



Sociedad Mexicana de Bioquímica

Rama de Estructura, Fisicoquímica y
Diseño de Proteínas



IX Congreso

de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

Zacatecas 2025

20 al 24 de octubre



13

**CONGRESO NACIONAL DE
CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS 2025**
AÑO DE LA CIENCIA Y TECNOLOGÍA CUÁNTICA

Programa y resúmenes de trabajos

CONTENIDO

General

• Mensaje de Bienvenida	3
• Comité Organizador	4
• Patrocinadores	5
• Programa del Evento	6

Cursos y Conferencias

• Cursos Pre-congreso [CP]	7
• Charlas Técnicas [CT]	7
• Conferencias Plenarias [P]	8
• Conferencias Invitadas [I]	16
• Conferencias Seleccionadas [S]	26
• Homenajes póstumos [H]	45

Sesión de Carteles

• Índice de trabajos	47
• Resúmenes	53

Información

• Mapa y sitios de interés	185
----------------------------	-----

SMB



**Sociedad
Mexicana de
Bioquímica**

**Rama de
Estructura,
Fisicoquímica y
Diseño de
Proteínas**



@redproteinas_mx



@redproteinas



Red estructura, función y
evolución de proteínas



www.ramaproteinas.com

Mensaje de Bienvenida

Estimados congresistas e invitados:

La Rama de Estructura, Fisicoquímica y Diseño de Proteínas de la Sociedad Mexicana de Bioquímica, A.C., les da la más cordial bienvenida al **IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas** y al **13.º Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas**, organizados en colaboración con la Universidad Autónoma de Zacatecas.

Este magno evento reunirá a distinguidas y distinguidos investigadores nacionales e internacionales en **9 conferencias plenarias** y **10 conferencias invitadas**. Asimismo, se presentarán **18 trabajos en modalidad oral** y **132 en modalidad de cartel**, reflejo del entusiasmo y la calidad académica de nuestra comunidad. Además, los participantes inscritos a los cursos pre-congreso podrán profundizar en temas como el diseño de proteínas, los avances en herramientas para el estudio estructural y las técnicas de visualización y análisis de estructuras proteicas.

Deseamos que este encuentro fomente el intercambio de ideas y proyectos, y que su participación sea enriquecedora, productiva y memorable.

Comité Organizador

Rama de Estructura, Fisicoquímica y Diseño de Proteínas



Comité Organizador

Dr. Rodrigo Aguayo Ortiz

Universidad Nacional Autónoma de México

Dr. Salomón Alas Guardado

Universidad Autónoma Metropolitana

Dra. Mayra G. Avelar Frausto

Universidad Autónoma de Zacatecas

Dra. Marcela Ayala Aceves

Universidad Nacional Autónoma de México

Dr. José Arcadio Farías Rico

Universidad Nacional Autónoma de México

Dr. Ponciano García Gutiérrez

Universidad Autónoma Metropolitana

Dr. Armando Hernández García

Universidad Nacional Autónoma de México

Dra. Carmina Montiel Pacheco

Universidad Nacional Autónoma de México

Dra. Clarita Olvera Carranza

Universidad Nacional Autónoma de México

Dr. Alberto Rodríguez González

Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y
Diseño del Estado de Jalisco

Dr. Rogerio R. Sotelo Mundo

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo



Patrocinadores



Unidad de Vinculación de la Química S.A. de C.V.

Oficina de Transferencia de Conocimiento especializada, la cual sirve como una empresa de gestión tecnológica y vinculación, reconocida por la Secretaría de Economía y la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI).

Página: https://patronatofq.org.mx/empresas_amigas/uvq.php

Hirostecnologías S.A. de C.V.

Líderes en la distribución de insumos para las ciencias de la vida. La empresa cuenta con marcas de renombre para satisfacer necesidades de investigación y productos de laboratorio, cromatografía, electroforesis, filtración, entre otros.



Página oficial: <https://hirostecnologias.com/>

OpenLab A.C. de R.L.



Empresa formada por jóvenes emprendedores de distintas formaciones y posgrados que desarrolla proyectos multidisciplinarios de ciencia e ingeniería.

Página oficial: <https://open-lab.com.mx/>

La Proteína (Ciencia accesible para todos)

Empresa de biotecnología mexicana que desarrolla, produce y comercializa reactivos de biología molecular de alta calidad, incluyendo polimerasas termoestables, marcadores de peso molecular y otras enzimas clave para la investigación científica.



Página oficial: <https://laproteina.mx/>

Ciencia Flow (Brilla con ciencia)



Start-up que reinventa la divulgación científica con propuestas creativas, productos únicos y gestión documental especializada, para que el conocimiento brille en todos los espacios.

Instagram: @cienciaflow

Contacto: cienciaflow@gmail.com

Programa del Evento

Lunes 20/octubre		Martes 21/octubre		Miércoles 22/octubre		Jueves 23/octubre		Viernes 24/octubre	
9:00	CP	09:00	I03 & I04	09:00	I05 & I06	09:00	I07 & I08	09:00	I09 & I10
		10:00	P03	10:00	P04	10:00	P06	10:00	P08
			Receso		Receso		Receso		Receso
		11:45	S01 – S05	11:45	H		S12 – S16	11:45	S17 – S18
13:00	CT01			12:10	S08 – S11	11:45		12:30	P09
14:00	CP	14:00	Comida	14:00	Comida	14:00	Comida	13:30	Clausura ²
15:00	Registro	15:30	S06 & S07	15:30	P05	15:30	P07		
16:30	IN	16:30	CT02	16:30	Carteles (001 – 066)	16:30	Carteles (067 – 132)		
17:00	P01	17:00	M						
18:00	I01 & I02	18:00	Cierre ¹	18:30	Cierre	18:30	Cierre		
19:00	P02								

¹Callejoneada

Actividades del congreso

H	Homenajes
IN	Inauguración
CT	Charlas Técnicas
M	Mesa redonda: Inteligencias artificiales aplicadas al estudio de proteínas.
I	Conferencias invitadas
P	Conferencias plenarias
S	Confs. seleccionadas
CP	Cursos Pre-congreso



CP

Cursos Pre-congreso

CP01 Taller teórico-práctico de diseño computacional de proteínas *de novo*

Descripción: Comprensión de los conceptos básicos del diseño y modelado de proteínas mediante AlphaFold y otras herramientas de inteligencia artificial de vanguardia, junto con la discusión de aplicaciones y limitaciones de estos modelos en el abordaje de preguntas biológicas.



Instructores titulares: Dr. Alejandro Sosa Peinado (UNAM), Dr. Martín González Andrade (UNAM), Dr. Sergio Romero Romero (UNAM).



Horario: 9:00 a 14:00 h



Lugar: Hotel Santa Rita

CP02 Avances en las herramientas para el estudio estructural de proteínas: Difracción de rayos X, NMR, criomicroscopía, técnicas *in silico*

Descripción: Impartición de clases breves sobre cada herramienta, proporcionando una comprensión básica de sus fundamentos. Presentación de un análisis crítico por parte de los ponentes acerca de las ventajas, desventajas y limitaciones de estas herramientas, así como de las perspectivas de su uso.



Instructores titulares: Dr. Adam Campos (Universidad de Utah), Dr. Alejandro Fernández (UNAM), Dr. Carlos Amero (UAEM), Dr. Enrique Rudiño (UNAM), Dr. Lorenzo Segovia (IBt, UNAM).



Horario: 10:00 a 13:00 h



Lugar: Sala Principal, Teatro Fernando Calderón

CP03 Introducción práctica a PyMOL para visualización y análisis estructural de proteínas

Descripción: Instalación y uso del software PyMOL para el análisis de estructuras 3D de proteínas incluyendo exploración de residuos específicos y sus ambientes químicos, interacciones de puentes de hidrógeno, elementos de estructura secundaria, distribución de cargas, entre otros.



Instructores titulares: Dra. Mayra G. Avelar Frausto (UAZ), Dr. Ponciano García Gutiérrez (UAM).



Horario: 10:00 a 13:00 h



Lugar: Segundo Piso, Teatro Fernando Calderón

CT

Charlas Técnicas

CT01 ÄKTA™ Care – Cuidados básicos en cromatógrafos

Ponente: IBm. Erick Pérez
Cytiva e Hirostecnologías

**CT02 Apoyando la vinculación para promover la innovación en salud**

Ponente: Mtra. Ursula Dávila
Unidad de Vinculación de la Química



P

Conferencias
Plenarias

P01 Levansacarasa de *B. subtilis*, una enzima robusta con una sutil dependencia entre la fisicoquímica y la especificidad de reacción

P02 Cellular pathways and mechanisms of protein folding and quality control

P03 Evolución y diseño del paisaje conformacional en barriles TIM

P04 From mechanistic understanding to therapeutic insights via computational enzymology

P05 Descubriendo, caracterizando y usando inteligencia artificial para diseñar nuevas PET hidrolasas

P06 Single-molecule studies of protein conformational dynamics

P07 Discrete generative models for programmable biologics design

P08 Eventos iniciales del armado del intasoma de la recombinasa Cre

P09 One-shot design of functional protein binders with BindCraft

P01



Agustín López
IBT, UNAM

P02



Judith Frydman
Stanford University

P03



Alejandro Fernández
FM, UNAM

P04



Andrés Cisneros
University of Texas

P05



César Ramírez
PUC

P06



Víctor Muñoz
University of California

P07



Pranam Chatterjee
Duke University

P08



Nina Pastor
UAEM

P09



Martin Pacesa
EPFL

P09



Lennart Nickel
EPFL



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

Levansacarasa de *B.subtilis*, una enzima robusta con una sutil dependencia entre la fisicoquímica y la especificidad de reacción.

Sol Castrejón, María Elena Rodríguez, Jaime Porras, Patrick England y Agustín López Munguía.
Departamento de Biología Celular y Biotatálisis, Instituto de Biotecnología, UNAM. Cuernavaca,
Morelos. agustin.lopez@ibt.unam.mx

Glicosiltransferasas, fructanas, levanas, levansacarasas.

Resumen

Las levansacarasas (LS) son fructosil-transferasas (FTF) que utilizan sacarosa como sustrato donador de fructosilos para la síntesis de levanas. Estas enzimas se ubican en la familia 68 de las Glicosil Hidrolasas y aparecen dentro de los géneros Gram negativos como *Gluconobacter*, *Zymomonas* y *Erwinia* y Gram positivos como *Actinomyces*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Bacillus* y *Leuconostoc*, entre otros. La levana puede ubicarse también en la historia de la alimentación, ya que junto con la inulina bacteriana constituyen “El Eslabón Fructana”, un concepto derivado de su presencia en los alimentos fermentados consumidos desde los inicios de la civilización (1). Ambas enzimas, la LS e inulosacarasa (IS), contienen un dominio catalítico constituido por una β -propela de cinco aspas con una tríada catalítica conservada y un bolsillo central cargado negativamente que une sacarosa o aceptores para construir moléculas de fructana de diversos pesos moleculares. Desde la primera década de este siglo, describimos nuevas FTFs multidominio, por ejemplo una IS de *Leuconostoc citreum* aislada de maíz fermentado y LS aisladas y caracterizadas de bacterias lácticas. Sin embargo, la LS de *B. subtilis* (SacB) ha sido nuestro modelo de estudio para responder a una serie de interrogantes sobre la relación estructura-función de las LS. SacB es unidominio, muy robusta, y sintetiza levanas con una distribución bimodal de pesos moleculares, es decir, puede sintetizar levanas de bajo (8.3 kDa) y de alto (>3500 kDa) peso molecular (2). Además, hemos encontrado que condiciones de reacción como temperatura, pH, fuerza iónica, solvente, concentración de sustrato, y sorprendentemente, la concentración de enzima, definen el mecanismo, procesivo o no procesivo y, como consecuencia, el peso molecular de la levana sintetizada. Como hipótesis, basados en evidencias indirectas, planteamos que el mecanismo depende de interacciones proteína-proteína durante la reacción. Recientemente, hemos fortalecido la hipótesis mediante evidencias directas. Para ello, partiendo de la estructura cristalina del dímero de la mutante S164A (PDB:6PWQ) (3) y basados en un análisis estructural *in silico* mediante ClusPro y mmCSM-PPI2 de los cristales disponibles de SacB (PDB:1OYG, PDB:6PWQ) ubicamos una interfaz hipotética y diseñamos mutantes con el fin de modular la interacción. Apoyados en técnicas tales como FRET, ultracentrifugación analítica y fotometría de masas, encontramos una asociación entre el mecanismo de reacción y la interacción dinámica de las moléculas de proteína. Del otro lado de la ecuación, hemos analizado la estructura de la levana para encontrar una eventual relación con el mecanismo: en efecto, la formación de nanopartículas o de estructuras tipo microgel en levanas de bajo y alto peso molecular respectivamente, más o menos ramificadas, parecen consecuencia de las interacciones proteína-proteína.

Agradecimiento. La última etapa de este trabajo recibió apoyo del programa Transnational Access (TNA) de MOSBRI (proyecto MOSBRI-2023-179), así como financiamiento de UNAM-PAPIIT (IN210523) y de CONAHCYT A1-S-21209 DGAPA-

Bibliografía

- (1) Vallejo C., Porras J., López Munguía A. (2023), Capítulo 9. Traditional Fermented Foods: Introducing the “Fructan-Link”. In: *The Book of Fructans*. Eds. Win Van den Ende & Ebru Toksoy Oner. Academic Press, Elsevier Inc. Pps 147-158.
- (2) Porras-Domínguez, J.R., Ávila-Fernández, Á., Miranda-Molina, A., Rodríguez-Alegría, M.E., Munguía, A.L., (2015). *Bacillus subtilis* 168 levansucrase (SacB) activity affects average levan molecular weight. *Carbohydr. Polym.* 132, 338–344.
- (3) Ortiz-Soto, M.E., Porras-Domínguez, J.R., Rodríguez-Alegría, M.E., Morales-Moreno, L.A., Díaz-Vilchis, A., Rudiño-Piñera, E., Beltrán-Hernández, N.E., Rivera, H.M., Seibel, J., Munguía, A.L., (2020). Implications of the mutation S164A on *Bacillus subtilis* levansucrase product specificity and insights into protein interactions acting upon levan synthesis. *Int. J. Biol. Macromol.* 161, 898–908.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

EVOLUCIÓN Y DISEÑO DEL PAISAJE CONFORMACIONAL EN BARRILES TIM

D. Alejandro Fernández Velasco.

Laboratorio de Fisicoquímica e Ingeniería de Proteínas Facultad de Medicina Universidad Nacional

Autónoma de México.Ciudad de México 04510. fdaniel@unam.mx

*Palabras clave: Evolución, diseño, plegamiento.***Resumen.**

El “paisaje conformacional” hace referencia a las diferencias en energía de las diversas conformaciones accesibles a las proteínas. Los barriles TIM son una de las topologías proteicas más abundantes y versátiles en la naturaleza. En esta presentación exploraremos cómo ha evolucionado el paisaje conformacional del barril TIM epónimo, la triosafosfato isomerasa, así como la modificación del paisaje conformacional de un barril TIM diseñado de novo. En animales y hongos actuales, la Triosafosfato isomerasa es un dímero muy estable y eficiente; su actividad está limitada por la difusión de los sustratos al sitio activo. En contraste, los monómeros son inestables e inactivos. Con el fin de explorar que tan antiguo es el acoplamiento entre actividad y dimerización, utilizamos diferentes metodologías para reconstruir cuatro secuencias ancestrales correspondientes a la “LOCATIM”, la TIM del último ancestro común de los opistocones, el linaje del cual divergieron animales y hongos. Al igual que sus contrapartes actuales, las cuatro LOCATIMs son dímeros, que unen con alta afinidad y una firma termodinámica semejante al fosfoglicohidroxamato, un análogo del estado de transición. Todas las LOCATIMs muestran una elevada estabilidad conformacional ($\Delta G_{\text{Tot}} = 40.6\text{--}46.2$ kcal/mol) y a diferencia de la TIM de los opistocones actuales, muestran monómeros estables ($\Delta G_{\text{unf}} = 12.6\text{--}18.4$ kcal/mol). Ambas características son semejantes a las encontradas en la TIM de protozoarios actuales y contrastan con la baja estabilidad encontrada en los monómeros de la TIM de opistocones actuales ($\Delta G_{\text{unf}} = 2.5\text{--}7.5$ kcal/mol). Estos datos sugieren que, en la evolución de la TIM, la contribución de los monómeros a la estabilidad total de la enzima ha disminuido, debido probablemente a que al ser inactivos, no hay presión de selección para que sean estables. Desde sus inicios, la generación de proteínas estables ha sido uno de los objetivos centrales del diseño de proteínas. La segunda parte de la plática está centrada en el diseño de barriles TIM hiperestables, utilizado como punto de partida a sTIM11 el primer barril TIM diseñado de novo. Esta topología presenta tres regiones hidrofóbicas: el núcleo interior formado por la hoja beta central y las regiones inferior y superior del núcleo hidrofóbico localizado entre la cara externa de la hoja beta circular y las hélices alfa vecinas. Utilizando una estrategia de diseño modular, creamos variantes con un mayor empaquetamiento hidrofóbico en las tres regiones antes descritas. La combinación de mutaciones estabilizadoras resulta en efectos no aditivos o epistáticos, logrando variantes con diferencias de 22 kcal/mol en la estabilidad conformacional y de 60 grados en la temperatura de desnaturalización. El análisis estructural sugiere que la epistasis está relacionada con la extensión e integración de los centros hidrofóbicos.

Agradecimiento. El trabajo en nuestro laboratorio es financiado por la Facultad de Medicina de la UNAM y los proyectos UNAM-PAPIIT IN225525 y SECIHTI CBF-2025-I-2222.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

Del Entendimiento Mecanístico a Revelaciones Terapéuticas Mediante Enzimología Computacional

Upeksha Dissanayake¹, Yazdan Maghsoud¹, Mauricio G. Martil¹, Shubham Chatterjee¹, Mozhddeh Ghafari¹, y G. Andrés Cisneros^{1,2}, ¹Department of Chemistry and Biochemistry ²Department of Physics, University of Texas at Dallas, Dallas, Texas, EUA, andres@utdallas.edu.

Simulaciones Computacionales, Modificación de ADN, Biomarcadores de Cáncer

Resumen.

Las simulaciones biomoleculares basadas en dinámica molecular (MD) y en métodos de mecánica cuántica/mecánica molecular (QM/MM) se han vuelto lo suficientemente precisas como para predecir características específicas de los sistemas proteicos. Hemos desarrollado diversos programas y herramientas para realizar simulaciones QM/MM con potenciales avanzados, así como para evaluar distintas características de sistemas biomoleculares. También hemos desarrollado un método integral para identificar y caracterizar el impacto de mutaciones cancerígenas en proteínas específicas, basado en el descubrimiento y validación estadística de polimorfismos de nucleótido único (SNPs) en genes específicos, denominado HyDn-SNP-S, seguido de simulaciones atomísticas. Presentaremos ejemplos del uso de estos métodos para investigar las características estructurales, dinámicas y mecanísticas de enzimas involucradas en procesos del ADN, y cómo pueden ser utilizados en diversas aplicaciones, incluyendo caracterización mecanística del impacto de las mutaciones y el desarrollo de nuevos fármacos tomando en consideración mutaciones asociadas al cancer.

Agradecimiento. Agradecemos el financiamiento de NIH mediante los proyectos R01GM108583 y R35GM151951 y tiempo de cómputo via HPC@UTD y NSF-ACCESS BIO240023.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

DESCUBRIENDO, CARACTERIZANDO Y USANDO INTELIGENCIA ARTIFICIAL PARA DISEÑAR NUEVAS PET HIDROLASAS

Aransa Griñen^{1,2}, Christopher Bahl³, Ben Meinen³, César A. Ramírez-Sarmiento¹
(cesar.ramirez@uc.cl)

¹Instituto de Ingeniería Biológica y Médica, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile, 7820436

²Instituto Milenio de Biología Integrativa (iBio), Santiago, Chile, 833150

³AI Proteins Inc., Boston, Massachusetts, Estados Unidos, 02215

Palabras clave: Enzimas, PET hidrolasas, Inteligencia Artificial

Resumen.

En las últimas dos décadas, se ha descrito un sinnúmero de bacterias que secretan enzimas que catalizan la despolimerización del tereftalato de polietileno (PET) (1). La mayoría de estas hidrolasas de PET (PETasas) son termofílicas, alcanzando su actividad óptima a temperaturas superiores a 70 °C, mientras que solo unas pocas enzimas mesofílicas, como la PETasa de *I. sakaiensis*, poseen actividad óptima a 40 °C (1). En este seminario, discutiremos nuestros esfuerzos en el descubrimiento y caracterización de nuevas PETasas que catalizan la despolimerización del PET a diferentes temperaturas, incluyendo la identificación de una enzima proveniente de una bacteria antártica (Mors1) (2) que degrada PET a temperatura ambiente, y una enzima de un compost vegetal (PHL7) (3) que degrada PET a altas temperaturas. Finalmente, abordaremos cómo el rediseño de secuencias de PETasas mediante ProteinMPNN (4) y LigandMPNN (5) permite obtener una colección de nuevas enzimas con mayores niveles de sobreexpresión, mayor termoestabilidad, y aumentos moderados en la actividad de hidrólisis de PET respecto a las enzimas utilizadas como entrada para el rediseño (PHL7 y LCC^{CCG}). Estas nuevas enzimas constituyen potenciales biocatalizadores para la degradación biológica de este polímero en contextos industriales.

Agradecimientos.

International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology (ICGEB) CRP/CHL23-02, Homeworld Collective Garden Grants, ANID Millennium Science Initiative Program ICN17_022, EMBO Global Investigator Network.

Bibliografía.

1. Buchholz PCF, Feuerriegel G, Zhang H, Perez-Garcia P, Nover LL, Chow J, Streit WR, Pleiss J. (2022). *Proteins* 90, 1443–1456.
2. Blázquez-Sánchez P, Engelberger F, Cifuentes-Anticevic J, Sonnendecker C, Griñen A, Reyes J, Díez B, Guixé V, Richter PK, Zimmermann W, Ramírez-Sarmiento CA. (2022) *Appl Environ Microbiol* 11, 88(1), e0184221.
3. Sonnendecker C, Oeser J, Richter PK, Hille P, Zhao Z, Fischer C, Lippold H, Blázquez-Sánchez P, Engelberger F, Ramírez-Sarmiento CA, Oeser T, Lihanova Y, Frank R, Jahnke HG, Billig S, Abel B, Sträter N, Matysik J, Zimmermann W. (2022) *ChemSusChem* 15(9), e202101062.
4. Dauparas J, Anishchenko I, Bennett N, Bai H, Ragotte RJ, Milles LF, Wicky BIM, Courbet A, de Haas RJ, Bethel N, Leung PJY, Huddy TF, Pellock S, Tischer D, Chan F, Koepnick B, Nguyen H, Kang A, Sankaran B, Bera AK, King NP, Baker D. (2022) *Science* 378(6615), 49-56.
5. Dauparas J, Lee GR, Pecoraro R, An L, Anishchenko I, Glasscock C, Baker D. (2025) *Nat Methods* 22(4), 717-723.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

DISCRETE GENERATIVE MODELS FOR PROGRAMMABLE BIOLOGICS DESIGN

IX Congress of Physical Chemistry, Structure and Design of Proteins 13th National Congress of Chemical-Biological Sciences

Pranam Chatterjee

Keywords: Generative models, biologics design, therapeutics, bioremediation

Abstract.

The Chatterjee Lab at the University of Pennsylvania develops sequence-based algorithms to design functional biologics, from CRISPR enzymes for precise genome editing to transcription factors that direct differentiation of ovarian cells for fertility applications. The primary focus of this talk will be on our new language models (i.e., PepPrCLIP and PepMLM) that de novo design peptides capable of binding and modulating undruggable, disordered disease targets, such as oncogenic fusion proteins, viral phosphoproteins, and neurodegenerative protein aggregates. To enhance design applications, we will further introduce new models that extend the representation capacity of language models to post-translational modifications (PTM-Mamba) and oncogenic fusion proteins (FusOn-pLM). Additionally, we will highlight new frameworks for discrete generation of highly-specific, therapeutic molecules that are simultaneously optimized for target binding, drug-like properties (PepTune, SOAPIA, and MOG-DFM), as well as metal sequestration (Metalorian). Looking to the future, we will spotlight several new models for programmable cell state induction (BranchSBM) and for transition path sampling to enable control over protein states (EntangledSBM and ScooBDoob).

Acknowledgements.

Pranam Chatterjee acknowledges funding from the Hartwell Individual Biomedical Award, as well as NIH grants R35GM155282 and R21-CA278468. He is a co-founder of Gameto, Inc., UbiquiTx, Inc., and AtomBioworks, Inc., and serves as an advisor to various peptide therapeutics companies.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

EVENTOS INICIALES DEL ARMADO DEL INTASOMA DE LA RECOMBINASA CRE

Nina Pastor, Centro de Investigación en Dinámica Celular, IICBA, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Morelos 62209, nina@uaem.mx.

Palabras clave: reconocimiento molecular, dinámica, recombinación

Resumen.

La recombinasa Cre lleva a cabo dos procesos cruciales durante la infección del bacteriófago P1 en *Escherichia coli*: circulariza el genoma del virus y resuelve los dímeros formados durante la replicación por recombinación homóloga (1). Hace esto reconociendo una secuencia de 34 pares de base (pb) llamada *loxP*, compuesta por dos secuencias palindrómicas de 13 pb (RBE) separadas por un espaciador de 8 pb con secuencia ATGTATGC. A cada *loxP* se unen dos Cre, generando un complejo Cre_2-loxP . Dos de estos complejos se unen en forma antiparalela para conformar el intasoma (Cre_4-loxP_2), que es la forma funcional de la enzima (2). Cada Cre contiene un sitio activo completo. Durante el proceso de recombinación, dos Cre (una de cada sitio *loxP*) hacen un corte en una cadena, quedando covalentemente unidas al ADN. El extremo 5' libre generado ataca al duplex vecino, generando un intermediario de Holliday; éste se isomeriza, inactivando las Cre activas y volviendo activas a las otras dos Cre. Éstas cortan la otra cadena de ADN y se resuelve el intermediario de Holliday, resultando en dos moléculas recombinadas sin pérdida ni ganancia de información (1).

A pesar de que el intasoma contiene un homotetrámero de Cre, y que su sitio de unión (el RBE) es idéntico, las interacciones que hace Cre con *loxP* no son simétricas, resultando en una pareja catalíticamente activa y otra pareja inactiva. Cómo sucede esto y la facilidad de interconversión entre estos dos estados no está entendido. Se ha propuesto que la clave es la asimetría del espaciador, pero las estructuras disponibles de Cre unida a ADN no muestran muchos contactos específicos en esta zona. Esto sugiere que la dinámica de estos complejos es importante para decidir la actividad o inactividad de Cre.

Para explorar la dinámica de la interacción Cre-*loxP*, simulamos mediante dinámica molecular clásica complejos formados por una Cre unida a medio sitio *loxP* y dímeros de Cre unidos a *loxP*, partiendo de las estructuras 7RHY y 7RHZ (3). Dado que Cre tiene regiones intrínsecamente desordenadas, colectamos un tiempo acumulado de 20 μ s de simulación por sistema. En estos sistemas caracterizamos los contactos Cre-ADN y Cre-Cre, los ajustes conformacionales de Cre, y los ajustes conformacionales del ADN en los eventos iniciales del ensamblado del intasoma. Construimos complejos con distintas secuencias del espaciador, de manera que la Cre activa se encuentre sobre ambos extremos del mismo al inicio de la simulación, y exploramos si la asimetría en Cre aparece desde el estado monomérico o una vez que se forma el dímero sobre *loxP*. Los resultados hasta ahora sugieren que la Cre que coloniza primero a *loxP* será la catalíticamente activa, ya que los contactos sobre el ADN invaden más allá de la mitad de la región espaciadora y la segunda Cre en unirse no puede acomodarse de la misma manera. Hay contactos específicos con el borde 3' del espaciador, con el reconocimiento preferencial del último par GC, sobre el par AT en el borde 5' del espaciador, lo cual sugiere una preferencia de colonización sobre el RBE derecho. Esto es congruente con la preferencia 10:1 para cortar primero del lado derecho del espaciador (4,5). El extremo C-terminal de Cre puede interactuar en *cis* con su subunidad o en *trans* con la vecina, e intercambiar sitios de unión en tiempos de μ s, siendo frecuente pero lábil la interacción recíproca, contrario a lo supuesto en la literatura (2).

Agradecimiento. Proyecto SECIHTI CBF2023-2024-3670. Agradecemos el tiempo de supercómputo en LANCAD, Laboratorio Nacional del Supercómputo del Sureste de México, Centro Nacional de Supercómputo y CIMAT.

Bibliografía.

1. Meinke G, Bohm A, Hauber J, Pisabarro MT, and Buchholz F (2016). *Chemical Reviews*, **116**, 12785-12820
2. Foster MP, Benedek MJ, Billings TD, Montgomery JS (2024). *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **88**, 102878
3. Stachowski K, Norris A, Potter D, Wysocki VH, and Foster M. (2022). *Nucleic Acids Res.* **50**, 1753-1769.
4. Lee L and Sadowski PD (2003). *J. Mol. Biol.*, **326**, 397-412.
5. Ghosh K, Lau C, Gupta K, and Van Duyne GD (2005). *Nature Chemical Bio.* **1**, 275-282.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

One-shot design of functional protein binders with BindCraft

IX Congress of Physical Chemistry, Structure and Design of Proteins
13th National Congress of Chemical-Biological Sciences

Martin Pacesa & Lennart Nickel

Laboratory of Protein Design and Immunoengineering, École Polytechnique Fédérale de Lausanne and Swiss Institute of Bioinformatics, 1015 Lausanne, Switzerland

Keywords: binder, protein design, alphafold2

Abstract.

Protein-protein interactions are at the core of all key biological processes. However, the complexity of the structural features that determine protein-protein interactions makes their design challenging. Here we present BindCraft, an open-source and automated pipeline for de novo protein binder design with experimental success rates of 10-100%. BindCraft leverages the weights of AlphaFold2 to generate binders with nanomolar affinity without the need for high-throughput screening or experimental optimization, even in the absence of known binding sites. We successfully designed binders against a diverse set of challenging targets, including cell-surface receptors, common allergens, de novo designed proteins and multi-domain nucleases, such as CRISPR-Cas9. We showcase the functional and therapeutic potential of designed binders by reducing IgE binding to birch allergen in patient-derived samples, modulating Cas9 gene editing activity and reducing the cytotoxicity of a foodborne bacterial enterotoxin. Last, we use cell-surface-receptor-specific binders to redirect adeno-associated virus capsids for targeted gene delivery. This work represents a significant advancement towards a 'one design-one binder' approach in computational design, with immense potential in therapeutics, diagnostics and biotechnology.

Acknowledgements.

M.P. was supported by the Peter und Traudl Engelhorn Stiftung. L.N. was supported by the Novartis Foundation for Medical-Biological Research



I01

Liliana Quintanar
CINVESTAV



I02

Arturo Rojo
UAM-Cuajimalpa



I03

Enrique Rudiño
IBT, UNAM



I04

Laura Domínguez
FQ, UNAM



I05

Adam Campos
University of Utah



I06

Georgina Garza
FM, UNAM



I07

Joel Ireta
UAM-Iztapalapa



I08

Igor Valencia
IFC, UNAM



I09

Saacnicteh Toledo
OIST, Japón



I10

Sergio Romero
IFC, UNAM

Conferencias Invitadas

I

I01 Copper bioinorganic chemistry of degenerative diseases: From Alzheimer's to cataracts

I02 Diseño de grapas moleculares por docking

I03 Sincrotrones y metaloenzimas, ¿qué tanto se puede hacer y aprender?

I04 De la síntesis proteica a la disfunción celular en enfermedades neurodegenerativas

I05 Structural studies of AMOT-NEDD4L-MERLIN complexes in Hippo signaling

I06 Desarrollo de sistemas biocatalizadores de remediación ambiental basados en nitrilasas

I07 Artificial intelligence and the protein folding problem, has it been solved?

I08 Cryo-EM para visualizar la actividad de enzimas modificadoras de los cromosomas, a alta resolución

I09 Protein Origami: How insertions and deletions sculpt protein structure and function throughout evolution

I10 Generative language models for exploring and expanding the protein sequence space



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

Copper bioinorganic chemistry of degenerative diseases:

From Alzheimer's to cataracts

Liliana Quintanar

Centro de Investigación sobre el Envejecimiento (CIE) y Departamento de Química,
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (Cinvestav), CDMX, México.

lilianaq@cinvestav.mx

Palabras clave: Cobre, proteínas, Alzheimer, Cataratas

Abstract.

Copper is an essential cofactor of metalloenzymes, yet it is also implicated in several degenerative diseases, including Alzheimer's, Parkinson's, prion diseases, diabetes type 2, and cataracts. Some proteins implicated in these diseases are also copper-binding proteins [1,2]. Our research group aims to understand the nature of these metal-protein interactions to provide further insights into the bioinorganic chemistry of these diseases. In this presentation, Cu-protein interactions that are key players in neuroprotective mechanisms at the synapse that are affected in Alzheimer's disease, will be discussed [3,4]. Also, our recent findings on the mechanisms of copper-induced aggregation of human lens b/g-crystallins, associated to cataract disease, will be presented [5-7]; with emphasis in a striking copper reductase activity of g-crystallins [7].

References.

1. Posadas, Y. et al *The Role of d-block Metal Ions in Neurodegenerative Diseases*, in Comprehensive Inorganic Chemistry III, **2023**, Elsevier.
2. Posadas, Y., Sánchez-López, C.; Quintanar, L. "Copper binding and protein aggregation: a journey from the brain to the human lens" *RSC Chem.Biol.* **2023**, 4, 974-985.
3. Posadas, Y. et al. *Inorg. Chem.* **2021** 60, 8968-8972.
4. López-Guerrero, V. et al. *ACS Chem. Neurosci.* **2025**, 16, 241-261.
5. Quintanar, L. et al. *ACS Chem. Biol.* **2016**, 11, 263-272.
6. Tovar, M. et al, *Inorg. Chem.*, **2023**, 62, 27, 10592-10604.
7. Palomino-Vizcaino, G. et al, *J. Amer. Chem. Soc.*, **2023**, 145, 12, 6781-679.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

SINCROTRONES Y METALOENZIMAS, ¿QUÉ TANTO SE PUEDE HACER Y APRENDER?

Enrique Rudiño Piñera. Instituto de Biotecnología, Departamento de Biología Molecular y Bioprocesos, Cuernavaca, Morelos, 62210, enrique.rudino@ibt.unam.mx

Palabras clave: biología estructural, sincrotrones, enzimas redox

Resumen.

Desde la década de 1980, se ha reconocido que la descripción tridimensional (3D) de una proteína es fundamental para comprender su mecanismo catalítico y sus implicaciones funcionales en distintos sistemas enzimáticos. Sin embargo, numerosos casos han demostrado que la mera obtención de una estructura 3D, especialmente cuando se basa únicamente en datos de difracción de rayos X, resulta insuficiente para caracterizar de forma completa y precisa los procesos enzimáticos. Esta limitación se debe, en gran medida, a la dependencia de una sola técnica en el abordaje estructural. Como respuesta, ha emergido un enfoque multidisciplinario conocido como **biología estructural integrativa**, el cual combina diversas técnicas experimentales y computacionales para abordar la estructura y función de proteínas desde múltiples niveles, incluso subatómicos. Entre las herramientas utilizadas se encuentran técnicas de biología molecular, microbiología, purificación y química de proteínas, cristalografía, difracción de rayos X, resonancia magnética nuclear (RMN), microPIXE, EPR, DLS, calorimetría, espectroscopía de fluorescencia, UV-Visible, Raman, dicroísmo circular (CD), SAXS, microscopía electrónica, entre otras. En una primera etapa, nuestro grupo aplicó este enfoque en el estudio de metaloenzimas que contienen Fe y/o Cu (como lacasas y peroxidasas). Con el tiempo, la expansión de nuestras líneas de investigación ha permitido aplicar esta estrategia a un amplio rango de sistemas proteicos, incluyendo: (i) inhibidores de proteasas, (ii) interacciones estructurales entre venenos y anticuerpos, (iii) mecanismos de resistencia estructural a radiación ionizante en microorganismos, (iv) enzimas implicadas en resistencia antimicrobiana, (v) factores que prolongan la vida útil de cristales proteicos expuestos a rayos X, y (vi) determinantes estructurales responsables de biofluorescencia. En esta charla se presentarán ejemplos específicos que ilustran la necesidad de enfoques integrales, donde la experimentación y las herramientas computacionales no compiten, sino que se complementan, revelando incluso las limitaciones de cada una de manera constructiva.

Agradecimiento. Al proyecto DGAPA-PAPIIT IN226523, al incentivo del SNII y al presupuesto institucional del IBt-UNAM por el financiamiento otorgado al trabajo del grupo de Bioquímica Estructural del IBt-UNAM.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

De la síntesis proteica a la disfunción celular en enfermedades neurodegenerativas

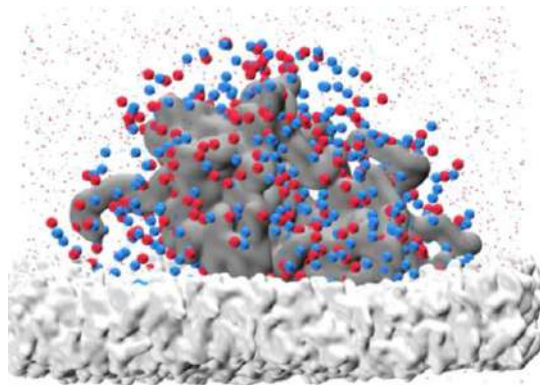
Laura Domínguez, Departamento de Fisicoquímica, Facultad de Química, UNAM. Coyoacán, Cd. Universitaria, 04510, CDMX. lauradd@unam.mx

Condensados, multiescala, dinámica molecular, neurodegenerativas

Resumen.

Tanto la enfermedad de Alzheimer como la esclerosis lateral amiotrófica son enfermedades neurodegenerativas de etiología desconocida. Son caracterizadas por la agregación de diversas proteínas, incluidos los péptidos amiloides o FUS ("Fused in Sarcoma") respectivamente, en forma de condensados líquidos en la región extracelular como en el citoplasma de las neuronas. La separación de fases líquido-líquido (LLPS) desempeña un papel central en la formación de estos condensados. Además, la interacción de estos condensados proteicos con las membranas celulares ha resultado ser un factor crucial para su estabilidad, envejecimiento y toxicidad.

En este trabajo, empleamos simulaciones de dinámica molecular multiescala para describir los mecanismos moleculares subyacentes a la separación de fases líquido-líquido de FUS en presencia de membranas celulares.



Agradecimiento. Comexus Fulbright García Robles, SECIHTI, DGAPA, DGTIC



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

STRUCTURAL STUDIES OF AMOT-NEDD4L-MERLIN COMPLEXES IN HIPPO SIGNALING

Adam Campos, John McCullough, Akram Alian, and Wesley I. Sundquist
University of Utah School of Medicine, Department of Biochemistry, Salt Lake City UT, 84112.
adam.acevedo@bichem.utah.edu

Palabras clave: Hippo pathway, AMOT, Cryo-EM

Resumen.

The conserved Hippo tumor suppressor pathway dictates organ size and regeneration, participates in stem cell self-renewal and expansion, is dysregulated in many human cancers, and is a leading target for anticancer therapeutic development. Here, we propose to define the biochemistry and structural biology of a key class of kinase/ubiquitin-responsive complexes that function as central nodes in Hippo signaling (and elsewhere). These complexes comprise motin family proteins (AMOT p130, AMOT p80, AMOTL1, or AMOTL2), the Merlin (Neurofibromin 2) tumor suppressor, the HECT ubiquitin E3 ligase NEDD4L, and YAP/TAZ transcriptional co-activators. The complexes transduce Hippo kinase signaling inputs into biological outputs that either favor homeostasis state ("Hippo ON") or promote actin assembly and proliferative gene transcription ("Hippo OFF").

In preliminary studies, we have shown that AMOT proteins form large, homopolymeric assemblies that appear to function as signaling platforms that bind NEDD4L, Merlin, and YAP/TAZ, and recruit LATS kinases. When Hippo signaling is on, these complexes activate the LATS and NEDD4L enzymes, promote phosphorylation of LATS, AMOT, and YAP/TAZ, and facilitate Merlin ubiquitination, thereby creating phospho-YAP/TAZ complexes that are retained in the cytoplasm and inducing conformational changes that allow Merlin to function as a tumor suppressor. When Hippo kinase signaling is off, unmodified YAP/TAZ subcomplexes move into the nucleus to stimulate transcription of proliferative genes, and AMOT-Merlin complexes nucleate actin polymerization to promote cell motility. The fundamental goal of our research is to gain a molecular understanding of this central switch in Hippo-mediated signaling.

Our initial focus targeted the structure of AMOT p80, the simplest of the AMOT assemblies. In our preliminary studies, we have: 1) overexpressed AMOT p80 in human HEK 293T cells, 2) optimized the purification of milligram quantities of native AMOT p80 assemblies, 3) demonstrated that AMOT p80 forms very large homomeric assemblies (~5 MDa) and 4) performed preliminary single particle cryo-EM reconstructions showing that AMOT p80 forms a striking "three-tiered" platform. We now propose to determine the structure of the AMOT p80 assembly to near-atomic resolution by collecting much more cryo-EM data of improved samples.

Agradecimiento. FY24 VPR Seed Grant, Core research facilities, University of Utah, Pacific Northwest Center for Cryo-EM, Omar Davulcu (PNCC support)

Bibliografía.

1. Ernkqvist, *et al.* 2008. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* **1783**
2. Rheinemann, *et al.* 2021. *Journal of Biological Chemistry* **297**
3. Amirifar, *et al.* 2023. *Oncogene* **42**, 1265–127
4. Pham, *et al.* *bioRxiv* 2023.10.03.560675



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

DESARROLLO DE SISTEMAS BIOCATALIZADORES DE REMEDIACIÓN AMBIENTAL
BASADOS EN NITRILASAS

Georgina Garza Ramos Martínez, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM,
Ciudad Universitaria 04510, Ciudad de México, México. ggarza@bq.unam.mx

Palabras clave: biocatálisis, remediación ambiental, inmovilización de enzimas

Resumen.

Los cianuros son compuestos químicos abundantes en la naturaleza, que se presentan como cianuros inorgánicos (HCN) y cianuros orgánicos o nitrilos (RCN). Ambos tipos de compuestos son potencialmente tóxicos y no suelen ser fácilmente biodegradables. Los cianuros provenientes de residuos industriales se encuentran en aguas superficiales y lodos contaminados; no es absorbido o retenido en el suelo, por lo que permanece en la fase acuosa y llega a formar complejos con otros contaminantes metálicos de efluentes industriales. La acumulación de aguas residuales con cianuros en el medio ambiente se convierte en un riesgo potencial para los ecosistemas y la salud humana; por lo que estos residuos industriales deben tratarse antes de verter los efluentes al ambiente. Dado que los tratamientos fisicoquímicos son costosos, requieren infraestructuras complejas y suelen ser ineficaces para los complejos estables, la degradación microbiológica se ha considerado como una alternativa eficiente para la eliminación de cianuros contaminantes e incluso se ha tratado de implementar el uso de enzimas puras, para generar sistemas biocatalizadores de la hidrólisis de cianuro y nitrilos¹. Las cianuro dihidratasa (CynD) transforman en un solo paso el cianuro en ácido fórmico y amoníaco y las nitrilasas (Nit) convierten los cianuros orgánicos en sus respectivos ácidos carboxílicos y amoníaco, por lo que se consideran enzimas con gran potencial biocatalítico². Durante los últimos años, en nuestro laboratorio hemos llevado a cabo un estudio enzimológico y estructural de la Nit de *Rhodococcus* sp. V51B, y de la CynD de *Bacillus pumilus* GMA1. Por sus propiedades de oligomerización, forman estructuras filamentosas helicoidales de gran tamaño, constituyen un prototipo para el desarrollo de un sistema biocatalizador eficiente de la hidrólisis de cianuros³. Las estructuras tridimensionales de la Nit de R. sp. V51B (PDB 8UXU)⁴, y de la CynD de *B. pumilus* (PDB 8P4I) resueltas por criomicroscopía electrónica, nos han permitido diseñar mutantes con propiedades catalíticas y de estabilidad mejoradas a condiciones de uso biotecnológico. Aunado a esto se ha implementado una estrategia de inmovilización por entrecruzamiento químico de enzimas agregadas llamadas CLEAs⁵. Las CynD-CLEAs y Nit-CLEAs son estables, reusables y mantiene su actividad por largos períodos de almacenamiento.

En el caso particular de la CynD el mayor obstáculo para su uso en la degradación de desechos de cianuro es la baja tolerancia que presenta en condiciones alcalinas; condiciones en las que generalmente se encuentran las soluciones contaminadas con cianuro. Hemos obtenido mutantes con tolerancia alcalina que incorporadas en CLEAs muestran estabilidad y actividad a pH alcalino (> 9.0), en comparación con la enzima libre cuya actividad decae drásticamente a partir de pH 8.5. La inmovilización en CLEAs de la BpCynD y la RsNit abre entonces la posibilidad de diseñar sistemas eficientes de remediación ambiental.

Agradecimiento. DGAPA-UNAM: PAPIIT IN217725

1. Luque-Almagro, V.M., Cabello, P., Sáez, L.P., Olaya-Abril, A., Moreno-Vivián, C., & Roldán, M.D. (2018) *Appl Microbiol Biotechnol.* 102(3):1067-1074
2. Park, J.M., Sewell, B.T., & Benedik, M.J. (2017) *Appl Microbiol Biotechnol.* 101(7): 3029-3042.
3. Aguirre Sampieri, S. y Garza Ramos Martínez G (2018) *Mens. Bioquim.* 42 36-47. <http://tab.facmed.unam.mx>.
4. Aguirre-Sampieri, S., Casañal, A., Emsley, P. and Garza-Ramos, G. (2024). *J. Struct. Biol.* 2016, 108093. doi.org/10.1016/j.jsb.2024.108093.
5. Sheldon RA, Woodley JM. (2018) *Chem Rev.* Jan 24;118(2):801-838. doi: 10.1021/acs.chemrev.7b00203. Romero MD. (2018) *Tesis de Licenciatura*, Facultad de Medicina, UNAM, CDMX. Quintana-Rojas JC. (2024). *Tesis de Maestría*, Posgrado en Ciencias Bioquímicas, UNAM, CDMX.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

INTELIGENCIA ARTIFICIAL Y EL PROBLEMA DEL PLEGAMIENTO DE LAS PROTEÍNAS ¿HA QUEDADO RESUELTO?

Joel Ireta, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, Departamento de Química, Ciudad de México 09310, iret@xanum.uam.mx.

Plegamiento de proteínas, inteligencia artificial, simulación y modelos teóricos

Resumen.

La generación de algoritmos para detectar patrones de comportamiento en conjunto grandes de datos ha tenido un desarrollo impresionante en las últimas décadas. Este conjunto de algoritmos, comunmente llamados inteligencia artificial, no solo han influenciado nuestra vida diaria si no han tenido un gran impacto en el estudio de una gran diversidad de fenómenos, entre ellos el de la relación estructura-composición en proteínas. En particular las metodologías basadas en aprendizaje estadístico, también llamado aprendizaje automático, fueron utilizadas por los grupos que desarrollaron AlfaFold y RoseTTAFold para predecir con precisión si presedentes la estructura de proteínas monoméricas, lo cual les valió ganar el premio Nobel de química en el año 2024. En esta charla se hará un recuento del planteamiento del problema del plegamiento de las proteínas y los eventos importantes que precedieron a la predicción su plegammiento con AlfaFold2 y RosseTTAFold. Se discutirán los alcences y limitaciones de éstas metodologías y sobre si ha quedado resuelto el problema, haciendo énfasis en la particularidad de que AlfaFold2 no considera las propiedades fisicoquímicas de las proteínas para predecir su plegamiento, al menos no de forma directa. Entonces cabe preguntarse la relevancia de intentar predecir la estructura de las proteínas basándose solamente en sus propiedades físicas y químicas.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

Cryo-EM para visualizar la actividad de enzimas modificadoras de los cromosomas, a alta resolución

Marco Igor Valencia-Sánchez, Jonathan F. Thomas, Victoria Godínez-López, Pablo De Ioannes, Rachel Lee, Stephen Abini-Agbomson, Brian A. Sosa, Simone Tamburri, Susan L. Gloor, Samantha Rustichelli, Pablo De Ioannes, Kristjan Gretarsson, Jonathan M. Burg, Allison R. Hickman, Lu Sun, Saarang Gopinath, Hailey Taylor, Matthew J. Meiners, Marcus A. Cheek, William Rice, Evgeny Nudler, Chao Lu, Michael-Christopher Keogh, Diego Pasini, Jean-Paul Armache, Karim-Jean Armache

Instituto de Fisiología Celular UNAM, Departamento de Bioquímica y Biología Estructural, Mexico City, Mexico, CP 04510/ NYU Grossman School of Medicine, NY, USA. ivalencia@ifc.unam.mx

Palabras clave: Cryo-microscopía electrónica, Cambios conformaciones, Epigenética.

Resumen.

La crio-microscopía electrónica (cryo-EM) permite determinar modelos tridimensionales de alta resolución de macromoléculas que han escapado a la cristalografía de rayos X y otros enfoques estructurales (1). La cryo-EM actualmente experimenta una explosión en su uso con miras a volverse la tecnología dominante, siendo usada para obtener estructuras de componentes dinámicos como las de proteínas embebidas en las membranas celulares, reguladores epigenéticos en complejo con la cromatina, e incluso para visualizar los cambios conformaciones en las enzimas y deducir mecanismos, y para diseño de fármacos (1). En este trabajo, reportamos las estructuras de dos reguladores epigenéticos en las que el uso de cryo-EM fue esencial para resolver su mecanismo de acción. El Complejo Represivo de Polycomb 1 (PRC1) y el Disruptor de Silenciamiento Telomérico (Dot1L) son clave para mantener los patrones de expresión génica durante el desarrollo de los metazoos, mientras la alteración de sus sistemas respectivos produce graves problemas de desarrollo o contribuye a la iniciación y progresión del cáncer (2, 3, 4). Dot1L es estimulada por la ubiquitinación de la lisina 120 de la histona H2B (H2BK120Ub)(2), y PRC1 por la lisina 119 de la histona H2A (H2AK119Ub)(3). Dot1L es reclutada por proteínas del grupo Trithorax para sustituir su actividad catalítica en la leucemogénesis (2). Estudios por cryo-EM, bioquímicos y celulares de Dot1L revelaron sus distintas conformaciones durante la catálisis, definiendo el mecanismo molecular por el que metila la H3K79 mediante la estimulación alostérica por H2BK120Ub y otras modificaciones (5). También al combinar cryo-EM con enfoques funcionales, descubrimos cómo la unión asimétrica de PRC1 no canónico (ncPRC1) a la marca H2AK119Ub en mono-nucleosomas y di-nucleosomas, mediada por un linker flexible, permite un mecanismo de lectura-escritura de la misma marca en el lado opuesto del mismo nucleosoma y entre varios de ellos (6). Estos hallazgos basados en estructuras determinadas por cryo-EM, resaltan el papel de ncPRC1 en la restauración de la marca H2AK119Ub después de la replicación y la formación de grandes dominios de cromatina en el paisaje nuclear (3, 6), parte clave de la memoria celular.

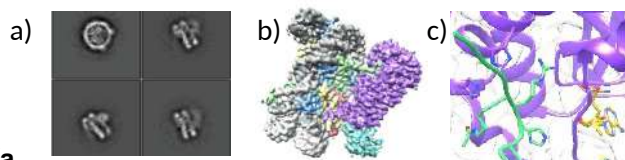


Figura 1. a) Vistas 2D para cryo-EM. b) Mapa coulombico final de la reconstrucción. c) Interacciones con un grupo acetilo en el PDB

Bibliografía.

- (1) Nogales, E., & Scheres, S. H. (2015). Cryo-EM: a unique tool for the visualization of macromolecular complexity. *Molecular cell*, 58(4), 677-689.
- (2) McLean, C. M., Karemaker, I. D., & Van Leeuwen, F. (2014). The emerging roles of DOT1L in leukemia and normal development. *Leukemia*, 28(11), 2131-2138.
- (3) Wang, H., et al. (2004). Role of histone H2A ubiquitination in Polycomb silencing. *Nature*, 431(7010), 873-878.
- (4) Parreno, V., Martinez, A. M., & Cavalli, G. (2022). Mechanisms of Polycomb group protein function in cancer. *Cell research*, 32(3), 231-253.
- (5) Valencia-Sánchez, M. I., De Ioannes, P., Wang, M., Truong, D. M., Lee, R., Armache, J. P., ... & Armache, K. J. (2021). Regulation of the Dot1 histone H3K79 methyltransferase by histone H4K16 acetylation. *Science*, 371(6527), eabc6663.
- (6) López, V. G., Valencia-Sánchez, M. I., ... & Armache, K. J. (2024). Read-write mechanisms of H2A ubiquitination by Polycomb repressive complex 1. *Nature*, 636(8043), 755-761



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

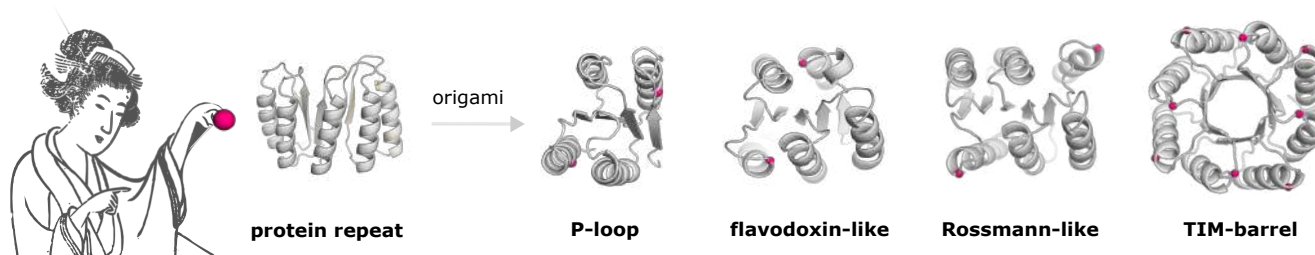
ORIGAMI: HOW INSERTIONS AND DELETIONS SCULPT PROTEIN
STRUCTURE AND FUNCTION THROUGHOUT EVOLUTION

José Alberto León González, Euikyung Yu, Saacnieteh Toledo Patiño
Okinawa Institute of Science and Technology Graduate University, Molecular BioEngineering
Group1919-1 Tancha, Onna, Kunigami District, Okinawa 904-0495

Evolution, InDels, folds

Summary.

Understanding how contemporary protein folds emerged from small peptides remains one of the most fundamental challenges in molecular evolution. While repetition and recombination have long been proposed as primary mechanisms driving the emergence of protein structure, direct evidence supporting fragment recombination in early proteins remains limited. In contrast, peptide repetition is a well-documented and evolutionarily conserved phenomenon, detectable at both the sequence and structural levels in modern proteins. In this talk, I present an alternative, experimentally supported hypothesis inspired by the Japanese art of origami: that insertions and deletions (InDels) within peptide repeats functioned as molecular hinges, enabling linear templates to undergo topological rearrangements and evolve into the diverse protein folds observed today. Building on our prior work—where we demonstrated that the introduction of small amino acid InDels can switch both protein fold (1) and function (2)—we now show that targeted InDels within repeat architectures can induce major structural transformations. These InDel-mediated rearrangements give rise to ancient folds such as the TIM-barrel, P-loop NTPase, Rossmann-like, flavodoxin, and ferredoxin folds. Our findings reveal that such InDel-mediated transformations, so called macrotransitions (3) enable the elaboration of diverse protein architectures from a single sequence template, supporting the idea that a common ancestral pool of protein repeats diversified through the strategic incorporation of InDels. This model complements and extends current theories based on repetition and recombination, offering an elegant, evolutionarily plausible mechanism by which early, error-prone replication systems could have generated complex, multifunctional protein domains. We term this model “**protein origami**” to emphasize its capacity to produce complex functional shapes through simple, modular transformations—offering not only insight into the emergence of protein folds but also an evolutionary principle for diversifying dynamic loops and cofactor-binding geometries that may offer guidances to incorporate functional coenzyme pockets in protein design.



Graphical Abstract. Insertion–deletion mutations mediating origami folding on linear protein templates.

Agradecimiento. We gratefully acknowledge financial support from the Japan Program for the Evolutionary Advancement of Knowledge and Science (J-PEAKS).

1. Jayaraman V, Toledo-Patiño S, Noda-García L, Laurino P. (2022) *Protein Sci.* 31(7): e4362.
2. Toledo-Patiño S, Pascarelli S, Uechi G, Laurino P. (2022) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 119(48): e2207965119.
3. Toledo-Patiño S, Chaubey M, Coles M, Höcker B. (2019) *Biochemistry* 58(48): 4790–4793.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

GENERATIVE LANGUAGE MODELS FOR EXPLORING AND EXPANDING
THE PROTEIN SEQUENCE SPACESergio Romero-Romero¹¹Department of Biochemistry and Structural Biology, Instituto de Fisiología Celular,
Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City 04510, sromero@ifc.unam.mx*Keywords: Protein design, Sequence space, Large Language Models***Abstract.**

Proteins are fundamental to life, yet natural evolution has sampled only a limited fraction of the vast protein sequence space. Advances in artificial intelligence (AI), particularly large language models (LLMs) based on Transformer architectures, now provide powerful approaches to investigate protein sequence–structure–function relationships and generate *de novo* sequences (1). In this talk, I will present the use of generative models—both conditional and unconditional—to access unexplored regions of the protein landscape and design robust and functional proteins. Drawing on the analogy between human languages and amino acid sequences, we applied zero-shot and fine-tuned generation with models such as ProtGPT2 (2), ZymCTRL (3), and ProGen2 (4) to generate thousands of artificial sequences. Computational evaluation followed by experimental characterization showed that several of these proteins expressed efficiently, folded properly, and displayed biochemical and biophysical properties comparable to natural counterparts. Some designed enzymes exhibited catalytic activity, although with reduced efficiency relative to natural homologs (5). Moreover, we integrated LLM-based design with directed evolution and computational optimization to improve solubility, stability, and functionality. Altogether, this work illustrates how AI-driven strategies, complemented by high-performance computing resources, enable the design of proteins across regions of sequence space beyond evolutionary reach. It highlights an innovative route for tailoring functional macromolecules and positions LLMs as powerful tools for the rational design of robust proteins with broad biotechnological and biomedical applications.

Acknowledgements.

This work was supported by SECIHTI (Grant: CBF2023-2024-271) and PAPIIT UNAM (Grant: IA203925).

References.

1. Romero-Romero, S., Lindner, S., & Ferruz, N. (2023). Exploring the Protein Sequence Space with Global Generative Models. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 15(11): a041471.
2. Ferruz, N., Schmidt, S., & Höcker, B. (2022). ProtGPT2 is a deep unsupervised language model for protein design. *Nature Commun.* 13(1): 4348.
3. Munsamy, G., Illanes-Vicioso, R., Funcillo, S., Nakou, I., Lindner, S., Ayres, G., Sheehan, L. S., Moss, S., Eckhard, U., Lorenz, P., & Ferruz, N. (2024). Conditional language models enable the efficient design of proficient enzymes. *bioRxiv*.
4. Madani, A., Krause, B., Greene, E. R., Subramanian, S., Mohr, B. P., Holton, J. M., Olmos, J. L., Jr, Xiong, C., Sun, Z. Z., Socher, R., Fraser, J. S., & Naik, N. (2023). Large language models generate functional protein sequences across diverse families. *Nat Biotechnol.* 41(8): 1099–1106.
5. Romero-Romero, S., Braun, A. E., Kossendey, T., Ferruz, N., Schmidt, S., & Höcker, B. (2024). *De novo* design of triosephosphate isomerases using generative language models. *bioRxiv*.

Conferencias seleccionadas

S

- S01** **Leticia Ramírez Silva.** El estado funcional de la piruvato cinasa de *Thermoplasma acidophilum* depende de su secuencia carboxilo terminal extra
- S02** **Marco Antonio Ramírez Martínez.** Definiendo un monómero activo de Cre: el papel de la dirección de la secuencia espaciadora de loxP
- S03** **Ponciano García Gutiérrez.** Glutación transferasas citosólicas del parásito *Taenia solium*: su caracterización bioquímica, estructural y desarrollo de inhibidores
- S04** **Ricardo Miranda Blancas.** Influencia de los cambios inter-cisteína sobre el plegamiento de la β -neurotoxina Ts1 de alacrán
- S05** **Miriam Livier Llamas García.** Estructura cristalográfica de SdrP de *Thermus thermophilus* en complejo con DNA y su posible mecanismo de regulación
- S06** **Esmeralda Martínez Torres.** Potencial biotecnológico de una glucósido-hidrolasa de *Fusarium incarnatum* CRT 197 aislado del agave
- S07** **Edmundo Castillo Rosales.** Las enzimas más allá de sus límites: cambios estructurales en mezclas eutécticas naturales explican incrementos en actividad y termoestabilidad
- S08** **José A. Parra Espinoza.** Ingeniería de la α -amilasa de *B. licheniformis* guiada por herramientas de *machine learning* acopladas a evolución dirigida para introducir actividad transglicosídica
- S09** **Jorge Emiliano Salinas López.** Inteligencia artificial y dinámica molecular para muestreo conformacional de proteínas
- S10** **Juan Martín Hernández Castillo.** En búsqueda de transiciones estructurales en una red de proteínas paralelas
- S11** **Lorenzo Segovia Forcella.** Aplicaciones de inteligencia artificial en el diseño de interacciones proteína-ligando
- S12** **Jesús Ortiz Saucedo.** Desarrollo de bionanoestructuras con DNA y proteínas del sistema CRISPR-dCas
- S13** **Erick Gustavo Valdés Galindo.** Detección de RNA mediante la proteasa Csx29 asociada a CRISPR-Cas7-II
- S14** **Idalia Patricia García Morales.** Desarrollo de un biosensor genético basado en el sistema CRISPR-Cas12a para la detección de *Trypanosoma cruzi*
- S15** **Daniel Jesús Pérez Vega.** Humanización del anticuerpo quimérico anti-CD20 rituximab
- S16** **Esaú Emmanuel Rodríguez Méndez.** Biosensor fluorescente codificado genéticamente para estudiar la relocalización de proteínas en respuesta al estrés hiperosmótico
- S17** **Alberto Vázquez Salazar.** Catalizadores ancestrales: ribozimas autoaminoacilantes como modelos de evolución temprana del aparato traduccional
- S18** **Gerardo Pérez Hernández.** Exploración estructural de blancos terapéuticos en sistemas virales y bacterianos: RBD de la subunidad S1 del SARS-CoV-2 y la proteína de membrana AdeJ



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

EL ESTADO FUNCIONAL DE LA PIRUVATO CINASA DE *THERMOPLASMA ACIDOPHILUM* DEPENDE DE SU SECUENCIA CARBOXILO TERMINAL EXTRA.

Leticia Ramírez Silva¹, Gloria Hernández Alcántara¹, José J. García Trejo², Héctor Riveros Rosas¹, Alicia Vega Segura¹, Martín González Andrade¹, Jessica Díaz Salazar³, Guillermo Salcedo Barrientos¹. ¹Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, ²Departamento de Biología, Facultad de Química, ³Departamento de Fisicoquímica, Facultad de Química, UNAM, CDMX 04510, lr Ramirez@bq.unam.mx

Palabras clave: piruvato cinasa de *Thermoplasma acidophilum*, secuencia carboxilo terminal extra, análisis filogenético

Resumen.

Los estudios filogenéticos de la familia piruvato cinasa muestran que el árbol se divide en dos grupos: el de las piruvato cinasas dependientes de K^+ y el de las piruvato cinasas independientes de K^+ [1,2]. La piruvato cinasa de *Thermoplasma acidophilum* pertenece a este último grupo pero posee la firma conservada de las enzimas dependientes de K^+ . Recientemente, encontramos que cada uno de los grupos ha desarrollado un mecanismo diferente para catalizar [3]. Así pues, nos interesa descifrar que mecanismo sigue la enzima de *Thermoplasma acidophilum* para alcanzar su conformación activa. Como no se cuenta con la estructura tridimensional de la enzima, se obtuvo un modelo de la piruvato cinasa de *T. acidophilum*, revelando que la estructura contenía una secuencia carboxilo terminal extra (Figura 1). Con el objeto de entender su papel, se construyó la piruvato cinasa trunca de *T. acidophilum*; es decir, la enzima sin la secuencia carboxilo terminal extra. Se obtuvieron y compararon los parámetros cinéticos, los espectros de UV lejanos de DC, la estabilidad térmica, las simulaciones de dinámica molecular y los estados oligoméricos de la enzima silvestre y trunca. Encontramos que la enzima trunca posee una actividad residual del 8%, presenta solo el 20% del total de las interacciones que posee la enzima silvestre y en su mayoría esta agregada con una pequeña fracción soluble que presenta estados oligoméricos menores al tetramero de la enzima silvestre. Estos resultados indican que el papel de la secuencia carboxilo terminal extra es para estabilizar su estado tetramérico activo. Esta secuencia es la primera reportada en una piruvato cinasa de Archaea y se encuentra ampliamente distribuida tanto en las Methanobacteriota como en las Thermoplasmatota. No obstante, parece que poseen un origen diferente, ya que presentan una identidad entre sí de < 10% así como con las secuencias del carboxilo terminal extra de Bacillati y Pseudomonadati. Es decir, las secuencias del carboxilo terminal extra son diferentes, pero conservan un plegamiento similar en estructura terciaria y cuaternaria. Por lo tanto, parecen poseer el mismo patrón de plegamiento pero presentar un origen evolutivo diferente.

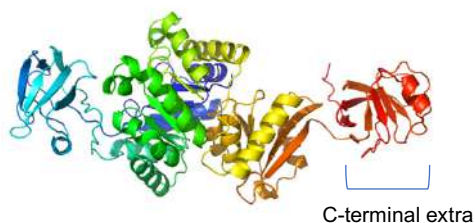


Figure 1. Modelo del monómero de la piruvato cinasa de *Thermoplasma acidophilum*. Dominio A (verdes), Dominio B (azules), Dominio C (amarillos) y el Dominio C-terminal extra (rojos)

Agradecimiento. A la Q.F.B. Evelyn Núñez Mejía por sus datos cinéticos, a DGAPA por el Donativo IN215625 a LRS.

Bibliografía.

- Oria-Hernández, J., Riveros-Rosas, H., Ramírez-Silva, L. (2006) *J. Biol. Chem.* 281(41):30717–30724.
- De la Vega-Ruiz, G., Domínguez-Ramírez, L., Riveros-Rosas, H., Guerrero-Mendiola, C., Torres-Larios, A., Hernández-Alcántara, G., García-Trejo, J.J., Ramírez-Silva, L. (2015) *PLoS One*, 10(3): e0119233. doi:10.1371/journal.pone.0119233
- Ramírez-Silva, L., Hernández-Alcántara, G., Guerrero-Mendiola, C., González-Andrade, M., Rodríguez-Romero, A., Rodríguez-Hernández, A., Lugo-Munguía, A., Gómez-Coronado, P.A., Rodríguez-Méndez, C., Vega-Segura, A. (2022) *Int J Mol Sci.* 23: 1347-1368.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

DEFINIENDO UN MONÓMERO ACTIVO DE CRE: EL PAPEL DE LA DIRECCIÓN DE LA SECUENCIA ESPACIADORA DE LOXP

Marco A. Ramírez-Martínez, Nina Pastor, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Centro de Investigación en Dinámica Celular, Cuernavaca, Morelos, C.P 62209, marco.ramirez@uaem.edu.mx

Palabras clave: Proteínas, Dinámica Molecular, biofísica

La recombinasa Cre es una herramienta ampliamente utilizada en ingeniería genética; corta y une secuencias específicas de ADN conocidas como *loxP*. Cada sitio *loxP* consta de dos Elementos de Unión de la Recombinasa (RBE, por sus siglas en inglés) que flanquean a una secuencia asimétrica de 8 pb, el espaciador. Para llevar a cabo la reacción de recombinación, cada monómero de Cre se une a un RBE, llevando a la formación de un complejo Cre₂-*loxP* (1). Posteriormente, dos de estos complejos se unen entre sí para formar el intasoma. Durante el proceso de ensamblado, Cre puede unirse primero al RBE izquierdo o al derecho; esta primera unión promueve un doblaje en el extremo contrario del espaciador al que se unió el monómero, siendo la unión al RBE derecho la vía más frecuente. Además, se ha propuesto que la interacción de la última hélice de Cre (hélice N) con la subunidad adyacente tiene un efecto sobre la curvatura de *loxP*, cambiando la dirección del doblaje. Para evaluar los cambios en la curvatura asociados a la secuencia espaciadora y el efecto de la hélice N, se realizaron simulaciones de dinámica molecular de un dímero de Cre unido a un sitio *loxP* y a la secuencia invertida *loxI*. La estructura inicial fue obtenida de la base de datos del Protein Data Bank (PDB) con PDBID 7RHZ. Esta estructura fue optimizada mediante minimizaciones de energía y el modelado de las regiones faltantes, así como la reversión de mutaciones a la versión silvestre. Todas las simulaciones fueron realizadas usando el campo de fuerza CHARMM36m (2) y el programa GROMACS (3). La comparación de las simulaciones con el patrón de protección contra radical OH[•] mostró que Cre interactúa con las mismas regiones determinadas experimentalmente (4), lo que sugiere que las simulaciones son estables y pueden explicar el comportamiento del dímero. Para analizar cambios en curvatura asociados a la interacción de la hélice N con el monómero adyacente, se calcularon los contactos entre este segmento y la cavidad con la que interactúa en un contexto dímérico o tetramérico y se comparó con el cambio en el parámetro de ADN *roll*, según la posición de este segmento. Los resultados mostraron que en el sistema *loxI*, la hélice N en ambos monómeros (llamados como Cre^{Yin} y Cre^{Yang}) tiene un comportamiento dinámico en el que la hélice N de Cre^{Yang} puede interactuar con la cavidad de Cre^{Yin} o con el solvente y otras regiones de proteína, mientras que la hélice N de Cre^{Yin} se mantiene dentro de la cavidad de Cre^{Yang}. Además, una de las réplicas de este sistema mostró un intercambio de hélice N entre monómeros, cambiando la dirección del valor de *roll* en el espaciador, abriendo el surco mayor. Esta conformación es similar a la observada en el intasoma (5) (PDBID 1Q3U). Por otro lado, la hélice N de los sistemas *loxP* solo presentó la conformación en la cual ambas cavidades están ocupadas por la hélice N adyacente, llevando a valores de *roll* cercanos a cero; además, la hélice N de Cre^{Yin} no salió de la cavidad de Cre^{Yang} en ninguna de las réplicas. Finalmente, se analizó la formación de un sitio activo en una conformación funcional calculando el RMSD entre los átomos de la constelación catalítica y un monómero activo (cadena F de la estructura con PDBID 1Q3U). Los valores altos de RMSD obtenidos con este análisis sugieren que la formación de un sitio activo es un evento poco frecuente, esto debido principalmente a que dos residuos importantes para la catálisis (K201 y Y324) se encuentran en regiones propensas a ser desordenadas, lo que los aleja del resto de los residuos catalíticos y dificulta su reclutamiento. Estos resultados podrían explicar la ausencia de actividad catalítica cuando el complejo se encuentra en un estado dímérico, sugiriendo que se necesitan interacciones cuaternarias para llevar al ADN a una conformación adecuada y para armar al sitio activo.

Agradecimientos. Agradecemos los recursos computacionales otorgados por el LNS del Sureste de México (202101023N y 202301027N), LANCAD (proyectos 2020-2025), y SECIHTI (proyectos CBF2023-2024-3670, beca doctoral CVU: 858905).

1. Stachowski K., Norris A., Potter D., Wysocki V. Foster M. (2022). *Nucleic Acids Res.* 50(3): 1753-1769.
2. Huan J. et al (2016). *Nat. Methods.* 14:41-73.
3. Abraham M. (2015). *Softw. X.* 1(2): 19-25.
4. Abremski K., Hoes R. (1983). *J. Biol. Chem.* 259(3): 1509-1514.
5. Ennifar E. (2003). *Nucleic Acids Res.* 31(18): 5449-5460.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

Glutación transferasas citosólicas del parásito *Taenia solium*: su caracterización bioquímica, estructural y desarrollo de inhibidores

Abraham Landa¹, Rafael A. Zubillaga², César Sánchez-Juárez², Ricardo Miranda-Blancas, Enrique Rudiño-Piñera, Lluvia de Carolina Sánchez-Pérez, Oscar Rodríguez-Lima, Ponciano García Gutiérrez². ¹Laboratorio de Biofísica de Proteínas, Departamento de Química, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, Ciudad de México, México. ²Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

pgarcia@xanum.uam.mx

Palabras clave: Taenia solium; glutación transferasas;enzimología; modelado molecular; desarrollo de inhbidores.

Resumen

Las glutación transferasas (GST) son una familia de enzimas multifuncionales cuya principal actividad es catalizar la conjugación del tripéptido glutación (GSH) con compuestos tóxicos endógenos y exógenos para facilitar su excreción o posterior metabolismo. Adicionalmente, en el platelminto *Taenia solium* (*T. solium*), el agente causal de la teniasis y cisticercosis en humanos y de cisticercosis en cerdos, las GST participan en la inmunomodulación, ayudando al establecimiento y supervivencia del parásito en su hospedador, así como al almacenamiento y/o transporte de compuestos no sustrato en el sitio denominado ligandina, entre otras funciones. En este parásito, la subfamilia de las GST citosólicas (cGST) posiblemente constituya su principal sistema de desintoxicación, ya que carece de otras enzimas como la catalasa y presenta bajas actividades del citocromo P450 y la glutación peroxidasa [1]. Por ello, las cGST de *T. solium* se han propuesto como posibles dianas farmacológicas para combatir las enfermedades causadas por este parásito [2,3,4]. Se han identificado cuatro clases de cGST en *T. solium* según la clasificación establecida para las GST de mamíferos [1]: la GST de clase α/μ más abundante con una masa molecular de 25.9 kDa, denominada Ts26GST; la GST de clase μ menos abundante, con una masa molecular de 25.5 kDa, denominada Ts25GST; y la GST de clase σ moderadamente abundante, de 24.3 kDa, denominada Ts24GST; todas ellas son funcionales únicamente en su forma dimérica. En esta plática hablaré de los resultados obtenidos por nuestro grupo de investigación respecto a la caracterización bioquímica de las tres cGST de *T. solium*, caracterización estructural de la Ts26GST y Ts24GST, y del desarrollo de inhibidores para las tres cGST [2,3,4,5,6,7].

Bibliografía

1. Torres-Rivera, A.; Landa, A. Acta Trop. 2008, 105, 99e102.
2. García-Gutiérrez, P.; Zubillaga, R. A.; Téllez-Plancarte, A.; Flores-López, R.; Camarillo-Cadena, M.; Landa, A. J. Mol. Graph. Model. 2020, 100, 107707.
3. Miranda-Blancas, R.; Rodríguez-Lima, O.; García-Gutiérrez, P.; Flores-López, R.; Jiménez, L.; Zubillaga, R. A.; Rudiño-Piñera, E.; Landa, A. FEBS Open Bio. 2024, 14, 726-739.
4. Sánchez Pérez, L.; Zubillaga, R. A.; García-Gutiérrez, P.; Landa, A. Trop. Med. Infect. Dis. 2024, 9, 85.
5. Miranda-Blancas, R.; García-Gutiérrez, P.; Sánchez-Juárez, C.; Cardona-Echavarría, M. C.; Flores-López, R.; Zubillaga, R. A.; Rodríguez-Lima, O.; Sánchez-Pérez, L.; Rudiño-Piñera, E.; Landa, A. PLoS Negl Trop Dis. 2025, 19, e0013024.
6. Sánchez-Juárez, C.; Sánchez Pérez, L.; Zubillaga, R. A.; Flores-López, R.; Landa, A.; Jiménez, L.; Miranda-Blancas, R.; Rudiño-Piñera, E.; Cardona-Echavarría, M.; García-Gutiérrez, P. J. Mex. Chem. Soc. 2025, 69, 39-47.
7. Sánchez-Juárez, C.; Flores-López, R.; Sánchez Pérez, L.; García-Gutiérrez, P.; Jiménez, L.; Landa, A.; Zubillaga, R. A. Biomolecules, 2025, 15, 7.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

INFLUENCIA DE LOS CAMBIOS INTER-CISTEÍNA SOBRE EL PLEGAMIENTO DE LA β -NEUROTOXINA TS1 DE ALACRÁN

Ricardo Miranda-Blancas, German Aguilar, Herlinda Clements, Samuel Cardoso-Arenas, Miguel Mejia-Sanchez, Ivan Arenas y Gerardo Corzo

Departamento de Medicina Molecular y Bioprocesos, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Avenida Universidad, 2001, CP 62210, Cuernavaca, México.

ricardo.miranda@ibt.unam.mx

Neurotoxina, Plegamiento, Puente disulfuro

Resumen.

En este estudio se diseñaron variantes peptídicas de la toxina Ts1¹, incapaz de plegarse in vitro, utilizando como plantilla la estructura primaria de la toxina CsslI, la cual sí conserva su estructura y actividad biológica tras el plegamiento in vitro². El objetivo fue identificar secuencias que desempeñan un papel esencial en el plegamiento de Ts1 y evaluar las características biológicas de las toxinas quiméricas resultantes. Se diseñaron y analizaron ocho variantes recombinantes, generadas mediante el reemplazo de fragmentos inter-cisteína de Ts1 por secuencias correspondientes de CsslI. Estas sustituciones modificaron los patrones de plegamiento en la mayoría de las variantes, en comparación con el plegamiento de Ts1 nativa. Las toxinas plegadas in vitro fueron evaluadas mediante dicroísmo circular (DC) para determinar su estructura secundaria, y su actividad biológica fue analizada en ratones CD1. Los resultados mostraron comportamientos diferenciados entre las variantes, destacando la relevancia de ciertos fragmentos en la adquisición de una estructura adecuada y en la conservación de la actividad biológica. A partir de estos resultados se obtuvo un conjunto de variantes con y sin capacidad de plegarse correctamente, lo que permitió realizar una segunda ronda de diseño con un número reducido de sustituciones. En esta etapa se logró generar una variante con plegamiento correcto y actividad biológica conservada.

Estos hallazgos demuestran que el plegamiento in vitro de Ts1 puede modularse mediante el reemplazo racional de fragmentos inter-cisteína por secuencias derivadas de otra toxina. Este enfoque permitió identificar regiones clave cuya composición primaria influye significativamente en la adquisición de la estructura nativa y en el mantenimiento de la función biológica. Los resultados abren nuevas posibilidades para el estudio del plegamiento de proteínas ricas en cisteínas, en particular aquellas que contienen múltiples puentes disulfuro. Asimismo, sientan las bases para el desarrollo de toxinas recombinantes con aplicaciones biomédicas, como herramientas para el estudio de canales iónicos o en la generación de antivenenos más seguros y específicos³. Futuros trabajos podrán centrarse en el análisis estructural detallado de las variantes correctamente plegadas, así como en la evaluación de su interacción con distintos canales de sodio voltaje-dependientes.

Agradecimiento. Este trabajo recibió financiamiento de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA-UNAM), número de proyecto IT200724. M.A.M.S., S.C.A. y G.O.A.C. son estudiantes de doctorado del “Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Bioquímicas” y recibieron becas del CONACyT/SECIHTI con los CVU: 836427, 884453 y 818456, respectivamente. Ricardo Miranda agradece la beca otorgada por CONACyT/SECIHTI (CVU 592043) para su estancia posdoctoral.

Bibliografía.

1. Martin-Eauclaire, M.-F., Bougis, P.E., de Lima, M.E., 2018. Toxicon 152, 106–120.
2. Estrada, G., Garcia, B.I., Schiavon, E., Ortiz, E., Cestele, S., Wanke, E., Possani, L.D., Corzo, G., 2007. BBA 1770, 1161–1168.
3. Ahmadi, S., Knerr, J.M., Argemi, L., Bordon, K.C.F., Pucca, M.B., Cerni, F.A., Arantes, E.C., Çalışkan, F., Laustsen, A.H., 2020. Biomedicine 8, 118.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

Estructura cristalográfica de SdrP de *Thermus thermophilus* en complejo con DNA y su posible mecanismo de regulación

Miriam Livier Llamas-García¹, Kevin Eder Gamboa-Ramírez¹, Gabriela Montero-Morán², Samuel Lara-González¹

samuel.lara@ipicyt.edu.mx

¹Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, Camino a la Presa San José # 2055 Col. Lomas 4ª Sección San Luis Potosí, S.L.P.

²Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Av. Manuel Nava #6, Zona Universitaria, San Luis Potosí, S.L.P.

Palabras clave: Factor de transcripción, complejo DNA-proteína, estructura

SdrP (stationary phase-dependent regularoy protein) es un factor de transcripción perteneciente a la familia CRP/FNR de la bacteria termófila *Thermus thermophilus* HB8, cuya expresión se incrementa durante la fase estacionaria a 70 °C (Agari et al. 2008). Los genes regulados por SdrP están principalmente involucrados en el metabolismo de nutrientes y energía, el control redox y el metabolismo de ácidos nucleicos. Sin embargo, en el 2010, Agari et al., determinaron que su expresión también se induce durante la fase logarítmica bajo condiciones de estrés oxidativo (Agari et al. 2010). Los miembros de la familia CRP/FNR se caracterizan por ser proteínas de 200 a 250 aminoácidos que presentan dos dominios clave: el motivo Helix-Turn-Helix en el extremo C-terminal, responsable de la unión al surco mayor del DNA, y un dominio de unión a nucleótidos en el N-terminal (Körner et al. 2003). A diferencia de otras proteínas de esta familia, que requieren una molécula efectora para activar o reprimir la transcripción de sus genes blanco, se ha reportado que SdrP puede activar la transcripción sin necesidad de una molécula efectora, un mecanismo no descrito previamente en otros miembros de esta familia (Agari et al. 2008). La estructura cristalográfica de SdrP (PDB 2ZCW) reveló que tiene una alta identidad estructural con CAP en complejo con DNA (RMSD de 1.197 Å) (Agari et al. 2008), aunque el mecanismo de regulación de su actividad sigue sin esclarecerse. En este estudio, determinamos dos estructuras de SdrP en complejo con DNA mediante difracción de rayos X, las cuales revelan interacciones directas entre el DNA y los residuos R160 E161, K165 y Y180, localizados en la hélice de reconocimiento. Estas interacciones inducen un ángulo de dobles suave de 43° en el DNA, menor al reportado por CAP, y carece de interacciones indirectas mediadas por cargas superficiales. Interesantemente, identificamos fuera del motivo canónico de interacción al DNA, la interacción específica de la Y180 con una base nitrogenada de la secuencia consenso como un posible mecanismo regulación del factor de transcripción SdrP, no descrito previamente en otros miembros de la familia.

Agradecimientos: Al LANEM-IQ de la UNAM, a la Dra. Adela Rodríguez-Romero y a la M. en C. Georgina Espinosa Pérez, por el apoyo en la colecta, reducción y análisis de los datos de difracción de rayos-X. Este trabajo fue financiado por CONACYT, proyecto CB2011-168710 y INFRA-2013-01-204373.

Agari, Y. et al., 2008. Global gene expression mediated by *Thermus thermophilus* SdrP, a CRP/FNR family transcriptional regulator. *Molecular Microbiology*, 70(1), pp.60–75.

Agari, Y., Kuramitsu, S. & Shinkai, A., 2010. Identification of novel genes regulated by the oxidative stress-responsive transcriptional activator SdrP in *Thermus thermophilus* HB8. *FEMS*, (November), pp.127–134.

Körner, H., Sofia, H.J. & Zumft, W.G., 2003. Phylogeny of the bacterial superfamily of Crp-Fnr transcription regulators: Exploiting the metabolic spectrum by controlling alternative gene programs. *FEMS Microbiology Reviews*, 27(5), pp.559–592.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE UNA GLICÓSIDO-HIDROLASA DE *FUSARIUM*

INCARNATUM CRT 197 AISLADO DEL AGAVE

Esmeralda Martínez Torres^a, Carmina Montiel^a, ^a Facultad de Química, UNAM, México City 04510, México, Correo: smrldmart@gmail.com

Palabras clave: inulinasa atípica, modelado de proteínas, hidrólisis de carbohidratos complejos

Resumen.

En 2024 se emplearon 849 mil toneladas de *Agave tequilana* Weber var. azul para la producción de tequila (1), lo que generó aproximadamente 200 mil toneladas de hojas como residuo. Estas hojas contienen un 25 % de agavinas, fructanos con enlaces $\beta(2\rightarrow1)$ y $\beta(2\rightarrow6)$, que pueden transformarse en productos de valor agregado, como fructooligosacáridos (FOS) y fructosa, mediante el uso de enzimas (2). En 2019 el CRT aisló 15 cepas de *Fusarium* a partir de hojas de agave, destacando la cepa CRT 197 (*Fusarium incarnatum*), por su capacidad de utilizar agavina como única fuente de carbono. Esta cepa produce a ET-FiGH, una hidrolasa con un peso molecular de 17 kDa (Figura 1), que presenta glicosilaciones y que puede hidrolizar diversos sustratos como inulinas, xilanos y sacarosa. La enzima alcanzó su máxima actividad con inulina de agave en un rango de temperatura entre 50 y 80 °C y a un pH de 5.5, con resultados similares para la inulina de achicoria. Para los sustratos sacarosa, levanos y xilanos la actividad óptima fue de 50 °C y pH 5. ET-FiGH presentó mayor afinidad y eficiencia catalítica con la inulina de agave, evidenciado por una K_m de 2.74 mM y una k_{cat} de 0.162 s⁻¹, lo que resalta su especificidad. Este dato demuestra que se trata de una inulinasa atípica, ya que su peso molecular es considerablemente menor al rango comúnmente reportado para estas enzimas (50 a 250 kDa) (3). Asimismo, evidenció una buena afinidad con inulina de achicoria, mientras que su afinidad y eficiencia con sacarosa y xilano fueron notablemente menores (Tabla 1). ET-FiGH es termoestable, con actividad óptima a 50 °C, y mantiene el 70 % de su actividad entre 70 y 80 °C, alcanzando un tiempo de vida media de 120 min. La estructura primaria de ET-FiGH se elucidó a través LC-MS y se encontraron péptidos con 100 % de identidad con hidrolasas conocidas (S6P hidrolasa de *Oceanobacillus profundus* y la endoinulinasa INUA de *Aspergillus niger*). El peso molecular estimado de los péptidos fue 18.65 kDa, en concordancia con la electroforesis, aunque ligeramente superior. Con la información de la secuencia de ET-FiGH, se generó un modelo estructural utilizando AlphaFold 3, el cual predijo una conformación tridimensional que incluye una glicosilación con N-acetilglucosamina (NAG) (Figura 2). La cristalización de la enzima sólo fue exitosa en presencia de inulina de agave, lo que sugiere un mecanismo de inducción conformacional. En conjunto, ET-FiGH es una nueva inulinasa atípica, cuya cristalización con su sustrato abre la puerta a futuros estudios estructurales.

Agradecimiento. Al programa de apoyo a proyectos de investigación e innovación tecnológica (PAPIIT IN214123) y al programa de apoyo a la investigación y posgrado (PAIP 5000-9153) y a SECIHTI por la beca de doctorado.

Bibliografía. 1. Consejo Regulador del Tequila. (n.d.). Recuperado el 22 de junio de 2025, de <https://www.crt.org.mx/EstadisticasCRTweb/>
2. López, M. G., Salomé-Abarca, L. F. (2024). The agavins (Agave carbohydrates) story. *Carbohydrate Polymers*, 327, 121671.
3. Trapala, J., Bustos-Jaimes, I., Manzanares, P., Bárzana, E., & Montiel, C. (2020). Purification and characterization of an inulinase produced by a *Cluyveromyces marxianus* strain isolated from blue agave bagasse. *Protein Expression and Purification*, 176, 105718.

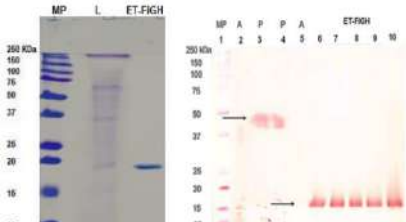


Figura 1 SDS-PAGE de ET-FiGH purificada de *F. incarnatum* CRT 197

Tabla 1. Parámetros cinéticos de ET-FiGH

Sustrato	V_{max} ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mL}^{-1}$)	K_m (mM)	K_{cat} (s ⁻¹)	R ²
Inulina de achicoria	3.47	4.05	0.131	0.94
Inulina de agave	4.3	2.74	0.162	0.98
Sacarosa	2.81	132.72	0.106	0.96
Xilano	3.23	37.3	0.121	0.93

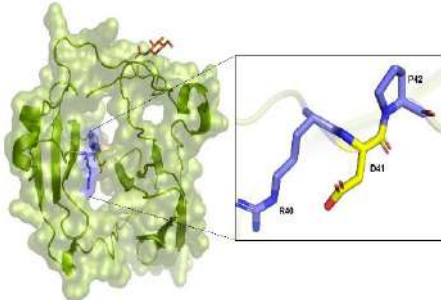


Figura 2. Modelo tridimensional de la enzima, destacando el sitio catalítico (D41, motivo RDP) y la glicosilación con NAG en T11.

En conjunto, ET-FiGH es una nueva inulinasa atípica, cuya cristalización con su sustrato abre la puerta a futuros estudios estructurales.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

LAS ENZIMAS MÁS ALLÁ DE SUS LÍMITES: CAMBIOS ESTRUCTURALES EN MEZCLAS EUTÉCTICAS NATURALES EXPLICAN INCREMENTOS EN ACTIVIDAD Y TERMOESTABILIDAD

Karina Bautista Rangel, Agustín López-Munguía, Edmundo Castillo Rosales.
Departamento de Ingeniería Celular y Biotocatálisis, Instituto de Biotecnología UNAM, Av. Universidad 2001,
62210 Cuernavaca, Mor. edmundo.castillo@ibt.unam.mx

Palabras clave: Estructura de proteínas, 100% NaDES, Actividad enzimática

Resumen. El uso de Disolventes Orgánicos (DOs) ha impactado la biocatálisis, mejorando la funcionalidad y la eficiencia de las enzimas¹. Sin embargo, en ciertos casos presentan inconvenientes como la desnaturalización de las proteínas o su impacto ambiental negativo. Recientemente las mezclas eutécticas naturales (NaDES) surgen como disolventes sustentables, con potencial en la biocatálisis a través de mejoras en las propiedades cinéticas y termodinámica de diversas enzimas^{2,3}. Hasta la fecha, se han explorado poco los efectos de los NaDES asociados con dichas mejoras en la estructura de las enzimas. En este trabajo se estudió la relación estructura-función de enzimas glicosilantes: levansacarasa (SacB) e invertasa (Inv) en sistemas 100% NaDES². La actividad (U·mg⁻¹) de SacB e Inv se cuantificó en buffer o NaDES en condiciones de saturación. Donde SacB e Inv presentaron actividad enzimática en los sistemas 100% NaDES. Mostrando que los NaDES con azúcares y polioles, tales como el ChCl-Suc (Cloruro de colina-Sacarosa 1:1), las enzimas retuvieron una actividad similar a buffer (204 y 1386 U·mg⁻¹ para SacB e Inv). Basados en el modelo ChCl-Suc se realizó un diseño racional de NaDES, identificando perfiles de densidad electrónica similares² (Fig. 1a). Entre los sistemas diseñados, el sistema Fructosa-Sorbitol-Agua 1:1:5 (F-S-W) mostró cambios funcionales impactantes. Se incrementaron las actividades catalíticas hasta un 742%(SacB) y 580% (Inv) (Fig. 1b).

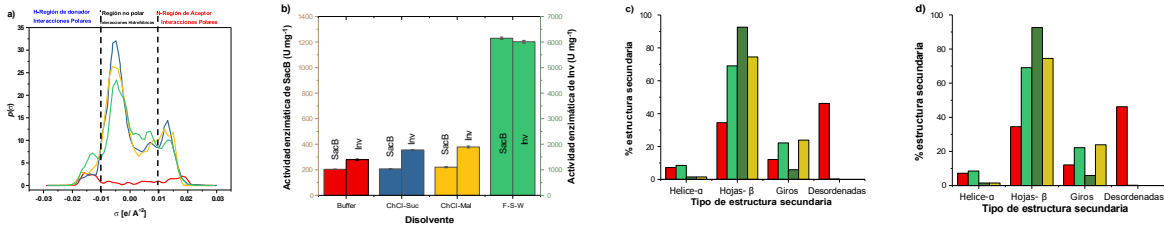


Fig.1 (a) Perfiles sigma de los NaDES y buffer generado a partir de su densidad electrónica, (b) actividad enzimática de SacB e Inv a 50 °C, en ChCl-Suc (■) y NaDES diseñados en COSMO-RS ChCl-Mal (Cloruro de colina-Maltosa 1:1) (■), F-S-W (■) y buffer (■), (c) perfil de estructura secundaria de SacB y (d) Inv. Buffer (■), F-S-WPrimer contacto (■) y F-S-WDespués de pre-equilibrio (■) y F-S-WDespués de pre-equilibrio a 50 °C por 56h (■).

Además, en F-S-W se observaron incrementos en las T_{opt} , 55 °C para SacB y 70 °C para Inv. Sorprendentemente, ambas enzimas presentaron actividad por arriba de 100 °C. Por otra parte, el tiempo de vida media ($t_{1/2}$) aumentó 3,660 veces para SacB y 2.6 veces para Inv, asociadas a un incremento en la T_m de 21.2 °C para SacB y 1.6 °C para Inv. Se encontró que en los sistemas NaDES-proteína los valores de ΔH obtenidos por DSC incrementaron hasta 114 y 17 veces para SacB e Inv, respectivamente. Dicho aumento esta relacionados con interacciones fuertes de la proteína inducidas por el NaDES⁴ (Tabla1). En cuanto a los experimentos de CD en NaDES, se observó un aumento significativo en las estructuras correspondientes a hojas β . De hecho, un experimento pre-equilibrando a las enzimas en F-S-W (24h a 25 °C), mostró los mayores beneficios en la actividad y termoestabilidad de SacB y Inv. Igualmente asociado al aumento en las hojas β de las enzimas (Fig. 1c-d). Estos resultados demuestran que los sistemas 100% NaDES son una alternativa como medio de reacción, que generan cambios estructurales en las enzimas que resultan en un considerable aumento en su actividad y termoestabilidad.

Tabla 1. Parámetros de actividad y termoestabilidad de SacB (datos en azul) e Inv (datos en negro) en buffer y en NaDES (ChCl-Suc, ChCl-Mal y F-S-W).

Disolvente	Initial Activity (U·mg ⁻¹)	*k _{cat} s ⁻¹	T _{opt} (°C)	T _m (°C) ^a	*ΔH (Kcal·mol ⁻¹)	t _{1/2} (h)	T ₅₀ (°C)
Buffer	247	212	50	41.5	1.4x10 ⁴	0.05	42
ChCl-Suc	208	180	65	51.1	4.0x10 ⁵	60	74
ChCl-Mal	204	177		54.7	1.9x10 ⁵	67	74
F-S-W	1.4x10 ²	1.2x10 ²	55	62.7	1.6x10 ⁶	183	76
Buffer	1.8x10 ²	7.9x10 ³	55	64.4	2.1x10 ⁵	480	60
ChCl-Suc	1.9x10 ²	8.8x10 ³	65	74.7	3.6x10 ⁵	144	73
ChCl-Mal	1.9x10 ²	1.4x10 ³	65	66.4	2.1x10 ⁵	1245	73
F-S-W	9.2x10 ²	5.7x10 ⁴	70	66.0	3.9x10 ⁶	1260	64

Bibliografía.

1. Castillo, E.; López-Munguía, A. (2004). J. Biotechnol, 114.
2. Bautista-Rangel K., Losoya-Urbe L.F., Rodríguez-Gonzalez M., Saab-Rincón S., A. López-Munguía, E. Castillo (2025). Int. J. Biol. Macromol. 318 (3)
3. Taklimi, S. M.; Divsalar, A.; Ghalandari, B.; Ding, X.; Di Gioia, M. L.; Omar, K. A.; Saboury, A. A. (2023). J. Mol. Liq. 377, 121562.
4. Vergara, R., Berrocal, T., Juárez Mejía, E. I., Romero-Romero, S., Velázquez-López, I., Pulido, N. O., Fernández-Velasco, D. A. (2023). The FEBS journal, 290(18).



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas 13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

Ingeniería de la α -amilasa de *B. licheniformis* guiada por herramientas de machine learning acopladas a evolución dirigida para introducir actividad transglucosídica.

José Parra-Espinoza, Salvador Martínez-Bahena, Odeth Valencia-García, Alejandro Garcíarrubio, Gloria Saab-Rincón. Instituto de Biotecnología, Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, Morelos, 62210, jose.parra@ibt.unam.mx

Palabras clave: amilasas, machine learning, evolución dirigida

Resumen.

La evolución dirigida de enzimas ha brindado la oportunidad de acelerar los procesos evolutivos para la optimización de enzimas hacia una tarea deseada, como mejorar su estabilidad, su rendimiento catalítico o modificar la función original, en tiempos mucho menores a los que le tomaría a la naturaleza. Una de las limitantes de la evolución dirigida tradicional, es que la generación de variabilidad al azar da por resultado grandes librerías de variantes que tienen que ser evaluadas. Teniendo en cuenta esto, los procesos de diseño, cribado y selección deben ser mejorados para una ingeniería de proteínas más eficiente. Para hacer frente a este reto, en los últimos años se ha comenzado a integrar herramientas predictivas de inteligencia artificial y aprendizaje automático que permiten diseñar y seleccionar variantes de forma más racional y eficiente (1).

En el pasado hemos desarrollado un algoritmo para identificar posibles determinantes de la especificidad de reacción de glicosil hidrolasas de la familia 13 (GH13), basado en la comparación de la frecuencia de aminoácidos en posiciones estructuralmente equivalentes entre transglucosidasas e hidrolasas. Esta estrategia se vio limitada por el reducido número de estructuras disponibles. En este trabajo, presentamos una estrategia para redirigir la especificidad catalítica de enzimas de la misma familia GH13, combinando análisis tanto de estructuras como de secuencias. Partimos de una base de datos cuidadosamente curada de 667 secuencias GH13 obtenidas de CAZy, UniProt y la AlphaFold Protein Structure Database.

A estas secuencias les generamos embeddings mediante ESM3 y proyectamos los vectores resultantes en espacios reducidos utilizando PCA y UMAP. Esta visualización reveló cierta separación entre hidrolasas (H) y transglucosidasas (T), lo que sugiere la existencia de determinantes moleculares de especificidad. Se predijeron las estructuras y fueron alineadas con Foldseek y FoldMason para identificar motivos estructurales conservados. Analizamos estadísticamente los perfiles de aminoácidos para identificar 71 posiciones diferenciales entre H y T, seleccionadas como posibles blancos de mutagénesis. A partir de estas posiciones, proponemos variantes de la α -amilasa de *Bacillus licheniformis* cuya localización en el espacio UMAP se puede monitorear para ver si se mueven en dirección del grupo de transglucosidasas. Además, evaluamos estas variantes *in silico* en cuanto a estabilidad, clasificación y cambio de función esperado. Finalmente, el conjunto de mutantes más prometedores podrá validarse experimentalmente y utilizarse para entrenar un predictor basado en aprendizaje automático, capaz de proponer mutaciones adicionales que potencian la actividad transglucosídica. Este enfoque permite reducir significativamente el tamaño de las librerías y aumentar la probabilidad de éxito en el rediseño funcional de enzimas, estableciendo una ruta más racional y eficiente en evolución dirigida asistida por inteligencia artificial.

Agradecimiento. Agradecimientos a la SECIHTI, por la beca brindada con el número CVU: 2002237 y a DGAPA-UNAM proyecto IN226623 a GSR.

Bibliografía.

1. Yang, J., Li, F. Z., & Arnold, F. H. (2024). In *ACS Central Science* (Vol. 10, Issue 2, pp. 226–241).



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

INTELIGENCIA ARTIFICIAL Y DINÁMICA MOLECULAR PARA MUESTREO CONFORMACIONAL DE PROTEÍNAS

Jorge Emiliano Salinas López, Alejandro Sosa Peinado

Laboratorio de Fisicoquímica e Ingeniería de Proteínas, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, CP 04510.

emiliano@bq.unam.mx, asosa@bq.unam.mx

Palabras clave: dinámica conformacional, inteligencia artificial, dinámica molecular

La dinámica conformacional es un componente esencial en la función de las proteínas. Estas biomoléculas no operan como estructuras rígidas, sino que exploran un conjunto de estados conformacionales accesibles que son fundamentales para procesos como la catálisis, la regulación alostérica, el reconocimiento molecular y la adaptación ambiental. A través de fluctuaciones locales o transiciones estructurales más amplias, las proteínas reorganizan su conformación interna para responder a cambios en su entorno. Por esta razón, comprender cómo se relacionan la flexibilidad, la estabilidad y la actividad es crucial para el estudio de mecanismos funcionales y evolutivos (1). Para abordar esta problemática, utilizamos un muestreo adaptativo donde integramos simulaciones de dinámica molecular (MD) con herramientas de inteligencia artificial capaces de extraer descriptores relevantes directamente de datos estructurales. Utilizamos predicciones estructurales obtenidas con AlphaFold2 (2, 3) con alineamientos múltiples reducidos, combinadas con simulaciones MD no sesgada, y entrenamos un *autoencoder* variacional (VAE) (4) con datos obtenidos de las simulaciones. Este modelo permite identificar coordenadas de reacción que separan estados conformacionales funcionales a partir de descriptores como distancias o ángulos diedros, priorizando aquellos cambios estructurales que sean informativos para predecir el comportamiento futuro del sistema. Así, es posible reconstruir el paisaje conformacional de una proteína de manera eficiente, y detectar con precisión estados de transición o regiones del espacio estructural relevantes para la función. Como modelo de estudio, utilizamos a las endoglucanasas de la familia GH45, enzimas implicadas en la degradación de celulosa y con variantes adaptadas a condiciones térmicas extremas. Estas variantes, psicrófila, mesófila y termófila, representan un sistema modelo ideal para estudiar cómo la dinámica conformacional se reorganiza para sostener actividad en distintos rangos de temperatura. El análisis reveló diferencias en la distribución de estados y en la rigidez de motivos estructurales clave, lo que podría reflejar una estrategia evolutiva diferencial entre flexibilidad y estabilidad. Además, las coordenadas latentes aprendidas por el VAE funcionan como variables colectivas para simulaciones de metadinámica, lo que permite un muestreo dirigido y más eficiente del espacio conformacional. Este enfoque híbrido entre métodos basados en física e inteligencia artificial representa una vía prometedora para estudiar relaciones entre dinámica, estructura y función en proteínas, y aporta nuevas herramientas para el análisis comparativo de la adaptación térmica a nivel molecular.

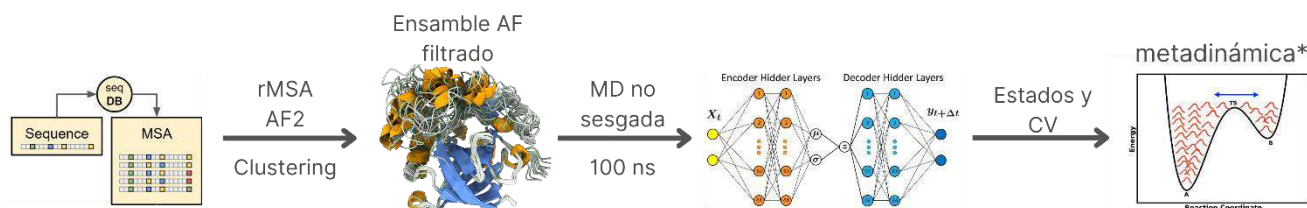


Figura 1: Esquema general del método. Las estructuras generadas con AlphaFold2 (rMSA) fueron agrupadas y simuladas por dinámica molecular. Los ángulos diedros extraídos entrenaron un *autoencoder* variacional que identificó estados metaestables y reconstruyó el paisaje conformacional, cuyas dimensiones latentes se usarán como variables colectivas para metadinámica.

Bibliografía

- (1) Tokuriki N, Tawfik D. (2009) *Science*, 324 (5924), 203–207
- (2) J. Jumper et al. (2021) *Nature*. 596 (7873), 583–589.
- (3) Mirdita M, Schütze K, Moriwaki Y, Heo L, Ovchinnikov S, Steinegger M. (2022). *Nat Methods*, 19 (6), 679–682
- (4) Teng D, Meraz V, Aranganathan A, Gu X, Tiwary P. (2025) *ChemRxiv*.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas 13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

EN BÚSQUEDA DE TRANSICIONES ESTRUCTURALES EN UNA RED DE PROTEÍNAS PARALELAS

Juan Martín Hernández Castillo, Gabriel del Río Guerra, Instituto de Fisiología Celular UNAM, Ciudad de México, 04510, juanmartin@ifc.unam.mx

Palabras clave: RCC, paralelismo-proteico, transiciones-estructurales

Resumen.

Las secuencias de aminoácidos se pliegan en estructuras secundarias (hélices o láminas que no se superponen espacialmente ni en secuencia) cuya proporción define su clase estructural (1). Sin embargo, dominios con secuencias similares pueden adoptar clases diferentes, evidenciando **transiciones estructurales** hélice-lámina (2). En este trabajo se propone un modelo que permite estudiar las transiciones de cualquier clase estructural de proteínas. Para ello se usan mapas de contactos de residuos derivados de la estructura 3D de las proteínas, para identificar Clases de Grupos de Residuos (RCC), representadas como una colección ordenada de 26 valores o un vector (vRCC) (3), los cuales han mostrado ser útiles para predecir función (4), interacciones proteína-proteína (5), proteína-péptido y proteína-molécula pequeña. Se analizaron 330,000 dominios experimentales, asociando cada uno a un vRCC. La distribución de estos vectores revela similitudes estructurales: dos vRCC cercanos corresponden a proteínas con estructuras similares. Definimos proteínas "paralelas" como aquellas con vRCC a menos de 5° de distancia angular. Al construir una **red de proteínas paralelas**, que no es aleatoria y permite encontrar decenas de miles de transiciones entre clases estructurales, demostrando que cambios graduales en los contactos pueden llevar de una estructura secundaria a otra. Además, los vRCC de estructuras computacionalmente predichas (ej. AlphaFold) muestran una distribución distinta a las experimentales, sugiriendo sesgos en los modelos. Las transiciones en la red permiten generar nodos teóricos, que posiblemente se corresponden a estructuras no caracterizadas experimentalmente pero sí de forma computacional, apoyando la hipótesis de que todas las proteínas están conectadas mediante transformaciones estructurales continuas. Este enfoque podría guiar el diseño de proteínas, la identificación de nuevos pliegues o la optimización de predicciones computacionales.

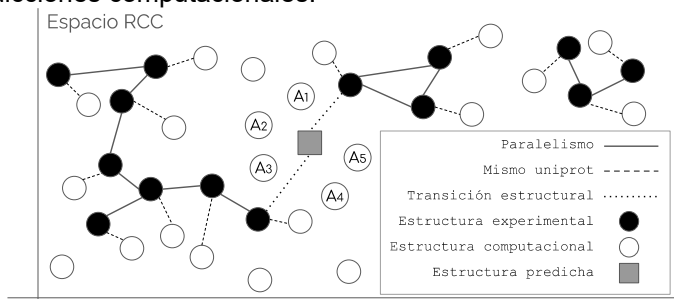


Figura. Los dominios proteicos se conectan con relaciones de paralelismo. Cada secuencia en la red tiene una estructura experimental y computacional, diferentes en esta representación. El paralelismo de las transiciones estructurales permite predecir nuevos nodos. ¿Cuál secuencia corresponde a la predicción? Puede buscarse entre las estructuras A1, A2, ..., An, que pueden ser optimizadas.

Agradecimiento. Este trabajo fue posible gracias al Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas de la UNAM y al SECIHTI por el apoyo número 4003090.

Bibliografía.

1. Knudsen Michael, Wiud Carsten. (2010) *Hum Genomics*. 4(3): 207-212.
2. Alexander Patrick A., He Yanan, Chen Yihong, Orban John, Bryan Philip N. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 104(29): 11963-11968.
3. Corral-Corral Ricardo, Chavez Edgar, Del Río Gabriel. (2015) *Comput. Biol. Chem.* 59(A): 1-7.
4. Fontove Fernando, Del Río Gabriel. (2020) *Entropy (Basel)*. 20:22(4):472.
5. Poot-Velez Albros H. Fontove Fernando, Del Río Gabriel (2020) *Int. J. Mol. Sci.* 21(13): 4787.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

APLICACIONES DE INTELIGENCIA ARTIFICIAL EN EL DISEÑO DE INTERACCIONES PROTEÍNA-LIGANDO

Blanca Ramos, Iván Pérez, Estefani Gaytan, Isabel Velázquez, Alejandro Garcíarrubio, Alejandro Fernández, Lorenzo Segovia, Instituto de Biotecnología, Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, UNAM, Cuernavaca, Morelos, 62210, y Facultad de Medicina, UNAM, CDMX, 04510, lorenzo.segovia@ibt.unam.mx.

Palabras clave: diseño de proteínas, ingeniería de proteínas, afinidad

Resumen.

La ingeniería de proteínas orientada a modificar la afinidad por ligandos enfrenta limitaciones derivadas del conocimiento incompleto sobre la estructura y dinámica de la enzima blanco. En particular, la falta de información sobre la interconexión entre dominios y las interacciones específicas de residuos clave puede obstaculizar el éxito del diseño racional. Con el fin de abordar estos retos, empleamos LigandMPNN, una herramienta de rediseño asistido por inteligencia artificial capaz de modelar interacciones proteína-ligando y estructuras no proteicas [1]. Esta metodología nos permitió analizar la afinidad por ligandos desde dos enfoques complementarios: por un lado, generar de novo interacciones funcionales en un contexto sin afinidad previa; por otro, modificar y optimizar la afinidad existente, mejorando características como especificidad, energía de unión o compatibilidad con nuevos cofactores. Al explorar la tolerancia a mutaciones y los requisitos de la secuencia, logramos diseñar variantes más eficientes en términos de afinidad, lo cual aporta a una comprensión más profunda de la relación secuencia-estructura-función.

Buscamos rediseñar la especificidad por cofactores de la enzima EcoSDH, con el objetivo de favorecer su afinidad por NAD en lugar de NADP [2]. A partir de una variante previa que perdió afinidad por NADP pero no mejoró significativamente con NAD, usamos LigandMPNN para generar nuevas secuencias mutadas en regiones cercanas al cofactor. Estas secuencias fueron filtradas por análisis computacional (AlphaFold 3 [3], Chai-1 [4]), y funcional al ser expresadas en *E. coli* y evaluadas en un sistema de complementación funcional.

Asimismo, hemos generado una nueva capacidad de pegado de fitato sobre un andamio sintético, la sTIM11, para lo cual se generaron variantes con extensiones en los loops usando el programa Rfdiffusion [5] y luego se rediseñaron con LigandMPNN buscando la unión de fitato. Las candidatas fueron evaluadas utilizando docking para seleccionar las secuencias ganadoras. Se sintetizaron comercialmente los genes y se purificaron las proteínas. Una de ellas, RF21, muestra una buena capacidad de unión evaluada por calorimetría de titulación isotérmica y en dicroísmo circular.

Nuestro resultados muestran tanto el potencial como las limitaciones actuales de las herramientas de inteligencia artificial para rediseñar la afinidad por ligandos. Si bien LigandMPNN y las otras herramientas computacionales permitió generar variantes funcionales y explorar nuevas regiones del espacio de secuencia, la mejora en la eficiencia aún es modesta. En esta presentación, discutiremos los alcances y limitaciones de estas estrategias, así como las perspectivas futuras para el diseño más efectivo de especificidad por cofactores mediante inteligencia artificial.

Agradecimiento. Agradecemos el apoyo financiero otorgado mediante el proyecto CBF 2023-2024-729 por la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (Secihti) (<https://secihti.mx/secihti/>) para la realización de este proyecto de investigación

Bibliografía.

1. Dauparas, J., Lee, G. R., Pecoraro, R., An, L., Anishchenko, I., Glasscock, C., & Baker, D. (2023). *BioRxiv*.
2. García Guevara, J. F. (2018). Rediseño del dominio Rossmann de la enzima Shikimato Deshidrogenasa de *E. coli*: Intercambio de la actividad de NADP hacia NAD. Tesis de Doctorado, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México.
3. Abramson, J. *et al.* Accurate structure prediction of biomolecular interactions with AlphaFold 3. *Nature* **630**, 493–500 (2024).
4. CHAI discovery. *et al.* Chai-1: Decoding the molecular interactions of life. *BioRxiv*.
5. Watson, J.L. *et al.* De novo design of protein structure and function with RFdiffusion. *Nature* **620**, 1089–1100 (2023).



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas 13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

Desarrollo de bionanoestructuras con DNA y proteínas del sistema CRISPR-dCas

Jesús Ortiz Saucedo & Armando Hernández García Instituto de Química, Departamento de Química de Biomacromoléculas, Laboratorio de Ingeniería Biomolecular y Bionanotecnología, UNAM. Ciudad de México C.P. 04510, jesus.osaucedo@comunidad.unam.mx

Palabras clave: Bionanotecnología, CRISPR-dCas, Nanoestructuras

Resumen.

La bionanotecnología busca la creación de nanoestructuras autoensamblables y precisas utilizando biomoléculas como bloques de construcción (1). En particular, las proteínas y el DNA destacan por sus propiedades estructurales únicas que los convierten en bloques versátiles para construir estructuras a nanoescala. La combinación de ambos bloques de construcción permiten desarrollar autoensamblajes híbridos de proteína-DNA con gran precisión, aprovechando las ventajas de ambas biomoléculas. Sin embargo, aún es necesario establecer estrategias eficaces para construir nanoestructuras complejas de forma controlada (2). Aquí presentamos una estrategia novedosa para el ensamblaje intermolecular de DNA de doble cadena (dsDNA) en nanoestructuras híbridas elongadas mediante la heterodimerización inducible de proteínas quiméricas del sistema CRISPR-Cas12a (dCas12a-FKBP y dCas12a-FRB). Estas proteínas fusión tienen dos interfaces específicas: una para la dimerización Proteína-Proteína y otra para el reconocimiento específico Proteína-DNA. Los sistemas CRISPR-Cas, tienen el potencial de ser bloques de construcción proteicos versátiles, gracias a su capacidad de dirigir a las endonucleasas Cas hacia secuencias específicas de dsDNA mediante un RNA guía (gRNA), lo que permite posicionar las ribonucleoproteínas de forma precisa sobre templados de dsDNA (3). En nuestra estrategia, posicionamos específicamente los complejos RNP (dCas12a-FKBP:crRNA y dCas12a-FRB:crRNA) sobre secuencias de dsDNA que contienen dos o tres sitios de unión (Figura 1A) y en presencia de rapamicina, estas proteínas pueden polimerizar los dsDNA en nanoestructuras elongadas. El uso de DNA con "2 sitios" da lugar a la formación de nanoestructuras lineales, mientras que el DNA con "3 sitios" permite ensamblar estructuras ramificadas (Figura 1C).

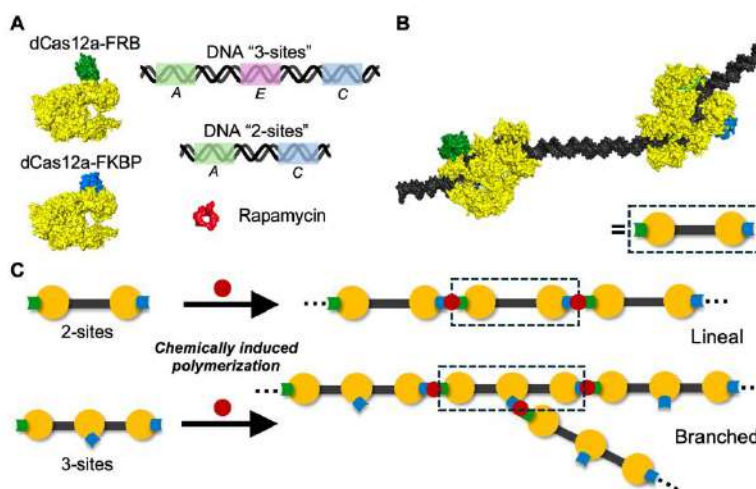


Figura 1. Diseño y autoensamblaje de nanoestructuras híbridas con dsDNA y proteínas. (A) Bloques de construcción: proteínas fusión dCas12a-FRB y dCas12a-FKBP, rapamicina, dsDNA de 140 pb y dsDNA de 210 pb para la construcción de estructuras lineales y ramificadas, respectivamente. Las regiones resaltadas indican las secuencias específicamente reconocidas por los gRNAs. (B) Predicción estructural del ensamblaje de RNP sobre una molécula de dsDNA y su representación esquemática. (C) Representación esquemática de la polimerización lineal y ramificada mediada por rapamicina.

Agradecimientos. Este proyecto ha sido financiado con el proyecto UNAM-PAPIIT IN210121. Beca de SECIHTI con número de apoyo: 1229033.

Bibliografía.

1. Nagamune, T. (2017) Nano Converg. 4 (1), 9.
2. Hernandez-Garcia, A. (2021) Nanomaterials. 11 (5), 1332.
3. Wu, T.; Cao, Y.; Liu, Q.; Wu, X.; Shang, Y.; Piao, J.; Li, Y.; Dong, Y.; Liu, D.; Wang, H.; Liu, J.; Ding, B. (2022) J. Am. Chem. Soc. 144 (14), 6575–6582.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

Detección de RNA mediante la proteasa Csx29 asociada a CRISPR-Cas7-11

Erick Gustavo Valdés Galindo & Armando Hernández García Instituto de Química, Departamento de Química de Biomacromoléculas, Laboratorio de Ingeniería Biomolecular y Bionanotecnología, UNAM. Ciudad de México C.P. 04510, erickgvaldes@gmail.com

Palabras clave: RNA, Cas7-11/Csx29, EGFP-Csx30-DsRed.M1

Resumen.

La molécula de RNA actúa como intermediario entre el genotipo y el fenotipo, y existen múltiples tipos de RNA involucrados en la regulación y expresión génica, lo cual los convierte en candidatos ideales como biomarcadores moleculares. Su presencia o ausencia puede reflejar el desarrollo de diversas patologías, ya sea de origen viral, como el VIH-1 o el SARS-CoV-2; genético, como en la enfermedad de Parkinson; o asociado a mutaciones implicadas con procesos tumorales. En consecuencia, se han desarrollado diversas metodologías para detectar RNA en una amplia variedad de muestras biológicas. Más allá de su uso convencional en la edición genómica, los sistemas CRISPR-Cas ofrecen nuevas oportunidades para el desarrollo de plataformas de diagnóstico molecular, gracias a su alta especificidad. Uno de estos sistemas involucra una proteasa asociada a CRISPR (CASP, por sus siglas en inglés), conformada por las proteínas Cas7-11 y Csx29 (Van Beljouw et al., 2021). Este complejo enzimático reconoce y escinde secuencias específicas de RNA mediante la actividad nucleasa de Cas7-11, guiada por un crRNA. La escisión del RNA blanco (tgRNA) induce un cambio conformacional que activa a Csx29, una proteasa capaz de cortar una proteína blanco conocida como Csx30 (Strecker et al., 2022; Kato K et al., 2022). En este trabajo desarrollamos una sonda fluorescente para la detección de RNA basada en la actividad proteasa del complejo Cas7-11/Csx29. La sonda consiste en una proteína quimérica EGFP-Csx30-DsRed.M1, en la que EGFP actúa como fluoróforo donador y DsRed.M1 como aceptor dentro de un sistema FRET. En condiciones basales, la proximidad entre ambos fluoróforos favorece el efecto FRET, suprimiendo la fluorescencia verde. Sin embargo, tras el reconocimiento del RNA blanco por Cas7-11 y la subsecuente activación de Csx29, se produce la escisión de la proteína quimérica, lo que separa físicamente a EGFP de DsRed.M1 y genera una señal fluorescente detectable.

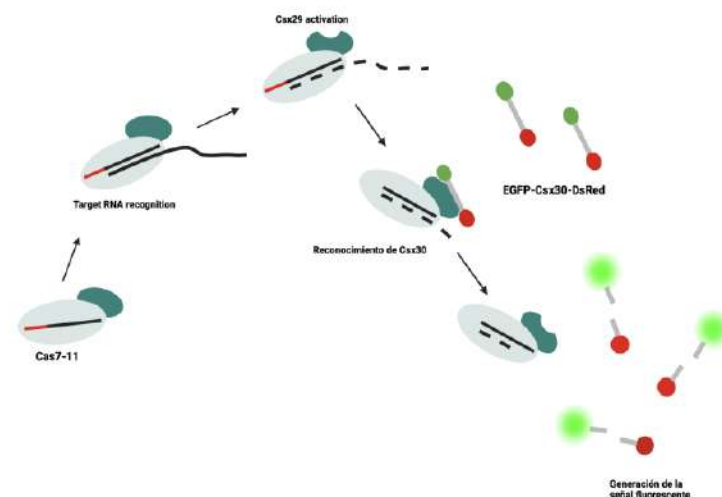


Figura 1. Detección de RNA mediante Cas7-11/Csx29 acoplada a EGFP-Csx30-DsRed.M1. El tgRNA es reconocido y degradado por Cas7-11, lo que ocasiona un cambio conformacional que activa a Csx29. Esta activación lleva a la escisión de EGFP-Csx30-DsRed.M1, generando una señal fluorescente detectable.

Agradecimiento. Beca de SECIHTI con número de apoyo: 1044503.

Bibliografía.

Van Beljouw, S. P. B., Haagsma, A. C., Rodríguez-Molina, A., van den Berg, D. F., Vink, J. N. A., & Brouns, S. J. J. (2021). The gRAMP CRISPR-Cas effector is an RNA endonuclease complexed with a caspase-like peptidase. *Science* (New York, N.Y.), 373(6561), 1349–1353.
Kato, K., Okazaki, S., Schmitt-Ulms, C., Jiang, K., Zhou, W., Ishikawa, J., Isayama, Y., Adachi, S., Nishizawa, T., Makarova, K. S., Koonin, E. V., Abudayyeh, O. O., Gootenberg, J. S., & Nishimasu, H. (2022). RNA-triggered protein cleavage and cell growth arrest by the type III-E CRISPR nuclease-protease. *Science* (New York, N.Y.), 378(6622), 882–889.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas 13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

DESARROLLO DE UN BIOSENSOR GENÉTICO BASADO EN EL SISTEMA CRISPR-Cas12a PARA LA DETECCIÓN DE *Trypanosoma cruzi*

Idalia García-Morales, Armando Hernández-García. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Química, Departamento de Química de Biomacromoléculas, Laboratorio de Ingeniería Biomolecular y Bionanotecnología, Ciudad de México, C.P. 04510. igarcia9091@gmail.com

Palabras clave: CRISPR-Cas, Detección, *Trypanosoma cruzi*

Resumen.

Este proyecto implementa una técnica molecular basada en el sistema CRISPR-Cas12a acoplado a un paso previo de amplificación isotérmica tipo LAMP para la detección de *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas. Esta patología afecta cerca de 6 millones de personas y puede ocasionar insuficiencia cardíaca, así como alteraciones digestivas [1]. Debido a su importancia clínica es fundamental desarrollar métodos de detección molecular que tengan una alta sensibilidad, especificidad y rapidez respecto a las técnicas convencionales. En este contexto, CRISPR-Cas12a representa una alternativa prometedora. Este sistema reconoce e hidroliza una secuencia específica de ADN (Corte *Cis*) mediante una ribonucleoproteína (RNP) formada por la proteína Cas12a y un ARN guía (gRNA). Posteriormente, se ejecuta el corte no específico de ADN de cadena sencilla (Corte *Trans*), lo que permite el uso de sondas que emiten fluorescencia al ser degradadas, indicando la presencia del ADN del parásito [2,3].

La técnica fue diseñada para detectar las secuencias repetitivas de ADN satélite (satDNA) y ADN minicírculos de cinetoplasto (kDNA) de *T. cruzi*, utilizando ADN genómico extraído de cultivos de epimastigotes. Se seleccionaron los sets de primers y gRNAs más eficaces. El sistema mostró alta sensibilidad para satDNA, con un límite de detección inferior a 1 zeptomolar (~ 0.1 parásitos/mL), comparable al reportado para la PCR [4]. Además, se confirmó la especificidad del sistema al no detectar a especies de *Leishmania* y solo identificar a cepas de *T. cruzi*. Posteriormente, se evaluó la técnica con ADN extraído de muestras de sangre de ratón infectadas con tripomastigotes, para confirmar su funcionamiento en matrices biológicas complejas. Finalmente, se adaptó a tiras de flujo lateral para facilitar su lectura visual, lo que permitió obtener resultados rápidos, accesibles y con potencial de implementación en laboratorios clínicos.

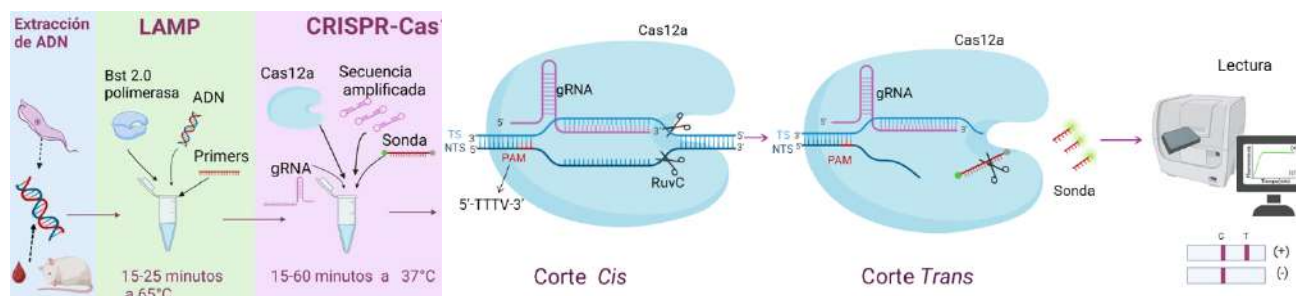


Fig. 1. Esquema del sistema CRISPR-Cas12a acoplado a LAMP para la detección de *Trypanosoma cruzi*

Agradecimiento. Proyecto financiado por DGAPA-PAPIIT (IV200820) y por Agencia Mexicana de Cooperación Internacional para el Desarrollo (AMEXCID)—Secretaría de Relaciones Exteriores Mexico (Proyectos COVID-19). Dra. Bertha Josefina Espinoza Gutiérrez del Instituto de Investigaciones Biomédicas y a la Dra. Ingeborg Becker Fauser de la Facultad de Medicina por la donación de las muestras biológicas. Beca CONACYT con número de apoyo: 189038978932.

Bibliografía.

1. OPS-OMS (2014) Enfermedad de chagas. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/enfermedad-chagas>
2. Hernandez-Garcia, A., Morales-Moreno, M. D., Valdés-Galindo, E. G., et al. (2022). Diagnostics, 12(6), 1434.
3. Chen, J. S., Ma, E., Harrington, L. B., Da Costa, M., Tian, X., Palefsky, J. M., & Doudna, J. A. (2018). Science, 360(6387), 436-439.
4. Schijman, A., Bisio, M., Orellana, L., et al. (2011) PLoS Negl Trop Dis, 5(1), e931



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

HUMANIZACIÓN DEL ANTICUERPO QUIMÉRICO ANTI-CD20 RITUXIMAB

Daniel Pérez-Vega¹, Keyla Gómez-Castellano¹, Stefany Rodríguez-Luna², Ivette Mendoza-Salazar², Luis Elizarrarás-Rodríguez², Martha Pedraza-Escalona², Sonia Mayra Pérez-Tapia^{1,2,3} y Juan Carlos Almagro^{1,4}

¹Unidad de Desarrollo e Investigación en Bioterapéuticos (UDIBI), Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Mexico City, Mexico. ²Laboratorio Nacional para Servicios Especializados de Investigación, Desarrollo e Innovación (I+D+i) para Farmoquímicos y Biotecnológicos, LANSEIDI-FarBiotec-CONACyT. ³Departamento de Inmunología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. ⁴Global Bio, Cambridge Massachusetts, Estados Unidos.

CP: 06080; Teléfono: 55 3455 0035; E-mail: 04daniel94@gmail.com

Palabras clave: humanización, retromutaciones, interfase

Resumen.

Rituximab es un anticuerpo monoclonal quimérico dirigido contra la proteína de membrana CD20, utilizado en el tratamiento de diversas neoplasias hematológicas y enfermedades autoinmunes (1). Sin embargo, debido a sus componentes de origen murino, es capaz de generar respuestas inmunogénicas en los pacientes que reciben dicho tratamiento (2). La humanización de anticuerpos constituye una estrategia clave para reducir la inmunogenicidad asociada a este factor intrínseco, permitiendo conservar la afinidad por el antígeno diana y mejorar el perfil terapéutico del fármaco (3,4). En este proyecto se llevó a cabo la humanización de rituximab mediante un enfoque combinado empírico-racional, que consistió en el injerto de las regiones determinantes de complementariedad (CDRs) en secuencias aceptadoras derivadas de genes de línea germinal humana. Se empleó una librería combinatoria de dominios variables de cadena ligera (VL) y pesada (VH), seguida de un rediseño estructural fundamentado en análisis de la interfase VH:VL e implementación de backmutations estratégicas. Durante este proceso de rediseño orientado al restablecimiento de la afinidad, se identificaron dos residuos clave en la interfase de los dominios variables, fenilalanina 35 (F35) y prolina 45 (P45), cuya conservación resultó crítica para mantener la arquitectura del sitio de unión y recuperar la funcionalidad del anticuerpo humanizado. Como resultado, se obtuvo un anticuerpo humanizado anti-CD20, denominado D114, con una afinidad de 2.05 nM, equivalente al 71% de la afinidad de rituximab original, pero con una actividad citotóxica dependiente de complemento (CDC) superior a la de Rituximab-Mabthera®. La caracterización fisicoquímica de D114 reveló una población 100% monomérica y con integridad estructural en ambas cadenas, pesada y ligera.

Agradecimiento. El presente trabajo recibió financiamiento total del proyecto de investigación de la Unidad de Desarrollo e Investigación en Bioterapéuticos (UDIBI), de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN bajo el código UDIP24-005.

Bibliografía.

1. Salles G, Barrett M, Foà R, Maurer J, O'Brien S, Valente N, et al. Rituximab in B-Cell Hematologic Malignancies: A Review of 20 Years of Clinical Experience. *Adv Ther.* 1 de octubre de 2017;34(10):2232-73.
2. Rougé L, Chiang N, Steffek M, Kugel C, Croll TI, Tam C, et al. Structure of CD20 in complex with the therapeutic monoclonal antibody rituximab. *Science.* 13 de marzo de 2020;367(6483):1224-30.
3. Mosch R, Guchelaar HJ. Immunogenicity of Monoclonal Antibodies and the Potential Use of HLA Haplotypes to Predict Vulnerable Patients. *Front Immunol [Internet].* 17 de junio de 2022 [citado 18 de febrero de 2025];13. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2022.885672/full>
4. Almagro JC, Fransson J. Humanization of antibodies. *Front Biosci J Virtual Libr.* 1 de enero de 2008;13:1619-33.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

BIOSENSOR FLUORESCENTE CODIFICADO GENÉTICAMENTE PARA ESTUDIAR LA RELOCALIZACIÓN DE PROTEÍNAS EN RESPUESTA AL ESTRÉS HIPEROSMÓTICO.

Esaú-E. Rodríguez^{1,2}, Constanza Enríquez-Toledo², César Ponce², César L. Cuevas-Velázquez²

¹Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas, Instituto Politécnico Nacional.
Ciudad de México 07738, Mexico

²Departamento de Bioquímica, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México
Ciudad de México 04510, Mexico

esau.erm@gmail.com

*Palabras clave: proteínas intrínsecamente desordenadas, biosensores, separación de fases
líquido-líquido*

Resumen.

La homeostasis celular se ve perturbada cuando el entorno se ve alterado por cambios en diferentes propiedades físicoquímicas. Una de estas propiedades es la osmolaridad dentro de la célula. Durante condiciones de estrés, la osmolaridad y los niveles de aglomeración macromolecular cambian drásticamente. Los biosensores fluorescentes codificados genéticamente son biomoléculas que pueden reportar eventos que ocurren en el interior de las células. Previamente en el laboratorio se generó una serie de biosensores tipo-FRET para estudiar el estrés osmótico *in vivo* en la levadura *S. cerevisiae* utilizando diferentes regiones intrínsecamente desordenadas (IDR) y un par de fluoróforos(1). Los biosensores pueden ser útiles para monitorear la relocalización de proteínas en respuesta a los cambios en el entorno intracelular. Usando microscopía confocal, se determinó la localización de diferentes biosensores antes y después del tratamiento con distintas concentraciones de NaCl. Además, se evaluó la formación de condensados biomoleculares. Las propiedades líquidas de los condensados formados por el biosensor IDRBS144 se evaluaron con el tratamiento de 1,6-hexanediol en diferentes concentraciones. En este trabajo, mostramos que los biosensores son capaces de reubicarse en diferentes compartimentos, incluidos los condensados biomoleculares bajo estrés hiperosmótico. Estos resultados ayudarán a comprender la separación de fases de ciertas proteínas con regiones intrínsecamente desordenadas en respuesta al estrés.

Agradecimiento. Los autores agradecen el apoyo otorgado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el proyecto de Ciencia de Frontera con clave CF- 2019/252952. Esaú-E. Rodríguez agradece la beca de continuidad Estancias Posdoctorales por México 2022 y al proyecto SIP 20251341 del IPN.

Bibliografía.

1. Cuevas-Velazquez C.L., Enríquez-Toledo C., Ponce-Diego C.A., Lopez-Herrera G.R., Rodríguez E.E., Barron-Huerta S. (2024) *Biophys J.* 123(Suppl 1):180A.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

Catalizadores ancestrales: ribozimas autoaminoacilantes como modelos de evolución temprana del aparato traduccional

Alberto Vázquez-Salazar¹

¹Departamento de Bioquímica, CINVESTAV-México, Av. IPN 2508 colonia San Pedro Zacatenco, GAM, CDMX, 07360, Mexico

La evolución del aparato traduccional constituye una de las transiciones más importantes en la historia temprana de la vida. Aunque aún se desconoce cómo surgió este sistema complejo, diversas líneas de evidencia indican que la vida atravesó una etapa en la que el RNA desempeñaba funciones tanto informacionales como catalíticas, conocida como el mundo de RNA. En este contexto, las ribozimas autoaminoacilantes se presentan como modelos funcionales de una posible etapa evolutiva anterior a la aparición de las aminoacil-tRNA sintetasas. En este trabajo, se analizan sus propiedades catalíticas mediante evolución in vitro, análisis bioinformáticos y caracterización bioquímica, evaluando su especificidad, eficiencia y respuesta a condiciones ambientales. Nuestros resultados constituyen una prueba de principio de eventos plausibles en las etapas más tempranas de la vida, específicamente en el contexto del mundo de RNA, y respaldan la viabilidad de un sistema primitivo de traducción basado exclusivamente en ácidos nucleicos.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

Exploración estructural de blancos terapéuticos en sistemas virales y bacterianos: RBD de la subunidad S1 del SARS-CoV-2 y la proteína de membrana AdeJ

Brisa Daniela Escobar Aguilera, Marisol González Martínez, Gerardo Pérez Hernández. Unidad Cuajimalpa, Departamento de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma Metropolitana, Ciudad de México, Mexico. CP. 05348.

Responsable: gperezh@cua.uam.mx

Palabras clave: SARS-CoV-2, Acinetobacter baumannii, Dinámica molecular

El diseño racional de inhibidores terapéuticos requiere comprender en detalle la arquitectura y dinámica de las proteínas blanco. En este trabajo se integran dos estudios estructurales enfocados en proteínas clave para la patogenicidad viral y bacteriana.

El primer estudio se centró en la subunidad S1 de la proteína Spike del SARS-CoV-2, mediante un diseño de muestreo extensivo tipo inchworm, propuesto por nuestro grupo. Esta estrategia consistió en un tamizaje sistemático de zonas continuas del dominio RBD mediante docking con el algoritmo FRED de OpenEye, asignando cargas parciales con AM1. Los mejores complejos fueron filtrados utilizando teoría de conjuntos sobre pares contiguos, y posteriormente evaluados mediante dinámica molecular en solvente continuo. Esta permitió distinguir entre uniones estables y falsos positivos: mientras muchas moléculas se desplazaban del sitio blanco, otras permanecieron ancladas mediante puentes de hidrógeno o cavidades superficiales. El análisis de paisajes de energía libre (FEL) reveló que la estabilidad de unión no depende exclusivamente de cavidades, sino también de interacciones funcionales específicas entre grupos químicos del ligando y del receptor.

El segundo estudio abordó la proteína AdeJ, una bomba de eflujo oligomérica de *Acinetobacter baumannii*, implicada en la expulsión activa de antibióticos. Si bien su función es conocida, los detalles estructurales del mecanismo de expulsión no están completamente caracterizados. Por analogía con bombas similares, se ha propuesto que el oligómero contiene túneles internos cuya conectividad y uso se modulan por un mecanismo rotacional. Para explorar esta hipótesis, se modelaron complejos de AdeJ con membrana en presencia y ausencia del antibiótico eravaciclina, y se realizaron simulaciones de dinámica molecular. Se aplicaron posteriormente análisis de túneles (MOLEonline), clustering conformacional, paisajes de energía libre (FEL) y fluctuación media cuadrática (RMSF), lo cual permitió observar transiciones en la conectividad entre túneles, coherentes con un mecanismo rotacional de transporte. Estos hallazgos aportan evidencia estructural para comprender cómo el cambio conformacional regula el tránsito de sustratos dentro del canal oligomérico, siendo este proceso influenciado críticamente por las interacciones dinámicas en las interfaces entre subunidades del oligómero.

Ambos proyectos revelan, desde enfoques distintos, cómo el análisis estructural asistido por simulación computacional permite detectar regiones funcionales dinámicas. En el caso de S1, se identificaron sitios de unión modulables en superficies virales; en AdeJ, se caracterizó un mecanismo rotacional de apertura y tránsito. En conjunto, los estudios muestran el poder de combinar docking, dinámica molecular y análisis de FEL y túneles para abordar preguntas biológicamente relevantes en contextos clínicamente distintos pero metodológicamente convergentes.

Agradecimiento. A la UAM por el financiamiento 47301018.

Tipo de presentación: ORAL

HOMENAJE PÓSTUMO

H

**Dr. Miguel Antonio Costas Basín**

Profesor de Carrera Titular 'C'
Departamento de Fisicoquímica
Facultad de Química, UNAM
Investigador Emérito del SNII

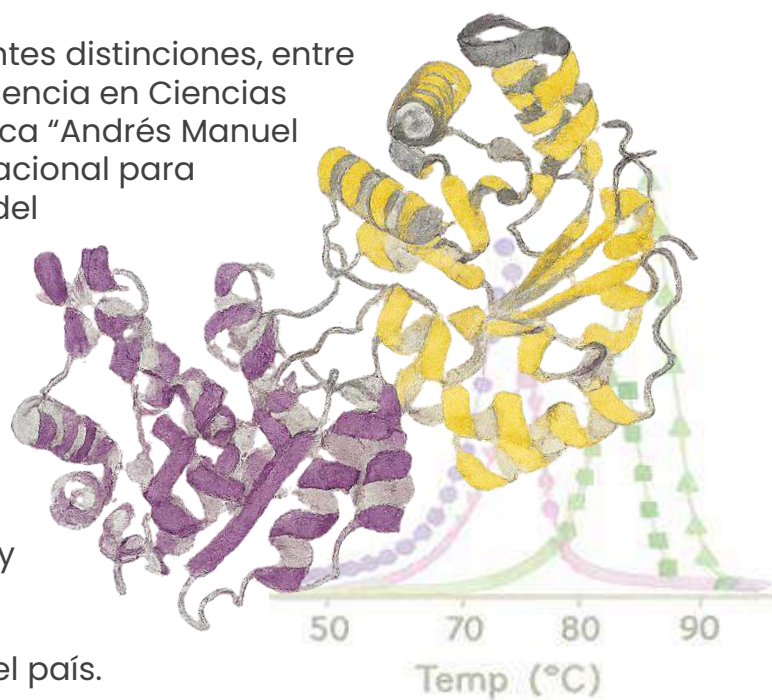
El **Dr. Miguel Antonio Costas Basín** (1952-2024) fue un distinguido profesor e investigador de la Facultad de Química de la UNAM, donde dedicó más de tres décadas a la docencia, la investigación y la formación de nuevas generaciones de químicos. Realizó su licenciatura y maestría en la UNAM, y obtuvo el doctorado en la Universidad McGill de Montreal, donde también llevó a cabo una estancia posdoctoral.

Su trabajo se centró en la fisicoquímica, con especial énfasis en la bio-fisicoquímica, en el estudio de sistemas líquidos altamente organizados y en el plegamiento y estabilidad de proteínas. Publicó más de 130 artículos científicos y dirigió 19 tesis de licenciatura, 13 de maestría y 8 de doctorado, además de formar a 6 posdoctorantes. Asimismo, elaboró material didáctico para las asignaturas de Fisicoquímica y Termodinámica de la Facultad de Química de la UNAM.

A lo largo de su trayectoria recibió importantes distinciones, entre ellas el Premio Universidad Nacional en Docencia en Ciencias Exactas (2010), el Premio Nacional de Química "Andrés Manuel del Río" (1992), y la Distinción Universidad Nacional para Jóvenes Académicos (1990). Fue miembro del Sistema Nacional de Investigadores, de la Academia Mexicana de Ciencias y de la Rama de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas.

El Dr. Costas Basín será recordado como un académico íntegro, apasionado por la ciencia, comprometido con su comunidad y generoso en la formación de estudiantes y colegas.

Su legado perdura en la vida académica del país.



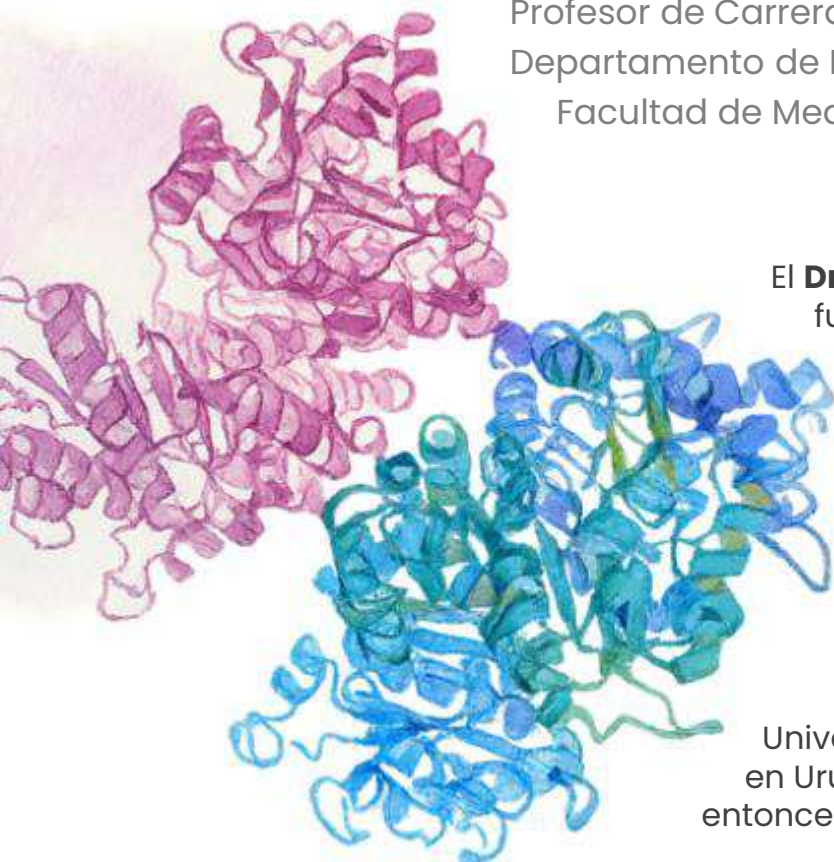
Orador del homenaje: Dr. Daniel Alejandro Fernández Velasco

H

HOMENAJE PÓSTUMO

Dr. Mario Luis Calcagno Montans

Profesor de Carrera Titular 'C'
Departamento de Bioquímica
Facultad de Medicina, UNAM
SNII Nivel III

**El Dr. Mario Luis Calcagno Montans (1936-2025)**

fue un científico excepcional, apasionado por la bioquímica y la enzimología, campos en los que dejó un legado profundo a través de su trabajo con diversas enzimas bacterianas, particularmente con la glucosamina-6-fosfato desaminasa de *Escherichia coli*, cuya estructura, función y regulación alostérica estudió con rigor y originalidad durante más de cuatro décadas. El Dr. Calcagno nació y se crió en Montevideo, donde obtuvo su doctorado en la Universidad de la República. Tras el golpe militar en Uruguay en 1973 se exilió en México. Desde ése entonces se convirtió en mexicano por adopción.

Como Profesor de Carrera Titular C de Tiempo Completo en la Facultad de Medicina de la UNAM, el Dr. Calcagno Montans dedicó más de 47 años al quehacer académico, consolidándose como un pilar en la formación de biólogos, médicos, bioquímicos y científicos biomédicos. Fue también un miembro nivel III del Sistema Nacional de Investigadoras e Investigadores (SNII) y de la Academia Mexicana de Ciencias, reconocimientos que hablan de la calidad y continuidad de su producción científica. Su vocación formativa se reflejó en la dirección de numerosas tesis de licenciatura y posgrado, en las que impulsó el pensamiento crítico y el amor por la ciencia.

Más allá de sus méritos académicos, el Dr. Calcagno Montans será recordado por su profundo respeto por la ciencia, su carácter íntegro y su ética intachable. Supo conjugar el pensamiento analítico con una visión humanista de la educación, y su presencia marcó positivamente los espacios universitarios en los que participó.

Descanse en paz el Dr. Mario Luis Calcagno Montans, universitario ejemplar, maestro generoso y científico apasionado.

Oradora del homenaje: Dra. Georgina Garza Ramos Martínez

Sesión de Carteles

Cartel	Coautores	Título
001	<u>Oscar Rodríguez Lima</u> , Ponciano García-Gutiérrez, Lucía Jiménez, Laura A. Velázquez-Villegas, Angel Zarain-Herzberg, Roberto Lazzarini, Karel Estrada y Abraham Landa	Caracterización del promotor proximal del gen <i>tbp1</i> de <i>Taenia solium</i> (Tstbpl)
002	<u>Juan Francisco Jiménez Bremont</u> , Itzell E. Hernández-Sánchez, Israel Maruri-López, Adriana L. Salazar-Retana, Alicia Becerra Flora	Caracterización funcional de OpsDHN1, una dehidrina tipo SK3 de nopal implicada en la tolerancia al frío
003	<u>Juan Carlos Martínez-Hernández</u> , Lucía Jiménez, Alicia Ochoa-Sánchez, Rafael A. Zubillaga, Ponciano García-Gutiérrez, Menandro Camarillo-Cadena, Abraham Landa Piedra	Análisis bioinformático del reconocimiento entre dos anticuerpos recombinantes y la enzima triosa fosfato isomerasa de <i>Taenia solium</i>
004	<u>Diego Aurelio Del Castillo Copland</u> , Julian L. Wissner, Alejandra Prieto Davó, Norberto Sánchez Cruz, Luisa Falcón Álvarez, Wendy Itzel Escobedo Hinojosa	Detección molecular y predicción estructural de glicerol deshidrogenasas en bacterias aisladas del cenote costero Pol-Ac
005	<u>Estefani Gayan Nuñez</u> , Lorenzo Segovia	TIM-barrel: un modelo estructural para estudiar la diversidad funcional enzimática
006	<u>Fernanda Torres Arroyo</u> , Salomón de Jesús Alas Guardado, Hugo Nájera Peña	Estudio estructural de la lisozima humana y algunas variantes mediante dinámica molecular
007	David Octavio Tovar Anaya, Cesar Sánchez Juárez, <u>Rafael Arturo Zubillaga Luna</u>	Identificación y evaluación de inhibidores de catepsina K, como posibles profármacos para combatir la osteoporosis
008	María Alicia Vega Segura, Guillermo Salcedo-Barrientos, Jessica Díaz Salazar, Gloria Hernández Alcántara, Lilian González Segura y <u>Leticia Ramírez-Silva</u>	Efecto de la tapa del sitio activo de la piruvato cinasa de <i>Thermophilum pendens</i> sobre su catálisis y estabilidad térmica
009	<u>Ricardo Muñiz Trejo</u> , Patrick S. Cantwell, Joseph W. Thornton	Experimental characterization of the sequence space between two protein folds
010	<u>Luz María Rico Jiménez</u> , Georgina Gurrola Briones, Rita María Restano-Cassulini, Lourival Domingos Possani Postay, Carmen Nina Pastor Colón	Síntesis química de variantes de las toxinas CnERG1 (Y17F, Q21T) y CmERG1 (F17Y, T21Q) y su efecto sobre el canal hERG1
011	<u>Ligia Vega Becerra</u> , Gabriela M. Montero Morán, Samuel Lara González	Determinación del mecanismo molecular de interacción entre la proteína hG0S2 y la proteína antiapoptótica hBCL2
012	<u>L. Daniela Palomino-Navarrete</u> , Luis G. Brieba, Daniel B. Sloan	Functional and structural characterization of Muts2a and Muts2b proteins from <i>Arabidopsis thaliana</i>
013	<u>Gloria Hernández Alcántara</u> , Karla Mendoza-Leal, Alicia Vega-Segura, Nallely Cabrera, José de Jesús García-Trejo, Lilian González-Segura, Leticia Ramírez-Silva	Estudio comparativo de isoformas de piruvato cinasa en <i>Vibrio cholerae</i> : implicaciones estructurales y funcionales
014	Estela Guadalupe García González, Braulio de Jesús Orduño de la Riva, <u>Carlos Humberto Trasviña Arenas</u>	Caracterización bioquímica de los genes AlkDs del patógeno humano <i>Entamoeba histolytica</i>
015	Alejandro Delgado Rey, M. Leticia Santos Martínez, <u>Samuel Lara González</u>	Estructura cristalina y caracterización bioquímica de la esterasa termoestable TA0887 de <i>Thermoplasma acidophilum</i>
016	<u>Eduardo Calvario</u> , Lorenzo Segovia, Mario Zurita	AlphaFold3 revela a DCD222, un nuevo dominio intrínsecamente desordenado que interactúa con una MAPK atípica en vertebrados
017	<u>María Cristina Cardona Echavarría</u> , María Isabel Velázquez López, Daniel Alejandro Fernández Velasco	Evolución de la triosafosfato isomerasa en bacterias
018	<u>Kenia-Pantoja</u> , Sarita-Montaño, Garzon-Tiznado, Claudia-León, Liliana-León, Saraíd-Mora	<i>In silico</i> evaluation of <i>Justicia spicigera</i> metabolites against glucose modulators
019	<u>Daphnne-García</u> , Lilian-Araujo, Claudia-León, Sarita-Montaño	Structural analysis of the interaction between HPV16 L2 protein and the endosomal complex CD63-Syntenin-1-ALIX
020	<u>Juan Manuel Aceves Hernandez</u> , Alin Aurora Miramontes Salinas, Guillermo Tellez-Isaia, and Young Min Kwon	<i>In silico</i> study of aptamers-protein interactions, for preparation of avian vaccines adjuvants
021	<u>Sergio Román De La Torre González</u> , Armando Hernández García	Caracterización de proteínas fibrilares de diseño sobre superficie tipo mica
022	<u>Laura Pérez Rodriguez</u> , Carlos Amero Tello	DLS frente a muestras polidispersas: límites de detección y efecto del tamaño molecular

Cartel	Coautores	Título
023	<u>Juan Antonio González Albiter</u> , Gerardo Corzo-Burguete, José Arcadio Farias-Rico	Diseño de mini proteínas para neutralizar toxinas de alacrán
024	<u>Jean Axel Castañeda Gutierrez</u> , Carlos Daniel Amero Tello	Importancia de las mutaciones en la cinética de formación de la capsida viral en el virus cowpea chlorotic mottle
025	<u>José Félix Rojas Cabeza</u> , Elena N. Moreno-Córdova, Karina D. García-Orozco, Adriana T. Muhlia-Almazán, J. Fernando Ayala-Zavala, Alonso A. López-Zavala, Andrés Álvarez-Armenta, Rogerio R. Sotelo-Mundo	Caracterización de la interacción entre derivados de ácidos carbamoil carboxílicos y arginina cinasa de <i>Rhipicephalus sanguineus</i>
026	<u>Raúl Iván Pérez Bermúdez</u> , Lorenzo Patrick Segovia Forcella	Rediseño de la shikimato deshidrogenasa hacia el intercambio de especificidad por el cofactor mediante el uso de inteligencia artificial
027	<u>Kimberly Castañeda Gutierrez</u> , Carlos Amero Tello	¿Las cristalinas gamma son realmente monoméricas?
028	<u>Salomón J. Alas Guardado</u> , Melisa S. Anzures Mendoza, José Y. Sol Fragoso, Edgar López Pérez	Estudio de la estabilidad térmica de la proteína chey de la bacteria hipertermófila <i>T. maritima</i> por dinámica molecular
029	<u>Beatriz Miranda Zaragoza</u> , Guillermo A. Huerta-Miranda, Wendy I. García-García, Alejandro Solano-Peralta, Jaeyong Lee, Natalie Strynadka, Margarita Miranda-Hernández, <u>Claudia Rodríguez-Almazán</u>	Relación estructura-función de la horquilla β de <i>Thermus thermophilus</i> HB27
030	<u>David Franco Carrillo</u> , Edgar López Pérez, Salomón J. Alas Guardado	Análisis del desplegamiento térmico de las proteínas histidinas fosfotransportadoras BSHPR y BstHPR por dinámica molecular
031	<u>Lizbeth Itzamaraít Gómez Tagle Vázquez</u> , Karen G. Jimenez Ramírez, Salomón J. Alas Guardado	Análisis de puentes salinos de la histona rHmFB de la arquea hipertermófila <i>M. fervidus</i> por dinámica molecular
032	<u>Cesar Daniel Flores Enciso</u> , David Alejandro Curiel Pedraza, Ana Laura Márquez Aguirre, Alejandro Arturo Canales Aguirre, Juan Carlos Mateos Día, Jorge Alberto Rodríguez González	Síntesis de bencilamidas con ácidos grasos de cadena larga por vía enzimática como una alternativa sostenible
033	<u>Francisco Odiseo Hernández Cortés</u> , Armando Hernández García	Evaluación de la actividad antimicrobiana de nanopartículas funcionalizadas con péptidos antimicrobianos y su combinación con antibióticos convencionales
034	<u>Vincent Berg</u> , Sergio Romero-Romero	Optimizing solubility and activity of de novo triosephosphate isomerases generated with protein language models
035	<u>Oswaldo Mata-López</u> , Sergio Romero-Romero	Computational and experimental optimization of language-model-designed proteins
036	<u>Paul Jacobs</u> , Sergio Romero-Romero	Computational design and experimental characterization of soluble redox-active proteins
037	<u>Andrea Ramón-García</u> , Silvia Armenta-Jaime, Sergio Romero-Romero	Exploring and optimizing the expression, structural features, and catalytic properties of replicative dna polymerases
038	<u>José Manuel Zamudio-Hernández</u> , Sergio Romero-Romero	Functionalization of a de novo TIM barrel: design, incorporation, and characterization of a hydrolase activity
039	<u>Diego Pérez-Villanueva</u> , Sergio Romero-Romero	Exploring the enzymatic protein space using large language models
040	<u>Miguel Angel Santos Contreras</u> , Rodrigo Aguayo Ortiz	Estudio in silico de la interacción de moléculas heterobifuncionales con los complejos ASK1-PP5 y ASK1-VHL
041	<u>Sergio Ramírez-Carrillo</u> , Guillermo Goode-Romero, Rodrigo Aguayo-Ortiz	Estudio in silico de la enzima RelA de <i>Klebsiella pneumoniae</i> como estrategia para el diseño racional de nuevos antibacterianos
042	<u>Efrén Mar-Antonio</u> , Laura Domínguez-Dueñas, Rodrigo Aguayo-Ortiz	Caracterización in silico de la unión covalente de agentes inductores de la degradación de la tubulina
043	<u>Francisco Javier de la Mora Bravo</u> , Sergio Romero-Romero	From sequence space to function: bridging rational design, AI, and experimental validation in protein design
044	<u>Rogelio Iván Rosas López</u> , Isabel Velázquez López, Daniel Alejandro Fernández Velasco	Diseño computacional y caracterización fisicoquímica de fitasas
045	<u>Aylin del Moral Morales</u> , Andrea Beatriz Figueroa Ramírez	Búsqueda de proteínas clave para el proceso de regeneración tisular en <i>Ambystoma mexicanum</i>
046	<u>José Luis Castro Guillén</u> , Gabriel Herrera Pérez, Sergio Constantino Yáñez, Teresa García Gasca	Descubriendo el potencial de la lectina de Tépari contra el COVID-19: Análisis in silico de sus objetivos moleculares presentes en el SARS-CoV-2
047	<u>Samuel Sánchez-Maza</u> , Mario Carreón-Escalante, Jose Luis Medina-Franco, Oscar Palomino-Hernández, Rodrigo Aguayo-Ortiz	Explorando el espacio químico y mecanismo de reacción de inhibidores covalentes de la proteasa principal del virus SARS-CoV-2

Cartel	Coautores	Título
048	<u>Santos Ramírez-Carreto</u> , Rosa Elena Cárdenas-Guerra, Andrés Clairin-Savage, Jesús Ortiz-Saucedo, Armando Hernández-García	Construcción de nanopartículas antimicrobianas basadas en la proteína trimodular CSB fusionada a péptidos tipo hélice alfa
049	<u>Lucía Juana Peña Ortiz</u> , Viridiana Vargas Castro, Juan Manuel Solano Altamirano	El rol de las chaperoninas en el plegamiento de proteínas: un enfoque de campo de fuerzas efectivo y su aplicación <i>in silico</i>
050	<u>Andrea Yamile Pelcastre Gómez</u> , Said K. Vazquez Leyva, Ma. Martha Pedraza, Sonia Mayra Pérez Tapia	Análisis comparativo de proteínas inmunogénicas de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> reconocidas por pacientes en fase activa y latente
051	<u>Mario Alberto Alanís García</u> , Armando Hernández García	Rediseño de proteínas dCas12a heterodimerizadas con la proteasa del virus grabado del tabaco para la detección de DNA
052	<u>Diego Samuel Torres Tobar</u> , María Isabel Velásquez López, Daniel Alejandro Fernández Velasco	Diseño <i>in silico</i> de fitasas termoestables mediante LigandMPNN y validación fisicoquímica experimental
053	<u>Andres Clairin Savage</u> , Rosa Elena Cárdenas-Guerra, Santos Ramírez-Carreto, Jesús Ortiz Saucedo, Erick Gustavo Valdés, Mario Alberto Alanís García, Armando Hernández-García	Entendiendo el autoensamblaje y la estabilidad de proteínas de diseño inspiradas en virus
054	<u>Luis Antonio Flores López</u> , Sergio Enríquez Flores, Ignacio de la Mora de la Mora, Itzhel García Torres, González Loza Fernanda Paola	Estudio del efecto e interacción de la darifenacina sobre los receptores muscarínicos M3 como un tratamiento alternativo de la leucemia linfoblástica aguda tipo T
055	<u>José Ignacio De la Mora De la Mora</u> , Luis Antonio Flores-López, Yoalli Martínez-Pérez, Gloria Hernández Alcántara, Sergio Enríquez-Flores	Estudio estructural y funcional de la mutante mimética de la triosafosfato isomerasa S-nitrosilada: modificación postraducciona implicada el desarrollo de enfermedades crónico degenerativas en el humano
056	Aldo R. Hernández-Zamarripa, Luis A. Rivera-Rivas, Luis E. Florencio-Martínez, Rebeca G. Manning-Cela, Tomás Nepomuceno-Mejía, <u>Santiago Martínez-Calvillo</u>	Interacciones proteicas del regulador transcripcional MAF1 en crecimiento óptimo y estrés en el patógeno Leishmania major
057	<u>Tomás Nepomuceno-Mejía</u> , Aldo Yael Miranda-Muñoz, Laila Espinosa-Rentería, José David Morales-Hernández, Luis Enrique Florencio-Martínez, Santiago Martínez-Calvillo	Descripción de factores proteicos involucrados en la atípica biogénesis ribosomal de parásitos tripanosomátidos
058	<u>Sergio Enríquez Flores</u> , Luis Antonio Flores López, Yoalli Martínez Pérez, José Ignacio De la Mora De la Mora, Gloria Hernández Alcántara, Itzhel García Torres, Saúl Gómez Manzo	La TPI desamidada y fosforilada como objetivo farmacológico en la leucemia y su inhibición selectiva por los inhibidores de la bomba de protones
059	<u>Perla del Rosario Peralta Huerta</u> , Mayra Avelar Frausto, Virginia Flores Morales	Medición de la actividad catalítica e inhibición de la enzima acetilcolinesterasa por el método Ellman
060	<u>Luz María Trujillo Zamarripa</u> , Virginia Flores Morales, Alejandra Bracamontes Bonilla, Mayra Avelar Frausto	Estudio <i>in silico</i> de derivados triterpénicos como potenciales inhibidores de la enzima PTPIb
061	<u>Grecia Fernández González</u> , Virginia Flores Morales, Mayra Avelar Frausto	Derivatización del antibiótico dapsona a través de acoplamiento oxidativo mediado por la enzima lacasa
062	<u>Carlos Amero</u>	Interpretación estructural enriquecida mediante selección conformacional computacional guiadas por datos experimentales
063	<u>Mario Fernando Salamanca Vera</u> , José Manuel Pérez Aguilar, Víctor Manuel Baizabal Aguirre, Brenda Leonor Sánchez Gaytán, María Eugenia Castro Sánchez, Eliud Morales Dávila	Estudio computacional de las interacciones de cuatro neurotoxinas de serpientes coralillo con el receptor nicotínico de acetilcolina muscular (m-nAChR)
064	<u>Alina Elizabeth Torres Aguirre</u> , Marcela Ayala Aceves	Optimización de un método de tamizaje basado en la oxidación de diclofenaco para la selección de variantes de peroxigenasa por evolución dirigida
065	Nidia Luz Sánchez León, <u>Eric Edmundo Hernández Domínguez</u>	Estudio de la proteína cerato-platanin FkCER1 del hongo <i>Fusarium kuroshium</i> e identificación de sus proteínas interactoras
066	<u>Paola Alejandra Quintero Gradilla</u> , Miriam F. Ayón-Pérez, Alejandro Vázquez-Reyes, Jorge Gutiérrez-Franco, Patricia Cano-Sánchez, Marcelo Victorio-De Los Santos	El dominio tipo jacalina de la subunidad PirBvp de <i>V. parahaemolyticus</i> reconoce ligandos tipo TACAs y sialil Lewis en la línea celular MCF-7 de cáncer de mama
067	<u>María de los Ángeles Camacho Ruiz</u> , Itzel Celeste Romero Soto, Jorge Alberto Rodríguez González	Quimioselectividad de la β -eterasa LigF de <i>Sphingobium</i> sp. SYK-6 en sustratos aromáticos tipo lignina
068	<u>Carlos Humberto Trasviña-Arenas</u> , Mohammad Hashemian, Melody Malek, Steven Merrill, Andrew J. Fisher, Sheila S. David	Crystal structure of MUTYX: a novel clusterless adenine DNA glycosylase with a distinct C-terminal domain and 8-oxoguanine recognition sphere
069	<u>Alam Xociel León Cardona</u> , Carlos Humberto Trasviña Arenas, Estela Guadalupe García González	Estudio bioquímico de la coordinación del berosoma asociado a MUTYH para la reparación del daño al adn 8oxog:a

Cartel	Coautores	Título
070	<u>Azucena López López</u> , Eduardo Antonio Ramírez Orellana, Marcela Ayala Aceves	Uso de enzimas fúngicas para la degradación de contaminantes emergentes
071	<u>Mitzi Alondra Reyes Sánchez</u> , Marcela Ayala Aceves	Efecto antibacteriano de una cloroperoxidasa fúngica
072	Ana Paola Gómez Ramírez, Estela Guadalupe García González, <u>Carlos H. Trasviña Arenas</u>	Mapeo bioquímico-estructural de la interacción física entre el fármaco Acetohexamida y la enzima de reparación del ADN MUTYH
073	<u>Mariana Quintana Quirino</u> , Jesús Rojas Osnaya, Hugo Nájera Peña	Purificación de la polifenol oxidasa del aguacate: efectos en la estructura secundaria y terciaria por la presencia de ligandos
074	<u>Deyaneira Betzabe Carbajal Salazar</u> , Liliana Quintanar	Unión del cobre al dominio de unión de ligando GluN1 del receptor NMDA
075	<u>Vicente Paúl Armenta Pérez</u> , Juan Carlos Mateos Díaz, Rosa María Camacho Ruiz, Jorge Alberto Rodríguez González	Comparación de la expresión episomal vs integrativa de la lipasa B de <i>Candida antarctica</i> (CALB) en <i>Pichia pastoris</i>
076	<u>Gala Rocio López Herrera</u> , Víctor E. López-Guerrero, Gerardo Juárez, Liliana Quintanar	El rol del cobre en las interacciones proteína-proteína: revelando la interacción entre las proteínas tau y prion
077	Sabrina Guadalupe López Toledo, <u>Carlos Humberto Trasviña Arenas</u> , Estela Guadalupe García González	Caracterización bioquímica de mutantes asociadas a cáncer en el sitio activo de MUTYH; un enfoque in vitro para el entendimiento de patogenicidad monoalélica
078	<u>Erick A. Rangel</u> , Javier A. Juárez Díaz, Andre Zaragoza, Carlos Mújica Jiménez, Alexey Llopiz, Rosario A. Muñoz Clares	Efecto del residuo F281 en la actividad de la enzima gentisaldehído deshidrogenasa de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1
079	<u>Omar Jesús Zúñiga Olvera</u> , Liliana Quintanar Vera, Victor Eulogio López Guerrero	Estudio del papel de la unión cobre-proteína prion en la modulación de los receptores NMDA (NMDAR)
080	<u>Mariana Varela Albiter</u> , Eugenia Flores Robles, Georgina Garza Ramos	Obtención de mutantes de BpCynD con tolerancia alcalina
081	<u>Jesús Rojas Osnaya</u> , Mariana Quintana Quirino, Hugo Nájera	Autoensamblaje de la hidrofobina de clase I (ABH4) de <i>Agaricus bisporus</i> en diferentes interfases
082	<u>Ezequiel Tobón</u> , Lidia Riaño-Umbarila, Humberto Flores-Soto, Michele Gutiérrez-Mayret, Baltazar Becerril-Lujan, Xavier Soberón-Mainero, Octavio Tonatihu Ramírez-Reivich, Paloma Columba Gil-Rodríguez, Enrique Rudiño-Piñera	Producción de variantes de RBD de SARS CoV-2 en <i>E. coli</i> y su caracterización bioquímica
083	<u>Diana Lizeth Serrano Rivas</u> , Alfredo André Escalera Sánchez, Alba Adriana Vallejo Cardona, Luis Joel Figueroa Yáñez	Acarreador proteico para probar en línea celular cancerígena (PANC1)
084	<u>Alexey Llopiz Arzuaga</u> , Carlos Mújica Jiménez, Javier Andrés Juárez Díaz, Andre Zaragoza, Javier Carrillo Campos, Héctor Riveros Rosas, Rosario Adelaida Muñoz Clares	Caracterización funcional, estructural y evolutiva de la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa no fosforilante (GAPN) de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> cepa PAO1
085	<u>Salvador Martínez Bahena</u> , Jose Alberto Parra Espinoza, Alejandro Garcíarrubio Granados, Gloria Saab Rincon	Estudio de los determinantes estructurales involucrados en la hidrólisis y transglucosidación de la α -amilasa AmyA de <i>T. maritima</i> a través de un análisis de regresión logística
086	<u>Marco Antonio Perez Castillo</u> , Nina Pastor	La clave es el espaciador: la secuencia espaciadora de loxP guía la conformación de la recombinasa Cre
087	<u>Adamary Michelle Hernandez Pineda</u> , Marco Antonio Ramírez Martínez, Nina Pastor	Inactividad catalítica en Cre-CAT: el papel del desorden estructural y de la hélice N
088	<u>Keila Marlen Martínez Barrera</u> , Marco Antonio Ramírez Martínez, Nina Pastor	Disociación del complejo Cre-loxP: efecto de la rigidez del ADN y la pérdida de contactos proteína-proteína
089	<u>Diego Eduardo Valerio Morán</u> , Araceli Karin González García, Marco A. Ramírez Martínez, Nina Pastor	La salinidad como modulador de los cambios conformacionales de hidrofobinas para la formación de rodlets
090	<u>Alonso Alexis Lopez Zavala</u> , Austin Alejandro Zazueta-Chinchillas, María Lucila Rascón-Durán, Karina D. García-Orozco, Aldo Alejandro Arvizu-Flores, Adrián Ochoa-Leyva	Caracterización de las proteínas inmunorreactivas a IG-E de <i>Callinectes bellicosus</i>
091	Blanca Ramos-Cerrillo, Alejandro Garcíarrubio, Isabel Velazquez, Alejandro Fernández, <u>Lorenzo Segovia</u>	Evolución <i>in silico</i> de una TIM-barrel que une fitato
092	Julian L. Wissner, Jona T. Schelle, Esmeralda Flores-Díaz, Baruc Velázquez-Ramos, Bernhard Hauer, Xavier Soberón, <u>Gloria Saab-Rincón</u>	Cumene dioxygenase as a versatile biocatalyst for the hydroxylation of aromatics and terpenes

Cartel	Coautores	Título
093	<u>Wendy Itzel Escobedo Hinojosa</u> , Julian L. Wissner, Max-Philipp Fischer, Jan Klenk, Bettina M. Nestl, Jan Seeger, Anibal Cuetos, Gideon Grogan, Javier Iglesias-Fernández, Silvia Osuna, Gloria Saab-Rincón, Bernhard Hauer	Engineering linalool dehydratase isomerase for enhanced isoprene production
094	<u>Hugo Alberto Larrañaga Ramirez</u> , Gloria Saab Rincon	Diseño de enzimas para la glicosilación de polifenoles
095	Benjamín Buendía Fuentes, Miriam Livier Llamas García, <u>Samuel Lara Gonzáles</u>	Análisis bioinformático y generación de mutantes para la evaluación del papel de la Tyr-180 del factor de transcripción sdrp en la formación del complejo proteína-DNA
096	<u>Caleb Abimael Vigil Niño</u> , Cesar Ulises Velázquez Calvillo, Y. Bedolla-Pluma, Ma Del Refugio Cuevas Flores	Interacciones moleculares entre proteínas transportadoras de ácidos grasos FABP2 (intestinal) y sustancias perfluoralquiladas y polifouralquiladas (PFAS)
097	<u>Alejandro Rodríguez Vélez</u> , Aldo Alejandro Arvizu Flores, Luis Pablo Velázquez Valdéz, Armando Burgos Hernández, Oliviert Martínez Cruz, Alonso Alexis López Zavala	Caracterización estructural y funcional de GST-RHO: análisis de docking molecular y expresión recombinante
098	<u>Daniela Roa Velazquez</u> , Edgar Morales Rios	Nanocuerpos fluorescentes como sistema de inmunodetección
099	<u>Anabel Félix Arredondo</u> , José Guadalupe Soñanez Organisi, César Muñoz Bacasehua, Norma Aurora Stephens Camacho, Alonso Alexis López Zavala, Eduardo Ruiz Bustos, Jesús Alfredo Rosas Rodríguez	Análisis de los triptófanos 156 y 165 en la estructura y función de la betaína aldehído deshidrogenasa renal de cerdo
100	Aylin del Moral Morales, Hugo Nájera Peña, Angélica Chavez Romero, Jesús Yael Castañón Bello, <u>Gerardo Pérez Hernández</u>	Búsqueda de proteínas blanco de fármacos ototóxicos mediante minería automatizada basada en la literatura y análisis de interacción fármaco-proteína
101	Karina Bautista Rangel, Miriam López-Galicia, Agustín López-Munguía, Marcela Ayala-Aceves, <u>Edmundo Castillo Rosales</u>	Incremento de la termoestabilidad y la actividad enzimática de una cloroperoxidasa fúngica inducida por mezclas eutécticas naturales
102	<u>Valeria Bautista Santamaría</u> , <u>Danna García de los Santos</u> , Lucía Juana Peña Ortiz, Viridiana Vargas Castro, Juan Manuel Solano Altamirano	Hacia la identificación de foldones en proteínas mediante el análisis de alineamiento de secuencias
103	Paola Linares-Flores, Jorge A. Yáñez-Ponce de León, Santiago Becerra-Ramírez, Eugenio López-Bustos, <u>Paul Gaytán</u>	Determinantes moleculares del efecto de fotoactivación de la proteína azul fluorescente PA-BFP
104	Alexis Campuzano-González, Paloma Gil-Rodríguez, <u>Enrique Rudiño-Piñera</u>	Determinación estructural de un nuevo complejo de inhibición no canónica entre tripsina porcina y M271, un inhibidor Kunitz-STI de papa
105	<u>Arisbeth Guadalupe Almeida Juárez</u> , Shirish Chodankar, Lilianna Pardo-López, Guadalupe Zavala-Padilla, Enrique Rudiño-Piñera	From SEC-SAXS to crystallography: mapping the assembly of a homomultimeric enzyme
106	<u>Leslie Maribel Bojorquez Vega</u> , Mauricio Demetrio Carbajal-Tinoco, Lilianna Quintanar, Paolo Carloni	Estudio de la conformación del receptor a <i>N</i> -metil- <i>D</i> -aspartato en su forma activa usando dinámica molecular
107	Leticia León-Luna, Paloma Columba Gil-Rodríguez, <u>Enrique Rudiño Piñera</u>	Efecto del β -hairpin: análisis estructural de la función y estabilidad de la lacasa de <i>Thermus thermophilus</i> HB27
108	<u>Mauricio Yael Navarro Ochoa</u> , Lilian González Segura	Caracterización bioquímica de la orotidina 5'-monofosfato descarboxilasa de <i>Pseudomonas cichorii</i>
109	<u>Raúl Emmanuel Castrejón García</u> , Julio Manuel Hernández Pérez, Pedro López Mendoza, Fernando Sartillo Piscil, Juan Manuel Solano Altamirano y Viridiana Vargas-Castro	Evaluación de nuevos inhibidores de la enzima PflDH como compuestos antipalúdicos: desde un enfoque de dinámica molecular
110	Edson Benjamín Puebla Gandarilla, Rainer Arkin Rojo Acosta, Clarita Olvera Carranza, Rosa Angélica Guillén Garcés, Oscar Guadarrama Pérez, <u>Luis Gerardo Treviño Quintanilla</u>	Transporte de ácido cloranílico, mediado por porinas, en la cepa <i>Herbaspirillum lusitanum</i> TQ07
111	Miguel Castañeda Vaquera, Enrique Rudiño Piñera, Paloma Columba Gil, Maura Martínez Morales, <u>Clarita Olvera Carranza</u>	Dilucidación y estudio in silico de la estructura tridimensional de una versión truncada de la levansacarasa LevS de <i>Leuconostoc mesenteroides</i> B512F
112	<u>Guillermo Alonso Campos</u> , Lilianna Jeanette Pineda Vázquez, Grissel Vázquez Bustos, Enrique Raga Carbajal, Marcela Ayala Aceves, Clarita Olvera Carranza	Estudio de la capacidad de fructansacarases mutantes de SacB para reconocer diversos aceptores para la síntesis de nuevos oligosacáridos
113	<u>Edgar Daniel Páez Pérez</u> , Elvia Alfaro-Saldaña, Araceli Hernández Sánchez, J. Viridiana García Meza	Proteínas de ambientes extremos: pilinas de <i>Acidithiobacillus thiooxidans</i> como modelo de estudio

Cartel	Coautores	Título
114	<u>Brandon Antonio Zapata Velasco</u> , Javier Placido Arrizon Gaviño, Rodrigo Aguayo Ortiz, Marcela Ayala Aceves, María Azucena Herrera Gonzáles, Clarita Olvera Carranza	Análisis de la selectividad de la levansacarasa KesL de <i>Paraburkholderia phymatum</i> con compuestos fenólicos como aceptores
115	<u>Nancy Lozano González</u> , Gerardo Pérez Hernández y Roxana López Simeón	Interacción proteína-nanopartícula de oro: modificaciones estructurales y ventajas funcionales de la albúmina de suero bovino (BSA) funcionalizada con nanopartículas de oro
116	María Zulema Juárez Cortés, Luz Edith Casados Vázquez, <u>César Salvador Cardona Félix</u>	Evaluación de la bacteriocina thurincina H recombinante como agente antibacteriano del patógeno acuícola <i>Streptococcus iniae</i>
117	<u>Andrés Zárate Romero</u> , Aaron Mena Rodríguez, José Luis Villaseñor Montoya, Raúl García Morales, Abraham Vidal Limón	Biosensores de glicina y glifosato basados en la glicina oxidasa monomérica de <i>Azotobacter vinelandii</i>
118	Danna Marely Cruz Rico, Jorge Marcos Víquez, <u>Silvia Armenta Jaime</u>	Ingeniería de enzimas para la degradación de microplásticos
119	<u>Alma Aurora Enríquez Rodríguez</u> , Edgar Vázquez Contrera, Ernesto Rivera Becerril, Izlia Jazheel Arroyo Maya, Andrea Guadarrama Lezama, Moisés Job Galindo Pérez	Caracterización estructural y funcional de nanopartículas proteína-polisacárido formadas por ajuste de pH para la encapsulación de C-ficocianina
120	Susana Regina Castro Jiménez, César Millán-Pacheco, Gabriela León-Gutiérrez, Mario Martínez-Gómez, Armando Mejía-Álvarez	Estrategia computacional integrada para el estudio conformacional de la proteína spike de SARS-Cov-2 jn.I: del modelado por homología al acoplamiento molecular
121	<u>Manuel Mauricio Jasso-Ortiz</u> , Mayra Avelar Frausto, Scott G. Harroun	Exploración del enlace P-X en la amifostina mediante modelos de moléculas pequeñas
122	<u>Gabriel Del Rio Guerra</u> , Juan Martín Hernández Castillo, Erik Hazel Vilchis Macias	Las interacciones de las proteínas son mediadas por regiones densamente empaçadas
123	<u>Luis Brieba</u> , Mayra A. Dagio-Hernandez, Noe Baruch-Torres, Diego Pantoja, Alejandra Arenas-Lopez, Antolín Peralta-Castro, Corina Díaz-Quezada	On the mosaic evolution of mitochondrial replisomes
124	<u>Antolin Peralta Castro</u> , Corina Díaz-Quezada, Luis G. Brieba, Carlos H. Trasviña Arenas	Characterization of AtMUTY DNA glycosylase and insights into the base excision repair pathway in <i>Arabidopsis thaliana</i>
125	<u>Alejandra Arenas</u> , Antolín Peralta-Castro, Corina Díaz-Quezada, Patrica León, Luis G. Brieba	Uncovering hidden effectors of plastid signaling: structural and funtional insights into apocarotenoid recognition in plants
126	<u>Diego de Jesús Pantoja Gutiérrez</u> , Josué Mora-Garduño, Alejandro Peñafiel-Ayala, Antolín Peralta-Castro, Corina E. Díaz-Quesada, Luis G. Brieba	The characterization of the YQGF homologue in <i>Arabidopsis thaliana</i> , a putative plant mitochondrial holiday junction resolvase
127	<u>Luisa Fernanda Marin Bañuelos</u> , Armando Hernández García	Producción y caracterización del sistema split de la proteasa del virus del grabado del tabaco
128	<u>Alejandro Peñafiel-Ayala</u> , Corina E. Díaz Quezada, Dan B. Sloan, Luis G. Brieba	Plant MSH1 is key for mutation avoidance in plant mitochondria
129	<u>Missael Molina-Jiménez</u> , Paola García-Medel, Antolin Peralta-Castro, Noe Baruch-Torres, Corina Díaz-Quezada, Luis G. Brieba	Plant DNA polymerase θ is low fidelity and translesion synthesis DNA polymerase that efficiently accomplishes microhomology-mediated end joining on short DNA substrates
130	<u>Laura Daniela Camacho-Manriquez</u> , Diana Solano-Arguello, Corina Díaz-Quezada, Jose A. Pedroza-García, Luis G. Brieba	Functional characterization of the <i>Arabidopsis</i> <i>twinkle</i> primase-helicase reveals a bifunctional enzyme essential for organellar DNA replication
131	<u>Josué Mora-Garduño</u> , Antolín Peralta-Castro, Andrés Aguilar-Granados, Claudia Raygoza-Zamora, Corina Díaz-Quezada, Luis Brieba de Castro	Unraveling homologous recombination in plant mitochondria
132	<u>Flora Fernández Sánchez</u> , Jenny Flores Ávilas, Hugo S. García Glindo, Edgar Mixcoha, Maribel Jiménez Fernández, Daniel Balleza	Estudio de dinámica molecular de la transición de α -hélice del desorden en péptidos antimicrobianos cortos de <i>Urocladus yaschenko</i>



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

Caracterización del promotor proximal del gen *tbp1* de *Taenia solium* (*Tstbp1*)

Oscar Rodríguez-Lima^a, Ponciano García-Gutiérrez^b, Lucía Jiménez^a, Laura A. Velázquez-Villegas^c, Angel Zarain-Herzberg^d, Roberto Lazzarini^e, Karel Estrada^f, Abraham Landa^a.

^aDepartamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM, 04510, CDMX;

^bDepartamento de Química, UAM-I, 09340, CDMX; ^cDepartamento de Fisiología de la Nutrición, 14080, INNSZ, CDMX; ^dDepartamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM, 04510, CDMX; ^eDepartamento de Biología Experimental, UAM-I, CDMX; ^fInstituto de Biotecnología, UNAM, 62215, Morelos. orodriguez@facmed.unam.mx

Palabras clave: promotor proximal, cestodo, factor de transcripción.

Resumen.

Taenia solium es un cestodo responsable de la teniasis y la cisticercosis en humanos. Esta especie continúa representando un problema de salud pública en diversas regiones de América Latina, África y Asia. En *T. solium* y otros organismos relacionados, la regulación de la transcripción ha sido escasamente estudiada. En este trabajo, caracterizamos el gen *Tstbp1*, que codifica la proteína 1 de unión a la caja TATA de *T. solium* (TsTBP1). En el promotor proximal identificamos sitios de unión para factores de transcripción como NF1, YY1 y AP-1. También detectamos dos elementos tipo TATA; sin embargo, ninguno de ellos mostró capacidad para unirse a TsTBP1. Adicionalmente, localizamos el sitio de inicio de la transcripción (A₊₁) dentro de un elemento Iniciador e identificamos un posible elemento promotor río abajo (DPE, por sus siglas en inglés) ubicado a +27 pb respecto al sitio de inicio de la transcripción. Ambos elementos resultaron ser funcionales y relevantes para la expresión génica. Asimismo, identificamos los genes que codifican los factores 6 y 9 (TsTAF6 y TsTAF9) asociados a TBP en *T. solium*. Ensayos de western blot confirmaron que ambos factores se expresan en el parásito. Además, mediante ensayos de movilidad electroforética y super retardo, observamos las interacciones entre una sonda con la secuencia del DPE y el complejo TsTAF6-TsTAF9. Finalmente, mediante simulaciones de dinámica molecular proponemos un modelo de interacción entre TsTAF6, TsTAF9 y la sonda DPE. Este modelo fue estabilizado mediante interacciones entre el par de dominios tipo histona presentes en los TAFs y diversos pares de nucleótidos de la sonda DPE. Nuestros hallazgos revelan características novedosas e interesantes del complejo TsTAF6-TsTAF9 y su papel en la regulación transcripcional de *T. solium*.

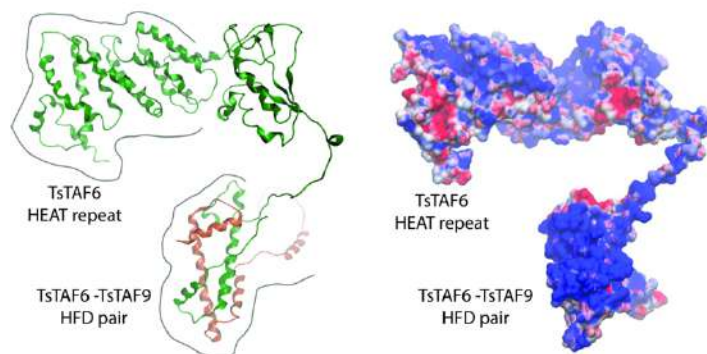


Figura 1. Estructura del heterodimero TsTAF6-TsTAF9 y su potencial de isosuperficie. El complejo interacciona con el elemento DPE identificado en el gen *Tstbp1*.

Agradecimiento. Dirección General de Asuntos del Personal Académico, UNAM (DGAPA, PAPIIT- IA207124 y PAPIIT-IN205422), y Miztli de la Dirección de Cómputo y de Tecnologías de Información y Comunicación (LANCAD-UNAM-DGTIC-344).

Bibliografía.

- Hernandez N. (1993) *Genes Dev*, vol. 7, no. 7B, pp. 1291–1308.
- Juven-Gershon T., Hsu J. Y., Theisen J. W., and Kadonaga J. T. (2008) *Curr Opin Cell Biol*, vol. 20, no. 3, pp. 253–259.
- Louder R. K., He Y., López-Blanco J. R., Fang J., Chacón P., and Nogales E. (2016) *Nature*, vol. 531, no. 7596, p. 604.
- Rodríguez-Lima O, García-Gutiérrez P, Jiménez L, Velázquez-Villegas LA, Zarain-Herzberg A, et al. (2024) *PLOS ONE* 19(8): e0306633.
- Rodríguez-Lima O, García-Gutiérrez P, Jiménez L, Zarain-Herzberg A, Lazzarini R, et al. (2015). *PLOS ONE* 10(11): e0141818.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE OPSDHN1, UNA DEHIDRINA TIPO SK3 DE NOPAL IMPLICADA EN LA TOLERANCIA AL FRÍO

Juan Francisco Jiménez Bremont, Itzell E. Hernández-Sánchez, Israel Maruri-López, Adriana L. Salazar-Retana, Alicia Becerra Flora. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT) División de Biología Molecular, San Luis Potosí, CP 78216, jbremont@ipicyt.edu.mx

Palabras clave: Dehidrina, Opuntia, Frío.

Resumen.

Las dehidrina (DHNs) son proteínas intrínsecamente desordenadas que desempeñan un papel clave en la respuesta de las plantas al estrés abiótico; sin embargo, su mecanismo de acción aún no se comprende completamente. En este estudio se caracterizó la proteína OpsDHN1, una dehidrina tipo SK3 aislada de nopal (*Opuntia streptacantha*). El análisis por qRT-PCR mostró que la expresión del gen *OpsDHN1* se incrementa en respuesta al estrés por frío y es inducida por ácido abscísico. La sobreexpresión de *OpsDHN1* en *Arabidopsis thaliana* confirió una mayor tolerancia al congelamiento. Los ensayos de interacción proteína-proteína revelaron que OpsDHN1 forma homodímeros, mostrando localización subcelular tanto citosólica como nuclear (1). Asimismo, demostramos que puede formar heterodímeros con sus ortólogas de *Arabidopsis*: AtCOR47, AtERD10 y AtRAB18, observándose que estas interacciones presentan distintas distribuciones subcelulares (2). Por último, identificamos secuencias PEST en OpsDHN1, sugiriendo un mecanismo de degradación regulada. Estos hallazgos proponen que la oligomerización entre dehidrinas, mediante interacciones específicas constituye un mecanismo clave en su función molecular, ofreciendo nuevas perspectivas para entender su papel en la adaptación al estrés.

Agradecimiento. Proyectos de Desarrollo Científico para atender Problemas Nacionales, 2015-01-414

Bibliografía.

- 1.-Hernández-Sánchez IE, Martynowicz DM, Rodríguez-Hernández AA, Pérez-Morales MB, Graether SP, Jiménez-Bremont JF. 2014. A dehydrin-dehydrin interaction: the case of SK3 from *Opuntia streptacantha*. *Front. in Plant Sci* 5:520
- 2.- Hernández-Sánchez IE, Maruri-López I, Ferrando A, Carbonell J, Graether SP, Jiménez-Bremont JF. 2015. Nuclear localization of the dehydrin OpsDHN1 is determined by histidine-rich motif. *Front. in Plant Sci* 6:702



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

Análisis bioinformático del reconocimiento entre dos anticuerpos recombinantes y la enzima Triosa fosfato isomerasa de *Taenia solium*.

Juan Carlos Martínez-Hernández^{1,2}; Lucía Jiménez¹; Alicia Ochoa-Sánchez¹; Rafael A. Zubillaga³; Ponciano García-Gutiérrez³; Menandro Camarillo-Cadena²; Abraham Landa¹.

1 Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

2 Tecnológico de Estudios Superiores del Oriente del Estado de México, Estado de México, México.

3 Departamento de Química, Área de Biofisicoquímica, Universidad Autónoma Metropolitana, Ciudad de México, México.

Resumen.

En nuestro grupo de trabajo se ha realizado la producción de dos anticuerpos recombinantes (unión de los fragmentos de las cadenas variables pesadas y ligeras(scFv)) en contra de la Triosa fosfato isomerasa del *Taenia solium* (TsTPI), denominados 4H11FQ y 2G6B8. Su caracterización muestra que ambos reconocen a la TsTPI, pero sólo el 4H11 la inhibe en un 75% su actividad.

Este hecho fue de gran interés para comenzar un estudio bioinformático con el propósito general de identificar los aminoácidos responsables de la unión e inhibición. La meta es mejorar este anticuerpo recombinante para que pueda ser utilizado como una secuencia líder para generar un péptido inhibidor.

En la primera etapa, se construyeron y validaron los modelos estructurales 3D de cada anticuerpo recombinante, así como de las TPI de cerdo, humano y de *T. solium*. Posteriormente utilizando la forma dimérica de TsTPI, se realizaron los ensayos de docking para obtener complejos moleculares TsTPI-scFvs, los cuales fueron estabilizados energéticamente para su posterior análisis de la zona de contacto. El análisis realizado nos permitió identificar la región estructural de la unión y los aminoácidos que participan en la afinidad. También se pudo comprobar que los aminoácidos involucrados presentan de forma predominante interacciones electrostáticas. Esto abre un camino para diseñar nuevos fármacos más pequeño (péptidos) que conserven las propiedades fisicoquímicas del anticuerpo y puedan inhibir selectivamente a la TsTPI.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas 13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

DETECCIÓN MOLECULAR Y PREDICCIÓN ESTRUCTURAL DE GLICEROL DESHIDROGENASAS EN BACTERIAS AISLADAS DEL CENOTE COSTERO POL-AC

Diego Aurelio Del Castillo Copland¹, Julian L. Wissner¹, Alejandra Prieto Davó¹, Norberto Sánchez Cruz², Luisa Falcón Álvarez³, Wendy Itzel Escobedo Hinojosa^{1*}

- (1) Universidad Nacional Autónoma de México, Unidad de Química de Sisal, Facultad de Química, Puerto de Abrigo S/N UNAM 97355 Sisal Yuc. México
- (2) Universidad Nacional Autónoma de México, Unidad Mérida del Instituto de Química, Instituto de Química, Km. 5.5 Carr. Sierra Papacal - Chuburna Pto. Tablaje 31257 Sierra Papacal 97302 Mérida Yuc. México
- (3) Universidad Nacional Autónoma de México, Unidad Mérida del Instituto de Ecología, Instituto de Ecología, Tablaje Catastral N°6998 Carretera Mérida-Tetiz Km. 4.5, 97357 Ucu Yuc. México

Correo electrónico: ddelcastillocopland@gmail.com

Palabras clave: glicerol deshidrogenasa, *cis*-dihidrocatecoles, acoplamiento molecular

Resumen.

La glicerol deshidrogenasa (GldA, EC 1.1.1.6) es una enzima dependiente de NAD⁺ y zinc (Zn²⁺) que pertenece a la familia III de poliol deshidrogenasas. En bacterias como *Escherichia coli*, GldA desempeña un papel clave en el metabolismo del glicerol, catalizando su oxidación reversible a dihidroxiacetona (DHA), bajo condiciones anaeróbicas. Esta reacción forma parte de una vía alternativa a la ruta aeróbica dependiente de glicerol-3-fosfato, permitiendo a la bacteria adaptarse a entornos con limitación de oxígeno. Además de su sustrato nativo principal, GldA muestra afinidad por otros alcoholes pequeños (C₂-C₄), como el 1,2-propanodiol (1) y el 2,3-butanodiol (2), al igual que afinidad hacia glicerol éteres (3), lo que le confiere relevancia en procesos industriales, como la valorización de glicerol proveniente de la producción de biocombustibles y, también, en la producción de químicos finos.

Recientemente, se descubrió que la GldA de *E. coli* BW25113 posee una inesperada promiscuidad hacia sustratos más grandes, como *cis*-dihidrocatecoles (C₆-C₈), los cuales transforma eficientemente en catecoles aromáticos (4). Este hallazgo amplía el potencial biocatalítico de la enzima, sin embargo, la presencia de homólogos en otras bacterias, especialmente grampositivas ambientales, sigue siendo desconocida.

En este contexto, nuestro objetivo es caracterizar GldAs en bacterias aisladas de un cenote costero de Yucatán, el cual es un ambiente estratificado con condiciones hipóxicas y alta salinidad, de donde se han aislado 49 cepas grampositivas (*Bacillota* y *Actinomycetota*) con posible diversidad enzimática.

La metodología involucra la detección molecular de genes homólogos de GldA, mediante PCR con cebadores específicos y degenerados. Seguido de la secuenciación y análisis de los amplicones para identificar cambios en residuos clave del sitio activo. Las estructuras tridimensionales de las enzimas se modelarán con herramientas como AlphaFold y SWISS-MODEL, y su interacción con sustratos (alcoholes C₂-C₄ y *cis*-dioles C₆-C₁₀), se predecirá mediante acoplamiento molecular (AutoDock Vina).

Se estableció un protocolo de modelado y acoplamiento molecular, empleando GldA de *E. coli* como proteína modelo. Los datos obtenidos en términos de distancias de acoplamiento y desviación media cuadrática validan el enfoque, mostrando poses de acoplamiento consistentes con estudios previos para *cis*-dioles C₆-C₈, sugiriendo que incluso sustratos halogenados (C₆) y naftalénicos (C₁₀) podrían ser aceptados. Este trabajo no solo se centra en la diversidad funcional de GldAs en bacterias ambientales, sino también en aportar perspectivas sobre su evolución, información clave para su mejora mediante ingeniería de proteínas, con la finalidad de explorar si esta nueva actividad biocatalítica tiene potencial biotecnológico.

Agradecimientos. Investigación realizada gracias al los programa UNAM-PAPIIT IT201525 y UNAM-PAIP 5000-9203.

Bibliografía.

1. Zhang, Y., Liu, D., & Chen, Z. (2017). *Biotechnology for Biofuels*, Vol 10(1), 299.
2. Zhang, L., Guo, Z., Chen, J., Xu, Q., Lin, H., Hu, K., Guan, X., & Shen, Y. (2016). *Scientific Reports*, Vol 6(1), 19257.
3. Velasco-Lozano, S., Roca, M., Leal-Duaso, A., Mayoral, J. A., Pires, E., Moliner, V., & López-Gallego, F. (2020). *Chemical Science*, Vol 11(44), 12009–12020.
4. Escobedo-Hinojosa, W., VÍla, M. A., Wissner, J. L., Härterich, N., Horz, P., Iglesias, C., & Hauer, B. (2023). *Journal of Biotechnology*, Vol (366), 19–24.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

TIM-BARREL: UN MODELO ESTRUCTURAL PARA ESTUDIAR LA DIVERSIDAD FUNCIONAL ENZIMÁTICA

Estefani Gaytan-Núñez, Lorenzo Segovia, Instituto de Biotecnología, Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Cuernavaca 62110, lorenzo.segovia@ibt.unam.mx.

TIM-Barrel, Foldmason, MSTA

Resumen.

El dominio TIM-barrel, caracterizado por un barril formado por ocho láminas β paralelas rodeadas por ocho hélices α , es uno de los plegamientos más ampliamente distribuidos en las proteínas. Estos dominios catalizan seis de las siete clases enzimáticas definidas por la *Enzyme Commission*. Además, se encuentran en todos los organismos. Su notable adaptabilidad estructural y funcional los convierte en modelos ideales para estudiar la tolerancia al plegamiento, así como la relación entre secuencia, estructura y función (1).

El concepto de espacio de secuencia describe el conjunto de posibles variantes de aminoácidos en una proteína. Aunque este espacio abarca una diversidad considerable de secuencias, la mayoría no adopta un plegamiento funcional ni exhibe actividad catalítica. No obstante, ha resultado útil para identificar regiones críticas para la estabilidad estructural o la función enzimática (2, 3). En el caso del TIM-barrel, este espacio incluye secuencias con una gran variabilidad en longitud y función catalítica, pero que mantienen una misma arquitectura estructural. A pesar de la alta divergencia en secuencia entre los TIM-barrel, su conservación estructural permite un análisis comparativo más fiable a través de alineamientos estructurales múltiples (MSTA). Herramientas como Foldmason han demostrado ser efectivas incluso para proteínas altamente divergentes, siendo consistentes con relaciones filogenéticas inferidas y reconstrucciones manuales (4). En este proyecto, construimos un árbol estructural mediante Foldmason, con el objetivo de analizar la relación entre la similitud estructural de los dominios TIM-barrel y sus funciones catalíticas. Nuestros resultados sugieren que ciertas clases enzimáticas tienden a agruparse. Sin embargo, se observa la aparición de actividades enzimáticas particulares en múltiples eventos independientes de acuerdo con la distribución de actividades en el árbol. Esto indica un origen polifilético de actividades sobre el mismo plegamiento.

Agradecimiento. Estefani Gaytan-Núñez del programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Bioquímicas de la UNAM recibió la beca 1204550 del CONAHCYT.

Bibliografía.

1. D. Goldman, J. T. Beatty, and L. F. Landweber, (2016), *J. Mol. Evol.*, vol. 82, no. 1, pp. 17–26.
2. M. Hecht, Y. Bromberg, and B. Rost, (2013), *J. Mol. Biol.*, vol. 425, no. 21, pp. 3937–3948.
3. J. Gu, Y. Xu, and Y. Nie, (2023) *Adv.*, p. 108094.
4. L. M. Gilchrist, M. Mirdita, and M. Steinegger, (2024) *BioRxiv*.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

ESTUDIO ESTRUCTURAL DE LA LISOZIMA HUMANA Y ALGUNAS VARIANTES
MEDIANTE DINÁMICA MOLECULARFernanda Torres Arroyo¹, Salomón de Jesús Alas Guardado^{2,3}, Hugo Nájera Peña²¹Licenciatura en Biología Molecular, UAM Cuajimalpa, Ciudad de México 05300.²Departamento de Ciencias Naturales e Ingeniería, UAM Cuajimalpa, Ciudad de México 05300.³Departamento de Química, UAM Iztapalapa, Ciudad de México 09310.

fernanda.torres@cua.uam.mx (FTA)

*Palabras clave: lisozima, fibras amiloides, dinámica molecular***Resumen.**

La lisozima humana es una proteína modelo, crucial para el estudio del plegamiento de proteínas, siendo una de las más estudiadas en bioquímica [1]. El plegamiento correcto de las proteínas es esencial para su función, las alteraciones en este proceso pueden llevar a la formación de fibras amiloides, algunas asociadas a enfermedades neurodegenerativas. Estas fibras, caracterizadas por una estructura cruzada β , son altamente estables, su formación no está vinculada a una secuencia específica de aminoácidos [2]. En este trabajo se presenta una evaluación, mediante simulaciones de dinámica molecular, del efecto de mutaciones en la estabilidad estructural de la lisozima humana y la posible formación de fibras amiloides durante su desplegamiento. Las simulaciones se han realizado a diferentes temperaturas y se han utilizado como modelos a la proteína silvestre y dos proteínas con las mutaciones puntuales I56T y D67H, las cuales están reportadas en la literatura como formadoras de fibras amiloides. Los resultados preliminares indican que las mutaciones D67H e I56T alteran significativamente la estabilidad conformacional de la lisozima, favoreciendo la formación de estructuras secundarias no nativas. Un hecho interesante es que, a temperaturas de 430 y 450 K, la mutante D67H presenta más estabilidad que la mutante I56T y que su forma silvestre, contrario a lo que se observa en 420 K, esto probablemente ocurre por la formación de estructuras intermediarias a 430 K en la mutante D67H.



Figure 1. Estructura silvestre de la lisozima humana. En colores azul, magenta y rojo se muestran las hélices α , 3_{10} hélices y hojas β , respectivamente. La imagen se realizó con PyMOL v2.5.2 y corresponde a la conformación 0 de la simulación a 298 K.

Bibliografía.

1. Vázquez, F., Nájera, P. Importancia de la estructura y plegamiento en las proteínas: enfermedades, terapia y usos en biotecnológicos. Revista de educación en ciencias e ingeniería. 2022 Jun;1(1):35-44.
2. Santos, A., Nájera, H., Rojo, A., López, R. (2020). Estudio sobre la inhibición de fibras amiloides y su posible mecanismo de acción en lisozima humana. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Cuajimalpa.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN DE INHIBIDORES DE CATEPSINA K COMO POSIBLES PROTOFÁRMACOS PARA COMBATIR LA OSTEOPOROSIS

David O. Tovar Anaya, César Juárez Sánchez, Rafael A. Zubillaga Luna
 Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, Departamento de Química, CDMX C. P.
 09310, zira@xanum.uam.mx.

Palabras clave: Cathepsina K, Inhibidores, osteoporosis.

Resumen.

La cathepsina K (Cts K) es una enzima lisosomal implicada en la degradación del colágeno tipo I, proceso clave en la resorción ósea asociada a enfermedades como la osteoporosis. Su inhibición representa una estrategia terapéutica prometedora, por lo que el objetivo general de este trabajo es identificar moléculas tipo fármaco capaces de inhibir la actividad de la Cts K humana mediante cribado virtual seguido de ensayos bioquímicos in vitro. Además, se busca caracterizar los parámetros termodinámicos de unión (constante de unión K_u , entalpía ΔH_u y entropía ΔS_u) y el tipo de inhibición de al menos dos compuestos seleccionados.

En la primera fase del estudio se realizaron simulaciones de dinámica molecular (GROMACS, 400 ns, 300 K) de la Cts K bajo condiciones ácidas (pH 4.5, fuerza iónica 0.15 M), evaluándose su estabilidad conformacional. A partir de la configuración dominante identificada mediante análisis con TTClust, se identificaron posibles sitios de unión empleando ProteinPlus y la metodología SILCS a pH 4.5, usando benzamida como sonda molecular (0.5 M). Los sitios con mayor relevancia funcional serán utilizados para cribado virtual (AutoDock y GOLD) sobre la quimioteca Diverse-Ex de ChemBridge, con el fin de seleccionar ligandos con potencial inhibidor.

Este enfoque multidisciplinario combina modelado molecular, biología estructural y bioquímica, orientado hacia el descubrimiento racional de nuevos inhibidores específicos de la Cts K, con potencial aplicación en el desarrollo de tratamientos más efectivos contra la osteoporosis.

Agradecimiento.

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación por la beca asignada en el marco de la convocatoria *Estancias Posdoctorales por México (EPM-1) 2024*, y al área de Biofisicoquímica del Departamento de Química de la Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Iztapalapa.

Bibliografía.

1. Anish RJ, Nair A. (2024) J Orthop Mar 2;53:101-113 **Osteoporosis management-current and future perspectives - A systemic review.**
2. Duong, L.T., Leung, A.T. & Langdahl, B. (2016) *Calcif Tissue Int* **98**, 381–397 **Cathepsin K Inhibition: A New Mechanism for the Treatment of Osteoporosis.**
3. Novinec M, Korenč M, Caffisch A, Ranganathan R, Lenarčič B, Baici A. (2014) Nat Commun. 5:3287. **A novel allosteric mechanism in the cysteine peptidase cathepsin K discovered by computational methods.**
4. Tubiana T, Carvaillo JC, Boulard Y, Bressanelli S. (2018) J Chem Inf Model. 58(11):2178-2182. **TTClust: A Versatile Molecular Simulation Trajectory Clustering Program with Graphical Summaries.**
5. Faller CE, Raman EP, MacKerell AD Jr, Guvench O. (2015) Methods Mol Biol. 1289:75-87. **Site Identification by Ligand Competitive Saturation (SILCS) simulations for fragment-based drug design.**



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

EFFECTO DE LA TAPA DEL SITIO ACTIVO DE LA PIRUVATO CINASA DE *THERMOPHILUM PENDENS* SOBRE LA CATÁLISIS Y ESTABILIDAD TÉRMICA

Alicia Vega-Segura, Guillermo Salcedo-Barrientos, Jessica Díaz Salazar*, Gloria Hernández Alcántara, Lilian González Segura** y Leticia Ramírez-Silva. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM. *Departamento de Fisicoquímica, **Departamento de Bioquímica, Facultad de Química, UNAM. Ciudad de México 045510. iramirez@bq.unam.mx

Palabras clave: Piruvato Cinasa (PK), Thermophilum pedens (Tp) y dominio B (tapa catalítica)

Resumen.

La piruvato cinasa de *Thermophilum pendens* es una enzima hipertermófila que pertenece al phylum Thermoproteota de las Archaea. En un análisis filogenético de la familia de la piruvato cinasa, se encontró que pertenece a la rama de las enzimas independientes de K^+ . Sin embargo, no posee la firma conservada de las piruvato cinasas de esta rama, en este grupo filogenético no existe una firma de aminoácidos conservados. Por otro lado, poseen una tapa o dominio B con tres Phe muy conservadas (90-100%) en todas las piruvato cinasas de las Thermoproteota y ausentes, hasta donde sabemos en el resto de las piruvato cinasas [1]. Resultados de un estudio previo de la caracterización de la piruvato cinasa de *Thermophilum pendens* nos llevó a postular que las interacciones no covalentes (puentes salinos, puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas e interacciones Pi-Pi) presentes en su tapa inducen alta estabilidad y el arreglo estructural que permite la catálisis de la enzima en ausencia de K^+ [1]. Con el objeto de descifrar el papel que juegan los residuos aromáticos de la tapa se realizaron mutaciones de cada una de estas Phe y se sustituyeron por los residuos alifáticos presentes en la piruvato cinasa de músculo de conejo. En suma, se encontró que la sustitución de dos Phe contiguas inducen una disminución de 2 a 3 grados en la estabilidad térmica de la enzima, mientras que la sustitución aislada de la otra Phe incluso estabiliza a la enzima. Con el objeto de entender el efecto de la tapa en la catálisis y estabilidad de la piruvato cinasa de *Thermophilum pendens*, nos interesó estudiar la enzima que carece de tapa. Para ello, se mandó construir la enzima trunca basado en un estudio de la piruvato cinasa sin tapa de *E. coli* [2]. La enzima trunca se mandó a sintetizar a Gen universal en el plásmido pET3a y se expresó en la cepa Rosetta. La enzima se purificó siguiendo el protocolo descrito en [1] sin calentar el sobrenadante del lisado de las células. Para comprobar su integridad, se realizaron experimentos de DC en el UV lejano y cercano. Se realizaron experimentos de CDB a diferentes concentraciones de proteína y diferentes velocidades de barrido. Por último, se realizaron experimentos de saturación por sustratos. Los resultados más importantes indican que la enzima trunca presenta un espectro de DC similar al de la enzima silvestre expresado en elipticidad molar por residuo. La CDB indica que la enzima muestra dos transiciones calorimétricas. Las dos poseen una T_{mapp} de alrededor de 3.4 grados menor que la enzima silvestre. No hay diferencia entre las transiciones calorimétricas con la concentración de proteína de 0.2 a 3 mg/ml, lo que sugiere que no se observa disociación en ese rango de temperaturas. La diferencia estriba en la entalpia, en donde la segunda transición de la enzima trunca presenta una mayor contribución calorífica al desplegamiento de la enzima (6 veces mayor que la enzima silvestre) y la contribución de la primera transición disminuye (30% menor con respecto a la enzima silvestre). Cinéticamente se observa que, aunque la enzima trunca puede llevar a cabo catálisis, la enzima trunca muestra una $V_{max} \sim 430$ veces menor que la enzima silvestre y la K_m por Mg^{2+} libre, PEP^{3-} y Mg ADP es 11, 50 y 260 veces mayor, respetivamente que en la enzima silvestre. Aun cuando no tenemos una explicación para la contribución de la segunda endóterma es evidente que está relacionada con la ausencia de la tapa catalítica. Con el fin de entender el papel de la tapa, se realizarán simulaciones por DM del tetrámero sobre la estructura de la piruvato cinasa de *Thermophilum pendens* recién obtenida y el modelo de la enzima trunca.

Agradecimiento. PPAPIIT-UNAM: IN215625.

Bibliografía.

- 1.- De la Vega-Ruiz G, Domínguez-Ramírez L, Riveros-Rosas H, Guerrero-Mendiola C, Torres-Larios A, Hernández-Alcántara G, García-Trejo JJ, Ramírez-Silva L. (2015) *PLOS ONE* 10(3): e0119233.
 - 2.- Sugrue E, Coombes D, Wood D, Zhu T, Donovan KA, Dobson RCJ (2020). *Eur Biophys J.* 49 (8): 761-772
- sabilidad de los autores.



IX Congreso de Físicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

EXPERIMENTAL CHARACTERIZATION OF THE SEQUENCE SPACE BETWEEN TWO PROTEIN FOLDSRicardo Muñoz-Trejo¹, Patrick S. Cantwell^{1,2}, Joseph W. Thornton^{1,3}¹Department of Ecology and Evolution, University of Chicago, Chicago, IL 60637²Graduate Program in Biochemistry and Molecular Biophysics, University of Chicago, Chicago, IL 60637³Department of Human Genetics, University of Chicago, Chicago, IL 60637

rmuniztrejo@uchicago.edu

*Palabras clave: protein folding, fold switching, fold evolution***Resumen.**

Protein fold evolution remains a poorly understood process despite strong evidence for the emergence of new folds throughout history. Whether these new folds originate de novo from non-coding DNA or via mutation from a pre-existing fold is a subject of debate since evidence for either scenario is scarce. In particular, realistic estimations of the accessibility of new folds due to mutation alone are underdetermined, as observations of fold change upon mutation are seldom made and are challenging to test experimentally in a high-throughput format. In this work, we aim to provide a more concise estimation of the accessibility of new folds by characterizing the sequence space between two distinctive folds via single mutations. For this purpose, we will determine changes in fold type in the sequence space that exists between two engineered versions of the domains G_A (3 α fold) and G_B (4 β + α fold) of the streptococcal protein G. These two modified domains, called G_A77 and G_B77 are thirteen mutations away from each other, and bind unambiguously to human serum albumin and immunoglobulin G, respectively. [1,2] Previously, by following the binding of each fold's specific partners, a mutational bridge between these two folds was discovered by rationally increasing the identity of the original sequences until they were only one mutation away from each other. [2] We will expand the characterization of this system by experimentally determining the fold type of a library containing the entire binary sequence space between G_A77 and G_B77 (2¹³ genotypes). Using yeast display and fluorescence-activated cell sorting, we will determine the fold type of each genotype based on binding to their fold-specific binders. To increase confidence in the characterization, we also generated a suite of unambiguous binders using computational design to account for affinity losses of the natural binders as mutations accrue in sequence space. The results of this assay will accomplish three objectives: 1) they will let us determine the frequency and extent of mutational bridges between these two folds, 2) they will provide the first large-scale experimental estimation of the accessibility of new folds in sequence space, and 3) they will inform on the biophysical mechanisms that allow for these types of fold changes in this system.

Agradecimientos. This work was supported by the National Institute of Health grant R35-GM145336. We thank members of the Thornton Lab and Murugan Lab (University of Chicago) for comments and advice throughout this project.

Bibliografía.

1. Alexander, P. A., He, Y., Chen, Y., Orban, J., Bryan, P. N. (2007) *PNAS* 104 (29): 11963-11968
2. Alexander, P. A., He, Y., Chen, Y., Orban, J., Bryan, P. N. (2009) *PNAS* 106 (50): 21149-21154



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

SÍNTESIS QUÍMICA DE VARIANTES DE LAS TOXINAS CnERG1 (Y17F, Q21T) Y CmERG1 (F17Y, T21Q) Y SU EFECTO SOBRE EL CANAL HERG1.

Luz María Rico Jiménez¹ Georgina Gurrola Briones², Rita María Restano-Cassulini², Lourival Domingos Possani Postay², Carmen Nina Pastor Colón¹.

1. Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Centro de investigación en Dinámica Celular, Cuernavaca, Mor., CP. 62210.

2. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biotecnología, Cuernavaca, Mor. CP. 62210.

lourival.possani@ibt.unam.mx

Palabras clave: CmERG1, CnERG1, hERG1

Resumen.

La interacción entre las toxinas con los canales iónicos ha dado pie al conocimiento de la estructura y función de estos. Un canal importante que participa en el proceso de repolarización del potencial de acción cardíaco es el canal hERG1. Mutaciones en él derivan en patologías como el síndrome QT largo el cual se ve reflejado en arritmias o muerte súbita en pacientes que lo padecen. Este canal es blanco de una subfamilia de toxinas denominadas Erg toxinas, las cuales al encontrarse en contacto con el canal llevan a cabo un bloqueo del 90% aún en presencia de una concentración saturante de la toxina. Este comportamiento había sido habitual en esta subfamilia hasta que se observó que la Erg toxina (CmErg1) de *Centruroides margaritatus*, es capaz de bloquear el canal totalmente. Basándose en los estudios previos de los sitios de unión de la Erg toxina aislada de *Centruroides noxius* (CnErg1) y de acuerdo con un modelo computacional del complejo entre la toxina y el canal, se propuso que los cambios en la eficiencia del bloqueo eran debidos a los cambios de aminoácidos en las posiciones 17 y 21 de la secuencia de la toxina. Con base en estos antecedentes, se llevó a cabo la síntesis química en fase sólida de las toxinas CnErg1 (Y17F, Q21T) y CmErg1 (F17Y, T21Q) así como las pruebas electrofisiológicas de cada una para corroborar el modelo existente. Se obtuvo como resultado un bloqueo más eficiente al exponer el canal hERG1 a la toxina CnErg1 (Y17F, Q21T) mientras que al exponer el canal hERG1 a la toxina CmErg1 (F17Y, T21Q) se observó un bloqueo parcial. Nuestros resultados nos indican que, de acuerdo con lo que se predice en el modelo, las posiciones 17 y 21 son participes e importantes en la capacidad de bloqueo de las toxinas.

Agradecimiento. Al proyecto DGAPA-UNAM numero IN200323 y a la Secretaria de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), al proyecto de investigación denominado "Venenos y antivenenos" número 303045.

Bibliografía. Las citas se escribirán en letra normal Arial tamaño 8. Hasta cinco citas bibliográficas es un número adecuado para un trabajo de esta extensión. Las referencias en el texto deberán ir numeradas, en paréntesis y en orden de aparición. Los ejemplos a continuación son para artículo, capítulo de libro y memorias de congreso, respectivamente. Por cuestión de espacio, se puede omitir el título de los artículos en este resumen.

1. Beltrán-Vidal, J., Carcamo-Noriega, E., Pastor, N., Zamudio-Zuñiga, F., Guerrero-Vargas, J. A., Castaño, S., Possani, L. D., & Restano-Cassulini, R. (2021). Colombian Scorpion *Centruroides margaritatus*: Purification and Characterization of a Gamma Potassium Toxin with Full-Block Activity on the hERG1 Channel. *Toxins*, <https://doi.org/10.3390/toxins13060407>
2. Corona, M., Gurrola, G. B., Merino, E., Cassulini, R. R., Valdez-Cruz, N. A., Garcia, B., Ramirez-Dominguez, M. E., Coronas, F. I. V., Zamudio, F. Z., Wanke, E., & Possani, L. D. (2002). A large number of novel Ergtoxin-like genes and ERG K⁺ -channels blocking peptides from scorpions of the genus *Centruroides*. *FEBS Letters*, [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(02\)03652-9](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(02)03652-9) 532(1-2)
3. Gurrola, G. B., Rosati, B., Rocchetti, M., Pimienta, G., Zaza, A., Arcangeli, A., Olivetto, M., Possani, L. D., & Wanke, E. (1999). A toxin to nervous, cardiac, and endocrine ERG K⁺ channels isolated from *Centruroides noxius* scorpion venom. *The FASEB Journal*, <https://doi.org/10.1096/fasebj.13.8.953>



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

DETERMINACIÓN DEL MECANISMO MOLECULAR DE INTERACCIÓN ENTRE LA PROTEÍNA hG0S2 Y LA PROTEÍNA ANTIAPOPTÓTICA hBCL2.

Ligia Vega-Becerra¹, Gabriela M. Montero-Morán² & Samuel Lara-González¹ ¹División de Biología Molecular, Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, San Luis Potosí, S.L.P., CP. 78126; ²Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, S.L.P. CP. 78210. E-mail: samuel.lara@ipicyt.edu.mx

Palabras clave: purificación, apoptosis, interacción proteína-proteína

Resumen.

G0S2 es una proteína de 103 aminoácidos descrita por primera vez en células mononucleares, donde se expresó de forma diferencial durante la transición del ciclo celular de la fase G0 a la fase G1 inducida por lectinas.⁽¹⁾ Esta proteína sólo se ha identificado en vertebrados y está muy conservada entre las especies humana y de ratón, con un 78% de identidad global.⁽²⁾ G0S2 es una proteína implicada en múltiples procesos celulares en vertebrados. Su función más conocida es la inhibición de la enzima triglicérido lipasa del tejido adiposo, resultando en la regulación negativa de la lipólisis.⁽³⁾ Por otro lado, Bcl-2 es codificado por el gen *BCL2*, tiene 239 aminoácidos, su peso molecular es de 26 kDa y su estructura consta de 6 α -hélices.⁽⁴⁾ En este trabajo nos centramos en la participación de G0S2 en la apoptosis, donde al interactuar con Bcl-2 libera la proteína Bax interrumpiendo la formación del heterodímero Bcl-2/Bax. La liberación de Bax inicia el proceso de apoptosis inhibiendo la proliferación celular.⁽⁵⁾ El objetivo de este trabajo es describir el mecanismo molecular por el cual G0S2 interactúa con Bcl-2 y disocia el complejo Bcl-2/Bax mediante técnicas bioquímicas y biofísicas. Para ello, se clonaron las construcciones SUMO-hG0S2 y hBcl-2, en el vector pET28pps. Posteriormente, cada proteína se purificó por separado mediante cromatografía de afinidad con níquel (Ni-NTA) y cromatografía de intercambio iónico (IEC). La proteína hG0S2 tuvo una producción total de 1.7 mg/L de cultivo con un peso de 11.3 kDa, por otro lado, hBcl-2 tuvo una producción total de 6.7 mg/L de cultivo con un peso de 23.3 kDa. Estas mismas muestras las usamos para la formación del complejo hG0S2/hBcl-2 y ensayos de termoestabilidad. La formación del complejo hG0S2/hBcl-2 se realizó en una relación equimolar 1.3:1.0 y se purificó por IEC recuperando 1.2 mg con un peso aproximado de 33 kDa. En los ensayos de DLS del complejo hG0S2/hBcl-2, se midió el radio hidrodinámico a una concentración de 1.4 mg/ml donde se obtuvo que el radio hidrodinámico tiene un valor de 2.14 nm, obteniendo que tiene un peso aproximado de 35 kDa, es un heterodímero monodisperso en solución. Finalmente realizamos los experimentos de termoestabilidad de las proteínas hG0S2, hBcl-2 y del complejo hG0S2/hBcl-2 a una concentración de 0.1 mg/ml. Obteniendo como resultados que la proteína hG0S2 no muestra ninguna señal al ser una proteína intrínsecamente desordenada, la proteína hBcl-2 tiene una *Tm* de 54.8°C y para el caso del complejo la *Tm* se recorrió a 57.9°C. Para el caso del complejo también se evaluaron diferentes condiciones, en las que se incluyeron diferentes concentraciones de glicerol (5-15%), CHAPS (0.05- 0.3%), BME (1-20 mM) y NaCl (0.15-3.5 M). Los resultados mostraron un cambio significativo con CHAPS de 3°C, mientras que con glicerol y NaCl se observó un aumento en la *Tm* de 3°C y 1°C respectivamente. Estos resultados sugieren que existe una interacción muy fuerte y estable entre las proteínas hG0S2 y hBcl-2, lo cual será comprobado en ensayos de unión. Para dilucidar la región específica de interacción realizaremos experimentos de modificación química seguidos por LC-MS/MS y cristalografía de proteínas.

Agradecimiento. A la Tec. Rosa Espinosa Luna por todo el apoyo brindado dentro y fuera del laboratorio. Este trabajo fue financiado a través del proyecto de Ciencia Básica SEP- CONACYT No CB2011-168710 y por el proyecto CONACYT INFRA-2013-01 No 204373.

Bibliografía.

1. Russell, L., & Forsdyke, D. R. (1991). *DNA and cell biology*, 10(8), 581–591.
2. Pérez-Pérez, E. D., Llamas-García, M. L., Benítez-Cardoza, C. G., Montero-Morán, G. M., & Lara-González, S. (2020). *ACS omega*, 5(40), 25841–25847.
3. Yang, X., Lu, X., Lombès, M., Rha, G. B., Chi, Y. I., Guerin, T. M., Smart, E. J., & Liu, J. (2010). *Cell metabolism*, 11(3), 194–205.
4. Loro, L. L., Vintermyr, O. K., & Johannessen, A. C. (2003). *Journal of oral pathology & medicine*. 32(3), 125–138.
5. Welch C, Santra M K, El-Assaad W, Zhu X, Huber W E, Keys R A, Teodoro J G, Green M R. (2009) *Cancer research*. Vol 69: 6782-6789.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas 13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

FUNCTIONAL AND STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF MUTS2A AND MUTS2B PROTEINS FROM *ARABIDOPSIS THALIANA*

Laura Daniela Palomino Navarrete, Luis Gabriel Briebe de Castro, Dan Sloan, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Irapuato 36821
luis.briebe@cinvestav.mx

Palabras clave: AtMutS2a/AtMutS2b, Chloroplast DNA repair, Genomic stability

Resumen.

Maintaining genomic integrity is essential for plant survival and adaptation under adverse environmental conditions. This is particularly critical in chloroplasts, where photosynthesis generates reactive oxygen species (ROS) that render DNA highly susceptible to oxidative damage, potentially compromising vital cellular functions (2). Although repair mechanisms such as homologous recombination and base excision repair have been described in these organelles, many of their molecular components remain uncharacterized (1). In *Arabidopsis thaliana*, two homologous proteins to the bacterial MutS2 have been identified, named MutS2a and MutS2b. Both contain transit peptides that target them to the chloroplasts (4). In bacteria, MutS2 regulates homologous recombination and displays endonuclease activity, playing a key role in genomic stability (5). However, the functions of MutS2a and MutS2b in plants remain unknown, raising questions about their role in DNA damage response and the functional evolution of this protein family in photosynthetic eukaryotes. This project proposes an innovative approach based on the heterologous expression of MutS2a and MutS2b in *Escherichia coli* for their biochemical characterization. The aim is to determine whether these proteins function as homo- or heterodimers, to assess their protein–protein and protein–DNA interactions, and to investigate their potential enzymatic activities. This research seeks to lay the foundation for understanding their role in chloroplast DNA repair, contributing to the broader knowledge of genomic maintenance mechanisms in plants and offering potential tools to enhance stress tolerance through plant biotechnology.

Agradecimiento. Agradecemos al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y (CONAHCYT) por la beca de posgrado que permite el desarrollo de este trabajo.

Bibliografía.

1. Boesch, P., Ibrahim, N., Paulus, F., Cosset, A., Tarasenko, V., & Dietrich, A. (2009). Plant mitochondria possess a short-patch base excision DNA repair pathway. *Nucleic Acids Research*, 37(17), 5690–5700. <https://doi.org/10.1093/nar/gkp600>
2. Maréchal, A., & Brisson, N. (2010). Recombination and the maintenance of plant organelle genome stability. *New Phytologist*, 186(2), 299–317. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03195.x>
3. Rowan, B. A., Oldenburg, D. J., & Bendich, A. J. (2010). The demise of chloroplast DNA in leaves. *Journal of Cell Science*, 123(19), 3219–3228. <https://doi.org/10.1242/jcs.071340>
4. Wu, Z., Waneka, G., Broz, A. K., King, C. R., & Sloan, D. B. (2020). MSH1 is required for maintenance of the low mutation rates in plant mitochondrial and plastid genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(28), 16448–16455. <https://doi.org/10.1073/pnas.2001998117>
5. Xu, Y.-Z., de la Rosa Santamaria, R., Virdi, K. S., Arrieta-Montiel, M. P., Razvi, F., Li, S., Ren, G., Yu, B., Alexander, D., Guo, L., Feng, X., Dweikat, I. M., Clemente, T. E., & Mackenzie, S. A. (2012). The chloroplast triggers developmental reprogramming when MUTS HOMOLOG1 is suppressed in plants. *Plant Physiology*, 159(2), 710–720. <https://doi.org/10.1104/pp.112.196055>



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

ESTUDIO COMPARATIVO DE ISOFORMAS DE PIRUVATO CINASA EN VIBRIO CHOLERAEE: IMPLICACIONES ESTRUCTURALES Y FUNCIONALES

Gloria Hernández-Alcántara¹, Karla Mendoza-Leal¹, Alicia Vega-Segura¹, Nallely Cabrera², José de Jesús García-Trejo³, Lilian González-Segura³, Leticia Ramírez-Silva¹.

¹Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM. ²Departamento de Bioquímica, Instituto de Fisiología Celular, UNAM. Departamento de Bioquímica, Facultad de Química, UNAM. Ciudad Universitaria, C.P 04510, Coyoacán, CDMX. ghernandez@bq.unam.mx

Palabras clave: Desplazamiento térmico, oligómeros, gamma-proteobacterias

Resumen.

La piruvato cinasa (PK) es una enzima que cataliza el paso final de la glucólisis, conformada por tres dominios funcionales organizados en un homotetrámero activo. Aunque presenta cinética hiperbólica en estado estacionario, en bacterias su actividad está regulada alostéricamente. Un análisis filogenético de la familia de las PK mostró un árbol dicotómico que divide a la enzima en dos grupos: el grupo I, conformado por isoformas dependientes de catión monovalente, y el grupo II, compuesto por isoformas independientes (1). La bacteria *Vibrio cholerae* codifica para tres isoformas distintas de PK (VcPK), una del grupo I (VcIPK) y dos del grupo II (VcIIPK y VcIIIPK), lo que representa una característica única entre las gamma-proteobacterias. Estudios anteriores han demostrado que VcIPK y VcIIPK son activadas por efectores alostéricos como fructosa-1,6-BP y ribosa 5P, respectivamente (2 y 3), mientras que VcIIIPK no se activa por efectores alostéricos. Este estudio tiene como objetivo profundizar en la caracterización estructural y funcional de las tres isoformas de VcPK. Nuestros resultados muestran que, en geles nativos, VcIIPK presenta múltiples estados oligoméricos (dímero, tetrámero y formas de mayor masa molecular), en contraste con VcIIPK y VcIIIPK, que migran principalmente como tetrámeros. Estos experimentos se confirmaron por cromatografía de exclusión molecular. Para entender este comportamiento se incubaron las tres isoformas con el agente reductor ditiotreitól (DTT), observando un aumento de dos veces en la actividad de VcIIPK. Para demostrar la formación de puentes disulfuro en VcIIPK se cambiaron sus cinco residuos de cisteína por serina, los resultados mostraron que las mutantes Cys122Ser y Cys232Ser no se activan en presencia de DTT. Sin embargo, al correr las mutantes en geles nativos, se siguen observando distintos estados oligoméricos, lo que indica la participación de otros factores estructurales. Adicionalmente, se evaluó a la estabilidad estructural de la enzima silvestre VcIIPK mediante ensayos de Thermal Shift Assay (TSA) tras su incubación con distintos aditivos (glicerol al 40%, amonio y tetrametilamonio 130 mM) a 4 y -70°C. Estos aditivos incrementaron la temperatura de desnaturalización (T_m) en aproximadamente 8°C. Sin embargo, en presencia de DTT, se observaron dos transiciones térmicas, una de 47.9°C y la otra de 58°C, lo que se correlaciona con las dos poblaciones observadas en geles nativos. Finalmente, la actividad de la enzima se conservó sin cambios al almacenar a la enzima a -70°C, sugiriendo que esta condición favorece la preservación del estado funcional de VcIIPK.

Agradecimiento. PAPIIT-DGAPA-UNAM:IN205821 (GH-A).

Bibliografía.

1. Oria-Hernández, J., Riveros-Rosas, H., & Ramírez-Silva, L. (2006). Dichotomic phylogenetic tree of the pyruvate kinase family: K⁺ - dependent and -independent enzymes. *The Journal of biological chemistry*, 281(41), 30717–30724. <https://doi.org/10.1074/jbc.M605310200>
2. Guerrero-Mendiola C, García-Trejo JJ, Encalada R, Saavedra E, Ramírez-Silva L. (2017) The contribution of two isozymes to the pyruvate kinase activity of *Vibrio cholerae*: one K⁺-dependent constitutively active and another K⁺-independent with essential allosteric activation. *PLoS One* 12(7):e0178673.
3. Alba-Martínez, Z., Ramírez-Silva, L., Hernández-Alcántara, G. (2018) Exploring the differences between the three pyruvate kinase isozymes from *Vibrio cholerae* in a heterologous expression system. *BMC Research Notes*;11:527.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas 13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE LOS GENES ALKDS DEL PATÓGENO HUMANO ENTAMOEBA HISTOLYTICA

Estela Guadalupe García González, Braulio de Jesús Orduño de la Riva y Carlos Humberto Trasviña Arenas. Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional.
Centro de Estudios sobre el Envejecimiento. Ciudad de México, CP 14330,
carlos.trasvina@cinvestav.mx

Palabras clave: *Entamoeba histolytica*, BER, AlkD

Resumen.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la amibiasis es una infección intestinal causada por el parásito *Entamoeba histolytica*, un protozoo que habita normalmente en el intestino grueso. La infección por *E. histolytica* es prevalente especialmente en las áreas tropicales y subtropicales y es más frecuente en los países en desarrollo que en los industrializados. La OMS estima que la amibiasis afecta a aproximadamente el 10% de la población mundial y entre 40 y 100 mil personas mueren anualmente (1). La presencia de este parásito se ha convertido en un problema de salud pública al poseer diversos mecanismos de resistencia a drogas y vías de reparación del ADN que le permiten ser resistente a fármacos (2). Si bien, *Entamoeba histolytica* carece de enzimas glicosilasas características de eucariontes como MPG y TDG las cuales son importantes para la remoción de daños por alquilación al ADN y marcas epigenéticas por la vía de reparación del ADN por Escisión de Bases (BER) (3), posee tres parálogos bacterianos de AlkD que codifican para alquipurinas glicosilasas con similar especificidad reportada que MPG (4). Por lo tanto, nuestra hipótesis sugiere que las AlkD de *E. histolytica* podrían compensar la ausencia de algunas alquipurinas glicosilasas características de eucariontes con parálogos bacterianos de AlkD. En este trabajo nos interesamos por clonar y optimizar las condiciones de sobreexpresión de los productos enzimáticos recombinantes de AlkD-1, -2 y -3 con la finalidad de caracterizarlas bioquímicamente.

Agradecimiento.

Los autores agradecen al CONAHCYT ahora SECIHTI por el financiamiento del proyecto de Ciencia de Frontera CF-2023-G-1168 otorgado a C.H.T.A. que sustenta el presente estudio.

Bibliografía.

1. Organización Mundial de la Salud. "Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales". Tercera edición Volumen III Parasitosis Publicación Científica y Técnica No. 580 Organización Panamericana de la Salud. Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina Regional de la ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD 525 Twenty-third Street, NW Washington, DC 20037, EUA 2003. https://www.who.int/docs/default-source/ntds/echinococcosis/9275119936.pdf?sfvrsn=517c91a8_4
2. Fairlamb, A., Gow, N., Matthews, K. y Waters, A. (2016). Drug resistance in eukaryotic microorganisms. *Nature Microbiology*, 1(7), 1-15.
3. López-Camarillo, C., Lopez-Casamichana, M., Weber, C., Guillen, N., Esther Orozco, E., Marchat, L. A. (2009). DNA repair mechanisms in eukaryotes: Special focus in *Entamoeba histolytica* and related protozoan parasites. *Infection, Genetics and Evolution*, 9(6), 1051-1056.
4. Trasviña-Arenas, C. H., David, S. S., Delaye, L., Azuara-Liceaga, E. y Briebe, L. G. (2019). Evolution of Base Excision Repair in *Entamoeba histolytica* is shaped by gene loss, gene duplication and lateral gene transfer. *DNA Repair*, 76, 76-88.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

ESTRUCTURA CRISTALINA Y CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE LA ESTERASA TERMOESTABLE TA0887 DE *THERMOPLASMA ACIDOPHILUM*

Alejandro Delgado Rey¹, M. Leticia Santos Martínez¹, and Samuel Lara-González¹.

¹Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica A.C., División de Biología Molecular, San Luis Potosí, 78216

E-mail: samuel.lara@ipicyt.edu.mx.

Palabras clave: Transesterificación, Estructura cristalina, *Thermoplasma acidophilum*

Resumen.

Las esterasas microbianas son enzimas versátiles y estables con amplias aplicaciones biotecnológicas (1, 2). Sin embargo, pocas esterasas han sido caracterizadas de arqueas, una fuente importante de enzimas extremófilas (3). En este estudio, clonamos el gen *Ta0887* de la arquea termoacidófila *Thermoplasma acidophilum* en un vector pET28. La proteína se expresó y purificó exitosamente, lo cual permitió su caracterización bioquímica y la determinación de su estructura cristalina por difracción de rayos-X. Los ensayos de dispersión dinámica de luz revelaron que Ta0887 es un monómero en solución. Mientras que, los ensayos enzimáticos utilizando ésteres de *p*-nitrofenil (*p*-NP) mostraron que la enzima, anotada como lipasa, es una esterasa, mostrando la mayor actividad con *p*-NP butirato (C4). Ta0887 exhibió inhibición por sustrato a altas concentraciones de *p*-NP butirato, y los parámetros cinéticos se calcularon utilizando el modelo de Han-Levenspiel. La esterasa, mostró una actividad óptima a 65 °C y pH 8.0. Además, presentó una excelente termoestabilidad, reteniendo un 66% de actividad residual tras incubarse 2 h a 80 °C, en concordancia con un punto medio de desnaturalización térmica (T_m) de 80.6 °C. De manera destacada, Ta0887 también exhibió capacidad de transesterificación en hexano, utilizando *p*-NP butirato como sustrato y distintos alcoholes como nucleófilos, siendo isobutanol el que generó mayor actividad. La estructura cristalina de Ta0887, resuelta a 1.93 Å, reveló un dominio central α/β hidrolasa y un dominio tapa α -helicoidal único, con la tríada catalítica localizada en su interfase. Según nuestro conocimiento, esta es la primera esterasa caracterizada de *T. acidophilum*. Los hallazgos obtenidos en este estudio proporcionan una base para la futura ingeniería de Ta0887 con el objetivo de mejorar su potencial para aplicaciones industriales.

Agradecimientos. Al Laboratorio Nacional de Estructura de Macromoléculas del Instituto de Química (LANEM-IQ) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), a la Dra. Adela Rodríguez-Romero y a la M. en C. Georgina Espinosa Pérez, por el apoyo en la colecta, reducción y análisis de los datos de difracción de rayos-X. Este proyecto fue financiado por la SECIHTI, proyecto A1-S-26028.

Bibliografía.

1. Casas-Godoy L, Duquesne S, Bordes F, Sandoval G, Marty A (2012) *Methods Mol Biol.* 861:3-30.
2. De Luca V, Mandrich L. (2020) Lipases/esterases from extremophiles: main features and potential biotechnological applications. En: *Physiological and Biotechnological Aspects of Extremophiles*. Salwan R, Sharma V. Academic Press, Reino Unido, pp 169-181.
3. Meghwanshi GK, Verma S, Srivastava V, Kumar R. (2022) *Biotechnol Adv.* 61:108054.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

AlphaFold3 revela a DCD222, un nuevo dominio intrínsecamente desordenado que interactúa con una MAPK atípica en vertebradosEduardo Calvario¹, Lorenzo Segovia² y Mario Zurita¹Departamento de Genética del Desarrollo y Fisiología Molecular¹, Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis², Instituto de Biotecnología, UNAM. Cuernavaca, Morelos, 62210.

E-mail: eduardo.calvario@ibt.unam.mx

*Palabras clave: FAM222, NLK, ALPHAFOLD***Resumen.**

Las regiones intrínsecamente desordenadas (IDRs, por sus siglas en inglés) desempeñan múltiples funciones en la célula, entre ellas la mediación de interacciones proteína-proteína (1). Muchas IDRs han evolucionado como módulos de unión a quinasas, particularmente en las redes de quinasas activadas por mitógenos (MAPK) donde facilitan interacciones regulatorias esenciales para la especificidad de la señalización celular (2). No obstante, las presiones evolutivas que moldean a las IDRs y su papel funcional en la regulación de las MAPK siguen siendo poco comprendidas. En este trabajo, mediante análisis filogenético y modelado estructural, identificamos una IDR conservada de 72 a 77 aminoácidos a la que denominamos DCD222 (*Disordered Conserved Domain within FAM222*), presente en las proteínas humanas de función molecular desconocida FAM222A y FAM222B (3,4). A pesar de su naturaleza desordenada, la IDR estudiada muestra una inusual y alta conservación en su secuencia de aminoácidos desde ciclóstomos (vertebrados primitivos) hasta humanos, con una identidad del 62,5%. Mediante modelado estructural con AlphaFold3 identificamos una α -hélice de 11 a 13 aminoácidos, predicha con un alto grado de confianza y conservada en todos los ortólogos que contienen a DCD222. Con la misma herramienta, observamos que esta IDR interactúa, a través de la α -hélice, con la MAPK atípica *Nemo-like kinase* (NLK), la cual está involucrada en las vías de señalización WNT y NOTCH (5). Adicionalmente, identificamos dentro de DCD222 un motivo típico de unión a MAPK, llamado revD, el cual se inserta en el surco de acoplamiento (*docking groove*) del lóbulo C-terminal de NLK, mientras que una estructura tipo horquilla β y una pequeña hoja β de DCD222 se acoplan al lóbulo N-terminal de la MAPK. Este mecanismo de unión se conserva en todos los vertebrados, incluidos los más primitivos, y se estabiliza mediante al menos 20 interacciones de tipo puente de hidrógeno. Esta unión no obstruye el sitio catalítico de la quinasa, lo que sugiere que las proteínas de la familia FAM222 podrían actuar como moduladores estructurales de NLK y no como simples sustratos. En conclusión, nuestros resultados establecen a DCD222 como un nuevo dominio proteico funcional, presente únicamente en vertebrados, y proporcionan, por primera vez, evidencia sobre la posible función molecular de las proteínas FAM222A y FAM222B, algo que permanecía hasta ahora sin esclarecer.

Agradecimientos. Eduardo Calvario agradece al CONACYT por el apoyo otorgado mediante la beca de doctorado número 887616.

Bibliografía.

1. Holehouse A, Kragelund B. (2024). *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 25(3), 187-211
2. Orand T, Delaforge E, Lee A, Kragelj J, Tengo M, Tengo L, ... & Jensen M. (2025). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 122(9), e2419915122.
3. Gao J, Ding M, Xiyang Y, Qin S, Shukla D, Xu J, ... & Wang X. (2025). *The Journal of Immunology*, 214(2), 238-252.
4. Tzani A, Haemmig S, Cheng H, Pérez-Cremades D, Heuschkel M, Jamaiyar A, ... & Plutzky J. (2024). *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 44(1), 143-155.
5. Ishitani T, Ishitani S. (2013). *Cellular signalling*, 25(1), 190-197.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

EVOLUCIÓN DE LA TRIOSAFOSFATO ISOMERASA EN BACTERIAS

María Cristina Cardona Echavarría, María Isabel Velázquez López, Daniel Alejandro Fernández Velasco.

Facultad de Medicina Universidad Nacional Autónoma de México, CDMX, CP. 04510.

maria.cristina.cardonae@gmail.com.

Palabras clave: Triosafosfato Isomerasa, Evolución, Bacterias

Resumen.

La Triosafosfato Isomerasa (TIM) cataliza la isomerización reversible del gliceraldehído-3-fosfato y la dihidroxiacetona fosfato, una reacción central en la glucólisis, la gluconeogénesis y el Ciclo de Calvin [1,2]. En las especies eucariontes y bacterianas estudiadas a la fecha, la TIM se caracteriza por su alta eficiencia catalítica, limitada sólo por difusión y por ser un homodímero obligado; los monómeros muestran una constante de asociación muy elevada, son inactivos y poco estables en ausencia de las interacciones de la interfaz, que los estabilizan estructuralmente [1,3]. La reconstrucción de varias secuencias de la TIM del último ancestro común de los opistocontes (LOCATIMs 1.1×10^9 años de antigüedad), el clado eucarionte donde la TIM ha sido más estudiada, muestra que la estructura del barril, la orientación relativa de los monómeros en el dímero, el acomodo de los residuos catalíticos en el sitio activo y la alta eficiencia catalítica son semejantes a los encontrados en las TIMs actuales [1,3], sin embargo, en las LOCATIMs la constante de asociación es menor y la estabilidad de los monómeros es significativamente mayor. Aunque se han estudiado ampliamente las TIMs en muchos organismos eucariontes, no se existe mucha información de las TIMs del dominio bacteria, el cual, dada su amplia diversidad metabólica, gran número de representantes y antigüedad, representa un grupo de gran interés para comprender la evolución de esta enzima [4]. En este trabajo se estudiará la evolución de esta enzima en el dominio Bacteria mediante la construcción del árbol filogenético de las TIMs bacterianas, incluyendo representantes de los phyla reportados en diferentes filogenias. Con esta información se generaran reconstrucciones del último ancestro común de las bacterias ($\sim 3 \times 10^9$ años de antigüedad) y de otros nodos de interés evolutivo. Adicionalmente se seleccionarán TIMs bacterianas actuales correspondientes a especies relevantes por su diversidad metabólica. Las TIMs actuales y ancestrales seleccionadas serán expresadas, purificadas y caracterizadas cinética, termodinámica y estructuralmente, con el objetivo de determinar cómo han evolucionado las TIMs de este clado en términos de la eficiencia catalítica y estabilidad conformacional. Debido a la importancia de algunas especies bacterianas como agentes patógenos en los humanos, esta información, además de ser clave para comprender la historia de la TIM permitirá determinar en qué organismos esta enzima podría ser blanco para el desarrollo de fármacos [5].

Agradecimiento. Fuentes de financiamiento. Proyecto PAPIIT IN225525 . Programa de Estancias Posdoctorales por México, Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI). Facultad de Medicina UNAM.

Bibliografía.

1. Schulte-Sasse M, Pardo-Ávila F, Pulido-Mayoral NO, Vázquez-Lobo A, Costas M, García-Hernández E, Rodríguez-Romero A, Fernández-Velasco DA. (2019). FEBS J. 286(5),882-900.
2. Wierenga RK, Kapetanious EG, Venkatesan R. Triosephosphate isomerase: a highly evolved biocatalyst. Cell Mol Life Sci. 2010 Dec;67(23):3961-82.
3. Pérez-Niño JA, Guerra Y, Díaz-Salazar AJ, Costas M, Rodríguez-Romero A, Fernández-Velasco DA. (2024). Protein Sci. Sep;33(9),1-20.
4. Romero-Romero S, Costas M, Rodríguez-Romero A, Fernández-Velasco DA. (2015). Chem Phys. Apr 21;18(15), 20699- 20714.
5. Gómez-Puyou A, Saavedra-Lira E, Becker I, Zubillaga RA, Rojo-Domínguez A, Pérez-Montfort (1995). R. Chem Biol. Dec. 2(12):847-55.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

***In silico* EVALUATION OF *Justicia spicigera* METABOLITES AGAINST GLUCOSE-MODULATORS**

Kenia-Pantoja¹, José-Garzón¹, Liliana-León¹, Israel-Benítez², Edith-Cuevas¹ and Sarita-Montaño¹.
Laboratorio de Bioinformática y Simulación Molecular, Facultad de Ciencias Químico-biológicas de
la Universidad Autónoma de Sinaloa en Culiacán, Sinaloa (cp: 80013). mmontano@uas.edu.mx

Palabras clave: Justicia spicigera, molecular docking, metabolites.

Resumen.

Introduction: *Justicia spicigera*, commonly known as muicle, is a shrub widely used in traditional Mexican medicine (1). Diverse ethnobotanical reports highlight its therapeutic properties for treating conditions such as anemia, respiratory infections, immune system disorders, and chronic diseases such as diabetes (1, 2); The proteins involved in its mechanisms of action at the molecular level have not yet been identified (3, 4), however, some metabolites are known that could be involved in lowering glycemic indices (1, 4), including allantoin, kaempferitrin, and kaempferol (5). Objective: To evaluate metabolites of *J. spicigera* and glucose modulators through molecular docking to identify their interaction as a therapeutic basis against diabetes. Methodology: The 3D structure of the metabolites found in the literature on *J. spicigera* were used as ligands and were obtained from PubChem. Likewise, the 3D structures of glucose modulators (α -amylase, α -glucosidase, and DPP-4) were obtained from the Protein Data Bank (PDB). AutoDock version 4.2.6 was used to develop the molecular docking. PDBsum was necessary to determine the bonds between molecules. Results: This study allowed the analysis of metabolites present in *J. spicigera* and provided scientific evidence of its pharmacological potential. The results contributed to understanding the molecular basis of its traditional use and established a foundation for future research into the development of therapies with *Justicia spicigera*.

Bibliografía.

1. Pérez-Vásquez, A., Díaz-Rojas, M., Castillejos-Ramírez, E. v., Pérez-Esquivel, A., Montaño-Cruz, Y., Rivero-Cruz, I., Torres-Colín, R., González-Andrade, M., Rodríguez-Sotres, R., Gutiérrez-González, J. A., Madariaga-Mazón, A., & Mata, R. (2022). Protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory activity of compounds from *Justicia spicigera* (Acanthaceae). *Phytochemistry*, 203, 1-5.
2. García García, M. (2019). EVALUACIÓN DEL EXTRACTO JSE1 EN LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER DE MAMA MCF-7 Y MDA-MB-231. Instituto Tecnológico Superior de Atlixco, 10-15.
3. Castro-Muñoz, R., León-Becerril, E., & García-Depraect, O. (2022). Beyond the Exploration of Muicle (*Justicia spicigera*): Reviewing Its Biological Properties, Bioactive Molecules and Materials Chemistry. In *Processes* (Vol. 10, Issue 5). MDPI, 1-5.
4. de La Cruz-Jiménez, L., Hernández-Torres, M. A., Monroy-García, I. N., Rivas-Morales, C., Verde-Star, M. J., Gonzalez-Villasana, V., & Viveros-Valdez, E. (2022). Biological Activities of Seven Medicinal Plants Used in Chiapas, Mexico. *Plants*, 11(14), 1-3.
5. Baqueiro-Peña, I., & Guerrero-Beltrán, J. (2017). Physicochemical and antioxidant characterization of *Justicia spicigera*. *Food Chemistry*, 218, 305–312.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

STRUCTURAL ANALYSIS OF THE INTERACTION BETWEEN HPV16 L2 PROTEIN AND THE ENDOSOMAL COMPLEX CD63-SYNTENIN-1-ALIX.

Daphne-García¹, Lilian-Araujo², Claudia-León¹, and Sarita-Montaña¹. Laboratorio de Bioinformática y Simulación Molecular, Facultad de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, C.P. 80013. Laboratorio de biomedicina molecular, Facultad de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero, Chilpancingo de los Bravo, C.P.39070. mmontano@uas.edu.mx

Palabras clave: HPV16 L2, CD63-Sinténina-1-ALIX, Structural analysis.

Resumen.

Introduction: Human papillomavirus type 16 (HPV-16) is the primary etiological agent of cervical cancer and a leading cause of cancer-related mortality among women worldwide (1,2). Within the viral structure, the L2 protein plays a critical role in host cell entry and in the transport of the viral genome to the nucleus (3). Recent studies have implicated the endosomal complex CD63–Syntenin-1–ALIX in regulating the intracellular trafficking of HPV-16, promoting viral internalization, capsid disassembly, and dissemination via extracellular vesicles (4,5). Following entry, this complex guides the viral particles to multivesicular endosomes (MVEs), where capsid disassembly occurs. This process helps the release of the L2/DNA complex and its later transport to the Golgi apparatus—an essential step for proving infection (5). Despite these advances, the molecular mechanisms underlying the interaction between the L2 protein and the CD63–Syntenin-1–ALIX complex remain poorly understood. Objective: To evaluate the molecular interaction between the HPV-16 L2 protein and the endosomal vesicular trafficking complex CD63–Syntenin-1–ALIX, with the aim of finding relevant binding sites that shed light on the mechanisms of viral particle internalization. Methodology: The L2 protein was subjected to three-dimensional modeling and refinement, followed by refinement of the CD63–Syntenin-1–ALIX complex. Molecular docking was then performed between L2 and the refined complex, followed by a third refinement step to improve the conformation of the assembled system. Finally, we evaluated structural stability, conformational changes, and potential interaction surfaces involved in molecular recognition. Results: Our findings suggest that the interaction between HPV-16 L2 and the CD63–Syntenin-1–ALIX complex occurs at the extracellular domain of CD63 and a region near the N-terminal end of L2. This structural analysis offers detailed insight into how HPV-16 internalization may involve endosome-mediated mechanisms, potentially contributing to cancer progression.

Bibliografía.

1. Juckett, G., & Hartman-Adams, H. (2010). Human papillomavirus: clinical manifestations and prevention. *American Academy of Family Physicians*, 82 (10), 1209–1213.
2. Suzich, J. A., Ghim, S. J., Palmer-Hill, F. J., White, W. I., Tamura, J. K., Bell, J. A., Newsome, J. A., Jenson, A. B., & Schlegel, R. (1995). Systemic immunization with papillomavirus L1 protein completely prevents the development of viral mucosal papillomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(25), 11553–11557.
3. Li, X., Corbett, A. L., Taatizadeh, E., Tasnim, N., Little, J. P., Garnis, C., Daugaard, M., Guns, E., Hoorfar, M., & Li, I. T. S. (2019). Challenges and opportunities in exosome research—Perspectives from biology, engineering, and cancer therapy. *APL Bioengineering*, 3(1), 011503.
4. Kines, R. C., Thompson, C. D., Lowy, D. R., Schiller, J. T., & Day, P. M. (2009). The initial steps leading to papillomavirus infection occur on the basement membrane prior to cell surface binding. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(48).
5. Gräßel, L., Fast, L. A., Scheffer, K. D., Boukhallouk, F., Spoden, G. A., Tenzer, S., Boller, K., Bago, R., Rajesh, S., Overduin, M., Berditchevski, F., & Florin, L. (2016). The CD63-Syntenin-1 Complex Controls Post-Endocytic Trafficking of Oncogenic Human Papillomaviruses. *Scientific Reports*, 6.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

IN SILICO STUDY OF APTAMERS-PROTEIN INTERACTIONS, FOR PREPARATION OF AVIAN VACCINES ADJUVANTS

Juan Manuel Aceves Hernández^{1*}, Alin Aurora Miramontes Salinas¹ and Young Min Kwon²

¹Chemistry Department, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, CD. De MEXICO, CP 15740, México; juanmanuel.is.acevesh@gmail.com

²Department of Poultry Science, University of Arkansas System Division of Agriculture, Fayetteville, AR 72701, USA.

Palabras clave: Aptameros, Avian Vaccines, Docking

Resumen.

We present aptamers-proteins docking study for 8 DNA aptamers against chicken Cluster of Differentiation 40 (CD40), experimentally identified by SELEX in our previous study. In silico study and molecular modeling were used to obtain the secondary and tertiary structures of the sequences. Among them, SEQ3 and SEQ4, were further selected and utilized to produce a vaccine adjuvant using rolling circle amplification, (RCA). Aptamers were characterized previously by MS spectroscopy, to determine the molecular weight and the potential interacting regions; in the present study these results were corroborated. Free software methods: Mfold, 3dADN, Hdock, and PLIP, were used to determine: secondary and 3D structures, the specific residues and distances of the interactions. The secondary and tertiary structures were obtained, to explain and thus understand their effect in the binding, selectivity and stability of the aptamers. The main objective of the study is to use these aptamers as potential vaccine adjuvants against viruses, specifically the chicken avian influenza. Docking results are in good agreement with the experimental and biological results. The procedure employed could be an easy and good way to explore the potential use of the new technology of SELEX in the preparation of aptamers as potential tool to control viruses and other diseases such as cancer and Alzheimer.

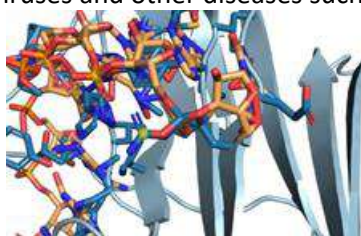


Figure 1. Complex SEQ4chCD40CD40L. Residues interacting at 1.0 Angstroms, with SEQ4, Lys29, Arg40, Arg75 and Arg139, From CD40L Aptamer in sticks, P atoms in red, N in blue, C in grey. Protein in blue pale.

Agradecimiento. The authors acknowledge to DGTIC for using the supercomputer MIZTLI under the Project LANTAD 185, and MC. Moises Hernandez for technical assistance.

Bibliografía. .

1. Kinghorn, A.B.; Fraser, L.A.; Liang, S.; Shiu, S.C.; Tanner, J.A. *Aptamer Bioinform. Int. J. Mol. Sci.* 2017, 18, 2516-27.
2. M. Zuker, Mfold web server for nucleic acid folding and hybridization prediction. (2003). *Nucleic Acids Res.* 31 (13), 3406-15,
3. Yan, Y.; Tao, H.; He, J.; Huang, S.-Y. The HDock server for integrated protein-protein docking. *Nat. Protoc.* 2020, 15, 1829–1852.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

CARACTERIZACIÓN DE PROTEÍNAS FIBRILARES DE DISEÑO SOBRE SUPERFICIE TIPO MICA

Sergio Román De La Torre González, Armando Hernández García, Laboratorio de Bioingeniería molecular y bionanotecnología, Departamento de Biomacromoléculas, Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, 04510, sergio_roman0810@hotmail.com

Palabras clave: proteínas fibrilares, microscopía de fuerza atómica, nanofibras.

Resumen.

Las proteínas fibrilares están presentes en muchos lugares de la naturaleza y cumplen funciones importantes. La serie de proteínas de diseño $C_4-S_n-B^{K12}$ estudiadas en el Laboratorio de Ingeniería Biomolecular y Bionanotecnología (1,) contienen una sección de aminoácidos hidrofóbicos altamente repetidos inspirada en la seda que se ha demostrado que confiere capacidad de autoensamble. Estas proteínas también tienen capacidad de unirse a ácidos nucleicos por interacciones electrostáticas.(2) En este trabajo se caracterizó mediante microscopía de fuerza atómica(3,4) la formación de fibras de proteínas $C_4-S_n-B^{K12}$ sobre una superficie de moscovita y se determinó el efecto de pH y fuerza iónica en el autoensamblaje.

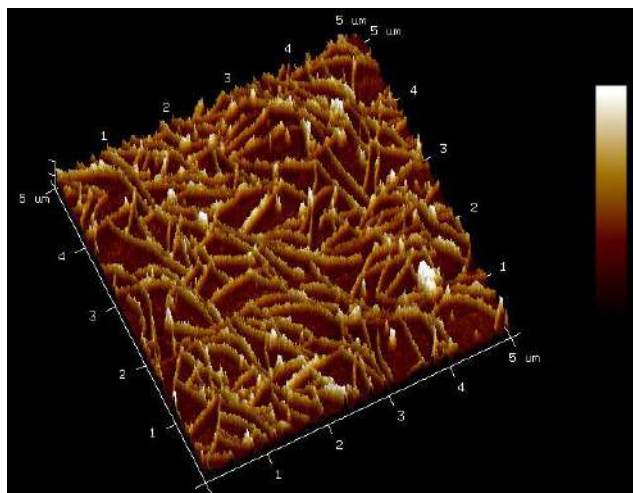


Figura 1: Micrografía de AFM de nanofibras de proteína $C_4-S_{10}-B^{K12}$ 10 mM sobre mica.

Agradecimiento. Proyecto PAPIIT 110925.

Bibliografía.

1. Hernandez-Garcia, A.; Kraft, D. J.; Janssen, A. F. J.; Bomans, P. H. H.; Sommerdijk, N. a. J. M.; Thies-Weesie, D. M. E.; Favretto, M. E.; Brock, R.; De Wolf, F. A.; Werten, M. W. T.; Van Der Schoot, P.; Stuart, M. C.; De Vries, R. Design and self-assembly of simple coat proteins for artificial viruses. *Nature Nanotechnology* 2014, 9 (9), 698–702. <https://doi.org/10.1038/nnano.2014.169>.
2. Vargas, E. C.; Stuart, M. a. C.; De Vries, R.; Hernandez-Garcia, A. Template-Free Self-Assembly of Artificial De Novo Viral Coat Proteins into Nanorods: Effects of Sequence, Concentration, and Temperature. *Chemistry - a European Journal* 2019, 25 (47), 11058–11065.
3. Liao, H.-S.; Lin, J.; Liu, Y.; Huang, P.; Jin, A.; Chen, X. Self-assembly mechanisms of nanofibers from peptide amphiphiles in solution and on substrate surfaces. *Nanoscale* 2016, 8 (31), 14814–14820. <https://doi.org/10.1039/c6nr04672j>.
4. Yang, H.; Fung, S.-Y.; Pritzker, M.; Chen, P. Surface-Assisted assembly of an Ionic-Complementary peptide: controllable growth of nanofibers. *Journal of the American Chemical Society* 2007, 129 (40), 12200–12210. <https://doi.org/10.1021/ja073168u>.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas 13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

DLS FRENTE A MUESTRAS POLIDISPERSAS: LÍMITES DE DETECCIÓN Y EFECTO DEL TAMAÑO MOLECULAR.

Laura Pérez Rodríguez, Carlos Amero, Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM), Instituto de Investigación en Ciencias Básicas y Aplicadas (IICBA), Centro de Investigaciones Químicas (CIQ), Cuernavaca, 62209, laura.perez@uaem.edu.mx

Palabras clave: proteínas, DLS, coeficiente de difusión.

Resumen.

La dispersión dinámica de luz (DLS) es una técnica comúnmente empleada para estimar el tamaño hidrodinámico de macromoléculas en solución. No obstante, su precisión se ve comprometida en muestras polidispersas, donde partículas grandes pueden enmascarar la señal de las más pequeñas. La ecuación de Stokes-Einstein combina el coeficiente de difusión de una partícula con su radio hidrodinámico para calcular su tamaño (1). Debido al movimiento de las moléculas y la interferencia de la luz dispersada, la intensidad de la señal no es constante, sino que fluctúa. Este patrón de intensidad se analiza mediante una función de correlación, que describe el tiempo que una partícula permanece en la misma posición dentro de la solución (2). A medida que la partícula se mueve, la función decrece exponencialmente hasta llegar a una línea base, lo que indica que la molécula ya no se encuentra cerca de su posición original. Dado que las moléculas pequeñas se mueven más rápido que las grandes, sus funciones de correlación se comportan de forma distinta, presentando una caída más rápida para las partículas pequeñas y una caída más lenta para las grandes (3). En este trabajo, se plantea la determinación experimental de los límites de detección del DLS mediante la medición de proteínas con diferentes pesos moleculares, tanto individualmente como en mezclas. Las proteínas utilizadas abarcan un rango de 6 a 670 kDa. Además, las muestras se sometieron a calentamiento progresivo con el fin de inducir posibles procesos de agregación y se analizó su estabilidad térmica mediante espectroscopía de fluorescencia. Las mediciones por DLS se realizaron antes y después del calentamiento, con el objetivo de observar cambios conformacionales y su impacto en la señal obtenida. Este trabajo representa un primer paso en la caracterización experimental de los límites de detección del DLS en sistemas polidispersos. Los resultados obtenidos hasta ahora permiten explorar el potencial de la técnica para detectar agregación y distinguir proteínas de diferentes tamaños presentes en distintas proporciones. Aunque no permiten establecer aún los límites absolutos, los datos preliminares demuestran que el enfoque planteado es funcional. Estos avances podrían ser de gran utilidad para optimizar el análisis de muestras biológicas donde coexisten agregados, monómeros u oligómeros y para mejorar la interpretación de datos en estudios de estabilidad de proteínas.

Agradecimiento. A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por la beca otorgada con CVU 2054569.

Bibliografía.

1. Arenas-Guerrero P, Delgado ÁV, Donovan KJ, Scott K, Bellini T, Mantegazza F, Jiménez ML. (2018) *Sci Rep*. Vol (8) :1-3.
2. Stetefeld, J., McKenna, S. A. & Patel, T. R. (2016) *Biophys. Rev*. Vol (8) : 409–427.
3. Babick, F. (2020) Dynamic light scattering (DLS). En: *Characterization of Nanoparticles: Measurement Processes for Nanoparticles*. Unger, W. Elsevier, Estados Unidos, 137–172.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

Diseño de mini proteínas para neutralizar toxinas de alacrán

Juan Antonio González-Albiter, Gerardo Corzo-Burguete y José Arcadio Farias-Rico

Centro de Ciencias Genómicas (UNAM), Departamento de Biología Sintética y de Sistemas,
Morelos, C.P. 62210, jagalbiter@ccg.unam.mx

Palabras clave: inteligencia artificial, diseño de proteínas, biomedicina.

Resumen.

La capacidad de diseñar proteínas que se unan con alta precisión a blancos moleculares específicos está revolucionando la biomedicina. En este contexto, nuestro proyecto establece un pipeline computacional de vanguardia para la creación racional de proteínas de unión. Utilizando la potencia de la inteligencia artificial (RFdiffusion, ProteinMPNN), diseñamos desde cero nuevas proteínas optimizadas para maximizar su estabilidad y especificidad. La rigurosa evaluación de estos diseños se realiza con herramientas predictivas de última generación como AlphaFold. Aplicamos este enfoque a un desafío biomédico de gran relevancia: la neutralización de la potente neurotoxina Cn2 del alacrán *Centruroides noxius*. Este trabajo sienta las bases para el desarrollo acelerado de antivenenos terapéuticos de nueva generación, acortando la brecha entre el diseño computacional y la aplicación clínica.

Bibliografía

1. Watson J.L., Juergens D., Bennett N.R., Trippe B.L., Yim J., Eisenach H.E., et al. (2023) *Nature*. 620(7974):687–695.
2. Ko J., Humble C., Kim D., Pan X., Chen Y., Lin Z., et al. (2024) *bioRxiv*. doi:10.1101/2024.04.12.588803.
3. Jumper J., Evans R., Pritzel A., Green T., Figurnov M., Ronneberger O., et al. (2021) *Nature*. 596(7873):583–589.
4. Posani V., Zorrilla S., Possani L.D., Becerril B. (2009) *Toxicon*. 54(5):620–628.
5. Kuhlen L., Abrusci P., Johnson S., Gault J., Deme J., Caesar J., et al. (2018) *Nature*. 561(7722):555–559.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

IMPORTANCIA DE LAS MUTACIONES EN LA CINETICA DE FORMACION DE LA CAPSIDE VIRAL EN EL VIRUS COWPEA CHLOROTIC MOTTLE

Jean Axel Castañeda Gutierrez, Carlos Amero Tello. Universidad Autónoma del estado de Morelos.
Instituto de Investigación en Ciencias Básicas y Aplicadas. Centro de Investigaciones Químicas,
Cuernavaca, Morelos México CP. 62209. jean.castaneda@uaem.edu.mx.

Palabras clave: Virus, Capside, Mutaciones.

Resumen.

Un virus, está compuesto por dos elementos principales. Por un lado, contiene el material genético, que puede ser ADN o ARN, ya sea de cadena sencilla o doble, y que incluye los genes necesarios para su replicación e infección. Por otro lado, cuenta con una cápside, que es una estructura proteica compleja diseñada para proteger y transportar este material genético. (1) La cápside se forma mediante el ensamblaje de numerosas copias idénticas de una o varias proteínas específicas, conocidas como proteínas de la cápside (CP). Las interacciones entre proteínas son esenciales para construir una cápside funcional, estable y resistente (2). Además de los elementos estructurales básicos, el proceso de ensamblaje de las cápsides virales ha sido objeto de numerosos estudios, revelando que las cápsides no son estructuras estáticas sino dinámicas, similares a nanomáquinas activas (3). Una de las cápsides más estudiada son las partículas del Cowpea Chlorotic Mottle Virus (CCMV) que se utilizan como plataformas (o "andamios") para la construcción de nanoestructuras. Debido a su tamaño uniforme y capacidad para ser modificadas químicamente, las partículas del CCMV son útiles en la creación de nanopartículas para diversas aplicaciones, incluyendo la entrega de medicamentos y la fabricación de materiales avanzados (4). El Cowpea Chlorotic Mottle Virus (CCMV) es un virus vegetal que pertenece a la familia Bromoviridae y afecta principalmente a plantas de leguminosas, como el caupí (*Vigna unguiculata*), de donde proviene su nombre. Este virus es un patógeno que se transmite de manera mecánica, a menudo a través de insectos vectores o por contacto directo con plantas infectadas. Una vez en la planta, el CCMV infecta las células y utiliza la maquinaria celular para replicar su genoma y producir nuevas partículas virales (5).

Este virus ha sido ampliamente estudiado debido a su capacidad para ensamblarse de manera eficiente en condiciones controladas. Tiene un peso molecular aproximado de 4600 kDa y su cápside está formada por 180 subunidades estructurales organizadas en un patrón de hexámeros y pentámeros, clasificados dentro de una red superficial de clase T=3 (6). Su material genético, compuesto por ARN, desempeña un papel crucial no solo en la infectividad del virus, sino también en su ensamblaje estructural. En el 2019 el grupo del Dr. Carrillo-Tripp, por medio de métodos computacionales predijo residuos que serían importantes en la estabilidad de la cápside (1).

En el presente trabajo se analizó la proteína del capsómero, mediante diferentes técnicas espectroscópicas como DLS, ITC y fluorescencia, y también se cambiaron las condiciones en las que se encontraba condiciones salinas y de pH.

Agradecimiento. Al Dr. Carlos Daniel Amero Tello por permitirme realizar esta tesis en su laboratorio.

Bibliografía.

1. Valdez-Lara G, Andrade-Medina M, Alemán-Vilis A, Pérez-Montoya A, Pineda-Aguilar N, Martínez-Guerra E, Roldán-Salgado A, Gaytán P, Carrillo-Tripp M. (s.f.) bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/724146>
2. Sun X, Li D, Wang Z, Yin P, Hu R, Li H, Liu Q, Gao Y, Ren B, Zheng J, Wei Y, Liu T. (2018) ACS Omega. 3(4): 4384–4391
3. Bruinsma RF, Wuite GJL, Roos WH. (2021) Nat Rev Phys. 3(2): 76–91.
4. Vervoort DFM, Heiringhoff R, Timmermans SBPE, Van Stevendaal MHME, Van Hest JCM. (2021) Bioconjug Chem. 32(5): 958–963.
5. Bancroft JB. (1970) Adv Virus Res. 16(C): 99–134.
6. Comellas-Aragonès M, Sikkema FD, Delaitre G, Terry AE, King SM, Visser D, Heenan RK, Nolte RJM, Cornelissen JJLM, Feiters MC. (2011) Soft Matter. 7(24): 11380–11391.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

CARACTERIZACIÓN DE LA INTERACCIÓN ENTRE DERIVADOS DE ÁCIDOS CARBAMOÍL CARBOXÍlicos Y ARGININA CINASA DE *RHIPICEPHALUS sanguineus*

José Félix Rojas-Cabeza¹, Elena N. Moreno-Córdova¹, Karina D. García-Orozco¹, Adriana T. Muhlia-Almazán¹, J. Fernando Ayala-Zavala², Alonso A. López-Zavala³, Andrés Álvarez-Armenta⁴, Adrián Ochoa-Terán⁵, Rogerio R. Sotelo-Mundo^{1*}.

¹ CIAD (CTAOA), Hermosillo 88304; ² CIAD (CTAOV), Hermosillo 88304; ³ UNISON (DCQB) Hermosillo 83000; ⁴ UNISON (DIPA), Hermosillo 83000; ⁵ TNM (CGIQ), Tijuana 22414

Palabras clave: *Rhipicephalus sanguineus*, Arginina Cinasa, Dinámica Molecular

Resumen. El control de ixódidos es un problema global de salud pública y pecuaria, especialmente en la ganadería bovina. El método principal para su eliminación es el uso de acaricidas; sin embargo, su aplicación prolongada ha favorecido el desarrollo de resistencia, reduciendo la eficacia de estos. La identificación de nuevas dianas moleculares podría ofrecer nuevas estrategias. Se analizó la Arginina Cinasa de *Rhipicephalus sanguineus* (RsAK), una enzima esencial en el metabolismo energético de *R. sanguineus*, como posible blanco para control. Se evaluó la viabilidad de 4 derivados de ácido carbamoil-carboxílico (ACB, Fig. 1) que contienen grupos piridina, amina y carboxilo, como inhibidores competitivos de RsAK mediante dinámicas moleculares y titulaciones de fluorescencia, para identificar la interacción molecular entre ACBs y RsAK.

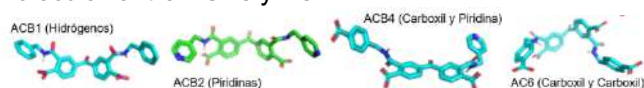


Figura 1.- Estructura de los derivados de ACB.

Nótese que ACB1 tiene sólo hidrógenos (bencilos, Fig. 1) en los extremos, ACB2 tiene piridinas en los extremos, ACB4 tiene un carboxilo y una piridina en cada extremo, y ACB6 tiene carboxilo en ambos extremos. El resto de las estructuras son iguales.

Se realizaron acoplamiento molecular con AutoDock Vina 1.2 y simulaciones de dinámica

molecular con GROMACS 2024.1. Los análisis revelaron que los ACB con grupos carboxilo (ACB4 y ACB6) interactúan fuertemente con residuos conservados del bolsillo catalítico de RsAK. Asimismo, el estudio de fluorescencia confirmó la interacción de ACB6, ACB4 y ACB1 con RsAK por opacamiento.

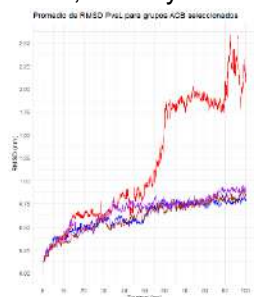


Figura 2.- Representación del promedio de Desviación Cuadrática Media (RMSD PvsL) de 4 simulaciones de dinámica molecular vs tiempo.

Cuando se observó el cambio de los complejos a lo largo del tiempo (Fig. 2), notamos que RsAK-AC1 fue el complejo más estable a lo largo del tiempo (azul), quedando en un cercano segundo lugar RsAK-AC1 (negro), seguido muy de cerca por RsAK-AC6 (azul). Los complejos de RsAK-AC4 (púrpura) y RsAK-AC6 (marrón) mostraron más puentes de hidrógeno que RsAK-AC1 (azul) y RsAK-AC2 (rojo).

Estos resultados sugieren que ACB6, ACB4 y ACB1 podrían constituir una estrategia complementaria en el control de garrapatas, contribuyendo a la mitigación de enfermedades transmitidas por garrapatas.

Agradecimiento. Los autores agradecen a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación, y Consejo Nacional de Ciencia, Humanidades y Tecnología (CONAHCYT) por la beca Ciencia de Frontera CF-2019-610264 y la beca para estudiantes de doctorado y posdoctorados.

Bibliografía

- Abraham M, Alekseenko A, Basov V, Bergh C, Briand E, Brown A, et al., GROMACS 2024.3 Manual. Zenodo; 2024. <https://doi.org/10.5281/zenodo.13457083>
- Álvarez-Hernández G, Paddock CD, Walker DH, Valenzuela JG, Calleja-López JRT, Rivera-Rosas CN, et al. (2024). Rocky Mountain spotted fever is a neglected tropical disease in Latin America. PLoS Negl Trop Dis 18(7): e0012276. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0012276>
- Gomez-Yanes AC, Moreno-Cordova EN, Garcia-Orozco KD, Laino A, Islas-Osuna MA, Lopez-Zavala AA, et al. (2022). The Arginine Kinase from the Tick *Rhipicephalus sanguineus* Is an Efficient Biocatalyst. Catalysts. Oct 6;12(10):1178. <https://doi.org/10.3390/catal12101178>
- Jo S, Kim T, Iyer VG, & Im W (2008). CHARMM-GUI: A Web-based Graphical User Interface for CHARMM. J. Comput. Chem. 29:1859-1865 <https://doi.org/10.1002/jcc.20945>
- Wickham H (2016). ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer-Verlag New York. ISBN 978-3-319-24277

Rogerio R. Sotelo-Mundo

CIAD (Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Animal), Hermosillo 83000

* autor de correspondencia: rrs@ciad.mx



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

REDISEÑO DE LA SHIKIMATO DESHIDROGENASA HACIA EL INTERCAMBIO DE ESPECIFICIDAD POR EL COFACTOR MEDIANTE EL USO DE INTELIGENCIA ARTIFICIAL

Raúl Iván Pérez Bermúdez, Lorenzo Segovia Forcella; Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México; Cuernavaca, Morelos, 62210; raul.perez@ibt.unam.mx

Palabras clave: shikimato, rediseño, inteligencia artificial

Resumen.

El shikimato tiene un interés biotecnológico por ser usado como precursor para la producción de antimicrobiales, herbicidas y antivirales. En *Escherichia coli*, su producción está catalizada por la enzima shikimato deshidrogenasa (SDH), la cual cataliza la reacción reversible de 3-dehidroshikimato a shikimato, mediante la oxidación de un NADPH como cofactor. La producción anaeróbica de shikimato en *E. coli* provoca un desbalance energético: mientras la ruta biosintética genera un exceso de NADH, la SDH requiere NADPH para reducir 3-dehidroshikimato a shikimato (siendo esta la cuarta reacción en la síntesis de aminoácidos aromáticos). Este desfase redox limita el rendimiento industrial, pues el cofactor más abundante (NADH) queda subutilizado y el escaso NADPH se convierte en factor restrictivo. Para corregirlo, hemos rediseñado la shikimato deshidrogenasa de modo que prefiera NADH en lugar de NADPH, con el fin de equilibrar la disponibilidad de cofactores y optimizar la síntesis de shikimato^[1]. Anteriormente en el laboratorio, se obtuvo una variante de la SDH de *E. coli* (FerSDH: S131A, L135A, N149D, V152F) que disminuye más de mil veces su afinidad por NADP, pero aumenta sólo un orden de magnitud con NAD^[1]. En vista de que la actividad con NAD no se vio mejorada en gran medida, queremos rediseñar esta variante, en conjunto con la enzima silvestre, para intercambiar y mejorar la especificidad por NAD en estas dos enzimas, utilizando la herramienta basada en inteligencia artificial LigandMPNN, la cual es capaz de modelar estructuras no proteicas e interacciones proteína-ligando^[2]. Las secuencias obtenidas fueron modificadas en dos grupos de residuos: aquellos localizados a menos de 10Å del grupo fosfato de NADP, y aquellos a menos de 5Å del cofactor completo. Posteriormente, éstas fueron sometidas a distintas estrategias de filtración para su selección: se agruparon por CD-Hit, se filtraron por probabilidad de especificidad del dominio Rossmann (Rossmann Toolbox), y se evaluaron sus métricas de confianza dadas por AlphaFold 3 y Chai-1. Una vez seleccionadas, se sintetizaron comercialmente y se comprobó su expresión y actividad mediante complementación de una cepa auxótrofa para SDH, en medio mínimo M9. De estas, solamente una variante (IP6) fue activa, y pudimos determinar sus parámetros cinéticos. Determinamos que la IP6 es un poco más afín hacia NAD, sin embargo, no es más rápida ni eficiente que la variante FerSDH. En vista de lo anterior, se propusieron tres nuevas estrategias para mejorar la especificidad por NAD. La primera fue obtener nuevas secuencias de LigandMPNN, a partir de 100 semillas diferentes y aleatorias, siendo estas filtradas por una alta confianza de ligando (>0.4); la segunda fue usar como referencia una enzima paróloga, NAD-dependiente (YdiB), para el intercambio de residuos entre enzimas; y, por último, la creación de cuatro nuevos diseños, basados en una suma del conocimiento general de la literatura, más las propuestas de la IA.

Agradecimiento. Agradecemos el apoyo financiero otorgado mediante el proyecto CBF 2023-2024-729 por la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (Secihti) (<https://secihti.mx/secihti/>) para la realización de este proyecto de investigación. También agradecemos a todos los miembros del laboratorio, especialmente a la M. en C. Blanca Ramos por su invaluable guía, dedicación y constante apoyo.

Bibliografía.

1. García Guevara, J. F. (2018). Rediseño del dominio Rossmann de la enzima Shikimato Deshidrogenasa de *E. coli*: Intercambio de la actividad de NADP hacia NAD. Tesis de Doctorado, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México.
2. Dauparas, J., Lee, G. R., Pecoraro, R., An, L., Anishchenko, I., Glasscock, C., & Baker, D. (2023). *BioRxiv*,



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

¿LAS CRISTALINAS GAMMA SON REALMENTE MONOMÉRICAS?

Kimberly Castañeda Gutierrez, Carlos Amero Tello. Universidad Autónoma del estado de Morelos.
Instituto de Investigación en Ciencias Básicas y Aplicadas. Centro de Investigaciones Químicas,
Cuernavaca, Morelos México CP. 62209. Kimberly.castanedagut@uaem.edu.mx

Palabras clave: Cataratas, Cristalinas gamma, Agregación proteica.

Resumen.

Las cataratas constituyen la principal causa de ceguera en el mundo, afectando a más de 90 millones de personas, principalmente en países con acceso limitado a cirugía ocular. En México, se estima que alrededor de 760 000 personas viven con esta condición, y cada año se suman aproximadamente 47 600 nuevos casos. Esta condición se caracteriza por la pérdida de transparencia del cristalino, una estructura avascular compuesta principalmente por proteínas denominadas cristalinas (1). Estas se agrupan en dos familias principales: las α -cristalinas y las $\beta\gamma$ -cristalinas.

La familia de las α -cristalinas cumple una función primordial como chaperonas moleculares; dentro del lente, se unen a proteínas dañadas o parcialmente desplegadas para prevenir su agregación. Dado que el cristalino no posee la maquinaria necesaria para reparar o degradar proteínas, este mecanismo representa una defensa esencial contra la cataractogénesis temprana (2). Por su parte, la familia de las $\beta\gamma$ -cristalinas representa aproximadamente el 70 % del peso seco del cristalino e incluye proteínas β , que pueden formar dímeros u oligómeros, y γ -cristalinas, tradicionalmente descritas como monoméricas en solución (3).

Dentro de esta última subfamilia se encuentran varias γ -cristalinas humanas, como las γA , γB , γC , γD y γS , todas caracterizadas por una arquitectura altamente conservada. Estas proteínas globulares, de aproximadamente 20 kDa, están compuestas por dos dominios estructurales (N- y C-terminal) conectados por un linker corto. Cada dominio contiene dos motivos tipo "llave griega", formados por hojas β antiparalelas, lo que resulta en una estructura compacta y extraordinariamente estable (4).

Si bien las γ -cristalinas se han descrito durante décadas como monómeros, estudios recientes han comenzado a cuestionar esta concepción (5). En el presente trabajo los resultados obtenidos sugieren la presencia de más de una especie estructural en solución. Espectros HSQC obtenidos mediante resonancia magnética nuclear (RMN) revelaron dos conjuntos de señales, lo que podría indicar la existencia de al menos dos conformaciones distintas en las proteínas gamma. Estos resultados fueron complementados con experimentos de dispersión dinámica de luz (DLS), que mostraron distribuciones de tamaño no homogéneas.

Estos hallazgos abren la discusión sobre la verdadera naturaleza conformacional de las γ -cristalinas. ¿Son realmente monómeros en solución, o presentan una heterogeneidad estructural más compleja de lo que se pensaba? La caracterización detallada de estas especies podría tener implicaciones clave en la comprensión de los mecanismos de agregación y en el diseño de estrategias terapéuticas para prevenir la formación de cataratas. En este trabajo se discuten estas observaciones, proponiendo reconsiderar la visión monomérica tradicional de estas proteínas.

Agradecimiento. Esta investigación fue financiada por CONAHCYT A1-S-11842.

Bibliografía.

1. Kosinski-Collins M, Rey J. (2003) *Wiley Online Library Protein Science* 12(3): 480-490
2. Roskamp KW, Paulson CN, Brubaker WD, Martin RW. (2020) *Acc Chem Res.* 53(4):863-874.
3. Baraguey C, Skouri-Panet F, Bontems F, Chassaing G, Pintacuda G, Lequin O. (2004) *J Biomol NMR.* 30(3):385-386
4. Domínguez-Calva JA, Haase-Pettingell C, Serebryany E, King JA, Quintanar L. (2018) *Biochem.* 57(33):4959-4962.
5. Roskamp KW, Paulson CN, Brubaker WD, Martin RW. (2020) *Acc Chem Res.* 53(4):863-874.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD TÉRMICA DE LA PROTEÍNA CHEY DE LA BACTERIA HIPERTERMÓFILA *T. MARITIMA* POR DINÁMICA MOLECULARSalomón J. Alas Guardado^{1,2}, Melisa S. Anzures Mendoza¹,José Y. Sol Fragoso¹, Edgar López Pérez³¹Departamento de Ciencias Naturales, UAM Cuajimalpa, Ciudad de México 05300.²Departamento de Química, UAM Iztapalapa, Ciudad de México 09310.³Department of Molecular & Cell Biology, University of Connecticut, U.S.A.

salas@cua.uam.mx (SJAG)

*Palabras clave: proteína TmY, estabilidad térmica, puentes salinos***Resumen.**

CheY es una proteína reguladora que actúa como mensajera en la señalización intracelular y desempeña un papel clave en el proceso de la quimiotaxis bacteriana, en el cual las bacterias detectan y se mueven hacia o lejos de estímulos químicos [1]. La función principal de CheY está asociada con la regulación del movimiento flagelar en bacterias móviles como *Escherichia coli* y *Thermotoga maritima* [2]. Aunque se conocen las causas generales que ocasionan la estabilidad térmica en la proteína CheY procedente de la bacteria hipertermófila *T. maritima* (TmY), aún no son claros los factores a nivel molecular que originan esta estabilidad a temperaturas elevadas [3]. Por tanto, en este trabajo se ha investigado la termoestabilidad de TmY realizando simulaciones de dinámica molecular. Los análisis de los parámetros estructurales y de las interacciones moleculares se compararon con los de la proteína homóloga del organismo mesófilo *E. coli* (EcY). Las simulaciones se hicieron a 1 μ s y por triplicado a cinco diferentes temperaturas para ambas proteínas, realizando en total 30 experimentos. Los resultados muestran que las dos proteínas pierden estabilidad a medida que la temperatura aumenta, pero la estructura EcY es la más afectada. Encontramos que la causa principal de la resistencia térmica de TmY es la formación de puentes salinos (SB). Los SB que se forman en TmY y EcY son 15 y 8, respectivamente. Además, en TmY se forma mayor cantidad de redes de SB: tres triadas y una tétrada, mientras que en EcY se forman 1 triada y 1 tétrada.

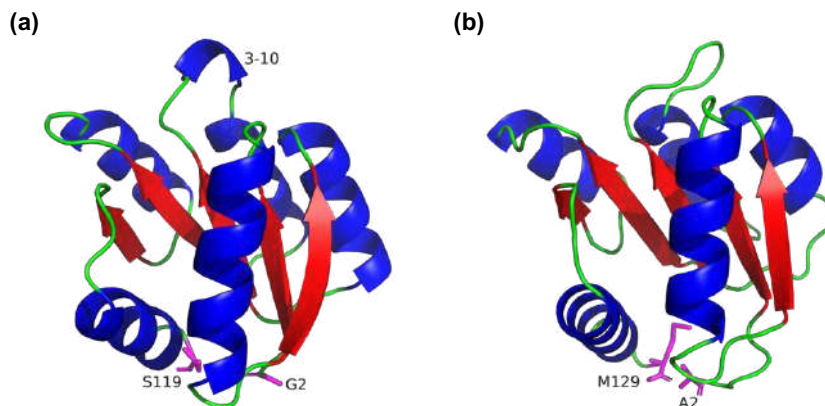


Figure 1. Estructura de las proteínas: (a) TmY (b) EcY. En color magenta se muestran los residuos inicial y final.

Agradecimiento. Los autores agradecen el financiamiento otorgado por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT), a través del proyecto A1-S-46202.

Bibliografía.

1. Madigan, M.T., Martinko, J.M., Bender, K.S., Buckley, D.H., Stahl, D.A. (2015). Brock. Biología de los Microorganismos. Editorial Pearson Educación S.A. Madrid España. 14a edición.
2. Usher, K.C., de la Cruz, A.F., Dahlquist, F.W., Swanson, R.V., Simon, M.I., Remington, S.J. (1998). *Prot. Sci.* 7 (2): 403–412.
3. Deutschman, W.A., Dahlquist, F.W. (2001). *Biochem.* 40 (43): 13107–13108.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

RELACIÓN ESTRUCTURA-FUNCIÓN DE LA HORQUILLA β DE *Thermus thermophilus* HB27

¹Beatriz Miranda-Zaragoza, ²Guillermo A. Huerta-Miranda, ²Wendy I. García-García, ³Alejandro Solano-Peralta, ⁴Jaeyong Lee, ⁴Natalie Strynadka, ²Margarita Miranda-Hernández, ¹Claudia Rodríguez-Almazán

¹Dpto. de Micro y Nanotecnologías, ICAT-UNAM, CDMX, C.P. 04510. ²Instituto de Energías Renovables UNAM, Temixco C.P. 62580. ³Facultad de Química, UNAM, CDMX, C.P. 04510. ⁴Dpto. Biochemistry and Molecular Biology and Centre for Blood Research, The University of British Columbia, Vancouver, C.P. V6T 1Z3.

beatriz.miranda@ibt.unam.mx; claudia.rodriguez@comunidad.unam.mx

Palabras clave: lacasas, horquilla β , catálisis

Resumen

Las lacasas son enzimas que pertenecen a la familia de las oxidasas multicobre y catalizan oxidación de un sustrato acoplado a la reducción de una molécula de oxígeno bimolecular¹. Las reacciones de oxidorreducción requieren de cuatro cobres catalíticos, para llevar a cabo la transferencia de electrones². Las lacasas son capaces de oxidar distintas moléculas aromáticas³, siendo esta versatilidad la que les ha permitido ser aplicadas principalmente en la industria papelera y textil³. La lacasa de *Thermus thermophilus* HB27 (Tth-Lac) es una enzima altamente termorresistente ($t_{1/2} \approx 14$ h a 80 °C). Tth-Lac es una lacasa con gran potencial para su aplicación debido a su estabilidad; sin embargo, presenta una baja actividad⁴. Mediante ingeniería de proteínas se ha buscado incrementar la actividad enzimática de Tth-Lac, modificando aminoácidos cercanos a los sitios de cobre⁵. Se propone que modificar horquilla β (Ala292-Gln307), ubicada sobre la entrada de acceso al sustrato y al sitio CuT1, podría incrementar la catálisis, ya que esta estructura parece que modula la interacción de Tth-Lac con el sustrato⁶. A través de mutantes de la horquilla β analizamos la actividad de Tth-Lac. En las variantes C1Tth-Lac y C2Tth-Lac se eliminó completamente la horquilla; las mutantes P1Tth-Lac, P2Tth-Lac y RTth-Lac corresponden a eliminaciones parciales; y, Tth-CueO a una sustitución. Las mutantes C2Tth-Lac y P1Tth-Lac mantuvieron actividad ≥ 50 % a pH 9.0 para los sustratos DMP y GCL, en comparación a Tth-Lac que solo tuvo ≈ 25 % de actividad en estas condiciones. C1Tth-Lac obtuvo la mayor eficiencia catalítica ($35.65 \text{ s}^{-1} \text{ mM}^{-1}$) para ABTS, aproximadamente el doble que la enzima silvestre; sin embargo, Tth-Lac mostró una mejor eficiencia catalítica en para GCL ($1850.77 \text{ s}^{-1} \text{ mM}^{-1}$) SGZ ($205.772 \text{ s}^{-1} \text{ mM}^{-1}$). La estructura de P1Tth-Lac (PDB 9CPM) no mostró cambios significativos en comparación a Tth-Lac, el cambio se centró en el aumento en los factores B de los residuos Q307, G308, P309, S310, indicando que se trata de una región más flexible. A pesar de que las eliminaciones de la horquilla se realizaron cercanas al CuT1, las señales de UV-Vis y EPR de los cobres CuT2 y CuT3, se vieron afectadas en C2Tth-Lac. Cambios en la actividad y en la coordinación pueden modificar el potencial redox. Todas las proteínas correspondieron a enzimas de alto potencial redox ($> 720 \text{ mV}$ vs NHE). Lacasas con este tipo de potencial redox son capaces de utilizar una mayor variedad de sustratos y, en consecuencia, de incrementar sus aplicaciones.

Agradecimiento. Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) (IT201522). Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Bioquímicas (UNAM) CONAHCyT México (2019-000002-01NACF-12652).

Bibliografía.

1. Claus, H. (2004). *Micron*. Vol 35(1–2): 93–96.
2. Jones, S. M., & Solomon, E. I. (2014). *Cellular and Molecular Life Sciences*. Vol (72): 869–883
3. Panwar, V., Lzaod, S., & Dutta, T. (2023). *ACS Omega*. Vol 8(38): 34710–34719.
4. Miyazaki, K. (2005). *Extremophiles*. Vol 9(6): 415–425.
5. Liu, X. Tian, M., Liu, K. (2012). *Arch Biol Sci*. Vol (64), 1515–1522.
6. Kataoka, K., Komori, H., Ueki, Y., Konno, Y., Kamitaka, Y., Kurose, S., Tsujimura, S., Higuchi, Y., Kano, K., Seo, D., & Sakurai, T. (2007). *Journal of Molecular Biology*. Vol 373(1): 141–152.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas 13er.

Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

ANÁLISIS DEL DESPLEGAMIENTO TÉRMICO DE LAS PROTEÍNAS HISTIDINAS FOSFOTRANSPORTADORAS *BsHPr* Y *BstHPr* POR DINÁMICA MOLECULARDavid Franco Carrillo¹, Edgar López Pérez², Salomón J. Alas Guardado^{1,3}¹Departamento de Ciencias Naturales, UAM Cuajimalpa, Ciudad de México 05300.²Department of Molecular & Cell Biology, University of Connecticut, U.S.A. ³Departamento de Química, UAM Iztapalapa, Ciudad de México 09310. david.franco@cua.uam.mx (DFC)*Palabras clave: proteína HPr, contactos nativos, desplegamiento***Resumen.**

La familia de enzimas fosfotransportadoras contenedoras de histidina (HPr) son un tipo de proteínas clave en el metabolismo energético de numerosas bacterias gramnegativas y grampositivas [1]. En particular, se encuentran presentes en las bacterias termófila *Bacillus stearotherophilus* (*BstHPr*) y mesófila *Bacillus subtilis* (*BsHPr*). Aunque, ambas proteínas son homólogas con residuos idénticos del 68% y con residuos similares del 80% en sus secuencias primarias, tienen diferencias estructurales y fisicoquímicas, como la temperatura media de desnaturalización (T_m), en donde la proteína *BstHPr* es mayor en 22 K que la proteína *BsHPr* [2]. A fin de explicar porqué ocurre esta diferencia, en este trabajo se presenta un análisis a nivel molecular del proceso de desplegamiento térmico de las dos proteínas utilizando dinámica molecular. Se realizaron 18 experimentos para cada proteína en el intervalo de 298 a 500 K a dos tiempos de simulación, 1 y 5 μ s, y se calculó la fracción de contactos nativos. Los resultados a 1 μ s muestran que la T_m de la proteína mesófila es menor que la de su homóloga termófila, lo cual es acorde con las evidencias experimentales [2]. Por otro lado, los resultados preliminares a 5 μ s indican que el valor de la T_m es más acorde con los experimentos, pues se observa que los contactos nativos se mantienen estables. Esto evidencia que el tiempo de simulación tiene efecto en el equilibrio estructural de las proteínas.

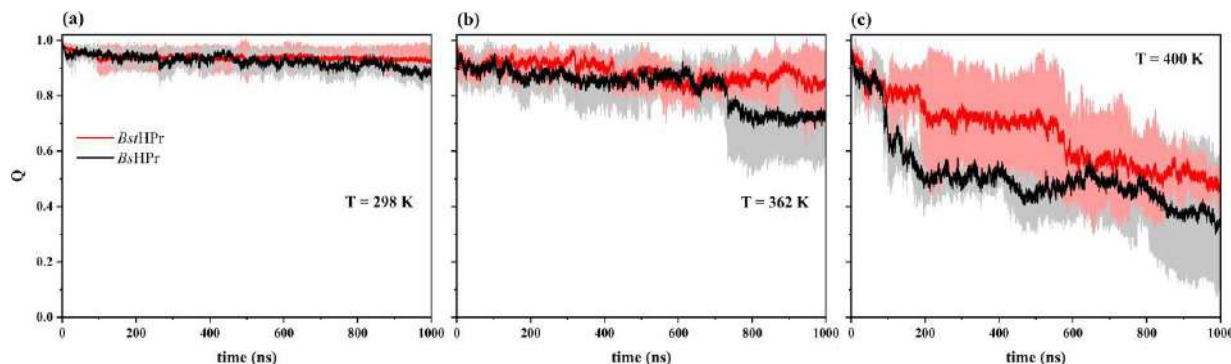


Figure 1. Comportamiento de la fracción de contactos nativos (Q) de las proteínas *BstHPr* y *BsHPr* a tres diferentes temperaturas y 1 μ s de simulación.

Agradecimiento. Los autores agradecen el financiamiento otorgado por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT), a través del proyecto A1-S-46202.

Bibliografía.

1. Postma, P. W., Lengeler, J. W., Jacobson, G. R. (1993). Phosphoenolpyruvate:carbohydrate phosphotransferase systems of bacteria. *Microbiol. Rev.* 57(3), 543–594.
2. Razvi, A., Scholtz, J., (2006). A thermodynamic comparison of HPr proteins from extremophilic organisms. *Biochem.* 45(13), 4084–4092.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas 13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

ANÁLISIS DE PUENTES SALINOS DE LA HISTONA rHMfB DE LA ARQUEA HIPERTERMÓFILA *M. FERVIDUS* POR DINÁMICA MOLECULAR

Lizbeth I. Gómez Tagle Vázquez¹, Karen G. Jimenez Ramírez¹, Salomón J. Alas Guardado^{1,2}

¹Departamento de Ciencias Naturales, UAM Cuajimalpa, Ciudad de México 05300.

²Departamento de Química, UAM Iztapalapa, Ciudad de México 09310.

lizbeth.gomez@cua.uam.mx (LIGTV)

Palabras clave: homodímero rHMfB, estabilidad térmica, puentes salinos

Resumen.

Los puentes salinos (SB) del homodímero de la histona rHMfB desempeñan un papel crucial en la estabilidad estructural y en la formación de complejos funcionales. Estas interacciones no sólo son esenciales para el correcto plegamiento y dimerización de la proteína, sino también para su capacidad de formar tetrámeros y unirse al ADN de manera específica [1,2]. Estudios previos han identificado que la dimerización de rHMfB está dirigida por la formación de un núcleo hidrófobo y por un puente salino clave entre los residuos R52 y D59 [3]. Adicionalmente, los tetrámeros se favorecen por la formación de nuevos puentes de hidrógeno e interacciones hidrófobas en la interfase de contacto entre dímeros [2,4]. Estos mecanismos destacan como adaptaciones moleculares esenciales para la funcionalidad de la proteína en ambientes extremos [5]. En este trabajo se presenta una comparación detallada entre los puentes salinos (SB) que se forman en los monómeros A y B y en el dímero de esta proteína procedente de la arquea hipertermófila *Methanothermus fervidus* mediante simulaciones de dinámica molecular. Para lograr esto, se han realizado simulaciones a 5 diferentes temperaturas (298, 313, 348, 377 y 400 K) utilizando intervalos de tiempo de 1 μ s y por triplicado. Los resultados muestran que los puentes salinos nativos se conservan al aumentar la temperatura. Además, se observa que, a mayor temperatura se generan nuevos SB que contribuyen a la estabilidad de las estructuras. En general, la estabilidad térmica del dímero depende de los SB que se forman en la interfase donde se unen los monómeros. Los monómeros aumentan estas interacciones al acoplarse entre ellos, incluso formando redes de SB, lo cual no ocurre en los monómeros aislados. Cabe destacar que los SB de ambos monómeros son simétricos, es decir, forman los mismos pares iónicos.

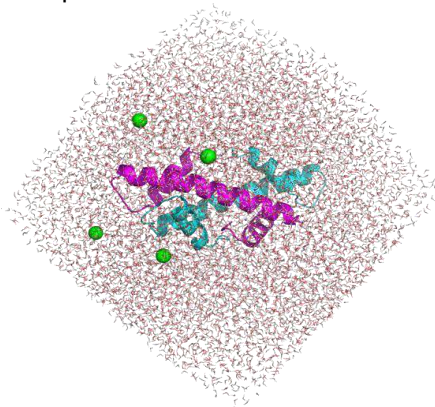


Figure 1. Representación de la caja de solvatación del homodímero rHMfB. Los monómeros A y B están en colores cian y magenta, respectivamente. Las esferas de color verde representan a los iones cloro que neutralizan a la estructura a pH = 7.0. Las moléculas de agua rodean a la histona y se indican en color rojo. La imagen se realizó con el programa PyMOL v2.5.2 y corresponde a la configuración 0 de la simulación 1 a 298 K.

Agradecimiento. Se agradece el financiamiento otorgado por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT), a través del proyecto A1-S-46202.

Bibliografía.

1. Decanniere, K., et al. (2000). *Journal of Molecular Biology*, 303(1), 35-47.
2. Henneman, B., et al. (2018). *PLoS Genetics*, 14(9), e1007582.
3. Li, W.-T., Shriver, et al. (2000). *Journal of Bacteriology*, 182(3), 812-817.
4. Tsai, C.-J., et al. (2000). *Protein Engineering, Design and Selection*, 13(3), 179-191.
5. Reed, C. J., et al. (2013). *Archaea*, 2013, Article 373275.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

Síntesis de bencilamidas con ácidos grasos de cadena larga por vía enzimática como una alternativa sostenible

Cesar Daniel Flores Enciso^{1,2}, David Alejandro Curiel Pedraza², Ana Laura Márquez Aguirre², Alejandro Arturo Canales Aguirre², Juan Carlos Mateos Díaz¹, Jorge Alberto Rodríguez González¹.

¹Biología Industrial, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (CIATEJ), C.P. 45019, Zapopan, Jalisco.

²Biología Médica Farmacéutica, CIATEJ, C.P. 44270, Guadalajara, Jalisco.

ceflores_al@ciatej.edu.mx

Biocatálisis, Bencilamidas, CALB.

Resumen.

En las últimas décadas, la investigación de compuestos bioactivos derivados de fuentes naturales ha cobrado gran relevancia por su perfil de seguridad y sostenibilidad (1). Las macamidas y bencilamidas, inicialmente aisladas de la raíz de maca (*Lepidium meyenii*), se clasifican como amidas de ácidos grasos con un grupo bencilo que ofrecen selectividad terapéutica (1). Sin embargo, su extracción de una fuente natural está limitada por varias condiciones agronómicas (ecotipo, altitud, método de secado) además de concentraciones dependientes del proceso de cultivo y postcosecha (2). La síntesis química convencional, puede ser eficaz, pero suelen utilizar reactivos tóxicos y condiciones drásticas de reacción (3). La biocatálisis con lipasas inmovilizadas y en particular la lipasa B de *Candida antarctica* (CALB) se posiciona para ser usada en una metodología escalable, permitiendo condiciones suaves, alta selectividad y mínima generación de desechos tóxicos (4). Este trabajo presenta la síntesis biocatalítica de una serie de bencilamidas análogas de macamidas, utilizando diversos ácidos grasos junto con bencilamina como sustratos, catalizada por CALB inmovilizada. Se lograron altos rendimientos de conversión y recuperación, destacando para la Benciloleamida 94.66% de conversión y 76.59% de recuperación a 200 mM; para la Bencilinoleamida 80.27% de conversión y 93.49% de recuperación a 300 mM; y para la Bencilpunicamida 86.19% de conversión y 36.96% de recuperación a 300 mM. Los resultados demuestran la viabilidad y eficiencia de esta ruta enzimática como una alternativa sostenible para la producción de estos compuestos bioactivos, superando las limitaciones de los métodos tradicionales.

Agradecimiento.

Agradezco al Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), y a los departamentos de Biología Industrial y de Biología Médica Farmacéutica por brindar los recursos e instalaciones indispensables.

Bibliografía.

1. Zhu H., Hu B., Hua H., Liu C., Cheng Y., Guo Y., Yao W., Qian H. (2020) Macamides: A review of structures, isolation, therapeutics and prospects. **Food Research International**. 138: 109819.
2. Minich D.M., Ross K., Frame J., Fahoum M., Warner W., Meissner H.O. (2024) Not All Maca Is Created Equal: A Review of Colors, Nutrition, Phytochemicals, and Clinical Uses. **Nutrients**. 16: 530.
3. Liu T, Peng Z, Lai W, Shao Y, Gao Q, He M, Zhou W, Guo L, Kang J, Jin X, Yin H. (2023) The Efficient Synthesis and Anti-Fatigue Activity Evaluation of Macamides: The Unique Bioactive Compounds in Maca. **Molecules**. 28: 3943.
4. Castillo E., Torres-Gavilán A., Severiano P., Arturo N., López-Munguía A. (2007) Lipase-catalyzed synthesis of pungent capsaicin analogues. **Food Chemistry**. 100: 1202-1208.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas 13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

Evaluación de la actividad antimicrobiana de nanopartículas funcionalizadas con péptidos antimicrobianos y su combinación con antibióticos convencionales

Hernández-Cortés, F. & Hernández-García, A.

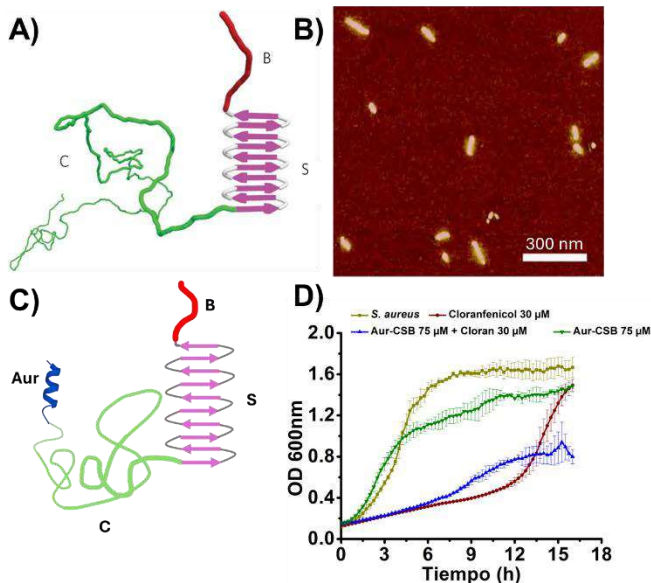
Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Química, Departamento de química de Biomacromoléculas. Laboratorio de Ingeniería Biomolecular y Bionanotecnología. CDMX. CP. 04510 E-mail: odirex777@gmail.com

Palabras clave: péptidos antimicrobianos, bionanotecnología, nanopartículas.

Resumen.

La resistencia bacteriana a los antibióticos representa una amenaza creciente para la salud pública a nivel global (1). Esta problemática ha impulsado la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas. Entre las más prometedoras se encuentran los péptidos antimicrobianos (AMPs) y las nanopartículas (2), cuyas propiedades se destacan por ofrecer mecanismos de acción alternativos a los de los antibióticos convencionales además de propiedades únicas. En particular, la funcionalización de nanopartículas con AMPs puede conferir ventajas adicionales, como una mayor estabilidad del péptido y una posible reducción de su toxicidad.

En este estudio, se evaluó la actividad antimicrobiana de nanopartículas viromiméticas diseñadas *de novo* (CSB) por Hernández-García y colaboradores (3). Estas proteínas presentan la capacidad de autoensamblarse (**bloque S**) en estructuras proteicas con forma de rodillo y contienen dominios que les permiten unirse a ácidos nucleicos (**bloque B**) y conferir estabilidad coloidal (**bloque C**), lo que da como resultado una morfología similar a la del virus del mosaico del tabaco. Las proteínas fueron funcionalizadas con el péptido antimicrobiano **aureína 1.2** (4) mediante fusión genética, y se expresaron de forma recombinante en *Komagataella phaffii*. La eficacia del nanosistema resultante se evaluó frente a *S. aureus*, tanto de forma individual como en combinación con antibióticos, con el objetivo de potenciar su efecto antimicrobiano. Los resultados demostraron que las nanopartículas decoradas con aureína 1.2 (**Aur-CSB**) mantienen una actividad comparable a la del péptido libre, lo que indica que la fusión genética no compromete su funcionalidad. Además, se observaron indicios de sinergia entre **Aur-CSB** y **cloranfenicol**, lo que sugiere un potencial terapéutico en esquemas de tratamiento combinado. Estos hallazgos refuerzan el valor de las nanopartículas funcionalizadas con AMPs como herramientas en el desarrollo de terapias antimicrobianas.



Proteínas CSB y Aur-CSB. A) esquema de la proteína CSB, B) nanopartículas con forma de rodillo C) proteína modificada Aur-CSB y D) efecto antimicrobiano sinérgico entre Aur-CSB y cloranfenicol.

Agradecimiento.

Proyecto PAPPIT "Desarrollo y evaluación de bionanopartículas autoensambladas para el despliegue superficial de péptidos antimicrobianos" IN226624

Bibliografía.

1. Ahmed SK, Hussein S, Qurbani K, Ibrahim RH, Fareeq A, Mahmood KA. J. (2024) *Med. Surg. Public Health*. Vol (2):100081.
2. Ruiz-Pérez, R., Newman-Portela, A. M., & Ruiz-Fresneda, M. A. (2024). *Journal Of Cleaner Production*, Vol (478)143895.
3. Hernandez-Garcia A, Kraft DJ, Janssen AFJ, Bomans PHH, Sommerdijk NAJM, Thies-Weesie DME. (2014) *Nat Nanotech*. Vol (9):698–702.
4. Fernandez DI, Le Brun AP, Whitwell TC, Sani MA, James M, Separovic F. (2012) *Phys. Chem. Chem. Phys*. Vol (14):15739–15751



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

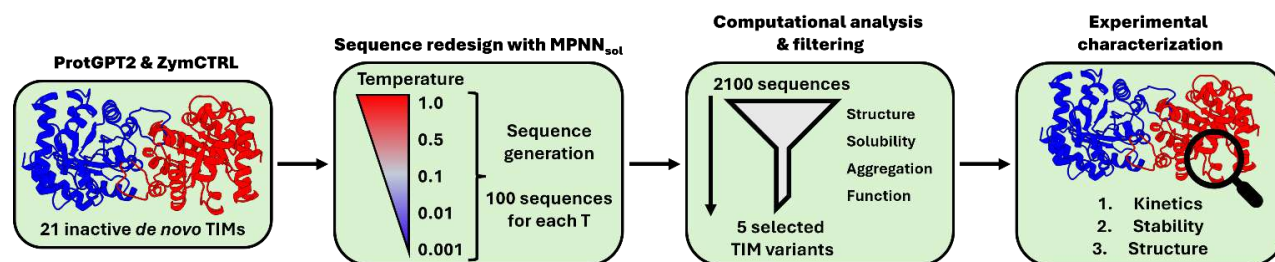
13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

OPTIMIZING SOLUBILITY AND ACTIVITY OF *DE NOVO* TRIOSEPHOSPHATE ISOMERASES GENERATED WITH PROTEIN LANGUAGE MODELS

Vincent Berg & Sergio Romero-Romero

Department of Biochemistry and Structural Biology, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City 04510, vincentberg@ifc.unam.mx**Keywords:** *Enzyme design, Solubility optimization, AI-guided sequence design***Abstract.**

The design of novel proteins with tailored functions has the potential to solve many challenges in medicine and biotechnology. Recent advances in artificial intelligence (AI) have opened new horizons in *de novo* enzyme design. Protein large language models (LLMs) such as ProtGPT2 (1) and ZymCTRL (2), trained on large protein sequence databases, can generate novel enzyme sequences that extend beyond natural diversity. Despite this promise, many *de novo* enzymes suffer from low solubility or lack of function. We used triosephosphate isomerase (TIM), a highly efficient glycolytic enzyme (3), as a model system to evaluate the generative power of LLMs and optimize failed *de novo* designs. Previously, *de novo* TIMs were successfully generated using LLMs ProtGPT2 and ZymCTRL (4); however, most were insoluble or inactive. In this study, we attempted to optimize 21 of these constructs by computational sequence redesign using MPNN_{sol}, a deep learning model trained on soluble proteins (5). Temperatures (T) sampled for sequence redesign included 0.001, 0.01, 0.1, 0.5 and 1.0. To reduce complexity from the 2,100 redesigned sequences, computational analyses and filtering were performed selecting the five best-scoring sequences per construct and temperature. These were evaluated using AlphaFold3 (6) to assess structural integrity and the catalytic site. Constructs with satisfactory ipTM and pTM values were further analyzed for solubility (SoluProt and Protein-Sol), aggregation propensity (AggreProt and AggreScan), structural features (ProteinTools), and prediction of functional activity (ProteinInfer), resulting in a shortlist of 11 promising designs. Finally, this filtering pipeline allowed a selection of 5 candidates for experimental investigation, assessing their expression, solubility, stability, structure, and functional activity. Here, we present preliminary results on soluble expression and *in vivo* activity in a TIM-deficient *E. coli* strain. The combined computational and experimental approach supports the systematic evaluation of the generative power of protein language models and provides insights into strategies for rescuing and optimizing novel AI-designed enzymes.



Optimization and characterization of *de novo* triosephosphate isomerases (TIMs). Insoluble or inactive TIMs previously generated with ProtGPT2 and ZymCTRL were optimized with MPNN_{sol}. Computational filtering based on predicted structure, solubility, aggregation propensity and function, resulted in promising candidates for experimental characterization in terms of their kinetics, stability and structural properties.

Acknowledgements. This work was supported by SECIHTI (Grant: CBF2023-2024-271) and PAPIIT UNAM (Grant: IA203925).

References.

1. Ferruz, N., Schmidt, S. & Höcker, B. *Nat. Commun.* 13, 4348 (2022).
2. Munsamy, G. et al. Preprint at <https://doi.org/10.1101/2024.05.03.592223> (2024).
3. Wierenga, R. K., Kapetaniou, E. G. & Venkatesan, R. *Cell. Mol. Life Sci.* CMLS 67, 3961–3982 (2010).
4. Romero-Romero, S. et al. Preprint at <https://doi.org/10.1101/2024.11.10.622869> (2024).
5. Goverde, C. A. et al. *Nature* 631, 449–458 (2024).
6. Abramson, J. et al. *Nature* 630, 493–500 (2024).



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas 13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

COMPUTATIONAL AND EXPERIMENTAL OPTIMIZATION OF LANGUAGE-MODEL-DESIGNED PROTEINS

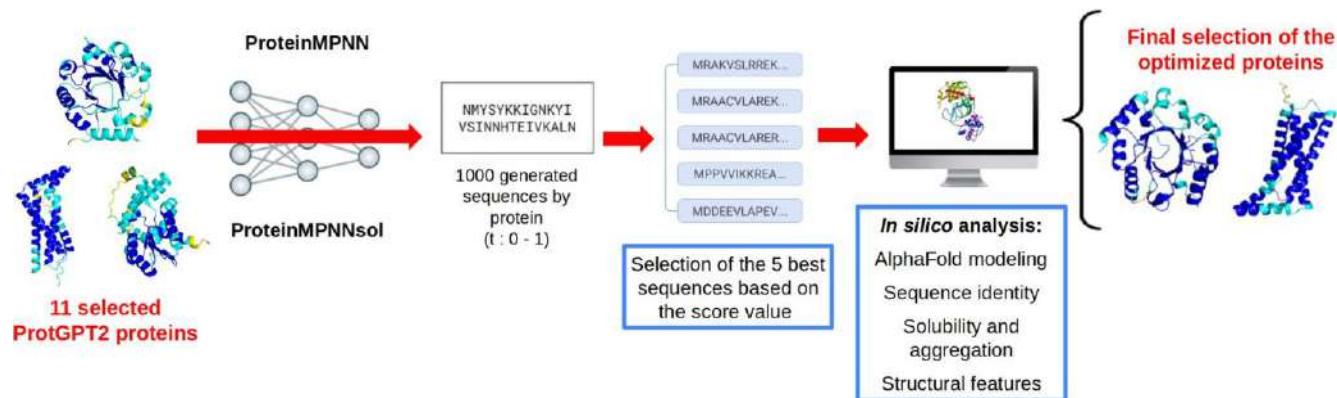
Oswaldo Mata-López & Sergio Romero-Romero

Department of Biochemistry and Structural Biology, Instituto de Fisiología Celular,
Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City 04510, omata@ifc.unam.mx

Keywords: Solubility optimization, Protein design, AI-guided sequence redesign

Abstract.

Artificial intelligence, particularly large language models (LLMs), has transformed protein design. Models like ProGen, ZymCTRL, ESM2, and ProtGPT2 can generate sequences that preserve structural coherence by learning the underlying patterns of protein folding and function. By harnessing these capabilities, these tools allow exploration of previously uncharted regions of sequence space to create proteins that do not exist in nature (1,2). However, despite their generative potential, only a fraction of these *de novo* sequences are experimentally stable and functional, due to issues with expression, solubility, and folding, highlighting the need for post-generation optimization strategies (3). In this work, we aimed to optimize and characterize novel proteins generated with the ProtGPT2 model (4) by integrating computational and experimental approaches to enhance properties such as solubility and stability. Using ProteinMPNN and its solubility-optimized variant, ProteinMPNNsol, we redesigned the generated sequences, since previous studies have demonstrated improved expression and solubility with these strategies (5). The redesigned sequences subsequently underwent various *in silico* analyses, including AlphaFold3 modeling, solubility and aggregation predictions, and in-depth structural evaluations. This pipeline enabled prioritization of the most promising variants for experimental characterization, for which preliminary results will be presented and discussed. Our approach aims to improve experimental success rates and contribute to the development of generalizable strategies for optimizing AI-generated proteins.



Computational optimization workflow for language-model-generated sequences. Schematic overview of the pipeline used to optimize sequences generated with ProtGPT2, including redesign with ProteinMPNN/MPNNsol, structural prediction with AlphaFold3, and filtering based on solubility, aggregation propensity, and structural quality to select candidates for experimental validation.

Acknowledgments. This work was supported by SECIHTI (Grant: CBF2023-2024-271), PAPIIT UNAM (Grant: IA203925), and SECIHTI (M.Sc. fellowship for O.M.-L.: 2105231)

References.

1. Winniffrith, A., Outerial, C., & Hie, B. (2024). *Current Opinion in Structural Biology*. Vol 86, 102794.
2. Madani, A., et. al. (2023). *Nature biotechnology*, Vol 41(8), 1099–1106.
3. Verkuil, R. et al. (2022).. Preprint at <https://doi.org/10.1101/2022.12.21.521521>
4. Ferruz, N. et al. (2022). *Nature Communications*, Vol 13(1), 4348.
5. Yao, J., & Wang, X. (2025).. *Medicine in Novel Technology and Devices*. Vol 26, 100366.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas 13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

COMPUTATIONAL DESIGN AND EXPERIMENTAL CHARACTERIZATION OF SOLUBLE REDOX-ACTIVE PROTEINS

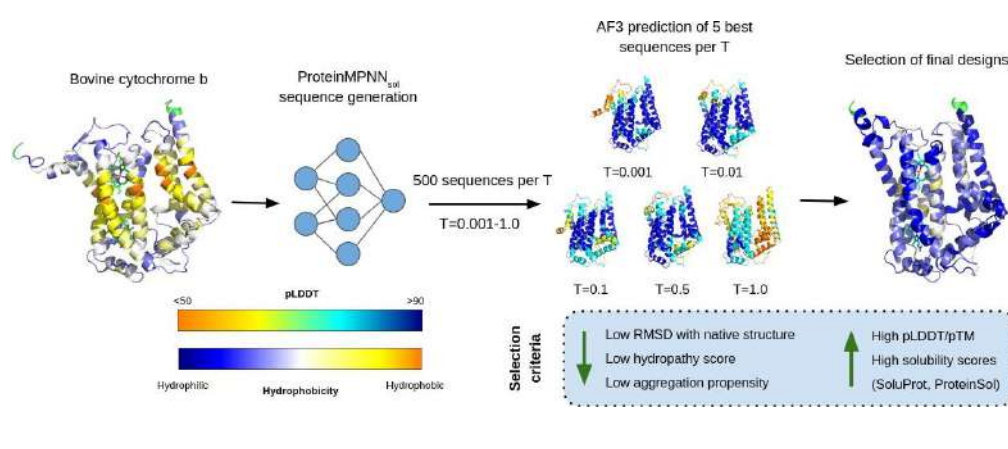
Paul Jacobs & Sergio Romero-Romero

Department of Biochemistry and Structural Biology, Instituto de Fisiología Celular,
Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City 04510, pjacobs@ifc.unam.mx

Keywords: AI-based protein design, Cytochrome *b*, Membrane protein solubility

Abstract.

Artificial intelligence has brought many advances to protein design in recent years, with ongoing progress in structure prediction, function design, and fold design (1-3). These advances enable new approaches to address key challenges in protein science, such as engineering highly hydrophobic membrane proteins. These proteins perform complex biological functions, such as electron transport, making them attractive targets for protein design (4). Among these techniques, ProteinMPNN is a deep-learning method that predicts suitable amino acid sequences for a given target fold based on backbone coordinates (3). Training this network on a dataset restricted to soluble proteins (MPNN_{sol}) has shown its ability to generate soluble membrane protein analogues, thereby expanding the soluble fold space (5). In this work, MPNN_{sol}-mediated redesign was used to generate soluble analogues of cytochrome *b* while retaining binding to two heme moieties required for bidirectional electron transport in mitochondrial complex III. A comprehensive set of computational strategies was applied to evaluate and filter candidate sequences, including structure prediction, hydropathy profiling, solubility/aggregation prediction, and heme-binding site conservation. Our results show that MPNN_{sol} can successfully redesign cytochrome *b* while preserving heme binding, as key ligand-binding residues can be fixed in ProteinMPNN. This enabled the generation of fold analogues with more hydrophilic amino acid compositions, predicted with high confidence by AlphaFold3 and showing strong structural similarity to the native fold. *In silico* analyses further indicate improved solubility in aqueous solution and lower aggregation propensity compared to the native protein. These findings serve as proof of concept for the computational redesign of redox-active membrane proteins into soluble fold analogues while retaining redox activity. This work contributes to expanding the space of functional proteins and provides a testing ground for emerging protein design methods.



Acknowledgements. This work was supported by SECIHTI (Grant: CBF2023-2024-271), PAPIIT UNAM (Grant: IA203925), and PROMOS Scholarship for P.J.

References.

1. Jumper J., Evans R., Pritzel A., Green T., Figurnov M., Ronneberger O., et al. (2021) *Nature*. 596: 583-589.
2. Munsamy G., Smith J., Lee A., et al. (2024). *bioRxiv*.
3. Dauparas J., Anishchenko I., Bennett N., et al. (2022) *Science*. 378: 49-56.
4. Jelokhani-Niaraki M. (2022) *Int. J. Mol. Sci.* 24: 468.
5. Goverde C.A., Johnson M., Garcia S., et al. (2024) *Nature*. 631: 449-458.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas 13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

EXPLORING AND OPTIMIZING THE EXPRESSION, STRUCTURAL FEATURES, AND CATALYTIC PROPERTIES OF REPLICATIVE DNA POLYMERASES

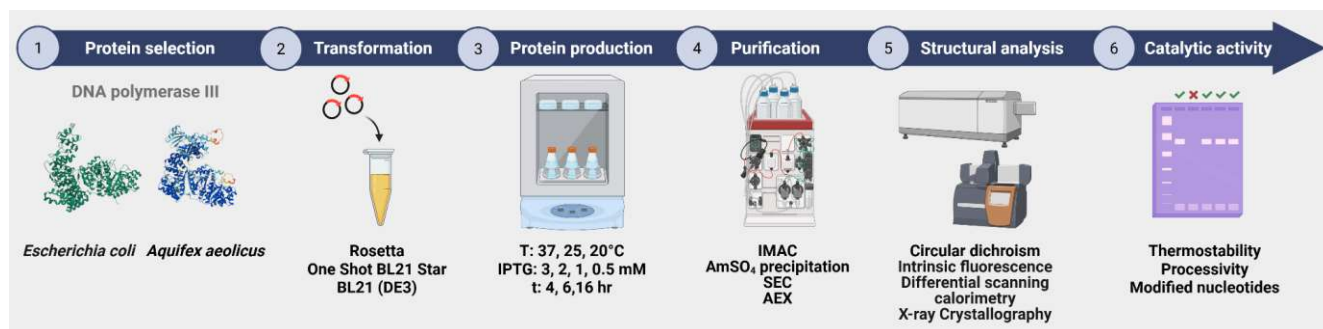
Andrea Ramón-García^{1,2}, Silvia Armenta-Jaime², & Sergio Romero-Romero¹

¹Department of Biochemistry and Structural Biology, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City 04510, ²Instituto de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Tulancingo 04300, aramon@ifc.unam.mx

Keywords: DNA polymerase, Catalytic activity, Synthetic biology

Abstract.

DNA polymerases (DNAPs) are essential enzymes responsible for DNA replication and a variety of DNA-repairing processes (1). Their evolutionary diversification into distinct families, such as PolA, PolB, PolC, PolD, PolX, PolY, and reverse transcriptases, reflects adaptations to specific roles and environments to efficiently function in different cellular contexts (2-3). Among all the distinct families, *Escherichia coli* DNA polymerase III, a member of the PolC family, stands out for its high fidelity, exceptional processivity (up to 50 kb), and rapid nucleotide incorporation rates (up to 700 nt/s) (3), making it a valuable tool for various biotechnological and synthetic biology applications. Understanding the structure-function relationships of replicative polymerases is key to unlocking new capabilities in synthetic biology and protein design. In this work, we explore the catalytic performance, biophysical properties, and thermostability of selected polC-type DNAPs, including those from *Aquifex aeolicus* and a previously engineered mutant from *E. coli*. A major challenge in studying replicative polymerases is their soluble expression in heterologous systems. To address this, we tested a wide range of expression conditions (strains, temperatures, inducers, and fusion tags) to obtain active and soluble proteins suitable for downstream analysis. Once purified, these polymerases were characterized using a combination of biochemical and biophysical techniques, including activity assays, circular dichroism and intrinsic fluorescence spectroscopy, differential scanning calorimetry, and structural-biology techniques. To identify robust variants with desirable properties, such as enhanced thermostability or the ability to incorporate modified nucleotides, we established and optimized protocols to assess their biochemical performance under various conditions. By characterizing and comparing natural and engineered polymerases, this study contributes to the development of robust and versatile enzymes for next-generation biotechnological workflows. Ultimately, integrating protein design strategies will allow us to tailor polymerase function, pushing the boundaries of what these molecular machines can achieve in synthetic systems.



Schematic overview of the methodology for biochemical characterization of DNA polymerases. Different native DNAPs were first expressed in heterologous *E. coli* strains under various conditions. Soluble proteins were then purified using standard chromatographic techniques and subjected to structural and catalytic analyses to assess their activity, stability, and potential biotechnological applications.

Acknowledgements. This work was supported by SECIHTI (Grant: CBF2023-2024-271) and PAPIIT UNAM (Grant: IA203925).

References.

1. Akram, F., Shah, F. I., Ibrar, R., Fatima, T., Haq, I. U., Naseem, W., Gul, M. A., et al., (2023). *Analytical Biochemistry*, **671**, 115150.
2. Aschenbrenner, J., & Marx, A. (2017). *Current Opinion in Biotechnology*, **48**, 187–195.
3. Johansson, E., & Dixon, N. (2013). *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, **5**(6), a012799.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

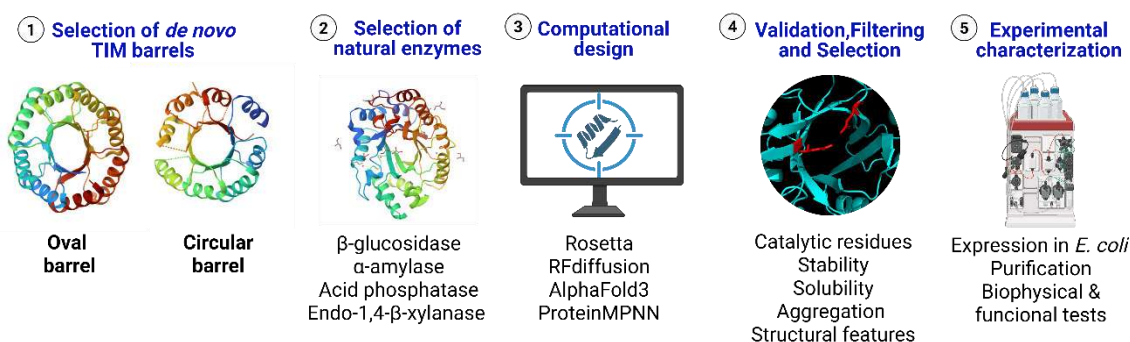
13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

FUNCTIONALIZATION OF A *DE NOVO* TIM BARREL: DESIGN, INCORPORATION, AND CHARACTERIZATION OF A HYDROLASE ACTIVITY

José Manuel Zamudio-Hernández & Sergio Romero-Romero

Department of Biochemistry and Structural Biology, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City 04510, josezam@ifc.unam.mxKeywords: *de novo* design, TIM barrel, Hidrolase**Abstract.**

De novo protein design enables the creation of versatile protein scaffolds with applications in biocatalysis, medicine, and biotechnology (1). Within this same field, enzyme design is an even more recent subfield with largely untapped potential (2). Among these architectures, the TIM barrel stands out as a robust and evolutionarily recurrent topology capable of hosting catalytic sites (3). This project aims to functionalize previously designed *de novo* TIM barrels through the computational and experimental incorporation of a hydrolase active site. As candidates, four natural enzymes with hydrolase activity and TIM-like folds were selected: β -glucosidase, α -amylase, acid phosphatase, and endo-1,4- β -xylanase. Selection criteria included conservation of catalytic residues within hydrolase families, active site location, overall stability, and topological compatibility with the synthetic TIM scaffolds. Using tools such as Rosetta (4), RFdiffusion (5), AlphaFold3 (6), and ProteinMPNN (7), among others, hybrid designs were modeled by grafting the catalytic microenvironment onto the best *de novo* TIM barrel, with special attention to substrate orientation and the structural stability of the catalytic site. Computational validation included structural confidence predictions, molecular dynamics simulations, and folding free energy estimations. Selected designs were further analyzed *in silico* in terms of their solubility, aggregation propensity and structural properties. Selected designs were ordered and expressed in *E. coli* and yeast, and we presented an initial experimental characterization of these designs in terms of their biochemical, biophysical, and structural properties. By functionally repurposing synthetic protein scaffolds, this work expands the sequence and structural space of catalytically active TIM barrels beyond what has been explored by natural evolution. Moreover, it serves as a case study for the implementation and benchmarking of cutting-edge protein design methods in tackling the relevant challenge of design *de novo* enzymes with novel catalytic functions.



Schematic overview of the computational and experimental pipeline used to generate *de novo* TIM barrel enzymes with repurposed catalytic activity. The catalytic microenvironment was grafted onto the scaffold of the *de novo* TIM barrel using different computational tools. Designed variants underwent computational validation and selected designs were expressed in *E. coli* and experimentally characterized.

Acknowledgements. This work was supported by SECIHTI (Grant: CBF2023-2024-271) and PAPIIT UNAM (Grant: IA203925).

References.

- Huang P-S, Boyken SE, Baker D. (2016) *Nat.* 537(7620):320–327.
- Arnold FH. (2018) *Angew. Chem. Int. Ed.* 57(16):4143–4148.
- Romero-Romero S, Kordes S, Michel F, Höcker B. (2021) *Curr Opin Struct Biol.* 68:94–104.
- Huang P-S, Ban Y-EA, Richter F, Andre I, Vernon R, Schief WR, Baker D. (2011) *PLoS One.* 6(8):e24109.
- Watson JL, et al. (2023) *Nature.* 620(7976):1089–1100.
- Abramson J, et al. (2024) *Nature.* 630(8016):493–500.
- Dauparas J, et al. (2022) *Science.* 378(6615):49–56.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas 13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

EXPLORING THE ENZYMATIC PROTEIN SPACE USING LARGE LANGUAGE MODELS

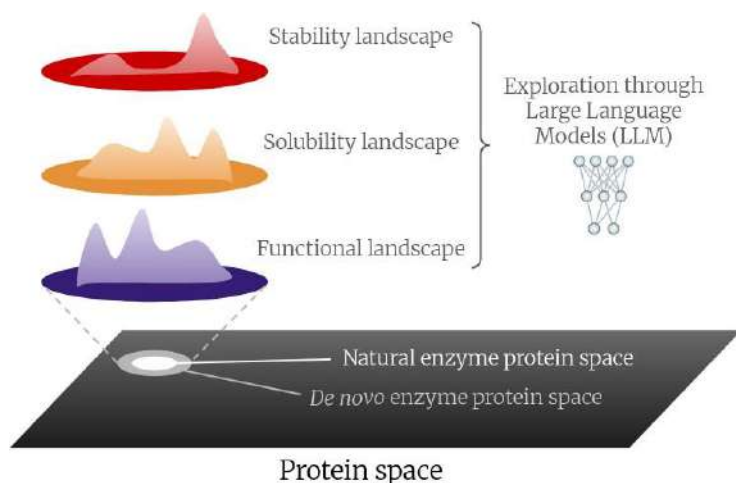
Diego Pérez-Villanueva & Sergio Romero-Romero

Department of Biochemistry and Structural Biology, Instituto de Fisiología Celular,
Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City 04510, dperez@ifc.unam.mx

Keywords: *Enzyme design, Protein sequence space, Enzyme fitness landscapes*

Abstract.

Over millions of years of evolution, nature has designed every protein found in living organisms (natural proteins). Currently, protein design aims to explore and understand the universal principles of proteins, with the ultimate goal of generating sequences that differ from those found in nature (*de novo* proteins), thereby expanding the protein space (1). Interestingly, the rules for protein folding and functionalization are encoded entirely in their amino acid sequences (2). Indeed, large language models (LLMs) have demonstrated not only the ability to learn these principles solely from protein sequences but also to apply them for *de novo* sequence generation (2-5). However, no comparative study exists that addresses if different LLMs are capable of expanding the known protein space with high-quality *de novo* sequences. To bridge this gap, we evaluated the performance *in silico* of different LLMs on generating globular, stable, soluble, and functional *de novo* sequences, using several enzyme families as model systems and different computational approaches to evaluate their performance. Our results show that LLMs effectively explore the protein space by generating high-quality *de novo* sequences, albeit with varying success rates. Overall, this work will serve as a stepping stone for the systematic exploration of the protein space to identify sequences with biotechnological and biomedical potential, pushing the boundaries of protein design.



Protein space. Schematic representation of the protein space (black background), where each coordinate in this two-dimensional projection corresponds to a unique sequence differing by at least one amino acid residue. The white circle represents the natural evolutionary space of an enzyme, which has been expanded by AI-based large language models, illustrated by the gray halo. Enzyme *fitness* landscapes (e.g., stability, solubility, and functional landscapes) are intrinsically connected to their corresponding regions in the protein space.

Acknowledgements. This work was supported by SECIHTI (Grant: CBF2023-2024-271), PAPIIT UNAM (Grant: IA203925), and SECIHTI (Ph.D. fellowship for D.P.-V.: 1224622)

References.

1. Listov, D., Goverde, C. A., Correia, B. E., & Fleishman, S. J. (2024). *Nature reviews. Molecular cell biology*. 25(8), 639–653.
2. Lin, Z., Akin, H., Rao, R., Hie, B., Zhu, Z., Lu, W., Smetanin, N., Verkuil, R., Kabeli, O., Shmueli, Y., Dos Santos Costa, A., Fazel-Zarandi, M., Sercu, T., Candido, S., & Rives, A. (2023). *Science*. 379(6637), 1123–1130.
3. Romero-Romero, S., Braun, A. E., Kossendey, T., Ferruz, N., Schmidt, S., & Höcker, B. (2024). *bioRxiv*.
4. Verkuil, R., Kabeli, O., Du, Y., Wicky, B. I. M., Milles, L. F., Dauparas, J., Baker, D., Ovchinnikov, S., Sercu, T., & Rives, A. (2022). *bioRxiv*.
5. Nijkamp, E., Ruffolo, J. A., Weinstein, E. N., Naik, N., & Madani, A. (2023b). *Cell Systems*. 14(11), 968-978.e3.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

ESTUDIO *IN SILICO* DE LA INTERACCIÓN DE MOLÉCULAS HETEROBIFUNCIONALES CON LOS COMPLEJOS ASK1-PP5 y ASK1-VHL

Miguel Ángel Santos-Contreras (santosmiguelangel.119@gmail.com) (1) y Rodrigo Aguayo-Ortiz (rodaguayo@quimica.unam.mx) (1)

1) Laboratorio 111, Conjunto E, Departamento de Farmacia, Facultad de Química, UNAM, Ciudad de México 04510, México.

Palabras clave: cinasas, moléculas heterobifuncionales, PROTACs, PHORCs, cáncer

Resumen.

La cinasa reguladora de la señal de apoptosis 1 (ASK1), también conocida como MAP3K5, es una transferasa involucrada en la respuesta a estrés celular, como daño en el ADN o estrés oxidante, activando vías que pueden llevar a la apoptosis o a la inflamación. ASK1 juega un papel crucial en la regulación de procesos celulares relacionados con enfermedades, incluyendo el cáncer y enfermedades neurodegenerativas, haciéndolo un blanco terapéutico atractivo [1]. En particular, la hiperfosforilación de ASK1 en la posición Thr838 (p-ASK1T838) mantiene a esta enzima activa, acelerando el desarrollo del cáncer gástrico. Normalmente, la proteína PP5 desfosforila específicamente p-ASK1T838 para reducir su actividad. Sin embargo, en ciertos tumores, PP5 no funciona correctamente debido a un mecanismo de autoinhibición, lo que conlleva a que p-ASK1T838 se mantenga en niveles elevados. Estudios recientes han propuesto el uso de moléculas heterobifuncionales como las quimeras de inducción proteolítica (PROTACs) y las quimeras reclutadoras de fosfatasa (PHORCs) para modular la actividad de las cinasas [1,2]. En este trabajo, se estudió la interacción de un PHORC constituido por un inhibidor de ASK1 (TCASK-10) y un activador de PP5 (PS5A-2) en la formación del complejo ASK1-PP5, así como de un PROTAC constituido por el mismo inhibidor de ASK1 y un reclutador de VHL (VHL-021) mediante el uso de métodos computacionales (**Figura 1**). La información proporcionada servirá como base para el diseño de nuevos fármacos con mecanismos novedosos con actividad anticancerosa.

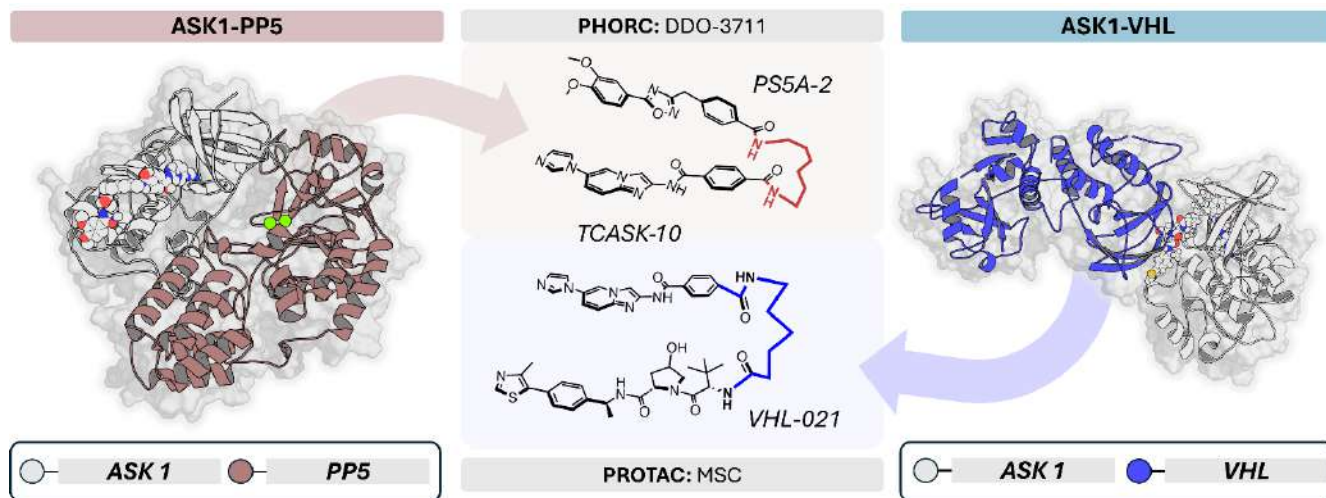


Figura 1. Complejos ternarios ASK1-VHL y ASK1-PP5, y sus respectivos ligandos el PROTAC MSC y el PHORC DDO-3711.

Agradecimiento. Miguel Ángel Santos Contreras agradece al SECIHITI por la beca otorgada (No. CVU: 1343861). La investigación fue realizada gracias al Programa UNAM-PAPIIT (IA201424) y al Programa de Apoyo a la Investigación y el Posgrado (PAIP 5000-9197).

Bibliografía.

- [1] Zhang Q, Wu X, Zhang H, Wu Q, Fu M, Hua L, *et al.* *J Am Chem Soc.* **2023**, 145(2): 1118–28.
- [2] Law R, Nunes J, Chung C, Buda K, *et al.* *J Ang Chem Int.* **2021**, 60(40): 23327–23334.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas 13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

ESTUDIO *IN SILICO* DE LA ENZIMA RelA DE *Klebsiella pneumoniae* COMO ESTRATEGIA PARA EL DISEÑO RACIONAL DE NUEVOS ANTIBACTERIANOS

Sergio Ramírez-Carrillo (318213314@quimica.unam.mx), ¹ Guillermo Goode-Romero ¹ Rodrigo Aguayo-Ortiz (rodaguayo@quimica.unam.mx) ¹

¹ Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México 04510, México.

Palabras clave: *Klebsiella pneumoniae*, RelA, resistencia, relacina.

Resumen.

Debido al gran aumento de bacterias altamente resistentes a los antibióticos en las últimas décadas, derivado de la automedicación y del mal uso de antibióticos, ha resurgido la necesidad de buscar alternativas terapéuticas contra estos microorganismos. Nuestro grupo de investigación se ha enfocado en el tratamiento de infecciones causadas por la bacteria *Klebsiella pneumoniae*, la cual está asociada a padecimientos urinarios y respiratorios en humanos. Para abordar esta problemática, hemos seleccionado como blanco terapéutico a la enzima RelA (**Figura 1A**), encargada de producir a la alarmona (p)ppGpp como respuesta a la presencia del t-RNA desacilado en el sitio A del ribosoma.⁽¹⁾ Esta alarmona está encargada, entre otras cosas, de generar una respuesta al estrés, que al final tiene como consecuencia la producción de biopelículas.⁽²⁾ En este trabajo se estudió el comportamiento dinámico de la proteína en su forma apo y frente a su sustrato natural (GDP) e inhibidores (ej. relacina) (**Figura 1A**). Las simulaciones de dinámica molecular mostraron que la proteína presenta dos conformaciones cerrada (*closed*) y abierta (*open*) de sus dominios sintetasa e hidrolasa dependiendo del ligando al que se encuentre unido (**Figura 1B**). Los resultados de este estudio permitirán la identificación de nuevos inhibidores de RelA como alternativa al tratamiento de las infecciones causadas por *K. pneumoniae*.

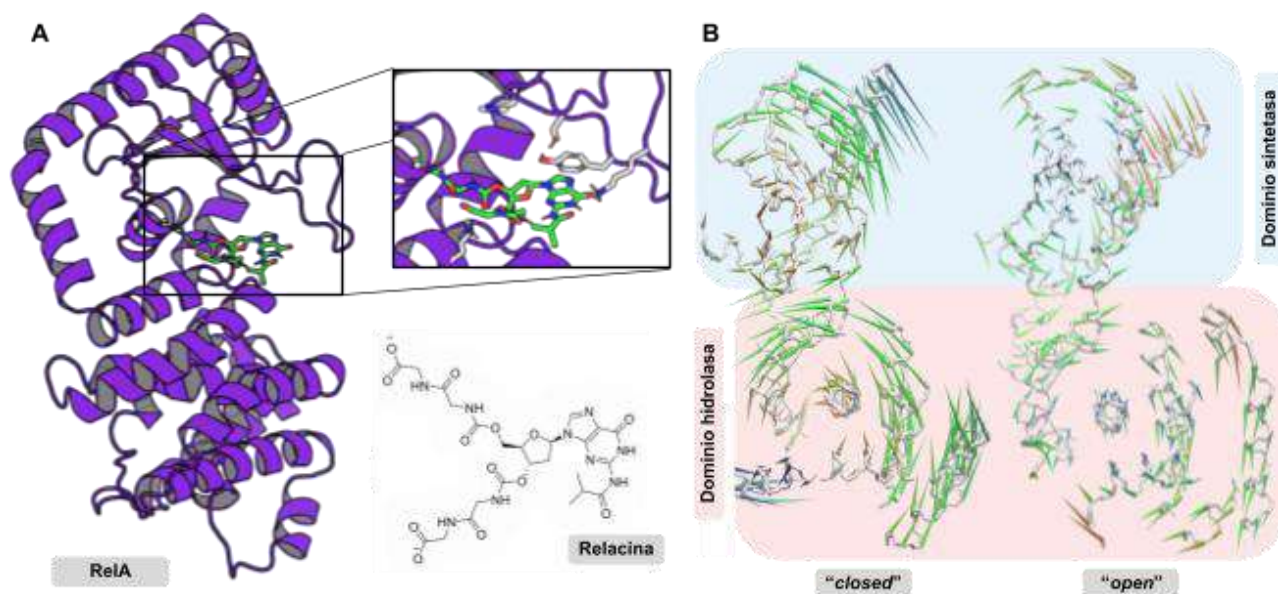


Figura 1. A. Acercamiento al sitio de unión del complejo RelA-relacin, donde se muestran algunos de los residuos más importantes para formar interacciones con el ligando, y en la parte inferior se observa la estructura química 2D de la relacin. **B.** Representación gráfica del análisis de componentes principales de la proteína en su forma "closed" en presencia del ligando GDP y su forma "open" en presencia del ligando relacin.

Agradecimiento. Al Programa de Apoyo a la Investigación y al Posgrado, PAIP 5000-9197.

Bibliografía.

1. Brown A, Fernández I, Gordiyenko Y, Ramakrishnan V. (2016) *Nature*. Vol (534): 277-280.
2. Brandi A, Giangrossi M, Fabbretti A, Falconi M. (2020) *Microorganisms*. Vol (8).



IX Congreso de Físicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

CARACTERIZACIÓN *IN SILICO* DE LA UNIÓN COVALENTE DE AGENTES INDUCTORES DE LA DEGRADACIÓN DE LA TUBULINA

Efren Mar-Antonio¹ (qfbmarantonio@gmail.com) (1,2), Laura Domínguez-Dueñas¹ (1), Rodrigo Aguayo-Ortiz² (rodaguayo@quimica.unam.mx) (2)

(1) ¹Departamento de Físicoquímica, Facultad de Química, UNAM, Ciudad de México 04510, México

(2) ²Departamento de Farmacia, Facultad de Química, UNAM, Ciudad de México 04510, México

Palabras clave: Microtúbulos, Agentes covalentes, Degradación, Sitio de la colchicina

Resumen.

Los **microtúbulos** son estructuras compuestas por heterodímeros de **$\alpha\beta$ -tubulina**, los cuales desempeñan un papel fundamental en múltiples funciones celulares. Gracias a su participación en el proceso de división celular, estas estructuras han sido reconocidas como un **blanco terapéutico** para el tratamiento de diferentes enfermedades, especialmente el cáncer. En la actualidad, los agentes dirigidos contra microtúbulos son empleados con este fin; sin embargo, sus aplicaciones se ven limitadas por **toxicidad** dependiente de la dosis y **resistencia** farmacológica adquirida.¹ En los últimos años se ha reportado una nueva clase de agentes dirigidos contra microtúbulos, los cuales son capaces de desestabilizar la estructura promoviendo su desnaturalización y **degradación** vía el sistema **ubiquitina-proteasoma** al unirse de manera covalente al residuo de **cisteína 239** de la **β tubulina** (β C239), presente en el **sitio de la colchicina**.^{2,3} En este proyecto, se llevó a cabo la **caracterización computacional** del modo de unión de diferentes compuestos de los cuales existe evidencia experimental de su unión covalente a β C239 empleando diferentes metodologías computacionales, como acoplamiento molecular covalente y dinámica molecular (**Figura 1**). Los resultados de este estudio serán de gran importancia para determinar el **modo de unión** de los compuestos en el sitio, el posible **mecanismo de acción** a nivel molecular y, finalmente, **diseñar nuevos agentes covalentes** inductores de la degradación de tubulina que sean capaces de sobreponerse a los diferentes fenómenos de resistencia.

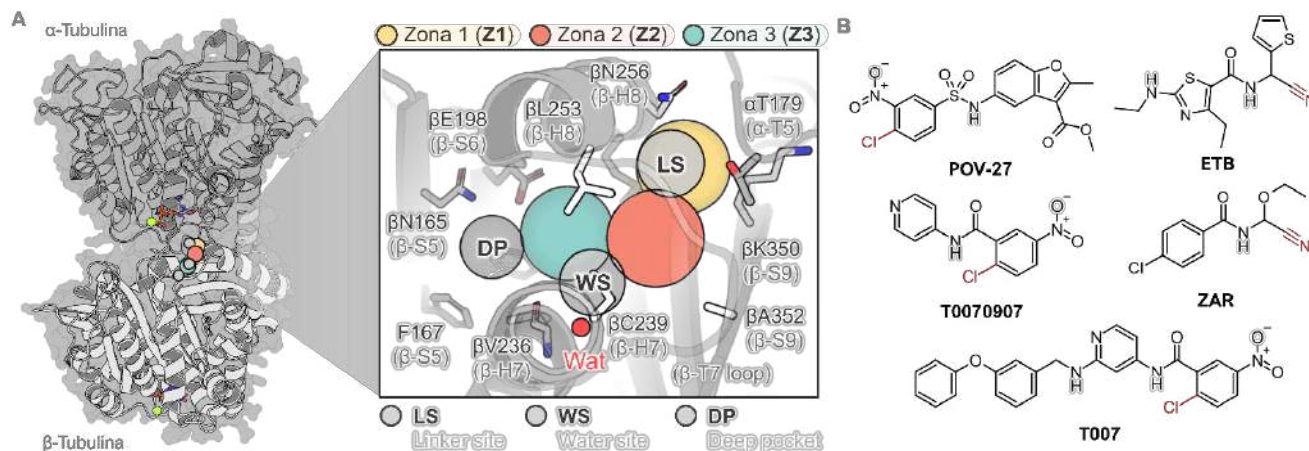


Figura 1. (A) Representación de la estructura tridimensional del heterodímero de $\alpha\beta$ -tubulina y del sitio de unión de la colchicina, resaltando las diferentes regiones en las que se divide el sitio y los aminoácidos que lo componen. (B) Estructura química de los agentes de unión covalente a β C239.

Agradecimiento.

Efren Mar-Antonio agradece al SECIHTI por la beca otorgada (CVU. 1348104). La investigación fue realizada gracias al Programa UNAM-PAPIIT (IA201424) y al Programa de Apoyo a la Investigación y el Posgrado (PAIP 5000-9197).

Bibliografía.

- (1) Steinmetz, M. O., Prota, A. E. (2018). *Trends in Cell Biology*. Elsevier Ltd, 28(10):776-792
- (2) Zhang, Y. F., et al. (2023). Academic Press Inc. 139(106684).
- (3) Zhang, C., et al. (2023). *Journal of Medicinal Chemistry*, 66(19):13354-13368.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas 13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

FROM SEQUENCE SPACE TO FUNCTION: BRIDGING RATIONAL DESIGN, AI, AND EXPERIMENTAL VALIDATION IN PROTEIN DESIGN

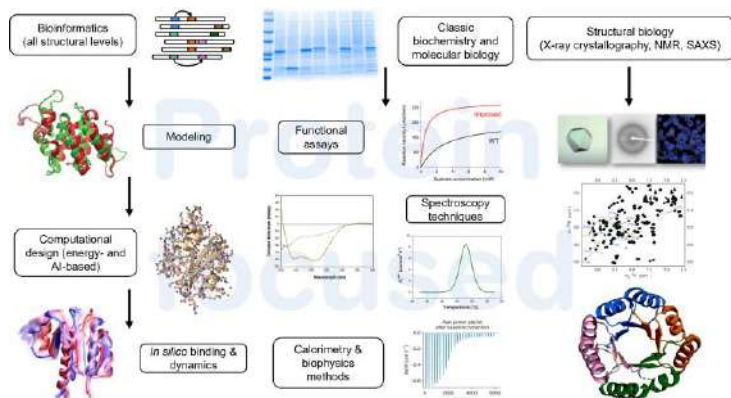
Francisco Javier de la Mora Bravo & Sergio Romero-Romero

Department of Biochemistry and Structural Biology, Instituto de Fisiología Celular,
Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City 04510, fbravo@ifc.unam.mx

Keywords: AI-based protein design, Rational & de novo protein design, Protein evolution

Abstract.

The Protein Biochemistry, Evolution & Design Lab focuses on understanding and designing proteins by combining computational innovation with experimental validation. The field of natural language processing (NLP) has achieved remarkable progress, particularly through the development and utilization of large pre-trained language models (1). These sophisticated models represent the ability to understand and generate human-like text based on training from extensive datasets. Interestingly, the protein alphabet is composed of twenty common amino acids, each represented by a single character. Proteins, in their primary structure, form sequences of letters, drawing a natural parallel to the structure of written language. Therefore, Protein Large Language Models (pLLMs) have been proposed to capture millions of years of evolutionary information through supervised and unsupervised pretraining on protein databases. A central theme of our research is the use of these pLLMs and other deep learning frameworks to design novel proteins and enzymes, improving their functionality, stability, and solubility (2-3). Our computational toolkit includes generative pLLMs, deep neural networks, docking and dynamic analyses, structure prediction, and multi-level bioinformatics. With these methods, we explore uncharted regions of protein sequence space, beyond what natural evolution has sampled, to create *de novo* proteins with novel architectures and catalytic activities (4). These computational strategies are tightly integrated with a robust experimental platform encompassing molecular biology, protein expression and purification, directed evolution, functional assays, calorimetry, spectroscopy, and structural biology techniques such as X-ray crystallography and nuclear magnetic resonance. This synergy allows us to generate and iteratively optimize protein designs, focusing on challenging targets such as enzymes, soluble redox-active proteins, protein-based therapeutics, biosensors, DNA polymerases, and *de novo* folds. We are also interested in understanding the evolutionary principles that underlie protein structure & function, and in applying these insights to inform rational design. By navigating the intersection of evolution, artificial intelligence, and biochemistry, our lab aims to create functional biomolecules with applications in biotechnology, synthetic biology, and medicine, expanding both the sequence and functional landscapes of proteins far beyond natural limits.



Overview of the Integrative Workflow at the Protein Biochemistry, Evolution & Design Lab. Our research group combines state-of-the-art computational and experimental approaches to investigate and design proteins with novel topologies, properties, and functions.

Acknowledgements. This work was supported by SECIHTI (Grant: CBF2023-2024-271) and PAPIIT UNAM (Grant: IA203925).

References.

1. Khakzad, H. et al., *Cell Syst* 14(11): 925 (2023).
2. Romero-Romero, S. et al., Preprint at <https://doi.org/10.1101/2024.11.10.622869> (2024).
3. Romero-Romero, S., Lindner, S., Ferruz, N., *Cold Spring Harb Perspect Biol* 15(11):a041471 (2023).
4. Romero-Romero, S., et al., *J Mol Biol* 433(18):167153 (2021).



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

DISEÑO COMPUTACIONAL Y CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DE FITASAS

Rogelio Rosas¹, Isabel Velázquez¹, D. Alejandro Fernández Velasco¹¹Facultad de Medicina, UNAM, Universidad 3000, Alcaldía Coyoacán, Ciudad de México, México.

E-mail: rogelio.rosas@ciencias.unam.mx

*Palabras clave: Fitasa, estabilidad, diseño.***Resumen.**

El fósforo (P) es un elemento esencial para la vida, desempeñando un papel crucial en diversos procesos biológicos, incluyendo la síntesis de cofactores, moléculas de alta energía y ácidos nucleicos. Sin embargo, el fósforo es un recurso no renovable y su disponibilidad en suelos agrícolas puede ser limitada. El fitato es la principal forma de almacenamiento de fósforo en las semillas de las plantas; sin embargo, no es fácilmente digerible por los animales monogástricos, lo que limita la disponibilidad de fósforo para su nutrición. En el contexto agroecológico, el fitato puede tener un impacto negativo en la eficiencia del uso del fósforo y en la salud animal. Las fitasas son enzimas capaces de degradar el fitato y liberar el fósforo que contiene. La suplementación de dietas animales con fitasas puede mejorar la digestibilidad del fósforo y la absorción de nutrientes, lo que se traduce en un mejor crecimiento y desempeño animal. Las fitasas conocidas se agrupan en cuatro categorías estructurales: fitasas ácidas púrpura (PAPhy), fitasas de fosfotirosina (PTPhy), fitasas hélice-propela (BPPHy) y fitasas ácidas de histidina (HAPhy).

Con el fin de diseñar variantes enzimáticas con propiedades mejoradas, en este trabajo se emplearon herramientas computacionales de predicción del cambio en la estabilidad como resultado de cambios en la secuencia. En particular, se utilizaron los métodos PROSS2 y DeepDDG de manera complementaria para proponer mutaciones que podrían aumentar la estabilidad estructural de las fitasas sin comprometer su actividad catalítica. Estos enfoques permiten una predicción racional basada en modelos estructurales, lo cual resulta especialmente útil para aplicaciones industriales donde se requieren enzimas robustas y eficientes.

La fitasa AppA de *Escherichia coli*, caracterizada en la década de 1990, es una enzima tipo HAPhy ampliamente estudiada por su alta eficiencia catalítica en condiciones ácidas (pH óptimo ~4,5) y temperatura óptima entre 58–60 °C, aunque con estabilidad térmica limitada por encima de 65 °C. Tiene un peso molecular de ~45 kDa y depende de residuos de histidina y ácido aspártico para su actividad. Los parámetros cinéticos reportados incluyen un valor de Km de aproximadamente 150–200 μM y una Kcat en el rango de 300–450 s⁻¹ frente al fitato, lo que refleja su alta afinidad y velocidad de reacción. Ha sido ampliamente utilizada como modelo para ingeniería enzimática y aplicaciones industriales desde su caracterización estructural en 1996.

En este trabajo se presentará la caracterización calorimétrica y espectroscópica de la fitasa AppA de *E. coli*, enfocada en su estabilidad estructural. También se caracterizarán variantes múltiples generadas mediante los métodos computacionales PROSS2 y DeepDDG, seleccionadas por su potencial para mejorar la estabilidad sin afectar la actividad enzimática.

Agradecimiento. Apoyado por Facultad de Medicina UNAM y Proyecto PAPIIT-UNAM IN225525.

Bibliografía.

1. Gen, X., et al. (2013). Annual Review of Animal Biosciences, Vol 1, 283-309.
2. Scott, B., Koh, K., Rix, G. (2024). Current Research in Structural Biology, Vol 7.
3. Goldenzwig, A., et al. (2016). Molecular Cell, Vol 63, 2, 337-346.
4. Cao, H., et al. (2019). Journal of Chemical Information and Modeling, Vol 59, 4, 1508-1514.
5. Acquistapace, I, et al. (2022). International Journal of Molecular Sciences. Vol 23.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas 13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

Búsqueda de proteínas clave para el proceso de regeneración tisular en *Ambystoma mexicanum*

Aylin del Moral Morales, Andrea Beatriz Figueroa Ramírez

Unidad Cuajimalpa, Departamento de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma Metropolitana,
Ciudad de México, México. CP. 05348.

Responsable: aylin.delmoral@cua.uam.mx

Palabras clave: regeneración tisular, transcriptómica, Ambystoma mexicanum

Resumen.

El ajolote mexicano (*Ambystoma mexicanum*) es un organismo modelo excepcional en el campo de la biología regenerativa, debido a su capacidad única para regenerar estructuras complejas como extremidades, médula espinal, pulmones, corazón e incluso partes del cerebro y los ojos. Este proceso depende de la formación del blastema, una estructura transitoria compuesta por células desdiferenciadas que adquieren un estado similar al pluripotente. La regeneración está guiada por una regulación genética precisa, en la que participan factores de transcripción clave responsables de activar o inhibir genes específicos relacionados con la proliferación, diferenciación y organización celular¹.

El genoma del ajolote, uno de los más grandes secuenciados hasta la fecha, con más de 30 mil millones de pares de bases, alberga una compleja red de elementos reguladores y factores de transcripción que sustentan su extraordinaria capacidad regenerativa². A pesar de los avances recientes, los mecanismos moleculares y las redes génicas que orquestan este proceso aún no se comprenden completamente. El presente estudio tiene como objetivo explorar e identificar proteínas clave para el proceso de regeneración utilizando herramientas de análisis transcriptómico.

Para ello, se recolectaron datos de experimentos de secuenciación masiva de RNA disponibles en la literatura. Se realizó un análisis transcriptómico que permitió identificar un programa transcripcional específico asociado a la regeneración, incluyendo procesos como remodelación ósea, angiogénesis, comunicación intercelular y regulación transcripcional. Entre los genes diferencialmente expresados en tejido regenerativo, en comparación con ajolotes envejecidos sin signos de regeneración, se identificaron cuatro candidatos destacados: *FSTL1*, *ADAMTS17*, *GPX7* y *CTHRC1*. Análisis estructurales y de homología revelaron que estos genes podrían codificar para proteínas funcionales que están conservadas en otros vertebrados, lo que sugiere su participación en funciones esenciales del desarrollo y la reparación tisular³.

Así mismo, un análisis de sitios de unión a factores de transcripción, reveló una serie de proteínas que destacan como potenciales reguladores transcripcionales de los genes positivamente regulados durante el proceso de regeneración. Nuestros resultados sugieren que hay un set de proteínas que juegan un papel fundamental en el proceso de regeneración del ajolote, además de que es posible identificar factores de transcripción clave que podrían estar regulando dicha respuesta regenerativa. Estos hallazgos no solo permiten profundizar en la comprensión de los mecanismos moleculares que sustentan la regeneración en *Ambystoma mexicanum*, sino que también abren nuevas perspectivas para el estudio de procesos regenerativos en otros vertebrados. A largo plazo, el conocimiento generado podría contribuir al desarrollo de estrategias innovadoras en medicina regenerativa, con aplicaciones potenciales en la reparación de tejidos en humanos.

Referencias:

1. Sámano, C. et al. Genomics and epigenomics of axolotl regeneration. *Int J Dev Biol* 65, 465–474 (2021).
2. McCusker, C. et al. The axolotl limb blastema: cellular and molecular mechanisms driving blastema formation and limb regeneration in tetrapods. *Regeneration (Oxf)* 2, 54–71 (2015).
3. del Moral-Morales, A. et al. Key proteins for regeneration in *A. mexicanum*: Transcriptomic insights from aged and juvenile limbs. *bioRxiv* (2023)



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

DESCUBRIENDO EL POTENCIAL DE LA LECTINA DE TÉPARI CONTRA EL COVID-19: ANÁLISIS *IN SILICO* DE SUS OBJETIVOS MOLECULARES PRESENTES EN EL SARS-COV-2

José Luis Castro Guillén¹; Gabriel Herrera Pérez¹; Sergio Constantino Yáñez¹; Teresa García Gasca². ¹Tecnológico Nacional de México / Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. Carretera Irapuato Silao Km. 12.5; 36821 Irapuato, Guanajuato, México. ²Universidad Autónoma de Querétaro. Facultad de Ciencias Naturales, 76230. Querétaro, Querétaro, México.
jose.cg1@irapuato.tecnm.mx

Palabras clave: Lectina recombinante, SARS-CoV-2, docking molecular

Resumen.

El coronavirus del síndrome respiratorio agudo (SARS-CoV-2) fue el causante de una crisis pandémica global en donde más de 530 millones de personas fueron infectadas y se reportaron tan solo entre 2020 y 2021, cerca de 15 millones de decesos. Se probaron numerosas estrategias para detener la pandemia siendo las más exitosa el desarrollo de vacunas de RNA mensajero de la proteína de la espícula del coronavirus SARS-CoV-2. Esta proteína, denominada proteína S, es un trímero que se encuentra altamente glicosilado con 66 N-glicosilaciones y 6 O-glicosilaciones y es la responsable del reconocimiento del virus hacia su receptor en las células, su fusión y su posterior entrada (1). La proteína de la espícula de este virus, Esto es especialmente importante debido a que pueden utilizarse proteínas con afinidad a sus glicanos como estrategias para el tratamiento de la infección por el SARS-CoV-2. Dentro de este grupo de proteínas se encuentran las lectinas, las cuales son proteínas de origen no inmune, que se unen específicamente a carbohidratos, así como también tienen la capacidad de aglutinar células sanguíneas. Recientemente se ha reportado la actividad antiviral de lectinas de diferentes fuentes (2). Un ejemplo sobresaliente del efecto antiviral que poseen las lectinas de leguminosas sobre el SARS-CoV-2 es la concanavalina-A, de la cual se ha reportado que no solamente impide que el virión se una a las células, impidiendo la infección, sino también es capaz de aglutinar a las partículas virales, teniendo un gran potencial como agente de prevención y protección del COVID-19 (3). Además, uno de los estudios *in silico* realizados para determinar la interacción de lectinas con el SARS-CoV-2 incluyen al modelamiento de RNA mensajero de lectinas de banana, en donde el acoplamiento molecular se determinó en la interacción proteína-proteína de la lectina con la proteína de la espícula del virus (4). Por otro lado, una lectina de leguminosas, la lectina del frijol Tépari (*Phaseolus acutifolius*) ha mostrado tener efectos citotóxicos contra diferentes líneas celulares cancerígenas, siendo las células de cáncer de colon y de mama las más sensibles a su efecto debido principalmente a la inducción de la apoptosis (5). Debido a las propiedades antivirales contra el SARS-CoV-2 que han tenido otras lectinas de leguminosas, existe un gran potencial de la lectina de Tépari contra este virus. Es por ello que, el objetivo de este trabajo fue determinar los N-glicanos asociados con la proteína S del SARS-CoV-2 que pueden ser los objetivos moleculares de la lectina del frijol Tépari y con ello, verificar su potencial para el tratamiento contra este virus.

Agradecimiento.

Se agradece a la Secretaría de Ciencias, Humanidades Tecnología e Innovación (SECIHTI) por el apoyo recibido durante la realización de este trabajo.

Bibliografía.

1. Watanabe Y, Allen JD, Wrapp D, McLellan JS, Crispin M. (2020). *Science*. 369(6501): 330-333.
2. Mitchell CA, Ramessar K, O'Keefe BR. (2017). *Antiviral Res.* 142: 37-54.
3. Klevanski M, Kim H, Heilemann M, Kuner T, Bartenschlager R. (2024). *Antiviral Res.* 225:105856.
4. Hessel SS, Dwivany FM, Zainuddin IM, Wikantika K, Celik I, Emran TB, Tallei TE. (2023). *J Genet Eng Biotechnol.* 21(1):148.
5. Moreno-Celis U, López-Martínez FJ, Cervantes-Jiménez R, Ferríz-Martínez RA, Blanco-Labra A, García-Gasca T. (2020). *Molecules.* 25(5): 1021.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

EXPLORANDO EL ESPACIO QUÍMICO Y MECANISMO DE REACCIÓN DE INHIBIDORES COVALENTES DE LA PROTEASA PRINCIPAL DEL VIRUS SARS-CoV-2

Samuel Sánchez-Maza (samuelsanchzm16@gmail.com) (1), Mario Carreón Escalante (1), José Luis Medina-Franco (1), Oscar Palomino-Hernández (2) y Rodrigo Aguayo-Ortiz (rodaguayo@quimica.unam.mx) (1)

- 1) Laboratorio 111, Conjunto E, Departamento de Farmacia, Facultad de Química, UNAM, Ciudad de México 04510, México.
- 2) Fachbereich 09, Departamento de Química, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Mainz 55128, Alemania.

Palabras clave: inhibidor covalente, espacio químico, M^{pro} , QM/MM.

Resumen.

Durante mucho tiempo, el uso terapéutico de compuestos de unión covalente (CBs, *covalent binders*) fue considerado riesgoso debido a sus posibles efectos adversos, como toxicidad, daño celular o respuestas inmunológicas. Sin embargo, esta percepción ha cambiado notablemente, como lo demuestra el aumento significativo en la aprobación de fármacos covalentes en la última década. Los CBs ofrecen ventajas relevantes, ya que su unión con el blanco terapéutico permite una mayor potencia, selectividad mejorada y un efecto farmacológico más prolongado. No obstante, su diseño racional demanda información que permita explorar tanto los perfiles de reacción como la similitud estructural de este tipo de compuestos (1). En este trabajo, se presenta una base de datos de CBs actualizada y cuidadosamente curada con información de 3,287 CBs depositados en el *Protein Data Bank* (PDB). Para demostrar su utilidad, se evaluó el espacio químico de inhibidores covalentes de la proteasa principal (M^{pro}) del virus SARS-CoV-2, agente etiológico de la enfermedad COVID-19, encontrando información valiosa que permite plantear la unión covalente del compuesto 13c, cuya actividad anti- M^{pro} ha sido previamente confirmada (2). Además, empleando técnicas computacionales clásicas (acoplamiento y dinámica molecular covalente) y métodos híbridos de QM/MM (*Quantum Mechanics/Molecular Mechanics*), se describe el posible mecanismo de reacción del compuesto 13c y el compuesto de referencia 419 en el sitio activo de la M^{pro} , sentando las bases para el desarrollo de futuros fármacos contra este blanco terapéutico (Figura 1).

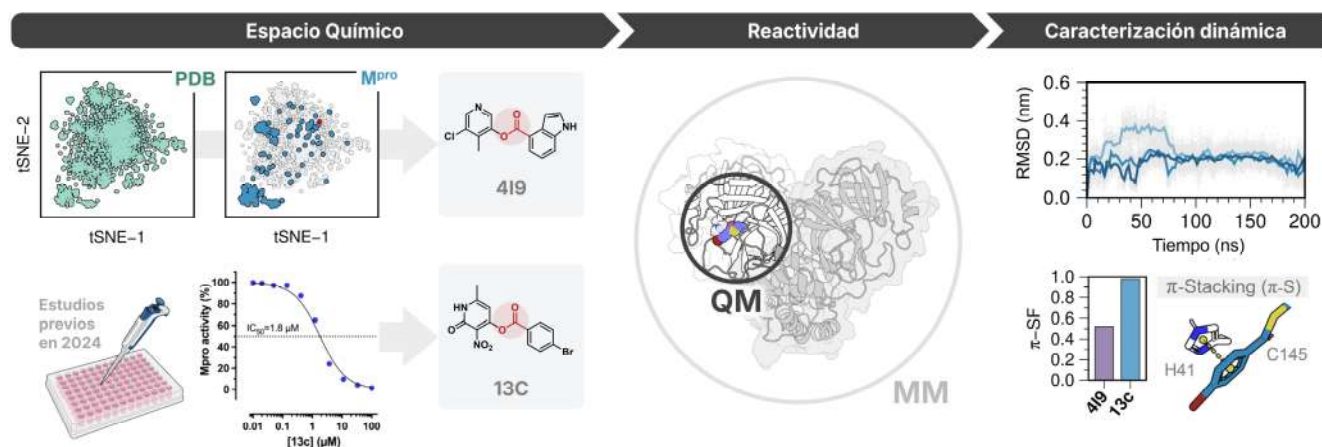


Figura 1. Exploración del espacio químico y descripción dinámica del mecanismo anti- M^{pro} de los compuestos 419 y 13c.

Agradecimiento. La investigación fue realizada gracias al Programa UNAM-PAPIIT (IA201424) y al Programa de Apoyo a la Investigación y el Posgrado (PAIP 5000-9197). A la UNAM-DGTIC por el uso de la supercomputadora "Miztli" (LANCAD-UNAM-DGTIC-398).

Bibliografía.

- (1). T. Tamura, M. Kawano, I. Hamachi, *Chem. Rev.* 125, 1191–1253 (2025).
- (2). K. E. Juárez-Mercado et al., *Pharmaceuticals*. 17, 240 (2024).



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

CONSTRUCCIÓN DE NANOPARTÍCULAS ANTIMICROBIANAS BASADAS EN LA PROTEÍNA TRIMODULAR CSB FUSIONADA AL PÉPTIDO DERMICIDINA.

Santos Ramírez-Carreto, Rosa Elena Cárdenas-Guerra, Jonathan Giovanni Bello-González, Andrés Clairin-Savage, Jesús Ortiz-Saucedo & Armando Hernández-García.

Instituto de Química. Departamento de química de biomacromoléculas. Laboratorio de Ingeniería Biomolecular y Bionanotecnología. Universidad Nacional Autónoma de México. CDMX. C.P. 04510.
postdocbionano@iquimica.unam.mx

Palabras clave: Péptidos antimicrobianos, nanopartículas proteicas, proteínas recombinantes.

Resumen.

La creciente incidencia de microorganismos patógenos multirresistentes representa un desafío urgente para los sistemas de salud, debido a la disminución progresiva de la eficacia de los antibióticos convencionales. Los péptidos antimicrobianos (PAMs) emergen como alternativas prometedoras gracias a su amplio espectro de acción y baja propensión a inducir resistencia [1]. No obstante, su aplicación clínica enfrenta limitaciones relacionadas con la toxicidad en células eucariotas, la susceptibilidad a proteasas y el alto costo de producción. En este contexto, el diseño de plataformas proteicas autoensamblables ofrece un enfoque atractivo para mejorar la estabilidad y funcionalidad de los PAMs. En este trabajo se produjo y se caracterizó una proteína recombinante capaz de formar nanopartículas (NPs) con actividad antimicrobiana a través de la fusión de las secuencias nucleotídicas del PAM Dermicidina (DM) y de una proteína trimodular C4-S10-B (TB), con capacidad de autoensamblarse en nanorodillos (NRs) de aproximadamente 100 nm [2,3]. Las secuencias codificantes de TB y DM-TB se clonaron en el vector pPIC9 y la producción de las proteínas se realizó en *Komagataella phaffii* GS115 (antes *Pichia pastoris*). Las proteínas recombinantes fueron purificadas por precipitación diferencial con sulfato de amonio y acetona. La identidad de las proteínas fue verificada mediante SDS-PAGE y Western blot. La estructura secundaria fue analizada mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), y la formación de nanopartículas se evaluó mediante microscopía de fuerza atómica (AFM). La posible citotoxicidad fue determinada en eritrocitos de conejo, y la actividad antibacteriana se evaluó frente a cepas Gram negativas y Gram positivas mediante el método de microdilución en placa.

DM-TB mostró mejor actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram negativas con respecto a Gram positivas. Los ensayos de hemólisis indicaron baja citotoxicidad. El análisis estructural por FTIR confirmó la presencia de estructura α -hélice en DM-TB, mientras que TB presentó señales correspondientes a estructura desordenada y lámina β . Nuestros resultados sugieren que es posible producir nanopartículas proteicas funcionales que despliegan PAMs activos con conservación de su actividad antimicrobiana y baja toxicidad sobre eritrocitos.

Agradecimiento.

Proyecto PAPIIT IN226624 Desarrollo y evaluación de bionanopartículas auto-ensambladas para el despliegue superficial de péptidos antimicrobianos. RECG agradece al SECIHTI por la beca posdoctoral otorgada (CVU: 207827). ACS agradece al SECIHTI por la beca doctoral otorgada (CVU: 740530). JOS agradece al SECIHTI por la beca doctoral otorgada (CVU: 1229033). SRC agradece a la DGAPA-UNAM por la beca posdoctoral otorgada.

Bibliografía.

1. Biswalo LS, da Costa Sousa MG, Rezende TMB, Dias SC and Franco OL (2018). *Front. Microbiol.* Vol (9):1-14.
2. Hernandez-Garcia A, Kraft DJ, Janssen AF, Bomans PH, Sommerdijk NA, Thies-Weesie DM, Favretto ME, Brock R, de Wolf FA, Werten MW, van der Schoot P, Stuart MC, de Vries R. (2014) *Nat Nanotechnol.* Vol (9):698-702.
3. Vargas EC, Stuart MAC, de Vries R, Hernandez-Garcia A. (2019). *Chem. Eur. J.* Vol (25): 11058-11065



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

EL ROL DE LAS CHAPERONINAS EN EL PLEGAMIENTO DE PROTEÍNAS: UN ENFOQUE DE CAMPO DE FUERZAS EFECTIVO Y SU APLICACIÓN *IN SILICO*

L.J. Peña Ortiz¹, V. Vargas Castro², J.M. Solano Altamirano²

lucia.penaort@alumno.buap.mx

¹Doctorado en Ciencias Químicas, Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México C.P. 72570

²Laboratorio de Modelado Matemático y Desarrollo de Software Científico, Facultad de Ciencias Químicas, Puebla, México C.P. 72570

Palabras clave: chaperoninas, fuerzas efectivas, dinámica molecular

Resumen.

Las proteínas son cadenas de aminoácidos que se pliegan en estructuras tridimensionales (3D) específicas para ejercer sus funciones. En las células, las chaperonas –que incluyen como subgrupo a las chaperoninas– ayudan a mantener la estructura y dinámica de un gran número de proteínas. Estos sistemas regulan el plegamiento nativo, e incluso corrigen proteínas malplegadas [1,2]. Comprender cómo funcionan es clave para entender el mecanismo detrás del plegamiento de las proteínas. En este trabajo, a través de simulaciones de dinámica molecular (DM), encontramos que el potencial electrostático de largo alcance (dentro de la chaperonina mitocondrial humana HSP60-HSP10) muestra un patrón no aleatorio como función de las coordenadas y permanece invariante sobre la trayectoria analizada [3]. Además, el campo eléctrico asociado, en el interior de la chaperonina, es casi unidireccional a lo largo de su eje principal. Estos hallazgos sugieren que el efecto en el interior de una chaperonina específica puede modelarse como un campo de fuerzas efectivo externo primordialmente unidireccional e invariante en el tiempo, que podría favorecer el plegamiento nativo de proteínas de interés en simulaciones de DM.

Agradecimiento. A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por la beca de doctorado otorgada (No. de apoyo 4003403).

Bibliografía.

1. Spiess C, et al. (2004) *Trends Cell Biol.* 14(11): 598–604.
2. W. A. Houry. (2014) *Springer New York Heidelberg Dordrecht London.* 1–485.
3. Peña Ortiz, L.J. (2022) Master's thesis: Faculty of Chemical Sciences, Meritorious Autonomous University of Puebla.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

“Análisis comparativo de proteínas inmunogénicas de *Mycobacterium tuberculosis* reconocidas por pacientes en fase activa y latente”

Andrea Yamile Pelcastre Gómez¹, Said K. Vazquez Leyva¹, Ma. Martha Pedraza¹, Sonia Mayra Pérez Tapia¹

¹Unidad de Desarrollo e Investigación en Bioterapéuticos, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, CDMX, México.

E-mail: apelcastreg1400@alumno.ipn.mx, yamile.pelcg@gmail.com

La tuberculosis (TB), causada por *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), continúa siendo un importante problema de salud pública a nivel mundial. Uno de los principales desafíos para su control es la identificación de antígenos inmunogénicos confiables que puedan ser utilizados como blancos terapéuticos, diagnósticos o vacunales, dada la complejidad estructural de la bacteria y su capacidad de evadir la respuesta inmune del hospedero. En este estudio, se empleó un enfoque experimental y bioinformático para identificar y caracterizar proteínas inmunogénicas de MTB cepa H37Rv, reconocidas por anticuerpos presentes en sueros de pacientes con tuberculosis activa (TBA) y tuberculosis latente (TBLI). Se analizaron muestras de suero humano mediante técnicas de Western blot e inmunoprecipitación frente al extractos proteicos de MTB, lo cual permitió identificar un mayor número de proteínas reconocidas en sueros de pacientes con TBA, sugiriendo una respuesta inmunitaria más activa en esta fase de la enfermedad. Posteriormente, las proteínas seleccionadas fueron identificadas mediante espectrometría de masas y caracterizadas funcionalmente a través de plataformas bioinformáticas, evaluando su localización subcelular, función biológica y presencia de epítomos predichos, tanto lineales como conformacionales, integrando predicciones estructurales tridimensionales generadas con AlphaFold. Los resultados revelaron una predominancia de proteínas asociadas al metabolismo central, la síntesis de lípidos de la envoltura celular, y mecanismos de evasión del sistema inmune, destacando la importancia de estos procesos en la patogénesis y persistencia bacteriana. Entre las proteínas identificadas, Rv3616c, Rv2007c y Rv2742c se propusieron como candidatos prometedores de blancos terapéuticos, debido a su alta inmunogenicidad, accesibilidad estructural y potencial implicación en procesos clave de virulencia y supervivencia de MTB.

Este enfoque integrador de técnicas proteómicas, análisis inmunológico comparativo y caracterización estructural-funcional permitió priorizar un conjunto de proteínas con alto valor inmunológico, que podrían ser empleadas como blancos para el desarrollo de anticuerpos monoclonales humanos, vacunas subunitarias o herramientas de diagnóstico serológico más específicas para diferenciar entre TB activa y latente. Este trabajo contribuye al avance en la identificación racional de blancos moleculares clave en la lucha contra la tuberculosis.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

REDISEÑO DE PROTEÍNAS DCAS12A HETERODIMERIZADAS CON LA PROTEASA DEL VIRUS GRABADO DEL TABACO PARA LA DETECCIÓN DE DNA

Mario Alanis-García & Armando Hernández García

Laboratorio de Ingeniería Biomolecular y Bionanotecnología, Departamento de Biomacromoléculas, Instituto de Química, UNAM, Ciudad Universitaria, CDMX CP 04510

Palabras clave: CRISPR-Cas, TEV protease, DNA detection

Resumen.

En los últimos años, los sistemas CRISPR-Cas se han posicionado como herramientas importantes tanto en la investigación como en el desarrollo de tratamientos médicos debido a sus propiedades de reconocimiento y corte dirigido de secuencias de ácidos nucleicos¹.

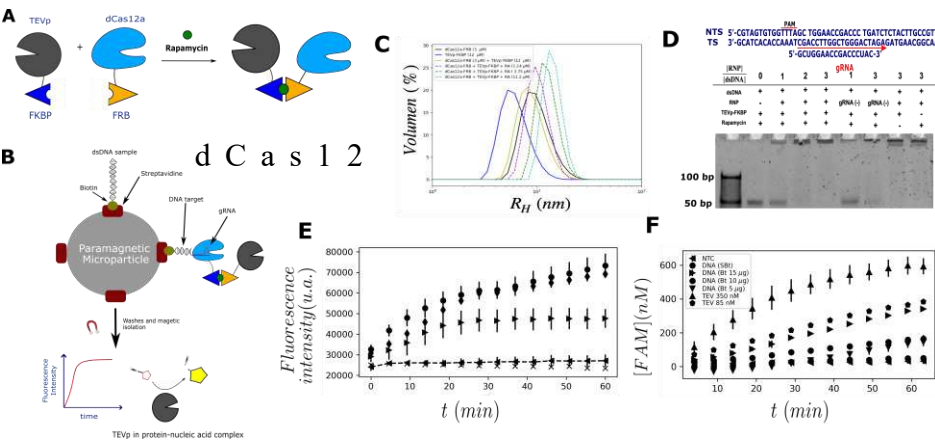


Figura 1

dCas12-FRB y TEVp-FKBP (Ver Fig. 1 A y B). Nuestra investigación está enfocada en el desarrollo de alternativas de sistemas de detección de ácidos nucleicos empleando fluorescencia. El sistema propuesto requiere el uso de micropartículas magnéticas recubiertas de estreptavidina así como de DNA biotinilado para su manipulación debido a que la proteasa TEV siempre está activa (Fig 1, C). El uso de esta nanopartículas facilita su manipulación e implementación en sistemas como chips y microfluídica. En este trabajo mostramos que ambas proteínas se heterodimerizan específicamente y dosis-dependiente en función de la concentración de rapamicina (Fig. 1 C), así mismo, se muestra que ambas fusiones preservan su capacidad individual cuando se heterodimerizan: dCas12-FRB reconoce específicamente una secuencia de DNA (ver Fig. 1 D) y TEVp-FKBP cataliza la hidrólisis específica del péptido reportero (ver Fig. 1 E). También hemos probado el sistema para la detección de una region del *gen N* del SARS-CoV-2. Los resultados muestran que el sistema desarrollado (ver Fig. 1 F) es capaz de detectar hasta 5 g de DNA de interés (570 nM) en una hora distinguiendo del NTC (agua), DNA sin biotinilar (SBt) aunque sea la misma secuencia que la biotinilada (Bt).

Agradecimiento. Agradecemos a SECIHTI CV 957207 por la beca otorgada.

Bibliografía.

- ¹Oakes L., Fellmann C., Rishi H., Taylor, K., Ren S., Nadler D., Yokoo R., Arkin A., Doudna J. and Savage, D. (2019) CRISPR-Cas9 Circular Permutants as Programmable Scaffolds for Genome Modification, *Cell* (16) 254-267.
- ²Banaszynski, L. A.; Liu, C. W.; Wandless, T. J. (2005) Characterization of the FKBP-Rapamycin-FRB Ternary Complex. *JACS* (127) 4715-4721.

Nosotros presentamos una alternativa modular y responsiva de la fusión de (Cas12 sin actividad de corte) con la proteasa del virus grabado del tabaco (TEVp) debido a que se emplea el sistema de heterodimerización inducido por rapamicina FRB/FKBP²:



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

DISEÑO IN SÍLICO DE FITASAS TERMOESTABLES MEDIANTE LIGANDMPNN Y VALIDACIÓN EXPERIMENTAL

Diego Samuel Torres Tobar, María Isabel Velásquez López, Daniel Alejandro Fernández Velasco, Laboratorio de Fisicoquímica e Ingeniería de Proteínas, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, CDMX, CP. 04510.

samuelt@ciencias.unam.mx

Palabras clave: tres palabras escritas en letra Arial cursiva, tamaño 10, centrado

Resumen.

Las fitasas (myo-inositol-hexafosfato fosfohidrolasas) catalizan la liberación secuencial de fosfato inorgánico a partir del ácido fítico, reduciendo su carácter antinutricional y mejorando la biodisponibilidad de fósforo en alimentación animal y humana. La mayoría de las fitasas microbianas y fúngicas empleadas industrialmente exhiben óptimos de actividad restringidos ($\text{pH} \approx 5$, $T \approx 55^\circ\text{C}$) y son susceptibles a la proteólisis durante la peletización de piensos. A pesar de múltiples rondas de mutagénesis racional y dirigida, el diseño de variantes con amplio rango de pH, mayor termo-tolerancia y cinética mejorada sigue siendo limitado por el tamaño de las bibliotecas y la complejidad de los sitios activos multifuncionales [1]. Con el reciente desarrollo de LigandMPNN, una red neuronal de diseño de proteínas que optimiza la compatibilidad entre estructura y ligando a nivel de secuencia, se abre la posibilidad de diseñar en silico fitasas con micro-ambientes catalíticos ajustados al ácido fítico y con redes de interacción estabilizantes [2]. Se realizó un alineamiento múltiple de secuencias (MSA) para calcular el grado de conservación de los residuos en una familia de proteínas homólogas. Se definió un umbral del 30% para identificar los aminoácidos menos conservados. Con base en este análisis, se delimitó estructuralmente el sitio activo como la región comprendida dentro de un radio de 5 Å alrededor del sustrato. Para preservar la integridad funcional de esta región, se utilizó LigandMPNN para generar 100 secuencias variantes, manteniendo sin mutación los residuos ubicados dentro del sitio activo. Las secuencias generadas fueron evaluadas mediante predicción estructural con AlphaFold y evaluación energética con Rosetta, a fin de seleccionar las secuencias más estables. Las tres variantes mejor puntuadas fueron seleccionadas para caracterización experimental. Serán expresadas en *Escherichia coli*, purificadas y evaluadas mediante: Cinética enzimática, determinación de estructura secundaria y termoestabilidad por dicroísmo circular, y análisis mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC).

Los resultados permitirán correlacionar motivos de secuencia predichos con mejoras fisicoquímicas, sentando bases para el desarrollo de aditivos de piensos más sostenibles y para comprender la plasticidad evolutiva de las fitasas.

Agradecimiento. Proyecto PAPIIT IN227525; Unidad de Biofisicoquímica de Proteínas, Facultad de Química, UNAM;

Bibliografía.

1. Lei, X. G., Weaver, J. D., Mullaney, E., Ullah, A. H., & Azain, M. J. (2013). Phytase, a new life for an "old" enzyme. *Annu. Rev. Anim. Biosci.*, 1(1), 283-309.
2. Dauparas, J., Lee, G. R., Pecoraro, R., An, L., Anishchenko, I., Glasscock, C., & Baker, D. (2025). Atomic context-conditioned protein sequence design using LigandMPNN. *Nature Methods*, 1-7.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

ENTENDIENDO EL AUTOENSAMBLE Y LA ESTABILIDAD DE PROTEÍNAS DE DISEÑO INSPIRADAS EN VIRUS

Andrés Clairin-Savage, Rosa Elena Cárdenas-Guerra, Santos Ramírez-Carreto, Jesús Ortiz Saucedo, Erick Gustavo Valdés, Mario Alberto Alanís García y Armando Hernández-García.
 Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Química, Departamento de Biomacromoléculas, Coyoacán, CDMX, C.P. 04510. Correo electrónico [Andrés Clairin Savage](mailto:Andrés.Clairin.Savage@unam.mx): aclairin89@hotmail.com y [Armando Hernández García](mailto:Armando.Hernandez.Garcia@iquimica.unam.mx): armandohg@iquimica.unam.mx

Palabras clave: Partículas tipo virus, estructura secundaria y estabilidad.

Resumen.

La proteína CSnB, inspirada en el Virus del Mosaico del Tabaco, ha sido diseñada para la formación de nanoestructuras con aplicaciones potenciales como sistemas de entrega de ácidos nucleicos. Esta proteína está compuesta por tres módulos funcionales: el módulo C, que proporciona estabilidad coloidal; el bloque Sn, en el que n representa el número de repeticiones de la secuencia GAGAGAGX derivada de la seda, confiriéndole capacidad de autoensamblaje en forma de nanopartículas; y el bloque B, constituido por 12 oligolisinas catiónicas, que facilita la interacción con los grupos fosfato de los ácidos nucleicos.

El presente estudio se centra en la caracterización y cuantificación de la estructura secundaria tipo β -laminar del bloque S durante el proceso de autoensamblaje, así como en el análisis de la relación entre dicha estructura secundaria, el número de repeticiones del octapéptido GAGAGAGX y la estabilidad frente a diversos agentes físicos, químicos y biológicos. Para ello, se empleó espectroscopía FTIR-ATR combinada con deconvolución gaussiana en la región de la amida I ($1600\text{--}1700\text{ cm}^{-1}$), durante rampas controladas de calentamiento y enfriamiento. Estas mediciones fueron complementadas con análisis de fluorescencia mediante unión de tioflavina T, utilizando un espectrofluorómetro, con el objetivo de monitorear cambios en la conformación β -laminar.

La estabilidad frente a agentes biológicos se evaluó mediante la hidrólisis inducida por proteinasa K, analizada por SDS-PAGE, así como mediante estudios del cambio en el tamaño de las nanopartículas por dispersión dinámica de luz (DLS) y variaciones en la estructura secundaria detectadas mediante fluorescencia con tioflavina. Por otro lado, la estabilidad frente a agentes caotrópicos, como la urea en altas concentraciones, se determinó a través de cambios conformacionales medidos por fluorescencia con tioflavina y análisis de tamaño por DLS.

Agradecimiento. Proyecto PAPIIT IN226624 Desarrollo y evaluación de bionanopartículas auto-ensambladas para el despliegue superficial de péptidos antimicrobianos. ACS agradece al SECIHTI por la beca doctoral otorgada (CVU: 740530). JOS agradece al SECIHTI por la beca doctoral otorgada (CVU: 1229033). Al Dr. Ismael Bustos por su ayuda con el equipo DLS. A la Dr. Adriana Romo por su ayuda en los ensayos de FTIR. Al LANEM-IQ UNAM por el uso del equipo jasco-1500 para el análisis de dicroísmo circular

Bibliografía.

- 1-Aoyama, Y., et al. Artificial viruses and their application to gene delivery. Size-controlled gene coating with glycocluster nanoparticles. J. Am. Chem. Soc. 125, 3455–3457 (2003).
- 2-Beun, L. H., Beaudoux, X. J., Kleijn, J. M., de Wolf, F. A. & Stuart, M. A. C. Self-assembly of silk-collagen-like triblock copolymers resembles a supramolecular living polymerization. ACS Nano 6, 133–140 (2012).
- 3-Hernández-García, A. Protein-based polymers that bind to DNA. Desig of virus-like particles and supramolecular Nanostructures. Thesis Submitted in fulfillment of the requirements for the degree of doctor at Wageningen University. 2014. 7, 58-73, 201-230.
- 4-Naldini, L. et al. In vivo gene delivery and stable transduction of nondividing cells by a lentiviral vector. Science 272, 263–267 (1996).



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

ESTUDIO DEL EFECTO E INTERACCIÓN DE LA DARIFENACINA SOBRE LOS RECEPTORES MUSCARÍNICOS M3 COMO UN TRATAMIENTO ALTERNATIVO DE LA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA TIPO T

Luis Antonio Flores López^{1,2}; Sergio Enríquez Flores¹; Ignacio de la Mora de la Mora¹; Itzhel García Torres¹; González Loza Fernanda Paola³.

¹Instituto Nacional de Pediatría, Laboratorio de Biomoléculas y Salud Infantil, CDMX, 04530. ²SECIHTI-Instituto Nacional de Pediatría, Laboratorio de Biomoléculas y Salud Infantil, CDMX, 04530. ³Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa, Departamento de Ciencias Biológicas y de la Salud, CDMX, 09340. luisbiolepx@gmail.com

Palabras clave: receptores muscarínicos M3, acetilcolina, leucemia linfoblástica aguda.

Antecedentes: Tradicionalmente, el sistema colinérgico se consideraba específico de las células nerviosas que producen acetilcolina (ACh) y lo utilizan como neurotransmisor. Estudios previos han demostrado que los linfocitos tienen todos los componentes necesarios para establecer un Sistema Colinérgico No Neuronal (SCNN) conformado principalmente por la enzima colina acetiltransferasa (ChAT) la cual se encarga de la síntesis de la ACh, la acetilcolinesterasa (AChE) que degrada a la ACh para terminar la función de esta última [1]; y por los receptores muscarínicos de ACh principalmente del tipo 3 (mAChR M3). El SCNN en linfocitos está involucrado en diversas funciones dentro de ellas la regulación del crecimiento, la proliferación y la migración celular [2]. Existe una creciente evidencia de que los mAChR M3 pueden desempeñar un papel vital en el desarrollo del cáncer por una sobreestimulación por ACh [3]. Por ello, en este trabajo proponemos a la darifenacina, un antagonista de los mAChR M3, como una molécula potencial para tratar la leucemia linfoblástica aguda (LLA). **Objetivo:** Estudiar la interacción de la darifenacina y los mAChR M3, así como evaluar el efecto sobre la proliferación y la apoptosis en células de leucemia linfoblástica aguda tipo T y linfocitos T normales. **Material y métodos:** Se utilizó la línea celular de LLA-T Jurkat E6-1. Los linfocitos T obtuvieron de donantes sanos y se purificaron con anti-CD3 unido a perlas magnéticas. Las células se cultivaron con RPMI 1640 enriquecido con suero fetal bovino al 10%. Las células se expusieron a concentraciones crecientes de darifenacina y se determinó su efecto sobre el número de células y la viabilidad celular por el método de exclusión de azul tripano. Se analizó el efecto del tratamiento con darifenacina sobre la muerte de las células Jurkat y linfocitos normales mediante citometría de flujo con Anexina V y Yoduro de propidio. Además, para identificar el potencial sitio de unión, se realizó un estudio de acoplamiento molecular (docking) entre la estructura cristalográfica del receptor muscarínico M3 de humano (PDB: 8E9Z) [4] y la darifenacina. **Resultados y discusión:** En los ensayos por citometría de flujo se puede observar un incremento de muerte celular en células Jurkat conforme se incrementa la dosis de darifenacina. Esto nos indica que los tratamientos con darifenacina promueven la muerte de las células Jurkat por apoptosis. En los mismos ensayos los linfocitos T normales sufren en menor grado el efecto de muerte celular. El análisis de docking reveló que la darifenacina presenta un ΔG de unión computacional de -9.6 kcal/mol, uniéndose en un sitio cercano a los residuos Asp147 (TM III), Thr234 (TM V) y Tyr506 (TM VI), los cuales forman parte del sitio activo del receptor muscarínico M3. Cabe destacar que el Asp147 es un residuo altamente conservado entre los receptores de aminas biogénicas y está involucrado directamente en la unión de ligandos, mientras que las Thr234 y Tyr506 participan en la activación del receptor inducida por agonistas. **Conclusiones:** La darifenacina tiene efectos anticancerígenos en células Jurkat. Por su parte, la indirubina mostró un alto potencial de unión al receptor muscarínico M3, uniéndose a residuos de su sitio activo, lo que sugiere fuertemente que podría alterar la función de este receptor. El presente estudio propone una nueva estrategia terapéutica contra la leucemia de células T basada en la inhibición del SCNN mediante moléculas que interfieran con la señalización mediada por mAChR M3.

Agradecimientos: Vinculación a proyecto de Investigación INP: 2022/067; 2020/016; 2019/072. Financiamiento externo: CONAHCYT CF-2023-I-2755; CF-2023-I-811.

Bibliografía.

- [1] Beckmann J, Lips KS. (2013) Pharmacology. 92(5-6):286-302.
- [2] Fujii T, Mashimo M, Moriwaki Y, Misawa H, Ono S, Horiguchi K, Kawashima K. (2017) J Pharmacol Sci. 134(1):1-21.
- [3] Tolaymat M, Larabee SM, Hu S, Xie G, Raufman JP. (2019) Cancers. 5;11(3):308.
- [4] Zhang S, Gumpfer RH, Huang XP, Liu Y, Krumm BE, Cao C, Fay JF, Roth BL. (2022) Nature. 612(7939):354-362.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

ESTUDIO ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL DE LA MUTANTE MIMÉTICA DE LA TRIOSAFOSFATO ISOMERASA S-NITROSILADA: MODIFICACIÓN POSTRADUCCIONAL IMPLICADA EL DESARROLLO DE ENFERMEDADES CRÓNICO DEGENERATIVAS EN EL HUMANO.

José Ignacio de la Mora-de la Mora¹, Luis Antonio Flores-López¹⁻², Yoalli Martínez-Pérez³, Gloria Hernández Alcántara⁴, Sergio Enríquez-Flores¹.

¹ Laboratorio de Biomoléculas y Salud Infantil. Instituto Nacional de Pediatría, Secretaría de Salud, CDMX, 04530, México. ignaciodelamora@ciencias.unam.mx

² Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI)-Instituto Nacional de Pediatría, Secretaría de Salud, CDMX, 04530, México.

³ Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, Campus Ciudad de México, CDMX 14380. México.

⁴ Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), CDMX. 04510, México.

Palabras clave: Modificaciones postraduccionales, Disfunción enzimática, caracterización estructura-función

Resumen.

La S-nitrosilación de cisteínas en proteínas regula la función enzimática y ejerce efectos en diversos procesos biológicos ya que altera la conformación proteica, regular su actividad catalítica, incide sobre sus interacciones y estado de agregación, afecta su localización, modula la transducción de señales y la función neuronal del cerebro (1). La triosafosfato isomerasa (TPI), enzima glucolítica que cataliza la isomerización de la dihidroxiacetona fosfato (DHAP) a gliceraldehído-3-fosfato (G3P), se ha identificado por proteómica como un objetivo de la S-nitrosilación (2). Tanto estudios cristalográficos (3) como de espectrometría de masas han mostrado la S-nitrosilación del residuo de la Cys217. El primer estudio describe propiedades bioquímicas de la TPI humana S-nitrosilada que disminuye 30 % su V_{max} en la conversión de sustrato, sin afectar su K_m hacia DHAP. El objetivo de este trabajo fue estudiar mediante un abordaje dinámico el cambio cinético y estructural generado por la S-nitrosilación del residuo C217. Se generó la enzima C217W por mutagénesis sitio-dirigida como mimético de la S-nitrosilación. La enzima silvestre (WT) y la mutante se sobre expresaron y purificaron y se tituló el contenido de Cys. Se determinaron parámetros cinéticos (K_m , V_{max} , k_{cat}/K_m) y se evaluó la estabilidad proteolítica vs proteinasa K. Por dicroísmo circular se analizó su estructura 2ª y estabilidad térmica. Mediante fluorescencia intrínseca (FI) y extrínseca (FE) se evaluaron cambios conformacionales y se cuantificó el aducto de Argpirimidina tras incubación con G3P (4). Se analizaron factores B de ambas estructuras cristalográficas (PDB: WT 2JK2 y S-nitrosilada 6D43). La C217W perdió afinidad 3.8 veces hacia G3P vs WT (K_m 0.45 vs 1.7). La mutante C217W mostró K_d >6.71 veces y disminución de la estabilidad proteolítica 2/3; su estabilidad térmica bajo 4.9°C (T_m = 56.9 vs WT 61.8°C). La FI tras 168 h +G3P disminuyó e incrementó la señal del aducto Argpirimidina 3 veces (3). La FE con ANS a las 96h +G3P aumentó los parches hidrofóbicos 4 veces en la superficie de TPI C217W y los factores-B se incrementaron en la región 210-221 (GSVTGATCKEL) vs la WT (2JK2), afectando el motivo estructural conservado YGGS, implicado en el cierre y apertura del asa catalítica. En conjunto, estos resultados indican que la S-nitrosilación del residuo C217 induce alteraciones conformacionales que afectan la afinidad por sus sustratos, estabilidad térmica y susceptibilidad proteolítica, contribuyendo a la comprensión de los mecanismos mediante los que esta modificación regula sus funciones enzimáticas, así como su posible implicación en procesos fisiopatológicos.

Agradecimientos. Este estudio contó con apoyo económico de Recursos Fiscales para la Investigación INP: 2019/072, 2022/067. CONAHCYT, Ciencia de Frontera 2023: CF-2023-I-811 y CF-2023-I-2755.

1. Zhao QF, Yu JT, Tan L. (2015). S-Nitrosylation in Alzheimer's disease. *Mol Neurobiol.* 51(1):268-280.

2. Zahid S, et al. (2014). Differential S-nitrosylation of proteins in Alzheimer's disease. *Neuroscience.* 256:126-136.

3. Romero JM, et al. (2018). Characterization of human triosephosphate isomerase S-nitrosylation. *Nitric Oxide.* 77:26-34.

4. de la Mora-de la Mora I, et al. (2024). Methylglyoxal-Induced Modifications in Human Triosephosphate Isomerase: Structural and Functional Repercussions of Specific Mutations. *Molecules.* 29(21):5047.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

INTERACCIONES PROTEICAS DEL REGULADOR TRANSCRIPCIONAL MAF1 EN CRECIMIENTO ÓPTIMO Y ESTRÉS EN EL PATÓGENO *LEISHMANIA MAJOR*

Aldo R. Hernández-Zamarripa¹, Luis A. Rivera-Rivas¹, Luis E. Florencio-Martínez¹, Rebeca G. Manning-Cela², Tomás Nepomuceno-Mejía¹, Santiago Martínez-Calvillo¹. ¹FES Iztacala, UNAM, Tlalnepantla, Edomex, 54090. ²Cinvestav-IPN, CDMX, 07360. scalv@unam.mx

Palabras clave: Maf1, Leishmania, transcripción, estrés celular

Resumen. *Leishmania* es un protozoo flagelado que causa la leishmaniasis en el humano. Además de su importancia clínica, el parásito es relevante por presentar mecanismos de expresión genética inusuales entre los eucariontes, como la transcripción policistronica y el procesamiento de mRNAs por *trans-splicing* (1). Nuestro grupo de trabajo está interesado en el estudio de la transcripción de la RNA polimerasa III (Pol III), encargada de sintetizar tRNAs, 5S rRNA y snRNAs. Maf1, descrito inicialmente en levadura como un regulador negativo de Pol III que actúa principalmente en condiciones de estrés (2), es una proteína conservada que participa en múltiples funciones desde protozoos hasta vertebrados (3). Nuestro análisis de secuencia y estructura indicó que de Maf1 en *L. major* (LmMaf1) presenta los característicos dominios A-C, y que su estructura 3D predicha es similar a la del ortólogo de humano. Por medio de espectrometría de masas encontramos que LmMaf1 es fosforilada en 5 residuos localizados en los dominios B y C en condiciones óptimas de crecimiento, pero no bajo estrés de nutrientes. También encontramos que LmMaf1 tiene una localización predominantemente nuclear. De manera interesante, y a diferencia de otros organismos, la distribución celular de LmMaf1 no cambia en condiciones de estrés de nutrientes y de calor. Para identificar las proteínas con las que se asocia LmMaf1, generamos una línea celular que expresa a la proteína fusionada a la etiqueta PTP y llevamos a cabo purificaciones por afinidad en tándem. Los análisis de espectrometría de masas y bioinformáticos llevaron a la identificación de numerosas proteínas que fueron clasificadas en diversas categorías, incluyendo subunidades de RNA polimerasas, proteínas metabólicas, subunidades del proteosoma, metabolismo de lípidos, proteínas nucleolares y transporte nuclear. Purificaciones llevadas a cabo con cultivos sometidos a estrés de calor demostraron que LmMaf1 se une a proteínas similares en relación con cultivos en crecimiento normal, aunque la abundancia relativa de muchas de ellas cambió significativamente. Sin embargo, bajo estrés LmMaf1 se une a proteínas *heat-shock* y a otras chaperonas, así como a factores de traducción. Se identificaron también varias proteínas que se asocian con Maf1 sólo en condiciones de crecimiento favorables. En su conjunto, estos resultados indican la participación de Maf1 en funciones muy diversas en *L. major*, lo que apoya los datos de un trabajo previo de nuestro grupo en el que se estudió el efecto de la sobreexpresión de Maf1 en el parásito (4). Similitudes y diferencias críticas con organismos modelo fueron determinadas.

Agradecimiento. Este trabajo fue financiado por el donativo CF-2023-I-820 de SECIHTI.

Bibliografía.

1. Martínez-Calvillo, S., Romero-Meza, G., Vizuet-de-Rueda, J.C., Florencio-Martínez, L.E., Rebeca Manning-Cela, R. y Nepomuceno-Mejía, T. (2018). Epigenetic Regulation of Transcription in Trypanosomatid Protozoa. *Curr. Genomics*, 19 (2): 140-149.
2. Boguta M. (2013). Maf1, a general negative regulator of RNA polymerase III in yeast. *Biochim. Biophys. Acta*, 1829(3-4): 376-384.
3. Zhang S, Li X, Wang HY, Steven Zheng XF. (2018). Beyond regulation of pol III: Role of MAF1 in growth, metabolism, aging and cancer. *Biochim. Biophys. Acta Gene Regul. Mech.* 1861(4): 338-343.
4. Rivera-Rivas, L. A., Florencio-Martínez, L. E., Romero-Meza, G., Ortega-Ortiz, R. C., Manning-Cela, R. G., Carrero, J. C., Nepomuceno-Mejía, T., y Martínez-Calvillo, S. (2024). Transcriptome and proteome changes triggered by overexpression of the transcriptional regulator Maf1 in the human pathogen *Leishmania major*. *FASEB J.* 38(16), e23888.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

DESCRIPCIÓN DE FACTORES PROTEICOS INVOLUCRADOS EN LA ATÍPICA BIOGÉNESIS RIBOSOMAL DE PARÁSITOS TRIPANOSOMÁTIDOS

Tomás Nepomuceno-Mejía, Aldo Yael Miranda-Muñoz, Laila Espinosa-Renteria, José David Morales-Hernández, Luis Enrique Florencio-Martínez, Santiago Martínez-Calvillo

Unidad de Biomedicina, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. Av. de los Barrios 1, Col. Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México CP 54090

Tripanosomátidos, biogénesis ribosomal, nucléolo

Resumen.

La biogénesis de los ribosomas es un proceso complejo, regulado y con un alto gasto energético. En organismos modelo se ha descrito la participación de múltiples factores proteicos transitorios (metiltransferasas, sintasas de uridina, acetiltransferasas, helicasas, nucleasas) que son necesarios para la síntesis de las subunidades menor (40S) y mayor (60S) de los ribosomas citosólicos ⁽¹⁾. A pesar de su importancia, este proceso celular cardinal aún no es entendido completamente en los tripanosomátidos, eucariontes unicelulares flagelados de relevancia médica debido a que son patógenos del humano y causan enfermedades tropicales desatendidas potencialmente mortales, discapacitantes o estigmatizantes. De manera adicional, estos protozoos son de trascendencia biológica por poseer características genéticas poco representadas o ausentes en el linaje eucariota ⁽²⁾. Están presentes cistrones de RNA ribosomal (rRNA), transcritos por la RNA polimerasa I en el nucléolo bipartita, compuestos por una cadena de rRNA 18S atípicamente larga y por la región codificante del rRNA 28S fragmentado en seis piezas diferentes separadas por cinco espaciadores internos que son eliminados durante el proceso de maduración ⁽³⁾. Este tipo de arquitectura sugiere que la biogénesis de las dos subunidades ribosomales es un proceso de elevada complejidad que puede requerir elementos exclusivos. En este trabajo se realizó una descripción proteómica de factores de ensamblaje y procesamiento que fueron identificados por ensayos de cromatografía de afinidad en tándem, espectrometría de masas y análisis bioinformáticos. Se emplearon diversas líneas celulares de *Trypanosoma brucei* y *Leishmania major* que expresan proteínas nucleolares fusionadas con un péptido de extracción (PTP tag) que participan en alguna etapa de la síntesis de las subunidades 40S y 60S. Esta molécula recombinante funciona como un anzuelo de captura que facilita el aislamiento de complejos proteicos con los que interactúa *in vivo*. Como era de esperarse, fueron purificadas decenas de moléculas que corresponden a los ortólogos de levadura y humano. Sin embargo, también se detectaron probables análogos de elementos conocidos cuya existencia no había sido confirmada en estos microorganismos ancestrales. De manera adicional, se obtuvo un set interesante de proteínas hipotéticas que tienen dominio de unión a RNA, localización nucleolar, con función desconocida y no parecen tener representación en el genoma humano. Estas podrían representar factores de biogénesis ribosomal únicos de tripanosomátidos.

Agradecimiento. Este trabajo fue apoyado por PAPIIT-DGAPA, UNAM (IA200623 e IN204125) and CONAHCyT (CF-2023-I-547).

1. Dörner K, Ruggeri C, Zemp I, Kutay U (2023). *EMBO J.* 42(7):e112699. doi: 10.15252/embj.2022112699.

2. Martínez-Calvillo S, Vizuet-de-Rueda JC, Florencio-Martínez LE, et al., (2010). *J. Biomed. Biotechnol.* 2010, 2010, 525241.

3. Martínez-Calvillo S, Florencio-Martínez LE, Nepomuceno-Mejía T (2019). *Cells* 8:421. doi: 10.3390/cells8050421.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

**LA TPI DESAMIDADA Y FOSFORILADA COMO OBJETIVO
FARMACOLÓGICO EN LA LEUCEMIA Y SU INHIBICIÓN SELECTIVA POR
LOS INHIBIDORES DE LA BOMBA DE PROTONES.**

Sergio Enríquez Flores¹, Luis Antonio Flores López², Yoalli Martínez Pérez³, José Ignacio De la Mora De la Mora¹, Gloria Hernández Alcántara⁴, Itzhel García Torres¹, Saúl Gómez Manzo⁵.

sergioenriquez@ciencias.unam.mx

¹Laboratorio de Biomoléculas y Salud Infantil, Instituto Nacional de Pediatría, CDMX, 04530.

²SECIHTI-Instituto Nacional de Pediatría, Laboratorio de Biomoléculas y Salud Infantil, CDMX, 04530. ³Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, CDMX, 14380. ⁴Laboratorio de Péptidos y proteínas, Facultad de Medicina, UNAM, CDMX, 04510. ⁵Laboratorio de Bioquímica-Genética, Instituto Nacional de Pediatría, CDMX, 04530.

Palabras clave: triosafosfato isomerasa, leucemia linfoblástica aguda T, inhibidores de la bomba de protones.

Resumen.

La leucemia linfoblástica aguda de células T (LLA-T) representa un desafío crítico en oncología pediátrica debido a la alta toxicidad, resistencia y recurrencia asociadas a su tratamiento [1]. Considerando la marcada dependencia de las células cancerosas a la glucólisis, las enzimas de esta vía han emergido como blancos atractivos para terapias selectivas [2]. En particular, se ha descrito que modificaciones postraduccionales (MPTs) como la desamidación y la fosforilación de la triosafosfato isomerasa (TPI) inducen alteraciones estructurales que podrían generar vulnerabilidades específicas en cáncer [3]. El objetivo de este estudio fue caracterizar las variantes desamidada (Asn16 por Asp: N16D) y fosforilada (Ser21 por Glu: S21E) de TPI como potenciales blancos terapéuticos en LLA-T y evaluar la eficacia de inhibidores de la bomba de protones (IBPs) sobre estas formas enzimáticas. Para ello, se analizaron las interacciones de los IBPs con las TPIs de humano silvestre (WT), N16D y S21E mediante modelado y acoplamiento molecular, utilizando estructuras cristalográficas (WT: PDB, 2jk2; N16D: PDB, 4unk) y un modelo generado por AlphaFold para S21E [4]. Las enzimas recombinantes fueron sobreexpresadas y purificadas para ensayos de actividad enzimática en presencia de IBPs, mientras que la estabilidad térmica (Tm) se determinó por dicroísmo circular (DC). A nivel celular, se evaluó el efecto del IBP más exitoso, rabeprazol (Rbz), en células Jurkat (modelo de LLA-T) y en linfocitos T normales, tanto solo como combinado con dicloroacetato (DCA), analizando la viabilidad celular y la actividad de la TPI. Finalmente, la presencia de las variantes desamidada y fosforilada de la TPI en células Jurkat se determinó mediante inmunoprecipitación con anticuerpo anti-TPI y detección de fosfoserina por Western blot. Los estudios de acoplamiento molecular revelaron que la N16D y la S21E presentan cavidades interfaciales (zona de contacto entre dos monómeros de la TPI) de mayores dimensiones en comparación con la WT, favoreciendo su interacción con los IBPs. Los ensayos enzimáticos demostraron que el Rbz inhibió la actividad de la N16D y la S21E en un 80–90% a concentraciones de 100 μ M y 500 μ M, respectivamente, sin afectar significativamente a la WT. Los estudios de DC mostraron una disminución de más de 6 °C en la Tm de las enzimas tratadas con Rbz respecto a la WT, indicando desestabilización estructural en presencia de Rbz. En células Jurkat, el Rbz (500 μ M) disminuyó en un 50% la viabilidad celular y la actividad de la TPI, efecto que se potenció a más del 80% en combinación con el DCA (12 mM). En contraste, no se observaron efectos adversos en linfocitos T normales. En conjunto, estos resultados identifican a la TPI desamidada y/o fosforilada como blanco terapéutico viable en la LLA-T. El Rbz mostró alta eficacia inhibitoria, especialmente en combinación con el DCA, sin afectar células T normales. Este estudio respalda a la TPI como blanco proteico en LLA-T y el potencial del reposicionamiento de los IBPs como alternativa terapéutica selectiva para LLA-T.

Agradecimiento. Este estudio contó con apoyo económico de Recursos Fiscales para la Investigación INP: 2019/072, 2022/067. Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), Ciencia de Frontera 2023: CF-2023-I-811 y CF-2023-I-2755.

Bibliografía.

- [1] Kakaje, A., *et al.* Rates and trends of childhood acute lymphoblastic leukaemia: an epidemiology study. *Sci Rep.* 2020; 10 (1): 6756.
- [2] Chelakkot, Chaithanya, *et al.* "Modulating glycolysis to improve cancer therapy." *International Journal of Molecular Sciences* 24.3 (2023): 2606.
- [3] Enríquez-Flores, Sergio, *et al.* "Human triosephosphate isomerase is a potential target in cancer due to commonly occurring post-translational modifications." *Molecules* 28.16 (2023): 6163.
- [4] Jumper, John, *et al.* "Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold." *nature* 596.7873 (2021): 583-589.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

**MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD CATALÍTICA E INHIBICIÓN DE LA ENZIMA
ACETILCOLINESTERASA POR EL MÉTODO ELLMAN**

Perla del Rosario Peralta-Huerta, Mayra Avelar-Frausto, Virginia Flores-Morales. Laboratorio de Síntesis Asimétrica y Bio-quimioinformática (LSAyB), Universidad Autónoma de Zacatecas, Unidad Académica de Ciencias Químicas, Zacatecas, Zac., 98160, 42101819@uaz.edu.mx

Palabras clave: Acetilcolinesterasa, Inhibidor, Espectrofotometría.

Resumen.

La acetilcolinesterasa (AChE) es una enzima fundamental en la terminación de la señalización colinérgica, al catalizar la hidrólisis de acetilcolina (ACh) en colina y ácido acético. Esto es crucial porque detiene la señal nerviosa una vez que ha sido transmitida. Su estructura, altamente conservada, incluye una profunda hendidura catalítica que alberga los sitios denominados aniónico y esterásico, los cuales son responsables de la especificidad y eficiencia de la reacción. Su eficiencia catalítica se explica gracias a la estructura de la enzima, la cual resulta perfecta para posicionar al sustrato (1). En el sitio activo de la AChE se encuentra la tríada catalítica, compuesta por los aminoácidos Ser200, His400 y Glu327, la cual es responsable de que ocurra la hidrólisis del enlace éster de la ACh. El mecanismo enzimático sigue un modelo de dos pasos: acilación y desacetilación de la enzima, lo que permite su posterior reutilización (2). Diversos compuestos, como organofosforados, carbamatos y cumarinas, inhiben la actividad de la AChE de forma reversible o irreversible según su afinidad con la enzima (2). La inhibición de AChE genera una acumulación de ACh, lo cual produce una sobre activación de los receptores colinérgicos, por lo que se ha encontrado que estos inhibidores tienen aplicaciones terapéuticas en enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer y toxicológicas, como en el caso de agentes neurotóxicos (3). Una metodología ampliamente utilizada para evaluar la actividad de esta enzima es el método espectrofotométrico de Ellman, que mide la reacción entre la tiocolina (producto de la hidrólisis de acetilcolina) y el reactivo DTNB [ácido 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzoico)], generando un compuesto amarillo detectable a 412 nm (4). Sin embargo, estudios han reportado que altas concentraciones de DTNB pueden interferir en la reacción, actuando incluso como un inhibidor competitivo, por lo que resulta esencial estandarizar las condiciones experimentales (3). Este trabajo se centra en la optimización de un protocolo experimental para la medición de la actividad enzimática de la AChE, así como en la evaluación de su inhibición por compuestos derivados de cumarina con potencial aplicación en el tratamiento de Alzheimer. En nuestro equipo de trabajo se han realizado estudios *in silico* que han permitido identificar derivados de cumarina con potencial para inhibir la AChE (5). Estos hallazgos abren la posibilidad de evaluar dichos compuestos por medio de ensayos *in vitro* a partir de metodologías espectrofotométricas y así consolidar su uso como posibles inhibidores terapéuticos.

Agradecimiento. Este trabajo fue apoyado por el Laboratorio de Síntesis Asimétrica y Bio-quimioinformática (LSAyB) de la Universidad Autónoma de Zacatecas. P.R.P.H agradece la guía y acompañamiento de sus asesoras durante el desarrollo de este proyecto. M.A.F agradece la beca posdoctoral otorgada por la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), CVU 364335.

Bibliografía

1. Silman I, Sussman JL. (2008). *Chem. Biol. Interact.* 175: pp. 3–10.
2. Sánchez-Chávez G, Salceda R. (2008). *REB.* 27(2): pp. 44-51.
3. Komersová A, Komers K, Egan AC. (2007). *Z. Naturforsch.* 62 (1-2): pp. 150-154.
4. Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM. (1961). *Biochem. Pharmacol.* 7(2): pp. 88-95.
5. Avelar M, Delgado-Acosta PF, Guzmán-Ávila R, Flores-Morales V. (2025). *Results Chem.* 16: pp. 102481.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

ESTUDIO *IN SILICO* DE DERIVADOS TRITERPÉNICOS COMO POTENCIALES INHIBIDORES DE LA ENZIMA PTP1B

Luz María Trujillo-Zamarripa, Virginia Flores-Morales, Alejandra Bracamontes-Bonilla, Mayra Avelar-Frausto, Laboratorio de Síntesis Asimétrica y Bio-quimioinformática (LSAyB), Universidad Autónoma de Zacatecas "Francisco García Salinas", Zacatecas, Zacatecas 98160, 42101651@uaz.edu.mx

Palabras clave: PTP-1B, triterpenos, estudio in silico

Resumen.

Las proteínas tirosina fosfatasa (PTP, por sus siglas en inglés) son una familia de enzimas encargadas de la señalización transduccional que regula diversos procesos fisiológicos, controlando la velocidad y la duración de la respuesta de la señalización mediante la desfosforilación de sus sustratos (1). Las alteraciones en el proceso de fosforilación están estrechamente relacionadas con diversas enfermedades, como la diabetes mellitus tipo 2 (DM2), el cáncer, la hipertensión, las enfermedades autoinmunes y neurológicas (2). En específico la proteína tirosina fosfatasa 1B (PTP1B), una proteína intracelular no receptora de expresión ubicua es una enzima clave en la desfosforilación del receptor de insulina que participa en el desarrollo de la DM2, que abarca pacientes con resistencia a la insulina (3). El estudio *in silico* ha mostrado ser una herramienta prometedora en el desarrollo de nuevos fármacos, ya que disminuye los costos en el proceso de desarrollo y aumenta las posibilidades de éxito (4). En la presente investigación se emplearon herramientas de química computacional (*in silico*) para evaluar el potencial inhibitorio de compuestos triterpénicos sobre la enzima PTP1B, con el objetivo de identificar candidatos terapéuticos para el tratamiento de la DM2. Para determinar la interacción de los compuestos de estudio con la PTP1B se realizaron cálculos de acoplamiento molecular en el software AutoDock Vina, se simuló la interacción ligando-enzima identificando las poses más favorables a partir de sus puntajes de acoplamiento, que estiman las energías de interacción. Posteriormente se realizaron simulaciones de dinámica molecular para analizar la estabilidad del complejo ligando-enzima con el software Desmond. Con base en los resultados obtenidos, se observó que compuestos de tipo oleanano, lupano y ursano presentaron energías de interacción favorables con la enzima; respecto a las simulaciones de dinámica molecular, los complejos mostraron estabilidad en el tiempo de simulación. Estos hallazgos sugieren que los compuestos estudiados poseen características estructurales favorables para ser considerados como potenciales inhibidores de la PTP1B. Los resultados obtenidos abren la posibilidad de evaluar experimentalmente estos compuestos en estudios *in vitro*, con el fin de validar su actividad inhibitoria predicha por métodos computacionales para el desarrollo de posibles fármacos. En conjunto, esta investigación respalda el potencial de los productos naturales como base para el desarrollo de tratamientos eficaces, seguros y accesibles para la DM2, una enfermedad que afecta a millones de personas en todo el mundo.

Agradecimiento. L.M.T.Z agradece al Laboratorio de Síntesis Asimétrica y Bio-quimioinformática (LSAyB) por el soporte para el desarrollo de este proyecto. M.A.F agradece la beca posdoctoral otorgada por la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), CVU 364335.

Bibliografía.

1. Coronell A, Pardo JP, Rodríguez A, Sosa A, Vázquez L, Cano P, Álvarez L, González M. (2024) *FEBS Lett.* 598: 1811–1838.
2. Cho H. (2013) Protein Tyrosine Phosphatase 1B (PTP1B) and Obesity. En: *Vitamins and Hormones*. Litwack G. Academic Press Inc., Estados Unidos, 405-424.
3. Teimouri M, Hosseini H, ArabSadeghabadi Z, Babaei R, Gorgani S, Meshkani R. (2022) *J. Physiol. Biochem.* 78: 307-322.
4. Roney M, Mohd A. (2024) *Intell. Pharm.* 2: 578-579



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

DERIVATIZACIÓN BIOCATALÍTICA DEL ANTIBIÓTICO DAPSONA A TRAVÉS DE ACOPLAMIENTO OXIDATIVO MEDIADO POR LA ENZIMA LACASA

Grecia Fernández-González, Virginia Flores-Morales, Mayra Avelar-Frausto, Laboratorio de Síntesis Asimétrica y Bio-quimioinformática (LSAyB), Universidad Autónoma de Zacatecas "Francisco García Salinas", Zacatecas, Zacatecas 98160, 40102022@uaz.edu.mx.

Palabras clave: Lacasa, dapsona, acoplamiento oxidativo.

Resumen.

La evolución de la resistencia a los antibióticos en los microorganismos es un problema mundial; por ello, es necesaria la búsqueda de nuevos compuestos antimicrobianos y diferentes alternativas en las rutas de síntesis. Ante esta problemática, la catálisis enzimática se perfila como una alternativa a los procesos convencionales de síntesis química [1]. Las lacasas (EC 1.10.3.2, p-difenol: dioxígeno oxidoreductasa) son enzimas oxidoreductasas que han demostrado ser capaces de modificar compuestos bioactivos ya conocidos e incluso combinarlos con otros a través de procesos de derivatización o acoplamiento [2]. La dapsona (4,4'-diaminodifenilsulfona) es un fármaco indicado en la prevención y tratamiento de enfermedades infecciosas y antiinflamatorias, cuya aplicación terapéutica ha sido limitada por la creciente resistencia bacteriana [3,4]. El objetivo de la presente investigación se centra en el estudio de la síntesis de nuevos derivados de dapsona mediante reacciones de acoplamiento oxidativo catalizadas por lacasa, con el fin de obtener estructuras híbridas potencialmente bioactivas. Se ha reportado que la lacasa puede realizar este tipo de reacciones produciendo heterotrímeros, constituidos por una molécula de dapsona y dos moléculas de un compuesto fenólico, los cuales se han clasificado como trímeros quinoides, trímeros mixtos quinoides-hidroquinoides y trímeros hidroquinoides, siendo los trímeros quinoides los productos más comunes (Figura 1). Los acoplamientos ocurren en posiciones aromáticas activadas, específicamente a través del grupo amino primario de la dapsona [5].

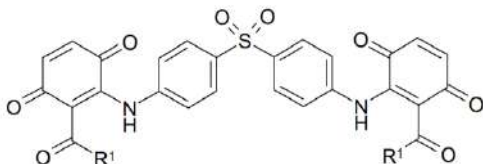


Figura 1. Estructura química de los trímeros quinoides [Tomado de 5].

Se ha reportado que otros compuestos antibacterianos con estructuras similares a la dapsona, como las sulfonamidas, pueden ser derivatizados mediante reacciones de acoplamiento oxidativo catalizadas por lacasa, utilizando también distintos derivados del 2,4-dihidroxibenceno [5]. En estos estudios, algunos productos obtenidos mostraron una actividad antibacteriana superior a la del compuesto original, incluso frente a cepas multirresistentes. Estos resultados respaldan la hipótesis de que la modificación estructural de la dapsona mediante un enfoque biocatalítico podría generar derivados con propiedades antimicrobianas mejoradas. Además, se comprobó la viabilidad de utilizar la lacasa como biocatalizador en la síntesis de nuevos antibióticos a partir de sulfonas, siendo la dapsona un sustrato especialmente prometedor.

Agradecimiento. G.F.G agradece al Laboratorio de Síntesis Asimétrica y Bio-quimioinformática (LSAyB) por la infraestructura y los recursos otorgados para realizar este trabajo de investigación. M.A.F agradece la beca posdoctoral otorgada por la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), CVU 364335.

Bibliografía.

1. Sheldon, R.A., Brady, D. & Bode, M.L. (2020). *Chem. Sci.* 11(10): 2587–2605.
2. Hahn, V. (2023). *World J. Microbiol. Biotechnol.* (2023) 39(4): 107.
3. Oliveira, F. R., Pessoa, M. C., Albuquerque, R. F. V., Schalcher, T. R. & Monteiro, M. C. (2014). *J. Braz. Chem. Soc.* 25(10): 1770-1779.
4. Wu, Z., Wang, C., Wang, Z., Shi, Y., Jiang, H. & Wang, H. (2022). *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 30: 459-467
5. Mikolasch, A. & Hahn, V. (2021). *Microorganisms.* 9(11): 2199.



IX Congreso de Físicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

Interpretación estructural enriquecida mediante selección conformacional computacional guiadas por datos experimentales.

Carlos Amero, Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM), Instituto de Investigación en Ciencias Básicas y Aplicadas (IICBA), Cuernavaca, 62209, carlosamero@uaem.mx

Palabras clave: proteínas,

Resumen.

Uno de los principales objetivos de la biología estructural es comprender la función de las biomoléculas. Sin embargo, debido a su complejidad la interpretación estructural detallada de los resultados experimentales representa un desafío. En el LABRMN trabajamos en la integración de datos experimentales con técnicas computacionales para enriquecer su interpretación y así lograr una descripción estructural más completa. La clave de esta integración es traducir los resultados experimentales en variables biofísicas (parámetros estructurales) que también puedan calcularse a partir de modelos tridimensionales. Investigamos distintas estrategias para interpretar y calcular estos datos, y posteriormente empleamos protocolos de búsqueda y selección conformacional. En estos protocolos, se generan computacionalmente grandes conjuntos de estructuras moleculares, y los datos experimentales se utilizan como filtro para seleccionar únicamente aquellas conformaciones compatibles con los resultados observados.

Entre las técnicas experimentales que utilizamos para estudiar dinámicas conformacionales, plegamiento y oligomerización molecular se encuentran la Resonancia Magnética Nuclear (RMN), la fluorescencia y la Dispersión Dinámica de Luz (DLS). Específicamente, estamos integrando los desplazamientos químicos de la cadena principal (RMN), los espectros de fluorescencia del triptófano y los perfiles de dispersión obtenidos por DLS como parámetros de selección estructural. La capacidad de reproducir datos experimentales a partir de modelos computacionales permite acceder a una descripción atómica detallada de los sistemas biomoleculares, superando las limitaciones inherentes a cada técnica por separado. Esta estrategia integradora resulta clave para el estudio de sistemas dinámicos complejos.

Bibliografía.

1. Cárdenas, R.; Martínez-Seoane, J.; Amero, C. Combining Experimental Data and Computational Methods for the Non-Computer Specialist. *Molecules* 2020, 25, 4783. <https://doi.org/10.3390/molecules25204783>



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas 13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

ESTUDIO COMPUTACIONAL DE LAS INTERACCIONES DE CUATRO NEUROTOXINAS DE SERPIENTES CORALILLO CON EL RECEPTOR NICOTÍNICO DE ACETILCOLINA MUSCULAR (m-nAChR)

Mario Fernando Salamanca Vera, Facultad de Ciencias Químicas, BUAP, Puebla, C.P. 72592,
mariofernando.salamancavera@viep.com.mx

José Manuel Pérez Aguilar, Facultad de Ciencias Químicas, BUAP

Víctor Manuel Baizabal Aguirre, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad
Michoacana San Nicolas Hidalgo

Brenda Leonor Sánchez Gaytán, Centro de Química, ICUAP, BUAP

María Eugenia Castro Sánchez, Centro de Química, ICUAP, BUAP

Eliud Morales Dávila, Facultad de Ciencias Químicas, BUAP

*Palabras clave: Receptores Nicotinicos de Acetilcolina, alfaNeurotoxinas, Simulaciones de
Dinamica Molecular*

Resumen

Los **receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs)** son proteínas integrales de membrana, específicamente heteropentámeros, que funcionan como canales catiónicos tras interactuar con un ligante agonista (1). En este trabajo, se estudiaron las interacciones entre el nAChR- $\alpha 1\alpha 2\beta\delta\epsilon$ de tipo muscular y **cuatro alfa neurotoxinas (α -Ntxs)** presentes en diferentes especies de serpientes coralillo (2). Estas toxinas, denominadas "Toxinas de tres dedos" (3,4), compiten de forma antagonista por los dos sitios de unión ortostéricos del receptor (5). El sistema biomolecular fue investigado utilizando la técnica computacional de **simulaciones atomísticas de dinámica molecular**. Se construyeron los modelos tridimensionales de las diferentes subunidades que constituyen al receptor así como las estructuras de las neurotoxinas recreados en condiciones similares a las fisiológicas para luego proceder a realizar la simulación de dinámica molecular usando el campo de fuerza CHARMM36m y el software NAMD para obtener información de la velocidad y la posición de cada uno de los átomos que componen los sistemas de estudio. Los resultados preliminares indican que la neurotoxina con el menor IC₅₀ (es decir, la **más neurotóxica**) presenta un mayor número de contactos e interacciones de tipo puente de hidrógeno y catión-pi en los dos sitios de unión ortostérico del receptor, en comparación con las otras α -Ntxs. Obtuvimos información más detallada sobre la naturaleza de las interacciones para cada uno de los "dedos" que conforman la α -Ntx, lo que nos permitió diferenciar los modos de interacción relevantes de cada una de ellas. En este contexto, los resultados obtenidos sentarán las bases para la generación de posibles sustancias (**antivenenos**) que puedan ser útiles en el tratamiento de mordeduras de especies con alto poder neurotóxico.

Agradecimiento: Al CONAHCYT por la beca otorgada, al LNS, a mis Directores, a mis Sinodales, a mi grupo de trabajo en el Laboratorio de Biofísica Computacional de Macromoléculas y a los demás miembros del postgrado en Ciencias Químicas

Bibliografía

- [1] Albuquerque, E. X., Pereira, E. F. R., Alkondon, M., & Rogers, S. W. (2009). Mammalian nicotinic acetylcholine receptors: From structure to function. *Physiological Reviews*, 89(1), 73–120.
- [2] Reyes-Velasco, J., Adams, R. H., Boissinot, S., Parkinson, C. L., Campbell, J. A., Castoe, T. A., & Smith, E. N. (2020). Genome-wide SNPs clarify lineage diversity confused by coloration in coral snakes of the *Micrurus diastema* species complex (Serpentes: Elapidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 147, 1–14.
- [3] Archundia, I. G., de la Rosa, G., Olvera, F., Calderón, A., Benard-Valle, M., Alagón, A., & Corzo, G. (2021). Assessment of neutralization of *Micrurus* venoms with a blend of anti-*Micrurus tener* and anti-ScNtx antibodies. *Vaccine*, 39(6), 1000–1006.
- [4] Benard-Valle, M.; Carbajal-Saucedo, A.; de Roodt, A.; López-Vera, E.; Alagón, A. (2014). Biochemical characterization of the venom of the coral snake *Micrurus tener* and comparative biological activities in the mouse and a reptile model. *Toxicon*, 77, 6–15.
- [5] Nayak, T. K., Bruhova, I., Chakraborty, S., Gupta, S., Zheng, W., & Auerbach, A. (2014). Functional differences between neurotransmitter binding sites of muscle acetylcholine receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 111(49), 17660–17665.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

OPTIMIZACIÓN DE UN MÉTODO DE TAMIZAJE BASADO EN LA OXIDACIÓN DE DICLOFENACO PARA LA SELECCIÓN DE VARIANTES DE PEROXIGENASA POR EVOLUCIÓN DIRIGIDA

Alina Torres Aguirre¹, Marcela Ayala Aceves¹¹Instituto de Biotecnología, Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Cuernavaca 62210

alina.torres@ibt.unam.mx

Palabras clave: Peroxigenasa, Evolución Dirigida, Diclofenaco

Resumen.

La evolución dirigida de proteínas es una estrategia ampliamente utilizada para mejorar propiedades específicas de las enzimas, tales como su expresión, actividad o estabilidad (1). Para que esta técnica sea exitosa, se requieren métodos de tamizaje (*screening*) que sean sensibles, reproducibles, capaces de analizar grandes librerías de variantes y seleccionar aquellas que muestren una mejora en la característica deseada (2). Las UPO son enzimas fúngicas versátiles con expresión extracelular capaces de catalizar varias reacciones de oxidación de uno o dos electrones sobre compuestos aromáticos y alifáticos, incluyendo epoxidaciones, desalquilaciones e hidroxilaciones, usando peróxido de hidrógeno como agente oxidante (3). La UPO derivada del basidiomiceto *Agrocybe aegerita*, llamada PaDa-I, cataliza la oxidación del diclofenaco (DCF), produciendo hidroxidiclofenaco (HO-DCF, un compuesto de color magenta, **Fig. 1**), aunque con baja eficiencia (49% de conversión con 4.2 U/mL de enzima). En este trabajo, presentamos el desarrollo y optimización de un nuevo método de *screening* basado en la detección espectrofotométrica del HO-DCF a $\lambda_{\text{max}}=520$ nm a partir del sobrenadante de microcultivos de *S. cerevisiae* que expresan la enzima PaDa-I. Optimizando los parámetros: concentración del diclofenaco, concentración de solvente, volumen de cultivo y dosificación de H_2O_2 , se logró incrementar la sensibilidad 48 veces. Bajo las condiciones optimizadas: 3.5 mM DCF, 2.5% metanol, tres adiciones de 2 mM de H_2O_2 a pH 7.0, es posible detectar variantes con una actividad volumétrica ≥ 0.25 U/mL. En conjunto, este método proporciona una herramienta eficiente y sensible para la selección de variantes de peroxigenasa con potencial en síntesis orgánica (4) y en biorremediación de fármacos (5).

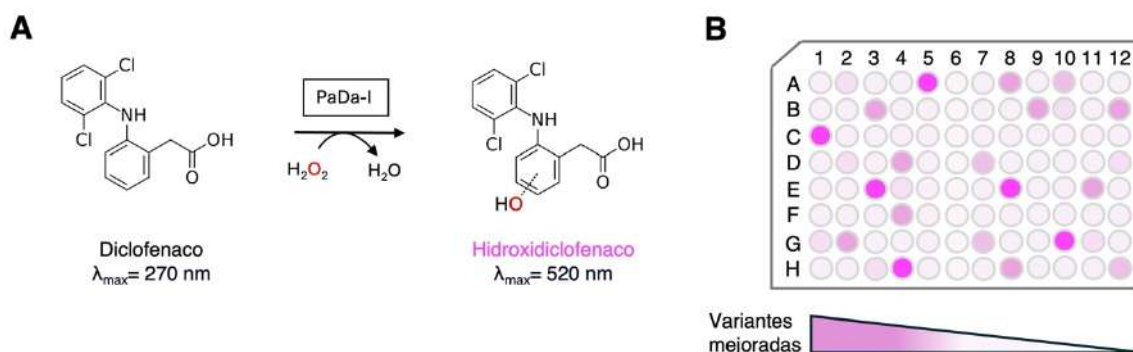


Figura 1. (A) Reacción de oxidación del diclofenaco catalizada por PaDa-I; (B) Ejemplo de placa con los resultados esperados en el *screening* en microcultivos.

Agradecimiento. Este trabajo fue financiado por SECIHTI mediante la beca de doctorado No. 802448 (CVU: 924843) y por el proyecto PAPIIT IN215423.

Bibliografía.

1. Arnold F. H., Volkov A. A. (1999) *Current Opinion in Chemical Biology*. Vol (31): 9-54.
2. Xiao, Han et al. (2015) *Industrial & engineering chemistry research*. Vol. (54): 4011-4020
3. Hofrichter, M., Kellner, H., Pecyna, M. J. & Ullrich, R. (2015) *Adv Exp Med Biol*. Vol (851): 341-368.
4. Baillie TA, Cayen MN, Fouda H, Gerson RJ, Green JD, Grossman SJ, et al. (2002) *Toxicol Appl Pharmacol*. Vol (82):188-96.
5. Badawy, A. S., Xu, Y., Ren, H., & Lu, Z. (2025). *Ecotoxicology and environmental safety*. Vol (302), 118618.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

ESTUDIO DE LA PROTEINA CERATO-PLATANIN FkCER1 DEL HONGO *Fusarium kuroshium* E IDENTIFICACIÓN DE SU PROTEÍNAS INTERACTORAS

Nidia Sánchez-León¹, Eric-Edmundo Hernández-Domínguez^{1,2*}. ¹Laboratorio de Proteómica. Red de Estudios Moleculares Avanzados. Instituto de Ecología A.C. (INECOL). Carretera Antigua a Coatepec no. 351. Col. El Haya. Xalapa, Ver. C.P. 91073. ² Investigador por México de la SECIHTI en el INECOL *e-mail: eric.hernandez@inecol.mx

Palabras clave: cerato-platanin, interacción proteína-proteína

Resumen.

Las proteínas cerato-platanin (CerP) se encuentran de forma exclusiva en los hongos, ya sea como parte de su secretoma o asociadas a la pared celular fúngica. Si bien estas proteínas no se relacionan con una función biológica específica, se reconoce que las CerP pueden activar la respuesta de defensa de las plantas, así como actuar como factores de virulencia, desencadenando necrosis en sus hospederos (1). El tipo de respuesta se encuentra en gran medida mediada por las interacciones con proteínas tanto del hongo como de la planta hospedera (2). En este trabajo buscamos abordar la implicación de la proteína cerato-platanin FkCER1 en el proceso infeccioso causado por el hongo *Fusarium kuroshium*. Esta especie fúngica es responsable de la muerte regresiva, un padecimiento que ocasiona daños considerables en árboles de relevancia agronómica y forestal (3). Con este fin expresamos de forma heteróloga la proteína FkCER1 etiquetada con una secuencia de histidinas. La proteína recombinante en combinación con cromatografía de afinidad con metales inmovilizados y electroforesis en gel de poliacrilamida en dos dimensiones permitió separar los complejos proteicos que FkCER1 forma con las proteínas de *Citrus sinensis* y *Fusarium solani*. La identificación de las proteínas interactoras se llevará a cabo por medio ESI-MS-MS. Además, a partir de los modelos de la estructura tridimensional de FkCER1 predichas con EMS-fold y AlphaFold 3, se observaron dos características comunes de este tipo de proteínas: la formación de dos puentes disulfuro y la presencia del dominio de doble barril $\Psi\beta$, que también están presentes en el dominio I de las expansinas, proteínas con la capacidad de debilitar los enlaces glucano-glucano de la celulosa de forma no enzimática (4,5). La fluorometría diferencial de barrido (FDB) permitió identificar la interacción de FkCER1 con la carboximetilcelulosa un derivado soluble de la celulosa. El ensayo FDB también permitió observar que la proteína es estable y que su estabilidad está influenciada por el pH del entorno.

Agradecimiento. NSL recibe beca postdoctoral de la SECIHTI. Agradecemos al M.C José Benjamín Rodríguez Hass y a la Dra. Diana Sánchez Rangel, por compartirnos la cepa de *Fusarium solani*.

Bibliografía.

1. Luti S, Sella L, Quarantin A, Pazzagli L, Baccelli I. (2020) *British Mycol Soc.* Vol. 34: 13-24.
2. Jones JD, Dangle JL. (2006). *Nature.* Vol. 444: 323-329.
3. Na F, Carrillo JD, Mayorquin JS, Ndinga-Muniania C, Stajich JE. (2018). *Plant disease.* Vol. 102: 1154-1164.
4. De Oliveria AL, Gallo M, Pazzagli L, Benedetti CE, Cappugi G, Scalla A, Pantera B, Spisni A, Pertinhez TA, Cicero DO. (2011). *Jour Biol Chem.* Vol. 286: 17560-17568.
5. Baccelli I, Luti S, Bernardi R, Scalla A, Pazzagli L. (2013). *Appl Microbiol Biotechnol.* Vol. 98: 175-184.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

**EL DOMINIO TIPO JACALINA DE LA SUBUNIDAD PirB^{vp} de *V. parahaemolyticus*
RECONOCE LIGANDOS TIPO TACAs Y SIALIL LEWIS EN LA LÍNEA CELULAR MCF-
7 DE CÁNCER DE MAMA**

Paola A. Quintero Gradilla ¹, Miriam F. Ayón-Pérez ¹, Alejandro Vázquez-Reyes ¹, Jorge Gutiérrez-Franco ¹, Patricia Cano-Sánchez ², Marcelo Victorio-De Los Santos ¹.

¹ Universidad Autónoma de Nayarit. Laboratorio de Investigación en Proteínas, Biología Molecular, Av. De la Cultura S/N, Ciudad de la Cultura; Tepic Nayarit, México, C.P. 63000.

² Laboratorio de Biología Molecular. Instituto de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito Exterior S/N, Circuito de la Investigación Científica, Ciudad Universitaria,

Coyoacán, Ciudad de México, C.P. 04510.

E-mail: 24000102@uan.edu.mx

Palabras clave: PirB^{vp}, Jacalina, Sialil Lewis.

Resumen.

Se ha reportado que la toxina PirAB^{vp} secretada por *Vibrio parahaemolyticus*, conformada por una subunidad B (PirB^{vp}), posee un dominio tipo Jacalina en su extremo C-terminal que reconoce con alta afinidad aminoglicanos sulfatados (1). Estudios recientes han sugerido que dicho dominio podría reconocer estructuras glicosiladas expresadas en células tumorales, especialmente en carcinomas mamarios, cuyo patrón de glicosilación se ha modificado resultando en un aumento en la expresión de ligandos tipo Sialil Lewis^{x/ya} y sus variantes sulfatadas, así como a antígenos tumorales asociados a carbohidratos (TACAs) como lo son el antígeno Tn, TF, sTn; los cuales representan blancos moleculares prometedores para estrategias de diagnóstico y tratamiento (2-4). En el presente trabajo se caracterizó la interacción de la proteína PirB^{vp} con glicoconjugados tumorales presentes en la línea celular MCF-7 de cáncer de mama. Se realizaron acoplamiento moleculares rígidos y flexibles entre PirB^{vp} y los ligandos Tn, TF, Sle^x y Slex^{SO3}, donde se observa una mayor afinidad hacia el ligando sulfatado con una $\Delta E = -6.4/-9.0$ kcal/mol. Asimismo, se identificaron residuos clave de unión a ligando en el dominio de reconocimiento a carbohidrato de la subunidad B, siendo Ala 411, Asp 412, Gly 341 y Glu 339 los residuos participan en la unión. Las simulaciones de dinámica molecular (100 ns) corroboraron los residuos claves ya descritos en el acoplamiento y la estabilidad del complejo durante la simulación de PirB^{vp} y el ligando Sle^{xSO3}. Por otro lado, se realizaron ensayos de dot blot y lectin blot que sugieren una unión selectiva y de mayor afinidad a la línea celular MCF-7 de cáncer de mama. Estos hallazgos sugieren que la subunidad PirB^{vp} podría constituir una herramienta prometedora para la identificación de firmas de glicosilación en cáncer de mama y podría contribuir al desarrollo de diagnósticos o terapias dirigidas a glicanos.

Agradecimiento.

Se agradece el apoyo proporcionado por el Laboratorio de Investigación en Proteínas, Biología Molecular de la Universidad Autónoma de Nayarit y el Laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Química de la UNAM. El presente proyecto fue financiado parcialmente con recursos del impuesto especial del 12% destinado a la UAN, patronato 2024 y del proyecto de apoyo a perfil deseable 117932/23.

Bibliografía.

1. Victorio-De Los Santos M, Vibanco-Pérez N, Soto-Rodríguez S, Pereyra A, Zenteno E, Cano-Sánchez P. (2020) *Pathog.* 9(3):182.
2. Thomas D, Rathinavel AK, Radhakrishnan P. (2021) *Biochim. Biophys. Acta Rev. Cancer.* 1875(1):188464.
3. Cazet A, Julien S, Bobowski M, Burchell J, Delannoy P. (2010) *Breast Cancer Res.* 12(3):204.
4. Li Q, Li G, Zhou Y, Zhang X, Sun M, Jiang H, et al. (2019) *J. Proteome Res.* 18(6):2559–70.



IX Congreso de Físicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

QUIMIOSELECTIVIDAD DE LA β -ETERASA LIGF DE *SPHINGOBIUM* SP. SYK-6 EN
SUSTRATOS AROMÁTICOS TIPO LIGNINA

M. Ángeles Camacho Ruiz¹, Itzel C. Romero Soto¹, Jorge A. Rodríguez González²

¹Centro Universitario del Norte, Universidad de Guadalajara, Colotlán, Jalisco, México, C.P. 46200.
angeles_camacho@cunorte.udg.mx

²Unidad de Biotecnología Industrial, CIATEJ, Zapopan, Jalisco, México, C.P. 45019

Palabras clave: β -eterasas, lignina, quimioselectividad

Introducción.

La lignina es un biopolímero complejo de origen vegetal compuesto principalmente por unidades fenilpropanoides derivadas de tres monolignoles: el alcohol *p*-cumárico (unidad H), el alcohol coniferílico (unidad G) y el alcohol sinapílico (unidad S). Estas unidades difieren en el número y posición de grupos metoxi en el anillo aromático, y su distribución está relacionada con el tipo de planta: las maderas blandas presentan mayor proporción de unidades G, mientras que las duras contienen mayor contenido de unidades S (1). Las β -eterasas catalizan la ruptura específica del enlace β -O-4, el más frecuente en la lignina, mediante un mecanismo dependiente de glutatión (GSH), sin la generación de radicales libres (2). Esta especificidad permite una despolimerización controlada y dirigida hacia productos de valor agregado. Sin embargo, la influencia de la metoxilación aromática en la actividad de estas enzimas aún no está completamente comprendida.

Metodología.

Se sintetizaron tres sustratos miméticos *p*-nitrofenílicos con patrones de metoxilación en posiciones 3-4, 3-4-5 y únicamente 4, inspirados en los monolignoles naturales. La síntesis se realizó mediante una reacción SN2 entre *p*-nitrofenol y bromuros aromáticos sustituidos. Los productos fueron purificados por cromatografía y verificados por TLC. La actividad de LigF de *Sphingobium* sp. SYK-6 producida en *E. coli* se evaluó mediante ensayos cinéticos acoplados a la liberación de *p*-nitrofenol, cuantificada a 410 nm, calculando los parámetros cinéticos Km, kcat y kcat/Km. Para los estudios de acoplamiento molecular se empleó la estructura cristalina de LigF (PDB: 4XT0) con glutatión unido. Los acoplamientos se realizaron con AutoDock Vina, centrando la caja en el GSH (20 × 20 × 20 Å), generando 100 poses por sustrato y evaluando aquellas con orientación adecuada del tiolato de GSH para un ataque SN2 al carbono β . Se modelaron condiciones con y sin flexibilidad en el residuo catalítico Ser13.

Resultados.

Los análisis cinéticos revelaron que ambas enzimas presentan su máxima eficiencia catalítica con el sustrato 3,4-dimetoxilado. El 3,4,5-trimetoxilado fue transformado con menor eficiencia, y no se detectó actividad sobre el 4-monometoxilado. La Figura 1

muestra las conformaciones más estables obtenidas mediante docking: (a-c) con Ser13 flexible y (d-f) con Ser13 rígido. La Tabla 1 presenta los valores cinéticos correspondientes.

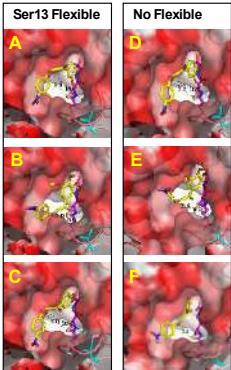


Figura 1. Acoplamiento molecular de sustratos miméticos *p*-nitrofenílicos con LigF, con (A–C) y sin flexibilidad en Ser13 (D–F). Paneles A y D: sustrato 3,4-dimetoxilado; B y E: 3,4,5-trimetoxilado; C y F: 4-monometoxilado. Sustrato en amarillo, GSH en violeta, Ser13 en cian. Los residuos se colorean según su hidrofobicidad (3).

Tabla 1. Energías de activación obtenidas por acoplamiento molecular y parámetros cinéticos de LigF frente a sustratos miméticos con diferente patrón de metoxilación.

Sustrato	Energía de activación (kcal/mol)		LigF		
	Ser13 Flex	No Flex	Kcat (min ⁻¹)	Km (μM)	Kcat/Km (nkat*s ⁻¹)
PNP-3,4DMPE	-7.1	-7	0.010	1.721	9.57E-20
PNP-3,4,5TMPE	-6.3	-6	0.005	1.228	6.78E-20
PNP-4MPE	-6.6	-6	N.D.	N.D.	N.D.

N.D No detectado

Discusión.

La presencia simultánea de grupos metoxi en posiciones 3 y 4 potencia la eficiencia catalítica de LigF, probablemente al favorecer un mejor anclaje del sustrato o estabilizar el estado de transición, mientras que la adición de un tercer metoxilo en posición 5 reduce dicha eficiencia, posiblemente por efectos de impedimento estérico. Estos patrones de quimioselectividad coinciden con la abundancia natural de las unidades monolignínicas guayacilo (G), siringilo (S) y *p*-hidroxifenilo (H).

Bibliografía.

1. Vanholme R, Demedts B, Morreel K, Ralph J, Boerjan W. (2010) Curr Opin Plant Biol. 13(3): 299-304.
2. Picart P, Alriquet M, Petit E, et al. (2015) Biotechnol Adv. 33(8): 1454-1466.
3. Eisenberg D, Schwarz E, Komarony M, Wall R. (1984) J Mol Biol. 179: 125-142.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

CRYSTAL STRUCTURE OF MUTYX: A NOVEL CLUSTERLESS ADENINE DNA GLYCOSYLASE WITH A DISTINCT C-TERMINAL DOMAIN AND 8-OXOGUANINE RECOGNITION SPHERE

Carlos H. Trasviña-Arenas^{1*}, Mohammad Hashemian², Melody Malek², Steven Merrill², Andrew J. Fisher^{2,3}, Sheila S. David²

¹Centro de Investigación Sobre el Envejecimiento, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CIE-Cinvestav), Mexico City, 14330, Mexico

²Department of Chemistry & Graduate Program in Chemistry and Chemical Biology, University of California, Davis, California, 95616, United States

³Department of Molecular and Cellular Biology, University of California, Davis, California 95616, United States

*Email: carlos.trasvina@cinvestav.mx

Adenine DNA Glycosylase, DNA repair, Devolution

Resumen.

The [4Fe-4S] cluster is an important cofactor of the base excision repair (BER) adenine DNA glycosylase MutY to prevent mutations associated with 8-oxoguanine (OG). Several MutYs lacking the [4Fe-4S] cofactor have been identified. Phylogenetic analysis shows that clusterless MutYs are distributed in two clades suggesting cofactor loss has occurred in multiple independent evolutionary events. Herein, we determined the first crystal structure of a clusterless MutY complexed with DNA. On the basis of the dramatic structural divergence from canonical MutYs, we refer to this as representative of a clusterless MutY subgroup "MutYX". Interestingly, MutYX compensates for the missing [4Fe-4S] cofactor to maintain positioning of catalytic residues by expanding a pre-existing α -helix and acquisition of the new α -helix. Surprisingly, MutYX also acquired a new C-terminal domain that uniquely recognizes OG using residues Gln201 and Arg209. Adenine glycosylase assays and binding affinity measurements indicate that Arg209 is the primary residue responsible to specificity for OG:A lesions, while Gln201 assists by bridging OG and Arg209. Surprisingly, replacement of Arg209 and Gln201 with Ala increases activity toward G:A mismatches. The MutYX structure serves as an example of devolution, capturing structural features required to retain function in the absence of a metal cofactor considered indispensable.

Agradecimiento. This work is funded by CONAHCYT-Ciencia de Frontera (México) grant CF-2023-G-1168 to C.H.T.A.

Bibliografía.

- 1-Trasviña-Arenas, C. H., Mohammad Hashemian, Melody Malek, Steven Merrill, Andrew J. Fisher, and Sheila S. David. "Crystal structure of MutYX: A novel clusterless adenine DNA glycosylase with a distinct C-terminal domain and 8-Oxoguanine recognition sphere." *bioRxiv* (2025).
- 2-Trasviña-Arenas, C.H., Lopez-Castillo, L.M., Sanchez-Sandoval, E. and Briebe, L.G. (2016) Dispensability of the [4Fe-4S] cluster in novel homologues of adenine glycosylase MutY. *The FEBS journal*, 283, 521-540.
- 3-Trasviña-Arenas, C.H., David, S.S., Delaye, L., Azuara-Liceaga, E. and Briebe, L.G. (2019) Evolution of Base Excision Repair in *Entamoeba histolytica* is shaped by gene loss, gene duplication, and lateral gene transfer. *DNA repair*, 76, 76-88.
- 4-Trasviña-Arenas, C.H., Dissanayake, U.C., Tamayo, N., Hashemian, M., Lin, W.-J., Demir, M., Hoyos-Gonzalez, N., Fisher, A.J., Cisneros, G.A. and Horvath, M.P. (2025) Structure of human MUTYH and functional profiling of cancer-associated variants reveal an allosteric network between its [4Fe-4S] cluster cofactor and active site required for DNA repair. *Nature Communications*, 16, 3596.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

“ESTUDIO BIOQUÍMICO DE LA COORDINACIÓN DEL BEROSOMA ASOCIADO A MUTYH PARA LA REPARACIÓN DEL DAÑO AL ADN 8OXOG:A”

Alam Xociel León Cardona, CINVESTAV SEDE SUR, Centro de Investigación sobre el Envejecimiento (CIE), CDMX, 14330.

Carlos Humberto Trasviña Arenas, CINVESTAV SEDE SUR, Centro de Investigación sobre el Envejecimiento, CDMX, 14330, carlos.trasvina@cinvestav.mx

Estela Guadalupe García González, CINVESTAV SEDE SUR, Centro de Investigación sobre el Envejecimiento, CDMX, 14330.

Resumen.

El ADN es una molécula compleja, intrínsecamente reactiva y altamente susceptible a las modificaciones químicas (1). Para mantener la integridad de sus genomas y evitar mutaciones que deriven en patologías como cáncer, las células poseen mecanismos de reparación del ADN, uno de estos es la reparación por escisión de bases (BER) en la cual la enzima glicosilasa MUTYH repara el mal apareamiento 8oxoG:A (2). La evidencia actual sugiere una posible regulación de este proceso a través de estructuras macromoleculares (BERosoma), controlando la procesividad y fidelidad de la reparación. Esta regulación se fundamenta en las interacciones estructurales de MUTYH con APE1, POL λ y PCNA que podrían favorecer la procesividad y la fidelidad, lo que indirectamente señala la posible formación del BERosoma, probablemente mediada por MUTYH. En contraste con el modelo clásico "una enzima, una reacción", estos indicios respaldan un modelo macromolecular multi-enzimático que coordina integralmente el proceso de reparación.

En consecuencia, este estudio tiene como objetivo caracterizar las interacciones entre MUTYH y otras enzimas del BERosoma (APE1, POL λ y PCNA), evaluar cómo estas interacciones regulan la procesividad y fidelidad del sistema de reparación. Para esto se obtuvieron modelos *in silico* de las estructuras del BERosoma mediante el algoritmo de predicción estructural AlphaFold3 para complejos multiméricos, corroborándolos experimentalmente, mediante la purificación de las proteínas recombinantes MUTYH, APE1, PCNA y Pol λ para la reconstrucción *in vitro* del BERosoma, y así poder realizar ensayos de interacción proteína-proteína mediante cromatografía de exclusión por tamaño (cualitativa) y EMSA para cálculo de K_d (cuantitativa) y finalmente observar el efecto sobre la fidelidad de la reparación de 8oxoG:A con un ensayo de incorporación de ddNTA/C marcado fluorescentemente.

Los modelos *in silico* predicen la posible formación de un complejo macromolecular, consistente con lo reportado en literatura. La reconstrucción *in vitro* del BERosoma permitirá evaluar experimentalmente la regulación de la reparación por MUTYH.

Agradecimiento. Los autores agradecen a CONAHCYT ahora SECIHTI por el financiamiento del proyecto de Ciencia de Frontera CF-2023-G-1168 que sustenta el presente proyecto.

Bibliografía.

1. Lindahl, T. (1993) *Instability and decay of the primary structure of DNA*. págs. 709–715. Vol. 362.
2. Cooper, G M. (2000) *The Cell: A Molecular Approach*. 2. Sunderland (MA) : Sinauer Associate.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

USO DE ENZIMAS FÚNGICAS PARA LA DEGRADACIÓN DE CONTAMINANTES EMERGENTES

Azucena López López, Eduardo Antonio Ramírez Orellana y Marcela Ayala Aceves.

Instituto de Biotecnología UNAM (Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis), Cuernavaca
Morelos, México, C.P. 62210. azucena.lopez@ibt.unam.mx

Palabras clave: enzimas fúngicas, contaminantes emergentes, biocatálisis ambiental

Resumen.

En febrero de 2024, el Inventario de Sustancias Químicas de la Ley de Control de Sustancias Tóxicas (TSCA) de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) contenía 86741 sustancias químicas potencialmente peligrosas, de las cuales 42293 se encontraban comercialmente activas ⁽¹⁾. Entre estas sustancias se encuentran los productos farmacéuticos, como: analgésicos, antiinflamatorios y antibióticos, así como algunos de sus productos de degradación. Estas sustancias no se encuentran reguladas, y desde hace unas décadas se sabe que tienen efectos nocivos sobre los seres vivos que habitan diferentes cuerpos de agua. La forma directa o indirecta de la introducción al medio ambiente de estos contaminantes es a través de aguas residuales, por ejemplo las domésticas pero también las hospitalarias. Resulta preocupante que incluso cuando estas aguas son tratadas, los productos farmacéuticos tienden a persistir en los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas ⁽²⁾.

Una estrategia para la remoción de estos contaminantes es mediante la remoción biológica, utilizando microorganismos, como bacterias, algas y hongos⁽³⁾. Sin embargo, una limitante de esta alternativa es la baja concentración en la que se encuentran los contaminantes emergentes, típicamente en el orden de µg a ng/L. Los microorganismos no son capaces de detectarlos ni usarlos como fuente de carbono y/o energía. En este trabajo se muestra el estudio de la remoción de productos farmacéuticos mediante el uso de enzimas fúngicas redox, como son la lacasa de *Coriopsis gallica* y una variante de la peroxigenasa inespecífica (UPO) de *Agrocybe aegerita*. Se preparó una mezcla de 4 componentes farmacéuticos (de la familia de los antibióticos, antidepresivos y antiinflamatorios): sulfanilamida, sulfametoxazol, trazodona y diclofenaco, a una concentración final de 100 µM. Se monitoreó por HPLC su degradación utilizando ambas enzimas como catalizador, encontrando que la lacasa de *C. gallica* fue capaz de catalizar la degradación del diclofenaco, obteniéndose un 90 % de degradación, mientras que los tres componentes restantes no se degradaron. Por el contrario, con la variante de la UPO de *A. aegerita*, se observó al menos el 90 % de degradación de sulfanilamida, trazodona y diclofenaco y 80% de degradación de sulfametoxazol. La toxicidad aguda de los productos de degradación se evaluó utilizando *Artemia salina*.

Agradecimientos. Este proyecto se llevó a cabo con el apoyo de la DGAPA UNAM, a través del proyecto PAPIIT IN215423, así como de la beca postdoctoral otorgada a A.L.-L. (8088404) por la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI).

Bibliografía.

1. Wang F, Xiang L, Sze-Yin Leung K, Elsner M, Zhang Y, Guo Y, Pan B, Sun H, An T, Ying G, Brooks BW, Hou D, Helbling DE, Sun J, Qiu H, Vogel TM, Zhang W, Gao Y, Simpson MJ, Luo Y, Chang SX, Su G, Wong BM, Fu TM, Zhu D, Jobst KJ, Ge C, Coulon F, Harindintwali JD, Zeng X, Wang H, Fu Y, Wei Z, Lohmann R, Chen C, Song Y, Sanchez-Cid C, Wang Y, El-Naggar A, Yao Y, Huang Y, Cheuk-Fung Law J, Gu C, Shen H, Gao Y, Qin C, Li H, Zhang T, Corcoll N, Liu M, Alessi DS, Li H, Brandt KK, Pico Y, Gu C, Guo J, Su J, Corvini P, Ye M, Rocha-Santos T, He H, Yang Y, Tong M, Zhang W, Suanon F, Brahushi F, Wang Z, Hashsham SA, Virta M, Yuan Q, Jiang G, Tremblay LA, Bu Q, Wu J, Peijnenburg W, Topp E, Cao X, Jiang X, Zheng M, Zhang T, Luo Y, Zhu L, Li X, Barceló D, Chen J, Xing B, Amelung W, Cai Z, Naidu R, Shen Q, Pawliszyn J, Zhu YG, Schaeffer A, Rillig MC, Wu F, Yu G, Tiedje JM.(2024). *The Innovation*. Vol(5): 100612. Emerging contaminants: A One Health perspective. Innovation.
2. Girijan, S., Kumar, M. (2020) *Microbial Degradation of Pharmaceuticals and Personal Care Products from Wastewater*. In: Shah, M. (eds) *Microbial Bioremediation & Biodegradation*. Springer, Singapore, pág 173-201.
3. Reyna Berenice González-González, Elda A. Flores-Contreras, Roberto Parra-Saldívar, Hafiz M.N. Iqbal. (2022). *Environmental Research*. Vol (214): 113936. Bio-removal of emerging pollutants by advanced bioremediation techniques.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

EFFECTO ANTIBACTERIANO DE UNA CLOROPEROXIDASA FÚNGICA.

Mitzi Alondra Reyes Sánchez y Marcela Ayala Aceves, Instituto de Biotecnología (Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis), UNAM, Cuernavaca, Morelos 62210.

mitzi.reyes@ibt.unam.mx

Palabras clave: cloroperoxidasa, enzima antibiótica, efecto antibacteriano.

Resumen.

Actualmente las bacterias resistentes (BR) son una amenaza que atenta contra la salud pública a nivel mundial, pues tan sólo para 2019 causaron la muerte directa de 1.27 millones de personas y se estima que estuvieron relacionadas con otras 4.95 millones de muertes más (1). En este proyecto, se explora el uso de la cloroperoxidasa (CPO) de *Caldariomyces fumago* como biocatalizador para la formación de ácido hipocloroso (HOCl) (2). El objetivo fue evaluar su eficacia antibacteriana *in vitro* frente a dos cepas modelo: *S. aureus* (Gram positiva) y *A. baumannii* (Gram negativa) mediante ensayos de viabilidad celular y cinéticas de muerte llevados a cabo a lo largo de 4 h. El HOCl se produce *in situ* utilizando diferentes sistemas enzimáticos que combinan distintas cantidades de enzima (50, 5, 0.5 y 0.05 U/mL) así como concentraciones variables de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (1 y 0.1 mM) y cloruro de potasio (KCl) (100 y 10 mM), a pH 6, bajo dos condiciones de temperatura: ambiente y 37°C.

Los resultados muestran que todos los sistemas enzimáticos que utilizan la mayor concentración evaluada de H_2O_2 y KCl presentan actividad bactericida, y la velocidad de muerte bacteriana está relacionada con la cantidad de enzima en el sistema, siendo más rápida cuando se utilizan 50 y 5 U/mL; además se observó que la temperatura es un factor que afecta la velocidad de muerte en *A. baumannii*, pues al utilizar 0.05 U/mL de CPO a 37 °C esta incrementa, alcanzando el 100% de muerte dentro de las primeras 4 horas, efecto no observado para *S. aureus*.

Por otro lado, cuando en los sistemas se colocan 0.05 U/mL de CPO, 0.1 mM de H_2O_2 y 10 mM de KCl no se aprecia un efecto bactericida en ninguna cepa dentro de las 4 h de tratamiento a temperatura ambiente, sin embargo, cuando la temperatura incrementa a 37 °C sí se observa efecto bactericida en *A. baumannii*.

Estos sistemas enzimáticos representan una alternativa prometedora frente a bacterias multirresistentes (3), por ello las siguientes etapas del proyecto incluyen su evaluación contra cepas que ya presentan mecanismos de resistencia, así como también se analizará el riesgo de desarrollo de resistencia bacteriana tras su uso repetido.

Agradecimiento. Este proyecto fue financiado por la UNAM. M.A.R.S recibió la beca para Estudios de Posgrado del SECIHTI. Se agradece el apoyo del laboratorio del Dr. Víctor Bustamante (IBT, UNAM) por la formación y acompañamiento en la ejecución de las técnicas microbiológicas empleadas en este trabajo.

Bibliografía.

1. Murray C., Ikuta K., Sharara F., Swetschinski L., Aguilar G., Gray A., Han C., Bisignano C., Rao P., Wool E., Johnson S., Browne A., Chipeta M., Fell F., Hackett S., Haines-Woodhouse G., Hamadani B., Kumaran E., McManigal B., ... Naghavi, M. (2022) *The Lancet*. 399 (10325): 629–655.
2. Hofrichter M. & Ullrich R. (2006). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 71(3): 276–288.
3. Campbell A., Dong C., Dordick J. & Dinu C. (2013). *Process Biochemistry*, 48(9): 1355–1360.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

Mapeo bioquímico-estructural de la interacción física entre el fármaco Acetohexamida y la enzima de reparación del ADN MUTYH

Ana Paola Gómez Ramírez, Estela Guadalupe García González, Carlos H. Trasviña Arenas.
Centro de Investigación sobre el Envejecimiento, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados
(CINVESTAV) Unidad Sede Sur, Ciudad de México, CP 14330.
carlos.trasvina@cinvestav.mx

Palabras clave: ADN, mutación, cáncer.

Resumen.

La formación de 8-oxoguanina (8oxoG) es la lesión oxidativa más frecuente en el genoma, propicia el apareamiento 8oxoG:Adenina (8oxoG:A) y por lo tanto, si no es reparada, mutaciones por transversión G:C→TA. El apareamiento 8oxoG:A es reconocido por la enzima MUTYH, que se encarga de iniciar y coordinar su reparación por la vía de escisión de bases (BER) (1). MUTYH tiene interacciones sintéticas con otros mecanismos de reparación como son la vía de reparación de malos apareamientos (MMR) (2) y la vía de reparación por escisión de nucleótidos (NER) (3). Esto hace que MUTYH sea un blanco terapéutico con potencial para el tratamiento de ciertos genotipos de cáncer de colon deficientes de MMR.

Este proyecto tuvo como objetivo determinar y caracterizar la interacción acetohexamida-MUTYH y su efecto en la actividad enzimática, fármaco que se ha asociado a con la disminución de los niveles proteicos de MUTYH (3). Los resultados obtenidos confirman que existe una interacción física acetohexamida-MUTYH de media afinidad que toma lugar en la periferia del sitio activo, interacción que promueve la degradación proteasomal de MUTYH sin afectar su actividad enzimática.

Agradecimientos: Los autores agradecen a CONAHCYT ahora SECIHTI por el financiamiento del proyecto de Ciencia de Frontera CF-2023-G-1168 otorgado a C.H.T.A. que sustenta el presente estudio.

Bibliografía.

1. Van Loon, B., & Hübscher, U. (2009). Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 106(43), 18201–18206.
2. Russo, M. T., De Luca, G., Casorelli, I., Degan, P., Molatore, S., Barone, F., Mazzei, F., Pannellini, T., Musiani, P., & Bignami, M. (2009). *Cancer Research*, 69(10), 4372–4379.
3. Mazouzi, A., Battistini, F., Moser, S. C., Orozco, M., Kubicek, S., Correspondence, J. I. L., Ferreira Da Silva, J., Wiedner, M., Owusu, M., Lardeau, C.-H., Ringler, A., Weil, B., Urgen Neesen, J., & Loizou, J. I. (2017). *Molecular Cell*, 68, 797–807.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

PURIFICACIÓN DE LA POLIFENOL OXIDASA DEL AGUACATE: EFECTOS EN LA ESTRUCTURA SECUNDARIA Y TERCIARIA POR LA PRESENCIA DE LIGANDOSMariana Quintana-Quirino^{1*}, Jesús Rojas-Osnaya¹, Hugo Nájera¹

¹Universidad Autónoma Metropolitana-Cuajimalpa. Departamento de Ciencias Naturales.
Laboratorio de Biofisicoquímica. Ciudad de México, CP.05348. * E-mail: mquintana@cua.uam.mx

Palabras clave: Polifenol oxidasa, purificación, estructura secundaria, estructura terciaria.

Resumen.

El aguacate *–Persea americana–*, es uno de los productos agrícolas más importantes en México, pertenece a la familia de las lauráceas y debido a su alto potencial, contribuye de manera positiva a la economía y forma parte fundamental de la alimentación, aportando diversos beneficios a la salud gracias a su contenido en grasas monoinsaturadas, fenoles, vitaminas (C, E y B6), antioxidantes, minerales y fibra. La composición química del fruto varía en función de la región de cultivo, el grado de maduración y las características del suelo. Las diferentes partes del fruto (hojas, pulpa y semillas), poseen compuestos bioactivos que les confieren propiedades nutraceuticas, permitiendo su uso potencial en el tratamiento de diversas afecciones (1).

Además, del aguacate se pueden obtener diversos productos con valor agregado, como el aceite y biomateriales. El aceite, extraído de la pulpa, es rico en ácido oleico y se emplea ampliamente en la industria cosmética por sus propiedades emolientes y regenerativas. Por otro lado, los residuos del fruto, como la semilla y la cáscara, son materia prima para el desarrollo de biomateriales en el contexto de una economía circular.

Debido a su contenido enzimático, en particular de polifenol oxidasa (PFO), el aguacate se ha convertido en un modelo de estudio para investigaciones enzimáticas, especialmente en ciertas variedades que presentan alta actividad de esta enzima. Las PFO están presentes en una amplia variedad de organismos, incluidos plantas, hongos, bacterias y animales (2). Son enzimas con centros activos de cobre que catalizan el pardeamiento enzimático en frutas, verduras y bebidas. Esta reacción se puede desencadenar por procesos como el tostado, triturado o la cosecha, y suele manifestarse durante el almacenamiento (3).

La PFO cataliza la transformación de compuestos fenólicos en quinonas, que posteriormente se polimerizan para formar pigmentos de color marrón (4,5). Debido a su rápido proceso de maduración y a la manipulación poscosecha, el aguacate es una de las frutas que presenta oxidación acelerada, lo que genera un notable pardeamiento en su pulpa, catalizado por la acción de la PFO. Este fenómeno representa actualmente un desafío importante para la industria alimentaria.

Por lo tanto, en este trabajo se llevó a cabo la extracción y purificación parcial del polifenol oxidasa, mediante precipitación diferencial con sulfato de amonio (30 y 80%), seguido posteriormente de cromatografía de intercambio iónico y de exclusión molecular (5). La presencia de la enzima se confirmó mediante electroforesis en gel de poliacrilamida, observándose una banda proteínica alrededor de los 75 kDa, a la cual se le determinó actividad enzimática utilizando catecol como sustrato. Finalmente, se estudiaron los cambios estructurales de la PFO en presencia de inhibidores (ácido ascórbico, ácido benzoico, ácido kójico) y sustratos (catecol, 4-metilcatecol, pirogalol, ácido cafeico, ácido ferúlico) mediante dicroísmo circular y fluorescencia intrínseca. Al evaluar los sustratos, se observaron cambios conformacionales, evidenciados por un incremento o disminución en la intensidad de la señal de fluorescencia, dependiendo del tipo de molécula analizada. En contraste, los inhibidores mostraron un patrón consistente de disminución en la intensidad de fluorescencia en todos los ensayos.

Agradecimiento. Los autores agradecen el financiamiento de la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) para la realización de este trabajo.

Bibliografía.

1. Maryam M. A., Selinnur Y., C. Bilen, Emine K. (2023) *Prep. Biochem. Biotechnol.* Vol (53): 40-53.
2. Panadare D., Rathod V. (2018). *Biocatal. Agric. Biotechnol.* Vol (14): 431-437.
3. Selinnur Y., C. Bilen, Emine K. (2022) *Prep. Biochem. Biotechnol.* Vol (52): 1019-1034.
4. Aksoy M. (2020) *Protein Expr Purif.* Vol (171): 105612.
5. Palma- Orozco G., Marrufo- Hernández N., Tobías I., Nájera H. (2019) *J Food Biochem.* Vol (43): 12770.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

UNIÓN DEL COBRE AL DOMINIO DE UNIÓN DE LIGANDO GluN1 DEL RECEPTOR NMDA

Deyaneira Betzabe Carbajal Salazar,¹ Liliana Quintanar.^{1,2}

¹Departamento de Química, y ²Centro de Investigación sobre el Envejecimiento (CIE), Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Ciudad de México, deyaneira.carbajal@cinvestav.mx

Palabras clave: NMDAR, Cobre, Glicina

Resumen.

El receptor para *N*-metil-D-aspartato (NMDAR) es un canal iónico crucial para la plasticidad sináptica, el aprendizaje y la formación de la memoria. En circunstancias patológicas, el NMDAR está implicado en la muerte de neuronas por excitotoxicidad del sistema nervioso central (SNC) (1). Este receptor es un tetrámero transmembranal formado por cuatro subunidades: dos siempre corresponden a GluN1 y las otras dos son una combinación de las subunidades GluN2A-D y/o GluN3A-B. Cada subunidad presenta cuatro dominios principales: un dominio N-terminal (NTD), un dominio de unión a ligando (LBD) que está conformado por dos segmentos discontinuos (S1 y S2), un dominio transmembranal (TMD) que conforma el poro iónico y un dominio intracelular C-terminal (CTD) (2). Aunque el principal agonista del NMDAR es el glutamato que se une a la subunidad GluN2, su activación requiere de la unión de un coagonista como la glicina o la D-serina, a las subunidades GluN1 o GluN3 (2,3). Entre los mecanismos neuroprotectores que regulan la actividad de este receptor, se ha reportado que en presencia de la proteína priónica celular (PrP^c) y iones cobre (Cu²⁺), se produce la pérdida de afinidad del receptor por su coagonista glicina. Por lo que, la presencia de PrP^c y de cobre ejercen regulación negativa sobre el NMDAR, contribuyendo a prevenir su hiperactivación y la consecuente excitotoxicidad (4,5).

En este trabajo identificamos *in silico* posibles sitios de unión a cobre en el LBD (S1: M394 a K544 y S2: R663 a S800, segmentos conectados por los residuos G-T) de la subunidad GluN1, región que además contiene el sitio de unión para la glicina. Asimismo, se mostrarán resultados preliminares de la expresión y purificación de la forma recombinante del LBD del NMDAR, que será utilizada para estudiar su interacción con cobre utilizando diferentes técnicas espectroscópicas como resonancia paramagnética electrónica, absorción y dicroísmo circular electrónicos en la región UV-Visible. Así mismo, se planea realizar estudios puntuales en cultivo celular, con la finalidad de entender la química de coordinación detrás de la tríada NMDAR-Cu-PrP^c.

Agradecimientos.

Al Cinvestav por el respaldo institucional otorgado para la realización de este estudio. A la SECIHTI por la beca doctoral otorgada a D.B.C.S. y por el proyecto CONAHCYT-Fronteras CF-2023-I-2844.

Bibliografía.

1. Traynelis S., Wollmuth L. P., Mc Bain C. J., Menniti F. S., Vance K. M., Ogden K. K., Hansen K. B., Yuan H., Myers S. J., Dingledine R. (2010) *Pharmacol Rev.* 62 (3): 405-496.
2. Paoletti P., Bellone C., Zhou Q. (2013) *Nat Rev Neurosci.* 13: 383-400.
3. Chou T. H., Epstein M., Fritzemeier R. G., Akins N. S., Paladugu S., Ullman E. Z., Liotta D. C., Traynelis S. F., Furukawa H. (2024) *Nature.* 632: 209-217.
4. You H., Tsutsui S., Hameed S., Kannanayakal T. J., Chen L., Xia P., Engbers J. D., Lipton S. A., Stys P. K., Zamponi G. W. (2012) *Proc Natl Acad Sci U S A.* 109 (5): 1737-1742.
5. Posadas Y., López-Guerrero V. E., Segovia J., Perez-Cruz C., Quintanar L. (2022) *Curr Opin Chem Biol.* 66: 102098.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

COMPARACIÓN DE LA EXPRESIÓN EPISOMAL VS INTEGRATIVA DE LA LIPASA B DE *Candida antarctica* (CALB) EN *Pichia pastoris*

Vicente Paúl Armenta Pérez, Juan Carlos Mateos Díaz, Rosa María Camacho Ruiz, Jorge Alberto Rodríguez González, CIATEJ Unidad de Biotecnología Industrial, Zapopan 45019, vicentepaul.armenta@gmail.com

Palabras clave: lipasa CALB, episomal, *Pichia*

Resumen.

La producción de proteínas recombinantes es uno de los sectores de mayor interés a nivel industrial en la biotecnología moderna. Entre las opciones de huéspedes, *Pichia pastoris* se ha posicionado como un huésped flexible que conjuga las bondades de los organismos procariotas y eucariotas (1). Tradicionalmente, esta levadura es modificada mediante la inserción de la secuencia recombinante en el genoma de la levadura mediante un proceso llamado recombinación homóloga, el cual es poco efectivo y requiere de una gran cantidad de material genético (2). Actualmente, existen otras alternativas como el desarrollo de sistemas de expresión episomales que permiten lograr la transformación con menor cantidad de material genético, mediante la inclusión de secuencias replicativas autónomas llamadas ARS (3). En este trabajo, se tuvo como objetivo desarrollar una plataforma en dicho sistema, gracias a la adición de la secuencia panARS de *K. lactis* que permite la replicación del plásmido pGAPZα. En primera instancia, se logró la expresión recombinante de forma integrativa de la lipasa B de *C. antarctica* (CALB). Después, se modificó el plásmido mediante la adición de la secuencia panARS y se repitió el proceso de transformación para obtener cepas capaces de expresar CALB de forma episomal. Se observó que el sistema episomal tuvo una menor expresión de CALB con alrededor del 60% en comparación del sistema integrativo (ver **Figura 1**). No obstante, se observó en el sistema episomal una mayor eficiencia de transformación (más de 1000 veces), lo cual permitió lograr la transformación con tan sólo con 25 veces menos material (100 ng de plásmido en lugar de los 2.5 µg que suelen usarse en la estrategia integrativa). Por lo tanto, el sistema episomal puede facilitar la evaluación rápida de diferentes genes, elementos moleculares (como péptidos de secreción y promotores) o mutantes puntuales.

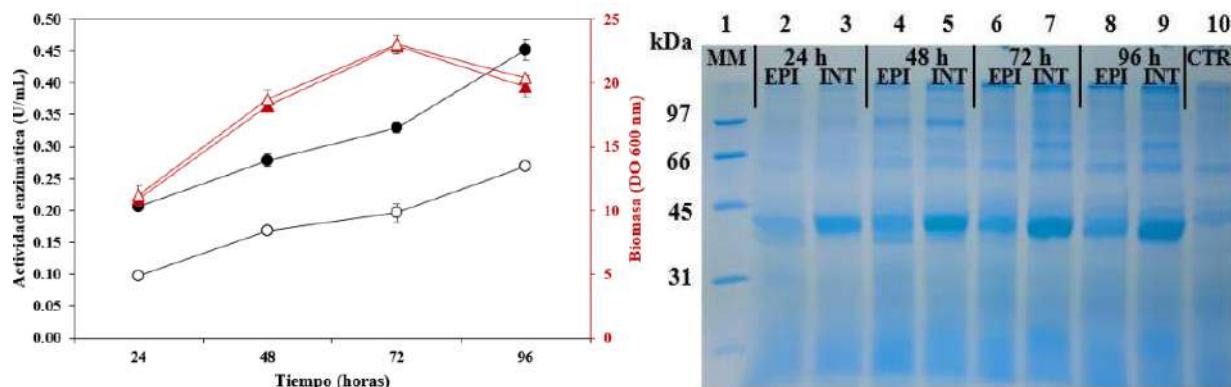


Figura 1. Cinética de crecimiento por densidad óptica (DO) y de actividad enzimática de las transformantes SMD1168H pGAPZα CALB en su forma episomal (● y ▲) e integrativa (○ y △) (izquierda). Gel SDS-PAGE de los sobrenadantes de la cinética de crecimiento, donde CALB se observa como una banda de alrededor de 40 kDa (derecha).

Agradecimientos.

A la SECIHTI por la beca de maestría otorgada al estudiante Vicente Paúl Armenta Pérez.

Bibliografía.

1. Karbalaee, M., Rezaee, S. A., & Farsiani, H. (2020). J Cell Physiol. 235(9), 5867-5881.
2. Ahmad, M., Hirz, M., Pichler, H., & Schwab, H. (2014). AMBB. 98(12): 5301-5317.
3. Liachko, I., & Dunham, M. J. (2014). FEMS yeast res. 14(2): 364-367.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

EL ROL DEL COBRE EN LAS INTERACCIONES PROTEÍNA-PROTEÍNA: REVELANDO LA INTERACCIÓN ENTRE LAS PROTEÍNAS TAU Y PRION

Gala Rocio López Herrera,¹ Víctor E. López-Guerrero,^{1,2} Gerardo Juárez,^{1,3} Liliana Quintanar.^{1,3}¹Centro de Investigaciones sobre el Envejecimiento (CIE), ²Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, y ³Departamento de Química, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (Cinvestav), Ciudad de México. C.P. 14330.

Correo: gala.lopez@cinvestav.mx

Palabras clave: Prion, tau, cobre

La enfermedad de Alzheimer es una patología compleja caracterizada por la presencia de placas amiloides y ovillos neurofibrilares. Estas lesiones representan distintos tipos de agregados proteicos: las placas amiloides consisten en depósitos extracelulares del péptido β -amiloide, mientras que los ovillos neurofibrilares están formados por proteína tau hiperfosforilada en el interior celular. Además, se ha reconocido que la dishomeostasis del cobre es una característica distintiva del Alzheimer. Los metales pueden interactuar directamente con el péptido β -amiloide y la proteína tau, influyendo en sus procesos de plegamiento y agregación. (1)

La proteína prion es una proteína altamente expresada en el sistema nervioso central, y se ha propuesto que participa en la homeostasis de cobre. Esta proteína puede unir hasta seis iones Cu(II): de uno a cuatro en la región de octarepeticiones con cuatro repetidos del péptido PHGGGWGQ, y dos en los sitios de His96 y His111(2). La evidencia indica que la proteína prion media la toxicidad inducida por agregados proteicos como los agregados β -amiloide, actuando como un receptor de membrana que facilita su internalización. El cobre desempeña un papel fundamental en este fenómeno al mediar la interacción entre la prion y el péptido β -amiloide a través de la formación de un complejo ternario mediado por especies de Cu(II) (3).

Sin embargo, las posibles interacciones entre prion y la proteína tau han sido poco exploradas. Un estudio reciente utilizando células de neuroblastoma de ratón ha mostrado que la sobreexpresión de PrP incrementa la captación de fibrillas de tau, aunque aún se desconoce si esta interacción es directa o depende de factores intermediarios como los metales (4). La naturaleza molecular de esta asociación, así como su relevancia funcional, sigue siendo un área de investigación abierta.

En el presente trabajo se propone un enfoque integral que combina herramientas espectroscópicas —como la resonancia paramagnética electrónica (EPR) y el dicroísmo circular (CD)— con ensayos en cultivo celular. A través del uso de péptidos sintéticos que emulan los sitios de unión a cobre de la proteína prion, se evalúa la posible formación de complejos ternarios con la proteína tau en presencia de Cu(II), y se explora el papel de prion como receptor membranal en la internalización de tau. Esta estrategia permite abordar de forma precisa los eventos moleculares involucrados en la interacción prion-tau-cobre, y ofrece una nueva perspectiva sobre los mecanismos mediante los cuales los metales pueden modular las interacciones proteína-proteína en condiciones patológicas.

Agradecimiento. Se agradece a Cinvestav la beca de maestría otorgada a G.R.L.H., y a la SECIHTI por una beca doctoral a G.J., una beca posdoctoral a V.L.G, así como el proyecto CONAHCYT Fronteras CF-2023-I-2844.

Bibliografía.

1. Posadas Y., López-Guerrero V., Arcos-López T., Sayler R., Sánchez-Lopez C., Segovia J., Perez-Cruz C., Quintanar L. (2022) The Role of d-block Metal Ions in Neurodegenerative Diseases. En: *Comprehensive Inorganic Chemistry III*. Elsevier Inc., 1-54.
2. Quintanar L, Rivillas-Acevedo L, Grande-Aztatzi R, Gómez-Castro CZ, Arcos-López T, Vela A. Copper coordination to the prion protein: Insights from theoretical studies. *Coord Chem Rev*. 2013;257(2):429-444. doi:10.1016/J.CCR.2012.06.026
3. Posadas Y, Parra-Ojeda L, Perez-Cruz C, Quintanar L. Amyloid β Perturbs Cu(II) Binding to the Prion Protein in a Site-Specific Manner: Insights into Its Potential Neurotoxic Mechanisms. *Inorg Chem*. 2021;60(12):8958-8972.
4. De Cecco E, Celauro L, Vanni S, et al. The uptake of tau amyloid fibrils is facilitated by the cellular prion protein and hampers prion propagation in cultured cells. *J Neurochem*. 2020;155(5):577-591. doi:10.1111/JNC.1504



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

Caracterización bioquímica de mutantes asociadas a cáncer en el sitio activo de MUTYH; un enfoque in vitro para el entendimiento de patogenicidad monoalélica

Sabrina Guadalupe López Toledo, Carlos Humberto Trasviña Arenas, Estela Guadalupe García González, Centro de Investigaciones y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación sobre el Envejecimiento, CDMX 14330, carlos.trasvina@cinvestav.mx

Palabras clave: MUTYH, sitio activo, mutaciones patogénicas.

Resumen.

El ADN es una de las biomoléculas que se encuentra constantemente expuesta a diversas fuentes de daño, tanto endógenas como exógenas. Entre ellas, el estrés oxidativo representa una de las amenazas más persistentes, generando modificaciones oxidativas como la 8-oxoguanina (8-oxoG), una base que puede inducir errores de apareamiento durante la replicación (1). Si estos errores no se corrigen adecuadamente, pueden dar lugar a mutaciones puntuales G:C→T:A, asociadas al desarrollo de diversas neoplasias, particularmente en tejidos con alta proliferación, como el epitelio intestinal (2).

En este contexto, MUTYH es una ADN glicosilasa esencial que participa en la reparación por escisión de bases (BER), corrigiendo errores de apareamiento generados durante la replicación frente a lesiones oxidativas como 8-oxoG (1). Su función es crucial para prevenir mutaciones puntuales que pueden contribuir al desarrollo de cáncer colorrectal. Diversas mutaciones en el sitio activo de MUTYH han sido vinculadas al síndrome de poliposis asociado a MUTYH (MAP) (3), incluso en individuos con una sola copia mutada, lo que sugiere un posible mecanismo de patogenicidad monoalélica asociado a alteraciones estructurales o funcionales de la enzima (4).

Este proyecto tiene como objetivo caracterizar bioquímicamente cuatro variantes puntuales localizadas en residuos catalíticos (D236N, D236V, E134G y E134V), empleando un enfoque in vitro. A partir de la expresión y purificación de proteínas recombinantes, se analizan propiedades estructurales relevantes mediante ensayos fisicoquímicos, incluyendo la evaluación de su estabilidad conformacional.

Este análisis permite explorar cómo dichas mutaciones podrían afectar la integridad estructural de la enzima, comprometiendo su funcionalidad. Los resultados obtenidos buscan aportar evidencia que complemente la interpretación clínica y funcional de variantes en genes de reparación del ADN.

Agradecimiento

Los autores agradecen a CONAHCYT ahora SECIHTI por el financiamiento del proyecto de Ciencia de Frontera CF-2023-G-1168 otorgado a C.H.T.A. que sustenta el presente estudio.

Referencias:

1. David, Sheila S., Valerie L. O'Shea y Sucharita Kundu. "Reparación por escisión de bases del daño oxidativo del ADN". *Naturaleza* 447.7147 (2007): 941-950.
2. Viel, A., Bruselles, A., Meccia, E., Fornasarig, M., Quaia, M., Canzonieri, V., ... & Bignami, M. (2017). A specific mutational signature associated with DNA 8-oxoguanine persistence in MUTYH-defective colorectal cancer. *EBioMedicine*, 20, 39-49.
3. Nielsen, M., Morreau, H., Vasen, H. F., & Hes, F. J. (2011). MUTYH-associated polyposis (MAP). *Critical reviews in oncology/hematology*, 79(1), 1-16.
4. Win, A. K., Cleary, S. P., Dowty, J. G., Baron, J. A., Young, J. P., Buchanan, D. D., ... y Jenkins, M. A. (2011). Riesgos de cáncer para portadores de la mutación monoalélica MUTYH con antecedentes familiares de cáncer colorrectal. *Revista internacional del cáncer*, 129(9), 2256-2262.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

EFECTO DEL RESIDUO F281 EN LA ACTIVIDAD DE LA ENZIMA GENTISALDEHÍDO DESHIDROGENASA DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* PAO1Erick A. Rangel¹, Javier A. Juárez Díaz², Andre Zaragoza², Carlos Mújica Jiménez¹,Alexey Llopiz¹ y Rosario A. Muñoz Clares^{1, ‡}¹Departamento de Bioquímica, Facultad de Química, ²Departamento de Biología Celular, Facultad de Ciencias, UNAM, Ciudad de México, CP04510. [‡]Correo electrónico: clares@unam.mx*Palabras clave:* cinética enzimática, mecanismo catalítico, relaciones estructura-función

Resumen: Las enzimas aldehído deshidrogenasas (ALDHs) catalizan la oxidación irreversible dependiente de NAD(P)⁺ de una gran variedad de aldehídos a sus ácidos carboxílicos correspondientes. *Pseudomonas aeruginosa* cepa PAO1 contiene en su genoma 23 genes que codifican enzimas ALDH, la mayoría de las cuales aún no han sido estudiadas. Como parte del estudio de las ALDH de *P. aeruginosa*, nuestro grupo de trabajo inició hace unos años la caracterización cinética y estructural de la enzima codificada por el gen PA2125, encontrando que posee una k_{cat} excepcionalmente alta y una gran afinidad por el gentisalaldehído (2,5-dihidroxibenzaldehído; GSA), por lo que pensamos que se trata de una gentisalaldehído deshidrogenasa, GSADH (1,2). Es interesante que la enzima de *P. aeruginosa* (PaGSADH) en su sitio activo tiene, además de los residuos de aminoácidos catalíticos esenciales presentes en todas las ALDH, residuos de naturaleza muy diferente a los que presentes en la mayoría de ALDH estudiadas hasta la fecha. Así, posee residuos polares (S150, R157 y E449) en posiciones en las que generalmente hay residuos aromáticos en el resto de las ALDHs, y un residuo aromático (F281) en la posición anterior a la cisteína catalítica que no suele ser aromático en otras ALDHs. El modelo de estructura tridimensional obtenido con AlphaFold y los resultados de acoplamiento molecular, sugieren que estos residuos participan en la unión de los derivados hidroxilados del benzaldehído que son los sustratos preferidos por esta enzima, particularmente el GSA. Concretamente, la F281 podría contribuir a la unión de estos aldehídos aromáticos mediante interacciones π - π y, por tanto, ser uno de los determinantes de la especificidad de la PaGSADH. Por otra parte, la F281 podría estar aumentando la reactividad de la cisteína catalítica mediante interacciones S- π , lo que podría ser la razón de la alta actividad de esta enzima. Para entender las relaciones estructura-función de la PaGSADH, en este trabajo mediante mutagénesis sitio-dirigida obtuvimos su variante F281A y la caracterizamos cinética y estructuralmente. Mientras que la afinidad por el GSA no se modificó en la enzima variante ($K_m = 6.8 \mu M$, muy similar a $5.3 \mu M$ de la enzima silvestre), el valor de la k_{cat} se redujo más de doscientas veces ($0.76 s^{-1}$ comparado con $171 s^{-1}$ de la silvestre). Esta drástica disminución indica la importancia de la F281 para la actividad de la PaGSADH, lo que es consistente con su absoluta conservación en las enzimas ortólogas que pertenecen a la misma subfamilia de la ALDH33. Investigamos si los efectos cinéticos observados en la variante F281A derivan de un cambio estructural, aunque esto parecía improbable dado que este residuo no interacciona con ningún otro de la proteína. Para ello, determinamos su estado oligomérico, mediante cromatografía de exclusión molecular y dispersión dinámica de luz, así como su estabilidad térmica por fluorimetría diferencial de barrido, sin encontrar diferencias importantes con la enzima silvestre. Concluimos que el residuo F281 juega un papel funcional crítico en la PaGSADH, no en la unión de sus sustratos, pero sí en algún paso del mecanismo catalítico, probablemente aumentando de forma muy significativa la reactividad de su cisteína catalítica y, de esta forma, la velocidad del paso de la adición nucleofílica del sustrato aldehído a la enzima.

Agradecimientos: DGAPA, UNAM (proyecto PAPIIT IN203423, otorgado a RAMC); SECIHTI por la beca de maestría otorgada a EARR.

Bibliografía: 1) Rueda Sanabria, C. A., 2017. Tesis de Maestría en Ciencias Químicas. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). 2) Valero Pibarral, G. A., 2024. Tesis de Maestría en Ciencias Bioquímicas. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

ESTUDIO DEL PAPEL DE LA UNIÓN COBRE-PROTEÍNA PRION EN LA MODULACIÓN DE LOS RECEPTORES NMDA (NMDAR)

Omar Zúñiga¹, Víctor E. López-Guerrero^{1,2}, Liliana Quintanar^{1,3}

¹Centro de Investigación sobre el Envejecimiento (CIE), ²Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, y ³Departamento de Química, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (Cinvestav), CDMX, México.

omar.zuniga.olvera@cinvestav.mx

Palabras clave: Neurodegeneración, NMDA, Nitrosilación, Cobre

Resumen.

La alteración en el funcionamiento de los receptores a NMDA afecta funciones indispensables en la transmisión sináptica, alterando procesos esenciales como el aprendizaje y la memoria, dando origen a enfermedades neurodegenerativas, muchas de ellas incurables.^[1]

Estudios *in vitro* han demostrado que el Cu²⁺ puede modular la actividad de los receptores NMDA mediante mecanismos que involucran la participación de la proteína prion celular (PrP^C).^[2] Se han descrito dos mecanismos que exploran el papel de los complejos Cu²⁺-PrP^C en la modulación de los receptores a NMDA: la S-nitrosilación de los receptores NMDA y la formación del complejo PrP^C-NMDAR.^[2,3] La S-nitrosilación consiste en la unión selectiva y reversible de una molécula de óxido nítrico (NO•) a un residuo de cisteína para formar un S-nitrosotiol (-SNO).^[3]

El papel de la PrP^C y el Cu²⁺ en la S-nitrosilación se ha puesto en evidencia utilizando cultivos de células neuronales de ratones knockout para PrP^C, y utilizando quelantes de cobre.^[3,5] Aunque hasta el momento no se ha identificado algún sitio de unión a Cu²⁺ en los receptores NMDA, la administración de quelantes de Cu²⁺ o el knockout del gen que codifica para PrP^C prolonga la entrada de Ca²⁺ asociada a la activación de los receptores NMDA.^[2,5] Por otro lado, se sabe que la formación del complejo PrP^C-NMDAR provoca la disminución de la entrada de Ca²⁺, previniendo la muerte celular por exposición excesiva a NMDA.^[2,4]

A pesar de la importancia de estos mecanismos en la actividad de los receptores NMDA, aun no se ha elucidado el mecanismo molecular que relacione a la PrP^C y el Cu²⁺ en la S-nitrosilación del NMDAR, ni se han identificados los sitios de unión a cobre que participan en dicha reacción, dejando varias interrogantes sobre la química detrás de éstos. En este trabajo se estudiarán dichos mecanismos, evaluando la reactividad de los complejos Cu²⁺-PrP^C frente a óxido nítrico, empleando técnicas espectroscópicas como absorción electrónica y resonancia paramagnética nuclear (EPR). Por otro lado, en un sistema *in vitro* de cultivo celular, se evaluará la co-localización de PrP^C-NMDAR mediante inmunohistoquímica, la S-nitrosilación del NMDAR por western-blot, y el impacto de mutaciones puntuales en PrP^C y NMDAR. Los resultados de este proyecto permitirán diseñar nuevas estrategias terapéuticas enfocadas a modular la actividad de los receptores NMDA dependiente de Cu²⁺-PrP^C en enfermedades neurodegenerativas.

Bibliografía.

1. Hanson J. E. et al. (2024). Neuropsychopharmacology. 49 (1), 51–66. 12.
2. You, H.; Tsutsui, S.; Hameed, S.; Kannanayakal, T. J.; Chen, L.; Xia, P.; Engbers, J. D.; Lipton, S. A.; Stys, P. K.; Zamponi, G. W. (2012). Natl. Acad. Sci. U. S. A. 109 (5), 1737–42.
3. Gasperini, L.; Meneghetti, E.; Pastore, B.; Benetti, F.; Legname, G. (2015). Antioxid. Redox Signal. 22 (9), 772–84.
4. Quintanar, L.; Rivillas-Acevedo, L.; Grande-Aztatzi, R.; Gómez-Castro, C. Z.; Arcos-López, T.; Vela, A. (2013). Coord. Chem. Rev. 257 (2), 429–444.
5. Posadas, Y., López-Guerrero, V. E., Segovia, J., Perez-Cruz, C., & Quintanar, L. (2021). Current Opinion In Chemical Biology, 66, 102098.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

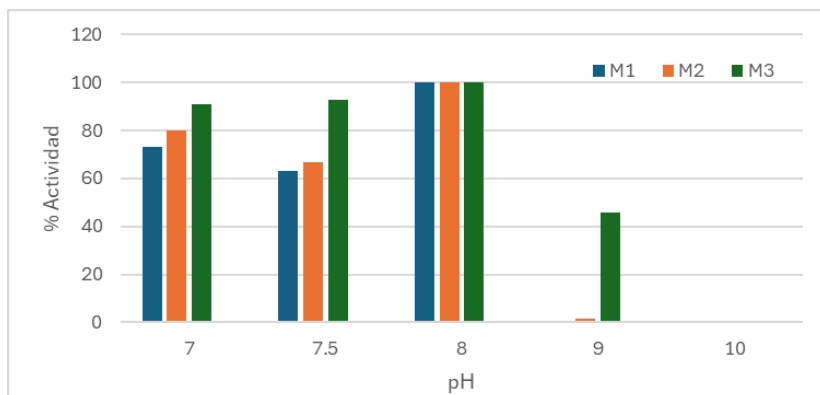
OBTENCIÓN DE MUTANTES DE BpCynD CON TOLERANCIA ALCALINA

Mariana Varela Albíter, Eugenia Flores Robles y Georgina Garza Ramos, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM, CDMX 04510, marianavarela7@ciencias.unam.mx

Palabras clave: Biocatálisis, remediación ambiental, cianuro

Resumen.

Los cianuros son compuestos químicos abundantes en la naturaleza que se presentan como cianuros inorgánicos (HCN) y cianuros orgánicos o nitrilos (RCN), ambos son potencialmente tóxicos y no suelen ser fácilmente biodegradables. La industria, principalmente minera, emplea diversos métodos de oxidación química para la degradación del cianuro contaminante, sin embargo, son procesos lentos que precisan del almacenamiento de grandes cantidades de agua contaminada (1). La degradación microbiológica se ha considerado como una alternativa eficiente para la eliminación de cianuros contaminantes en el ambiente, así como el uso de enzimas puras para desarrollar sistemas biocatalizadores de la hidrólisis de cianuro y nitrilos (2). La cianuro dihidratasa (CynD) de *B. pumilus* GMA1 cataliza de manera específica la hidrólisis del cianuro en ácido fórmico y amonio. El mayor obstáculo en el uso de CynD para degradar desechos de cianuro es su incapacidad de tolerar el pH alcalino al que generalmente se encuentran las soluciones contaminadas con este compuesto. Esta enzima presenta actividad óptima en un rango de pH de 6-8 y la actividad decae drásticamente a partir de pH 8.5 (3). El objetivo del trabajo es obtener mutantes con tolerancia alcalina mejorada, que servirán como catalizadores de la hidrólisis del cianuro en condiciones alcalinas. Se obtuvo la mutante H308S (M1) lo cual mejoró los parámetros cinéticos en un orden de magnitud, sin modificar su tolerancia al pH alcalino. A partir de M1 se generó la mutante E327G (M2) y la mutante Q86R + E96G + D254E (M3), de acuerdo con lo reportado por Wang et al. (4). Las enzimas se expresaron con etiquetas de histidina y se purificaron por cromatografía de afinidad a Ni. Se determinaron las actividades enzimáticas en un rango de pH de 7 a 10. Las tres mutantes exhiben máxima actividad a pH 8 y únicamente la mutante M3 presenta actividad a pH 9.



Actividades enzimáticas relativas de la CynD H308S (M1) y las mutantes E327G (M2) y Q86R + E96G + D254E (M3). pH 7, 7.5 y 11: $\text{H}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$. pH 8: Tris base/HCl, pH 9: Glicina/NaOH, pH 10: HCO_3/NaOH . Los amortiguadores se prepararon a una concentración de 50 mM + 300 mM NaCl. Los ensayos se realizaron con 2.5 mM de KCN y 10 $\mu\text{g/mL}$ de enzima. A los 10 min se cuantificó el cianuro residual por el método de Fisher y Brown (5)

Se completará la caracterización cinética y estructural de la mutante M3, enzima que servirá de prototipo para el desarrollo de un sistema biocatalítico robusto de remediación ambiental.

Agradecimiento. DGAPA-UNAM: PAPIIT IN217725

1. Luque-Almagro, V.M., Cabello, P., Sáez, L.P., Olaya-Abril, A., Moreno-Vivián, C., & Roldán, M.D. (2018) *Appl Microbiol Biotechnol.* 102(3):1067-1074
2. Park, J.M., Sewell, B.T., & Benedik, M.J. (2017) *Appl Microbiol Biotechnol.* 101(7): 3029-3042.
3. Jandhyala, D.M., Willson, R.C., Sewell, B.T., & Benedik, M.J. (2005) *Appl Microbiol Biotechnol.* 68(3): 327-335.
4. Wang, L., Watermeyer, J.M., Mulelu, A.E., Sewell, B.T., & Benedik, M.J. (2012) *Appl Microbiol Biotechnol.* 94(1): 131-140.
5. Fisher, F., & Brown, J. (1952) *Anal. Chem.* 24(9): 1440-1444.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

AUTOENSAMBLAJE DE LA HIDROFOBINA DE CLASE I (ABH4) DE *Agaricus bisporus* EN DIFERENTES INTERFASES.

Jesús Rojas Osnaya, Mariana Quintana Quirino, Hugo Nájera

Universidad Autónoma Metropolitana-Cuajimalpa. Departamento de Ciencias Naturales.
Laboratorio de Biofisicoquímica. Av. Vasco de Quiroga 4871. Col. Santa Fe Cuajimalpa, Alcaldía
Cuajimalpa, Ciudad de México. CP. 05348.

E-mail: jrojas@cua.uam.mx

Palabras clave: Hidrofobina, Superficies, Interfases

Resumen.

Los hongos microscópicos y macroscópicos son organismos que desempeñan un papel importante en la naturaleza. Se ha reportado que existen más de 2000 especies, de los cuales solo el ~1% es aceptado para consumo humano. Los hongos más consumidos alrededor del mundo son *Lentinus edodes*, *Pleurotus spp.* y *Agaricus bisporus* (1). Se ha informado que *A. bisporus* contiene un gran número de compuestos y proteínas, como: polisacáridos, pigmentos, lectinas, tirosinasas e hidrofobinas (2, 3). Las hidrofobinas son pequeñas proteínas extracelulares anfífilas producidas por hongos filamentosos. Son proteínas activas de superficie y sus funciones se relacionan principalmente con su capacidad de autoensamblarse en monocapas anfipáticas en interfases hidrófobas-hidrófilas. Su peso molecular está entre 7 y 15 kDa; se caracterizan por tener ocho cisteínas conservadas en su estructura (2). Se clasifican en las clases I y II, según sus patrones de hidropatía, requerimientos de purificación y su capacidad para formar estructuras estables llamadas fibrillas o "rodlets", estas son similares a las estructuras tipo amiloide. Las fibrillas generadas por la clase I pueden disolverse mediante tratamiento con ácido trifluoroacético (TFA). Por el contrario, los agregados producidos por la clase II pueden disolverse mediante tratamiento con etanol al 60 % y dodecilsulfato de sodio (SDS) al 2%. La naturaleza anfipática de las hidrofobinas es esencial para cambiar la naturaleza de la superficie de hidrófoba a hidrófila o viceversa (4). También pueden interaccionar en interfases aire-agua, agua-aceite, agua-sólido. Estas interacciones permiten disminuir la tensión superficial del agua en la interfase agua-aire, permitiendo que las hifas de los hongos puedan interactuar con el exterior, también la unión a sustratos hidrofóbicos como las cutículas de los insectos para provocar la secreción de enzimas y proteínas para degradar la cutícula. Debido a la naturaleza anfipática de las hidrofobinas, es fundamental para muchas aplicaciones biotecnológicas como: estabilizar la espuma y emulsiones en productos alimenticios, inmovilizar enzimas, péptidos, células, anticuerpos, o moléculas inorgánicas en superficies (4, 5). Por lo que el objetivo de este trabajo fue extraer y purificar a la hidrofobina de clase I (ABH4) del hongo *Agaricus bisporus* y producir fibrillas en las interfases sólido-líquido y agua-aceite. La extracción y purificación fueron eficientes para la ABH4, obteniéndose una banda de ~12 kDa. La ABH4 aumentó el ángulo de contacto en vidrio; mientras que, para cuarzo, teflón y silicio este disminuyó. Mediante microscopía electrónica de barrido y de fuerza atómica, se observó que ABH4 produjo diferentes estructuras tipo amiloide en la interfase sólido-líquido. Por otro lado, en la interfase agua-aceite, ABH4 logró encapsular aceite de aguacate produciendo micelas de tamaño entre 1 y 10 μm .

Agradecimiento. Los autores agradecen el financiamiento de la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) para la realización de este trabajo.

Bibliografía.

1. González, A., Cruz, M., Losoya, C., Nobre, C., Loredó, A., Rodríguez, R., Belmares, R. (2020). Food Funct, 11(9), 7400-7414.
2. Kulkarni, S., Nene, S., Joshi, K. (2017). Process Biochem, 61,1-11.
3. Rojas-Osnaya, J., Nájera, H. (2025). BBA Proteins and Proteomics, 1873(1), 141048.
4. Rojas-Osnaya, J., Quintana-Quirino, M., Espinosa-Valencia, A., Bravo, A. L., Nájera, H. (2024). Front. Phys, 12, 1393340.
5. Wösten, H. A., Scholtmeijer, K. (2015). Appl. Microbiol. Biotechnol, 99, 1587-1597.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

Producción de variantes de RBD de SARS CoV-2 en *E. coli* y su caracterización bioquímica

¹Ezequiel Tobón, ²Lidia Riaño-Umbarila, ³Humberto Flores-Soto, ⁴Michele Gutiérrez-Mayret, ⁵Baltazar Becerril-Lujan, ⁶Xavier Soberón-Mainero, ⁷Octavio Tonatíuh Ramírez-Reivich, ⁸Paloma Columba Gil-Rodríguez, ¹Enrique Rudiño-Piñera, Instituto de Biotecnología, Departamento de Biología Molecular y Bioprocesos, Cuernavaca, Morelos, 62210, ezequiel.tobon@ibt.unam.mx.

Palabras clave: RBD-ACE2, replegamiento, resonancia de plasmones.

Resumen.

La producción del dominio de unión al receptor (RBD) de variantes del SARS-CoV-2 ha sido fundamental para comprender su interacción con el receptor humano ACE2 y desarrollar estrategias alternativas contra la COVID-19. La expresión bacteriana de bajo costo representa una vía prometedora para generar estas proteínas y enfrentar la aparición constante de nuevas variantes derivadas de la evolución viral. Sin embargo, la expresión de RBD recombinante en *Escherichia coli* presenta desafíos importantes, como la correcta formación de enlaces disulfuro, la baja solubilidad y la ausencia de glicosilación. En este estudio, se expresaron diversas variantes del RBD en *E. coli* BL21. Las proteínas, obtenidas en forma de cuerpos de inclusión, fueron replegadas *in vitro* y purificadas mediante cromatografía de exclusión molecular. Posteriormente, se compararon con proteínas RBD producidas en células de ovario de hámster chino (CHO) en cuanto a su capacidad de unión al receptor ACE2. Las constantes de afinidad se determinaron mediante espectroscopía de resonancia de plasmones de superficie. Los resultados demostraron que los RBD bacterianos replegados presentaron afinidades comparables a las de sus equivalentes producidos en células eucariotas. Por lo tanto, la producción en *E. coli* puede constituir una estrategia viable y accesible para laboratorios con recursos limitados, al facilitar estudios funcionales de la interacción RBD-ACE2 y apoyar aplicaciones como el desarrollo de vacunas, pruebas serológicas, métodos de detección y ensayos para el diseño de inhibidores peptídicos o pequeñas moléculas que interfieran con dicha interacción.

Agradecimientos. DGAPA-PAPIIT IN226523, IN216522, and IV200820 y SRE-AMEXCID P-10376.

Bibliografía.

1. Lan, J., Ge, J., Yu, J., Sisi S, Huan Z, Shilong F, Qi Z, Xuanling S, Qing. W., Linq Z, Xinquan W. 2020. *Nature*, Vol 581: 210-220.
2. Jackson C, Farzan M, Chen B, Choe, H. 2022. *Nature Reviews, Molecular Cell Biology*, Vol. 23: 3-20.
3. Buchner J & Rainer R. 1991. *Nature*, Vol 9:157–162.
4. He Y, Qi J, Xiao L, Shen L, Yu W, Hu T. 2021. *Engineering Life Sciences*. Vol 21(6):453–60.
5. Tobón E, Riaño-Umbarila L, Flores H, Gutierrez M, Soberon X, Becerril-Lujan B, Ramírez O, Rudiño-Piñera E. 2025. *Protein Expression and Purification*. Vol. 235: 106781-106790.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas 13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

ACARREADOR PROTEICO PARA PROBAR EN LÍNEA CELULAR CANCERÍGENA (PANC1)

Diana Lizeth Serrano-Rivas³, Alfredo André Escalera-Sánchez¹, Alba Adriana Vallejo-Cardona², Luis Joel Figueroa-Yáñez^{1*}

¹Departamento de Biotecnología Industrial. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (CIATEJ). Zapopan, 45019, Jalisco.

²Departamento de Biotecnología Médica y Farmacéutica. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (CIATEJ). Guadalajara, 44270, Jalisco.

³Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA), Universidad de Guadalajara. Zapopan, 45200, Jalisco

*Autor correspondiente: lfigueroa@ciatej.mx

Palabras clave: proteínas, anticuerpos, cáncer, acarreador, her2, rosetta

Resumen. El cáncer, es una de las principales causas de muerte a nivel mundial. Entre los biomarcadores relevantes, la proteína HER2 destaca por su expresión diferencialmente positiva en tumores agresivos de mama, ovario y gástrico, convirtiéndose en un blanco de diagnóstico y terapéutico clave. En este trabajo, se diseñó una nanopartícula proteica autoensamblable basada en un anticuerpo anti-HER2, utilizando

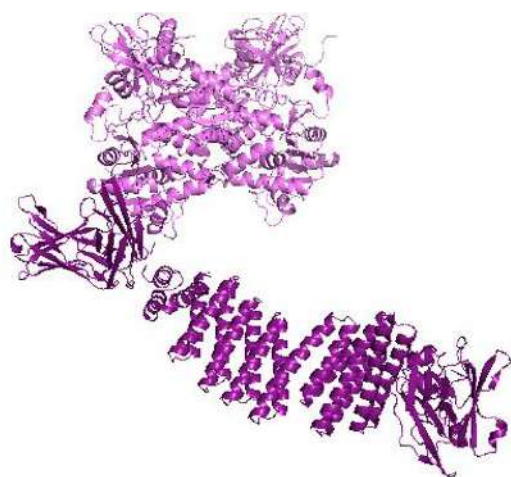


Imagen 1. Nanopartícula autoensamblable con luciferasa integrada.

herramientas de modelado estructural como Rosetta. El diseño se basó en simetría diédrica y en la fusión modular de proteínas, incorporando además una luciferasa de emisión roja para facilitar su detección. Se emplearon estructuras cristalográficas del PDB (8JYR, 1L6X, IDEE, 5KYT) y se realizaron simulaciones docking para evaluar la interacción entre la región Fc del anticuerpo y una proteína A modificada de *Staphylococcus aureus*. Se generaron más de 1000 modelos, de los cuales, se seleccionó el constructo con mejor puntaje energético y estabilidad estructural. Se usó el protocolo establecido por Divine *et al.*, 2021, el cual, a su vez, retomó las metodologías descritas por Hsia *et al.*, 2021 y Vulovic *et al.*, 2021 para la construcción *in silico* de la estructura diédrica. Para el modelado computacional y la predicción estructural, se empleó el software RoseTTAFold, adicionalmente, se incorporó al modelo *in silico*, una luciferasa de emisión roja, mediante RosettaRemodel, que permitió realizar modificaciones específicas en la secuencia de aminoácidos. La construcción del modelo se basó en proteínas disponibles en el PDB con los IDs:

8JYR, 1L6X, IDEE y 5KYT, y se realizaron simulaciones de docking molecular específico para predecir las interacciones entre ellas, especialmente en la región Fc del anticuerpo y la proteína A, proveniente de *Staphylococcus aureus*, la cual fue modificada y utilizada como una proteína de fusión. Estas simulaciones se evaluaron mediante el protocolo ScoreFunction de Rosetta, que calcula una puntuación energética total de las diferentes interacciones atómicas. Además, de la viabilidad de las uniones moleculares.

El modelo final presentó una puntuación energética favorable (score: -3545.95), lo que sugiere una alta viabilidad estructural. No obstante, se reconoce que la funcionalidad biológica del ensamble deberá validarse experimentalmente. Este diseño representa un avance en el desarrollo de plataformas diagnósticas más específicas y menos invasivas, con potencial para detectar subtipos tumorales heterogéneos.

Agradecimientos. Al Centro de Análisis de Datos y Supercómputo (CADS) de la UdeG y al CIATEJ.

Bibliografía.

- Divine, R., Dang, H. V., Ueda, G., Fallas, J. A., Vulovic, I., Sheffler, W., Saini, S., Zhao, Y. T., Raj, I. X., Morawski, P. A., Jennewein, M. F., Homad, L. J., Wan, Y. H., Tooley, M. R., Seeger, F., Etemadi, A., Fahning, M. L., Lazarovits, J., Roederer, A., Walls, A. C., ... Baker, D. (2021). Designed proteins assemble antibodies into modular nanocages. *Science*, 372(6537), eabd9994. <https://doi.org/10.1126/science.abd9994>.
- Slamon, D. J., Godolphin, W., Jones, L. A., Holt, J. A., Wong, S. G., Keith, D. E., Levin, W. J., Stuart, S. G., Udove, J., & Ullrich, A. (1989). Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science* (New York, N.Y.), 244(4905), 707–712. <https://doi.org/10.1126/science.2470152>.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

**CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL, ESTRUCTURAL Y EVOLUTIVA DE LA
GLICERALDEHÍDO- 3-FOSFATO DESHIDROGENASA NO FOSFORILANTE (GAPN)
DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* CEPA PAO1**

Alexey Llopiz¹, Carlos Mújica Jiménez¹, Javier Andrés Juárez Díaz², Andre Zaragoza², Javier Carrillo Campos³, Héctor Riveros Rosas⁴, Rosario Adelaida Muñoz Clares^{1,†}

¹Departamento de Bioquímica, Facultad de Química, ²Departamento de Biología Celular, Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México 04510, México.

³Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua, Chihuahua, México.

Departamento de Bioquímica, ⁴Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, CP 04510, México. †Correo a: clares@unam.mx.

Palabras clave: mecanismo catalítico; relación estructura-función; filogenia.

Resumen: Las gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasas no fosforilantes (GAPN) catalizan la oxidación del gliceraldehído-3-fosfato (GAP) a 3-fosfoglicerato (3-PG) con la reducción del NADP⁺ a NADPH, el cual se usa en vías anabólicas y para defensa contra el estrés oxidativo. Esto último es relevante en bacterias patógenas, como *Pseudomonas aeruginosa*, ya que el sistema inmune del hospedero produce especies reactivas del oxígeno para combatirlas. Las GAPN son aldehído deshidrogenasas (ALDH) hidrolíticas clasificadas como familia ALDH11, la que no contiene miembros de origen animal. Hasta la fecha, la GAPN de *P. aeruginosa* (PaGAPN) no ha sido caracterizada ni bioquímica ni estructuralmente. En un alineamiento múltiple de secuencias GAPN de origen bacteriano se encontró que la PaGAPN contiene un residuo de glicina (G286) en la posición correspondiente al residuo de glutamato catalítico que activa a la molécula de agua en las ALDHs hidrolíticas estudiadas hasta la fecha, por lo que nos surgió la inquietud de investigar si esta enzima no era funcional o, si lo era, cómo realizaba el paso de hidrólisis de la reacción. Para ello, en este trabajo se clonó su gen (PA2323) a partir del DNA genómico de *P. aeruginosa*, cepa PAO1 y se expresó el plásmido resultante en *Escherichia coli* BL21(DE3) Star. La proteína recombinante (PaGAPN) se obtuvo en forma soluble y se purificó hasta homogeneidad. A pesar de carecer del glutamato catalítico, la PaGAPN fue tan activa como otras GAPN que sí lo poseen. La variante G286E mostró una disminución de 10 veces en la actividad comparada con la enzima silvestre, indicando que en la PaGAPN un glutamato en esta posición no participa en la catálisis, sino que estorba. Usando un modelo de la estructura tridimensional de la PaGAPN generado con AlphaFold y simulaciones de acoplamiento molecular con los sustratos, buscamos residuos del sitio activo que pudieran participar en la catálisis ácido-básica sustituyendo al glutamato catalítico canónico, encontrando al E193 como posible candidato. La variante E193L fue 55 veces menos activa que la enzima silvestre, lo que no se puede atribuir a un cambio estructural, dado que conserva el mismo estado tetramérico y la estabilidad térmica de la enzima silvestre, sino a un cambio funcional. Aunque E193 es un residuo importante para la catálisis, por sí solo no es esencial y probablemente requiera de otro residuo, o quizás del producto de la reacción, para llevar a cabo la catálisis ácido-básica. En conjunto nuestros resultados sugieren que existen dos tipos de ALDH con actividad GAPN, a las que llamamos GAPN(Gly) y GAPN(Glu). Se investigó la distribución y evolución de estas GAPN mediante una búsqueda exhaustiva de secuencias anotadas en bases de datos no redundantes seguido de alineamientos múltiples de estas secuencias y análisis filogenéticos. En un primer análisis, que incluyó diversas familias de ALDH, el árbol filogenético construido mostró dos ramas bien separadas: una de ellas incluye a todas las secuencias GAPN(Gly) y la otra a las secuencias GAPN(Glu). En un segundo análisis focalizado en las secuencias GAPN, encontramos que las GAPN(Gly) están presentes en muchas bacterias, pero ausentes en arqueas, plantas y hongos, mientras que las GAPN(Glu) además de encontrarse en bacterias también están presentes en arqueas, plantas y hongos. Concluimos que las GAPN(Glu) son las enzimas de la familia ALDH11 ya conocidas, mientras que las GAPN(Gly) forman una nueva familia, exclusiva de algunas bacterias, que nombramos como ALDH34.

Agradecimientos: ALL está realizando una estancia posdoctoral gracias al Programa de Becas Posdoctorales en la Universidad Nacional Autónoma de México (POSDOC) en el Laboratorio de Estructura, Función y Evolución de Proteínas (LEFEP) del Dpto. de Bioquímica de la Facultad de Química, UNAM. Agradecemos a la Dra. Arline Fernández Silva la identificación inicial de las GAPN(Gly) en *P. aeruginosa* PAO1, y al Dr. Rogelio Rodríguez Sotres de la Facultad de Química (UNAM) por las facilidades de cómputo para los análisis bioinformáticos.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

ESTUDIO DE LOS DETERMINANTES ESTRUCTURALES INVOLUCRADOS EN LA HIDRÓLISIS Y TRANSGLICOSIDACIÓN DE LA α -AMILASA AMYA DE *T. MARITIMA* A TRAVÉS DE UN ANÁLISIS DE REGRESIÓN LOGÍSTICA

Salvador Martínez Bahena, José Alberto Parra Espinoza, Alejandro Garcíarrubio Granados, Gloria Saab Rincón.

Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis. Cuernavaca, Morelos, 62100.
salvador.martinez@ibt.unam.mx

Palabras clave: transglucosidación, hidrólisis, regresión logística.

Resumen.

Las α -amilasas son un grupo de enzimas que catalizan la hidrólisis de los enlaces glicosídicos α -1,4 internos (actividad endo) presentes en las cadenas de amilosa y amilopectina. En función de su similitud a nivel de secuencia, estas enzimas se agrupan dentro de la familia de las glicosilhidrolasas 13 (GH13). Estructuralmente, comparten un plegamiento característico conformado por tres dominios denominados A, B y C [1]. Estas enzimas catalizan reacciones mediante un mecanismo de dos etapas. En la primera, conocida como glicosilación, reconocen el sustrato y escinden el enlace glicosídico, formando un intermediario covalente con un fragmento del mismo. En la segunda etapa, denominada desglucosilación, dicho fragmento es transferido a una molécula de agua, lo que da lugar a una reacción de hidrólisis. No obstante, dentro de la familia GH13 existen enzimas, como las 4- α -glucanotransferasas y las ciclodextranoglucanotransferasas (CGTasas), que, en lugar de utilizar una molécula de agua, transfieren el fragmento glucosídico a otro carbohidrato presente en la reacción, dando lugar a una reacción de transglucosidación [2]. De manera interesante, algunas α -amilasas, como AmyA de *Thermotoga maritima*, también presentan esta capacidad de transferencia, aunque ocurre sobre un trasfondo predominante de actividad hidrolítica [4]. Estas particularidades han motivado diversos estudios orientados a identificar los determinantes estructurales responsables de las actividades de hidrólisis y transglucosidación, con el fin de modular dichos procesos mediante mutagénesis sitio-dirigida y evolución dirigida. En el presente trabajo, se llevó a cabo un análisis de los residuos que podrían estar implicados en ambas actividades, utilizando como modelo a la α -amilasa AmyA de *Thermotoga maritima*, junto con la información derivada de las secuencias de α -amilasas y 4- α -glucanotransferasas pertenecientes a la familia GH13. Para este propósito, se construyó una base de datos de secuencias correspondientes a enzimas de la familia GH13, obtenidas del repositorio CAZy. Tras un proceso de curación exhaustivo, se obtuvieron 273 secuencias clasificadas como hidrolasas (etiquetadas con la letra "H") y 90 como transferasas (etiquetadas con la letra "T"). Posteriormente, se realizó un alineamiento múltiple de secuencias utilizando el algoritmo MAFFT (Multiple Alignment using Fast Fourier Transform). A partir de este alineamiento, se llevó a cabo un análisis de regresión logística a nivel de las posiciones conservadas en el alineamiento, lo que permitió identificar y jerarquizar las cincuenta posiciones más relevantes potencialmente asociadas con las actividades de hidrólisis y transglucosidación en la enzima modelo AmyA. Este enfoque revela sitios candidatos a ser modificados con el fin de modular la actividad enzimática entre hidrólisis y transglucosidación. Además de identificar posiciones relevantes, el análisis es propositivo, ya que sugiere los residuos específicos que podrían favorecer una u otra actividad. Se trata de un estudio innovador que, mediante la decodificación de información contenida en las secuencias evolutivamente conservadas, permite seleccionar residuos que la evolución ya ha explorado como variantes funcionales, con el objetivo de introducir, optimizar o redirigir las funciones de hidrólisis y transglucosidación en enzimas de la familia GH13.

Agradecimiento. Apoyo SECIHTI a través de beca doctoral No. 4048529 a SMB. Apoyo DGAPA-UNAM a través del proyecto IN226623 otorgado a GSR. Al Consorcio Saab-Soberón.

Bibliografía.

1. Farber G, Petsko G. (1990) *TIBS*. 15(6):228–234.
2. Sinnott ML. (1990) *Chem Rev*. 90(7):1171–1202.
3. Moreno A, Damian-Almazo JY, Miranda A, Saab-Rincón G, Gonzalez F, López-Munguía A. (2010) *Enzyme Microb Technol*. 46(5):331–337.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

LA CLAVE ES EL ESPACIADOR: LA SECUENCIA ESPACIADORA DE LOXP GUÍA LA CONFORMACIÓN DE LA RECOMBINASA CRE

Marco A. Perez C., Marco A. Ramirez M., Nina Pastor, Centro de Investigación en Dinámica Molecular, Cuernavaca Morelos, UAEM. Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, 62209 Cuernavaca, México. , E-mail: marco.perezca@uaem.edu.mx marco.ramirez@uaem.edu.mx nina@uaem.mx.

Palabras clave: Recombinación, Dinámica Molecular, Selección de conformación.

Resumen.

Cre es una recombinasa que se une de forma específica a la secuencia *loxP*, la cual está compuesta por dos elementos de reconocimiento y unión (RBEs) de 13 pb que flanquean una secuencia espaciadora de 8 pb. Esta secuencia espaciadora presenta un patrón alternante de purinas y pirimidinas (ATGTATGC). Para formar la unidad catalíticamente activa, una molécula de Cre se une inicialmente a uno de los RBEs; posteriormente, una segunda Cre se une al RBE libre, formando un complejo Cre_2-loxP . Dos de estos dímeros se asocian para formar el intasoma, el cual presenta una asimetría funcional: sólo dos de las cuatro subunidades de Cre están catalíticamente activas. Cre corta primero en el RBE derecho y luego en el izquierdo.⁽¹⁾ Sin embargo, se ha observado que este orden puede invertirse al modificar el primer y último par de bases de la secuencia espaciadora.^(2,3) Se ha propuesto que la primera Cre que se une al DNA es la subunidad activa. Dado que los RBEs son idénticos, se plantea que la secuencia espaciadora podría influir en la determinación de qué subunidad es funcional. Este trabajo busca entender cómo se seleccionan las subunidades activas en el intasoma, enfocándose en el papel de la secuencia espaciadora de *loxP*. Para ello, se generaron modelos de Cre unidos a distintas secuencias espaciadoras, usando como plantilla la estructura con PDB ID: 7RHY.⁽⁴⁾ Se evaluaron los cambios en la interfaz Cre-*lox* y sus posibles causas. Para cada modelo se realizaron cuatro réplicas de dinámica molecular de 5 μ s cada una. Para validar los modelos, comparamos los contactos iniciales con los reportados. También se calcularon ángulos y distancias entre hélices de la proteína como indicadores indirectos de flexibilidad y del efecto inducido en el ADN. Observamos que los espaciadores que inician con AT presentan mayor flexibilidad. Además, evaluamos si la lectura del ADN es dependiente de la secuencia, analizando los puentes de hidrógeno en la interfaz proteína-ADN. Encontramos que el borde del espaciador con GC es leído preferencialmente con respecto a AT, a través de la Lys86. Para evaluar directamente la deformación del ADN inducida por la interacción con Cre, analizamos los parámetros estructurales con Curves+⁽⁵⁾. Encontramos patrones específicos del valor de *twist* (rotación entre pares de bases sucesivos) dependiendo de la secuencia con la que inicia el espaciador. Debido a la naturaleza alternante entre purinas y pirimidinas de la secuencia, esto da un patrón periódico. En los espaciadores que inician con GC, este patrón se rompe debido a interacciones con residuos del CBD entre la helice B y la D, lo cual sugiere que la identidad de esta región modula la respuesta conformacional del ADN, posiblemente favoreciendo o desfavoreciendo la formación del intasoma. Los resultados preliminares sugieren una preferencia por secuencias que comienzan con GC en la lectura del espaciador, lo cual podría influir en la determinación del primer RBE al que se une Cre, y por lo tanto, en qué subunidad se convierte en catalíticamente activa dentro del intasoma.

Agradecimiento.

Proyecto de SECIHTI (CBF2023-2024-3670). Agradecemos el tiempo de supercómputo otorgado por LANCAD y SECIHTI en la supercomputadora Xiuhcōatl en CGSTIC CINVESTAV (2024), el apoyo otorgado a esta investigación por parte del Centro Nacional de Supercómputo del IPICYT, A.C., mediante el tiempo de cómputo otorgado al proyecto "Dinámica de la recombinasa Cre", y al Laboratorio Nacional de Supercómputo del Sureste de México (LNS), perteneciente al padrón de laboratorios nacionales SECIHTI, por los recursos computacionales, el apoyo y la asistencia técnica brindados, a través del proyecto No. 202301027N.

Bibliografía.

1. G. Meinke, A. Bohm, J. Hauber et al. (2016). *Chemical Reviews*, **20**, 12785-12820.
2. Lee L. Sandowski D. et al.(2003). *J. Mol. Biol.*, **326**, 397-412.
3. Ghosh K, Lau C, et al.(2005). *Nature Chemical Bio.* **1**, 275-282.
4. K. Stachowski et al. (2022). *Nucleic Acids Research*, **50**, 1753-1769.
5. Lavery R, Moakher M. et al. (2014). *Nucleic Acids Research*, **37**, 5917-29



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

INACTIVIDAD CATALÍTICA EN CRE-CAT: EL PAPEL DEL DESORDEN ESTRUCTURAL Y DE LA HÉLICE N

Adamary Michelle Hernández Pineda, Marco Antonio Ramírez Martínez, Nina Pastor, Centro de Investigación en Dinámica Celular, Cuernavaca Morelos, UAEM. Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, 62209 Cuernavaca, México. E-mail: adami.hepi@gmail.com
marco.ramirez@uaem.edu.mx nina@uaem.mx

Palabras clave: Cre, recombinación, dinámica molecular

Resumen

Cre es una recombinasa sitio específica que media la recombinación genética sin necesidad de cofactores. Cre tiene dos dominios unidos por un conector flexible, el dominio N-terminal (CBD) y el dominio C-terminal (CAT), este último contiene el sitio activo. Cre reconoce secuencias loxP que están compuestas por dos elementos de reconocimiento y unión (RBE) de trece pares de bases dispuestos palindrómicamente, separados por una región espaciadora de ocho pares de bases con una secuencia alternante purina-pirimidina: ATGTATGC. Dos Cre se unen a cada sitio loxP formando un dímero, dos de estos complejos se unen para formar un tetrámero, también llamado intasoma, la estructura funcional de recombinación. A pesar de que CAT contiene todos los residuos necesarios para realizar el corte en el ADN, los datos experimentales muestran que esto no sucede.⁽¹⁾ ¿Por qué? En este trabajo exploramos la hipótesis de que las regiones intrínsecamente desordenadas de la proteína interfieren con la organización correcta de la constelación catalítica. Para abordar esta pregunta se realizaron simulaciones de dinámica molecular con GROMACS⁽²⁾, se construyeron dos tipos de sistema: CAT libre, para analizar el comportamiento de la constelación catalítica en ausencia de ADN, y CAT unido a medio sitio lox. Para CAT libre se utilizaron como punto de partida un intasoma (depósito PDB 1Q3U)⁽³⁾, un dímero (depósito PDB 7RHZ)⁽⁴⁾, así como el dominio CAT de un monómero (depósito PDB 7RHY)⁽⁴⁾. Para CAT-lox (depósito PDB 7RHY)⁽⁴⁾ se utilizaron cuatro secuencias espaciadoras diferentes: GCATATGC (loxA), ATGTACAT (loxS), ATGTATGC (loxP) y GCATACAT (loxI). Cada sistema tuvo cuatro réplicas. La comparación entre los modelos CAT-lox y CAT libre se complementó con el análisis de puentes de hidrógeno, contactos proteína-ADN y proteína-proteína, así como con la evaluación de ángulos y distancias entre hélices. Para investigar la formación del sitio activo, se calculó el RMSD tomando como referencia una subunidad catalíticamente competente. Se observó que los sistemas con secuencias espaciadoras que inician con AT alcanzan con mayor facilidad una conformación cercana a la activa. Sin embargo, en muchos casos la constelación catalítica no logra formarse correctamente. Esto se debe, en parte, a la interferencia del *linker* flexible que conecta los dominios, el cual interactúa con residuos clave como Y324, secuestrándolos y bloqueando su participación en la catálisis. Adicionalmente, la hélice N puede adoptar una conformación autoinhibida, ocupando el sitio catalítico o la cavidad de acoplamiento que, en las estructuras de dímero o tetrámero, está destinada a la hélice N de la subunidad vecina. También se identificó una diferencia relevante en el comportamiento de las hélices IK, las cuales presentan mayor restricción conformacional en los sistemas CAT-lox en comparación con los modelos libres. Finalmente, se observó que el ADN puede inducir una orientación distinta del sitio activo cuando se une en secuencias no canónicas.

Agradecimiento. Esta tesis es parte del proyecto de SECIHTI (CBF2023-2024-3670). Agradezco el tiempo de supercómputo otorgado por LANCAD y SECIHTI en la supercomputadora Xiuhcoatl en CGSTIC CINVESTAV (2024), el apoyo otorgado a esta investigación por parte del Centro Nacional de Supercómputo del IPICYT, A.C., mediante el tiempo de cómputo otorgado al proyecto “Dinámica de la recombinasa Cre”, y al Laboratorio Nacional de Supercómputo del Sureste de México (LNS), perteneciente al padrón de laboratorios nacionales SECIHTI, por los recursos computacionales, el apoyo y la asistencia técnica brindados, a través del proyecto No. 202301027N.

Bibliografía.

1. Hoess R, Wierzbicki A, Abremski K. (1987) *Proc Natl Acad Sci U S A* 84(19): 6840–6844.
2. Abraham, M. *et al.* GROMACS 2024.2 Manual. doi:10.5281/ZENODO.11148638.
3. Ennifar E, Meyer JEW, Buchholz F, Stewart AF, Suck D. (2003) *Nucleic Acids Res* 31(18): 5449–5460.
4. Stachowski K, Norris AS, Potter D, Wysocki VH, Foster MP. (2022) *Nucleic Acids Res* 50(3): 1753–1769.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

DISOCIACIÓN DEL COMPLEJO CRE-LOXP: EFECTO DE LA RIGIDEZ DEL ADN Y LA PÉRDIDA DE CONTACTOS PROTEÍNA-PROTEÍNA

Keila Martinez, Marco A. Ramirez M., Nina Pastor, Centro de Investigación en Dinámica Molecular, Cuernavaca Morelos, UAEM. Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, 62209 Cuernavaca, México, E-mail: keilamb97@hotmail.com marco.ramirez@uaem.edu.mx nina@uaem.mx

Palabras clave: Cre-loxP, Dinámica Molecular, Disociación

Resumen.

La recombinasa Cre es una proteína que consta de dos dominios, el dominio CBD (hélices A - E) y el dominio CAT (hélices F - N) unidos por un conector flexible, la cual se une a una secuencia de ADN llamada *loxP* compuesta por dos regiones palindrómicas llamadas RBE separadas por un espaciador asimétrico. Cuatro Cre unidas a dos sitios *loxP* se unen para formar un intasoma doblando el ADN aproximadamente 90°, gracias a múltiples interacciones entre Cre vecinas. En este trabajo se busca entender la relevancia, en la disociación del complejo, de la localización y la orientación del doblez en el ADN, es decir, cuál extremo del espaciador está doblado y si se abre el surco mayor o menor. También se busca entender como interactúa Cre con el ADN dependiendo del RBE ocupado. Mediante simulaciones de dinámica molecular usando GROMACS y el potencial CHARMM36m se compararon configuraciones con diferentes secuencias, localización y orientación del doblez en el espaciador del ADN, utilizando como punto de partida las estructuras PDB id: 1Q3U y 7RHX. Estas estructuras de tipo intasoma tienen los mismos residuos; la diferencia se encuentra en la orientación del doblez en el ADN, ya que en uno abre el surco menor y su valor de roll es positivo (1Q3U) y el otro el surco mayor, con un valor de roll negativo (7RHX). Para construir los sistemas se separó en dímeros los intasomas (lo cual elimina interacciones que estabilizan la conformación doblada del ADN) y se realizaron variantes con la secuencia del espaciador invertida. Para identificar a las subunidades en cada dímero se nombró Yin a la subunidad que invade con su hélice N a la proteína contigua, la cual llamamos Yang. Se realizaron múltiples réplicas de 250 nanosegundos (ns) de estas simulaciones, en las cuales seguimos varios monitores estructurales a lo largo del tiempo. Observamos que el ADN tiende a estirarse más rápido cuando el doblez del ADN abre el surco menor pues es una conformación energéticamente menos favorable porque genera choques en el surco mayor, independientemente de la secuencia del espaciador. También se pudo observar que la proteína interactúa de manera similar con ambos RBEs, a excepción de un par de residuos con cadenas laterales largas, y que las interacciones con el espaciador dependen de la secuencia de éste. Los resultados sugieren que el estiramiento del ADN ocurre tras la pérdida de contactos proteína-proteína tipo intasoma. La pérdida de estos contactos es diferente según la orientación del doblez, pues los sistemas de 1Q3U pierden más contactos y más rápido que los sistemas de 7RHX. Esto indica que la orientación del doblez influye más que la secuencia o la localización de éste. La mayoría de los contactos se pierden en el dominio CBD, lo que permite que la hélice A adopte una conformación en la que se colapsa sobre el propio dominio, tras haber perdido contactos con la hélice E de la subunidad vecina. Yin cambia más frecuentemente que Yang al no estar estabilizado por una hélice E vecina.

Agradecimiento. Proyecto de SECIHTI (CBF2023-2024-3670). Agradecemos el tiempo de supercómputo otorgado por LANCAD y SECIHTI en la supercomputadora Xihucóatl en CGSTIC CINVESTAV (2024), al Centro Nacional de Supercómputo del IPICYT, A.C., por el tiempo de cómputo otorgado al proyecto “Dinámica de la recombinasa Cre”, y al Laboratorio Nacional de Supercómputo del Sureste de México (LNS), perteneciente al padrón de laboratorios nacionales SECIHTI, por los recursos computacionales, el apoyo y la asistencia técnica brindados, a través del proyecto No. 202301027N.

Bibliografía.

1. Stachowski K., Norris A., Potter D., Wysocki V., Foster M. (2022) *Nucleic Acids Research* Vol (50): 1753–1769.
2. Ennifar E., Meyer J., Buchholz F., Stewart A., Suck D. (2003) *Nucleic Acids Research* Vol (31): 5449–5460.
3. Abraham A., Murtola T., Schulz R., Páll S., Smith J., Hess B., Lindahl E. (2015) *SoftwareX* Vol (1-2): 19-25.
4. Brooks B., Brucoleri R., Olafson B., States J., Swaminathan S., Karplus M. (1983). *Journal of Computational Chemistry*, 4(2), 187–217.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

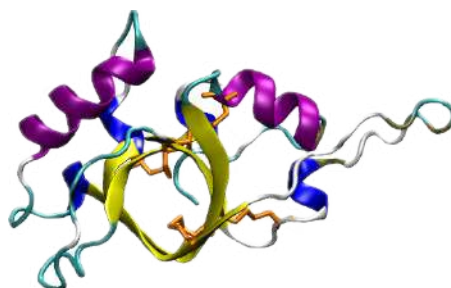
LA SALINIDAD COMO MODULADOR DE LOS CAMBIOS CONFORMACIONALES DE HIDROFOBINAS PARA LA FORMACIÓN DE RODLETS

Diego Eduardo Valerio Morán, Araceli Karin González García, Marco A. Ramírez Martínez, Nina Pastor Centro de Investigación en Dinámica Celular, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca Morelos 62210, diego.valerio@uaem.edu.mx, araceli.gonzalez@uaem.edu.mx, marco.ramirez@uaem.edu.mx, nina@uaem.mx

Palabras clave: hidrofobinas, rodlets, salinidad

Resumen.

Las hidrofobinas son producidas por hongos filamentosos, principalmente ascomicetos y basidiomicetos. Cuentan con un patrón característico de ocho cisteínas, que forman cuatro puentes disulfuros (naranja) que estabilizan un barril de láminas β (amarillo) posicionado en el núcleo de la proteína, rodeado de α -hélices (magenta) y asas largas (cian) que contienen secuencias capaces de formar fibras amiloides. Las hidrofobinas de clase I polimerizan formando membranas anfipáticas (rodlets). Por el contrario, las de clase II no son capaces de formarlos.¹



Para que las hidrofobinas formen rodlets, sufren un cambio conformacional que les permite autoensamblarse en interfases hidrofílicas-hidrofóbicas formando películas anfipáticas, recubriendo la pared celular de los hongos, facilitando la dispersión de esporas por el aire y contribuyendo a la formación de conidios. Dado que son proteínas extracelulares, son sensibles a las condiciones de crecimiento de los hongos. Se realizaron simulaciones de dinámica molecular de variantes de hidrofobinas provenientes de hongos mesófilos (m) y halófilos (h): *Aspergillus fumigatus* (rodA, m)², *Aspergillus sydowii* (sih1-4, h), *Emericellus nidulans* (dewA, m)³, *Neurospora crassa* (eas, m)⁴ y *Wallemia ichthyophaga* (wih1-3, h), evaluando su comportamiento bajo tres diferentes concentraciones de sal (50 mM, 2M y 5M NaCl), representado condiciones mesófilas y halófilas.

Al analizar estas especies, resulta relevante destacar las condiciones óptimas de crecimiento de cada una, ya que la dinámica a altas concentraciones de sal afecta directamente la libertad de los cambios conformacionales: mayores concentraciones de sal llevan a una mayor viscosidad, además de efectos específicos de coordinación de iones. Los cálculos de RMSD y clustering mostraron una disminución de diversidad conformacional a medida que incrementa la concentración de sal, reduciéndose el número de clústers obtenidos en cada condición. Por otro lado, el cálculo de la extensión de las asas sugiere que la exposición de regiones amiloidogénicas que facilitan la polimerización podría estar asociada a la extensión de éstas. Además, el cálculo del espectro de dicroísmo circular a partir de las simulaciones mostró que las hojas beta son estables, lo que correlaciona con datos experimentales.² Las proteínas de organismos adaptados a ambientes hipersalinos presentan cargas netas negativas más elevadas que las de organismos mesófilos. Una consecuencia de esta diferencia se observa en el patrón de estabilidad de la estructura secundaria: las hidrofobinas con carga negativa alta estabilizan estructuras tipo α -hélice a altas concentraciones salinas. Curiosamente, las hidrofobinas mesófilas mantienen estas estructuras en baja sal. La pérdida de estructura secundaria exhibe una aparente correlación con la carga total y la naturaleza del entorno funcional.

Agradecimiento. Agradecemos el tiempo de supercómputo otorgado por LANCAD en proyectos 2020-2025.

Bibliografía.

1. Qin Ren, *et al* (2013) Wiley Online Library, <https://doi.org/10.1002/bip.22259>.
2. Valsecchi I, *et al*. Cell Surf. 2019 Mar 6;5:100023. doi: 10.1016/j.tcs.2019.100023.
3. Vanessa K. Morris, *et al*. (2012) Journal of molecular biology, <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2012.10.021>.
4. A.H.Y. Kwan, *et al*, (2006) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 103 (10) 3621-3626, <https://doi.org/10.1073/pnas.0505704103>.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

CARACTERIZACIÓN DE LAS PROTEÍNAS INMUNORREACTIVAS A IG-E DE
CALLINECTES BELLICOSUS

Alonso Alexis López-Zavala¹, Austin Alejandro Zazueta-Chinchillas¹, María Lucila Rascón-Durán¹,
Karina D. García-Orozco², Aldo Alejandro Arvizu-Flores¹, Adrián Ochoa-Leyva³.

¹ Universidad de Sonora, Departamento de Ciencias Químico-Biológicas, Hermosillo, 83000.
alexis.lopez@unison.mx; ² Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Laboratorio
de estructura biomolecular, Hermosillo, 83304; ³ Instituto de Biotecnología, Departamento de
microbiología molecular. Cuernavaca, 62210.

Palabras clave: Alergia, IgE, proteínas.

Resumen.

La alergia alimentaria es una respuesta del sistema inmune mediada por IgE al consumo, contacto o inhalación (aerosoles) de algún alimento; los síntomas pueden variar desde urticaria hasta la dificultad para respirar, lo que pone en riesgo la vida de personas hipersensibles a ese alimento (1). Los mariscos como los camarones, cangrejos, moluscos, entre otros, son de los principales alimentos alergénicos de origen marino; siendo los camarones los más estudiados en los cuáles se han identificado. varias proteínas alergénicas como la tropomiosina, arginina cinasa, hemocianina, triosa fosfato isomerasa (2). *Callinectes bellicosus* (cangrejo nadador café) es un marisco ampliamente comercializado en México y Estados Unidos en donde se consumen cocida pasteurizada o congelada; y al igual que otros cangrejos, su consumo se ha asociado al desarrollo de alergias (3). Sin embargo, solo se ha caracterizado a la arginina cinasa como alérgeno de *C. bellicosus*, por lo que se desconoce si existen otras proteínas con potencial alergénico, así como el efecto del tratamiento térmico en su inmunorreactividad. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue identificar las proteínas inmunorreactivas a IgE del músculo de *C. bellicosus* y evaluar el efecto del tratamiento térmico sobre su inmunorreactividad. El extracto proteico del músculo de *C. bellicosus* se obtuvo en búfer PBS y se analizó mediante SDS-PAGE (4). Los sueros de personas con sospecha de alergia al consumo de *C. bellicosus* y otros mariscos y de voluntarios no alérgicos a estos alimentos se obtuvieron por venopunción (CEI-UNISON 007/2020). La inmunorreactividad a IgE del extracto proteico se evaluó mediante *dot-blot* y *western blot*. Las proteínas inmunorreactivas se identificaron por LC-MS/MS. Adicionalmente se evaluó el efecto de tratamiento térmico en la inmunorreactividad del extracto al ser expuesto por 10 min. a temperaturas de 30 a 80 °C. El análisis por SDS-PAGE mostró cambios en el patrón electroforético a temperaturas superiores a 70 °C. De 20 sueros analizados, 8 presentaron reactividad a IgE hacia las proteínas de *C. bellicosus*. Entre las proteínas identificadas se encuentran la tropomiosina, hemocianina, arginina cinasa, aldolasa y la cadena ligera de miosina. Además, se observó que la inmunorreactividad a IgE de la mayoría de las proteínas del extracto de *C. bellicosus* se redujo con el tratamiento térmico, pero persiste la inmunorreactividad en otras proteínas lo que está relacionado con el desarrollo de alergias al consumo de la carne del *C. bellicosus*. Estos resultados establecen las bases para posteriores estudios para la reducción de la alergenicidad de este alimento, así como para el desarrollo de diagnóstico y tratamiento específico de la alergia causada por este organismo.

Agradecimiento. Al financiamiento otorgado por la UNISON mediante el proyecto USO313009502 y al programa de intercambio académico UNAM-UNISON/2023.

Bibliografía.

- 1.- Giovannini, M., Beken, B., Buyuktiryaki, B., Barni, S., Liccioli, G., Sarti, L., Lodi, L., Pontone, M., Bartha, I., Mori, F., Sackesen, C., du Toit, G., Lopata, A. L., & Muraro, A. (2023). *Nutrients.*, 15(12), 2714.
- 2.- Ruethers T, Taki AC, Johnston EB, Nugraha R, Le TT, Kalic T, McLean TR, Kamath SD, Lopata AL. (2018). *Mol Immunol.*, 100:28-57.
- 3.- Wai, C. Y. Y., Leung, N. Y. H., Chu, K. H., Leung, P. S. C., Leung, A. S. Y., Wong, G. W. K., & Leung, T. F. (2020). *IJMS.*, 21(6), 2234.
- 4.- Laemmli UK. (1970). *Nature*, 227(5259), 680.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

EVOLUCIÓN *in silico* DE UNA TIM-BARREL QUE UNE FITATO.

¹Blanca Ramos-Cerrillo, ¹Alejandro Garcíarrubio, ²Isabel Velazquez, ²Alejandro Fernández y ¹Lorenzo Segovia. ¹Dpto de Ingeniería celular y Biocatálisis, Instituto de Biotecnología, UNAM, Cuernavaca, Morelos 62210; ²Laboratorio de Fisicoquímica e Ingeniería de Proteínas Edificio de Investigación de la Facultad de Medicina, 2o piso. Circuito Escolar S/N, Ciudad Universitaria, CDMX 04510. lorenzo.segovia@ibt.unam.mx

Palabras clave: fitasa, TIM-barrel, diseño

Resumen. El ácido fítico constituye el 60-90 % del contenido total de fósforo en las plantas, es la forma principal en la cual el fósforo y el inositol son almacenados en la cáscara de los cereales y leguminosas. Los animales monogástricos que se alimentan de éstos no son capaces de hidrolizar al fitato y es considerado un “anti-nutriente” ya que puede quelar metales de interés nutricional como calcio, magnesio y zinc (1). Esto no solamente crea problemas en la alimentación humana sino también en la alimentación de animales de abasto no rumiantes, los cuales son alimentados principalmente con cereales altos en ácido fítico. Debido a esto, se requiere adicionar fosfato para evitar la deficiencia de fósforo sin embargo, los fitatos no absorbidos son excretados y posteriormente vertidos en las aguas residuales, donde son utilizados por algas y varios microorganismos generando problemas severos de contaminación acuifera (eutrofización). El diseño de una proteína termoestable capaz de unir ácido fítico es el primer paso para el diseño de una enzima que sea capaz de degradarlo, con lo cual se tendría varios beneficios: al agregar la enzima a los productos utilizados en la alimentación animal, se podría aumentar la biodisponibilidad del fósforo, evitar su efecto adverso en la quelación de metales, reciclar las excretas y por último disminuir la eutrofización. Existen fitasas comerciales obtenidas a partir de organismos naturales (2), pero no son muy activas ni termoestables. Nuestro objetivo es utilizar una arquitectura “TIM barrel” como andamio molecular para generar una proteína termoestable que sea capaz de unir al ácido fítico y posteriormente hidrolizarlo. Para lograr que una TIM-barrel sea capaz de unir fitato, hicimos una evolución *in silico* partiendo de timP1-1, culminando en la variante RF21, nuestra mejor candidata. La intención fue modificar los loops de la cara superior del barril para crear una cavidad adecuada para el ligando. El proceso evolutivo implicó generar variabilidad en varias generaciones, para seleccionar a las candidatas. Para el diseño de variabilidad de la longitud de loops usamos RFdiffusion, y para la de secuencia, LigandMPNN. Cada diseño se modeló con AlphaFold2 y se evaluó con un score que combinaba afinidades predichas por Vina, Gnina y DynamicBind. En 15 generaciones de variabilidad/selección, evaluamos casi 8000 variantes. RF21 se generó en la 5ª generación, y se mantuvo como el mejor modelo. RF21 tiene una longitud de 198 aminoácidos, siendo 70 aminoácidos de la timP1-1, la cual tiene un TMScore de 0.9732. Por otro lado: AlphaFold indica que tiene un pLLDT de 93.6, señalando un plegamiento confiable; NetSolP-1.0 predice que en *E. coli* sería expresada y soluble; y por último, DynamicBind indica que su afinidad de unión por fitato tiene un pKd 8.71, lo que equivale a una Kd de 1.96 nM. Se optimizaron las condiciones de expresión de RF21 en pET22b(+) para obtenerla de forma soluble con un rendimiento de 4 mg/L de cultivo. Se verificó su plegamiento correcto por Dicroísmo Circular y se observó la capacidad de unión de fitato en experimentos de Calorimetría de Titulación Isotérmica donde hay un corrimiento en el espectro del pico de Tm, confirmando la unión de fitato a la RF21. Estamos realizando más análisis para determinar la afinidad y la estabilidad de esta proteína.

Agradecimiento: al Dr. Octavio Martín Avilés Sánchez por su asesoría técnica.

Bibliografía.

1. Rahate KA, Madhumita M, & Prabhakar PK. 2021 LWT. 138, 110796.
2. Jatuwong K, Suwannarach N, Kumla J, Penkhruw W, Kakumyan P, Lumyong S. 2020 *Front Microbiol.* Feb 14:11.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

CUMENE DIOXYGENASE AS A VERSATILE BIOCATALYST FOR THE HYDROXYLATION OF AROMATICS AND TERPENES

Julian L. Wissner,¹ Jona T. Schelle,² Esmeralda Flores-Díaz,¹ Baruc Velázquez-Ramos,¹ Bernhard Hauer,² Xavier Soberón,¹ Gloria Saab-Rincón¹

¹Departamento de Ingeniería Celular y Biotáctis, Instituto de Biotecnología, UNAM, Cuernavaca, Morelos, 62210, México; gloria.saab@ibt.unam.mx.

²Institute for Technical Biochemistry, University of Stuttgart, Stuttgart, 70569, Germany

Dioxygenases, biocatalysis, enzyme engineering

Abstract

Rieske non-heme iron dioxygenases (ROs) catalyze the dearomatizing *cis*-dihydroxylation of non-activated aromatic compounds with remarkable regio- and enantioselectivity (>98% ee), enabling access to chiral *cis*-dihydrodiols, valuable building blocks in pharmaceutical and fine chemical synthesis. While toluene dioxygenase (TDO) from *Pseudomonas putida* F1 has been widely studied as a model RO and exhibits promiscuity towards a multitude of different substrates (1), the homologous enzyme cumene dioxygenase (CDO) from *Pseudomonas fluorescens* IP01 (64% identity) emerges as a promising yet underexplored alternative (2). With a larger active site and distinct substrate preferences, CDO is capable of oxidizing not only small aromatics such as toluene, but also bulkier compounds like octylbenzene and even monoterpenes such as (*R*)-limonene (3).

In this study, we expanded the substrate scope of CDO and compared its biocatalytic performance to that of TDO using a recombinant *E. coli* whole-cell system harboring either CDO or TDO in the pBAD18 vector. This setup enabled, for the first time, a direct comparison of substrate conversion under identical expression and reaction conditions. Whole-cell biotransformations were carried out with a broad range of mono- and bicyclic aromatic compounds. Product formation was monitored using a fluorescence-based high-throughput screening assay (4) and HPLC-DAD.

While the wild-type CDO naturally monohydroxylates (*R*)-limonene to carveol with high selectivity, our aim was to shift regioselectivity toward the valuable product (*R*)-limonene-10-ol and to enhance overall product formation through the utilization of directed evolution. Using iterative site saturation mutagenesis, we identified a triple variant that produced this compound as the main product, enabling biotransformations in preparative scale and isolation of 117 mg (51 % yield) of (*R*)-limonene-10-ol.

This work highlights the distinct substrate specificities of CDO and TDO and demonstrates the substantial potential of CDO variants as efficient biocatalysts, not only for the *cis*-dihydroxylation of aromatic compounds but also for the regioselective hydroxylation of terpenes, generating products with high industrial relevance.

Acknowledgement

This research was funded by DGAPA-UNAM through PAPIIT Grant No. IN226623.

Literature

1. Wissner, J.L., Schelle, J., Escobedo-Hinojosa, W., Vogel, A., Hauer, B. (2021) *Adv. Synth. Catal.* 363 (21): 4905-4914.
2. Heinemann, P.M., Armbruster, D., Hauer, B. (2021) *Nat. Commun.* 12: 1095.
3. Gally, C., Nestl, M., Hauer, B. (2015) *Angew. Chem. Int. Ed.* 54 (44): 12952- 12956
4. Preston-Herrera, C., Jackson, A., Bachmann, B., Froese, J. (2021) *Org. Biomol. Chem.* 19 (4): 775-784.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

ENGINEERING LINALOOL DEHYDRATASE ISOMERASE FOR ENHANCED ISOPRENE PRODUCTION

Wendy Escobedo-Hinojosa,¹ Julian L. Wissner,² Max-Philipp Fischer,³ Jan Klenk,³ Bettina M. Nestl,³ Jan Seeger,³ Anibal Cuetos,⁴ Gideon Grogan,⁴ Javier Iglesias-Fernández,⁵ Sílvia Osuna,⁵ Gloria Saab-Rincón,² Bernhard Hauer³

¹ Unidad de Química en Sisal, Facultad de Química, UNAM, Sisal, Yucatán, 97356, MX;
wendyitzeleh@quimica.unam.mx

²Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Instituto de Biotecnología, UNAM, Cuernavaca, 62210, MX

³Institute for Technical Biochemistry, University of Stuttgart, Stuttgart, 70569, DE

⁴Department of Chemistry, York Structural Biology Laboratory, University of York, YO10 5DD York, UK

⁵Departament de Química, CompBioLab, Institut de Química Computacional i Catàlisi, 17003 Girona, ES

Dehydratase, enzyme engineering, substrate channel

Abstract

The selective chemical dehydration leading to C=C double bonds is a challenging reaction with high industrial relevance. The cofactor-independent bifunctional linalool dehydratase isomerase (LinD) from *Castellaniella defragrans* catalyzes naturally the reversible dehydration of (S)-linalool to myrcene and its isomerization to geraniol (1). Previously, LinD was shown to convert the small alkenol 2-methyl-3-buten-2-ol into the valuable compound isoprene (2).

To improve LinD-catalyzed isoprene production in a recombinant whole cell two-phase system, we targeted LinD via enzyme engineering. While mutations in the active site did not increase activity, saturation mutagenesis of a flexible α -helix near the substrate channel identified four beneficial single variants with product formation increases up to 2.08-fold. Notably, the G107T variant exhibited a 28-fold increase in apparent k_{cat} . While structural analysis of G107T revealed only minimal conformational changes, molecular dynamics simulations highlighted significant alterations in substrate channel flexibility and dynamics, facilitating improved substrate access and product release. These findings emphasize the critical role of regions outside the catalytic center in modulating enzyme performance by influencing substrate and product diffusion (3).

Utilizing G107T in the whole-cell system, isoprene concentrations of 2.8 ± 0.2 mM were achieved. Further, kinetic and computational analyses suggest that product release is the rate-limiting step in the enhanced variants, providing new targets for further optimization. This study demonstrates that combining experimental enzyme engineering with computational insights can effectively enhance biocatalyst efficiency, opening the way for sustainable isoprene production and industrial applications.

Acknowledgement

This research was funded by DGAPA-UNAM through PAPIIT Grant No. IT201525 and PAIP Grant No. 5000-9203.

Literature

1. Brodkorb, D., Gottschall, M., Marmulla, R., Lüddecke, F., Harder, J. (2010) *J. Biol. Chem.* 285 (40): 30436-30442
2. Nestl, B.M., Geinitz, C., Popa, S., *et al.* (2017) *Nat. Chem. Biol.* 13 (3): 275-281
3. Wissner, J.L., Fischer, M.-P., Escobedo-Hinojosa, W., *et al.*, (2025) *J. Biotechnol.* Accepted Article



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

DISEÑO DE ENZIMAS PARA LA GLICOSILACIÓN DE POLIFENOLES

Hugo Alberto Larrañaga Ramírez y Gloria Saab Rincón, Instituto de Biotecnología, departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Cuernavaca 62210, hugo.alberto.larranaga@ibt.unam.mx

Ingeniería de Proteínas, Inteligencia Artificial, Evolución Dirigida

Resumen.

Las glicosil hidrolasas (GH) son enzimas ampliamente distribuidas en la naturaleza con numerosas aplicaciones industriales. La actividad más representada es la hidrólisis de enlaces glicosídicos. Sin embargo, algunas GH también presentan actividad como transglicosidasas (TG), es decir, son capaces de transferir un residuo glicosilo desde un carbohidrato donador hacia una molécula aceptora (1). Gracias a estas actividades, las GH han sido utilizadas en la industria alimentaria y textil (2), y recientemente han ganado interés en la síntesis de glico-conjugados (3).

Los polifenoles son compuestos con propiedades biológicas relevantes, aunque su aprovechamiento se ve limitado por su baja biodisponibilidad. La glicosilación ha demostrado ser una estrategia eficaz para aumentar la solubilidad y, por lo tanto, la biodisponibilidad de este tipo de compuestos (4). Las TG son las enzimas ideales para síntesis de glico-conjugados dada la asequibilidad de los sustratos donadores. Sin embargo, debido a que las TG son GH, los aspectos clave para su empleo en la síntesis de glico-conjugados, es controlar la relación entre las reacciones de transferencia e hidrólisis y optimizar el sitio catalítico para la unión de los compuestos de interés en el subsitio del aceptor. En la actualidad se cuentan con diversos ejemplos exitosos de glicosilación usando las TG y sustratos donadores asequibles como el almidón (3).

En el presente proyecto se expone el rediseño del sitio activo de dos GH de *Thermotoga maritima*: la α -1,4-glucanotransferasa y la α -amilasa, con el objetivo modificar su especificidad. Para ello, se propone una estrategia combinada que integra diseño *in silico* y métodos de cribado para la selección de variantes. Se emplearon acoplamiento molecular y redes de interacción entre residuos para identificar las posiciones a ser mutadas. Posteriormente, dichas posiciones fueron analizadas mediante un programa de inteligencia artificial, con el fin de predecir los cambios que favorezcan la unión a un nuevo sustrato. Esta combinación de enfoques permitió delimitar las posiciones y mutaciones más prometedoras, reduciendo así el número de variantes a evaluar experimentalmente. Por último, se optimizó un método de detección que permite medir y discriminar entre el producto glicosilado y el sustrato sin modificar.

Agradecimiento. A Secihti por la beca otorgada con el nro. 4048533. A HALR y a DGAPA por el financiamiento a través del proyecto PAPIIT IN226623 a la Dra. Gloria Saab Rincón.

Bibliografía.

1. Cantarel, B. L., Coutinho, P. M., Rancurel, C., Bernard, T., Lombard, V., y Henrissat, B. (2009). *Nucleic acids research*. 37 (Issue suppl_1): D233-D238
2. Samanta, S. (2022). *Jordan Journal Of Biological Sciences*. 15(2): 311-337
3. Moulis, C., Guieysse, D., Morel, S., Séverac, E., & Remaud-Siméon, M. (2021). *Current opinion in chemical biology*. 61(): 96-106.
4. Lee, U. J., Sohng, J. K., Kim, B. G., & Choi, K. Y. (2023). *Current Opinion in Biotechnology*, 80(): 102914.



IX Congreso de Físicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO Y GENERACIÓN DE MUTANTES PARA LA EVALUACIÓN DEL PAPEL DE LA TYR-180 DEL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN SDRP EN LA FORMACIÓN DEL COMPLEJO PROTEÍNA-ADN.

Benjamín Buendía-Fuentes¹, Miriam L. Llamas-García¹ & Samuel Lara-González¹ ¹División de Biología Molecular, Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, San Luis Potosí, S.L.P., CP. 78126. E-mail: samuel.lara@ipicyt.edu.mx

Palabras clave: Bioinformática, factor de transcripción, mutagénesis dirigida

Resumen.

La transcripción es el proceso mediante el cual se sintetiza una molécula de ARN mensajero a partir de ADN, regulado principalmente por factores de transcripción: proteínas que se unen a secuencias específicas del genoma para activar o inhibir la expresión génica⁽¹⁾, esta regulación es esencial para la adaptabilidad y supervivencia de los organismos⁽²⁾. SdrP (proteína dependiente del estado estacionario) es un factor de transcripción perteneciente a la familia CRP/FNR, identificado en el extremófilo *Thermus thermophilus*. Esta proteína, compuesta por 202 aminoácidos (24 kDa), es homóloga a la proteína activadora por catabolito (CAP) descrita en *Escherichia coli*. No obstante, a diferencia de CAP, SdrP presenta una actividad constitutiva y no requiere una molécula efectora para unirse al ADN⁽³⁾. A pesar de ello, el mecanismo mediante el cual regula su interacción con el ADN aún no se ha esclarecido. Estudios previos en nuestro grupo de trabajo han descrito que, la Tyr180 (Y180) de SdrP - ubicada fuera de la hélice de reconocimiento típica en miembros CRP/FNR- interactúa con el surco menor del ADN, datos que no han sido descritos en otros factores pertenecientes a la familia, estando este aminoácido posiblemente implicado en la regulación del complejo SdrP-ADN⁽⁴⁾. Este estudio busca generar y analizar, mediante herramientas bioinformáticas, mutantes de SdrP con sustituciones en el residuo Y180, con el fin de facilitar futuros estudios estructurales del complejo proteína-ADN. Además, se pretende identificar ortólogos con la tirosina conservada en esa posición en organismos clínicamente relevantes. Dado que se ha reportado que la tirosina es susceptible a fosforilación por cinasas en bacterias, en una primera etapa, se llevó a cabo la predicción de los posibles sitios de fosforilación en SdrP, empleando el servidor GPS. Dicho servidor identificó que la Y180 podría fosforilarse mediante una tirosina cinasa; para analizar las implicaciones que esto conllevaría en la interacción con el ADN, se decidió generar las mutantes Y180E, Y180A, Y180F y Y180G. Mediante el servidor NeuroSnap se realizó la predicción estructural del complejo SdrP-ADN en su versión nativa y mutantes. Los modelos analizados en el software Chimera indicaron que al sustituir la Y180 se pierde la interacción del loop adyacente a la hélice con el surco menor del ADN, esto provoca un aumento en el ángulo de torsión del ADN, conllevando a perder interacción en la hélice de reconocimiento con el surco mayor. Para validar estos hallazgos, se inició la fase experimental con la obtención de construcciones viables para la expresión de SdrP WT y sus mutantes. Finalmente, se identificaron ortólogos con tirosina -en la posición de SdrP- conservada en *Acinetobacter baumannii*, *Mycobacterium tuberculosis* y *Pseudomonas mendocina*, lo que sugiere que estos hallazgos podrían ser extrapolables a dichos organismos.

Agradecimiento.

A la Técnico Académica Rosa Espinosa Luna por las facilidades prestadas en el laboratorio.

Al Laboratorio Nacional de Biotecnología Agrícola, Médica y Ambiental por la infraestructura facilitadas y por los servicios otorgados.

Este trabajo fue financiado a través del proyecto de Ciencia Básica SEP- CONACYT No CB2011-168710

Bibliografía.

1. Seshasayee, A. S., Sivaraman, K., & Luscombe, N. M. (2011). *Sub-cellular biochemistry*, 52, 7–23.
2. Wang, D., Kompaniets, D., Hu, Y., & Liu, B. (2023). *Frontiers In Microbiology*, 14.
3. Agari, Y., Kashihara, A., Yokoyama, S., Kuramitsu, S., & Shinkai, A. (2008). *Molecular Microbiology*, 70(1), 60-75.
4. Llamas García, M. (2022). *Repositorio Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica* 65-69.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

INTERACCIONES MOLECULARES ENTRE PROTEÍNAS TRANSPORTADORAS DE ÁCIDOS GRASOS FABP2 (INTESTINAL) Y SUSTANCIAS PERFLUORALQUILADAS Y POLIFLUORALQUILADAS (PFAS)

Caleb Abimael Vigil Niño, Cesar Ulises Velázquez Calvillo, Y. Bedolla-Pluma, Dr. Ma Del Refugio Cuevas Flores, Universidad Autónoma de Zacatecas "Francisco García Salinas" Campus Siglo XXI
Unidad de Ciencias Químicas, Zacatecas 98000, elcaleb99@gmail.com

Palabras clave: PFOAS, FABP, POLIFLUORALQUILADAS

Resumen.

Las sustancias per- y polifluoroalquiladas (PFAS) constituyen una amplia familia de contaminantes orgánicos persistentes, ampliamente utilizados en productos industriales y de consumo. Su estabilidad química, resistencia a la degradación y capacidad de bioacumulación han generado preocupación mundial, ya que se han detectado en matrices ambientales y biológicas, incluidos suelos, aguas y tejidos humanos. En este contexto, las proteínas transportadoras de ácidos grasos (FABPs), por su papel en el transporte intracelular de compuestos lipofílicos, podrían desempeñar un papel relevante en la captura o distribución de PFAS dentro del organismo. El presente estudio tiene como objetivo analizar y modelar computacionalmente las interacciones moleculares entre diversos compuestos PFAS y proteínas FABP humanas, particularmente FABP2, relevante en el epitelio intestinal.

La metodología contempla dos fases principales: una revisión bibliográfica sistemática orientada a identificar interacciones conocidas entre PFAS y proteínas, y un análisis computacional basado en acoplamiento molecular (*docking*) mediante herramientas como AutoDock Vina. Se seleccionarán estructuras cristalinas de proteínas FABP desde el Protein Data Bank, y compuestos representativos de PFAS desde PubChem. Se evaluarán las energías de unión, residuos clave implicados y la afinidad comparativa entre distintas moléculas.

Los resultados esperados contribuirán al entendimiento de la posible participación de proteínas transportadoras en la biodisponibilidad de PFAS, y podrían abrir nuevas vías para su remoción o neutralización mediante sistemas biológicos. Este enfoque aporta una perspectiva innovadora al estudio de contaminantes emergentes desde el diseño estructural de proteínas.

Agradecimiento

Agradezco el apoyo y motivación de colegas, amigos y en especial a mi padre y madre que contribuyeron al desarrollo de este trabajo, así como la guía y respaldo académico de los profesores del Área de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Zacatecas. Se hace una mención especial al Sr. Ramírez por su compañía.

Bibliografía.

1. Wang Z, DeWitt J C, Higgins C P, Cousins I T. (2017) *Environ Int.* 99: 263–274.
2. Jones D P, Park Y. (2012) Metabolomics and redox signaling in the regulation of fatty acid β -oxidation. En: *Redox Biochemistry*. Gilbert H F. Elsevier, EE.UU., 75–98.
3. Goto J, Suzuki M, Sakurai T. (2007) Characterization of ligand binding to fatty acid binding proteins. *Proceedings of the 31st Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan*. The Molecular Biology Society of Japan. Yokohama, Japón, 12–15 diciembre, 101–104.
4. Li Y, Fletcher T, Mucs D, Scott K, Lindh C H, Tallving P, Jakobsson K. (2018) *Environ Health Perspect.* 126(5): 057004.
5. Barros E P, Demapan D, Marrink S J, Dannenhoffer-Lafage T, Voth G A. (2021) *J Chem Theory Comput.* 17(3): 2035–2045.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL DE GST-RHO: ANÁLISIS DE DOCKING MOLECULAR Y EXPRESIÓN RECOMBINANTE

Alejandro Rodríguez Vélez, Aldo Alejandro Arvizu Flores, Luis Pablo Velázquez Valdéz, Armando Burgos Hernández, Oliviert Martínez Cruz, Alonso Alexis López Zavala

Universidad de Sonora

Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos

Hermosillo

83000

arv.451@gmail.com

Palabras clave: Glutación S-Transferasa, Acoplamiento Molecular, Plegamiento de Proteínas

Resumen.

Las Glutación S-Transferasas (GSTs) son enzimas multifuncionales protagónicas en la detoxificación celular al catalizar la conjugación del glutatión con compuestos xenobióticos¹. En la acuicultura, la exposición a contaminantes como la oxitetraciclina es una preocupación para especies de gran importancia comercial², y el estudio de estas enzimas tiene amplias aplicaciones en estudios ecotoxicológicos acuáticos³. Las GSTs de la clase rho, a pesar de su relevancia⁴, han sido poco caracterizadas en estos organismos. Este proyecto aborda un enfoque integrado que combina análisis computacionales y experimentales para elucidar el rol de estas enzimas en la detoxificación de antibióticos. Se modelaron las estructuras tridimensionales de las GSTs clase Rho de tres especies clave: la tilapia (*Oreochromis niloticus*), el pez gato (*Ictalurus punctatus*) y la carpa (*Cyprinus carpio*). Estudios de acoplamiento molecular fueron realizados en los tres modelos para evaluar su afinidad e interacción con oxitetraciclina y kanamicina. Los resultados sugieren interacciones favorables en las tres especies, prediciendo residuos conservados en el sitio activo que podrían ser cruciales para el reconocimiento de estos xenobióticos. Basado en su relevancia económica y los resultados del análisis comparativo, se seleccionó la GST de *O. niloticus* para la validación experimental. La evaluación de su expresión recombinante en *Escherichia coli* demostró una alta producción; sin embargo, la proteína exhibe una marcada tendencia a la agregación, acumulándose en cuerpos de inclusión. Por lo tanto, el trabajo actual se enfoca en la optimización de las condiciones experimentales que favorezcan el plegamiento correcto y la solubilidad de la enzima.

Bibliografía.

1. Sheehan, D., Meade, G., Foley, V. M., Dowd, C. A. (2001) *Biochem. J.* 360(1): 1-16.
2. Yang, Y., Li, S., Wang, Z., Ren, Y., Mu, Y., Zhang, X., Van den Brink, P. J., Sun, H., Song, Y., Cheng, B. (2022) *Chemosphere* 300: 134565
3. Park, J. C., Hagiwara, A., Park, H. G., Lee, J.-S. (2020) *Mar. Pollut. Bull.* 156: 111080.
4. Liang, X., Li, G., He, S., Huang, Y. (2007) *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 21(5): 289-298.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

NANOCUERPOS FLUORESCENTES COMO SISTEMA DE INMUNODETECCIÓN

Daniela Roa Velazquez, Edgar Morales Ríos, Departamento de Bioquímica, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, 07360. edgar.morales@cinvestav.mx

Palabras clave: nanocuerpos, proteína fluorescente, inmunodetección

Resumen.

Los anticuerpos convencionales son proteínas heterotetraméricas de aproximadamente 150 kDa, poseen dos pares idénticos de cadenas pesadas y dos pares de cadenas ligeras, unidas por puentes disulfuro. Por otro lado, los anticuerpos de cadena pesada (HcAbs) son moléculas presentes en camélidos que carecen de cadenas ligeras y del dominio CH1, lo que les confiere una arquitectura única. El reconocimiento del antígeno depende de un solo dominio variable, denominado VHH (~15 kDa) o nanocuerpo (Nb), el cual está caracterizado por su tamaño, alta estabilidad, solubilidad, alta afinidad por el antígeno y baja inmunogenicidad (1, 2). Además, dado que los nanocuerpos son moléculas monoméricas pequeñas libres de modificaciones postraduccionales relevantes para su función, estos pueden producirse eficientemente en sistemas procariotas, sin perder su capacidad de unión. Los Nbs se han convertido en una herramienta importante en la investigación biomédica y en la medicina, tanto en diagnóstico como en terapia, donde pueden aplicarse en diferentes técnicas como ELISA, Western blot (WB), inmunotinciones y sistemas de entrega dirigida. Otra ventaja importante frente a un anticuerpo tradicional es que, debido a su pequeño tamaño, mejora la penetración en tejidos y sitúan las etiquetas fluorescentes más cerca del antígeno, lo que incrementa la precisión y nitidez de la señal, siendo especialmente útil en análisis por inmunofluorescencia. Sumado a esto, los nanocuerpos secundarios son una alternativa al uso de anticuerpos secundarios convencionales, pueden ser etiquetados con fluoróforos o fusionados con otras proteínas (fosfatasa alcalina o HRP), ya sea mediante fusión genética o por reacción química (3). En este trabajo diseñamos la fusión de la proteína verde fluorescente (GFP) a un nanocuerpo secundario anti-conejo (rNb-GFP) con la finalidad de utilizarlo como sistema de inmunodetección. El rNb-GFP se produjo en *Escherichia coli* y se obtuvo con una pureza mayor al 90%. Obtuvimos un rendimiento de producción promedio de 130 mg de proteína por litro de cultivo. Hemos probado al rNb-GFP como sistema de inmunodetección mediante WB, los resultados demostraron que: 1) pueden pre-incubarse con el anticuerpo primario reduciendo pasos en contraste con un WB convencional; 2) pueden usarse con una dilución de hasta 1:30,000 (Figura 1); 3) con esta dilución puede detectarse hasta de 100 ng de antígeno; 4) no se requiere la reacción de quimioluminiscencia para detectar a la proteína de interés. Los nanocuerpos secundarios representan una alternativa de alta eficiencia y económica a los anticuerpos secundarios convencionales, ya que permiten disminuir los protocolos de inmunodetección y simplificar el desarrollo de las investigaciones.

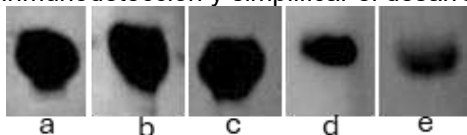


Figura 1: Prueba de inmunodetección del rNb-GFP en Western blot. Se usó 1 µg del dominio de dimerización N-terminal (NDD) de la dineína con una etiqueta de 6 histidina en el extremo N-terminal. Como anticuerpo primario se empleó anti-histidinas de conejo. Se probaron varias diluciones del Nbs-GFP, 1:100 (a), 1:500 (b), 1:1000 (c), 1:10, 000 (d), 1:30, 000 (e).

Agradecimiento. Agradecemos el apoyo del proyecto CBF-2025-I-2511, otorgado por la Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación de la Ciudad de México.

Bibliografía.

1. Hamers-Casterman, C., Atarhouch, T., Muyldermans, S., Robinson, G., Hamers, C., Bajjaya Songa, E. B., Bendahman, N., & Hamers, R. (1993). Naturally occurring antibodies devoid of light chains. *Nature*, 363(6428), 446–448.
2. Muyldermans, S. (2021). A guide to generation and design of nanobodies. *The FEBS journal*, 288(7), 2084–2102.
3. Pleiner T, Bates M, Görlich D. (2018) A toolbox of anti-mouse and anti-rabbit IgG secondary nanobodies. *J Cell Biol.* 217(3):1143–1154.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas 13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

ANÁLISIS DE LOS TRIPTÓFANOS 156 Y 165 EN LA ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LA BETAÍNA ALDEHÍDO DESHIDROGENASA RENAL DE CERDO

Anabel Félix Arredondo¹, José Guadalupe Soñanez Organis¹, César Muñoz Bacasehua¹, Norma Aurora Stephens Camacho², Alonso Alexis López Zavala³, Eduardo Ruiz Bustos³, Jesús Alfredo Rosas Rodríguez¹. 1. Universidad de Sonora. Blvd. Lázaro Cárdenas No.100, Col. Francisco Villa, Navojoa, Sonora. CP. 85880. a217204113@unison.mx. 2. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Carretera Gustavo Enrique Astiazarán Rosas, No. 46, Col. La Victoria, Hermosillo, Sonora. CP. 83304. 3. Universidad de Sonora. Blvd. Luis Encinas y Rosales, Col. Centro, Hermosillo, Sonora, CP. 83000.

Betaína Aldehído Deshidrogenasa, triptófanos, fluorescencia

Resumen.

La betaína aldehído deshidrogenasa (BADH, betaine aldehyde:NAD⁺ oxidoreductase, EC 1.2.1.8) cataliza la conversión de betaína aldehído (BA) a glicina betaína (GB) (1). La GB está relacionada con funciones de osmorregulación y osmoprotección, la reducción de un ambiente oxidativo y la regulación en la expresión de genes de respuesta al estrés (2). La estructura secundaria de la BADH de riñón porcino (pkBADH) presenta un reacomodo de su sitio activo debido a la unión de la coenzima para la formación del complejo pkBADH–NAD⁺, (1). La pkBADH contiene cuatro residuos de triptófano (W) por subunidad, correspondientes a W65, W114, W156 y W165, a través de los cuales ha sido posible estudiar cambios estructurales utilizando técnicas de emisión de fluorescencia intrínseca. Además, W156 y W165 se encuentran cerca del sitio activo, siendo W156 lo suficientemente cercano para interactuar con el grupo fosfato de la molécula de NAD⁺ (3-4). En resultados previos en nuestro grupo, la mutación W165F fue obtenida y sobreexpresada sin afectar la actividad enzimática. Además, los estudios de fluorescencia indican que el triptófano 156 tendría una participación importante en la formación del complejo pkBADH–NAD⁺. En este trabajo se realizaron estudios de acoplamiento molecular para las mutaciones W156F y W165F. Los resultados confirman que la mutación W165F no afecta las interacciones con el NAD⁺, tal como se había reportado anteriormente en estudios de fluorescencia y actividad enzimática. Sin embargo, la mutación W156F mostró modificaciones importantes en todas las interacciones del sitio de unión al NAD⁺, lo que podría desfavorecer la unión de la coenzima y, en consecuencia, afectar la actividad enzimática.

Agradecimiento.

Este trabajo fue apoyado con una beca de posgrado del CONAHCYT y por la Universidad de Sonora.

Bibliografía.

1. Guzmán, A y Valenzuela, E. (1998) Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol. 119: 485-491.
2. Hainsworth, A. H., Yeo, N. E., Weekman, E. M., & Wilcock, D. M. (2016). Biochim Biophys Acta, 1862(5), 1008–1017.
3. Rodríguez, R y Valenzuela, E. (2011) Chem Biol Interact. 91(1): 159-164.
4. Muñoz, C y col. (2021) Luminescence: the journal of biological and chemical luminescence. 36(7): 1733–1742.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

Búsqueda de proteínas blanco de fármacos ototóxicos mediante minería automatizada basada en la literatura y análisis de interacción fármaco–proteína

Aylin del Moral Morales, Hugo Nájera Peña, Angélica Chavez Romero, Jesús Yael Castañón Bello, Gerardo Pérez Hernández. Unidad Cuajimalpa, Departamento de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma Metropolitana, Ciudad de México, Mexico. CP. 05348.

Responsable: gperezh@cua.uam.mx

Palabras clave: Ototoxicidad, fármaco–proteína, minería semántica

Resumen.

Diversos fármacos de uso clínico, como los antibióticos aminoglucósidos y los compuestos anticancerígenos basados en platino, han demostrado una alta eficacia terapéutica en el tratamiento de infecciones y distintos tipos de cáncer. Sin embargo, su administración puede conllevar efectos adversos significativos, entre los cuales destaca la ototoxicidad. Este efecto secundario puede ser especialmente perjudicial en la población pediátrica, al afectar el desarrollo del lenguaje y el bienestar psicoemocional. Se estima que entre el 20 % y el 50 % de los pacientes tratados con aminoglucósidos desarrollan algún grado de pérdida auditiva, mientras que el cis-platino, utilizado principalmente en quimioterapia, puede provocar este efecto adverso en el 40–60 % de los adultos y hasta en el 65 % de los niños.

A pesar de la relevancia clínica de este fenómeno, los sitios moleculares específicos donde interactúan estos fármacos para inducir daño auditivo no han sido plenamente caracterizados. Por ello, este trabajo tiene como objetivo ubicar posibles proteínas blanco asociadas a la ototoxicidad inducida por fármacos. Asimismo, se reconoce la necesidad de ampliar el conocimiento actual sobre qué fármacos deben considerarse ototóxicos, así como cuáles podrían tener efectos otoprotectores.

Para ello se diseñó un flujo de trabajo automatizado en Python que consulta la base de datos PubMed para recuperar artículos relacionados con ototoxicidad. A partir de los resúmenes obtenidos, se aplicó un proceso de minería semántica asistido por el modelo de lenguaje GPT-4, el cual permitió identificar y extraer de forma automatizada nombres de fármacos mencionados en contextos relacionados con ototoxicidad u otoprotección. El modelo fue instruido para distinguir si el compuesto estaba asociado a la inducción de daño auditivo o, por el contrario, a efectos protectores sobre la audición, con base en el contexto textual de los artículos. Esta estrategia facilitó la clasificación preliminar de los compuestos y la construcción de una base de datos enriquecida sin necesidad de revisión manual exhaustiva. Los fármacos extraídos fueron posteriormente consultados en PubChem, de donde se obtuvo su estructura química y otros datos complementarios, enriqueciendo así la base de conocimiento generada.

A continuación, se llevó a cabo una correlación cruzada con BindingDB, una base de datos pública que recopila interacciones fármaco–proteína obtenidas a partir de estudios experimentales, incluyendo constantes de unión, afinidades de disociación (K_d), valores IC_{50} , y otros parámetros biofísicos relevantes. Esta integración permitió construir una red de interacción fármaco–proteína. El análisis topológico y funcional de dicha red reveló a los transportadores ABC y a proteínas mitocondriales como blancos recurrentes, lo que sugiere su papel central en los mecanismos moleculares subyacentes a la ototoxicidad inducida por fármacos. Este enfoque automatizado, que combina minería de literatura, enriquecimiento químico y evidencia experimental, proporciona una base sólida para el estudio sistemático de la toxicidad auditiva y el desarrollo de estrategias de intervención otoprotectora.

Agradecimiento. A la secretaria de Educación, Ciencia, Tecnología e Innovación y la UAM por los financiamientos SECTEI_040_2024 y 47310760, respectivamente.

Referencias:

1. Ganesan, P. *et al.* Ototoxicity: A Challenge in Diagnosis and Treatment. *J Audiol Otol* **22**, 59–68 (2018).
2. Arslan, E., Orzan, E. & Santarelli, R. Global problem of drug-induced hearing loss. *Ann N Y Acad Sci* **884**, 1–14 (1999).
3. Instituto Nacional de Rehabilitación. MANUAL DE GUÍAS CLÍNICAS DE OTOTOXICIDAD. www.inr.gob.mx (2015).



IX Congreso de Físicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

INCREMENTO DE LA TERMOESTABILIDAD Y LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE UNA CLOROPEROXIDASA FÚNGICA INDUCIDA POR MEZCLAS EUTÉCTICAS NATURALES.

Karina Bautista Rangel, Miriam López-Galicia, Agustín López-Munguía, Marcela Ayala-Aceves, Edmundo Castillo Rosales

Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Instituto de Biotecnología UNAM, Av. Universidad 2001, 62210 Cuernavaca, Mor. edmundo.castillo@ibt.unam.mx

Palabras clave: Cloroperoxidasa, actividad en NaDES, estabilidad enzimática

Resumen. La cloroperoxidasa (CPO), secretada por *Caldariomyces fumago*, es una enzima de relevancia biotecnológica. Transforma una amplia variedad de sustratos y cataliza una gran diversidad de reacciones de interés industrial¹. Desafortunadamente, en medios acuosos, su aplicación está limitada por diversos factores operacionales que afectan la estabilidad de la enzima y la disponibilidad de sus sustratos. Para contrarrestar estas limitaciones, se ha propuesto el uso de mezclas acuosas con disolventes orgánicos (DOs)²⁻³. Sin embargo, el uso de los DOs resulta en una disminución de la eficiencia catalítica y acarrea un impacto ambiental significativo. Por ello, se ha impulsado la búsqueda de nuevos disolventes, tales como las mezclas eutécticas naturales (NaDES), las cuales han resultado ser disolventes sustentables y con gran potencial en biocatálisis⁴. El presente trabajo reporta por primera vez la actividad de peroxidasa de la CPO en un medio 100% NaDES. En los sistemas NaDES evaluados a 25 °C (Fig.1a), la mayor actividad de la CPO se observó en el sistema NaDES Fructosa-Sorbitol-Agua (F-S-W, 1:1:5). Tras pre-equilibrar CPO en F-S-W, la actividad aumentó hasta 330 %, con una ganancia en la T_{opt} de 20 °C con respecto al óptimo en buffer (fig.1b). Por otra parte, el tiempo de vida media (t_{1/2}) incremento más de 2,500 veces en F-S-W. Los estudios de DSC mostraron que la T_m disminuyó, sin embargo, el ΔH se incrementó significativamente, como consecuencia de un mayor requerimiento de energía para desplegarla (Tabla 1). Se encontró mediante DC que al pasar la CPO de buffer a NaDES, el contenido de hojas β aumenta, mientras que las hélices α disminuyen (Fig.1d). Esta nueva conformación favorece tanto la actividad como la termoestabilidad (Fig.1b y 1c).

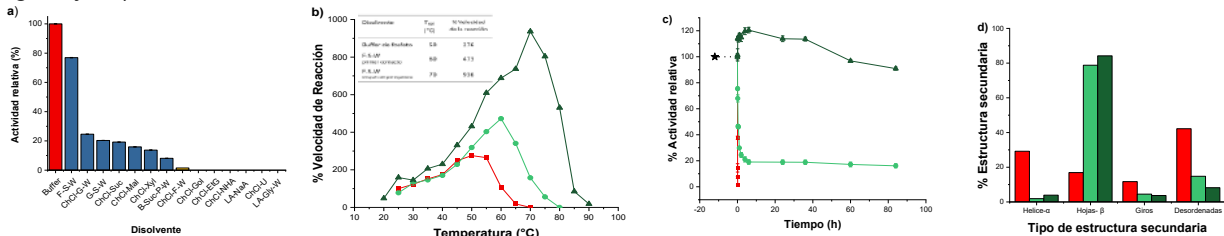


Fig.1 Actividad de CPO en diferentes NaDES y en solución buffer. (a) Actividad relativa de CPO en buffer (■) y NaDES (■) a 25 °C, (b) temperatura óptima para CPO en NaDES, Fru-Sor-W primer contacto (●-●-), Fru-Sor-W después del pre-equilibrio (●-▲-) y buffer (●-■-), (c) estabilidad de CPO a 50 °C en NaDES, Fru-Sor-W primer contacto (●-●-), Fru-Sor-W después del pre-equilibrio (●-▲-) y buffer (●-■-) y (d) perfil de Estructura secundaria. Buffer (■-),F-S-WPrimer contacto (■-●-) y F-S-WDespués de pre-equilibrio (■-▲-).

Estudios cinéticos a 40 °C, mostraron valores similares de k_{cat}/K_m en NaDES y en buffer (Tabla 1), indicando un comportamiento catalítico similar en ambos medios. Sin embargo, al estimar estos parámetros cinéticos a 70 °C solo fue posible realizarlo en NaDES ya que la CPO pierde por completo su actividad en buffer a 70 °C (Tabla 1). De acuerdo a los resultados obtenidos es posible usar 100% NaDES como medio de reacción para esta enzima redox. En NaDES se incrementa sensiblemente su actividad y termoestabilidad en comparación a un sistema buffer. Este comportamiento está estrechamente relacionado a los cambios de su estructura secundaria en NaDES.

Tabla 1. Parámetros de termoestabilidad y cinéticos de la reacción con CPO obtenidos a 40 y 70 °C.

Disolvente	Parámetros de termoestabilidad				Parámetros cinéticos			
	k _{inact} (h ⁻¹) 50 °C	t _{1/2} (h) 50 °C	T _m (°C)	ΔH (kcal mol ⁻¹) x10 ⁵	V _{max} μmolL ⁻¹ min ⁻¹	K _m (mM)	k _{cat} (min ⁻¹) x10 ⁴	k _{cat} /K _m x10 ⁴
^a buffer	<10% después de 5min	-	53.3	2.3	24.4	17	1.1	6.4
^a F-S-W*	7.7	0.1	45.3	8.5	31.9	23	1.3	5.9
^b F-S-W**	0.005	218	45.6	14.8	81.4	25	3.4	14

*Primer contacto ** Después del pre-equilibrio.
^aDatos de cinética a 40 °C y ^b datos de cinética a 70 °C

Bibliografía.

1. Pickard, M. A.; Kadima, T. A.; Carmichael, R. D. (1991). Journal of Industrial Microbiology.
2. Bhandari, Y.; Sajwan, H.; Pandita, P.; Koteswara Rao, V. (2023). Biocatalysis and Biotransformation.
3. Castillo, E.; López-Munguía, A. (2004). J. Biotechnol, 114.
4. Bautista-Rangel K., Losoya-Urbe L.F., Rodríguez-Gonzalez M., Saab-Rincón S., A. López-Munguía, E. Castillo (2025). Int. J. Biol. Macromol.318,3.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas 13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

HACIA LA IDENTIFICACIÓN DE FOLDONES EN PROTEÍNAS MEDIANTE ANÁLISIS DE ALINEAMIENTO DE SECUENCIAS

V. Bautista Santamaría¹, D. García de los Santos¹, L.J. Peña Ortiz², V. Vargas Castro³, J.M. Solano Altamirano³

valeria.bautista@alumno.buap.mx, danna.garciadelossantos@alumno.buap.mx

¹Licenciatura en Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México C.P. 72592

²Doctorado en Ciencias Químicas, Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México C.P. 72570

³Laboratorio de Modelado Matemático y Desarrollo de Software Científico, Facultad de Ciencias Químicas, Puebla, México C.P. 72570

Palabras clave: foldones, plegamiento de proteínas, alineamiento de secuencias.

Resumen.

El plegamiento proteico es un proceso altamente regulado mediante el cual las cadenas polipeptídicas adquieren su conformación tridimensional funcional. Durante este proceso, se ha observado que las proteínas presentan secuencias específicas de aminoácidos capaces de adoptar estructuras espaciales prácticamente idénticas entre sí, independientemente del contexto en el que se encuentren. Estas unidades estructurales, conocidas como *foldones*, actúan como bloques modulares que se pliegan de manera autónoma durante las etapas iniciales del plegamiento [1]. En este estudio, a través de un análisis comparativo a nivel de secuencia y estructura secundaria con proteínas que presentan foldones previamente descritos [2], fuimos capaces de establecer una metodología que nos permitió identificar *foldones* en un grupo de proteínas de interés [3]. Adicionalmente, un análisis del perfil hidrofóbico de las regiones identificadas destacó a la hidrofobicidad como un posible rasgo intrínseco de estas unidades. Estos hallazgos, no sólo destacan la relevancia funcional de los *foldones* sino que podrían aportar elementos para ampliar la comprensión del plegamiento en las proteínas.

Agradecimiento. A la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado de la BUAP, por el apoyo económico otorgado a través del programa Haciendo Ciencia en la BUAP, Primavera XVIII 2025, (No. de clave 00206).

Bibliografía.

[1] S. W. Englander and L. Mayne. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol. 111, no. 45, pp. 15873–15880, 2014.

[2]. Panchenko AR, Luthey-Schulten Z, Cole R, Wolynes PG. J Mol Biol. 1997 Sep 12;272(1):95-105. doi: 10.1006/jmbi.1997.1205. PMID: 9299340.

[3]. A. S. Bie, C. Cömert, R. Körner, T. J. Corydon, J. Palmfeldt, M. S. Hipp, F. U. Hartl, and P. Bross. Cell Stress and Chaperones, vol. 25, no. 3, pp. 407-416, 2020.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

DETERMINANTES MOLECULARES DEL EFECTO DE FOTOACTIVACION DE LA PROTEINA AZUL FLUORESCENTE PA-BFP

Paola Linares-Flores, Jorge A. Yáñez-Ponce de León, Santiago Becerra-Ramírez, Eugenio López-Bustos, Paul Gaytán. Instituto de Biotecnología UNAM, Cuernavaca, Morelos CP 62210, paul.gaytan@ibt.unam.mx

Palabras clave: Ingeniería de proteínas, proteínas fluorescentes, mutagénesis,

Resumen.

Desde su aparición en forma heteróloga en 1994, las proteínas fluorescentes se convirtieron en herramientas moleculares esenciales para el estudio de una amplia variedad de procesos celulares *in vivo* en tiempo real.¹ Por ejemplo, la expresión de genes, la localización y tráfico intracelular de proteínas, la interacción entre proteínas de interés, así como para sensar las condiciones fisiológicas de una célula o de algún metabolito particular.² Sin embargo, la mayoría de proteínas fluorescentes naturales han tenido que ser modificadas de manera artificial para poder usarlas en las condiciones normales de laboratorio. Actualmente, la tecnología del ADN recombinante y la síntesis química de oligonucleótidos permite hacer ingeniería de proteínas. Es decir, reemplazar, eliminar o insertar cualquier aminoácido en una proteína a través de la modificación de su gen codificante, ya sea en forma puntual o a través de mutagénesis combinatoria de varios residuos al mismo tiempo. El objetivo es mejorar alguna propiedad de la proteína de interés o estudiar el efecto de un determinado aminoácido en su función.³ De hecho, la proteína verde fluorescente (GFP por sus siglas en inglés) aislada de la medusa marina *Aequorea victoria* fue la primera proteína de este tipo reportada en la literatura. A través de ingeniería genética, fue rápidamente convertida en la proteína fluorescente cian (CFP) y en la proteína fluorescente azul (BFP), reemplazando tirosina 66, el aminoácido central localizado en el cromóforo de GFP por triptófano e histidina, respectivamente.⁴ En 2006, Pédélecq *et al* reportaron una proteína mucho más fluorescente que la proteína GFP original (GFPwt) la cual llamaron superfolder (sfGFP) y contenía 12 mutaciones con respecto a la proteína parental.⁵ Esta proteína ha dado lugar a muchas proteínas mejoradas de diversos colores, entre ellas una proteína violeta fluorescente cuyos autores llamaron SUMIRE, la cual contiene 9 mutaciones con respecto a sfGFP.⁶ El reemplazo del aminoácido central tirosina 66 de esta proteína, por histidina, dio lugar a una proteína azul fluorescente fotoactivable llamada PA-BFP por sus siglas en inglés.⁷ Es decir, una proteína que solo se vuelve azul fluorescente cuando se expone a luz ultravioleta en un transiluminador común de laboratorio o a los rayos solares.

En la literatura existen muchas proteínas azul fluorescentes que contienen histidina en el aminoácido central de su cromóforo como ocurre en PA-BFP, sin embargo, ninguna de ellas es fotoactivable.⁸ Por tanto, se cree que el fenómeno de fotoactivación fue generado por alguna de las mutaciones que convirtieron la proteína sfGFP en sumire, obviamente presentes en PA-BFP. Por tanto, en este trabajo reversionamos cada uno de los aminoácidos mutantes a su aminoácido original, presente en sfGFP, para encontrar aquellos aminoácidos importantes para la característica de fotoactivación. Para lograr este objetivo fue necesario revertir las siguientes mutaciones sencillas en PA-BFP: G65T (glicina 65 por treonina), A69Q (alanina 69 por glutamina), G145F (glicina 145 por fenilalanina), I146N (isoleucina 146 por asparagina), G148H (glicina 148 por histidina), Y165F (tirosina 165 por fenilalanina), V203T (valina 203 por treonina), V205S (valina 205 por serina) y R224V (arginina 224 por valina), y analizar las variantes por exposición a luz UV de 302 nm y 365 nm. Solo dos mutaciones afectaron el proceso de fotoactivación destruyéndolo completamente: G65T y R224V.

Bibliografía. número (1) Chalfie, M.; Tu, Y.; Euskirchen, G.; Ward, W. W.; Prasher, D. C. (1994) Green fluorescent protein as a marker for gene expression. *Science* **1994**, 263 (5148), 802-805. DOI: 10.1126/science.8303295.

(2) Lippincott-Schwartz, J.; Patterson, G. H. Development and use of fluorescent protein markers in living cells. *Science* **2003**, 300 (5616), 87-91. DOI: 10.1126/science.1082520.

(3) Gaytán, P.; Roldán-Salgado, A. Elimination of Redundant and Stop Codons during the Chemical Synthesis of Degenerate Oligonucleotides. Combinatorial Testing on the Chromophore Region of the Red Fluorescent Protein mKate. *ACS Synth Biol* **2013**, 2 (8), 453-462. DOI: 10.1021/sb3001326.

(4) Heim, R.; Prasher, D. C.; Tsien, R. Y. Wavelength mutations and posttranslational autooxidation of green fluorescent protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1994**, 91 (26), 12501-12504. DOI: 10.1073/pnas.91.26.12501.

(5) Pedelacq, J. D.; Cabantous, S.; Tran, T.; Terwilliger, T. C.; Waldo, G. S. Engineering and characterization of a superfolder green fluorescent protein. *Nat Biotechnol* **2006**, 24 (1), 79-88. DOI: 10.1038/nbt1172.

(6) Sugiura, K.; Nagai, T. Extension of the short wavelength side of fluorescent proteins using hydrated chromophores, and its application. *Commun Biol* **2022**, 5 (1), 1172. DOI: 10.1038/s42003-022-04153-7.

(7) Gaytán, P.; Roldán-Salgado, A. Photoactivatable Blue Fluorescent Protein. *ACS omega* **2024**, 9 (26), 28577-28582. DOI: 10.1021/acsomega.4c02603 From NLM PubMed-not-MEDLINE.

(8) Mena, M. A.; Treynor, T. P.; Mayo, S. L.; Daugherty, P. S. Blue fluorescent proteins with enhanced brightness and photostability from a structurally targeted library. *Nature Biotechnology* **2006**, 24 (12), 1569-1571. DOI: 10.1038/nbt1264.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

Determinación estructural de un nuevo complejo de inhibición no canónica entre tripsina porcina y M271, un inhibidor Kunitz-STI de papa

Alexis Campuzano-González, Paloma Gil-Rodríguez, Enrique Rudiño-Piñera, Universidad Nacional Autónoma de México (Instituto de Biotecnología, Departamento de Medicina Molecular y Bioprocesos), Cuernavaca, Mor. 62210, enrique.rudino@ibt.unam.mx

Inhibidor Kunitz-STI, Proteasa serínica, Complejo cristalográfico.

Resumen.

Los inhibidores de proteasas tipo Kunitz-STI constituyen una familia de proteínas con baja similitud en la secuencia de aminoácidos, pero que conservan una estructura terciaria característica formada por hojas β conectadas por bucles flexibles. Estos bucles interactúan con el sitio activo de las proteasas, bloqueando su actividad. Existen dos mecanismos de inhibición descritos: el canónico, observado en la mayoría de las estructuras cristalográficas, donde el bucle $\beta 4$ – $\beta 5$ del inhibidor interactúa con el sitio activo de la tripsina mediante un residuo básico en la posición P1; y el no canónico, en el que el bloqueo se produce por impedimento estérico, generalmente con el bucle $\beta 9$ – $\beta 10$, sin una interacción directa con los residuos catalíticos. En este trabajo presentamos a M271, un nuevo inhibidor Kunitz-STI proveniente de *Solanum tuberosum* (papa), que actúa como inhibidor de unión fuerte contra tripsina porcina, con una K_i de 6.6 nM. Aunque mantiene la estructura típica de la familia, su identidad de secuencia con otros inhibidores es solo del 24–42 %, y presenta un bucle $\beta 4$ – $\beta 5$ más corto, sin los residuos básicos característicos para la inhibición canónica. Por ello, inicialmente se planteó que su mecanismo podría implicar el bucle $\beta 9$ – $\beta 10$, como en otros casos no canónicos. Sin embargo, la estructura cristalográfica del complejo M271–tripsina porcina, determinada en este estudio, reveló un mecanismo no canónico inédito, en el que los bucles $\beta 1$ – $\beta 2$ y $\beta 3$ – $\beta 4$ bloquean el sitio activo de la proteasa. El residuo Trp29 es el más próximo a la Ser177 de la tríada catalítica, y los residuos 27–31 del inhibidor forman, junto con los residuos 192–196 de la tripsina, una hoja β antiparalela estabilizada por puentes de hidrógeno. M271 es el primer inhibidor Kunitz-STI descrito que utiliza estos bucles para la inhibición, lo que evidencia la notable plasticidad estructural de esta familia y su potencial como andamiaje para el diseño de inhibidores multifuncionales.

Agradecimiento. Alexis Campuzano-González fue apoyado por una beca para realizar sus estudios doctorales por parte del CONAHCyT (2020-000013-01NACF-13534). Este trabajo fue parcialmente financiado por el proyecto PAPIIT-UNAM IN226523. Parte de los datos cristalográficos fueron colectados en el Laboratorio Nacional de Estructura de Macromoléculas LANEM-UNAM.

Bibliografía.

1. Guerra Y, Armijos-Jaramillo V, Pons T, Tejera E, Berry C. (2023) Protein Sci. Vol (32,2) *Canonical or noncanonical? Structural plasticity of serine protease-binding loops in Kunitz-STI protease inhibitors.*
2. Campuzano-González A, Gil-Rodríguez P, Quintana-Armas AX, Guerra Y, Pérez Y, Rudino-Piñera. (2025) Biochem Biophys Res Commun. Vol (768). *Structural determination of a new non-canonical inhibition complex between porcine trypsin and M271, a potato Kunitz-STI inhibitor.*
3. R. Bao, C.Z. Zhou, C. Jiang, S.X. Lin, C.W. Chi, Y. Chen. (2009) J. Biol. Chem. Vol (284) 26676–26684. The ternary structure of the double-headed arrowhead protease inhibitor API-A complexed with two trypsins reveals a novel reactive site conformation.
4. R.M. Sweet, H.T. Wright, J. Janin, C.H. Chothia, D.M. Blow, (1974) Biochemistry vol (13) 4212–4228. Crystal structure of the complex of porcine trypsin with Soybean trypsin Inhibitor (Kunitz) at 2.6-Å resolution,



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

DEL SEC-SAXS A LA CRISTALOGRAFÍA: ANÁLISIS DEL ENSAMBLAJE DE UNA ENZIMA HOMOMULTIMÉRICA

Arisbeth Guadalupe Almeida-Juárez¹, Shirish Chodankar², Liliana Pardo-López¹, Guadalupe Zavala-Padilla¹, Enrique Rudiño-Piñera² (1) Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, Morelos, 62120. (2) National Synchrotron Light Source II, Brookhaven National Laboratory, Upton, New York, United States of America. 11973-5000. Correo electrónico: arisbeth.almeida@ibt.unam.mx

Palabras clave: SEC-SAXS, DLS, enzima homomultimérica

Resumen

Las catecol 1,2-dioxigenasas (C12DOs) son enzimas intradiólicas que contienen hierro no hemo y desempeñan un papel clave en la vía del β -ceto adipato, donde catalizan la ruptura del anillo aromático del catecol para producir ácido cis,cis-muconico (ccMA)^{1,2,3}. Este compuesto no solo es un intermediario metabólico que se incorpora al ciclo del ácido tricarbóxico, sino también un precursor de gran valor industrial para la síntesis sostenible de ácido adípico y nylon 6,6, evitando el uso de derivados del petróleo^{2,3}. Además, las C12DOs participan en la degradación aeróbica de compuestos aromáticos presentes en contaminantes orgánicos, lo que las convierte en herramientas esenciales para la biorremediación ambiental, con una amplia distribución en bacterias, hongos y plantas.

En este estudio se caracterizó la estructura cuaternaria de una enzima homomultimérica (catecol 1,2-dioxigenasa) mediante un enfoque integrativo que combinó SEC-SAXS, dispersión de luz dinámica (DLS), microscopía electrónica de transmisión (TEM), modelado estructural y cristalografía de rayos X. Los resultados revelaron una notable plasticidad oligomérica, con la coexistencia de dímeros, tetrámeros y octámeros, cuya proporción varía según las condiciones fisicoquímicas^{3,4}. A pesar de estos cambios estructurales, la enzima conservó su actividad catalítica incluso después de procesos de liofilización, lo que evidencia su alta estabilidad funcional^{3,4}. El análisis en solución permitió describir con precisión la forma, tamaño y flexibilidad de los diferentes oligómeros. Estas propiedades —plasticidad estructural, estabilidad y actividad en diversas condiciones— destacan el potencial de esta catecol 1,2-dioxigenasa para aplicaciones biotecnológicas y de biorremediación en suelos y aguas contaminadas.

Agradecimientos

Este trabajo de investigación fue financiado por la (DGAPA-UNAM), a través de los proyectos PAPIIT IN226523 e IG200223. Se utilizaron recursos de la línea de luz 16-ID LIX del (NSLS-II). La beca doctoral (2019-000002-01NACF-12588) del CONAHCyT, México, y al programa Ayudantes de Investigador nivel III brindado por el SNII. Apoyo técnico de B.Sc. Maricela Olvera-Rodríguez, Biol. Rosa Roman-Miranda y Ph.D. Paloma C. Gil-Rodríguez.

Bibliografía

1. Earhart CA, Vetting MW, Gosu R, Michaud-Soret I, Que L Jr, Ohlendorf DH. Biochem Biophys Res Commun. 2005;338(1):198–205. pmid:16171781
2. Di Nardo G, Tilli S, Pessione E, Cavaletto M, Giunta C, Briganti F. Arch Biochem Biophys. 2004;431(1):79–87. pmid:15464729
3. Almeida-Juarez, A. G., Chodankar, S., Pardo-López, L., Zavala-Padilla, G., & Rudiño-Piñera, E. (2025). PLOS ONE, 20(5), e0315992
4. Rodríguez-Salazar J, Almeida-Juarez AG, Ornelas-Ocampo K, Millán-López S, Raga-Carbajal E, Rodríguez-Mejía JL, et al. Front Microbiol. 2020;11:1100. pmid:32582076



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

ESTUDIO DE LA CONFORMACIÓN DEL RECEPTOR A N-METIL-D-ASPARTATO EN SU FORMA ACTIVA USANDO DINÁMICA MOLECULAR

Leslie Maribel Bojórquez Vega ¹, Mauricio Demetrio Carbajal-Tinoco ¹, Liliana Quintanar ^{2,3}, Paolo Carloni ⁴

1. Departamento de Física, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Politécnico Nacional unidad Zacatenco, Ciudad de México C.P. 07360.
2. Departamento de Química, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Politécnico Nacional unidad Zacatenco, Ciudad de México C.P. 07360.
3. Centro de Investigaciones en Envejecimiento (CIE), Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Politécnico Nacional sede Sur, Ciudad de México C.P. 14330.
4. Institutos de Biomedicina Computacional (INM-9), y de Neurociencias y Medicina (INM), Forschungszentrum Jülich GmbH Wilhelm-Johnen-Straße, C.P. 52428 Jülich, Alemania

Correo: leslie.bojorquez@cinvestav.mx.

Palabras clave: NMDAR, Dinámica Molecular, Desensibilización.

Resumen.

El receptor a N-metil-D-aspartato (NMDAR) es un canal iónico permeable al calcio, cuya activación requiere la unión simultánea de glutamato y glicina. Altamente expresado en el sistema nervioso central, desempeña un papel esencial en neurotransmisión, plasticidad sináptica, desarrollo neuronal y procesos cognitivos (1,2). Alteraciones en su función se asocian con múltiples trastornos neurológicos y psiquiátricos, incluyendo autismo, enfermedad de Alzheimer, epilepsia, depresión y esquizofrenia (2,3). Las opciones terapéuticas actuales dirigidas directamente al NMDAR son escasas, lo que subraya la necesidad de explorar nuevos mecanismos de regulación. En este contexto, los iones cobre(II) han emergido como moduladores relevantes, capaces de inducir la desensibilización del receptor y reducir el flujo de calcio, ejerciendo un efecto neuro protector (4,5). Este trabajo propone el uso de simulaciones de dinámica molecular para caracterizar, a nivel atómico, la forma activa del NMDAR, así como los mecanismos de desensibilización mediados por glicina. Esta aproximación no solo contribuirá al entendimiento fundamental del comportamiento del receptor desde una perspectiva biofísica, sino que también sentará las bases para estudiar el mecanismo de modulación del neuro receptor con cobre, abriendo nuevas vías para el desarrollo racional de fármacos dirigidos a patologías neurológicas asociadas a la disfunción del NMDAR.

Agradecimiento.

Me gustaría agradecer al Departamento de Neurobiología computacional de Jülich por otorgarme el tiempo de cómputo necesario a mi proyecto, al SECIHTI por el financiamiento a mis estudios de maestría, a Becas Elisa Acuña por el apoyo otorgado al congreso.

Bibliografía.

1. P. K. Dash, J. B. Redell, G. Hergenroeder, J. Zhao, G. L. Clifton, and A. Moore. Serum ceruloplasmin and copper are early biomarkers for traumatic brain injury-associated elevated intracranial pressure. *Journal of Neuroscience Research*, 88(8):1719–1726, June 2010.
2. R. Squitti. Copper subtype of alzheimer's disease (ad): Meta-analyses, genetic studies and predictive value of non-ceruloplasmin copper in mild cognitive impairment conversion to full ad. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 28(4):482–485, October 2014.
3. R. Squitti et al. Copper excess in psychiatric disorders: a focus on mood spectrum disorders and sex. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 86:127532, December 2024.
4. P. K. Stys, H. You, and G. W. Zamponi. Copper-dependent regulation of nmda receptors by cellular prion protein: implications for neurodegenerative disorders. *The Journal of Physiology*, 590(6):1357–1368, March 2012.
5. V. Vlachová, H. Zemková, and L. Vyklická. Copper modulation of nmda responses in mouse and rat cultured hippocampal neurons. *European Journal of Neuroscience*, 8(11):2257–2264, November 1996.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

Efecto del β -hairpin: análisis estructural de la función y estabilidad de la lacasa de *Thermus thermophilus* HB27

¹Leticia León-Luna, ¹Paloma Columba Gil-Rodríguez, ¹Enrique Rudiño Piñera, Instituto de Biotecnología, Departamento de Biología Molecular y Bioprocesos, Cuernavaca, Morelos, 62210, enrique.rudino@ibt.unam.mx

Palabras clave: *Lacasas*, *Thermus thermophilus*, cinética enzimática, oxidasas multicobre.

Resumen.

Las lacasas (EC 1.10.3.2) pertenecen a la familia de las multicobre-oxidasas (MCOs), enzimas que catalizan la oxidación de diversos sustratos orgánicos mientras reducen oxígeno molecular a agua. Estas enzimas, caracterizadas por su baja especificidad por el sustrato, participan en numerosos procesos biológicos en plantas, hongos y bacterias [1]. Actualmente, la mayoría de las lacasas usadas en la industria provienen de hongos; sin embargo, su estabilidad a cambios en las condiciones ambientales ha impulsado la búsqueda de proteínas más estables, particularmente en organismos extremófilos [2]. En este proyecto se trabajó la lacasa de *Thermus thermophilus*, un organismo termófilo aislado de fuentes hidrotermales en Japón, donde las temperaturas pueden superar los 100 °C [3]. Esta enzima presenta una característica estructural distintiva: una región rica en metioninas en la entrada al sitio de oxidación del sustrato, denominada β -hairpin [4]. Esta región muestra un comportamiento dinámico dependiente del pH, que modifica la superficie expuesta de la cavidad de entrada hacia el sitio T1Cu, dificultando la proximidad del sustrato al centro activo. El β -hairpin es, además, la región más flexible y móvil de la estructura de la enzima [5]. Para evaluar el papel funcional de esta región, se generaron dos mutantes eliminando el β -hairpin en distintas posiciones: en la zona más móvil ($\Delta 1$) y desde la base del β -hairpin ($\Delta 2$). Ambas variantes conservaron su actividad de lacasa frente a tres sustratos distintos, a pesar de la eliminación de 16 ($\Delta 1$) y 25 ($\Delta 2$) residuos de aminoácidos. Además, conservaron su actividad tras la exposición a temperaturas superiores a 60 °C, lo que indica que la termo-estabilidad no se vio comprometida. Aunque la mutante $\Delta 1$ no mostró mejoras notables en los parámetros catalíticos, la mutante $\Delta 2$ mostró cambios significativos en la cinética enzimática en comparación con la enzima silvestre (WT), con mejores constantes catalíticas y de afinidad en la mayoría de los casos. Por último, ambas mutantes mostraron un intervalo de actividad más amplio en función del pH; el intervalo de actividad de la enzima se amplió en ambas variantes, a pesar de la dependencia del sustrato utilizado. Se obtuvo la estructura cristalográfica de la mutante $\Delta 2$, en la cual observamos la ausencia del β -hairpin, demostrando que este motivo no es esencial para el correcto plegamiento de la enzima. Tras la escisión del β -hairpin en la variante $\Delta 2$, se observó un aumento del 10 % en el volumen de la cavidad expuesta, lo que contribuyó a la mejora en la afinidad por los sustratos. Además, esta modificación estructural dejó expuestos al solvente los residuos ácidos Glu352 y Asp392, estos residuos podrían explicar, al menos en parte, la ampliación del intervalo de pH en el que la enzima mantiene su actividad catalítica. Estos cambios parecen afectar la organización cristalina, dar lugar a variaciones en el estado de protonación y modificar la cavidad de entrada al sitio activo, dando como resultado una enzima robusta que puede utilizarse como base para el desarrollo de nuevos biocatalizadores.

Agradecimientos. Agradecemos al Laboratorio Nacional de Estructura de Macromoléculas del Instituto de Química (LANEM-IQ) de la (UNAM), por el apoyo en la colecta, reducción y análisis de los datos de difracción de rayos-X, y al proyecto DGAPA-PAPIIT IN226523 por el financiamiento otorgado.

Bibliografía.

- [1] P. Giardina, V. Faraco, C. Pezzella, A. Piscitelli, S. Vanhulle, and G. Sannia. (2010) *Cell Mol Life Sci.* 67(3):369-85.
- [2] D. M. Mate and M. Alcalde. (2015) *Biotechnol Adv.* 33(1):25-40.
- [3] K. Miyazaki. (2005) *Extremophiles.* 9(6):415-425.
- [4] Serrano-Posada H, Valderrama B, Stojanoff V, Rudiño-Piñera E. (2011) *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun.* 1(67):1595-8.
- [5] R. Miranda-Blancas, M. Avelar, A. Rodríguez-Arteaga, A. Sinicropi, and E. Rudiño-Piñera. (2021) *J Struct Biol.* 213(2):107740.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

**CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE LA OROTIDINA 5'- MONOFOSFATO
DESCARBOXILASA DE *PSEUDOMONAS CICHORII***

Mauricio Yael Navarro Ochoa y Lilian González Segura

Departamento de Bioquímica, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México,
Ciudad de México, 04510. Correo electrónico: mauricioy6@gmail.com

Palabras clave: pirimidinas, ODCasa, patógeno.

Resumen.

La vía de síntesis *de novo* de pirimidinas es una ruta metabólica esencial en todos los organismos vivos, ya que produce los compuestos necesarios para la construcción de ácidos nucleicos y que también están involucrados en la regulación y producción de otras biomoléculas importantes (1,2). La última reacción de esta vía metabólica es llevada a cabo por la enzima conocida como orotidina 5'- monofosfato descarboxilasa (ODCasa), una de las enzimas más eficientes descubiertas hasta la fecha; sin embargo, el mecanismo químico que le otorga su impresionante poder catalítico aún sigue siendo un misterio para los bioquímicos (3,4). Los genes que codifican para esta enzima presentan una organización genética diferente en organismos procariotas y eucariotas (5) y, a lo largo de los últimos años, se han realizado varias investigaciones que postulan la inhibición de esta enzima como un elemento clave para la creación de novedosos fármacos que permitan el tratamiento de diversas enfermedades, incluyendo aquellas que se ven afectadas por la resistencia a antibióticos (6,7). *Pseudomonas cichorii* es un patógeno capaz de infectar una gran variedad de plantas de importancia económica. Entre sus principales huéspedes se encuentra la planta de café (*Coffea arabica*), organismo al cual le provoca lesiones conocidas como "tizón de hoja" y que ha sido el causante de graves pérdidas comerciales en varios países productores de café (8). El objetivo de este trabajo fue caracterizar bioquímicamente a la enzima recombinante ODCasa proveniente de *Pseudomonas cichorii* (PcODCasa) con el propósito de elucidar sus características y compararlas con las de la enzima perteneciente a *Coffea arabica* (CaODCasa). En este trabajo se logró obtener a la enzima recombinante PcODCasa pura utilizando dos pasos de purificación. Se determinaron los parámetros cinéticos para la PcODCasa, los cuales son comparables con los de la enzima homóloga en la planta de café, no obstante, fue posible apreciar diferencias en los valores de V_{max} . En cuanto a su estabilidad térmica, se encontró que la PcODCasa es más estable que la CaODCasa pues tiene una temperatura de desnaturalización mayor a esta. Finalmente, se obtuvieron cristales de la PcODCasa tanto en su forma apo como en complejo con su ligando (OMP) utilizando el kit comercial Wizard III de la compañía Emerald BioSystems.

Agradecimientos. Trabajo financiado por el Programa de Apoyo a la Investigación y Posgrado de la Facultad de Química de la UNAM, PAIP 5000-9129 y por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico, Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT), UNAM proyecto IN211223.

Bibliografía.

1. Boldt R., Zrenner R. (2003) *Physiol Plant.* 117 (3): 297–304.
2. Evans D. R., Guy H. I. (2004) *J. Biol. Chem.* 279 (32): 33035–33038.
3. Purohit M. K., Poduch E., Wei L. W., Crandall I. E., To T., Kain K. C., Pai E. F., Kotra L. P. (2012) *J. Med. Chem.* 55 (22): 9988–9997.
4. Wu N., Pai E. F. (2002) *J. Biol. Chem.* 277 (31): 28080–28087
5. French J. B., Yates P. A., Soysa D. R., Boitz J. M., Carter N. S., Chang B., Ullman B., Ealick S. E. (2011) *J. Biol. Chem.* 286 (23): 20930–20941.
6. Bello A. M., Poduch E., Liu Y., Wei L., Crandall I., Wang X., Dyanand C., Kain K. C., Pai E. F., Kotra L. P. (2008) *J. Med. Chem.* 51 (3): 439–448.
7. Poduch, E., Bello, A. M., Tang, S., Fujihashi, M., Pai, E. F., Kotra, L. P. (2006) *J. Med. Chem.* 49 (16): 4937–4945.
8. Trantas, E. A., Sarris, P. F., Mpalandinaki, E. E., Pentari, M. G., Ververidis, F. N., Goumas, D. E. (2013) *Eur. J. Plant. Pathol.* 137 (3): 477–493.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

EVALUACIÓN DE NUEVOS INHIBIDORES DE LA ENZIMA PFLDH COMO COMPUESTOS ANTIPALÚDICOS: DESDE UN ENFOQUE DE DINÁMICA MOLECULAR

R. E. Castrejón-García, J. M. Hernández-Peréz, P. López-Mendoza, F. Sartillo-Piscil, J. M. Solano-Altamirano y V. Vargas-Castro. Facultad de Ciencias Químicas de la Benemérita, Universidad Autónoma de Puebla, 14 Sur y Av. San Claudio, C.P. 72570, Puebla Pue, México.
raul.castrejong@alumno.buap.mx

Palabras clave: antipalúdicos, inhibidores, Lactato deshidrogenasa, naftopironas

Resumen.

La malaria es una de las principales enfermedades que afectan a los países menos adelantados y en vías de desarrollo [1]. Esta infección es causada por un parásito intracelular del género *Plasmodium*. Entre las cuatro especies que infectan a los humanos y causan malaria, la especie *Plasmodium falciparum* es la principal responsable del aumento de las tasas de mortalidad y morbilidad asociadas a esta enfermedad [2].

A pesar de la existencia de diversos fármacos antipalúdicos, como la cloroquina y la artemisinina, se ha documentado la resistencia del *Plasmodium falciparum* a la mayoría de estos tratamientos [3]. Sumado a la ausencia de una vacuna eficaz, se resalta la urgencia de desarrollar nuevos tratamientos con blancos farmacológicos innovadores [4]. Uno de estos blancos es la enzima lactato deshidrogenasa del *Plasmodium falciparum* (PFLDH), que regula la producción de adenosina trifosfato (ATP), catalizando la conversión de lactato en piruvato. Esta reacción utiliza la nicotinamida adenina dinucleótido en su forma reducida (NADH) como cofactor en el paso final de la glucólisis. Esto durante las etapas anaeróbicas eritrocíticas del ciclo de vida de *Plasmodium falciparum* [5]. Siendo que, la inhibición de la PFLDH provoca la muerte del parásito [6], la enzima PFLDH representa un prometedor objetivo terapéutico.

En este contexto, la (-)-lasonectrina **A**, la cual es una naftopirona fusionada con tetrahydrofurano, se ha aislado e identificado como un metabolito del hongo *Lasionectria sp.* que presenta una importante actividad antipalúdica [7]. Dada su relevancia biológica y las dificultades para obtenerla a partir de fuentes naturales, surge la necesidad de desarrollar nuevas rutas sintéticas. A partir de esta necesidad, se ha propuesto un enfoque de síntesis, en donde la producción de los aductos **B** y **C** como esqueletos de la naftopirona, funge como un paso clave del proceso sintético [8]. Estos intermediarios presentan una menor complejidad sintética, rendimientos significativamente mayores y estructuras similares a las de la lasonectrina. Por consiguiente, decidimos probarlos mediante técnicas in silico contra la PFLDH como posibles candidatos antipalúdicos. En este proyecto demostramos, a través de dinámica molecular, que los intermediarios en la síntesis de (+)-lasonectrina, los aductos **B** y **C**, reportados en [8], exhiben una mayor afinidad por los sitios de unión de lactato y NADH de la enzima pFLDH, posicionándolos así, como potenciales candidatos a fármacos antipalúdicos.

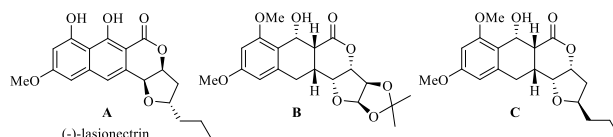


Figura 1. (-)-lasonectrina y aductos involucrados en la síntesis de la (+)-lasonectrina.

Bibliografía.

- [1] World Malaria Report 2024. Fact Sheet. WHO, (2024). Disponible en: <https://www.who.int/teams/global-malaria-programme/reports/world-malaria-report-2024>
- [2] D.J. Perkins, T. Were, G.C., et al. (2011) Int. J. Biol. Sci. 7 (9) 1427–1442.
- [3] B. Blasco, D. Leroy, & D. Fidock. (2017) Nat Med 23, 917–928.
- [4] World Health Organization. Strategy to respond to antimalarial drug resistance in Africa 2022. WHO, (2022). Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240060265>
- [5] R. Singh, V. Bhardwaj, R. Purohit, (2020) J. Biomol Struct Dyn. 39, 1–9.
- [6] J. Read, K. Wilkinson, R. Tranter, R. Sessions, R. Brady (1999) J Biol Chem 274, 10213–10218.
- [7] N. El Aouad, G. Pérez-Moreno, et al. (2012) J. Nat. Prod. 75, 1228–1230.
- [8] P. López, L. Porras, F. Sartillo et al. (2023) The Journal of Organic Chemistry 88 (24), 17409-17419.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

20 a 24 de octubre del 2025. Zacatecas, Zacatecas

TRANSPORTE DE ÁCIDO CLORANÍLICO, MEDIADO POR PORINAS, EN LA CEPA *Herbaspirillum lusitanum* TQ07

Edson Benjamín Puebla Gandarilla, Rainer Arkin Rojo Acosta, Clarita Olvera Carranza, Rosa Angélica Guillén Garcés, Oscar Guadarrama Pérez, Luis Gerardo Treviño Quintanilla. Universidad Politécnica del estado de Morelos, Dirección de las Ingenierías en Biotecnología y Ambiental, Jiutepec, Morelos, CP 62550.
ltrevino@upemor.edu.mx

Palabras clave: Compuestos aromáticos, transporte, porinas.

Resumen.

Introducción. Para que las bacterias puedan degradar compuestos aromáticos hidrofílicos, debe internalizarlos al citosol celular mediante sistemas de transporte de membrana. En el caso de las bacterias GRAM negativas estos sistemas de transporte debe localizarse tanto en la membrana externa, como en la membrana interna. Las porinas específicas son canales que permiten el paso selectivo de ciertos compuestos, como los aromáticos, a través de la membrana externa (Mutanda *et al.*, 2022). *Herbaspirillum lusitanum* TQ07 degrada ácido cloranílico (AC), un compuesto clorado derivado del Pentaclorofenol, y presenta dos genes que codifican para porinas, en la región que contiene los genes involucrados en la degradación de ácido cloranílico (Treviño-Quintanilla *et al.*, 2011). Por lo anterior, el presente trabajo tiene como objetivo evaluar la participación de las porinas CadP1 y CadP2 en el transporte y degradación de AC.

Metodología. Para evaluar lo anterior, se generaron mutantes por delección dirigida, mediante cruces triparenterales, utilizando el vector pK18mobSacB, a través de la amplificación y clonación de las regiones que contienen los genes de interés y la delección de los mismos mediante PCR inverso. Se evaluó la capacidad de degradación de AC y crecimiento de las cepas TQ07 wt, Δ cadP1 y Δ cadP2 mediante espectrofotometría UV-VIS a 333 nm y 600 nm, respectivamente, en medios de cultivo mineral suplementados con 400 ppm de AC como única fuente de carbono y energía. Finalmente, se evaluó la capacidad de transporte de las mutantes mediante la técnica desarrollada por Chaudhry *et al.*, en 2007 (Chaudhry *et al.*, 2007).

Resultados. Se estableció que la cepa Δ cadP1 presenta una disminución, en dos terceras partes, de su capacidad de degradación y en su velocidad de crecimiento a partir de AC. En cuanto al transporte de AC esta cepa presenta una disminución de la velocidad de transporte del 67%, con respecto a la cepa silvestre. Por otro lado, la cepa Δ cadP2 pierde por completo la capacidad de degradar y crecer a partir de AC, así como la capacidad de transportar AC. Mutantes en los genes involucrados en la ruta metabólica *cadA* y *cadB1*, que no pueden degradar el AC, presenta aún la capacidad de transportar el AC, pero con una reducción de la velocidad de transporte del 45%. Adicionalmente, la cepa Δ cadP2 desarrollo un fenotipo de quimiotaxis en placas hacia cultivos que presentan la capacidad de degradar AC, por lo que este movimiento tipo swarming es mediado por el metabolismo de AC.

Conclusiones. De acuerdo a los resultados obtenidos podemos concluir que ambas porinas participan en el transporte de AC en la cepa silvestre. CadP1 lleva a cabo el transporte de dos terceras partes del AC y CadP2 de una tercera parte. Sin embargo, la delección del gen *cadP2* elimina por completo la capacidad de transportar y degradar el AC, por lo que la porina CadP2 debe ser esencial para el transporte inicial y expresión de los genes involucrados en la degradación de AC.

Agradecimiento. Se agradece a la UPEMOR por el financiamiento brindado para el desarrollo de este proyecto. Se agradece a la SECIHTI por la beca de posgrado otorgada a Edson B. Puebla Gandarilla.

Bibliografía.

1. Mutanda I, Sun J, Jiang J, Zhu D. (2022). Bacterial membrane transporter systems for aromatic compounds: Regulation, engineering, and biotechnological applications. *Biotechnology Advances*, 59 (October 2022): 107952. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2022.107952
2. Treviño-Quintanilla LG, Freyre-González JA, Guillén-Garcés RA, & Olvera C (2011). Molecular characterization of chloranilic acid degradation in *Pseudomonas putida* TQ07. *J. Microbiology*, 49(6): 974-980. DOI: 10.1007/s12275-011-1507-1
3. Chaudhry MT, Huang Y, Shen X, Poetsch A, Jiang C, & Liu S (2007). Characterization of a Unique Pathway for 4-Cresol Catabolism Initiated by Phosphorylation in *Corynebacterium glutamicum*. *Microbiology*, 153(3): 857–865. DOI: 10.1074/jbc.M115.695320



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

DILUCIDACIÓN Y ESTUDIO IN SILICO DE LA ESTRUCTURA TRIDIMENSIONAL DE UNA VERSIÓN TRUNCADA DE LA LEVANSACARASA LevS DE *Leuconostoc mesenteroides* B512F

Miguel Castañeda Vaquera, Enrique Rudiño Piñera, Paloma Columba Gil, Maura Martínez Morales, Clarita Olvera Carranza

Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biotecnología, 62210 Cuernavaca, clarita.olvera@ibt.unam.mx

Palabras clave: Levansacarasa, Estructura cristalográfica, Fructanas

Resumen.

En la actualidad, el número de estructuras cristalográficas de fructansacarosas bacterianas disponibles en el Protein Data Bank (PDB) es aún limitado. Hasta la fecha, se han reportado siete estructuras de levansacarosas y una única estructura de una inulosacarasa, siendo esta última la única fructansacarasa multidominio conocida. En este trabajo se resolvió la estructura cristalográfica de una enzima truncada LevS N34Tn22 (Figura1) derivada de la levansacarasa LevS de *Leuconostoc mesenteroides* B512F, con una resolución de 2.5 Å. Esta constituye la primera estructura cristalográfica del dominio catalítico de una levansacarasa multidominio dilucidada hasta el momento. El dominio catalítico de LevS N34Tn22 cuenta con un plegamiento típico de tipo β -propela de cinco palas, las cuales cuentan con una topología en forma de "W" compuesta por cuatro hojas β -antiparalelas, formando una estructura tridimensional parecida a un embudo (1). Además, se identificaron los posibles residuos que conforman la triada catalítica: Asp247 (nucleófilo), Asp399 (estabilizador del estado de transición) y Glu497 (ácido/base general). Asimismo, se describieron los subsitios de reconocimiento a carbohidratos, del -1 al +4, con base en comparaciones estructurales y de secuencia con otras levansacarosas de las familias GH68_1 y GH68_2. Para el subsitio -1 se propusieron los residuos Trp246, Ser568, Ser317, Arg398, Leu271 y Trp316. En el subsitio +1 se encontraron Arg515 y Lys518, en el +2 los residuos Asn394 y Arg398, mientras que los subsitios +3 y +4 incluyen Asn394 y Tyr389, respectivamente (2). Adicionalmente, mediante ensayos de acoplamiento molecular se identificaron 16 residuos (Gln281, Asp278, Trp311, Thr340, Gln337, Pro385, Glu495, Ser517, Asn529, Phe256, Phe560, Tyr567, Asn589, Tyr586, Arg590, Asn591 y Lys593) que parecen participar en el reconocimiento de carbohidratos. También se determinaron las secuencias y posiciones espaciales de nueve bucles presentes en el dominio catalítico, de los cuales los bucles I, IV, VII, VIII y IX podrían tener un impacto relevante en la síntesis de productos, al modificar la topología del sitio activo de la levansacarasa LevS (3). Estos resultados nos permiten comprender con mayor profundidad las determinantes estructurales que regulan la especificidad y mecanismo de acción de este tipo de enzimas, abriendo la oportunidad del diseño racional de variantes enzimáticas que permitan obtener fructanas con funciones y estructuras específicas.

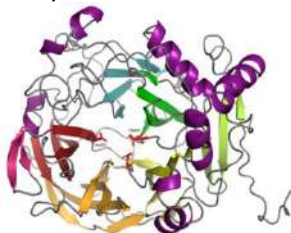


Figura 1: Estructuras secundarias de la estructura LevS N34Tn22. Se muestran las palas de la β -propela (pala I: rojo, pala II: naranja, pala III: amarillo, pala IV: verde y Pala V: azul), hélices (morado) bucles (gris) y estructura en "Z" (verde lima).

Agradecimiento. Este trabajo fue financiado por la UNAM en el marco del proyecto PAPIIT es IN227723 y por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) dentro del proyecto CF-2023-I-1195.

Bibliografía.

1. Meng G, Fütterer K. (2003) *Nat Struct Mol Biol.* Vol (10): 935-941.
2. Raga-Carbajal E, Díaz-Vilchis A, Rojas-Trejo SP, Rudiño-Piñera E, Olvera C. (2021) *J Biol Chem.* Vol (296): 100178
3. Wuerges J, Caputi L, Cianci M, Boivin S, Meijers R, Benini S. (2015) *J Struct Biol.* Vol (191): 290-8



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

ESTUDIO DE LA CAPACIDAD DE FRUCTANSACARASAS MUTANTES DE SacB PARA RECONOCER DIVERSOS ACEPTORES PARA LA SÍNTESIS DE NUEVOS OLIGOSACÁRIDOS.

M en C. Guillermo Alonso Campos^a, IBQ Liliana Jeanette Pineda Vázquez^a, M en C. Grissel Vázquez Bustos, Dr. Enrique Raga Carbajal^b, Dra. Marcela Ayala Aceves^a, Dra. Clarita Olvera Carranza^a. a. Departamento de Ingeniería Celular y Biotecnología, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad #2001, Col. Chamilpa, CP. 62210 Cuernavaca, Morelos, México. b. Technical University of Munich Campus Straubing, Chair of Chemistry of Biogenic Resources. Uferstraße 53, 94315 Straubing, Alemania. guillermo.alonso@ibt.unam.mx

Palabras clave: Fructansacararas, levansacarasa, fructooligosacáridos.

Resumen.

Las fructansacararas (FSs) son las enzimas microbianas responsables de la síntesis de fructanas y fructooligosacáridos, para ello catalizan la transferencia del grupo fructosilo de la sacarosa a una molécula aceptora. De acuerdo con el tipo de fructana sintetizada y la naturaleza del enlace entre las fructosas la FSs puede ser una levansacarasa (LS) que sintetiza fructanas tipo levana en su cadena principal, o bien, una inulosacarasa (IS) que sintetiza fructanas tipo inulina en su cadena principal [1]. Las FSs de origen bacteriano son capaces de realizar tres tipos de reacciones: 1) La transfructosilación, en la cual se sintetizan fructanas o fructooligosacáridos transfiriendo el grupo fructosilo de la sacarosa hacia un polisacárido en crecimiento; 2) La hidrólisis de la sacarosa en la que una molécula de agua actúa como aceptor liberando fructosa al medio; 3) Además, cuando a la reacción se le agrega otra molécula que no es sacarosa, como un monosacárido o disacáridos exógenos a la reacción, las FSs llevan a cabo la reacción de aceptor, transfiriendo la fructosa de la sacarosa al aceptor exógeno, generando un fructósido y ocurre una reacción de aceptor [2]. Se ha demostrado que las fructanas mezcladas tienen un mejor potencial prebiótico que las lineales, promoviendo más eficientemente la proliferación de una microbiota benéfica que mejora el metabolismo de lípidos, la absorción de nutrientes y la disminución de glucosa en sangre, de los organismos que la consumen. En el grupo de Polímeros Biocompatibles y Nanotecnología se han realizado estudios de estructura función de la cavidad catalítica de fructansacararas. En particular, estudios recientes de mutagénesis sitio-dirigida sobre residuos ubicados en la superficie de SacB de *B. subtilis* en los subsitios de unión

+2 y +4 permitieron la obtención de variantes deficientes en la síntesis de polímero de levana, pero capaces de acumular FOS. Entre las variantes, las mutantes N242A (subsitio +2) y Y237A (subsitio +4) sintetizan productos con grados de polimerización de hasta 4 y 10 unidades (tetrasacáridos y decasacáridos), siendo biocatalizadores de interés para la obtención de FOS tipo levana. [2]. Se ha propuesto el uso de estas mutantes para evaluar su capacidad de reconocer diversos aceptores como isomaltoligosacáridos (IMOS), galactooligosacáridos (GOS) para producir nuevos oligosacáridos [3,4]. Por lo tanto, el objetivo principal de este proyecto fue demostrar la capacidad de dos levansacararas mutantes (Y237A y N242A) para sintetizar de nuevos fructooligosacáridos los cuales podrían presentar mejor potencial prebiótico que lo que se encuentra actualmente disponible.

Para cumplir este objetivo se empleó como molécula donadora la sacarosa y como moléculas aceptoras diversos oligosacáridos como los: isomaltoligosacáridos (IMOS), galactooligosacáridos (GOS) y fructooligosacáridos tipo inulina (InuFOS) en una mezcla con las levansacararas mutantes. Los resultados obtenidos demostraron que la levansacarasa Y237A reconoce de manera más efectiva los tres sustratos aceptores siendo los InuFOS los que reconoce y elonga más eficientemente sintetizando hasta 17 productos nuevos con diversos grados de polimerización, por otra parte, los sustratos aceptores IMOS y GOS fueron reconocidos en menor medida por la mutante Y237A sintetizando 4 productos nuevos en la reacción de aceptor empleando IMOS como aceptores y en la reacción empleando GOS como sustrato aceptor se identificaron 5 productos nuevos. En cuanto a las reacciones empleando la mutante N242A y los diversos aceptores, los InuFOS fueron los sustratos que la mutante reconoce más eficiente logrando sintetizar 6 productos nuevos, en la reacción con IMOS la mutante sintetiza tres productos nuevos y cuando los GOS funguen como aceptores se sintetizan 2 productos nuevos. Para confirmar que la levansacarasa mutante sintetiza fructooligosacáridos híbridos se realizó una derivatización de los FOS los cuales se analizaron por GC-MS, los resultados de esos análisis demostraron la presencia de fructosas ramificadas lo que confirma la capacidad de esta levansacarasa mutante Y237A de reconocer y elongar aceptores con diferentes grados de polimerización para la síntesis de nuevos fructooligosacáridos con una estructura híbrida.

Agradecimiento.

El proyecto fue financiado por la Universidad Nacional Autónoma de México a través del programa DGAPA- PAPIIT mediante el proyecto IN227723 y por el apoyo otorgado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) mediante la subvención n.º 831111 y la subvención n.º CVU 1225236.

Bibliografía.

- 1.- Cantarel, B. L., et al. (2008). Nucleic acids research, 37, D233-8.
- 2.- Raga-Carbajal, E. (2019). Tesis de Doctorado Ciencias Bioquímicas. Instituto de Biotecnología UNAM. Cuernavaca, Morelos. México.
- 3.- Vázquez-Bustos, G (2018). Tesis de licenciatura Ingeniería en Biotecnología. Universidad Politécnica de Puebla.
- 4.- Pineda-Vázquez, L (2021) Tesis de licenciatura Ingeniería Bioquímica. Instituto Tecnológico de Acapulco.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

PROTEÍNAS DE AMBIENTES EXTREMOS: PILINAS DE *ACIDITHIOBACILLUS THIOOXIDANS* COMO MODELO DE ESTUDIO

Edgar D. Páez-Pérez, Elvia Alfaro-Saldaña, Araceli Hernández-Sánchez, J. Viridiana García-Meza
Geomicrobiología, Instituto de Metalurgia, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, SLP 78370.
edpaezperez@gmail.com

Palabras clave: pilina, acidófilo, resiliencia

Resumen.

Las proteínas de microorganismos extremófilos constituyen modelos ideales para comprender los mecanismos que permiten la adaptación a condiciones ambientales extremas y para desarrollar aplicaciones biotecnológicas innovadoras. *Acidithiobacillus thiooxidans* es una bacteria acidófila capaz de crecer en medios con pH extremadamente bajo y altas concentraciones de metales, donde sus pilinas tipo IV desempeñan un papel clave en procesos como adherencia, motilidad y transferencia de electrones.

En un primer enfoque, se identificaron las pilinas menores de *A. thiooxidans*, observando que presentan un notable desorden estructural y una composición aminoacídica particular, caracterizada por un incremento de residuos hidroxilados (serina y treonina) y amídicos (asparagina y glutamina), junto con una disminución de residuos cargados, tanto positivos como negativos. Estas propiedades sugieren un papel crítico en la acidoestabilidad de estas proteínas, apoyando su funcionalidad en ambientes extremos (1).

A partir de este análisis teórico, se procedió a la expresión y purificación de la pilina menor PilV, evaluando su acido-estabilidad mediante ensayos biofísicos complementados con estudios bioinformáticos (2). Posteriormente, se trabajó con PilY1, otra pilina menor con un plegamiento más complejo, no típico de las pilinas convencionales, que también fue expresada y purificada para su caracterización estructural y funcional, confirmando su acido-estabilidad (3). Finalmente, se estandarizó un protocolo para la expresión y purificación de pilinas completas, un proceso metodológicamente complejo que permite obtener proteínas recombinantes listas para estudios avanzados (4).

Estos resultados consolidan a las pilinas de *A. thiooxidans* como un modelo destacado para el estudio de proteínas extremófilas, proporcionando información valiosa sobre sus adaptaciones moleculares y abriendo oportunidades para aplicaciones en bioelectrónica y en el diseño de biomoléculas resistentes a ambientes extremos.

Agradecimiento. Este trabajo fue apoyado por la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI, antes CONAHCyT) a través del programa CB2017–2018 (Proyecto A1-S-11505). E.D.P.P. agradece el apoyo recibido para esta investigación mediante una beca posdoctoral otorgada por la SECIHTI (I1200/311/2023)

Bibliografía.

1. Páez-Pérez, E.D., Hernández-Sánchez, A., Alfaro-Saldaña, E., García-Meza, J.V. (2023) *Extremophiles* 27(3):31.
2. Hernández-Sánchez, A., Páez-Pérez, E.D., Alfaro-Saldaña, E., Olivares-Illana, V., García-Meza, J.V. (2024) *J. Microbiol. Biotechnol.* 34(3):527–537.
3. Hernández-Sánchez, A., Páez-Pérez, E.D., Alfaro-Saldaña, E., García-Meza, J.V. (2024) *Biochem. Biophys. Rep.* 39:101797.
4. Páez-Pérez, E.D., Hernández-Sánchez, A., Alfaro-Saldaña, E., García-Meza, J.V. (2025) *MethodsX* 15:103520.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

ANÁLISIS DE LA SELECTIVIDAD DE LA LEVANSACARASA KesL DE *Paraburkholderia phymatum* CON COMPUESTOS FENÓLICOS COMO ACEPTORES

M. en C. Brandon Antonio Zapata Velasco^a, Dr. Javier Placido Arrizon Gaviño^b, Dr. Rodrigo Aguayo Ortiz^c, Dra. Marcela Ayala Aceves^a, Dra. María Azucena Herrera González^d y Dra. Clarita Olvera Carranza^a. ^aDepartamento de Ingeniería Celular, Instituto de Biotecnología, UNAM, Cuernavaca, CP. 62000; ^bDivisión de Biotecnología Industrial, CIATEJ, Zapopan, CP. 45019; ^cDepartamento farmacia, Facultad de Química, UNAM, Ciudad de México, CP. 04510; ^dDepartamento de ingeniería química, Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías, UDG, Guadalajara, CP. 44430.
brandon.zapata@ibt.unam.mx.

Palabras clave: Fructansacarosas, Fructósidos, Funcionalización.

Resumen.

Las fructansacarosas (FSs) son enzimas que pertenecen a la familia GH68 y son las encargadas de la síntesis de fructanas, polímero o fructooligosacáridos de fructosa unidas mediante enlaces glicosídicos, a partir de la sacarosa mediante la transferencia de un grupo fructosilo desde la sacarosa que actúa como molécula donadora hacia una molécula aceptora [1]. Estas enzimas realizan tres tipos de reacción de acuerdo con el tipo de aceptor del grupo fructosilo: Hidrólisis, transfructosilación y reacción de aceptor [2]. La reacción de aceptor es llevada a cabo mediante el uso de moléculasceptoras diferentes a la sacarosa y ha sido estudiada últimamente como una alternativa para la funcionalización de compuestos fenólicos para mejorar sus propiedades fisicoquímicas, particularmente la solubilidad y estabilidad química [3]. El objetivo principal de este trabajo es evaluar la capacidad de la fructansacarasa KesL para utilizar compuestos fenólicos como aceptores de reacción para la síntesis de fructósidos. Se decidió utilizar el ácido cafeico, resveratrol y quercetina como moléculas de estudio debido a su diversidad estructural. Primero, se realizó un acoplamiento molecular con el objetivo de estudiar el acomodo y la posición de las moléculasceptoras dentro de la cavidad catalítica, donde se encontró que las moléculas propuestas se encuentran en una posición cercana a los residuos catalíticos y estabilizadas por diversas interacciones, lo que sugiere que estos compuestos pueden ser utilizados como aceptores por la FS KesL. Para evaluar la capacidad de la enzima KesL para utilizar ácido cafeico, resveratrol y quercetina como molécula aceptora se realizaron reacciones de aceptor con cada molécula aceptora dependiendo de la solubilidad. La reacción se analizó mediante HPLC-UV a 280 nm, se determinó que a las 24 h de reacción se obtuvo una conversión del $32.9 \pm 4.1\%$, $81.3 \pm 3.2\%$ y $68.5 \pm 1.8\%$ para el ácido cafeico, resveratrol y quercetina, respectivamente. Posteriormente, con el objetivo de evaluar la cantidad de moléculas de fructosa transferidas se realizó una evaluación de los productos de reacción mediante UPLC-QTOF-MS. De acuerdo con la determinación de las moléculas de la fructosa transferidas el ácido cafeico se obtiene compuestos con hasta tres fructosas mediante el análisis de masas y obtener cuatro productos en el perfil de productos en el cromatograma UV podemos sugerir la presencia de algún isómero. En cuanto al resveratrol el análisis de masas muestra la transferencia de hasta tres fructosas y el perfil de productos en el cromatograma UV muestra seis productos lo cual sugiere varios isómeros donde la transferencia se da al menos a dos grupos OH. Finalmente, en el caso de la quercetina el análisis de masas también muestra la transferencia de hasta tres fructosas y el perfil de productos del cromatograma UV muestra tres productos se puede sugerir la transferencia sobre solo un grupo OH. Estos resultados permiten concluir que la enzima KesL es capaz de utilizar compuestos aromáticos como aceptores de reacción esto se puede dar debido a la promiscuidad de los subsitios +1 y +2 dentro de la cavidad catalítica que permiten el reconocimiento de los anillos aromáticos permitiendo la transferencia del grupo fructosilo a un grupo hidroxilo libre. La FS KesL es la primera reportada capaz de utilizar resveratrol y quercetina como aceptores.

Agradecimiento. Este trabajo fue realizado gracias a la beca otorgada por la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) con el apoyo número 4000951.

Bibliografía.

1. Wei Xu, Dawei Ni, Wenli Zhang, Cuie Guang, Tao Zhang & Wanmeng Mu (2019) Recent advances in Levansucrase and Inulosucrase: evolution, characteristics, and application, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59:22, 3630-3647, DOI:10.1080/10408398.2018.1506421.
2. Hill A, Karboune S, Narwani TJ, de Brevin AG. Investigating the Product Profiles and Structural Relationships of New Levansucrases with Conventional and Non-Conventional Substrates. *Int J Mol Sci*. 2020 Jul 29;21(15):5402. doi: 10.3390/ijms21155402.
3. Núñez-López G, Herrera-González A, Hernández L, Amaya-Delgado L, Sandoval G, Gschaedler A, Arrizon J, Remaud-Simeon M, Morel S. (2019). Fructosylation of phenolic compounds by levansucrase from *Gluconacetobacter diazotrophicus*. *Enzyme Microb Technol*. Mar;122:19-25. doi: 10.1016/j.enzmictec.2018.12.004.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

INTERACCIÓN PROTEÍNA-NANOPARTÍCULA DE ORO: MODIFICACIONES ESTRUCTURALES Y VENTAJAS FUNCIONALES DE LA ALBÚMINA DE SUERO BOVINO (BSA) FUNCIONALIZADA CON NANOPARTÍCULAS DE ORO

Biol. Mol. Nancy Lozano, Dr. Gerardo Pérez, Dra. Roxana López, Unidad Cuajimalpa, Departamento de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma Metropolitana, Ciudad de México, Mexico. CP. 05348, nancy.lozano.g@cua.uam.mx

Palabras clave: BSA, nanopartículas de oro, dicroísmo circular

Resumen.

La albúmina de suero bovino (BSA) es una proteína modelo ampliamente utilizada en estudios de interacción proteína–nanopartícula debido a su alta estabilidad, disponibilidad y similitud funcional con proteínas séricas humanas. Comprender cómo las nanopartículas de oro (NPAu) modifican su entorno proteico es esencial para el diseño racional de nanomateriales funcionalizados (1). En este trabajo, se sintetizaron NPAu esféricas mediante un método asistido por microondas (2), lo que permitió obtener partículas monodispersas (~40 nm) con alta estabilidad coloidal por más de 10 días, como se confirmó mediante Dispersión de Luz Dinámica (DLS).

Con el objetivo de estudiar la interacción entre NPAu y BSA, se realizaron titulaciones de BSA con concentraciones crecientes de NPAu y se evaluó la respuesta espectral por Dicroísmo Circular (CD) en el intervalo de 180 a 260 nm. La BSA nativa mostró los máximos y mínimos característicos de una estructura helicoidal (máximo en 192 nm, mínimos en 208 y 222 nm). Al incrementar la concentración de NPAu, se observó una disminución progresiva de la elipticidad sin pérdida de los picos característicos, lo que sugiere modificaciones en el entorno local de la proteína sin evidencia clara de desnaturalización.

Para interpretar este comportamiento, se propuso un modelo de solvatación modulada que asume que las NPAu desplazan moléculas de agua estructurada alrededor de la BSA, afectando de forma localizada su respuesta espectral (3). Este modelo se formalizó como una atenuación espectral modulada por funciones gaussianas centradas en 195, 210 y 225 nm, y se ajustó por mínimos cuadrados a los espectros experimentales de CD. Se obtuvo un ajuste satisfactorio a bajas concentraciones de NPAu; sin embargo, a concentraciones más altas el modelo perdió capacidad predictiva, lo que sugiere la participación de mecanismos adicionales, como apantallamiento óptico o reorganización estructural a mayor escala.

Estos resultados indican que la señal de CD de BSA en presencia de NPAu no puede atribuirse a un único mecanismo. Se plantea un enfoque integrador que considere múltiples contribuciones espectrales, lo cual resulta fundamental para entender la naturaleza de la interacción y sus posibles implicaciones biomédicas. Este trabajo sienta las bases para una caracterización espectroscópica más profunda que, en etapas posteriores, permita cuantificar afinidades, estequiometría y posibles efectos cooperativos en sistemas nanopartícula–proteína.

Agradecimiento. Beca SECIHTI con número CVU 2071544 y a la Universidad Autónoma Metropolitana por el financiamiento 47310760.

Bibliografía.

1. Kaumbekova S, Sakaguchi N, Shah D, Umezawa M. (2024) *ACS Omega*. 9(50):49283–92
2. JyothiKumar A, Kailasnath M, Simon J, Mathew S. (2019) *Mater Today Proc*. 9:111-5
3. Brewer SH, Glomm WR, Johnson MC, Knag MK, Franzen S. (2005) *Langmuir*. 21(20):9303–7.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas 13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

EVALUACIÓN DE LA BACTERIOCINA THURINCINA H RECOMBINANTE COMO AGENTE ANTIBACTERIANO DEL PATÓGENO ACUÍCOLA *Streptococcus iniae*

María Zulema Juárez-Cortés¹, Luz Edith Casados Vázquez², César Salvador Cardona Félix^{1,3,*}

1 Instituto Politécnico Nacional-CICIMAR, Av. Instituto Politécnico Nacional S/N, Col. Playa Palo de Santa Rita. La Paz, B.C.S., CP. 23096, México

2 Universidad de Guanajuato. División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato Campus Irapuato-Salamanca. Irapuato, Guanajuato, 36500, México

3 Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, Instituto Politécnico Nacional 195, La Paz, Baja California Sur, México.

* Autor para correspondencia: ccardona@cibnor.mx

Palabras clave: Bacteriocina, acuicultura, *Streptococcus iniae*

Resumen.

En acuicultura, una de las problemáticas es el control de bacterias patógenas emergentes, por lo que la búsqueda de nuevos compuestos antimicrobianos es una prioridad. En este contexto, evaluamos la actividad antibacteriana *in vitro* e *in vivo* de la bacteriocina Thurincina H (ThurH), producida de forma recombinante en *Bacillus thuringiensis* genotipo Cry-B-pThur y purificada por tamizaje de peso molecular. Para ello, se seleccionó como blanco a la bacteria patógena *Streptococcus iniae*. Se evaluó la estabilidad de ThurH en agua de mar. La susceptibilidad *in vitro* de la cepa blanco tratada con ThurH, se determinó a través del efecto en su cinética de crecimiento, tratada con distintas concentraciones de ThurH purificada para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC). La actividad bactericida se evaluó a 16 MIC de concentración y con 2×10^5 UFC iniciales. Se realizaron pruebas de toxicidad *in vivo* en *Artemia franciscana*, exponiéndola a diferentes concentraciones de ThurH y se determinó el porcentaje de supervivencia a 24 h. Se evaluó el efecto de la aplicación de la ThurH durante una prueba reto, en un modelo estandarizado de infección de *Artemia franciscana* con *S. iniae*, determinando la supervivencia a 48 h y finalmente se realizó un análisis histológico para corroborar el efecto de la ThurH. Los resultados muestran que ThurH es activa en agua de mar y que, inhibe el crecimiento de *S. iniae* al 100% a una concentración de 70 µg/mL, mientras que la MIC se determinó a 35 µg/mL. La actividad bactericida se observó en los primeros 10 min y la reducción de células viables fue del 100%. ThurH no es tóxica a 1000 µg/mL. Las pruebas reto y el análisis histológico, demostraron que ThurH sí puede ser estudiada en ensayos *in vivo* y que su efecto mejora cuando se aplica el doble de la dosis mínima inhibitoria (MIC) calculada en condiciones *in vitro*. Estos resultados sugieren que, ThurH posee el potencial de ser una alternativa antimicrobiana para especies en cultivo marino.

Agradecimiento. Se agradece por el apoyo recibido a través del proyecto de Ciencia de Frontera CF-2019-549477 "Enzimas líticas derivadas de fagos: Desarrollo de antimicrobianos emergentes y su aplicación en acuicultura"

Bibliografía.

1. Pereira, W. A., Mendonça, C. M. N., Urquiza, A. V., Marteinsson, V. Þ., LeBlanc, J. G., Cotter, P. D., ... & Oliveira, R. P. (2022). Use of probiotic bacteria and bacteriocins as an alternative to antibiotics in aquaculture. *Microorganisms*, 10(9), 1705.
2. Cardona-Félix, C. S., Ortiz Rodríguez, T., Martínez Díaz, S., Juárez Cortés, M., Casados Vázquez, L., Rivera Camacho, A., & Arellano-Martínez, M. Characterization and Potential Application of Thurincin H as an Alternative to Antibiotics in the Control Of *Streptococcus iniae*. Available at SSRN 5202590.
3. Ortiz-Rodríguez, T., Mendoza-Acosta, F., Martínez-Zavala, S. A., Salcedo-Hernández, R., Casados-Vázquez, L. E., Bideshi, D. K., & Barboza-Corona, J. E. (2023). Thurincin H is a nonhemolytic bacteriocin of *Bacillus thuringiensis* with potential for applied use. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 15(4), 955-966.
4. Salazar-Marroquín, E. L., Galán-Wong, L. J., Moreno-Medina, V. R., Reyes-López, M. Á., & Pereyra-Alfárez, B. (2016). Bacteriocins synthesized by *Bacillus thuringiensis*: generalities and potential applications. *Reviews and Research in Medical Microbiology*, 27(3), 95-101.
5. Wright, E. E., Nguyen, H. U., & Owens, L. (2017). Preliminary characterization of a Nisin Z bacteriocin with activity against the fish pathogen *Streptococcus iniae*. *Oceanography & Fisheries*, 3, 1-13.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

Biosensores de glicina y glifosato basados en la glicina oxidasa monomérica de *Azotobacter vinelandii*

Andrés Zárate Romero, Aarón Mena Rodríguez, José Luis Villaseñor Montoya, Raúl García Morales, Abraham Vidal Limón.

Centro de Nanociencias y Nanotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ensenada, B.C. CP 22800, azarate@ens.cnyn.unam.mx
Glicina oxidasa, biosensor, glifosato

Resumen.

La glicina es el aminoácido más simple, es un constituyente principal de todos los tipos de colágeno y elastina, jugando un papel importante en nutrición y metabolismo. Tiene funciones inhibitorias y excitatorias en el cerebro, por lo que está involucrada en la fisiopatología de la esquizofrenia y otras enfermedades neurológicas. El monitoreo de los niveles de glicina en los pacientes es necesario para establecer un pronóstico en estos padecimientos en y enfermedades hereditarias como la hiperglicinemia no cetónica [1]. Por otra parte, el glifosato es un herbicida con múltiples aplicaciones, lo que ha tenido como consecuencia la contaminación ambiental por su acumulación residual tanto en ambientes acuáticos como terrestres. La Organización Mundial de la Salud ha establecido límites máximos permitidos de glifosato como contaminante en el agua y el suelo de 0.7 µg/mL y 2 mg/kg respectivamente [2]. Dada la importancia del glifosato como contaminante ambiental, es relevante contar con estrategias para su cuantificación y para su degradación.

Las glicina oxidasas (GO) son enzimas generalmente tetraméricas que contienen FAD como grupo prostético y catalizan la oxidación de glicina produciendo glioxilato, NH₃ y H₂O₂. Adicionalmente, diversos artículos reportan la obtención de GO capaces de llevar a cabo la oxidación de glifosato. Recientemente se caracterizó una glicina oxidasa monomérica de *Pseudomonas putida* KT2440 con parámetros cinéticos similares a los observados para las enzimas tetraméricas [3].

Los biosensores enzimáticos electroquímicos son dispositivos analíticos autónomos que se basan en la detección de corrientes eléctricas generadas por reacciones enzimáticas, utilizan enzimas que generan o consumen especies electrónicamente activas. Se han reportado algunos biosensores para glicina basados en glicina oxidasas tetraméricas, además a partir de algunas mutantes específicas se han obtenido biosensores para glifosato [4]. Sin embargo, el uso de enzimas monoméricas en lugar de las tetraméricas, puede ofrecer ventajas principalmente en la inmovilización orientada, lo que llevaría al desarrollo de biosensores de tercera generación.

En este trabajo se caracterizó la glicina oxidasa monomérica de *Azotobacter vinelandii* (AviGO) y se utilizó para obtener biosensores electroquímicos de segunda generación. Los biosensores obtenidos presentaron intervalos de detección lineal de 0.1 a 5 mM para glicina, sensibilidad de 16.2 nA/mM y una LOD de 426 µM. Posteriormente se obtuvieron mutantes de AviGO con afinidad aumentada por glifosato y se obtuvieron biosensores de segunda generación para evaluar su desempeño en la detección de glifosato.

Agradecimiento. Los autores agradecen a SECIHTI por el financiamiento a través del proyecto CF-2023-I-1313 Diseño de biosensores de glicina y glifosato basados en una glicina oxidasa monomérica.

Bibliografía.

1. Shelkowitz, E., Saneto, R. P., Al-Hertani, W., Lubout, C. M. A., Stence, N. V., Brown, M. S., Long, P., Walleigh, D., Nelson, J. A., Perez, F. E., Shaw, D. W. W., Michl, E. J., & Van Hove, J. L. K. (2022). *Orph Journal of Rare Diseases*
2. Butmee, P., Tumcharern, G., Songsirittigul, C., Durand, M. J., Thouand, G., Kerr, M., Kalcher, K., & Samphao, A. (2021). *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 413 (27), 5859–5869.
3. Equar, M. Y., Tani, Y., & Mihara, H. (2015). *J. of Nut. Science and Vit*, 61(6), 506–510.
4. Johnson, Z. T., Jared, N., Peterson, J. K., Li, J., Smith, E. A., Walper, S. A., Hooe, S. L., Breger, J. C., Medintz, I. L., Gomes, C., & Claussen, J. C. (2022). *Global Challenges*, 6(9), 2200057.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

INGENIERÍA DE ENZIMAS PARA LA DEGRADACIÓN DE MICROPLÁSTICOS

Danna Marely Cruz Rico¹, Jorge Marcos Viquez², and Silvia Armenta Jaime¹¹Instituto de Ciencias Agropecuarias, Tulancingo de Bravo, Hidalgo. C.P. 43600. ²Open Lab, Ciudad de México. C.P. 04360. silvia_armenta@uaeh.edu.mx*Palabras clave: PETasa, Termoestabilidad, PET***Resumen.**

Los residuos plásticos pueden existir de manera prolongada en el medio ambiente degradándose de forma descontrolada, lo que genera microplásticos (MPs) y nanoplásticos (NPs) debido a factores como la luz ultravioleta (UV), radiación, abrasión física y oxidación química (1). Los microplásticos (partículas entre 1-5 μm) y nanoplásticos (<0.1 μm) pueden presentar morfologías muy diversas como nanofibras, escamas, formas de bolas y otras formas irregulares, siendo muy diferentes a las micropláticas que se pueden obtener en el laboratorio a partir de polímeros de plásticos (2), lo que demanda sistemas de biodegradación más específicos y eficientes dado el enorme problema en el que se han convertido los MPs y NPs a la salud y el ambiente. Actualmente, se conocen enzimas que degradan PET (polietileno tereftalato), el cual es un plástico ampliamente utilizado y no biodegradable, sin embargo, los MPs y NPs provienen de diferentes tipos de polímeros como el PS (poliestireno), PP (polipropileno), etc. Por lo que entre las soluciones más prometedoras se encuentra el diseño y búsqueda de enzimas eficientes, como la PETasa, una enzima producida por *Ideonella sakaiensis* capaz de degradar PET, así como otras enzimas con potencial para degradar poliestireno, entre otros. Por lo tanto, en este trabajo se propone el estudio de la PETasa de *I. sakaiensis* para el diseño racional de una variante putativamente termoestable, así como la caracterización de una enzima de *Aurantimicrobium* sp., con potencial actividad en la degradación de poliestireno, con el objetivo de evaluar su capacidad para degradar MPs y NPs. Metodología. Para el diseño *in silico* de la enzima se realizaron análisis de dinámica molecular, conservación y estadísticos para la selección de residuos con impacto en la termoestabilidad de la enzima. Las enzimas fueron clonadas en el vector pET28b(+), agregando un tallo de histidinas 6X en el extremo amino terminal. Las proteínas se expresaron en la cepa de *E. coli* BL21 y se purificaron por cromatografía de afinidad. Resultados. Como resultado del análisis *in silico*, se generó una variante con cuatro mutaciones que podrían aumentar su termoestabilidad, en comparación con el tipo silvestre, dado que los puentes salinos mejoran la estabilidad de las enzimas al fortalecer su estructura y reducir su flexibilidad. Conclusiones. El diseño racional de mutantes termoestables basado en PETasa representa una estrategia prometedora para mejorar la degradación de PET. La selección de mutaciones clave, podrían favorecer la estabilidad de la enzima mediante la formación de puentes salinos, sin embargo, aún es importante conocer el impacto sobre su actividad, especialmente sobre MPs y NPs. Los avances en estas enzimas establecen una base para futuras aplicaciones biotecnológicas enfocadas en mitigar el impacto ambiental del los MPs y NPs.

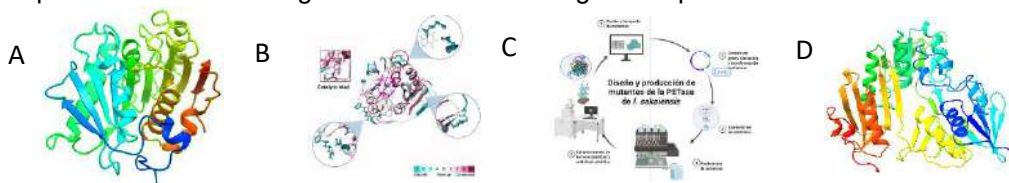


Fig. 1. A y D) Modelos estructurales de una variante de la PETasa de *I. sakaiensis* y una enzima poliesterasa de *Aurantimicrobium* sp. B) Diseño racional de mutantes. C) Estrategia para su producción y evaluación de actividad.

Agradecimiento. A CITNOVA, Hidalgo por el financiamiento a través del Fondo Hidalgo: Ciencia y Tecnología, Impulso al Desarrollo Científico, Humanidades e Innovación Social con Base Tecnológica, 2025.

Bibliografía.

1. Ailani (2024). *Polymer degradation and stability*.
2. Moon (2024). *Science Advances*.
3. Burgin, T., Pollard, B. C., Knott, B. C., Mayes, H. B., Crowley, M. F., McGeehan, J. E., Beckham, G. T., & Woodcock, H. L. (2024). *Communications Chemistry*, 7(1).



Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas 13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

Caracterización estructural y funcional de nanopartículas proteína-polisacárido formadas por ajuste de pH para la encapsulación de C-ficocianina

Ing. en Bio. Alma Aurora Enríquez Rodríguez¹, Dr. Edgar Vázquez Contrera¹, Dr. Ernesto Rivera Becerril¹, Dra. Izlia Jazheel Arroyo Maya², Dra. Andrea Guadarrama Lezama³, Dr. Moisés Job Galindo Pérez⁴.

1. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Cuajimalpa, Departamento de Ciencias Naturales, Ciudad de México, México.
2. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Cuajimalpa, Departamento de Procesos y Tecnología, Ciudad de México, México.
3. Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Química, Toluca, Estado de México, México.
4. Universidad Nacional Autónoma Mexicana, Facultad de Estudios Superiores "Zaragoza", Ciudad de México, México.

Resumen

En este trabajo se evaluó la formación y caracterización de nanopartículas obtenidas a partir de aislado de proteína de suero de leche (WPI) y pectina mediante el método de ajuste por pH. Las nanopartículas se analizaron en términos de tamaño hidrodinámico, índice de polidispersidad y potencial zeta. Los cambios conformacionales de las proteínas durante el ensamblaje se estudiaron mediante fluorescencia intrínseca, mientras que el peso molecular aparente se determinó por electroforesis. La funcionalidad de las nanopartículas se evaluó a través de su actividad antioxidante, empleando los métodos DPPH y ABTS, tanto en el sistema vacío como con C-ficocianina encapsulada. Asimismo, se determinó la eficiencia de encapsulación de C-ficocianina y la eficiencia global del ensamblaje proteico en nanopartículas. Los resultados permiten establecer relaciones entre la estructura, estabilidad coloidal y propiedades biofuncionales del sistema, evidenciando su potencial en aplicaciones alimentarias y nutraceuticas.

Keywords:

Nanopartículas de proteína, Ajuste por pH, Aislado de proteína de suero (WPI), C- ficocianina, Fluorescencia intrínseca, Encapsulación.

Keywords en contexto:

Protein-polysaccharide nanoparticles prepared by pH-shifting method using whey protein isolate and pectin, characterized by intrinsic fluorescence, colloidal stability, antioxidant activity (DPPH, ABTS), and bioactive compound (C-phycocyanin) encapsulation efficiency.

Agradecimiento:

La autora Alma Aurora Enríquez Rodríguez agradece a la SECIHTI por la beca de Maestría otorgada.

Referencias:

1. Dagnino-Leone, J., Figueroa, C. P., Castañeda, M. L., Youlton, A. D., Vallejos- Almirall, A., Agurto-Muñoz, A., Pérez, J. P., & Agurto-Muñoz, C. (2022). Phycobiliproteins: Structural aspects, functional characteristics, and biotechnological perspectives. Computational And Structural Biotechnology Journal, 20, 1506-1527. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.02.016>
2. Han, M., Liu, K., Liu, X., Rashid, M. T., Zhang, H., & Wang, M. (2023). Research Progress of Protein-Based Bioactive Substance Nanoparticles. Foods, 12(16), 2999. <https://doi.org/10.3390/foods12162999>
3. Minj, S., & Anand, S. (2020). Whey Proteins and Its Derivatives: Bioactivity, Functionality, and Current Applications. Dairy, 1(3), 233-258. <https://doi.org/10.3390/dairy1030016>



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

ESTRATEGIA COMPUTACIONAL INTEGRADA PARA EL ESTUDIO CONFORMACIONAL DE LA PROTEÍNA SPIKE DE SARS-COV-2 JN.1: DEL MODELADO POR HOMOLOGÍA AL ACOPLAMIENTO MOLECULAR

Castro-Jiménez Susana R¹, Millán-Pacheco César², León-Gutiérrez Gabriela¹, Martínez-Gómez Mario H¹ Mejía-Álvarez Armando¹

Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa¹,
Facultad de Farmacia, Universidad Autónoma del Estado de Morelos².

Av. San Rafael Atlixco, Guadalupe del Moral, Iztapalapa, 09310 Ciudad de México, CDMX

srcj@xanum.uam.mx.

Palabras clave: Flavonoides, Modelado, Dinámica Molecular

Resumen.

La rápida evolución de SARS-CoV-2 y el surgimiento de subvariantes como JN.1 plantean desafíos para el desarrollo de estrategias antivirales efectivas¹. En este estudio, se evaluó el potencial de interacción de dos flavonoides (H7R y F7G) como posibles inhibidores de la proteína Spike de la subvariante JN.1. Se implementó una aproximación computacional integral basada en tres pilares: modelado por homología, simulaciones de dinámica molecular y acoplamiento molecular, para caracterizar funcionalmente las conformaciones activas (cerrada y abierta) de la proteína Spike JN.1².

El modelo tridimensional fue generado mediante SWISS-MODEL, alcanzando valores de confiabilidad estructural altos (GMQE >0.67, QSQE >0.94), lo que permitió obtener representaciones precisas de los estados conformacionales de Spike. Las estructuras se refinaron mediante simulaciones de dinámica molecular de 100 ns con GROMACS. Las simulaciones revelaron diferencias clave en estabilidad y flexibilidad entre ambas conformaciones, la selección de estructuras representativas se realizó por análisis de agrupamiento conformacional.

Posteriormente, se evaluó la interacción sobre las estructuras representativas de la proteína Spike con los flavonoides H7R y F7G mediante acoplamiento molecular ciego, con AutoDock Vina en 100 repeticiones independientes y se observó una preferencia conformacional diferencial: F7G mostró mayor afinidad y frecuencia de unión en la conformación cerrada, mientras que H7R se acomodó con mayor eficacia en la conformación abierta.

El flavonoide F7G mostró alta adaptabilidad conformacional y afinidad constante de -10.73 kcal/mol, con un 72% de preferencia por el sitio de interacción, mientras que H7R presentó preferencia por estructuras abiertas, con su mejor acoplamiento en la conformación abierta relajada de JN1 con una energía de afinidad de -10.2 kcal/mol y una preferencia de 88% en el acoplamiento.

Esta estrategia integrativa permite una caracterización más realista de los mecanismos de unión ligando-proteína, resaltando el valor de los enfoques multiescala para el diseño racional de antivirales frente a variantes emergentes de virus SARS-COV-2³.

Agradecimiento. Super computadora Yoltla de la Universidad Autónoma Metropolitana
Bibliografía.

1. W. T. Harvey et al., «SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape», Nat Rev Microbiol, vol. 19, n.o 7, pp. 409-424, jul. 2021, doi: 10.1038/s41579-021-00573-0.
2. J. Benton et al. «Receptor binding and priming of the spike protein of SARS-CoV-2 for membrane fusion, Naturfusion, 588, n.o 7837, pp. 327-330, dic. 2020, doi: 10.1038/s41586-020-2772
3. G. León-Gutiérrez et al., «A potent virucidal activity of functionalized TiO2 nanoparticles adsorbed with flavonoids against SARS-CoV-2», Appl Microbiol Biotechnol, vol. 106, n.o 18, pp. 5987-6002, sep. 2022, doi: 10.1007/s00253-022-12112-9.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

EXPLORACIÓN DEL ENLACE P-X EN LA AMIFOSTINA MEDIANTE MODELOS DE MOLECULAS PEQUEÑAS

Manuel Mauricio Jasso Ortiz¹, Mayra Avelar Frausto¹, Scott G. Harroun²¹ Universidad Autónoma de Zacatecas "Francisco García Salinas" Unidad Académica de Ciencias Químicas, Zacatecas, CP 98160.² University of Windsor, Department of Chemistry and Biochemistry Windsor, ON N9B 3P4. maujasso.ibq@gmail.com, scott.harroun@uwindsor.ca

Palabras clave: Fosfatasa Alcalina, DFT, amifostina

Resumen.

La amifostina (Ethyol), un derivado de tiofosfatos, es empleado como citoprotector en tratamientos con cisplatino en diversos tipos de cáncer; debido a su capacidad para captar radicales libres. Para ello, la amifostina, primero debe ser hidrolizada, pasando a su forma activa (WR-1065). Este proceso es realizado por la fosfatasa alcalina (FA), concretamente la isoforma intestinal. El sitio activo de la enzima cuenta con un grupo de tres de iones que permiten que la reacción ocurra, estos son dos iones Zn^{+2} y un ion Mg^{+2} , además de una serina desprotonada (figura 1). Debido a la promiscuidad enzimática de la FA, ésta ha sido empleada por autores como Harroun y cols. (2022) contra múltiples sustratos, observando que el número de recambio (k_{cat}) fluctúa en función al sustrato empleado, teniendo la amifostina el valor más bajo. El efecto del enlace P-S en la amifostina en lugar de P-O en el grupo fosfato en la reacción no fue claro. Borosky y cols. (2017) describió el mecanismo de reacción de la FA mediante el uso de técnicas QM/MM empleando múltiples sustratos, determinó que las energías libres de Gibbs para cada sustrato eran menores cuando el fosfato se encontraba unido a un grupo R con átomos electronegativos; por otro lado, Um y cols. (2017) discutió el efecto de la presencia de un grupo tiol en el fosfato al momento de la hidrólisis. Con el objetivo de estudiar el efecto de los sustituyentes en el grupo fosfato, en el presente trabajo se construyeron modelos pequeños con diferentes grupos químicos (figuras 2 y 3) y se analizaron mediante Teoría de Funcionales de la Densidad (DFT) empleando Gaussian, utilizando el funcional wB97XD y 6-311G como conjunto base. Posteriormente se realizaron cálculos de acoplamiento molecular entre la FA y múltiples sustratos con las especies químicas presentes en los modelos pequeños empleando MOE. Se encontró que el azufre posee una longitud de enlace mayor y una carga parcial mayor al del resto de sustituyentes, esto coincide con los datos experimentales, por lo que es posible asociar la electronegatividad del grupo saliente unido al fosfato en el sustrato al número de recambio de la FA. El uso de modelos pequeños permite el estudio del efecto de la electronegatividad de los distintos sustituyentes al ser hidrolizados por la FA.



Figura 1 (izq) Mecanismo de reacción de la fosfatasa alcalina, los iones zinc permiten a la Ser-92 realizar un ataque nucleofílico al fosfato, permitiendo que el grupo R salga. **Figura 2** (centro) Estructura de la amifostina **Figura 3** (der) Modelos pequeños utilizados (Azufre-amarillo, oxígeno-rojo, carbono-negro, y nitrógeno-azul)

Agradecimiento. Los autores agradecen a Mitacs por permitir la colaboración entre ambas universidades; de igual modo se agradecen los recursos computacionales prestados por Compute Canada y el Dr. James W. Gauld.

Bibliografía.

1. Harroun, S. G., Lauzon, D., Ebert, M. C. C. J. C., Desrosiers, A., Wang, X., & Vallée-Bélisle, A. (2022). *Nature Methods*, 19(1), 71-80. <https://doi.org/10.1038/s41592-021-01355-5>
2. Borosky, G. L. (2017)., *Journal of Chemical Information and Modeling*, 57(3), 540-549. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.6b00755>
3. Um, I.-H., Han, J.-Y., Shin, Y.-H., & Dust, J. M. (2017). *Journal of Physical Organic Chemistry*, 30(7), e3657. <https://doi.org/10.1002/poc.3657>
4. Gaussian 16, Revision C.01, M. J. Frisch et al. Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2016.
5. Molecular Operating Environment (MOE), 2024.0601 Chemical Computing Group ULC, Montreal, QC, 2025



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

Las interacciones de las proteínas son mediadas por regiones densamente empacadas

Gabriel Del Río*, Juan Martín Hernández Castillo, Erik Hazel Vilchis Macias Instituto de Fisiología Celular, UNAM *autor de correspondencia: gdelrio@ifc.unam.mx

Resumen.

Las proteínas interactúan con moléculas pequeñas (menos de 15 átomos), medianas (e.g., péptidos) y grandes (e.g., proteínas) y esas interacciones definen la función de las proteínas. Es pues relevante entender si estas interacciones presentan algún patrón que facilite su clasificación y entendimiento de las fuerzas que gobiernan las interacciones de las proteínas. En ese sentido, identificar moléculas pequeñas que inhiban la interacción entre dos proteínas (IPP) se mantiene como una limitación para los enfoques computacionales, promoviendo la idea de que los sitios de unión de las proteínas con moléculas pequeñas, medianas y grandes son gobernados por patrones diferentes. Nuestro grupo previamente ha reportado que las regiones más densas de las proteínas representadas en un vector (colección de clases de grupos de residuos o cRCC por sus siglas en inglés) pueden clasificar y predecir de forma efectiva tanto la clase estructural de las proteínas como las IPP. En este trabajo mostramos que el uso de cRCC permite clasificar de forma efectiva las interacciones péptido-proteína (IPeP); los mejores algoritmos alcanzan cerca de 100% de eficiencia en esta tarea, aunque con un poco de sobreajuste. Para evaluar si este sobreajuste afecta la generalización de estos algoritmos, los mejores algoritmos para identificar IPeP fueron evaluados en la tarea de identificar las interfaces entre IPP e interacciones proteína-molécula pequeña, alcanzando una confianza promedio del 95%, validando la generalización de estos algoritmos. Estos resultados indican que los cRCC son propiedades intensivas de las interacciones de las proteínas, dando lugar a una herramienta novedosa para identificar IPP que sean susceptibles de ser inhibidas por moléculas pequeñas, así como para el diseño de interfaces para promover interacciones de proteínas.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

ON THE MOSAIC EVOLUTION OF MITOCHONDRIAL REPLISOMES

Luis G. Briebe, Mayra A. Dagio-Hernandez, Noe Baruch-Torres, Diego Pantoja, Alejandra Arenas-Lopez, Antolín Peralta-Castro, Corina Díaz-Quezada, Unidad de Genómica Avanzada (UGA)-Centro de Investigación y Estudios Avanzados (Cinvestav), Irapuato, Gto. CP. 36821.
luis.briebe@cinvestav.mx

Palabras clave: protein evolution, Replication, assemblie

Resumen.

Reconstructing the mitochondrial replisome of the Last Eukaryotic Common Ancestor (LECA) remains a major challenge. Current models agree that LECA likely encoded a T-odd bacteriophage-derived primase-helicase and a prophage-derived RNA polymerase, the evolutionary trajectory of its DNA polymerases (DNAPs) is far more complex. In most Opisthokonta, the mitochondrial DNAP is a T7 phage-derived enzyme (DNA polymerase γ in animals, Mip1 in yeast), although this enzyme has been lost in some fungi and apusomonads. By contrast, Plant Organellar and Protist DNA Polymerases (POPs) are broadly distributed across eukaryotic lineages—including Excavata, Amoebozoa, Archaeplastida, and Apusomonadidae. In most eukaryotes, DNA primase and helicase activities are performed by a T7-like primase-helicase. Exceptions include metazoans, where the homologous Twinkle protein, localized to the mitochondrial nucleoid, retains helicase but not primase activity, and yeasts, which have lost the gene entirely. In these groups, RNA primers are instead synthesized by a T7-derived RNA polymerase. Functionally, metazoan DNAPs require Twinkle helicase for strand unwinding, whereas the yeast polymerase Mip1 possesses intrinsic helicase activity. A further exception occurs in trypanosomatids, where primer synthesis and DNA unwinding are performed by an archaeal-derived PRIMPOL enzyme and a PIF1-related helicase, respectively. Our structural phylogenetic analyses, presented herein, suggest that a fully phage-derived replisome is restricted to Opisthokonta. In other eukaryotes, replication systems are mosaics, typically combining POPs with a phage-derived primase-helicase, with notable exceptions in apicomplexans and kinetoplastids, which have evolved distinct solutions.

Agradecimiento. To Cinvestav-UGA for extramural funding

Bibliografía

1. Falkenberg M, Larsson NG, Gustafsson CM (2024) Replication and Transcription of Human Mitochondrial DNA. *Annu Rev Biochem* 93(1): 47-77
2. Fuller CW, Richardson CC (1985) Initiation of DNA replication at the primary origin of bacteriophage T7 by purified proteins. Site and direction of initial DNA synthesis. *J Biol Chem* 260(5): 3185-3196
3. Harada R, Inagaki Y (2021) Phage Origin of Mitochondrion-Localized Family A DNA Polymerases in Kinetoplastids and Diplonemids. *Genome Biol Evol* 13(2)
4. Hedtke B, Borner T, Weihe A (1997) Mitochondrial and chloroplast phage-type RNA polymerases in Arabidopsis. *Science* 277(5327): 809-811
5. Holt IJ, Reyes A (2012) Human mitochondrial DNA replication. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 4(12)
6. Kayal E, Lavrov DV (2025) One Ring does not rule them all: Linear mtDNA in Metazoa. *Gene* 933: 148999
7. Krupovic M, Dolja VV, Koonin EV (2023) The virome of the last eukaryotic common ancestor and eukaryogenesis. *Nat Microbiol* 8(6): 1008-1017
8. Lang BF, Burger G, O'Kelly CJ, Cedergren R, Golding GB, Lemieux C, Sankoff D, Turmel M, Gray MW (1997) An ancestral mitochondrial DNA resembling a eubacterial genome in miniature. *Nature* 387(6632): 493-497
9. Lee J, Chastain PD, 2nd, Kusakabe T, Griffith JD, Richardson CC (1998) Coordinated leading and lagging strand DNA synthesis on a minicircular template. *Mol Cell* 1(7): 1001-1010
10. Miller JC, Delzell SB, Concepcion-Acevedo J, Boucher MJ, Klingbeil MM (2020) A DNA polymerization-independent role for mitochondrial DNA polymerase I-like protein C in African trypanosomes. *J Cell Sci* 133(9)



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

Characterization of AtMUTY DNA Glycosylase and Insights into the Base Excision Repair Pathway in *Arabidopsis thaliana*

Antolín Peralta-Castro*, Corina Díaz-Quezada°, Luis G. Briebe°, Carlos H. Trasviña Arenas*

°Unidad de Genómica Avanzada. CINVESTAV

*Centro de Investigación sobre el Envejecimiento. CINVESTAV. antolin.peralta@cinvestav.mx

Palabras clave: MutY, DNA-repair, Base excision repair, Organelle genome

Resumen.

Plant organelle genomes, including those of mitochondria and chloroplasts, exhibit remarkably low mutation rates in comparison to their counterparts in animals and fungi [1][2]. This genetic stability is thought to be conferred by highly efficient DNA repair mechanisms that counteract various forms of DNA damage. Among the DNA lesions, oxidative damage, an unavoidable byproduct of cell metabolism, is particularly deleterious and must be swiftly repaired to prevent mutagenesis and genomic instability [4]. The base excision repair (BER) pathway is a primary mechanism that mitigates such damage [3]. Although BER has been extensively characterized in bacteria, yeast, and mammals [4][5][6], its existence and operation in plants, particularly in *Arabidopsis thaliana*, remains largely unexplored. This study focuses on AtMUTY, an *A. thaliana* homolog of the bacterial MutY DNA glycosylase, which plays a crucial role in repairing oxidative DNA damage, particularly the mutagenic 8-oxoguanine:adenine (8-oxoG:A) mismatches. Here, we describe the cloning, purification, and biochemical characterization of AtMUTY. Our results provide compelling evidence that AtMUTY functions as an adenine DNA glycosylase, efficiently recognizing and excising adenines mispaired with 8-oxoG. Furthermore, phylogenetic analysis confirms the conservation of MUTY-like enzymes across the plant kingdom. The data suggests functional redundancy and specialization among plant glycosylases, potentially forming a complex and flexible BER network in plant organelles.

Agradecimiento. Agradecimiento al SECIHTI por el apoyo otorgado a través de la beca.

Bibliografía

1. Smith, D.R. (2016), The mutational hazard hypothesis of organelle genome evolution: 10 years on. *Mol Ecol*, 25: 3769-3775. <https://doi.org/10.1111/mec.13742>
2. Wu, Z.; Waneka, G.; Broz, A.K.; King, C.R.; Sloan, D.B. *MSH1* is required for maintenance of the low mutation rates in plant mitochondrial and plastid genomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2020**, 117, 16448–16455.
3. Wynn, E.; Purfeerst, E.; Christensen, A. Mitochondrial DNA repair in an *Arabidopsis thaliana* uracil N-glycosylase mutant. *Plants* **2020**, 9, 261
4. Yudkina, A.V.; Shilkin, E.S.; Endutkin, A.V.; Makarova, A.V.; Zharkov, D.O. Reading and misreading 8-oxoguanine, a paradigmatic ambiguous nucleobase. *Crystals* **2019**, 9, 269.
5. Michaels, M. L., Cruz, C., Grollman, A. P., Miller, J. H. (1992). Evidence that MutY and MutM combine to prevent mutations by an oxidatively damaged form of guanine in DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 89 (15), 7022–7025. doi: 10.1073/pnas.89.15.7022
6. Eisen, J. A., Hanawalt, P. C. (1999). A phylogenomic study of DNA repair genes, proteins, and processes. *Mutat. Res.* 435 (3), 171–213. doi: 10.1016/S0921-8777(99)00050-6
7. Auffret van der Kemp, P.; Thomas, D.; Barbey, R.; de Oliveira, R.; Boiteux, S. Cloning and expression in *Escherichia coli* of the *OGG1* gene of *Saccharomyces cerevisiae*, which codes for a DNA glycosylase that excises 7,8-dihydro-8-oxoguanine and 2,6-diamino-4-hydroxy-5-*N*-methylformamidopyrimidine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, 93, 5197–5202



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

UNCOVERING HIDDEN EFFECTORS OF PLASTID SIGNALING: STRUCTURAL AND FUNCTIONAL INSIGHTS INTO APOCAROTENOID RECOGNITION IN PLANTS

Alejandra Arenas-López¹, Antolín Peralta-Castro¹, Corina Díaz-Quezada¹, Patricia León¹, Luis G. Briebe¹. ¹Unidad de Genómica Avanzada (UGA) DEL Centro de Investigación y Estudios Avanzados (Cinvestav), Irapuato, Gto. Cp. 36821 e ²Instituto de Biotecnología, UNAM, Cuernavaca Morelos alejandra.arenas@cinvestav.mx

Palabras clave: Retrograde signaling, Carotenoid-derived molecules, Plastid-to-nucleus communication

Resumen.

Plastids are essential organelles in plants, not only for photosynthesis but also as environmental sensors that communicate with the nucleus through retrograde signaling (Woodson & Chory, 2008; Pfannschmidt et al., 2020). While carotenoid-derived molecules are well-known signaling agents in animals, their roles in plant signaling remain poorly understood, despite plants producing many such compounds (Sierra et al., 2022). This project aims to elucidate the mechanisms by which carotenoid-derived molecules mediate plastid-to-nucleus communication in *Marchantia polymorpha*, a model liverwort representing early-diverging land plants. We hypothesize that *Marchantia* possesses uncharacterized, structurally diverse carotenoid-binding proteins that act as signaling effectors but evade detection due to limited sequence conservation (Dickinson et al., 2021). To identify these candidates, we will combine in silico mining of *Marchantia* proteomes using AlphaFold structural predictions (Jumper et al., 2021; Bayly-Jones & Whisstock, 2022) with affinity-based purification targeting key carotenoid-derived ligands. High-throughput screening will evaluate binding affinities, while functional analyses in *Marchantia* mutants or gene-edited lines will determine their roles in signal transduction (Avendano-Vazquez et al., 2014; Escobar-Tovar et al., 2021). Selected candidates will undergo detailed structural and biochemical characterization to reveal their binding modes and potential DNA interaction sites. This integrative approach, leveraging expertise in plant biology, structural biochemistry, and genomics, seeks to uncover a novel class of retrograde signaling components. Ultimately, the findings will expand our understanding of plastid-nucleus communication in early land plants and offer new evolutionary insights and potential strategies to improve stress resilience in crops.

Agradecimiento. Agradecimiento al SECIHTI por el apoyo otorgado a través de la beca.

Bibliografía

1. Avendano-Vazquez, A. O., Cordoba, E., Llamas, E., San Roman, C., Nisar, N., De la Torre, S., Ramos-Vega, M., Gutierrez-Nava, M. D., Cazzonelli, C. I., Pogson, B. J., & Leon, P. (2014). An uncharacterized apocarotenoid-derived signal generated in zeta-carotene desaturase mutants regulates leaf development and the expression of chloroplast and nuclear genes in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 26, 2524–2537. <https://doi.org/10.1105/tpc.114.126995>
2. Bayly-Jones, C., & Whisstock, J. C. (2022). Mining folded proteomes in the era of accurate structure prediction. *PLoS Computational Biology*, 18(5), e1009930. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1009930>
3. Dickinson, A. J., Zhang, J., Luciano, M., Wachsmann, G., Sandoval, E., Schnermann, M., Dinnen, J. R., & Benfey, P. N. (2021). A plant lipocalin promotes retinal-mediated oscillatory lateral root initiation. *Science*, 373(6562), 1532–1536. <https://doi.org/10.1126/science.abg6115>
4. Escobar-Tovar, L., Sierra, J., Hernandez-Munoz, A., McQuinn, R. P., Mathioni, S., Cordoba, E., Colas des Francs-Small, C., Meyers, B. C., Pogson, B., & Leon, P. (2021). Deconvoluting apocarotenoid-mediated retrograde signaling networks regulating plastid translation and leaf development. *The Plant Journal*, 105, 1582–1599. <https://doi.org/10.1111/tpj.15190>
5. Jumper, J., Evans, R., Pritzel, A., Green, T., Figurnov, M., Ronneberger, O., ... & Hassabis, D. (2021). Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*, 596(7873), 583–589. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>
6. Pfannschmidt, T., Terry, M. J., Van Aken, O., & Quiros, P. M. (2020). Retrograde signals from endosymbiotic organelles: a common control principle in eukaryotic cells. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 375(1798), 20190396. <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0396>
7. Sierra, J., McQuinn, R. P., & Leon, P. (2022). The role of carotenoids as a source of retrograde signals: impact on plant development and stress responses. *Journal of Experimental Botany*, 73(22), 7139–7154. <https://doi.org/10.1093/jxb/erac280>
8. Woodson, J. D., & Chory, J. (2008). Coordination of gene expression between organellar and nuclear genomes. *Nature Reviews Genetics*, 9(5), 383–395. <https://doi.org/10.1038/nrg2348>



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

**THE CHARACTERIZATION OF THE YQGF HOMOLOGUE IN ARABIDOPSIS
THALIANA, A PUTATIVE PLANT MITOCHONDRIAL HOLIDAY JUNCTION
RESOLVASE**

Diego de Jesús Pantoja Gutiérrez, Josué Mora-Garduño, Alejandro Peñafiel-Ayala, Antolín Peralta-Castro, Corina E. Díaz-Quesada, Luis G. Briebe

Unidad de Genómica Avanzada (UGA) del Centro de Investigación y Estudios Avanzados (Cinvestav), Irapuato, Gto. Cp. 36821. diego.pantoja@cinvestav.mx

Palabras clave: mitochondrial genome stability, Holiday junction resolution, enzyme characterization

Resumen.

Plant organellar genomes are unusually plastic and structurally complex, requiring multiple maintenance mechanisms, often homologous to those found in bacteria, to prevent deleterious mutations and suppress genome instability (Chevigny *et al.* 2020). Although the full mechanism of organellar DNA replication remains incompletely understood, homologous recombination (HR) is known to play a central role in the repair of both single and double-strand breaks.

Repair of double-strand breaks through HR involves the formation of four-way DNA structures known as Holliday junctions (HJs). Their resolution is catalyzed by Holliday junction resolvases (HJRs), which are DNA structure-specific endonucleases that cleave HJs to produce either crossover or non-crossover products (Thakur *et al.*, 2021). Seminal studies by the groups of Nishimura, Kobayashi, Lin, and Yin identified Monokaryotic Chloroplast 1 (MOC1) as the canonical chloroplast HJR, conserved from green algae to angiosperms (Nishimura *et al.*, 2017; Kobayashi *et al.*, 2020; Lin *et al.*, 2019; Yin *et al.*, 2020)

Interestingly, in flowering plants such as *Arabidopsis thaliana*, MOC1 is not localized to mitochondria, leaving the identity of the mitochondrial HJR unresolved. José Gualberto's group hypothesized that AT3G52905, a member of the YqgF/RuvX subfamily, fulfills this role (Gualberto *et al.*, 2017). Supporting evidence includes *in silico* targeting predictions indicating exclusive mitochondrial localization, the existence of bacterial orthologs with confirmed HJR activity, and the essentiality of YqgF homologs in *Deinococcus radiodurans* and *Escherichia coli* (Sun *et al.*, 2022). Here, we propose the biochemical characterization of AtYqgFi to determine its potential role as a mitochondrial HJR. We also present a phylogenetic analysis to assess its conservation across diverse lineages of photosynthetic organisms, along with preliminary results of its characterization and *in vitro* activity.

Agradecimiento. Agradecimiento a la SECIHTI por el apoyo otorgado a través de la beca para estudiantes de maestría.

Bibliografía

1. Chevigny, N., Schatz-Daas, D., Lotfi, F., & Gualberto, J. M. (2020). DNA repair and the stability of the plant mitochondrial genome. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 21, Issue 1). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms21010328>
2. Thakur, M., D. Mohan, A. K. Singh, A. Agarwal, B. Gopal and K. Muniyappa (2021). "Novel insights into ATP-Stimulated Cleavage of branched DNA and RNA Substrates through Structure-Guided Studies of the Holliday Junction Resolvase RuvX." *J Mol Biol* 433(13): 167014.
3. Kobayashi, Y., O. Misumi, M. Odahara, K. Ishibashi, M. Hirono, K. Hidaka, M. Endo, H. Sugiyama, H. Iwasaki, T. Kuroiwa, T. Shikanai and Y. Nishimura (2017). "Holliday junction resolvases mediate chloroplast nucleoid segregation." *Science* 356(6338): 631-634.
4. Kobayashi, Y., M. Odahara, Y. Sekine, T. Hamaji, S. Fujiwara, Y. Nishimura and S. Y. Miyagishima (2020). "Holliday Junction Resolvase MOC1 Maintains Plastid and Mitochondrial Genome Integrity in Algae and Bryophytes." *Plant Physiol* 184(4): 1870-1883.
5. Lin, H., D. Zhang, K. Zuo, C. Yuan, J. Li, M. Huang and Z. Lin (2019). "Structural basis of sequence-specific Holliday junction cleavage by MOC1." *Nat Chem Biol* 15(12): 1241-1248.
6. Yan, J., S. Hong, Z. Guan, W. He, D. Zhang and P. Yin (2020). "Structural insights into sequence-dependent Holliday junction resolution by the chloroplast resolvase MOC1." *Nat Commun* 11(1): 1417.
7. Gualberto, J. M. and K. J. Newton (2017). "Plant Mitochondrial Genomes: Dynamics and Mechanisms of Mutation." *Annu Rev Plant Biol* 68: 225-252.
8. Sun, Y., J. Yang, G. Xu and K. Cheng (2022). "Biochemical and Structural Study of RuvC and YqgF from *Deinococcus radiodurans*." *mBio* 13(5): e0183422.



IX Congreso de Físicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

PRODUCCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL SISTEMA *SPLIT* DE LA PROTEASA DEL VIRUS DEL GRABADO DEL TABACO

Luisa Fernanda Marin Bañuelos & Armando Hernández García. Instituto de Química, Departamento de Química de Biomacromoléculas. Laboratorio de Ingeniería Biomolecular y Bionanotecnología, UNAM. Ciudad de México C.P. 04510, fermarin2405@gmail.com

Palabras clave: Sistemas *split*, TEVp, autocatálisis

Resumen.

Los sistemas *split* de proteínas son complejos macromoleculares diseñados mediante ingeniería de proteínas, cuyo objetivo es dividir estructuralmente una proteína funcional en dos o más fragmentos. El desarrollo de estos sistemas ha proporcionado herramientas valiosas para el estudio de interacciones proteína-proteína, la regulación génica y el diseño de biosensores (1). En estos sistemas, los fragmentos de una proteína pueden volver a ensamblarse y recuperar su función original cuando son acercados por la interacción de otras moléculas (2). Dentro de este contexto, las proteasas han cobrado especial relevancia debido a su capacidad para escindir enlaces peptídicos con alta especificidad, lo que las convierte en herramientas versátiles para aplicaciones biotecnológicas. En particular, se han desarrollado sistemas *split* basados en proteasas para controlar condicionalmente su actividad. Uno de los sistemas más estudiados en este ámbito es el de la proteasa del virus del grabado del tabaco (TEVp) (1). La interacción proteína-proteína puede ser monitoreada mediante TEVp utilizando la complementación de sus fragmentos unidos a módulos diseñados para facilitar su reensamblaje. TEVp es una cisteín-proteasa de 27 kDa cuyo sitio activo, ubicado internamente, está conformado por una tríada catalítica (His46, Asp81 y Cys151). Esta enzima reconoce la secuencia ENLYFQG/S en una proteína blanco y cataliza la hidrólisis del enlace peptídico entre Q y G/S. Gracias a esta alta especificidad, TEVp se ha convertido en una herramienta ampliamente utilizada en la ingeniería de proteínas (3). Este proyecto se inspira en diseños previos realizados *in vivo*, en los que se dividió a TEVp en dos fragmentos funcionales: el fragmento N-terminal (N-TEV) y el fragmento C-terminal (C-TEV). Para modular su reconstitución, se añadieron pares de α -hélices capaces de formar colas superenrolladas (A/A' y B/B') a cada fragmento del sistema *split*. Estas hélices están unidas mediante un *linker* que contiene el sitio de corte específico de TEVp (2). Cuando se produce la interacción entre los fragmentos de TEVp, la enzima escinde el *linker*, permitiendo el reensamblaje de las mitades y generando una TEVp reconstituida. Esta forma activa puede a su vez catalizar la reconstitución de otros fragmentos, desencadenando una reacción autocatalítica *in vitro*. El objetivo de este proyecto es producir, purificar y caracterizar los fragmentos N-TEV y C-TEV de este nuevo sistema, con el propósito de incorporarlos en un sistema de detección de ácidos nucleicos basado en CRISPR-dCas12a.

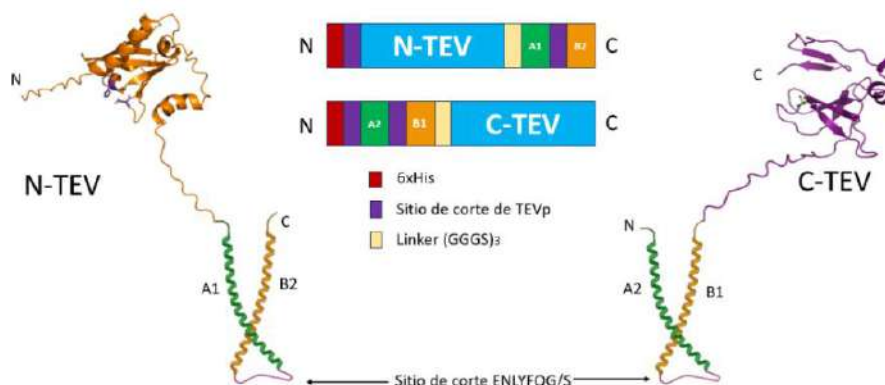


Figura 1. Representación visual de las construcciones del sistema *split* de TEVp a través de modelos tridimensionales obtenidos de AlphaFold 3.0 y al centro se muestra el diseño de bloques de ambas construcciones.

Agradecimiento. Este proyecto ha sido financiado con el apoyo de Beca SECIHTI no. 2103010.

Bibliografía.

1. Bae, J., Kim, J., Choi, J., Lee, H., & Koh, M. (2024). *ChemBioChem*, 25(10).
2. Shekhawat, S. S., Porter, J. R., Sriprasad, A., & Ghosh, I. (2009). *Journal Of The American Chemical Society*, 131(42), 15284-15290.
3. Nam, H., Hwang, B. J., Choi, D., Shin, S., & Choi, M. (2020). *FEBS Open Bio*, 10(4), 619-626.



Plant MSH1 is key for mutation avoidance in plant mitochondria.

Alejandro Peñafiel-Ayala¹. Corina E. Díaz Quezada¹. Dan B. Sloan² & Luis G. Brieba¹.

1.- Unidad de Genómica Avanzada, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (Cinvestav), Irapuato, Guanajuato.

2.- Department of Biology, Colorado State University, Fort Collins, CO, USA

Keywords: plant organellar genomes, mismatch repair pathway, recombination surveillance.

Plant mitochondria genomes are unique if compared to others, like mammals and yeasts. It has many unique characteristics like its size, complexity and the high repeated sequences that spaces coding genes^{1,2}. It has been hypothesized that to control the genome's dynamic recombination frequency and maintaining low mutations rate must be a surveillance mechanism. *Arabidopsis thaliana* MSH1 has been proven to maintain low mutation rate and control the genomes dynamism, avoiding ectopic recombination in plant genetic analysis^{1,2,3}. A mechanism of how MSH1 accomplish this is still unknown. *Arabidopsis* MSH1, has a N-terminal domain, MutS, and a C-terminal domain belonging to the GIY-YIG endonuclease family². Here we present how MSH1 is a single unit for disassembling D-loops, which are intermediates of the recombination process⁴. And how MSH1 is effective in cleaving mismatches and small insertions. This novel mechanism in maintaining low mutation rates evolved from known processes like bacterial MMR pathway to achieve this certain goal.

1.- Martinez-Zapater JM., Gil P., Capel J., Somerville CR. Mutations at the *Arabidopsis* CHM locus promotes rearrangements of the mitochondrial genome. *Plant Cell*. 19924(8): 156-189

2.- Abdelnoor RV., Yule r., Elo A., Christensen AC., Meyer-Gauen., Mackenzie SA. Substoichiometric shifting in the plant mitochondrial genome is influenced by a gene homologous to MutS. *PNAS*. 2003;100(10)5968-5973

3.- Wu Z., Waneka G., Broz AK., King CR., Sloan DB. MSH1 is required for maintenance of the low mutation rates in plant mitochondrial and plastid genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2020;117:16448-16455

4.- Peñafiel-Ayala A, Peralta-Castro A, Mora-Garduño J, García-Medel P, Zambrano-Pereira AG, DíazQuezada C, Abraham-Juárez MJ, Benítez-Cardoza CG, Sloan DB, and Brieba LG. Plant organellar MSH1 is a displacement loop-specific endonuclease. *Plant and Cell Physiology*. 2024;65(4)560-575



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

PLANT DNA POLYMERASE θ IS LOW FIDELITY AND TRANSLESION SYNTHESIS DNA POLYMERASE THAT EFFICIENTLY ACCOMPLISHES MICROHOMOLOGY-MEDIATED END JOINING ON SHORT DNA SUBSTRATES

Missael Molina-Jiménez, Paola García-Medel, Antolin Peralta-Castro, Noe Baruch-Torres, Corina Díaz-Quezada, Luis G. Brieba. Unidad de Genómica Avanzada (UGA) del Centro de Investigación y Estudios Avanzados (Cinvestav), Irapuato, Gto. Cp. 36821. missael.molina@cinvestav.mx

Palabras clave: Double Break Repair, Microhomology, Translesion Synthesis, helicase, DNA polymerase.

ABSTRACT

Pol θ is an evolutionarily conserved protein in all multicellular organisms except for fungi. In metazoans, Pol θ consist of a N-terminal super family 2 helicase domain and a C-terminal family I DNA polymerase, that is decorated by three distinctive amino acid insertions, joined by a large central domain. Plants and algae present a domain of unknown function (DUF) is present before the helicase domain and their central domain harbors less than 80 amino acids. Pol θ is a TLS DNA polymerase involved in double-stranded break repair by microhomology mediated end joining. This activity is conserved in *D. melanogaster*, *C. elegans*, *Danio rerio*, *Mus musculus*, and *Arabidopsis thaliana*. MMEJ depends on the presence of a positively charged amino acids located in insertion 2 and the presence of the helicase domain and the large central region allows the use of longer ssDNA substrates while hampers the use of short ssDNA substrates. We hypothesize that Pol θ from Arabidopsis (AtPol θ) would efficiently uses short DNA substrates for MMEJ due to its short central domain. Herein we used protein constructs harboring the polymerization domain (AtPol θ -pol) and the helicase-linker-polymerase (AtPol θ -HLP) domains of AtPol θ to investigate the biochemical properties of this enzyme.

Agradecimiento. Agradecimiento al SECIHTI por el apoyo otorgado a través de la beca.

Bibliografía

1. Wang, H. and X. Xu, Microhomology-mediated end joining: new players join the team. *Cell Biosci*, 2017. 7: p. 6.
2. Mateos-Gomez, P.A., et al., Mammalian polymerase theta promotes alternative NHEJ and suppresses recombination. *Nature*, 2015. 518(7538): p. 254-7.
3. Wyatt, D.W., et al., Essential Roles for Polymerase theta-Mediated End Joining in the Repair of Chromosome Breaks. *Mol Cell*, 2016. 63(4): p. 662-673.
4. Feng, W., et al., Genetic determinants of cellular addiction to DNA polymerase theta. *Nat Commun*, 2019. 10(1): p. 4286.
5. Seki, M., et al., High-efficiency bypass of DNA damage by human DNA polymerase Q. *EMBO J*, 2004. 23(22): p. 4484-94.
6. Arana, M.E., et al., Low-fidelity DNA synthesis by human DNA polymerase theta. *Nucleic Acids Res*, 2008. 36(11): p. 3847-56.
7. Kent, T., et al., Mechanism of microhomology-mediated end-joining promoted by human DNA polymerase theta. *Nat Struct Mol Biol*, 2015. 22(3): p. 230-7.
8. Black, S.J., et al., Molecular basis of microhomology-mediated end-joining by purified full-length Poltheta. *Nat Commun*, 2019. 10(1): p. 4423.
9. Inagaki, S., et al., Arabidopsis TEBICHI, with helicase and DNA polymerase domains, is required for regulated cell division and differentiation in meristems. *Plant Cell*, 2006. 18(4): p. 879-92.
10. Ceccaldi, R., et al., Homologous-recombination-deficient tumours are dependent on Poltheta-mediated repair. *Nature*, 2015. 518(7538): p. 258-62.
11. Nisa, M., et al., The plant DNA polymerase theta is essential for the repair of replication-associated DNA damage. *Plant J*, 2021. 106(5): p. 1197-1207.
12. Inagaki, S., K. Nakamura, and A. Morikami, A link among DNA replication, recombination, and gene expression revealed by genetic and genomic analysis of TEBICHI gene of Arabidopsis thaliana. *PLoS Genet*, 2009. 5(8): p. e1000613.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF THE ARABIDOPSIS TWINKLE PRIMASE-HELICASE REVEALS A BIFUNCTIONAL ENZYME ESSENTIAL FOR ORGANELLAR DNA REPLICATION

Laura Daniela Camacho-Manriquez¹, Diana Solano-Arguello², Corina Diaz-Quezada¹, Jose A. Pedroza-García², Luis G. Brieba¹.

1: Langebio Cinvestav Irapuato, Irapuato, Gto., C.P. 36821. laura.camachom@cinvestav.mx

2: Universidad Nacional Autónoma de México.

Palabras clave: Primase-helicase, organelar replication, mitochondrial genome

Abstract.

Organellar DNA replication in plants depends on important proteins, including the Twinkle primase-helicase, a protein originally identified in metazoans as a helicase. Unlike its animal counterpart, the *Arabidopsis thaliana* version (AtTwinkle) retains both primase and helicase domains, suggesting a more complex role in DNA replication. In this study, we analyzed the physiological and molecular impact of *twinkle* deficiency using the insertional mutants SALK_152246 (*ph1*) and WISCDLSOX423D2 (*ph2*). Plants showed pale and stunted phenotypes, correlating with a significant reduction in organellar DNA copy number. Transcription of plastid-encoded genes was markedly decreased; on the other hand, mitochondrial-encoded gene transcript levels were less affected. Overall, these results indicate impaired organellar function and that organellar genome integrity was compromised. These findings confirm that AtTwinkle is essential for organellar genome replication and stability, demonstrating the crucial role of organelles in maintaining plant development and function.

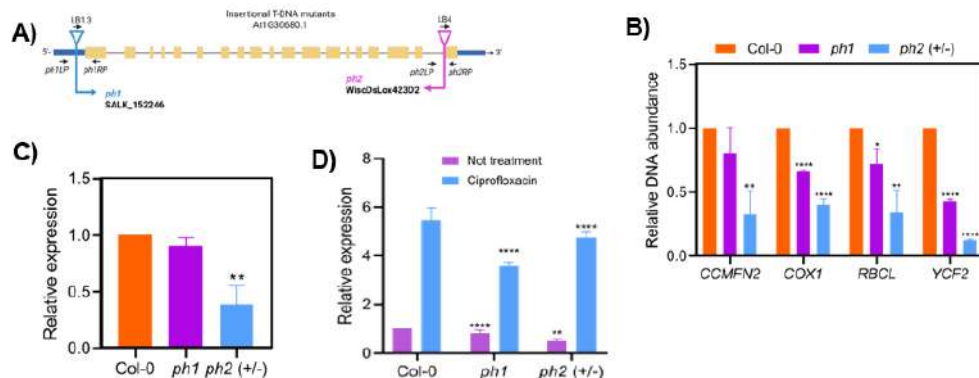


Figure 1. A) Scheme indicating the T-DNA insertion site in *ph1* and *ph2* lines of AtTWINKLE. B) The *twinkle* mutants *ph1* (-/-) and *ph2* (+/-) show affectations on organelle DNA abundance. C) qPCR quantification of TWINKLE expression in mutants. D) Treatment with ciprofloxacin leads to an increase in the TWINKLE transcript.

Acknowledgments.

We thank SECIHTI for the scholarship number 1147076 granted to carry out my PhD.

References

1. Cao, Y. (2012). In *Department of Chemistry and Biochemistry, Clark University* (Tesis inédita).
2. Korhonen, J. A., Gaspari, M., & Falkenberg, M. (2003). *Journal of Biological Chemistry*, 278, 48627–48632. <https://doi.org/10.1074/jbc.M307997200>
3. Morley, S. A., Peralta-Castro, A., Brieba, L. G., et al. (2019). *BMC Plant Biology*, 19, 241. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1854-z>
4. Peralta-Castro, A., Baruch-Torres, N., & Brieba, L. G. (2017). *Nucleic Acids Research*, 45, 10764–10774. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx728>



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

UNRAVELING HOMOLOGOUS RECOMBINATION IN PLANT MITOCHONDRIA

Josué Mora-Garduño, Antolín Peralta-Castro, Andrés Aguilar-Granados, Claudia Raygoza-Zamora, Corina Díaz-Quezada, Luis Brieba de Castro

Langebio, Cinvestav Irapuato, Irapuato, Gto., C. P. 36821, josue.mora@cinvestav.mx

Key words: Homologous recombination, mitochondrial DNA, double strand break repair

Abstract.

Plant mitochondrial DNA (mtDNA) is exposed to a variety of physical and chemical agents that cause double-strand breaks (DSBs). Homologous recombination (HR) is the primary DNA repair pathway in plant mitochondria at DSBs (1). In *Arabidopsis thaliana*, a group of nuclear genes that code for proteins with mitochondrial localization signals code for HR enzymes (1-3). However, it is unknown how these proteins interact during HR. Our aim is to describe a mechanism for homologous recombination in plant mitochondria. Herein, we purified HR proteins from *A. thaliana* such as the recombinases AtRecA2 and AtRecA3, a AtRecX regulatory protein, and all mitochondrial single-stranded DNA-binding proteins (SSBs, OSBs and Whirly2). We performed, *in vitro* biochemical assays for ATPase activity, D-loop formation, and DNA strand exchange. We show that *Arabidopsis* mitochondrial recombinases bind to DNA in a non-specific manner, and exhibit DNA-dependent ATPase activity. Furthermore, mitochondrial recombinases assembly D-loops. DNA strand-exchange by AtRecA2 is stimulated by AtOSB3 and AtWhy2. Our results depict the mechanistic processes that occur during HR in plant mitochondria.

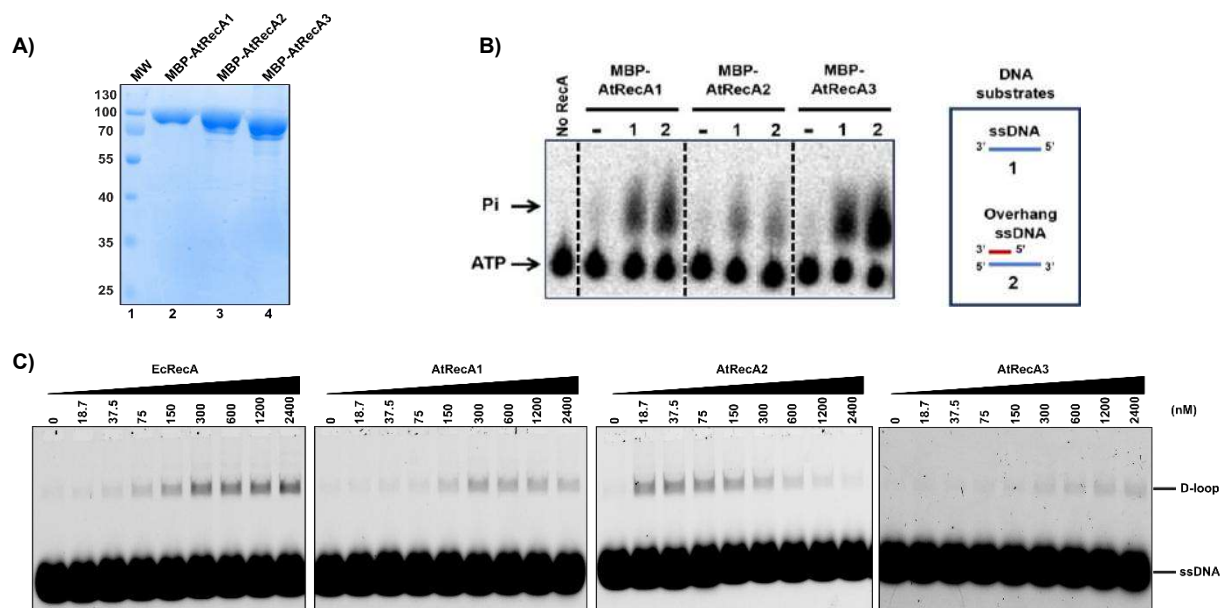


Figura1. A) SDS-PAGE gel showing *Arabidopsis* organellar recombinases that were purified for *in vitro* biochemical assays, which showed **B)** DNA-dependent ATPase activity and **C)** D-loop formation activity.

Acknowledgments. We thank to SECIHTI for the scholarship number 1008709 granted to carry out my PhD.

References.

1. Chevigny N, Schatz-Daas D, Lotfi F, Gualberto JM. (2020) *Int J Mol Sci.* 21(1): 328.
2. Brieba LG. (2019) *Plants (Basel).* 8(12): 533.
3. Shedje V, Arrieta-Montiel M, Christensen AC, Mackenzie SA. (2007) *Plant Cell.* 19(4):1251-1264.



IX Congreso de Fisicoquímica, Estructura y Diseño de Proteínas

13er. Congreso Nacional de Ciencias Químico-Biológicas

ESTUDIO DE DINÁMICA MOLECULAR DE LA TRANSICIÓN DE α -HELICE DEL DESORDEN EN PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS CORTOS DE *URODACUS YASCHENKOI*

Flora Fernández Sánchez¹, Jenny Flores Ávilas¹, Hugo S. García Galindo¹, Edgar Mixcoha¹, Maribel Jiménez Fernández¹, Daniel Balleza¹

^a Doctorado en Ciencias en Alimentos, Instituto Tecnológico de Veracruz, Av. Miguel Ángel de Quevedo 2779, Col. Formando Hogar, Veracruz, Veracruz, 91897. MÉXICO

^b Laboratorio de Microbiología, Unidad de Investigación y Desarrollo en Alimentos, Instituto Tecnológico de Veracruz, Av. Miguel Ángel de Quevedo 2779, Col. Formando Hogar, Veracruz, Veracruz, 91897. MÉXICO

^c CIDEA Centro de Investigación y Desarrollo en Alimentos, Universidad Veracruzana, Dr. Luis, Dr. Castelazo Ayala s/n, Col. Industrial Ánimas, Xalapa, Veracruz, 91119, MÉXICO. *Email: maribjimenez@uv.mx
Palabras clave: *Urodacus yaschenko*, Péptidos antimicrobianos cortos (AMPs), Simulaciones

Resumen.

La bioactividad de los péptidos antimicrobianos cortos UyCT1, UyCT2, UyCT3, UyCT5, Uy17, Uy192 y Uy234 del escorpión *Urodacus yaschenko* que se ha caracterizado recientemente. En base a tales datos, el presente estudio es un intento por decodificar la información necesaria para interpretar el potencial antimicrobiano de cada uno de ellos. Mediante el uso de herramientas bioinformáticas predictivas, cada uno de estos péptidos se modelaron generando estructuras de alta calidad con el algoritmo de inteligencia artificial AlphaFold2. Cada modelo fue validado adecuadamente y dos de ellos, el péptido UyCT1 y UyCT2 se sometieron a simulaciones dinámicas en sistemas acuosos con los campos de fuerza Gromos 43a1 y Charmm 36. Los resultados de este análisis indican que el grado de helicidad de los péptidos está estrechamente vinculado a su composición y cuatro atributos fisicoquímicos y estructurales clave: su índice de hidrofobicidad (H), su potencial electrostático (ϕ), su momento dipolar (μ), y su flexibilidad intrínseca (B_{factor}). Observando que, en el caso de los péptidos anfipáticos, un MH mejorado resulta en un péptido más activo (1,2). Otra correlación que puede tener es el efecto del ángulo subtendido de la cara helicoidal cargada que podría ser un factor aún más relevante en la actividad de membrana de estos péptidos anfipáticos (3). Por lo cual nuestro análisis reveló también una relación entre el grado de libertad conformacional de los péptidos UyCT1 y UyCT2 con su capacidad antimicrobiana, particularmente contra la bacteria Gram-positiva *Staphylococcus aureus*. Estos dos péptidos comparten secuencias prácticamente idénticas, salvo por la presencia de un residuo de Gly en la posición-1 de UyCT1. Esta ligera diferencia influyó decisivamente en la dinámica conformacional de estos péptidos, haciendo que el péptido UyCT2 sea más propenso al desorden y el péptido UyCT1 más estable mediante la formación de múltiples enlaces de hidrógeno. Por lo cual, los péptidos anfipáticos son de gran interés, ya que interactúan con las membranas celulares, y de esa manera las bacterias patógenas no pueden generar un mecanismo de defensa como lo hacen con los antibióticos convencionales (4,5). Nuestros resultados y estrategia de análisis podría ser el fundamento teórico para futuros análisis predictivos con miras para el diseño de péptidos nuevos con potencial farmacológico.

Agradecimiento. Este trabajo fue apoyado por el Programa de 'Proyectos de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación 2024' (Subvención no. 19599.24-P).

Bibliografía.

1. Parente AMS, Daniele-Silva A, Furtado AA, Melo MA, Lacerda AF, Queiroz M, Moreno C, Santos E, Rocha HAO, Barbosa EG, Carvalho E, Silva-Júnior AA, Silva MS, Fernandes-Pedrosa MF (2018) Analogs of the scorpion venom peptide stigmurin: structural assessment, toxicity, and increased antimicrobial activity. *Toxins* (Basel). 10(4):161. <https://doi.org/10.3390/toxins10040161>
2. Takechi-Haraya Y, Ohgita T, Kotani M, Kono H, Saito C, Tamagaki Asahina H, Nishitsuji K, Uchimura K, Sato T, Kawano R, Sakai Kato K, Izutsu KI, Saito H (2022) Effect of hydrophobic moment on membrane interaction and cell penetration of apolipoprotein E-derived arginine-rich amphipathic α -helical peptides. *Sci Rep* 12(1):4959. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-08876-9>
3. Wieprecht T, Dathe M, Epand RM, Beyersmann M, Krause E, Maloy WL, MacDonald DL, Bienert M (1997) Influence of the angle subtended by the positively charged helix face on the membrane activity of amphipathic, antibacterial peptides. *Biochemistry* 36(42):12869–12880. <https://doi.org/10.1021/bi971398n>
4. Benfield AH, Henriques ST (2020) Mode-of-action of antimicrobial peptides: membrane disruption vs. intracellular mechanisms. *Front Med Technol* 2:610997. <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.610997>
5. Magana M, Pushpanathan M, Santos AL, Leanse L, Fernandez M, Ioannidis A, Giulianotti MA, Apidianakis Y, Bradfute S, Ferguson AL, Cherkasov A, Seleem MN, Pinilla C, de la Fuente-Nunez C, Lazaridis T, Dai T, Houghten RA, Hancock REW, Tegos GP (2020) The value of antimicrobial peptides in the age of resistance. *Lancet Infect Dis* 20(9):e216–e230. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30327-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30327-3)

Mapa y sitios de interés



Sedes del Congreso

1 Teatro Calderón

2 Rectoría UAZ

Cafeterías

Hoteles

Museos

Restaurantes

Snacks

Teatro
Fernando
Calderón



Rectoría
Universidad Autónoma
de Zacatecas

