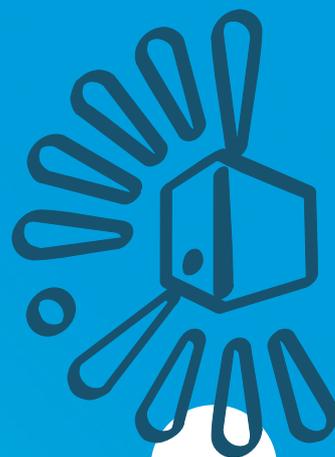
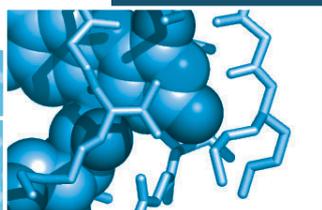




Docking

Unidad Didáctica



Seguro que no habías pensado comenzar tan pronto a investigar sobre cosas tan importantes y además formar parte de un equipo tan numeroso; ahora tienes la oportunidad. En Zaragoza se ha formado un grupo de investigación sobre Docking de proteínas y te necesita.

Como muy bien conoces, cada proceso de investigación necesita la colaboración de mucha gente durante bastante tiempo. También conoces que los avances en el tratamiento de cualquier enfermedad no se producen de cualquier forma; requieren paciencia, múltiples investigaciones y comprobaciones y para eso hace falta la dedicación de muchas personas. En Zaragoza hay un grupo de investigadores que participa en un proyecto internacional para el descubrimiento de fármacos contra organismos infecciosos, mediante un procedimiento novedoso en el que tú puedes participar, de modo que se salven muchas vidas o mejore la calidad de vida de muchos enfermos. Se trata de atacar enfermedades conocidas como la úlcera gastroduodenal, los tumores gástricos, la tuberculosis, la hepatitis C, o el SIDA -para este último caso ya podemos hablar de éxito, que se ha traducido en nuevos fármacos para el tratamiento de la enfermedad-.

Hay que hacer pruebas y pruebas antes de que se tenga la solución. Ahora esos ensayos se simulan en un ordenador pero para ejecutar todas las operaciones debería ser potentísimo y eso es difícil. Más sencillo es juntar las potencias de muchos ordenadores domésticos, pues realizan el mismo trabajo que uno enorme. ¡Ahí entras tú! Vas a enganchar tu ordenador en la investigación para mejorar la calidad del proceso, con algo tan simple contribuyes al desarrollo de algún fármaco trascendental para la mejora de la salud; además, aprenderás cosas que no sabías sobre las proteínas que te servirán para la clase. ¿Te parece poco? Muchas gracias y adelante.

1. REPASA QUÉ ES UNA PROTEÍNA

Las proteínas, cuyo nombre significa “lo primero o en primer lugar, lo más importante”- viene de la palabra griega **πρωτα** ("prota")- son las macromoléculas más abundantes en las células y constituyen casi la mitad del peso seco de la mayor parte de los organismos. De todas las sustancias que forman la materia viva son a las que se les atribuye un papel protagonista en las actividades celulares, además de formar parte de casi todas las estructuras microscópicas que componen células y tejidos.



Si quieres revisar lo que ya sabes y conocer lo compleja que es la vida celular puedes ver un vídeo titulado:

“The Inner Life of a Cell”



¿Reconoces algún tipo de célula, orgánulo o proceso celular?

2. CONOCE CÓMO SON SU COMPOSICIÓN QUÍMICA Y SU ESTRUCTURA

A.1 Hay que reconocer la composición química para poder actuar.

Sabrías decir, de entre todos los **elementos químicos** de la tabla periódica, ¿cuáles forman parte de las proteínas?



Si no eres capaz, busca información en alguna de las páginas que te señalamos

¿Conoces por qué se dice que son **macromoléculas**? Entérate de qué **pesos moleculares** alcanzan; revisa también qué quiere decir que son **polímeros** y ya estás en mejor situación para seguir.



A2 Parece que para entender la composición y estructura de una proteína tenemos que empezar por saber qué es un aminoácido ("las cuentas del collar").

Escribe las **fórmulas** y el **nombre** de tres **aminoácidos** y descubre qué grupos químicos tienen en común (así entenderás por qué reciben ese nombre).



Recuerda:

- La singularidad de un aminoácido se la proporciona la parte variable en su molécula; así hay aminoácidos polares y apolares (con afinidad por el agua o sin ella), de carga positiva y negativa.
- Los aminoácidos se unen mediante un tipo especial de enlace covalente denominado **enlace peptídico** dando lugar a moléculas lineales denominadas dipéptidos, tripéptidos, oligopéptidos, polipéptidos, según el número de aminoácidos encadenados (los aminoácidos serían las cuentas de las que hablábamos arriba y el collar el polipéptido o cadena polipeptídica).



- Teniendo en cuenta que existen 20 (o 21) tipos distintos de aminoácidos, las combinaciones posibles para una proteína pequeña de unos 200 aminoácidos son numerosísimas, de ahí que digamos que existe una gran **diversidad o variabilidad** dentro de las proteínas.



- En las proteínas la composición química es importante, pero tanto o más lo es su **estructura tridimensional**, es decir la forma que cada proteína tiene de plegarse espontáneamente en el espacio. Como consecuencia de las interacciones (otras formas de enlaces más débiles que el peptídico) entre los distintos aminoácidos, la cadena polipeptídica tiende a perder su forma lineal para adoptar diferentes y, a veces, muy complejas **conformaciones espaciales**. Por eso al describir una proteína no basta con conocer la secuencia lineal de aminoácidos -eso sería lo que denominamos **estructura primaria**- sino también todos esos pliegues y dobleces -**estructura secundaria y terciaria**-. Y para complicarlo todavía más, resulta que hay proteínas que están formadas por más de una cadena polipeptídica (hablamos entonces de **estructura cuaternaria**).

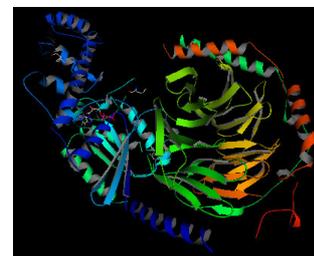
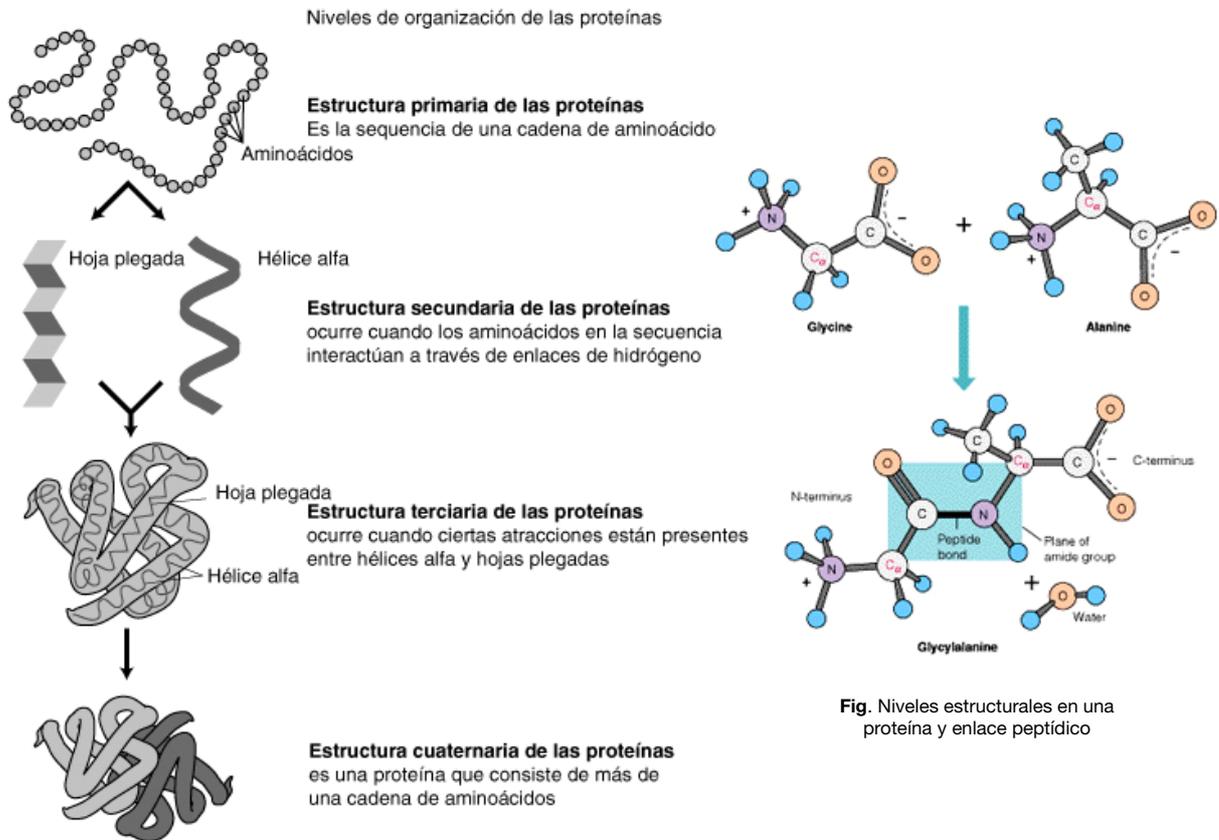


Fig. Modelo tridimensional de una proteína



La forma tridimensional o conformación de una proteína viene determinada por la secuencia de aminoácidos que la integran. Podríamos hacer la siguiente analogía: de la misma forma que una partitura con su sucesión ordenada de notas sobre el pentagrama se convierte en una melodía concreta al ser interpretada, una cadena de aminoácidos determinada da lugar a una serie de interacciones (uniones y repulsiones) entre sus miembros que deciden la forma espacial también concreta.

Por tanto, **también en lo estructural existe diversidad**; se puede resumir diciendo que cada proteína posee una estructura, y una función como veremos más adelante.

Para saber más:

Si quieres entretenerte con una unidad didáctica que te ayudará a visualizar mejor la forma tridimensional de las proteínas y realizar pequeñas investigaciones, aquí tienes un buen enlace:



3. CADA PROTEÍNA DESARROLLA UN TRABAJO ESPECIALIZADO

Ya sabemos lo que es una proteína, cuál es su composición química y reconocemos su estructura, pero para poder investigar necesitamos conocer sus propiedades. Vamos a fijarnos solamente en una que además de ser muy interesante nos permite entender los objetivos del proyecto que nos traemos entre manos; se trata de la **especificidad**. Se ha observado que *cada proteína lleva a cabo una función concreta y lo realiza porque posee una determinada secuencia de aminoácidos y una conformación*

espacial propia; por lo que un cambio en la estructura de la proteína puede significar la pérdida de esa función. (Como ves, forma y función siempre van de la mano, es una regla que acompaña a todos los objetos, herramientas, máquinas,...que empleamos a diario. Sabríamos justificar por qué un sacacorchos es cómo es; pues igual sucede con las proteínas).

Además, cuando empleamos la palabra “específicas” para definir a las proteínas queremos decir también que cada especie, incluso cada individuo en algunos casos, posee sus propias proteínas, digamos que no son intercambiables, y cuándo hablamos de fármacos dirigidos a bloquear actividades de proteínas, lo que sirve para la gripe, no tiene por qué servir para el SIDA, son virus diferentes, con proteínas diferentes.

Hablando de funciones, el listado de especialidades es inmenso. Si consultas la página web de la actividad siguiente te darás cuenta de que hay proteínas especializadas en transporte de sustancias, otras tienen una **misión defensiva**; hay un grupo muy especial, **las enzimas**, cuya tarea consiste en acelerar las reacciones químicas que se producen en nuestras células, es decir son “catalizadores biológicos” - sin ellas el metabolismo sería tan lento que la vida sería imposible-. Otras sólo tienen una función de **reserva**, algunas son **reguladoras** y las hay responsables de la **contracción muscular**.

A.3 Busca ejemplos concretos para cada función.

Busca ejemplos concretos de proteínas que desempeñen las funciones anteriormente descritas u otras funciones no mencionadas.



4. A VECES LAS PROTEÍNAS DEJAN DE ACTUAR

Con todo lo que llevamos hablando seguro que ya tenéis claro que si una proteína pierde su estructura tridimensional queda incapacitada para realizar su función. Esta circunstancia puede darse al someterlas a elevadas temperaturas, a medios ácidos, al cambiar su composición durante su síntesis,... o al verse **bloqueadas** por otras moléculas.

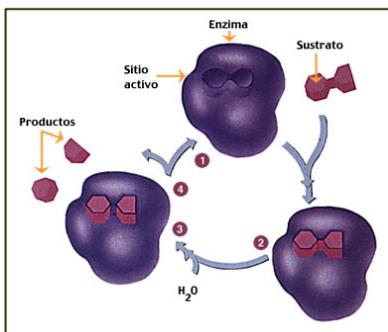


Fig. Representación simplificada de una enzima, la sacarasa y su sitio activo, mostrando la actividad que desempeña en nuestro tubo digestivo



Fig. El sitio activo de una anhidrasa carbónica.

En una proteína, no todas las regiones tienen la misma importancia, su actividad concreta se localiza en determinadas zonas llamadas “sitios activos”. Por eso, si alguna molécula *extraña* se acopla a esa zona actúa como **inhibidor**- la proteína perderá su actividad.

¡Ojo!. Hay otro tipo de inhibidores que se unen en un lugar diferente al sitio activo, lo cual provoca un cambio de forma de la proteína y por lo tanto del sitio activo.

Encontrarás más información en  (inhibidores enzimáticos).

5. TAMBIÉN LOS VIRUS Y LAS BACTERIAS TIENEN SUS PROTEÍNAS

Hasta ahora hemos tratado cuestiones generales; ha llegado el momento de conocer las armas con las que actúan nuestros enemigos microscópicos - tenemos que conocer algo más sobre estas formas de vida- antes de hablar de la **técnica del docking**.

Por ahora nos centraremos en los virus, porque muchos de los proyectos con docking van dirigidos a buscar fármacos para el tratamiento de enfermedades causadas por ellos, concretamente la hepatitis

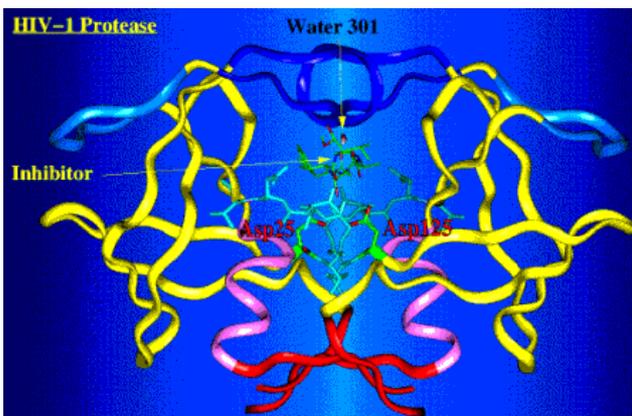


Fig. Proteasa del VIH bloqueada por un inhibidor, descubrimiento posible gracias al docking de proteínas
Fuente: <http://fai.unne.edu.ar/biologia/virologia/hivpv.htm>

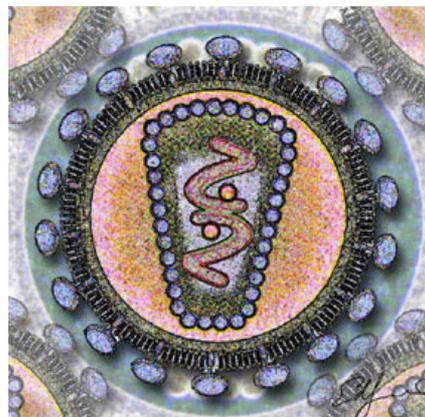


Fig. Virus de la inmunodeficiencia humana (SIDA)

y el SIDA. Usaremos el **virus del SIDA** o **VIH** -virus de la inmunodeficiencia humana- como ejemplo para saber algo más de la particular forma de vida, de la estructura y ciclo vital de estos seres tan simples pero a la vez tan destructivos para nuestras células debido a su condición de parásitos intracelulares. Además, el primer éxito que se han apuntado los equipos de investigación que trabajan con la técnica de docking ha sido precisamente con este virus; han identificado sustancias que bloquean proteínas virales como la **proteasa del VIH**.

A.4 Conoce mejor al virus VIH y sus proteínas.

En las páginas que te sugerimos encontrarás mucha información, podrás ver animaciones y dibujos sobre los virus en general y el del SIDA en particular. Comprobarás que el VIH se sirve de muchas proteínas para acoplarse a una célula humana (en concreto a los linfocitos T-4) y producir la infección. Algunas de estas proteínas tan valiosas para el virus son la **Proteasa**, la **Transcriptasa inversa**, la **Integrasa** y las **GP120** y **GP41**. Si buscas información sobre el papel que desempeña cada una no te costará entender por qué son el **blanco** (**molécula blanco** o **diana**) al que intentan "disparar" los proyectos de investigación farmacológica con su técnica de docking. En definitiva, estos proyectos tratan de encontrar posibles inhibidores (**ligandos**) que paralicen la actividad infecciosa del virus en diferentes etapas.



6. LOS CIENTÍFICOS HAN DADO CON UNA TÉCNICA NOVEDOSA PARA EL ESTUDIO DE ENFERMEDADES VIRALES Y BACTERIANAS: EL DOCKING

Hemos tratado de guiaros para que conozcáis detalles sobre las proteínas y su importancia en las actividades vitales de cualquier ser vivo desde un gato o un geranio hasta el virus del SIDA. Ahora vamos a detenernos en explicar la técnica del docking. No debéis preocuparos por la palabra; en realidad, se trata de algo parecido a intentar buscar la llave de vuestra casa en un contenedor gigantesco donde se recogen las llaves de las viviendas de todos los españoles, más o menos. Para conseguir dar con ella seguro que hay que probar muchas veces.

Importancia del método docking para el estudio de enfermedades virales y bacterianas.

El docking es un método moderno que se fundamenta en la búsqueda sistemática de nuevas sustancias con efectos terapéuticos y se apoya en la simulación por ordenador. Para ello necesita un gran banco de moléculas virtuales candidatas, a las que se someten a infinitas pruebas mediante un programa informático especialmente diseñado para ello, hasta localizar aquellas que presentan mayor afinidad por el sitio activo de la proteína o blanco contra la cuál se está buscando un fármaco.

Los fármacos así hallados son más selectivos ya que únicamente bloquean a la proteína blanco (nunca proteínas humanas, recuerda aquello de la especificidad) y la actividad que esta desempeña en el proceso infeccioso. Esta tarea selectiva los hace menos tóxicos que aquellos otros fármacos encontrados mediante otros procedimientos tradicionales. Tiene también otra ventaja pues acorta la fase de ensayo en el laboratorio; de esta forma, estas pruebas reales “in vitro” quedan reservadas para los mejores candidatos tras el cribado del docking.

Estos procedimientos constituyen algunas de las principales líneas de investigación llevadas a cabo actualmente por la Universidad de Zaragoza. No solo se buscan ligandos (inhibidores) contra algunas proteínas del virus del SIDA, sino también contra la **Flavodoxina**, una proteína de *Helicobacter pylori*, bacteria responsable de la úlceras estomacales, contra la **proteasa NS3** del virus de la hepatitis C que puede causar cirrosis y cáncer de hígado y la **FAD sintetasa** de *Mycobacterium tuberculosis*.

En realidad, el proceso del docking pasa por varias etapas:

1º Es necesario conocer el blanco:

- Su estructura tridimensional (cómo es la proteína, su tamaño, forma, entrantes y salientes en la superficie sobre la cuál se quiere actuar)

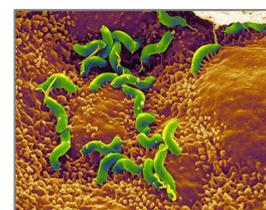


Fig. *Helicobacter pylori* infectando la mucosa estomacal humana.

- La localización y la caracterización de su sitio activo.
- La determinación de otras regiones susceptibles de unirse a ligandos y provocar inhibición.

2º Hay que buscar y seleccionar las moléculas orgánicas afines que actúen como ligandos sobre esa proteína.

3º Hay que llevar a cabo una simulación de la formación de complejos ligando –proteína. Al final, se trata de buscar y encontrar el ligando más potente - recordad que no sólo se selecciona la molécula, sino también su mejor posición para que el acople sea perfecto y por tanto la inactivación máxima-

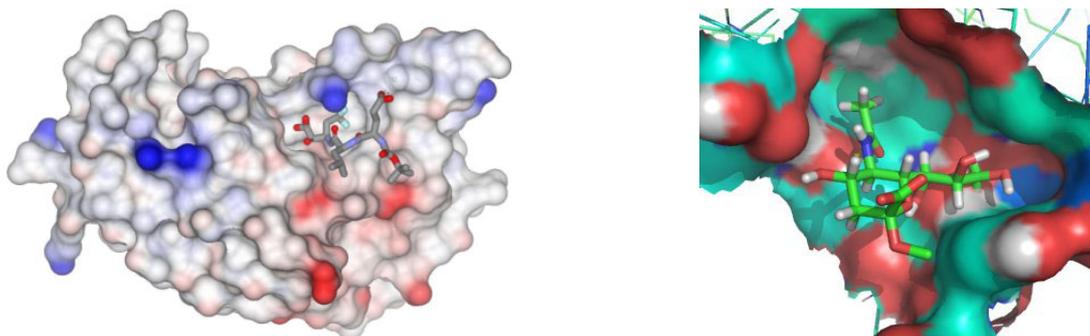


Fig : Ejemplos de complejo ligando-proteína.

A.5 Visualizar las animaciones para conocer más detalles.

Revisad las tres animaciones, contienen ejemplos concretos de cuestiones que hemos abordado en esta propuesta. Comentad en grupo los detalles que más os han sorprendido y las dudas que os hayan quedado. Animaos y seguid indagando para conocer más cosas sobre el docking.

A. Una interacción proteína-ligando:



B. Otro ejemplo de interacción proteína-ligando mostrando el sitio activo:



C. Otro ejemplo de docking:



7. AVISO: LA CIENCIA NECESITA TU ORDENADOR PARA SABER MÁS COSAS SOBRE LAS PROTEÍNAS

Hemos visto muchas cosas sobre las proteínas, seguramente algunas las sabías ya. Los científicos trabajan sobre estas propiedades pero necesitan conocer muchos más aspectos para “alterar” su funcionamiento y elaborar fármacos que bloqueen o impulsen una determinada función. Hoy el ordenador es imprescindible para hacer ciencia. Si pudieses entrar en muchos equipos de investigación verías a una o varias personas haciendo lo mismo que esta investigadora. Observar,

anotar datos, plantear hipótesis y realizar tratamientos de datos exigen millones de maniobras que se facilitan con los ordenadores, pero para ello se necesitarían ordenadores gigantes o, ahí entras tú, muchos ordenadores personales conectados.

Verás, cuando usas el procesador de textos o estás chateando no utilizas casi nada de la potencia de tu ordenador. Esos tiempos son los que puedes donar a la ciencia sin que lo notes.



No sé si te habías dado cuenta después de tanta insistencia, pero ¡Necesitamos tu ayuda! Ya te diremos qué puedes hacer para conectar tu ordenador a un gran proyecto de investigación.



¿Ya has logrado conectarte? ¡Enhorabuena!, formas parte de un gran equipo que busca mejorar la calidad de vida de las personas que padecen ciertas enfermedades. Puedes sentirte importante. ¡Ah! se nos olvidaba. Muchas gracias.