

Universidad Católica de Santa María

Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y
Biotecnológicas

Escuela profesional de Ingeniería Biotecnológica



TITULO DEL PROYECTO DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

Proyecto de Trabajo de investigación
presentado por:

Haruna Luz Barazorda Ccahuana

Para optar el grado académico de
Bachiller en Ingeniería Biotecnológica

Asesora:

Dra. Haruna Luz Barazorda Ccahuana

Arequipa – Perú

2023

Contenido

Contenido	1
1 Introducción	3
2 Planteamiento de la Investigación	5
2.1 Problemática de la investigación	5
2.2 Pregunta de investigación	5
2.3 Justificación	6
2.4 Alcance	6
2.5 Objetivos	6
2.5.1 General	6
2.5.2 Específicos	6
2.6 Hipótesis	6
2.7 Variables e indicadores	7
2.8 Tipo y Nivel de Investigación	7
3 Antecedentes y Marco Teórico	8
3.1 Estado del Arte	8
3.2 Marco Teórico	8
3.3 Marco Legal	8
4 Planteamiento Metodológico	9

4.1	Lugar en donde se desarrollará la investigación	9
4.2	Ambientes por utilizar	9
4.3	Materiales	9
4.3.1	Hardware	9
4.3.2	Software	9
4.3.3	Servidores	10
4.4	Métodos	11
4.5	Diseño experimental	11
4.6	Flujograma de actividades	11
5	Cronograma y Presupuesto de la Investigación	12
5.1	Cronograma	13
5.2	Presupuesto	14
Anexos		15

Capítulo 1

Introducción

Helicobacter pylori es una bacteria Gram-negativa que coloniza el estómago, clasificado como el principal factor de riesgo de enfermedades gastrointestinales, como gastritis, ulceración gástrica y duodenal y carcinoma gástrico. *H. pylori* tiene mecanismos para sobrevivir en el estómago humano, teniendo como primera línea de defensa a la producción de ureasa la cual le proporciona un ambiente neutro a fin de llegar hasta la célula hospedera.

Entre ellos, el régimen de erradicación utilizado con mayor frecuencia fue la triple terapia consistente en amoxicilina, claritromicina e inhibidores de la bomba de protones. Aunque esta terapia tiene una tasa de éxito del 80%, los efectos secundarios indeseables, el cumplimiento deficiente y la resistencia a los antibióticos no se pueden ignorar, lo que compromete su aplicación clínica hasta cierto punto.

La ureasa es una característica biológica importante de las patologías inducidas por *H. pylori*. La ureasa inicia la hidrólisis de la urea que genera amoníaco para neutralizar el ácido del estómago a fin de crear un entorno de pH adecuado que la bacteria necesita para sobrevivir y colonizar. En la unidad estructural de ureasa, los iones de níquel (Ni^{2+}) y los grupos sulfhidrilo, en el sitio activo de la enzima, son esenciales para el efecto catalítico de la ureasa. La actividad de la ureasa también se ha considerado como el factor influyente de la utilización de nitrógeno en los organismos. La ureasa causa la descomposición y reabsorción de la urea, lo que conduce a una elevación anormal del pH ambiental e induce una variedad de enfermedades en el cuerpo humano. Por lo tanto, la ureasa se considera un objetivo crítico en la investigación y la explotación de agentes antibacterianos. Los componentes bioactivos de origen natural han sido

objeto de enormes investigaciones como posibles inhibidores de la ureasa eficaces para el tratamiento de la infección por *H. pylori*.



Capítulo 2

Planteamiento de la Investigación

2.1 Problemática de la investigación

2.2 Pregunta de investigación

Actualmente alrededor del 50% de la población mundial se ve infectada por el microorganismo *Helicobacter pylori*, siendo la actividad ureasa esencial para su sobrevivencia en el medio ácido del estómago, creando un entorno neutro a la bacteria hasta llegar a colonizar. Desde su descubrimiento el diagnóstico, tratamiento y las indicaciones para su erradicación de la infección ha cambiado considerablemente. Aunque *H. pylori* es sensible *in vitro* a una gran variedad de fármacos (antibióticos y no antibióticos) cuando éstos han sido aplicados en la clínica, muchos de ellos no han resultado eficaces en la erradicación.

2.3 Justificación

2.4 Alcance

2.5 Objetivos

2.5.1 General

Estudiar *in silico* el acoplamiento molecular de la ureasa de *Helicobacter pylori* con la alicina del ajo (*Allium sativum*).

2.5.2 Específicos

- Determinar el modelo molecular del complejo supramolecular ureasa.
- Analizar mediante modelado molecular el complejo supramolecular ureasa.
- Estudiar el acomplamiento molecular receptor-ligando

2.6 Hipótesis

Con el avance de la química, física y biología computacional es factible comprender el acoplamiento molecular de la alicina de *Allium sativum* y la ureasa de *H. pylori*

2.7 Variables e indicadores

Variables	Indicadores	Subindicador
Factor de patogenicidad	Proteínas implicadas en la infección por <i>H. pylori</i>	Complejo supramolecular Ureasa
Blancos terapeuticos	Sitios activos más drogables	Score de drogabilidad, %hidrofobicidad
Inhibidores	Moléculas con capacidad inhibitoria	Estructuras moleculares (alicina y ácido N-glicilglicina hidroxámico)
Delta G	Energía de union receptor - ligando	Valores en Kcal.mol ⁻¹

2.8 Tipo y Nivel de Investigación

- Tipo: Computacional
- Nivel: Descriptivo

Capítulo 3

Antecedentes y Marco Teórico

3.1 Estado del Arte

3.2 Marco Teórico

3.3 Marco Legal

Capítulo 4

Planteamiento Metodológico

4.1 Lugar en donde se desarrollará la investigación

4.2 Ambientes por utilizar

4.3 Materiales

4.3.1 Hardware

Workstation con procesador E7 de 3.0 GH, con 64 GB de memoria RAM, con tres discos duros de 1,4 y 6 GB, 04 Tarjetas Aceleradoras de Video NVidia GTX 980.

4.3.2 Software

- **GROMACS (GRoningen MACHine for Chemical Simulations).** Es un programa de alto rendimiento, de código abierto, multiplataforma utilizado para realizar la simulación de la dinámica molecular de sistemas con cientos de millones de partículas. Gromacs fue originalmente desarrollado en la Universidad de Groningen, pero por ser de código abierto ha sido reimplementado por muchos otros desarrolladores.
- **APBS (Adaptive Poisson-Boltzmann Solver).** Programa que resuelve las ecuaciones de la electrostática continua para grandes conjuntos biomoleculares a nanoescala. Este software fue diseñado "desde cero" utilizando principios de

diseño modernos para asegurar su capacidad de interactuar con otros paquetes computacionales y evolucionar a medida que los métodos y aplicaciones cambian con el tiempo. El código APBS se acompaña de una amplia documentación para usuarios y programadores y cuenta con el respaldo de una variedad de utilidades para preparar cálculos y analizar resultados. Finalmente, la licencia APBS es de código abierto garantizando su accesibilidad a toda la comunidad biomédica.

- **Fpocket.**
- **VMD (Visual Molecular Dynamics).** Programa de modelado molecular y visualización de estructuras, usado para visualizar moléculas y leer archivos del PDB (Protein Data Bank) y mostrar el contenido de la estructura.
- **Chimera UCSF.** Es un programa extensible para visualización interactiva y análisis de estructuras moleculares y datos relacionados, incluyendo mapas de densidad, ensamblajes supramoleculares, alineamientos de secuencia, resultados de atraque, trayectorias y conjuntos conformacionales. Se pueden crear imágenes y películas de alta calidad. Chimera incluye documentación completa y se puede descargar de forma gratuita para uso no comercial.

4.3.3 Servidores

- **NCBI (National Center of Biotechnology Information).** Es una importante fuente de información de biología molecular, la cual almacena y actualiza la información referente a secuencias genómicas en GenBank, un índice de artículos científicos referentes a biomedicina, biotecnología, bioquímica, genética y genómica en PubMed, una recopilación de enfermedades genéticas humanas en OMIM, además de otros datos biotecnológicos de relevancia en diversas bases de datos. Esta se encuentra bajo la siguiente dirección: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/guide/all/>
- **PDB (Protein Data Bank).** Es una base de datos que almacena información de estructuras tridimensionales y macromoléculas como: proteínas y ácidos nucleicos. Estas estructuras generalmente obtenidas por cristalografía de rayos X y resonancia magnética nuclear RMN, disponible bajo la siguiente dirección <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>
- **PATCHDOCK.**

4.4 Métodos

4.4.0.1 Preparación de la estructura molecular

Se usarán las bases de datos confiables, las que actualmente albergan una librería de información sobre secuencias de ADN y proteínas como: el NCBI (National Center of Biotechnology Information) y la base de datos de estructuras obtenidas por cristalografía de rayos X y RMN (Resonancia Magnética Nuclear), como el PDB (Protein Data Bank).

4.4.0.2 Modelamiento estructural de ureasa

En principio se hará uso del servidor PROPKA para hallar los diferentes estados de pKa de cada residuo que conforma la estructura de estudio para posteriormente mediante métodos de Monte Carlo el cual permitirá la simulación de los estados que siguen la probabilidad dada de un espacio de grandes dimensiones, esencialmente para generar muestras justas de una probabilidad de los estados de protonación adecuados para un pH 7.

Prontamente se hará uso de la mecánica clásica para la optimización de la geometría molecular de la ureasa, teniendo en cuenta que es un complejo supramolecular conformada de doce cadenas de dímeros alfa y beta, haciendo un total de 24 cadenas de proteínas, se usará el programa Gromacs para los cálculos mecánico clásicos considerando un colectivo canónico NVT (número de moléculas, volumen y temperatura constante), una caja cúbica de 1.5 de distancia con respecto de la proteína, son solvente explícito (modelo de agua TIP4P), una minimización de 1000ps de relajamiento hasta la obtención del mínimo local de energía mediante el algoritmo de gradiente descendiente y finalmente la simulación de dinámica molecular hasta encontrar la convergencia de todo el complejo supramolecular. Estos cálculos se harán mediante el programa Gromacs.

Finalmente se usará de visualizador gráfico al programa VMD.

4.5 Diseño experimental

4.6 Flujograma de actividades

Capítulo 5

Cronograma y Presupuesto de la Investigación



5.1 Cronograma

Descripción	Mes											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Búsqueda de información												
Compilación de información												
Modelamiento estructural del complejo supramolecular Ureasa												
Dinámica de montecarlo												
Simulación de dinámica molecular												
Análisis de sitios activos												
Acoplamiento Molecular												
Análisis de resultados												
Presentación de tesis												

5.2 Presupuesto



Anexos

