

ÍNDICE DE CONTENIDOS

| | |
|--|-----------|
| 1 RESUMEN | |
| 2 ABSTRACT | |
| 3 INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| 4 MARCO TEÓRICO..... | 4 |
| 4.1 DINÁMICA MOLECULAR..... | 4 |
| 4.1.1 Ecuación de movimiento de Newton..... | 5 |
| 4.1.2 Campos de Fuerza..... | 6 |
| 4.1.3 Condiciones Periódicas de Borde | 8 |
| 4.1.4 Particle Mesh Ewald..... | 9 |
| 4.1.5 Algoritmo de Verlet..... | 10 |
| 4.1.6 Ensemble de Dinámica Molecular..... | 10 |
| 4.1.6.1 Temperatura Constante..... | 11 |
| 4.1.6.2 Presión Constante..... | 11 |
| 4.2 MECÁNICA CUÁNTICA..... | 11 |
| 4.2.1 Ecuación de Schrodinger..... | 12 |
| 4.2.2 Métodos semi-empíricos..... | 12 |
| 4.2.3 Métodos ab-initio..... | 12 |
| 4.3 PROTEÍNAS DE MEMBRANA..... | 13 |
| 4.3.1 Detergentes e la formación de micelas..... | 14 |
| 4.3.2 Métodos y técnicas para la obtención de proteínas de membrana..... | 15 |
| 4.3.2.1 Cristalografía de rayos..... | 15 |
| 4.3.2.2 Resonancia Magnética Nuclear (NMR)..... | 15 |
| 4.3.2.3 Otros Métodos..... | 16 |
| 4.4 ESPECTROMETRÍA DE MASAS..... | 16 |
| 4.4.1 Instrumentación..... | 17 |
| 4.4.2 Generación de iones por ionización Electrospray..... | 19 |
| 4.4.3 Espectrometría de masas-celda de colisión..... | 20 |
| 4.5 TRABAJOS PRELIMINARES..... | 21 |
| 4.5.1 Trabajos preliminares I..... | 21 |
| 4.5.2 Trabajos preliminares II..... | 23 |
| 4.5.3 Trabajos preliminares III..... | 25 |
| 5 HIPÓTESIS..... | 29 |
| 6 OBJETIVOS..... | 29 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 6.1 | Objetivos Generales..... | 29 |
| 6.2 | Objetivos Especificos..... | 29 |
| 7 | MATERIALES Y MÉTODOS..... | 30 |
| 7.1 | Construcción del modelo por homología del transportador Sav1866..... | 30 |
| 7.2 | Diseño y optimización del detergente C ₁₂ E ₈ | 30 |
| 7.3 | Parametrización del detergente C ₁₂ E ₈ | 31 |
| 7.4 | Construcción del complejo proteína/micela mediante Packmol..... | 32 |
| 7.5 | Simulación de Mecánica Molecular..... | 33 |
| 7.5.1 | Minimización y Dinámica molecular del complejo proteína/micela Sav1866/C ₁₂ E ₈ en NAMD..... | 33 |
| 7.5.2 | Dinámica molecular del complejo proteína/micela Sav1866/C ₁₂ E ₈ en Desmond..... | 33 |
| 7.5.3 | Dinámica molecular del aumento de temperatura del complejo Sav1866/C ₁₂ E ₈ | 34 |
| 7.6 | Preparación de la Dinámica Molecular para la fase gaseosa..... | 35 |
| 7.7 | Dinámica Molecular en fase gaseosa con aumento de temperatura..... | 37 |
| 7.8 | Herramientas de Análisis..... | 38 |
| 8 | RESULTADOS..... | 39 |
| 8.1 | Modelamiento por homología de la proteína Sav1866..... | 39 |
| 8.2 | Formación del complejo proteína/micela Sav1866/C ₁₂ E ₈ | 39 |
| 8.3 | Simulaciones de Dinámica Molecular del complejo proteína/micela Sav1866/C ₁₂ E ₈ | 41 |
| 8.3.1 | Dinámica molecular en Desmond..... | 41 |
| 8.3.2 | Dinámica molecular en NAMD..... | 44 |
| 8.4 | Dinámica Molecular con aumento de temperatura en solución..... | 48 |
| 8.5 | Preparación del complejo proteína/micela Sav1866/C ₁₂ E ₈ para la fase gaseosa..... | 52 |
| 8.6 | Dinámica Molecular del complejo proteína/micela Sav1866/C ₁₂ E ₈ en la fase gaseosa..... | 56 |
| 8.7 | Estructura secundaria de la proteína Sav1866 en distintos estados..... | 60 |
| 9 | DISCUSIÓN..... | 61 |
| 10 | CONCLUSIÓN..... | 67 |
| 11 | REFERENCIAS..... | 68 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1: Representación esquemática de las contribuciones en los campos de fuerza de DM..... | 7 |
| Figura 2: Representación de un sistema molecular utilizando PBC..... | 8 |
| Figura 3: Distancia de Corte o <i>cutoff</i> | 9 |
| Figura 4: Esquema de la membrana celular..... | 13 |
| Figura 5: Crecimiento del número de estructuras atómicas de proteínas solubles y de membrana..... | 14 |
| Figura 6: Espectro de masas..... | 17 |
| Figura 7: Representación del proceso del electrospray por nanoflujo..... | 19 |
| Figura 8: Analizador de cuadrupolo y celda de colisión..... | 20 |
| Figura 9: Esquema de la destrucción de una capa micelar de una proteína de membrana debido a colisiones de gas..... | 22 |
| Figura 10: Liberación de la proteína intacta BtuCD desde una micela de detergente DDM en un espectrómetro de masas..... | 22 |
| Figura 11: Estructura del transportador Sav1866..... | 24 |
| Figura 12: Espectro de masas de la proteína Sav1866..... | 25 |
| Figura 13: Formaciones micelares en dos grandes familias de proteínas de membrana..... | 26 |
| Figura 14: Estado intermedio de las DM en fase líquida y gaseosa..... | 27 |
| Figura 15: <i>Unfolding</i> de la proteína soluble SAP en fase gaseosa..... | 28 |
| Figura 16: Estructura del detergente C ₁₂ E ₈ | 31 |
| Figura 17: Ejemplos de empaquetamientos geométricos de lípidos en una vesícula en fase líquida..... | 32 |
| Figura 18: Proteína Sav1866 completa..... | 39 |
| Figura 19: Sav1866 con micela de detergente C ₁₂ E ₈ con 130 monómeros..... | 40 |
| Figura 20: Estructura resultante de la DM de 1,2 ns con Desmond..... | 41 |
| Figura 21: RMSD de la proteína y micela durante la DM de 1,2 ns en Desmond.... | 42 |
| Figura 22: Puentes de hidrógeno de la DM de 1,2 ns en Desmond..... | 42 |
| Figura 23: RMSD de la proteína y micela después de la DM de 4ns en Desmond... | 43 |

| | |
|---|----|
| Figura 24: Puentes de hidrógeno de la DM de 4 ns en Desmond..... | 43 |
| Figura 25: Complejo proteína/micela con 1,2 ns de DM en NAMD..... | 44 |
| Figura 26: RMSD de la proteína y micela después de 1,2 ns de DM en NAMD..... | 45 |
| Figura 27: Puentes de hidrógeno de la DM de 1,2 ns en NAMD..... | 45 |
| Figura 28: Energías de interacción entre la proteína Sav1866 y la micela de detergente C ₁₂ E ₈ en 1,2 ns de DM | 46 |
| Figura 29: RMSD de la proteína y micela a 4 ns de DM en NAMD..... | 47 |
| Figura 30: Energías de interacción entre la proteína Sav1866 y la micela de detergente C ₁₂ E ₈ a 4 ns de DM..... | 47 |
| Figura 31: Puentes de hidrógeno de la DM de 4 ns en NAMD..... | 48 |
| Figura 32: Estado intermedio de la DM con aumento de temperatura en solución a 560 °K..... | 49 |
| Figura 33: Estado intermedio de la DM con aumento de temperatura en solución a 570 °K..... | 49 |
| Figura 34: RMSD proteína con aumento de temperatura en solución..... | 50 |
| Figura 35: Energía interacción entre la proteína Sav1866 y la micela de detergente C ₁₂ E ₈ en solución con aumento de temperatura..... | 50 |
| Figura 36: Puentes de hidrógeno en la proteína Sav1866 con aumento de temperatura en solución..... | 51 |
| Figura 37: Puentes de hidrógeno entre la proteína Sav1866 y la micela de detergente C ₁₂ E ₈ con aumento de temperatura en solución..... | 51 |
| Figura 38: Gráfico de selección de los residuos básicos para la fase gaseosa..... | 53 |
| Figura 39: Proteína Sav1866 con residuos cargados seleccionados..... | 55 |
| Figura 40: Estados de la DM del complejo Sav1866/C ₁₂ E ₈ con aumento de temperatura en la fase gaseosa..... | 57 |
| Figura 41: RMSD de la proteína Sav1866 en la fase gaseosa..... | 57 |
| Figura 42: Energía de interacción entre la proteína Sav1866 y la micela de detergente C ₁₂ E ₈ en la fase gaseosa..... | 58 |
| Figura 43: Puentes de hidrógeno en la proteína Sav1866 en la fase gaseosa..... | 58 |
| Figura 44: Puentes de hidrógeno entre la proteína Sav1866 y la micela de detergente C ₁₂ E ₈ en la fase gaseosa..... | 59 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1: Propiedades estructurales del complejo proteína/micela en una simulación de DM..... | 26 |
| Tabla 2: Métodos de optimización geométrica para el detergente en estudio..... | 31 |
| Tabla 3: Residuos básicos seleccionados de la cadena B..... | 53 |
| Tabla 4: Residuos básicos seleccionados de la cadena C..... | 54 |
| Tabla 5: Porcentaje de estructuras secundarias de alfa hélices de la proteína en diferentes estados moleculares..... | 60 |