

INDICE DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	11
1.1 Cáncer colorrectal	11
1.2 Integrinas	14
1.3 Integrinas y cáncer colorrectal	16
1.4 Motivo RGD y NGR	17
1.5 Péptidos contra el cáncer	20
1.6 Caracterización de asociaciones integrina-péptido	22
2. HIPÓTESIS	24
3. OBJETIVOS.....	24
3.1. Objetivo General	24
3.2. Objetivos Específicos.....	24
4.- MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
4.1 Revisión de estructuras de integrinas $\alpha 5\beta 1$, $\alpha V\beta 3$ y $\alpha V\beta 6$	25
4.2 Identificación de residuos que determine la unión de integrinas a péptidos RGD/NGR	26
4.2.1 Búsqueda de patrones a nivel de secuencia.	26
4.2.2 Búsqueda de patrones geométricos	26
4.3 Modelado de péptidos.....	27
4.4 Acoplamiento molecular Integrina-péptido.....	28
4.4.1 Preparación del acoplamiento molecular	29
4.4.2 Acoplamiento molecular con Auto Dock CrankPep	29
4.4.3 Criterio de término y clusterización de poses	30
4.5 Simulaciones moleculares de complejos proteína-péptido de alta afinidad.....	32
4.5.1 Elección de sistemas para simulaciones de dinámica molecular	32
4.5.2 Construcción de sistemas para simulaciones de dinámica molecular	33
4.5.2 Simulaciones de dinámica Molecular.....	33
4.6 Cálculos de energía libre de unión de los complejos.....	35
5.- RESULTADOS	37
5.1.- Identificación de patrones estructurales.....	37
5.2.- Identificación de patrones Geométricos	41
5.3.- Modelado de péptidos	43
5.4.- Acoplamiento Molecular	45
5.5.- Dinámica Molecular	52

5.6.- Energía Libre de Unión	55
6.- CONCLUSIÓN	57
7.- REFERENCIAS	59

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Distribución de casos y muertes asociadas a los 10 cánceres más comunes en 2020 (Sung et al., 2021).....	11
Figura 2.- Anatomía del sistema gastrointestinal (American Cancer Society, 2020). El cáncer colorrectal aborda las cuatro secciones del colon además del recto.	12
Figura 3.- Esquema de la estructura y activación de las integrinas. El heterodímero es dinámico y su conformación pasa a un estado extendido ante la presencia de ligandos. Adaptada de (Mezu-Ndubuisi & Maheshwari, 2020).	15
Figura 4.- Integrinas expresadas en células epiteliales, en condiciones normales o patológicas, organizadas según sus ligandos extracelulares.	16
Figura 5.- Representación tridimensional de la interacción del péptido RGDFV cíclico (cilengitide) y la integrina $\alpha\beta3$	19
Figura 6.- Modo de unión del péptido Cilengitide a la integrina $\alpha\beta3$. Estructura con código PDB 1L5G obtenida a 3,2 Å de resolución (J.-P. Xiong et al., 2002).....	20
Figura 7.- Esquema de trabajo de investigación. En el recuadro morado se presenta el conjunto de péptidos identificados para este estudio incluyendo secuencias que contienen el motivo de unión NGR y RGD.....	23
Figura 8.- Esquema de flujo para elección de mejor pose en ADCP. Las 100 poses generadas en este paso son luego agrupadas en clústeres con ADFR.	31
Figura 9.- Alineamiento de secuencias entre subunidades α de integrinas de interés..	37
Figura 10.- Vista estructural del patrón conservado a nivel de secuencia entre las subunidades αV y $\alpha 5$	38
Figura 11.- Vista estructural del patrón ASP227 y ASP228 conservado a nivel de secuencia entre las subunidades αV y $\alpha 5$	38
Figura 12.- Alineamiento de secuencias entre subunidades β de integrinas de interés.....	39
Figura 13.- Vista estructural del patrón conservado a nivel de secuencia, con ASP-ASN-SER-PRO-GLU interactuando con GLU del péptido RGD en las 3 subunidades β estudiadas.....	39
Figura 14.- Vista estructural del patrón conservado a nivel de secuencia con SxS interactuando con el residuo Asp del péptido RGD en las 3 subunidades β estudiadas.	40
Figura 15.- Patrón Geométrico identificado entre subunidades α del conjunto en estudio.	41
Figura 16.- Patrón Geométrico identificado entre subunidades β del conjunto en estudio.	42
Figura 17.- Visualización 3D de modelos iniciales de péptidos de interés.	44
Figura 18.- A) Resultados de poses de docking de cada integrina en estudio asociada a los 6 péptidos de interés. B) Alineamiento de todos los complejos estudiados y sus poses resultantes del acoplamiento molecular.....	45
Figura 19.- A) Alineamiento de las 10 mejores poses para el péptido c(RGDFV) en 4WK0. B) Alineamiento de las 10 mejores poses para el péptido GACRGDCLGA en 4WK0.	47
Figura 20.- Residuos en un radio de 5Å interactuando con el péptido GACRGDCLGA para los sistemas conjugados con las integrinas $\alpha 5\beta 1$, $\alpha V\beta 3$, $\alpha V\beta 6$	51
Figura 21.- Desviación cuadrática media (RMSD) de las proteínas interactuando con el péptido GACRGDCLGA en función del tiempo de equilibrado.....	52
Figura 22.- Distancia entre el motivo RGD del péptido GACRGDCLGA y los residuos que conforman las subunidades α y β de la integrina $\alpha V\beta 3$ (1L5G).	53
Figura 23.- Distancia entre el motivo RGD del péptido GACRGDCLGA y los residuos que conforman las subunidades α y β de la integrina $\alpha 5\beta 1$ (4WK0).....	54

Figura 24.- Distancia entre el motivo RGD del péptido GACRGDCLGA y los residuos que conforman las subunidades α y β de la integrina $\alpha\text{V}\beta\text{6}$ (4UM9). 55

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.- Características generales de los péptidos seleccionados.	21
Tabla 2.- Puntuaciones asociadas a patrón geométrico entre subunidades α	42
Tabla 3.- Puntuaciones asociadas a patrón geométrico entre subunidades β	43
Tabla 4.- Puntuaciones asociadas a modelos generados para péptidos de interés.	44
Tabla 5.- Valores de RMSD para 10 poses con ranking superior por complejo.	46
Tabla 7.- Resumen Interacciones RGD/NGR-Integrina en radio de 5Å	48
Tabla 8.- Valores de energía obtenidos a partir de los cálculos de MM-GBSA para los 3 complejos integrina-péptido.	56