

Cambios conformacionales en proteínas inducido por interacción con ligandos: El enlazamiento en superficie de un derivado de GABA un neurotransmisor.

PROBLEMA

Las proteínas son un objetivo de estudio muy interesante y útil desde muchos enfoques; entender su funcionamiento y mecanismos de interacción con fármacos permitan dilucidar estrategias en el combate de enfermedades, o en el desarrollo de nuevas propuestas farmacológicas; los cambios conformacionales de las proteínas se encuentran íntimamente relacionados con su funcionamiento biológico, los cambios inducidos por ligandos y su correlación con las propiedades fisicoquímicas de la interacción, proporcionan la información necesaria para el planteamiento de modelos de interacción, transporte o reconocimiento de fármacos.

OBJETIVO GENERAL

El presente trabajo busca demostrar a través de estrategias espectroscópicas, volumétricas y computacionales, el mecanismo de interacción entre la Ovoalbúmina (OVA) y un derivado del neurotransmisor ácido gamma-aminobutírico (NPG, Figura 1) como molécula sonda, para establecer criterios de estudio en el modelaje de fármacos y su interacción con proteínas en ambientes fisiológicos.

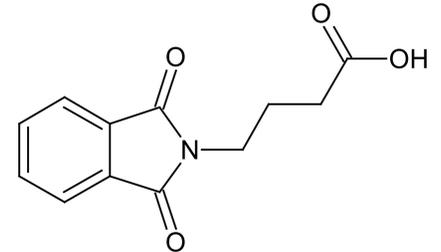


Figura 1. Derivado Ácido N-ftaloil gamma aminobutírico

PROPUESTA

Las proteínas pueden ser clasificadas según su funcionalidad biológica, en esta propuesta se emplearon técnicas espectroscópicas, densitométricas y computacionales para el estudio de la interacción del sistema OVA-NPG y la caracterización de los cambios conformacionales como estrategia de transporte de fármacos.

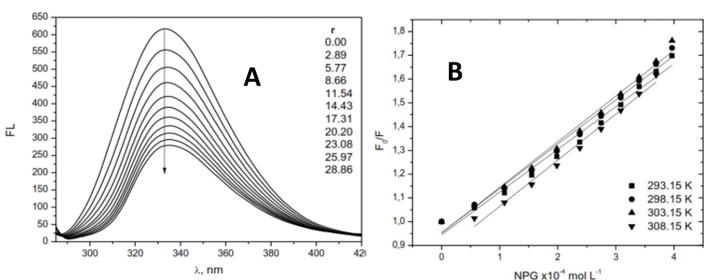


Figura 1. Abatimiento de la fluorescencia intrínseca como función de la concentración de NPG (A). Análisis de Stern-Volmer 293-308 K (B)

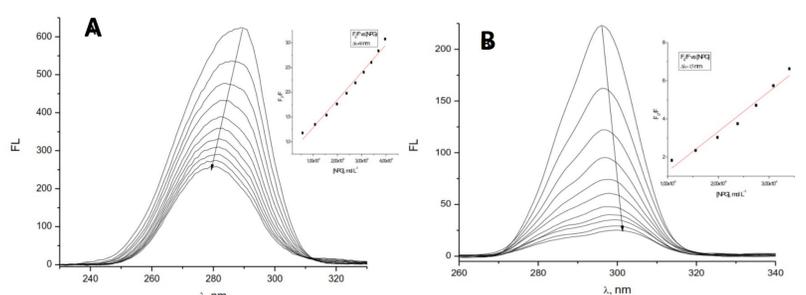


Figura 2. Fluorescencia sincrónica $\Delta\lambda=60$ (Trp)(A) y $\Delta\lambda=15$ (Tyr)(B)

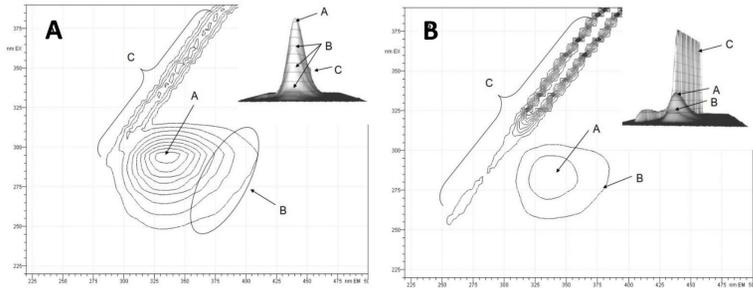


Figura 3. Fluorescencia 3D de la OVA (A) y del complejo OVA-NPG (B)

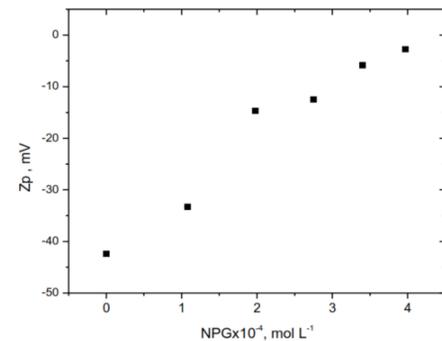


Figura 4. Cambio del potencial zeta (ζ) de OVA en función de NPG

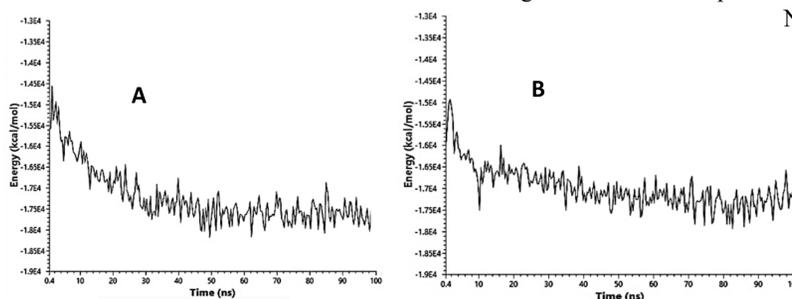


Figura 5. Fluctuación de estabilidad termodinámica de OVA con (A) y sin NPG (B)

RESULTADOS

T, K	$K_{SV} \times 10^3$ L mol ⁻¹	$K_q \times 10^{11}$ L mol ⁻¹ s ⁻¹	R ²
293.15	1.80	1.80	0.9833
298.15	1.86	1.86	0.9878
303.15	1.92	1.92	0.9881
308.15	1.94	1.94	0.9902

Tabla 1. Análisis de Stern-Volmer para el sistema OVA-NPG

T, K	$^a K_b \times 10^3$	n	R ² (COD)
293.15	0.96	1.3	0.9976
298.15	1.01	1.3	0.9971
303.15	1.07	1.3	0.9982
308.15	1.18	1.4	0.9948

^a K_b in L.mol⁻¹

Tabla 2. Estequiometría y constante de interacción OVA-NPG

T(K)	ΔH° (KJ/mol)	ΔS° (J/K mol)	ΔG° (KJ/mol)	R ² (COD)
293.15	10.34	92.21	-16.70	0.9644
298.15			-17.16	
303.15			-17.62	
308.15			-18.08	

Tabla 3. Energética de interacción OVA-NPG

Ova + NPG	Molecular Docking (kcal/mol)					Interaction ^b
	ADV Score ^a	DockT Score	MolDock Score	Rerank Score	Plants Score	
External cavity	-3.30	-5.846	-72.230	-60.742	-46.473	Lys367 ^{HB-SI} , Lys375 ^{HB-SI} , Ile369 ^{SI} , Asn372 ^{SI} , Asn380 ^{SI} , Ala378 ^{SI} , Ala370 ^{SI} , Thr276 ^{SI} , Thr267 ^{SI} , Leu241 ^{SI} , Leu272 ^{SI} , Leu251 ^{SI} , Leu263 ^{SI} , Phe269 ^{SI} , Met31 ^{SI} , Phe260 ^{SI} , Met8 ^{SI} , Thr273 ^{SI} , Thr264 ^{SI} , Ser264 ^{SI} , Ser277 ^{SI} , Ser268 ^{SI} , Ser269 ^{SI} , Ser278 ^{SI} , Ile377 ^{SI} .
Internal cavity	-4.70	-6.280	-72.187	-62.016	-45.780	Asn101 ^{HB(D)} and Thr104 ^{HB(D)} , Asn101 ^{SI(C)} , Lys105 ^{SI(C)} , Pro106 ^{SI(C)} , Leu100 ^{SI(D)} , Asn101 ^{SI(D)} , Gln102 ^{SI(D)} , Lys105 ^{SI(D)} , Pro106 ^{SI(D)} .

Tabla 4. Acoplamiento DOCKING virtual OVA-NPG

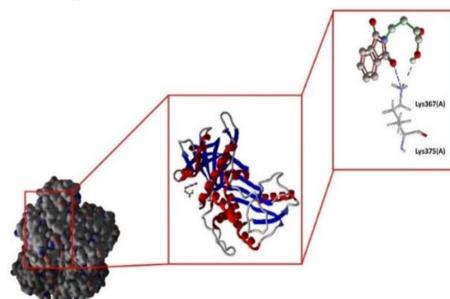


Figura 6. Representación del enlazamiento de NPG en superficie

- La evaluación del sistema OVA-NPG demostró que el ligando se asocia a través de mecanismos estáticos de interacción.
- La modificación conformacional de la OVA transcurre por acoplamiento en cavidad superficial sin afectar la estructura.
- La interacción OVA-NPG ocurre de manera espontánea con interacciones hidrofóbicas, enlaces de hidrógeno y neutralización de cargas como fuerza motriz.
- El modelaje computacional demostró concordancia con los datos experimentales.

CONCLUSIONES