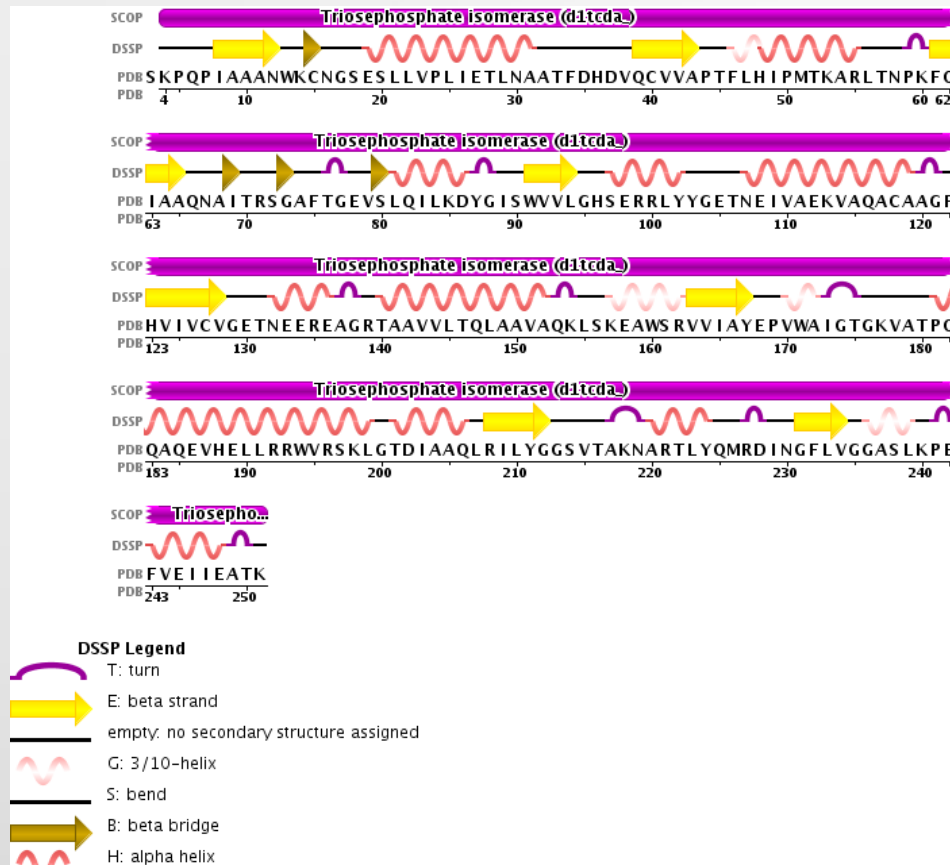


Figura 7.

Secuencia de 251 aminoácidos que conforman un monómero.

VII. Enzima *Triosafofato* *Isomeraza*

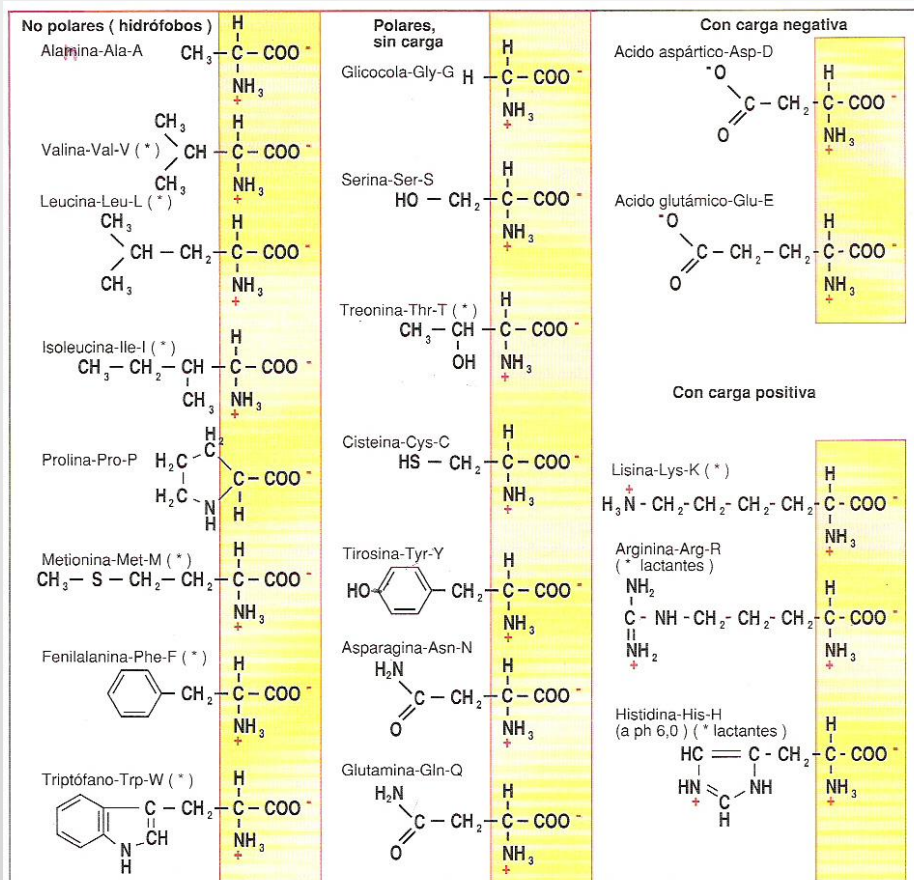


Tabla 8.1

Figura 8
Aminoácidos de las
proteínas[6]

[6]<http://www.bionova.org.es/biocast/tema08.htm>

VII. Enzima *Triosa*fosfato *Isomeraza*

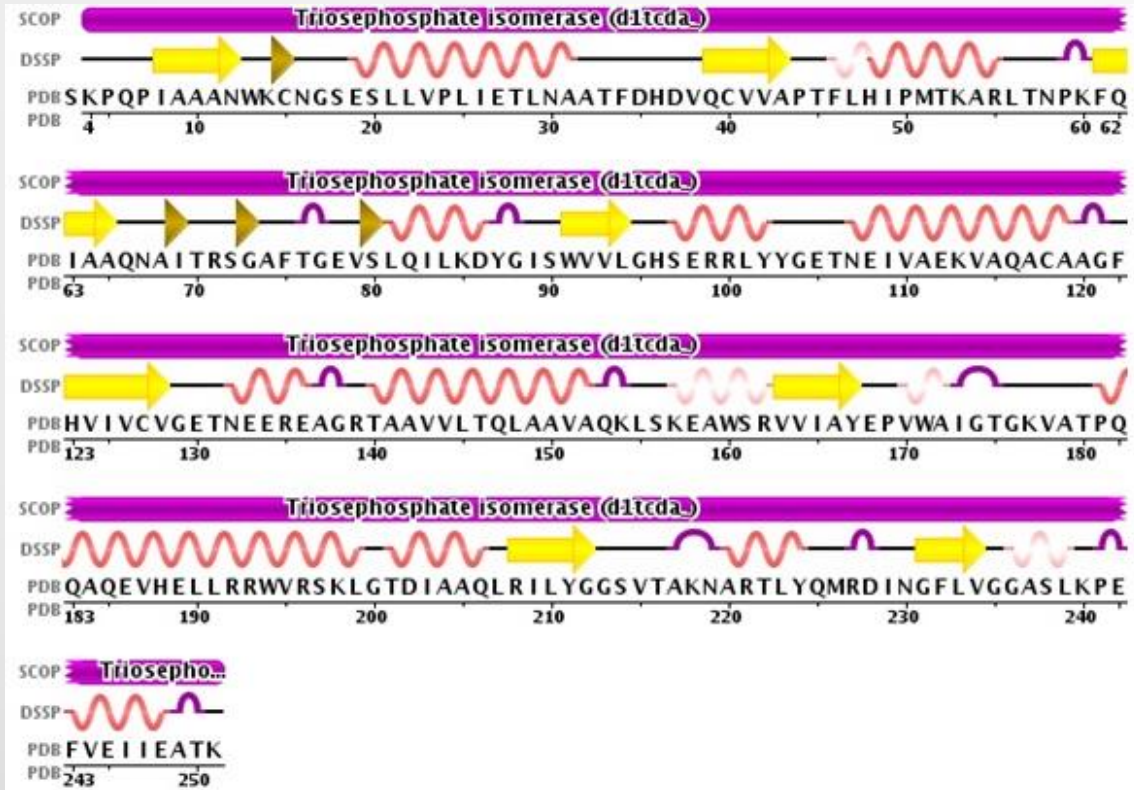


Figura 9

El asa 3 (residuos 75-78), es conocida como asa interdigitante por ensamblarse entre las asas 1 y 4 de la otra subunidad.

VII. Enzima *Triosafosfato Isomeraza*

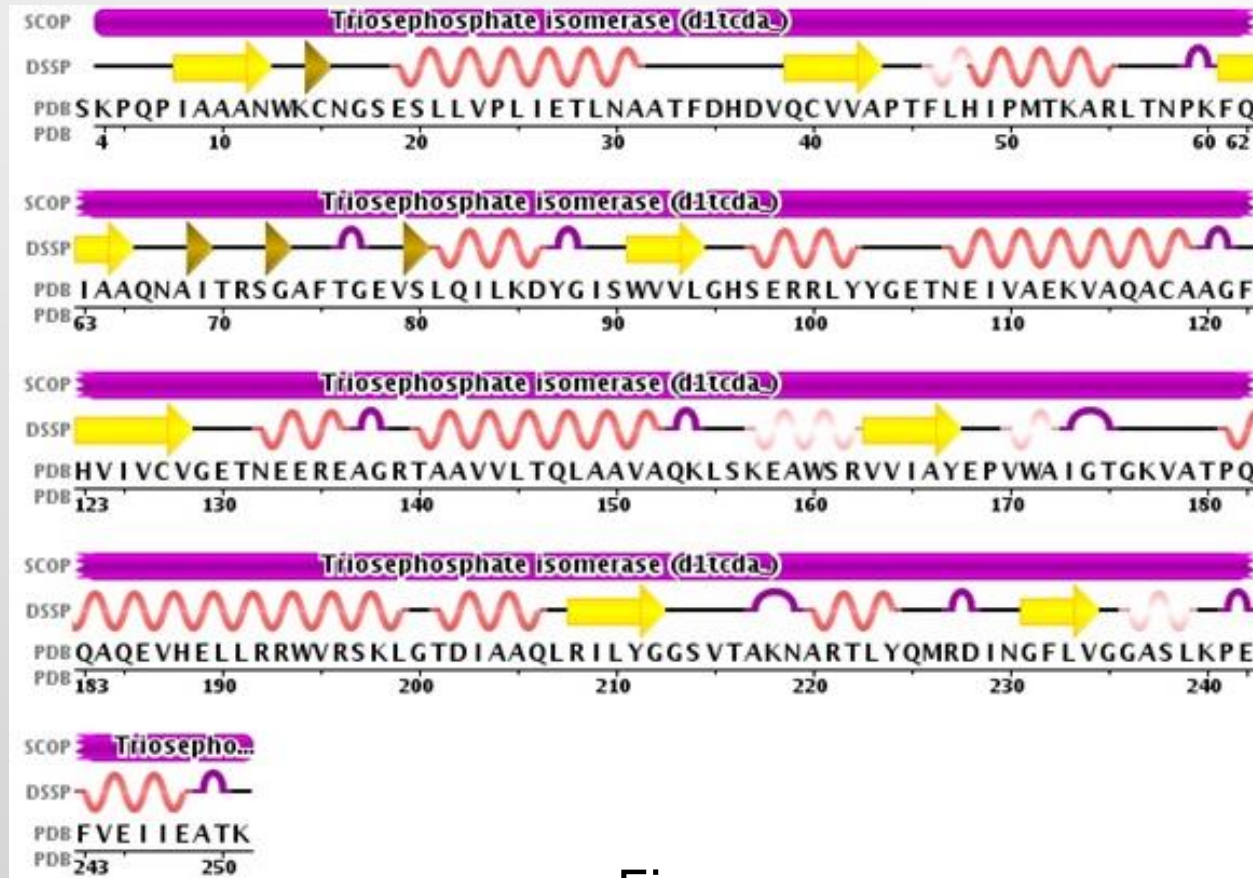


Figura 11

- El asa 6 o asa catalitica (residuos 153-155) forma una especie de tapa que sufre cambios de forma cuando se une el ligando ¹⁵

VII. Enzima

Triosafofato Isomeraza

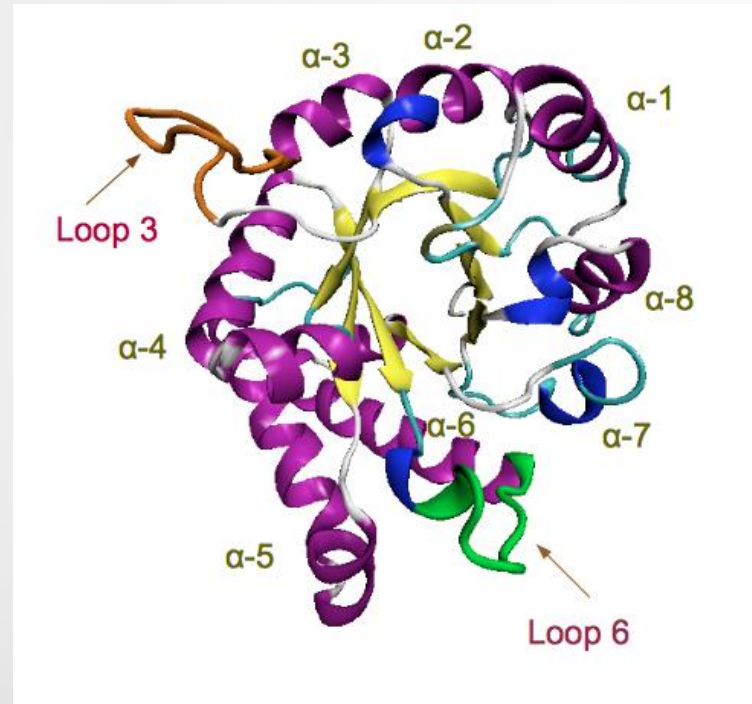


Figura 12.

Estructura monómerica de la TIM α -helix en morado, β -sheets en amarillo y los loops 3 y 6 en naranja y verde respectivamente.

VIII. Resumen

- El espacio conformacional de la enzima Triosafofato Isomerasa (TcTIM), se va a simular en su forma dimérica con el propósito de entender los detalles de la estructura molecular responsable de sus cambios de forma.

IX. Justificación

- Al estudiar el TcTIM con detalle en los residuos de aminoácidos que conforman el asa catalítica, asa interdigitante y los residuos catalíticos pretendemos encontrar relaciones entre la dinámica molecular, la formación, estabilidad y comunicación molecular de la TcTIM con los residuos que la constituyen.

IX. Justificación

- La información obtenida puede ser empleada en el planteamiento de soluciones a problemas que involucren directamente enfermedades donde la TcTIM tiene gran actividad
- Particularmente en el diseño de fármacos contra protozoarios que se sabe dependen de la glucólisis.

X. Metodología de simulación

- La simulación con dinámica molecular se basa en resolver numéricamente las ecuaciones clásicas de movimiento para un sistema de N partículas, Con masa m_i y posiciones $\mathbf{r}_i$ a un tiempo t a través de la segunda ley de Newton.

$$m_i \frac{d^2 \mathbf{r}_i}{dt^2} = \mathbf{F}_i \quad i = 1, \dots, N$$

Donde $\mathbf{F}$ es la fuerza que actúa sobre cada i partícula debido al potencial de interacción

X. Metodología de simulación

- Algoritmo Velocity-Verlet.

$$\mathbf{r}_i(\Delta t) = \mathbf{r}_i(0) + \frac{d\mathbf{r}_i}{dt}\Delta t + \frac{1}{2}\frac{d^2\mathbf{r}_i}{dt^2}\Delta t^2 + \dots$$

$$\mathbf{v}_i(\Delta t) = \mathbf{v}_i(0) + \frac{d\mathbf{v}_i}{dt}\Delta t + \frac{1}{2}\frac{d^2\mathbf{v}_i}{dt^2}\Delta t^2 + \dots$$

$$\mathbf{r}_i(\Delta t) \approx \mathbf{r}_i(0) + \mathbf{v}_i(0)\Delta t + \frac{\mathbf{F}_i(0)}{2m_i}\Delta t^2 + \mathcal{O}(\Delta t^3)$$

- Algoritmo SHAKE . donde $\mathbf{F}_i$ son las fuerzas dadas por la ecuación

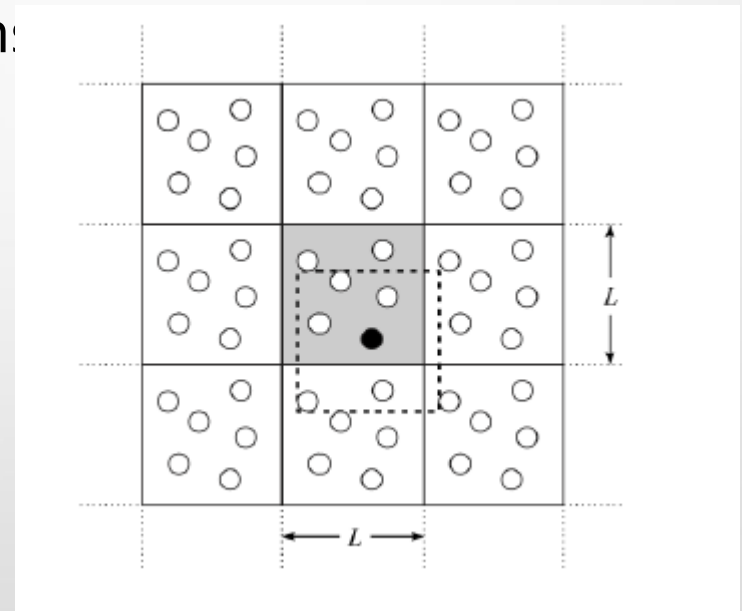
$$m_i \frac{d^2\mathbf{r}_i}{dt^2} = \mathbf{F}_i + \mathbf{F}_i^C$$

$\mathbf{F}_i^C$

El termino $\mathbf{F}_i^C$ representa las fuerzas de restricción actuando sobre la partícula i , cuyo único papel es mantener las distancias de enlace fijas.

X. Metodología de simulación

- Condiciones iniciales . Consiste en especificar las posiciones iniciales de las partículas que lo conforman
- Condiciones periódicas de frontera



X. Metodología de simulación

$$U_p(r) = U_{intra}(r, \theta, \phi) + U_{inter}(r)$$

- Campo de fuerza de CHARMM (Chemistry at HARvard Molecular Mechanics)

$$U_{intra}(r, \theta, \phi) = U_D(r_{ij}) + U_A(\theta_{ijk}) + U_{AD}(\phi_{ijkl})$$

$$U_{inter}(r) = U_{LJ}(r_{ij}) + U_{Coulomb}(r_{ijk})$$

XI. Propiedades Dinámicas

- Desplazamiento cuadrático medio (RMSD).

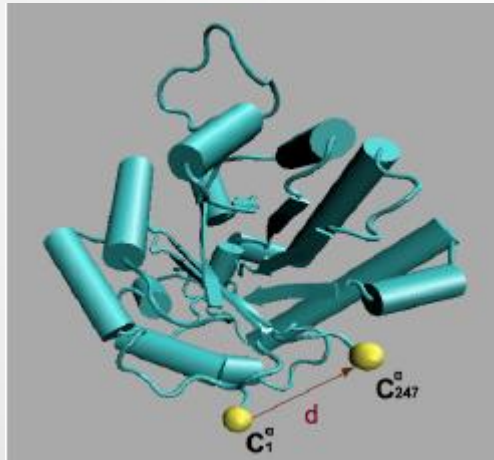
$$RMSD(i) = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \langle x_i \rangle)^2 + (y_i - \langle y_i \rangle)^2 + (z_i - \langle z_i \rangle)^2}$$

- Fluctuaciones del desplazamiento cuadrático medio (RMSF) .

$$RMSF(i) = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \langle x_i \rangle)^2 + (y_i - \langle y_i \rangle)^2 + (z_i - \langle z_i \rangle)^2}$$

XI. Propiedades Dinámicas

- Distancia extremo-extremo.



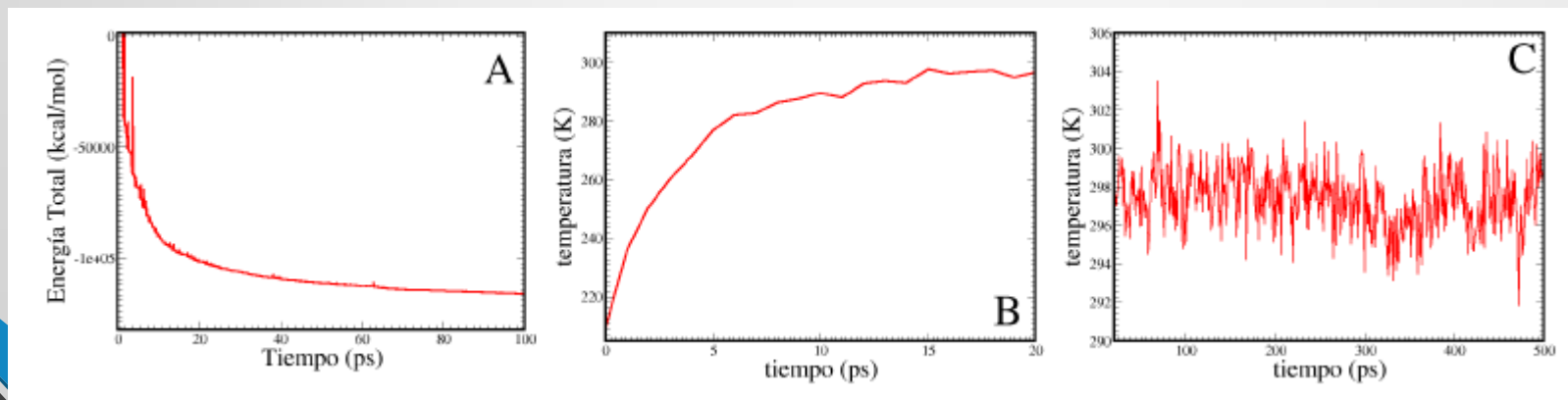
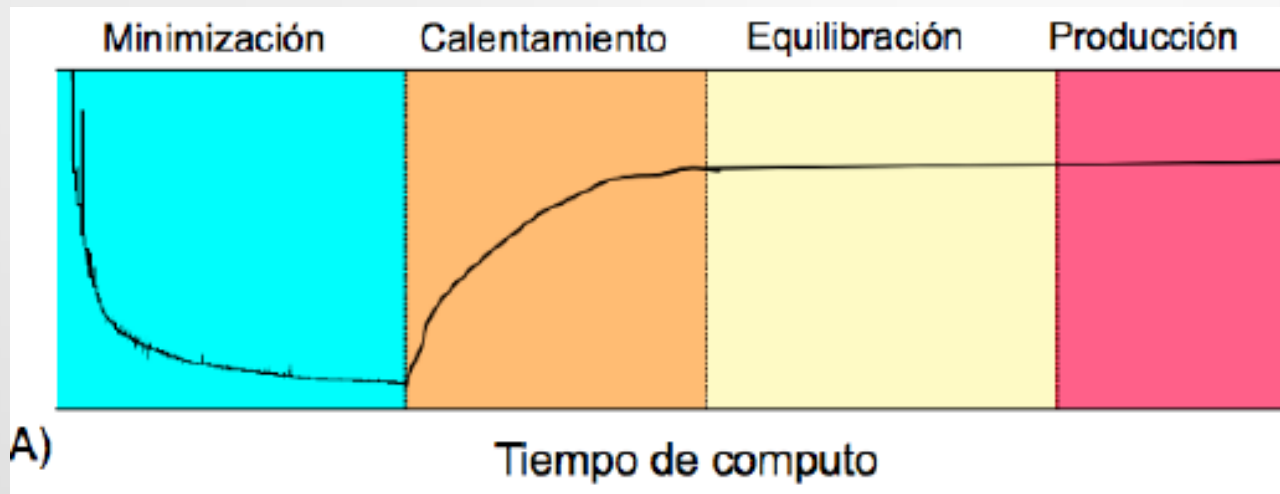
XII. Propiedades Termodinámicas

- Calculo del factor de temperatura (Teorema de equipartición).

$$B_i = \frac{8}{3}\pi^2 \langle \Delta r_i^2 \rangle$$

Propiedades Químicas

- Puentes de hidrogeno: Un puente de hidrogeno (HB) es una interacción no covalente que se establece entre dos átomos electronegativos (generalmente F, O, N, S) y un átomo de hidrogeno H.
- Cambios químicos: Los cambios químicos son una medida del índice de reactividad de los átomos en una proteína y se miden en base a la posición de los átomos a partir de una base de datos establecida.



XIII. Avances

- Se realizó la revisión Bibliográfica que nos permitió conocer la forma estructural de la Triosafofata Isomeraza del *Tripanosoma Cruzi* en su forma dimerica además de permitirnos reconocer la descripción estructural de las asas interdigitantes y catalíticas.

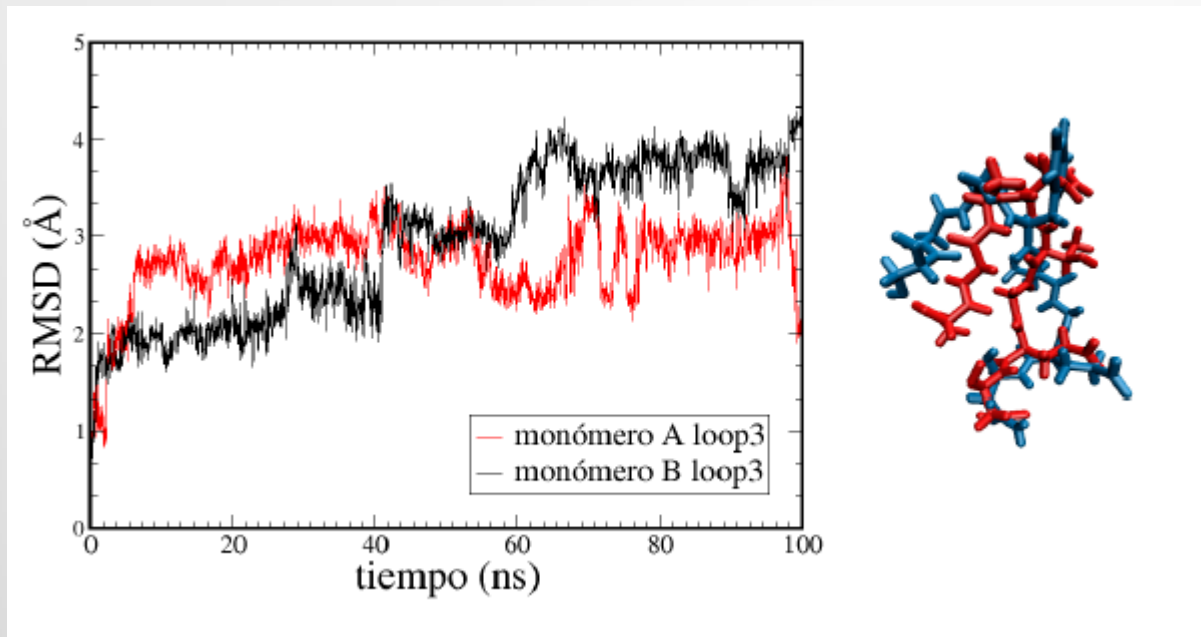
XIII. Avances

- Se desarrolló la habilidad necesaria para utilizar el sistema operativo Linux, el programa para ver moléculas Visual Molecular Dynamic (VMD) y el de paquete NAMD encargado de desarrollar dinámica del sistema a estudiar,
- Se asistió al curso de Dinámica Molecular Impartido por el Dr. Roberto López Rendón. En las instalaciones de la Facultad de Ciencias Perteneciente a la UAEMéx.

XIII. Avances

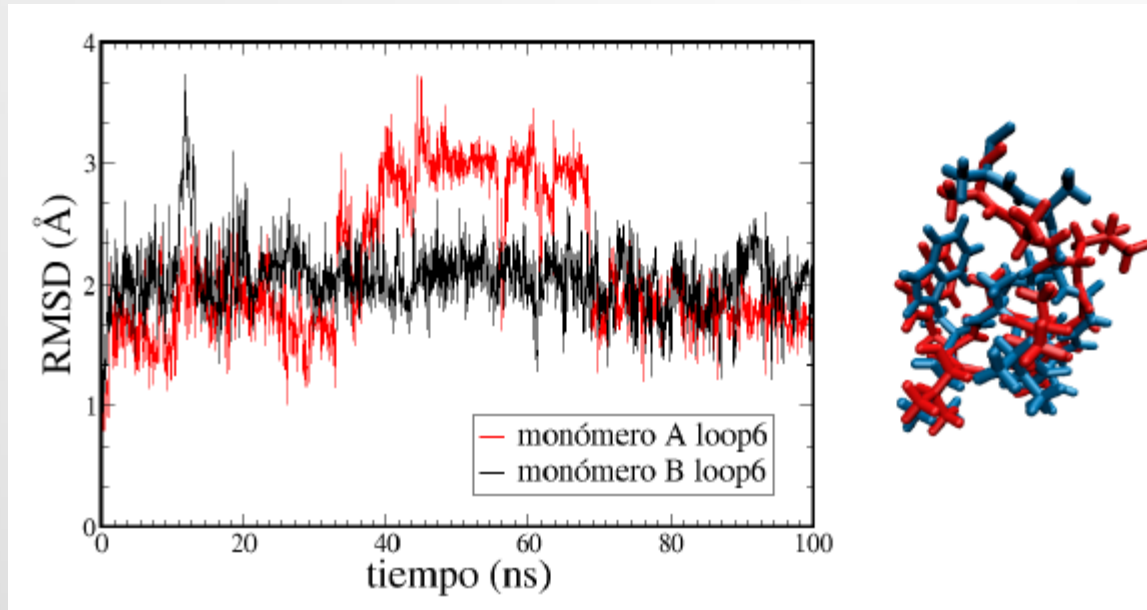
- Se analizaron algunas graficas del trabajo Estudio Computacional de la Proteína Triozafosfato Isomerasa de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* ScTIM [9].
- Actualmente se están llevando a cabo las simulaciones de los monómeros A y B en su forma solvatada.

Análisis de las propiedades dinámicas



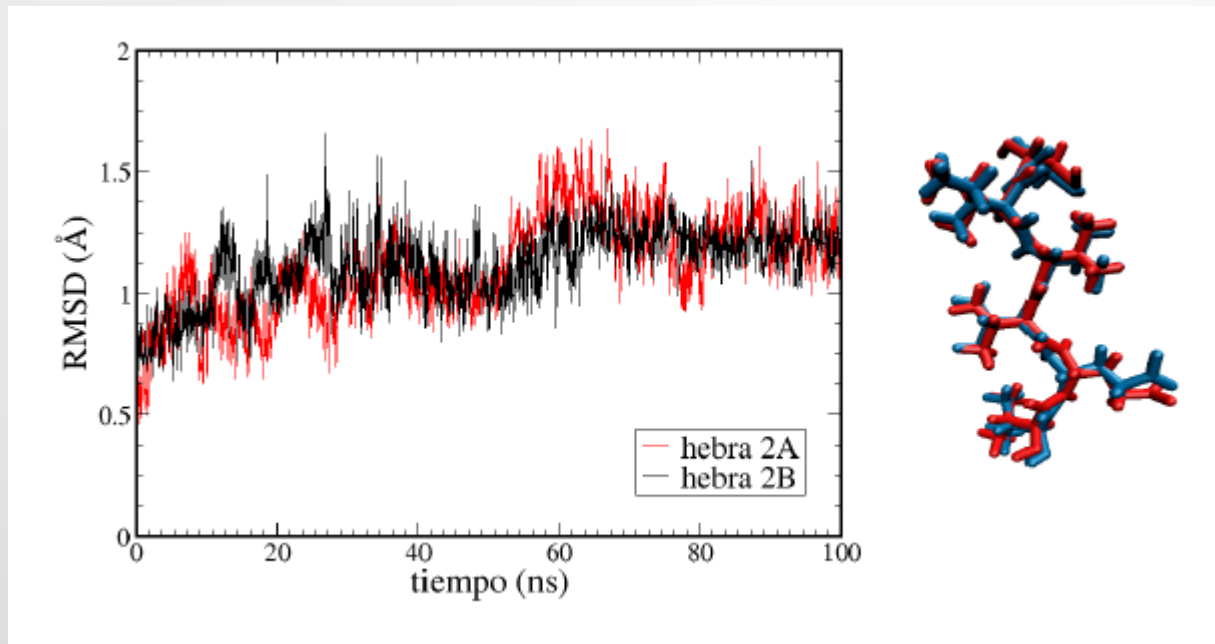
El asa interdigitante (loop3) de cada monómero registra una trayectoria independiente por monómero, siendo el loop3 del monomero B el que registra mayor movilidad.[7]

Análisis de las propiedades



El asa catalítica (loop 6) posee poca movilidad en el monomero B, mientras que en el monomero A se registra un cambio conformacional de los 40-70 ns.[7]

Análisis de las propiedades dinámicas



La hebra 2 se analiza para mostrar que los residuos de aminoácidos que no forman parte del asa interdigitante, asa catalítica o sitios activos muestran poca movilidad, observándose un ensamble perfecto en la trayectoria y en la estructura.[7]

XIV. Referencias

- [1]<http://www.uta.edu/chagas/html/biolTcru.html>
- [2] <http://construyendosalud.bligoo.com.ar/lo-que-no-mata-fortalece>
- [3]<http://malena-rubinkas.blogspot.mx/p/mal-de-chagas.html>
- [4]<http://ciencias.jornada.com.mx/noticias/estudian-geneticamente-al-agente-del-malde-chagas>
- [5] OPS/HDM/CD/425-06 Estimacion cuantitativa de la enfermedad de Chagas en las Americas.
- [6]<http://www.bionova.org.es/biocast/temao8.htm>
- [7]E. Lolis, T. Alber, R. C. Davenport, D. Rose, F. C. Hartman, and G. A. Petsko, Structure of yeast triosephosphate isomerase at 1.9-Å resolution, Biochemistry 29 (1990) 6609-6618.
- [8] <http://www.pdb.org>
- [9] Norma Elizabeth González Díaz. Estudio Computacional Del Espacio Conformacional de la Proteina Triosafofato Isomeraza. Tesis de Licenciatura