

Simulación computacional de nanosistemas paradetección de la proteína hemaglutinina

J.A. Salazar Cano¹, J. I. Rodriguez Hernandez², J.C. Chimal Eguía¹

¹ Instituto Politécnico Nacional,
Centro de Investigación en Computación,
México

² Instituto Politécnico Nacional,
Escuela Superior de Física y Matemáticas,
México

`jsalazarc2019@cic.ipn.mx`

Resumen. La presente investigación se basa en un estudio de acoplamiento molecular de la hemaglutinina (HA), del virus de influenza AH1N1, con ocho diferentes ligandos predichos por la mecánica cuántica: i) ácido siálico aislado (Nc) y, siete nanoestructuras estables formadas por ácido siálico con estructuras metálicas complementarias: ii) cluster con cuatro átomos de oro con simetría romboédrica (Au4- rhombo1- Nc); iii) cluster de veinte átomos de cobre con arreglo simétrico tetragonal (Cu20-tetra-Nc); iv) cluster con cuatro átomos de oro con simetría piramidal (Au4-pyra-Nc); v) cluster con veinte átomos de oro con simetría tetragonal (Au20-tetra-Nc); vi) cluster de oro con cuatro átomos y simetría romboédrica (Au4-rhomboVar-Nc); vii) cúmulo de plata con veinte átomos y simetría tetragonal (Ag20- tetra-Nc) y; viii) cúmulo de cobre con simetría icosaédrica (Cu20- ico-Nc). Al intentar evaluar las estructuras anteriores en su acoplamiento con HA, se pretendió que sobre todo la parte de ácido siálico estuviera ligada incluso cuando el software no contenía las subrutinas (campo de fuerza) para átomos metálicos. La estructura de HA se obtuvo de la base de datos Protein Data Bank (PDB) con el código 3LZG, y a la cual se aplicó un método de acoplamiento para determinar los mejores sitios de unión ligando-proteína. Los resultados de la simulación muestran que la mejor energía de interacción corresponde al mínimo global asociado con Cu20- ico-Nc.

Palabras clave: Virus de la Influenza H1N1, hemaglutinina, ácido siálico, nanoestructuras.

Computational Simulation of Nanosystems for Detection of Hemagglutinin Protein

Abstract. The present research is based on a study of molecular coupling of hemagglutinin (HA), of the influenza virus AH1N1, with eight different ligands predicted by quantum mechanics: i) isolated sialic acid (Nc) and, seven stable nanostructures formed by sialic acid with complementary metal structures: ii) cluster with four gold atoms with rhombohedral symmetry (Au4-rhombol- Nc);

iii) cluster of twenty copper atoms with a tetragonal symmetric arrangement (Cu₂₀-tetra-Nc); iv) cluster with four gold atoms with pyramidal symmetry (Au₄-pyra-Nc); v) cluster with twenty gold atoms with tetragonal symmetry (Au₂₀-tetra-Nc); vi) cluster of gold with four atoms and rhombohedral symmetry (Au₄-rhomboVar-Nc); vii) cluster of silver with twenty atoms and tetragonal symmetry (Ag₂₀- tetra-Nc) and; viii) cluster of copper with icosahedral symmetry (Cu₂₀- ico-Nc). When trying to evaluate the above structures in their coupling with HA, it was intended that above all the sialic acid part was ligated even when the software did not contain the subroutines (force field) for metal atoms. The structure of HA was obtained from the Protein Data Bank (PDB) database with code 3LZG, and to which a docking method was applied in order to determine the best ligand-protein binding sites. The simulation results show that the best interaction energy corresponds to the global minimum associated with Cu₂₀- ico-Nc.

Keywords: H1N1 influenza virus, hemagglutinin, sialic acid, nanostructures.

1. Introducción

A lo largo de la historia las pandemias han representado una alarmante preocupación para la humanidad, debido a las pérdidas que representan cada una de estas. Actualmente, el virus de la influenza aun representa una seria amenaza año con año, debido a que es la principal responsable de la epidemia estacional, atacando tracto respiratorio, garganta, bronquios y la gravedad de esta variara dependiendo de diversos factores causando efectos leves o incluso la muerte.

Desde su origen, esta nueva cepa afectó a miles de personas en el país, extendiéndose alrededor del mundo debido a que las personas infectadas desconocían la existencia del virus, confundiéndolo con una simple gripa o neumonía. El virus de la influenza A circula en diferentes tipos de huéspedes, tales como humanos, aves, caballos, puercos, entre otros, por lo que es latente la presencia de nuevas cepas, generando así una nueva repercusión en aspectos relacionados en el área de la salud y economía.

Actualmente las herramientas computacionales han permitido comprender las estructuras y sus interacciones a un nivel sorprendente como es el caso del docking molecular, en donde es posible identificar sitios de unión de un ligando y una proteína viral. La técnica de docking molecular implica dos procesos: La predicción de la conformación del ligando, posición y orientación dentro de los sitios y la evaluación de la afinidad de unión. Esto se puede lograr mediante, el uso de algoritmos de muestreo tales como algoritmos genéticos o de búsqueda estocástica por mencionar algunos, mientras que la función de puntuación se basa en campos de fuerza, empíricas y basadas en conocimiento.

La influenza H1N1, pertenece a los Orthomyxoviridae los cuales son virus de 150 – 200 nm de diámetro, el cual se encuentra envuelto en una capa lipídica sobre la cual se sitúan dos proteínas principales (figura 1): la hemagglutinina (HA) que facilitan la entrada del virus, y neuraminidasa (NA), que permiten la liberación viral [1]. Se han identificado dieciséis subtipos diferentes de HA y nueve de NA (dieciocho HA y once NA, si se incluyen virus similares a la influenza A en murciélagos) entre las diferentes cepas del virus de la influenza A. [2]

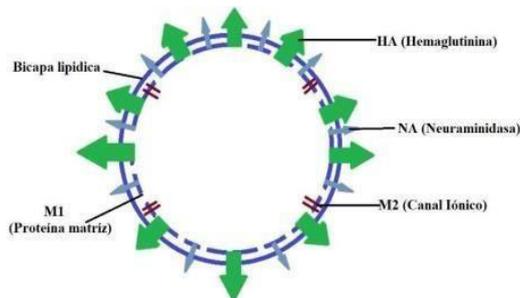


Fig. 1. Representación esquemática del virus de la influenza.

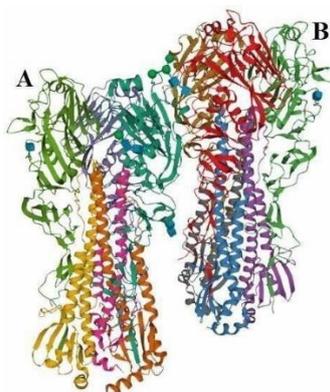


Fig. 2. Hemaglutinina del virus de la influenza H1N1 2009 (3LZG PDB). A) Subunidad HA1, B) Subunidad HA2

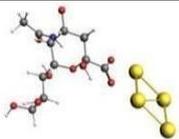
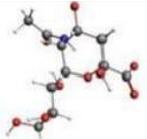
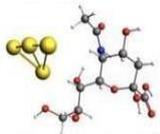
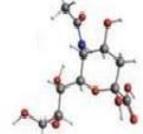
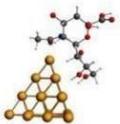
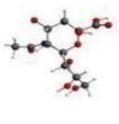
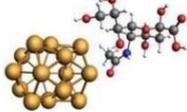
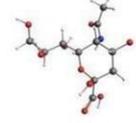
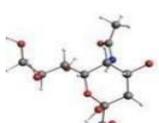
La creación de nuevas vacunas junto con la generación de biosensores desempeñan un papel fundamental en el control y prevención del virus de la influenza. Actualmente existen técnicas para la detección y el diagnóstico del virus de la influenza necesitan equipo especializado, personal capacitado, reactivos costosos por lo que actualmente se han venido desarrollando diversos biosensores portátiles con una alta sensibilidad, tales como los sensores basados en microfluidos, interferometría, nanotubos de carbono, cristal de cuarzo, electroquímicos de superficie de diamante dopado con boro, entre otros. [3-8].

2. Materiales y métodos

La hemaglutinina es una de las principales proteínas del virus de la influenza, la cual juega un papel fundamental en la unión y penetración en la célula huésped.[2], tiene una forma cilíndrica con dimensiones aproximadas de 135Å de longitud y de 35 a 70 Å de radio formando picos que se proyectan externamente [9]. Esta proteína está constituida de dos partes HA1 y HA2 [10].

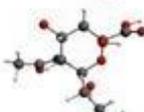
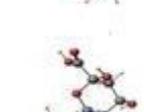
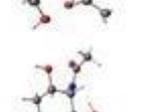
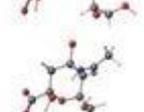
La proteína HA seleccionada para esta investigación (figura3) fue la 3LZG de acuerdo con el Protein Data Bank (PDB), la cual está constituida por dos subunidades HA1 y HA2 (figura 4 y 5).

Tabla 1. En la primera columna se muestran las estructuras formadas por un nanoclúster metálico y una molécula de ácido siálico obtenidas mediante simulaciones computacionales basadas en DFT, en la segunda columna se encuentra el ácido siálico conservando la primera columna y en la tercera columna se muestran las etiquetas para cada sistema.

Imagen tridimensional	Ácido Siálico	Etiqueta
		Au₄-rombo1-Nc
		Au₄-pira-Nc
		Au₂₀-tetra-Nc
		Cu₂₀-tetra-Nc
		Cu₂₀-ico-Nc
		Nc
		Ag₂₀-tetra-Nc

Los ligandos candidatos para llevar a cabo la interacción con la Hemaglutinina fueron los siguientes. Sin embargo, debido a que el software no posee el campo de fuerza adecuado para tratarla parte metálica, se trabajó únicamente con la molécula del ácido siálico a una primera aproximación. Para llevar a cabo la interacción de la hemaglutinina (HA) con cada uno de los ligandos mencionados en la tabla 4, fue necesario que los

Tabla 2. Se muestra que el ácido siálico y la proteína HA pueden formar complejos o moléculas estables. En la tercera columna se muestran los mínimos globales asociados a un score.

Ácido Siálico	Descripción	Energía de doking (kcal/mol)
	Cu₂₀-ico-Nc	-7.4
	Nc	-6.8
	Au₂₀-tetra-Nc	-6.7
	Cu₂₀-tetra-Nc	-6.6
	Ag₂₀-tetra-Nc	-6.6
	Au₄-pira-Nc	-6.4
	Au₄-rombo1-Nc	-6.2

formatos XYZ de cada uno de ellos fueran transformados al formato PDB, esto con el fin de que el software UCSF Chimera pueda leer la información topológica de cada uno de los mismos.

3. Resultados

Los resultados de la primera etapa del acoplamiento molecular de los ocho ligado candidatos y la HA (hemaglutinina).

4. Conclusiones

La presente investigación muestra los resultados de la técnica de docking molecular entre ocho ligandos (ácido siálico) y la hemaglutinina del virus de la influenza H1N1, por medio del uso del software UCSF Chimera, encontrando que todos se ligan a la proteína. El análisis de la exploración del espacio conformacional nos indica que los posibles sitios de unión se encuentran distribuidos tanto en la subunidad HA1 y HA2, así como también entre ambas subunidades. Posterior a dicha exploración del espacio conformacional se encontró que el mejor candidato para ser utilizado en el biosensor fue el ácido siálico asociado al nanocúmulo de cobre icosaedro con un score asociado de $|-7.4| = 7.4$ kcal/mol, debido a que presentó la mejor energía de afinidad.

Referencias

1. Lamb, R.A.: *Influenza*, Editor(s): Brian W.J. Mahy, Marc H.V. Van Regenmortel, *Encyclopedia of Virology*, Academic Press, pp. 95–104 (2008)
2. Fouchier, R.A.: Characterization of a new hemagglutinin subtype of influenza A (H16) virus obtained from laughing gulls. *J. Virol.*, 79, pp. 2814–2822 (2005)
3. Singh, R., Hong, S.: Label-free Detection of Influenza Viruses using a Reduced Graphene Oxide- based Electrochemical Immunosensor Integrated with a Microfluidic Platform. *Jang J Sci Rep.*, 7, 42771 (2017)
4. Farris, L.R., Wu, N., Wang, W., Clarizia, L.J., Wang, X., McDonald, M.J.: Immuno-interferometric sensor for the detection of influenza A nucleoprotein. *Anal Bioanal Chem*, 396(2), pp. 667–674 (2010)
5. Cai, Q., Xinsheng, T., She, C., Jing-Hua, Y.: Detection of avian influenza virus subtype H5 using a biosensor based on imaging ellipsometry. *Biosensors and Bioelectronics*, 25(6), pp. 1530 (2009) doi:10.1016/j.bios.2009.10.030
6. Qi, C., Tian, X.S., Chen, S., Yan, J.H., Cao, Z., Tian, K.G., Gao, G.F., Jin, G.: *Biosens Bioelectron*, 25(6), pp. 1530 (2010)
7. Lee, D., Chander, Y., Goyal, S.M., Cui, T.: Carbon nanotube electric immunoassay for the detection of swine influenza virus H1N1. *Biosens Bioelectron*, 26(8), pp. 3482 (2011)
8. Su, C., Chang, C.M., Tseng, Y.L., Chang, Y.F., Li, Y.C., Chang, Y.S., Chou, C.: Rapid and highly sensitive method for influenza A (H1N1) virus detection. *Anal Chem.*, 84(9), pp. 3914–3920 (2012)
9. Peduru Hewa, T.M., Tannock, G.A., Mainwaring, D.E., Harrison, S., Fecondo, J.V.: The detection of influenza A and B viruses in clinical specimens using a quartzcrystal microbalance. *J VirolMethods*, 162(1-2), pp. 14–21 (2009)
10. Palese, P., Tobita, K., Ueda, M., Compans, R.W.: Characterization of temperature sensitive influenza virus mutants defective in neuraminidase. *Virology*, 61, pp. 397–410 (1974)
11. Mitnaul, L.J., Matrosovich, M.N., Castrucci, M.R., Tuzikov, A.B., Bovin, N.V., Kobasa, D., Kawaoka, Y.: Balanced hemagglutinin and neuraminidase activities

Simulación computacional de nanosistemas para detección de la proteína hemaglutinina

are critical for efficient replication of influenza. *A virus. J Virol* , 74, pp. 6015–6020 (2000)