

Diseño computacional de biosensores de fibra óptica selectivos a moléculas de importancia biológica

Nadia Elizabeth Perea Macias^{1,3}, Angel Martínez Guzmán^{2,3}, Jennifer Cruz Buenrostro³, María Guadalupe Padilla Solís^{3,4}, Valeria Aguilera Basaldua³, Veronica Padrón Vázquez³, Erik Diaz-Cervantes^{*3}

¹Campus León - División de ciencias e ingenierías - Licenciatura en Ingeniería Biomédica, ²Campus Guanajuato - División de Ciencias Naturales y Exactas – Licenciatura en Ingeniería Química, ⁴Campus Celaya-Salvatierra - División de Ciencias de la Salud e Ingenierías - Ingeniería en Biotecnología

³Departamento de Alimentos, Centro Interdisciplinario del Noreste (CINUG), Universidad de Guanajuato, 37975 Tierra Blanca, Guanajuato, México
e.diaz@ugto.mx³

Resumen

En la actualidad, se emplean fibras ópticas funcionalizados químicamente para fabricar una amplia gama de sensores. Desafortunadamente, hay poca información en la literatura sobre la estructura molecular de las mismas, siendo esta un área de oportunidad bastante amplia para generar conocimiento que nos conduzca a un diseño racional de los materiales funcionalizantes de las mismas. Por lo anterior, en el presente proyecto se plantea el modelado computacional de fibras ópticas funcionalizadas con materiales poliméricos, con la finalidad de evaluar la afinidad de estos con una serie de moléculas de importancia en ciencias de la salud, ciencias ambientales e industria de alimentos. Una vez teniendo los modelos y la simulación, considerando métodos basados en la química teórica y computacional, se plantea verificar la selectividad de estos con diferentes especies químicas, así como la caracterización molecular y electrónica de los mismos.

Palabras clave: fibra óptica; APTES-Alginato, biosensores; *docking*.

Introducción

La fibra óptica (OF, por su acrónimo en inglés) es un medio de transmisión empleado habitualmente en redes de datos; se compone frecuentemente de filamentos de vidrio de alta pureza, muy delgados y flexibles. Un cable de fibra óptica está compuesto por tres estructuras concéntricas: núcleo (core), revestimiento (cladding) y recubrimiento (buffer). El núcleo y el revestimiento de la fibra están hechos de dióxido de silicio; la luz se propaga a través de estos. Dicho recubrimiento sirve para dar resistencia mecánica, permitiendo su identificación a través de un código de colores. Aunque el núcleo y el revestimiento están constituidos del mismo material, tienen índices de refracción diferentes, lo que hace que la luz quede confinada y se propague sin escapar de la fibra.

En las últimas décadas se han propuesto varios sensores de fibra óptica por capas poliméricas sensibles como alternativa para detectar parámetros bioquímicos; el uso de estos “biosensores” presenta ventajas como la inmunidad a las interferencias electromagnéticas, alta sensibilidad, una respuesta más rápida, compacidad, entre otros. Sin embargo, la mayoría de los trabajos acerca de este tema no reportan un análisis teórico de la interacción entre la fibra de sílice y el agente a ser detectado, es por ello que nosotros utilizaremos *Docking* para predecir las posibles interacciones.

El acoplamiento molecular *in silico* (*Molecular Docking*) es un método computacional basado en la mecánica molecular; comúnmente se realiza entre una molécula pequeña y una macromolécula, aunque también es posible acoplar macromoléculas (Ver figura 1).

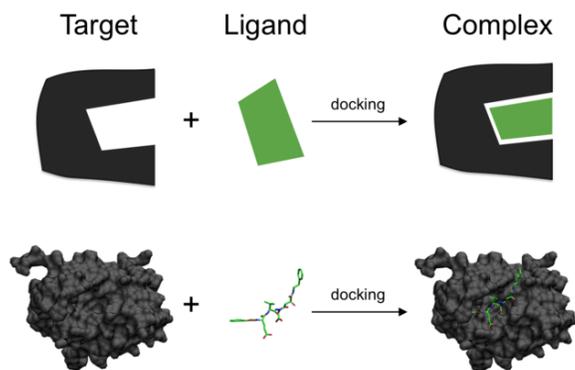


Figura 1. Acoplamiento molecular *in silico*.

La mecánica molecular implica la descripción de un sistema poliatómico utilizando física clásica. Comparado con otros métodos de la química computacional este es el menos preciso, dado que solo puede evaluar las interacciones no covalentes entre el blanco (la proteína en este caso) y el ligando (la fibra óptica), asimismo es también el método con un costo computacional más bajo. Para este trabajo elegimos una serie de proteínas pertenecientes a distintas patologías y blancos de importancia biológica.

SARS-CoV-2

El coronavirus (SARS-CoV-2) es una enfermedad respiratoria aguda con una amplia gama de manifestaciones: desde un simple resfriado, pasando por una neumonía leve, moderada o grave, hasta sepsis, shock séptico o la muerte. (Díaz-Castrillón & Toro-Montoya, 2021)

Al estar trabajando con la funcionalización de las fibras ópticas se dio a conocer que es de gran importancia saber que este dispositivo se concibe y realiza para detectar, monitorizar y medir parámetros relevantes en la salud humana por un lado (Oliva Marín, 2020) y por otro, para combatir su respectivo efecto ya que al estar trabajando con ello primero se tiene que estudiar de manera computacional la modificación química de (funcionalización) fibras ópticas, para promover la selectividad a microorganismos patógenos y en este caso el (SARS-CoV-2). A pesar de que ya tenemos 2 años con el virus presente, todavía su letalidad y afección se sigue presentando de manera continua en la población. (Alejandro García et al., 2020)

SOD1

Superóxido dismutasa 1 (SOD1) es un gen codificador de proteínas. Entre sus vías relacionadas se encuentran la respuesta al Ca^{2+} citosólico plaquetario elevado y la Desintoxicación de Especies Reactivas de Oxígeno. El superóxido dismutasa es una enzima antioxidante que se encuentra de manera natural en el organismo. Se trata de uno de los agentes antioxidantes más poderosos que se conocen, por lo que disminuye el estrés oxidativo, protegiendo a nuestra piel del daño causado por los radicales libres. (A, 2020)

Específicamente en las enfermedades genéticas, las mutaciones que pueden estar presentes en el gen SOD1 y la determinación de la actividad enzimática, se han abordado fundamentalmente en el síndrome Down, donde el gen puede estar sobre expresado, y en la forma familiar de la esclerosis lateral amiotrófica familiar, donde varias mutaciones en el gen SOD1 son agravantes de la patogénesis de esta enfermedad. Las mutaciones en el gen SOD1 se han identificado como la causa de diferentes formas de la ELA familiar, en esta enfermedad neurodegenerativa se afectan predominantemente las neuronas motoras de la corteza cerebral, de la médula y el tallo cerebral. Estas afectaciones provocan parálisis, depresión respiratoria y finalmente la muerte. También está relacionada con enfermedades como la talasemia, anemia de Fanconi, distrofia muscular de Duchenne, esclerosis lateral amiotrófica 1 y tetraplejía espástica e hipotonía axial progresiva, entre otras. (Castillo & Riverón, 2014).

Peuseudomonona areuginosa

Pseudomonas aeruginosa es un patógeno oportunista comúnmente asociado con infecciones en pacientes que sufren de fibrosis quística, quemaduras extensas en la piel o inmunidad suprimida

Viruela de *P. aeruginosa* está relacionado en gran medida con su capacidad para secretar en el medio ambiente una variedad de enzimas tóxicas y degradantes. Las más notables a este respecto son varias proteasas que pueden causar daño tisular extenso, interferir con las defensas del huésped y promover la propagación e invasión bacteriana durante la infección.

Unas de las funciones de las proteasas extracelulares bacterianas es la provisión de nutrientes fácilmente disponibles necesarios para el rápido crecimiento bacteriano. Los péptidos pequeños y aminoácidos libres liberados por las proteasas de las proteínas en el medio ambiente pueden ser absorbidos por las bacterias y utilizados como fuente de carbono y nitrógeno. (Cahan et al., 2001)

Materiales y Métodos

Para el acoplamiento molecular *in silico* primero se enviaron los ligandos elegidos para la funcionalización de la OF (APTES y alginato) al software Molegro Virtual Docker (MVD), usando el método propuesto por el Diaz-Cervantes y colaboradores (Jauregui-Vazquez et al., 2021). Para ello fue necesario hacer una calibración con el ligando co-cristalizado correspondiente hasta obtener un RMSD (Root-Mean-Square Deviation) de 3 Å o inferior, esto debe realizarse antes de cualquier *docking*.

Una vez calibrado el método, se realizó un *docking* “ciego” con la finalidad de determinar la mejor cavidad para la proteína, posteriormente realizamos un *docking* “específico” para cada ligando elegido en la cavidad determinada por el *docking* ciego. Una vez recopilados los datos y con el mejor ligando elegido realizamos el modelado de la OF empleando el software Avogadro considerando una optimización a nivel de mecánica molecular, específicamente con el campo de fuerza UFF (*Universal Force Field*) (Rappe et al., 1992) y el algoritmo de gradiente descendiente (Meza, 2010).

Ya con la OF modelada y funcionalizada se envió al espacio de trabajo en MVD donde anteriormente calibramos e hicimos el *docking* ciego. Finalmente se hizo un *docking* específico con las OF propuestas, obteniendo el mejor acomodo o pose, así como las principales interacciones no covalentes (enlaces de hidrogeno, interacciones electrostáticas y estéricas, energías de enlace e Interacciones por hidrofobicidad).

Resultados y Discusión

Siguiendo el método descrito anteriormente, se llevó a cabo la calibración del método con cada una de las proteínas propuestas, en la tabla 1 se puede observar el blanco, la proteína en específico, su código PDB y el RMSD resultante de la mejor calibración.

Tabla 1. Calibración del método

Blanco	Proteína	Código PDB	RMSD
Sars-Cov-2	SARS-CoV-2 proteasa principal (Mpro)	7CAM	0.72
SOD1	Superóxido dismutasa 1, gen codificador de proteínas	3CQP	2.1
<i>P. aeruginosa</i>	Relación Estructura-Función de Aminopeptidasa P de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	5WZE	0.97

Como fue descrito con anterioridad, se llevó a cabo un *docking* ciego para identificar la cavidad más viable en la que se puedan acoplar la OF y los ligandos. En la figura 2 se pueden apreciar las mejores cavidades para cada proteína.

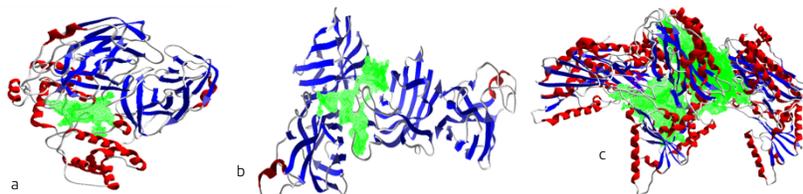


Figura 2. Resultados del Docking ciego para: a) Sars-Cov-2, b) SOD1 y c) *P. aeruginosa*.

A continuación, se realizó el docking específico solamente con los ligandos, es decir, sin estos estar enlazados a la OF con la finalidad de ver sus interacciones por separado e intentar predecir el acoplamiento una vez unido a la OF (ver tabla 2).

Tabla 2. Resultados de la interacción de los ligandos sin la OF

Blanco	Molécula	E (kcal/mol)	LE (kcal/mol)	HBonds	Electro	VdW
Sars-Cov-2	APTES	-101.81	-5.35	-2.91	0.00	-24.41
	Alg-acid	-82.72	-3.30	-13.96	0.00	-41.00
SOD1	APTES	-114.23	-6.01	-7.84	0.00	-14.42
	Alg-acid	-79.61	-3.18	-12.72	0.00	-21.33
<i>P. aeruginosa</i>	APTES	-85.20	-4.48	-9.46	0.42	-15.00
	Alg-acid	-54.47	-2.17	-4.51	-2.31	-30.7

Cualitativamente con las imágenes que se presentan en la tabla 3, podemos decir de primera impresión que para todos los casos el ligando que mejor interactúa con la cavidad elegida en el docking ciego es el APTES, misma afirmación que se demuestra al revisar la hidrofobicidad de los blancos. De manera cuantitativa y con la eficiencia del ligando (LE) obtenida (ver tabla 2) podemos afirmar que, para todos los blancos el mejor ligando es el APTES, sin embargo, los resultados también indican que para *P. aeruginosa*, las energías Electrostática (Electro) y de Van der Waals (VdW) son más significativas para el mejor ligando (APTES), en el caso de los blancos de Sars-Cov-2 y SOD1 los enlaces de hidrogeno (HBonds) y las fuerzas de VdW resultan ser más significativos, aunque no determinantes para que el alginato sea el mejor ligando.

Tabla 3. Resultados del docking con Alginato y APTES

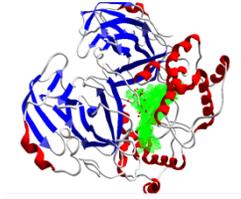
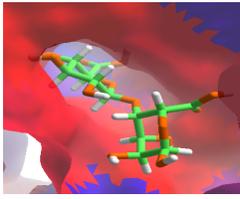
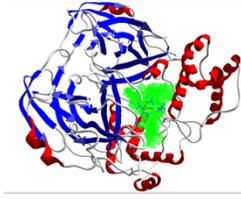
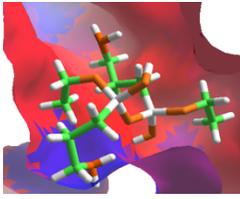
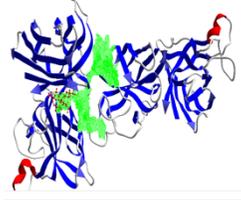
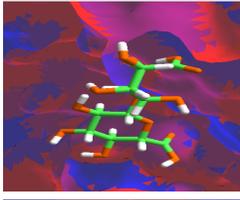
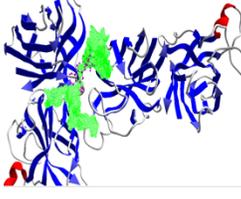
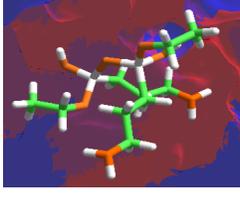
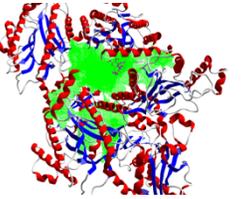
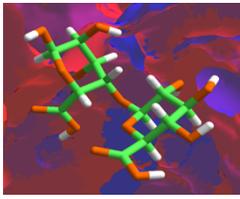
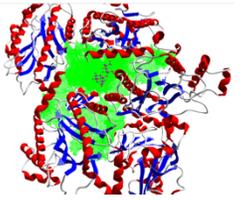
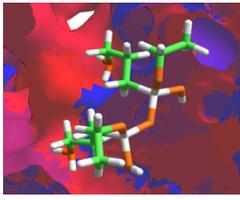
Blanco	Molécula	Docking	Hidrofobicidad
Sars-cov-2	Alginato		
	APTES		
SOD1	Alginato		
	APTES		
<i>P. aeruginosa</i>	Alginato		
	APTES		

Tabla 4. Interacción entre los principales residuos de los blancos seleccionados

Blanco	Molécula	HBonds	Electro	Estérica
Sars-Cov-2	APTE			
	S			
SOD1	APTE			
	S			
P. aeruginosa	APTE			
	S			
Alg-acid	APTE			
	S			

En el *Docking* de las OF (ver tabla 6) se pudo observar que el conjunto of-aptres-alginato resulto ser el más efectivo para la interacción con las proteínas, dado que su acoplamiento es más preciso comparado con la fibra que solamente funcionalizamos con el mejor ligando de la mayoría de los blancos (APTES); el conjunto of-aptres-alginato nos mostró una mejor interacción hidrofóbica y muchos más enlaces con los principales

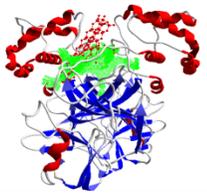
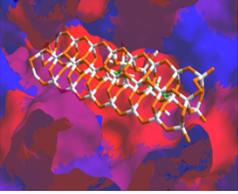
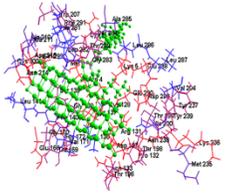
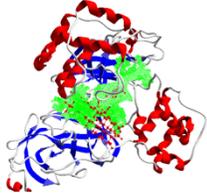
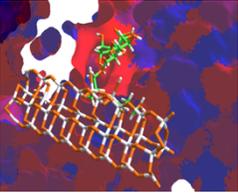
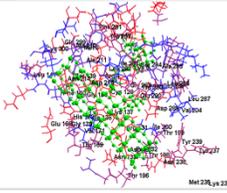
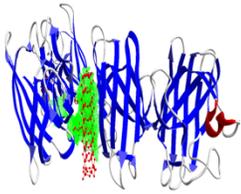
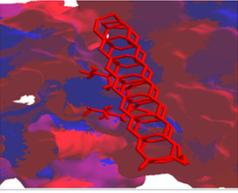
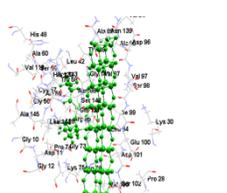
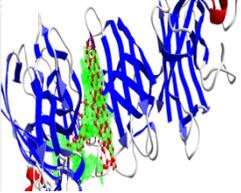
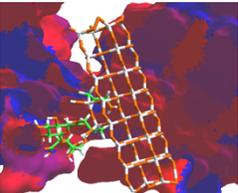
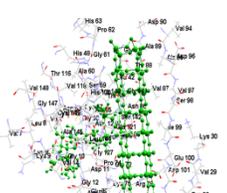
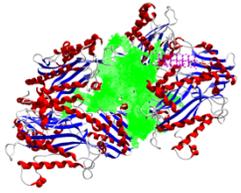
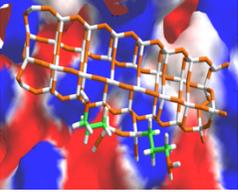
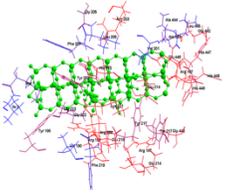
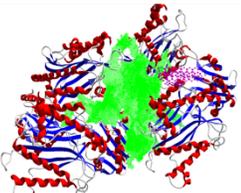
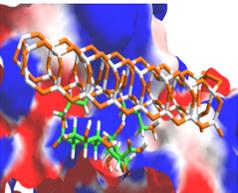
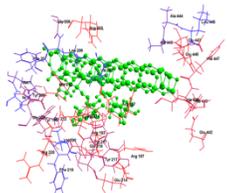
aminoácidos de la cavidad elegida, esto nos da el primer indicativo de que esta OF será más útil al momento de aplicarla como biosensor.

Cuantificando los resultados (ver tabla 5), notamos inmediatamente que en efecto el complejo of-aptas-alg tiene una menor LE, lo que es indicativo de que es el mejor ligando para todos los blancos, el hecho de que en el caso de las OF la Energía de interacción (E) y la LE sean positivas se debe a la cantidad de átomos que no interaccionan con la proteína, los únicos que realmente interactúan son los del ligando unido a la fibra.

Tabla 5. Diferencia de Energías de la interacción de las fibras funcionalizadas

Blanco	Molécula	E (kcal/mol)	LE (kcal/mol)	HBonds	Electro	VdW
Sars-Cov-2	Of-aptas-opt	15702.8	144.06	-9.51	0.00	109.8
	Of-aptas-alg	15633.5	117.54	-14.52	0.00	278.3
SOD1	Of-aptas-opt	15655.7	143.63	-9.03	0.00	111.7
	Of-aptas-alg	15675.4	117.86	-9.03	0.00	393.7
Viruela <i>P. areuginosa</i>	Of-aptas-opt	15682.6	143.87	-13.27	0.00	32.38
	Of-aptas-alg	15647.7	117.65	-8.30	0.00	72.65

Tabla 6. Resultados del docking con fibras ópticas.

Blanco	Molécula	Docking	Hidrofobicidad	Interacciones con AA
Sars-Cov-2	Of-aptés-opt			
	Of-aptés- <i>alg</i>			
SOD1	Of-aptés-opt			
	Of-aptés- <i>alg</i>			
<i>P. aeruginosa</i>	Of-aptés-opt			
	Of-aptés- <i>alg</i>			

Conclusiones

Para este proyecto se eligieron 2 de los ligandos para funcionalizar fibras ópticas como biosensores, el APTES y el alginato. Por medio del *Docking* molecular realizado a los ligandos se comprobó que el que mejor interactúa con las proteínas elegidas para esta investigación es el APTES con un LE promedio entre -5.00 y -7.00 kcal/mol, por lo que realizamos dos diferentes modelos de fibra óptica funcionalizada con APTES, una solamente con APTES (of-aptés-opt) y la otra añadiendo ambos ligandos (of-aptés-alg).

Con base a los resultados obtenidos del *docking* con la fibra óptica en las distintas proteínas se pudo determinar que el modelo of-aptés-alg obtiene una mejor interacción al requerir aproximadamente 30kcal/mol menos en su LE que el modelo of-aptés-opt y consigue entrar con mayor facilidad en las cavidades, además de tener más uniones e interacciones con los aminoácidos propios de las mismas, es por esto que se puede llegar a la conclusión de que la fibra óptica funcionalizada con APTES y alginato es el mejor candidato a ser desarrollada como biosensor y además presenta ventajas en comparación con los biosensores actuales para las problemáticas atacadas en esta investigación.

Referencias

- Jauregui-Vazquez, D., Lozano-Sotomayor, P., Mejía-Benavides, J. E., & Díaz-Cervantes, E. (2021). Binding Analysis of Functionalized Multimode Optical-Fiber Sandwich-like Structure with Organic Polymer and Its Sensing Application for Humidity and Breath Monitoring. *Biosensors*, 11(9), 324. <https://doi.org/10.3390/bios11090324>
- Guillermo, G.-R., José Luis, L.-S. M., & Juan, G.-C. (2014). Biomarcadores en la enfermedad de Alzheimer. *Servicio de Neurología. Hospital Ramón y Cajal. Madrid, España*.
- Instituto Nacional Sobre el Envejecimiento. (2021). *Hoja informativa sobre la enfermedad de Alzheimer*. <https://www.nia.nih.gov/espanol/hoja-informativa-sobre-enfermedad-alzheimer>
- Salomone, S., Caraci, F., Leggio, G. M., Fedotova, J., & Drago, F. (2012). New pharmacological strategies for treatment of Alzheimer's disease: focus on disease modifying drugs. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 73(4), 504–517. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2011.04134.x>
- JMeza, J. C. (2010). Steepest descent. *WIREs Computational Statistics*, 2(6), 719–722. <https://doi.org/10.1002/wics.117>
- Rappe, A. K., Casewit, C. J., Colwell, K. S., Goddard, W. A., & Skiff, W. M. (1992). UFF, a full periodic table force field for molecular mechanics and molecular dynamics simulations. *Journal of the American Chemical Society*, 114(25), 10024–10035. <https://doi.org/10.1021/ja00051a040>
- A. (2020). *Tratamiento del vitiligo: el papel de la superóxido dismutasa*. 28 de Febrero. [https://www.abedulfarma.com/vitiligo/tratamiento-del-vitiligo-el-papel-de-la-superoxido-dismutasa/#:%7E:text=La%20super%C3%B3xido%20dismutasa%20\(SOD\)%20es,causado%20por%20los%20radicales%20libres](https://www.abedulfarma.com/vitiligo/tratamiento-del-vitiligo-el-papel-de-la-superoxido-dismutasa/#:%7E:text=La%20super%C3%B3xido%20dismutasa%20(SOD)%20es,causado%20por%20los%20radicales%20libres).
- Castillo, C., & Riverón, F. (2014). Superóxido dismutasa citosólica y enfermedades genéticas. *Rev Cub Gen*, (1):5-11. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revcubgencom/cgc-2014/cgc141a.pdf>
- Farzin, L., Shamsipur, M., Samandari, L., & Sheibani, S. (2020). HIV biosensors for early diagnosis of infection: The intertwine of nanotechnology with sensing strategies. *Talanta*, 206, 120201. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120201>