

Detalles del plan a ejecutar Proyecto Simulación PUJ

March 18, 2022

1 Insumos

- Estructuras de interes (bcl-2, bcl-xl): <https://www.rcsb.org/structure/2XA0>, <https://www.rcsb.org/structure/2YXJ>, <https://www.phosphosite.org/proteinAction?id=926&showAllSites=true> (el 570 en esta esta mas depurada)
- Campos de fuerza: CHARMM27 all-atom force field (CHARM22 plus CMAP for proteins), con solvente explícito Tip3p Código de MD: Gromacs, NAMD o LAMMPS
- Automatizar el proceso de paso del PDB para la sim con <https://server.poissonboltzmann.org/pdb2pqr>
- Compuestos bio-activos candidatos: Genistein, Liquiritigenin, Chlorogenic acid, Caffeic acid
- Docking: <https://www.bonvinlab.org/software/bpg/>

2 Objetivo

Elucidar los potenciales mecanismos de acción antiproliferativa de los compuestos fenólicos obtenidos del residuo de la caña de azúcar, mediante simulaciones dinámicas basadas en primeros principios fisicoquímicos de su interacción con objetivos moleculares específicos.

3 Background

Los mecanismos biológicos de acción y los objetivos moleculares de los compuestos fenólicos no se conocen plenamente, y necesitan ser estudiados para determinar las relaciones de la actividad estructural, la potencia de los subgrupos moleculares en cada clase, y para desarrollar nuevos compuestos naturales derivados con mayor actividad antiproliferativa.

Las técnicas experimentales son limitadas en alcance y capacidad, así que las simulaciones moleculares de los primeros principios fisicoquímicos (p. ej. mecánica y dinámica cuántica o molecular) ofrecen una alternativa viable, precisa y eficiente para hacer frente a estos desafíos. Esto implica:

- Obtener estructuras moleculares completas y conformaciones para los potenciales objetivos moleculares involucrados en la respuesta antiproliferativa, sus ligandos nativos y los potenciales compuestos bioactivos.
- Caracterizar la interacción de cada familia de compuestos con diferentes objetivos moleculares asociados con la respuesta antiproliferativa,
- Desarrollar modelos de interacciones para describir la afinidad química y termodinámica de cada compuesto bioactivo con los diferentes sitios activos en cada objetivo molecular, y
- Clasificar la eficacia de la bioactividad de cada compuesto usando métricas mecánicas, termodinámicas y cinéticas mediante simulaciones moleculares basadas en primeros principios.

4 Propuesta

Emplear métodos para simular la dinámica de interacción molecular entre los compuestos fenólicos y los objetivos moleculares asociados con la respuesta antiproliferativa. Los objetivos escogidos para este estudio serían telómeros de ADN/RNA humanos con secuencias d-(TTAGGG) que llevan al acortamiento cromosomal y apoptosis, y proteínas de la familia antiapoptosis bcl-2.

La proteína antiapoptosis bcl-2 previene la activación Bax para formar un heterodímero que es responsable de la liberación del citocromo c de las mitocondrias al citosol, en respuesta a la señal de muerte.

Modelaremos la interacción entre los compuestos fenólicos en el surco hidrofóbico de la bcl-2 para determinar su eficiencia (energía de interacción) y su efecto sobre la alteración de la estructura, es decir, cambios conformacionales en el complejo bcl-2-Bax.

5 Plan Propuesto

1. Preparar estructuras modelo para los diferentes objetivos moleculares de respuesta antiproliferativa o antiapoptótica (i.e. telómeros de ADN/ARN y complejo bcl2-Bax), sus ligandos nativos y los compuestos bioactivos determinados a partir de la extracción y caracterización experimental. Esto incluye preparar o extraer y separar de la base de datos de proteínas (banco pdb) las estructuras cristalográficas objetivo, asignar cargas puntuales a partir de distribuciones de carga tipo Mulliken, agregar solvente explícito (agua y contra iones).

2. De ser necesario, optimizar los parámetros de los campos de fuerza Dreiding (o CHARMM) para simulaciones de análisis conformacional y de ReaxFF para el caso de las simulaciones cinéticas-reactivas (ej. oxidación).
3. Agregar solvente explícito y contra iones en los diferentes modelos, y minimizar la energía total usando la plataforma de simulación molecular LAMMPS para optimizar la estructura de los objetivos moleculares y los ligandos (compuestos fenólicos) empleando métodos de gradiente conjugada. Se validarán las diferentes estructuras resultantes contra sus contrapartes cristalográficas disponibles empleando una norma RMSD. Esto incluye el reacoplamiento de ligandos nativos en los objetivos moleculares correspondientes, y la validación de los valores RMSD dentro de 2,0 Å de la estructura obtenida por simulación.
4. Acoplar mediante técnicas de docking y los potenciales atomísticos definidos, los modelos de compuestos bioactivos objetivo sobre el complejo bcl2-Bax y en las regiones intra-nucleótidas de los telómeros de ADN/ARN asociados con la respuesta antiproliferativa o antiapoptótica.
5. Ejecutar simulaciones con los campos de fuerza no reactivos y reactivos definidos en LAMMPS, empleando un ensamble canónico de cada sistema resultante del paso anterior hasta lograr equilibrio térmico (~ 2 ns), seguidas de 10-20 ns en equilibrio, calculando las propiedades de conformación (ej. RDF, Rg, plot de Ramachandran), mecánicas y termodinámicas de interés (ej. temperatura, presión, entropía, energía libre, especies químicas). Ordenar las conformaciones resultantes por energía total (normalizada) descendente, y por energías electrostáticas y polares de interacción entre objetivo y ligando.
6. Repetir las simulaciones dinámicas empleando perturbaciones de energía libre en simulaciones metadinámicas con Gromacs y Plumed (o LAMMPS y Plumed) para estudiar y comprender la relación estructura-actividad, a partir de los cambios de conformación, y correlaciones con entalpia, entropía y energía libre.
7. Caracterizar las interacciones atomísticas entre los compuestos bioactivos y los objetivos moleculares, incluyendo interacciones a través de grupos carbonilo (con ReaxFF), enlaces de hidrógeno y residuos de proteínas, interacciones hidrofóbicas, interacciones estéricas de van der Waals, entre otras, con Dreiding o CHARMM.
8. Clasificar la subfamilia de compuestos bioactivos a partir de las energías de interacción con el telómeros de ADN/RNA y el complejo bcl-2-bax, la estabilidad química y termodinámica del complejo, y los cambios conformacionales asociados con la activación de los objetivos moleculares, para identificar los mecanismos primarios asociados con la respuesta antiproliferativa o antiapoptótica.