

**Antecedentes.**

La  $\beta$ -lactoglobulina (BLG) se ha estudiado con metodología de docking desde el 2002, donde se encontraron indicios de interacción con ácido retinoico en su cáliz hidrofóbico (Zsila, Bikádi, & Simonyi, 2002). Un año después en el 2003 se determinó por primera ocasión con docking el mecanismo por el cual la BLG se pliega al interactuar con ligandos (Ragona et al., 2003). Después las metodologías de docking fueron avanzando y para el 2008 se probaba el comportamiento de la BLG al interactuar con vitaminas a distintos pHs (Yang et al., 2008) al igual que como posible transportados de fármacos (Eberini et al., 2008). Luego en el 2011 en adelante se estudió la interacción de BLG con detergentes como el SDS (Hu et al., 2011), valores de cambio en la desviación de la media de la raíz cuadrada (RMSD) durante la interacción con polifenoles flavonoidicos (Belatik et al., 2012) y se experimentó con nuevos sitios posibles de interacción con ácidos grasos lo cual le dan a la BLG una posible función como receptor de múltiple unión (Domínguez-Ramírez, Del Moral-

<b>Tabla 1. Estructuras usadas para docking y propiedades</b>		
<b>Estructura</b>	<b>Ligando*</b>	<b>Número de carbonos en ligando</b>
<b>3NQ9</b>	OCA, ác. octanoico	8
<b>3NQ3</b>	DKA, ác. cáprico	10
<b>4IB6</b>	DAO, ác. laúrico	12
<b>3UEV</b>	MYR, ác. mirístico	14
<b>1GXA</b>	PLM, ác. palmítico	16
<b>4DQ4</b>	EIC, ác. linoleico	18
<b>4DQ3</b>	OLA, ác. oleico	18
<b>3UEX</b>	STE, ác. esteárico	18
<b>1GX9</b>	REA, ác. retinoico	20
<b>1GX8</b>	RTL, retinol	20

\* Ilustraciones de los ligandos se encuentran en el apéndice 1

Ramírez, Cortes-Hernández, García-Garibay, & Jiménez-Guzmán, 2013, Evoli, Guzzi, & Rizzuti, 2014). Finalmente, este proyecto contribuirá en estudiar el comportamiento de interacción del complejo proteína-ligando bajo diferentes configuraciones docking rígido, flexible y mecánica

molecular con el fin de estandarizar una metodología de procesamiento de ligandos, receptor y docking para la BLGs y proteínas similares.

## Introducción.

El uso de técnicas biotecnológicas experimentales y computacionales ha facilitado el desarrollo de creaciones y aplicaciones de conocimientos naturales para una mejor calidad de vida, generando un gran impacto en áreas como la agricultura, la salud, la industria, la producción y procesamiento de alimentos para la subsistencia del ser humano (Balbás, 2002). La Bioinformática es la disciplina científica que utiliza la tecnología de la información para organizar, analizar y distribuir información

<b>Tabla 2. Rutas de acción para preparación de ligandos y receptores</b>	
<b>Acción</b>	<b>Ruta</b>
<b>1. Función Fletch by ID</b>	File >> Fletch by ID...>>PDB
<b>2. Alineamiento de proteínas</b>	Tools>>Structure comparison>>Match Maker
<b>3. Selección</b>	Select>>Residue
<b>4. Eliminar</b>	Actions>> Atoms/bonds >> Delete
<b>5. inversión de selección</b>	Select>>Invert(all models)
<b>6. DockPrep</b>	Tools>>Structure editing>>Minimize Structure>>DockPrep
<b>7. Write DMS</b>	Tools>>Structure Editing>>Write DMS

biológica, con la intención de responder preguntas complejas de los sistemas biológicos (Maojo y col., 2003). Los modelos computacionales de sistemas biológicos permiten la exploración de espacios geométricos que describen a las macromoléculas y que es esencial para el descubrimiento, diseño de fármacos y otros avances tecnológicos.

La  $\beta$ -lactoglobulina (BLG, expasy P02754) (Fig. 1) de *Bos taurus* es una proteína ampliamente estudiada desde los 1930s. Ha sido usada como una proteína modelo para estudios físicos y bioquímicos (Bello & García-Hernández, 2014, Loch et al., 2013, Mensi et al., Domínguez-Ramírez,

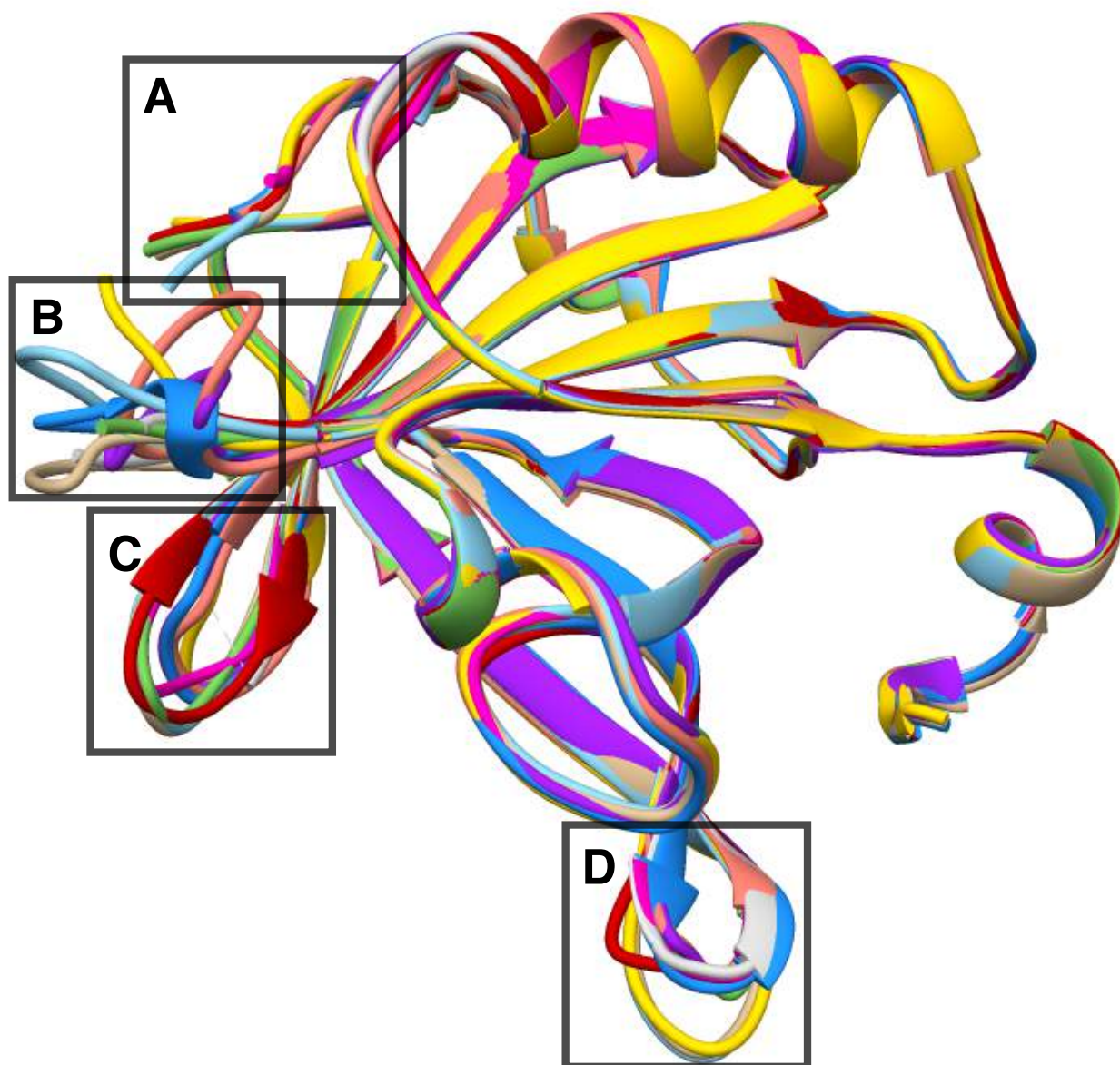
Del Moral-Ramírez, Cortes-Hernández, García-Garibay, & Jiménez-Guzmán, 2013) con el fin de entender mejor la naturaleza de la proteínas y su interacción con sus ligandos. La función específica de BLG se desconoce; por ser una proteína de secreción se asume que tiene el funcionamiento molecular de unir diversas moléculas hidrofóbicas así como transportarlas y/o estabilizarlas en el tracto digestivo. Esta capacidad la hace relevante para industrias alimentarias y farmacéuticas debido a su cualidad de unir ácidos grasos como el ácido octanóico, linoleico, vitaminas liposolubles como el retinol, el ácido retinoico y D3 (Noiseux, Gauthier, & Turgeon, 2002, Tavel, Andriot, Moreau, & Guichard, 2008).

La BLG está compuesta por 162 residuos de aminoácidos, con un peso molecular de 18.4 kDa, adopta el pliegue característico de la familia de las lipocalinas (Fig. 1). Esta familia comprende a un gran grupo de pequeñas proteínas extracelulares, con estructuras y funciones disímiles, originadas de una proteína ancestral común que se han diversificado durante la radiación de los vertebrados. El patrón tridimensional que caracteriza a las lipocalinas consta de ocho laminas beta antiparalelas flanqueadas por una hélice alfa (Papiz et al., 1986). La BLG es capaz de resistir pH ácido ~2, lo cual le da una estructura muy buena para uso industrial y de investigación (Papiz et al., 1986). Esta estabilidad es principalmente atribuible a dos puentes disulfuro ubicados entre los residuos 106 y 119 (Domínguez-Ramírez, Del Moral-Ramírez, Cortes-Hernández, García-Garibay, & Jiménez-Guzmán, 2013). En condiciones fisiológicas existe como una mezcla en equilibrio de formas monoméricas y diméricas. BLG puede formar oligómeros en función del pH y en la concentración de la proteína: los monómeros se favorecen a pH debajo de 3 (Ragona, Pusterla, Zetta, Monaco, & Molinari, 1997) y a concentraciones de proteína menores a 0.01 mM (Bello, Pérez-Hernández, Fernández-Velasco, Arreguín-Espinosa, & García-Hernández, 2007). El sitio de unión al ligando principal se localiza en el centro de la estructura, a la cual se le llamado cáliz y está conformado por láminas beta antiparalelas las cuales le dan al cáliz cualidades hidrofóbico (Papiz et al., 1986, Qvist, Davidovic,

Hamelberg, & Halle, 2008) con las cuales es capaz de unir ácidos grasos saturados de 8 a 18 carbonos, ácidos grasos insaturados de 18 carbonos como retinol, ácido retinoico y vitamina D3.

Se ha propuesto que las interacciones de proteína-ligando son dominadas por 7 residuos de aminoácidos, de un total de 23 (Domínguez-Ramírez, Del Moral-Ramírez, Cortes-Hernández, García-Garibay, & Jiménez-Guzmán, 2013). Cada monómero de BLG contiene dos triptófanos, W61 y W19 (Triptofano 61 y 19), localizados respectivamente a la entrada y en el fondo del cáliz. W19 que se ha utilizado para medir la afinidad de la BLG por ligandos y para medir la estabilidad de la conformación proteica en presencia de ácidos grasos (Albani, Vogelaer, Bretesche, & Kmiecik, 2014). Se han determinado 46 estructuras de la BLG vacías o en presencia de diversos ligandos: diez ácidos grasos saturados, dos insaturados, tres vitaminas así como tres detergentes (dodecilsulfato sódico, DTAC y dodecilmaltosido). Cabe notar que el alineamiento de todas las estructuras da valores de la desviación de la raíz cuadrática media (RMSD) de entre 0.37 a 1.2 angstroms, sugiriendo una ausencia de grandes cambios conformacionales (Fig. 2). Se piensa que la BLG solamente puede unir

ligandos en el cáliz a pH iguales o mayores que 7 (Domínguez-Ramírez, Del Moral-Ramírez, Cortes-Hernández, García-Garibay, & Jiménez-Guzmán, 2013).



**Figura 2. Alineamiento de 10 BLGs como ejemplo ilustrativo de la alta similitud estructural entre estas.** Para este alineamiento se alinearon las proteínas mencionadas en la tabla 1 (3NQ9 café ,3NQ3 azul claro, 3UEV verde, 1GXA naranja, 4DQ4 gris, 4DQ3 rosa, 3UEX amarillo, 1GX9 azul intenso, 1GX8 púrpura y 4IB6 rojo). El cuadrante delimitado como A corresponde aproximadamente del aminoácido 1-6, B del 109-116, C desde el 84-90 y D desde el 61- 63. Aparte de estas regiones el resto de las BLGs tienen un plegamiento casi igual.

## **Hipótesis.**

El docking flexible con una selección de residuos de aminoácidos dentro del cáliz de BLG tiene resultados más cercanos a los datos experimentales que un docking flexible que abarca un área tridimensional del tamaño del cáliz de BLG y el ligando juntos.

## **Material y métodos.**

### **1.1. Creación computacional de los ligandos naturales de referencia de la $\beta$ -lactoglobulina.**

Se creó una base de datos, la cual fue alimentada con ligandos encontrados en la leche de vaca por (Domínguez-Ramírez, Del Moral-Ramírez, Cortes-Hernández, García-Garibay, & Jiménez-Guzmán, 2013). Los códigos de dichos ligandos se obtuvieron del sitio RCSB PDB y descargados al software datawarrior (Sander, Freyss, von Korff, & Rufener, 2015). Para su uso en docking se verificó que uno de los enlaces carbono-carbono de los ácidos grasos correspondiera al doble enlace característico de un ácido carboxílico.

### **1.2. Preparación de los receptores para docking, Vina.**

Vina tiene la capacidad de realizar dos tipos de docking. El rígido, que solamente permite que el ligando interactúe con el receptor y este último no tiene una movilidad durante el experimento.

Durante este paso solamente se tiene que facilitar el receptor y el ligando en formato pdbqt, delimitar una rejilla para delimitar el espacio donde ocurrirá el experimento y computar un nivel de

exhaustividad. El flexible es un método más robusto, si se tiene un poco más de conocimiento sobre receptor que se le brinda a Vina. En este docking aparte de proporcionar el ligando, receptor, rejilla y exhaustividad se tiene que hacer una selección de residuos que se quiera que sean flexibles durante el experimento.

### 1.2.1. Preparación de modelos tridimensionales

Los modelos listados en la Tabla 1, usados en Vina (Trott & Olson, 2010), se les llamó por medio de la función 1 de la Tabla 2 dentro de UCSF Chimera (Pettersen et al., 2004). En cada estructura se seleccionó el receptor con la función 3 de la Tabla 2 para después con la función 4 eliminarlo y dejar solamente el ligando. De igual manera se tuvo que eliminar a toda especie química que no fuera parte de los ligandos creando un archivo mol2 exclusivo para cada ligando (Tabla 1). Por otro lado, el receptor 1GXA se limpió de toda molécula que no fuera parte del receptor; al terminar se seleccionan los hidrógenos del receptor (select>>Chemistry>>element>>H) para removerlos con la función 4 de la Tabla 2 y finalmente se guardó la estructura con formato pdb.

### 1.2.2. Docking Vina por PyRx

En la interfaz gráfica, solamente requirió cargar a la 1GXA como receptor, a los ligandos, dibujar una caja que fuera lo suficientemente grande como para cubrir a la proteína y ligandos previamente

<b>Tabla 3. Lineamientos de configuración especial en Dock6 para dockings 10, 100, 500, 1000, 1k/10k/1k y 10k/100k/10k</b>						
<b>instrucción</b>	<b>10</b>	<b>100</b>	<b>500</b>	<b>1000</b>	<b>1k/10k/1k</b>	<b>10k/100K/10k</b>
Amber score movable region	ligand, 1.5, 2, 2.5,3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, everything				Everything	
Amber score before md minimization cycles	10	100	500	1000	1000	10000
Amber score md steps	100	3000	5000	10000	100000	1000000
Amber score after md minimization cycles	10	100	500	1000	1000	10000

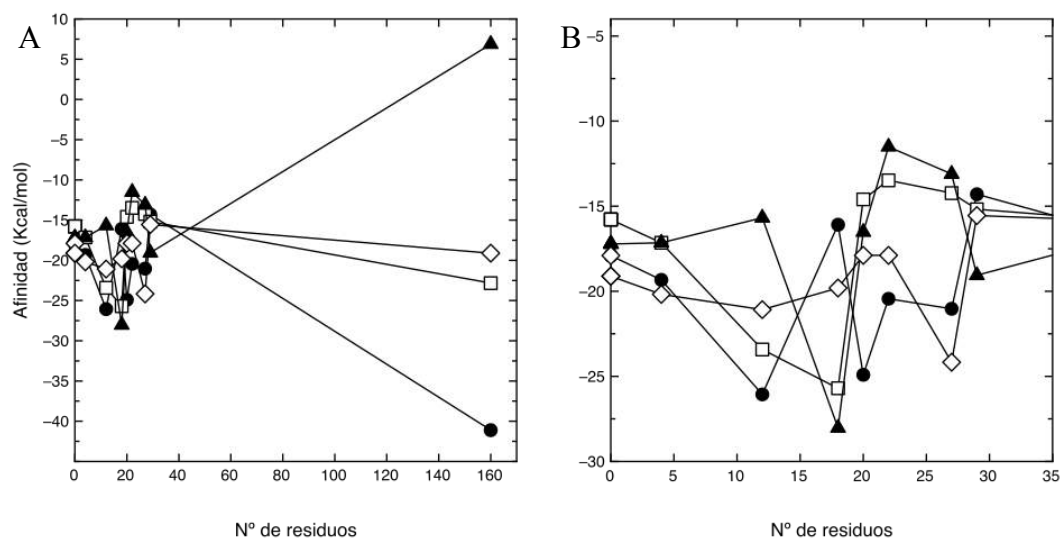


preparados, dar la instrucción de que residuos de aminoácidos se querían móviles e indicar una exhaustividad de 1000. Este parámetro es crucial para la precisión y reproducibilidad de los resultados.

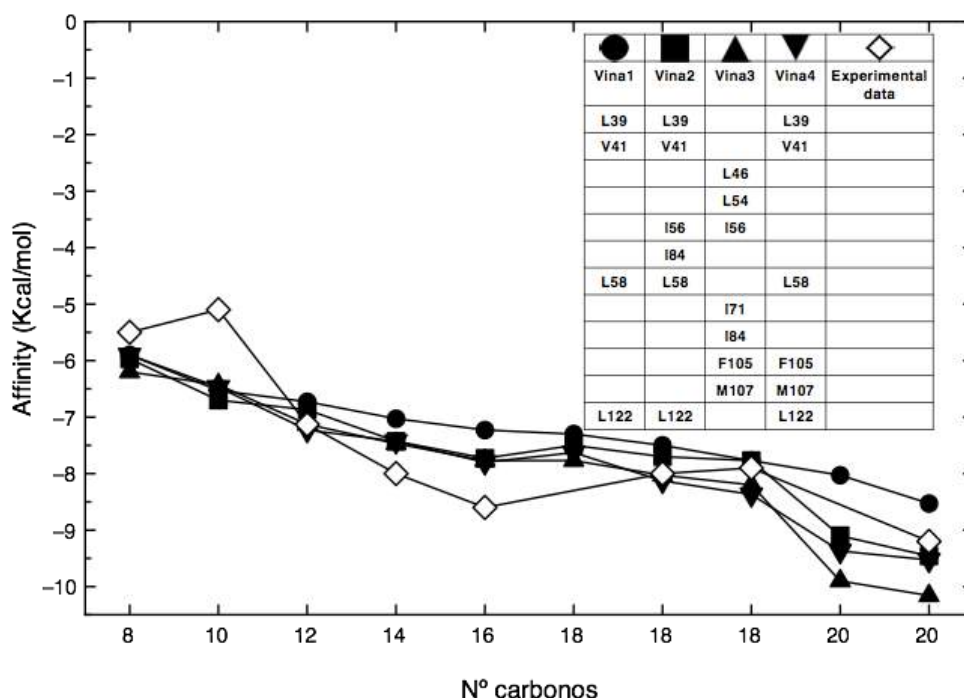
### 1.3. Preparación de los receptores para docking, UCSF Dock.

#### 1.3.1. Obtención de modelos tridimensionales

La preparación del receptor y ligandos usados para la simulación con Dock6 (Brozell et al., 2012) requirió la extracción de 10 modelos tridimensionales por medio de la función 1 de la Tabla 2. Al tener todas las proteínas con sus respectivos ligandos en la ventana de trabajo, se realizó un alineamiento de las estructuras con referencia a la proteína 1GXA (Kontopidis, Holt, & Sawyer, 2002) con la función 2 de la Tabla 2, usando los parámetros por default. Al tener todas las estructuras alineadas se eliminó a toda especie química que no fuese parte estructural de los ligandos o de los receptores con las funciones 3 y 4 en Tabla 2. Consecuentemente se guardaron los modelos limpios con la extensión pdb.



**Figura 4. Simulación de afinidad de 1GXA por ácido octanoico por aminoácidos encontrados por UCSF Dock6.** (A) Comparación de afinidad contra el número de residuos de aminoácidos encontrados para interacción durante el docking entre el ácido octanoico y la 1GXA, estos tienen una relación directa con la distancia contemplada para experimentación con del ligando. Estas 5 configuraciones de docking hechos en Dock6 tienen diferencias relacionados directamente con la **Tabla 3**. Círculos rellenos corresponden la instrucción 10, rectángulos vacíos a 100, triángulos rellenos a 500 y rombos vacío a 1000 (B) Muestra el mismo contenido de la Fig.3A, pero con la diferencia de que se centra en los primero 29 aminoácidos.



**Figura 3. Afinidad de resultados experimentales vs. computacionales por Vina. (A)** Comparación de resultados experimentales (círculos cerrados) contra resultados de docking Vina1, Vina2, Vina3, Vina4 con una orientación viable. En el eje de las X se representan los ligandos con respecto a su números de carbonos, en el siguiente orden: ácido octanoico (8), cáprico (10), laúrico (12), mirístico (14), palmítico (16), esteárico (18), oleico (18), linoleico (18), retinol (20), retinoico (20). La energía de afinidad se encuentra en el eje Y como kcal/mol. **(B)** Aminoácidos móviles en el receptor de BLG (1GXA) en cada docking.

### 1.3.2. Preparación de ligandos

Al nuevo archivo pdb, con todos los modelos agrupados como uno, se le eliminaron todos los receptores con las funciones 3, 4 y 5 en Tabla 2, con el objetivo de dejar solamente a los ligandos y preparar cada uno por separado, usando la función 6 de la Tabla 2. En este proceso se les agregaron hidrógenos y carga a los 10 ligandos. Cada ligando preparado se le guardó con la extensión mol2, para su uso posterior en Dock6.

### 1.3.3. Preparación del receptor 1GXA

El docking requiere dos archivos, el primero es un archivo pdb sin hidrógenos y el segundo es un mol2 con hidrógenos y carga. Para el primero se abrió el archivo pdb que contiene el alineamiento de los modelos tridimensionales hecho durante la primera parte. Sin embargo, en lugar de eliminar a todos los receptores, solo se conservó al receptor 1GXA y todo lo demás de eliminó, incluyendo a los ligandos. El siguiente paso fue seleccionar (select>>Chemistry>>element>>H) y eliminar a todos los

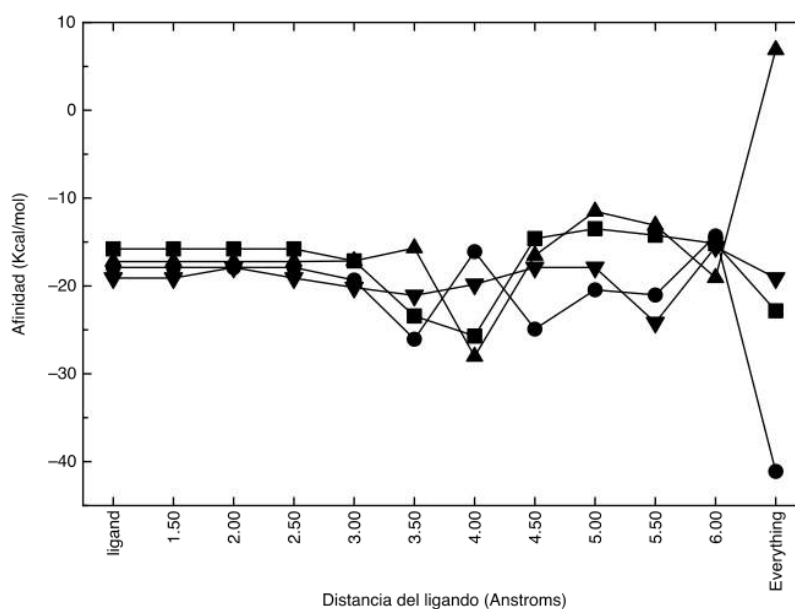
átomos de hidrógeno presentes con la función 4 en la Tabla II. Este receptor sin hidrógenos se le guarda con la extensión pdb para su posterior uso. El segundo archivo, al igual que para el receptor sin hidrógenos se abrió el pdb con estructuras alineadas, se eliminaron todos los modelos con excepción del 1GXA y se usó la función 6 de la Tabla 2 para agregar carga principalmente. Para finalizar, se guarda el archivo con la extensión mol2.

#### **1.3.4. Generación de rejilla sobre el sitio activo y ligando**

Se requirió abrir el receptor sin hidrógenos, para aplicarle la función 7 de la Tabla 2 y escribir el DMS. Después de hacer el DMS se hizo una instrucción que fue ejecutada por Dock6 en la terminal comandos con el programa “sphgen”, al terminar un archivo con terminación sph fue creado. Se usó este mismo archivo dentro de otra instrucción para utilizar el programa “showspheres” el cual generó un archivo pdb que contiene las esferas de interacción posibles en la superficie de la proteína. En todos los casos se seleccionó el primer cluster que contiene el sitio de unión de 1GXA. Para finalizar, se hicieron dos instrucciones que en conjunto con el programa “showbox” y “grid” generaron la jaula donde se realizó el docking.

#### **1.3.5. Docking con Dock6 mecánica molecular**

Para dar la orden de realizar el docking primero se requirió preparar al receptor sin hidrógenos y el ligando en formato mol2 con el programa “prepare\_amber.pl” incluido en Dock6. Al terminar la preparación se corrieron 42 configuraciones de docking con las especificaciones en la Tabla 3 usando únicamente el ácido octanoico. Consecuentemente de los 42 docking de exploración se seleccionaron



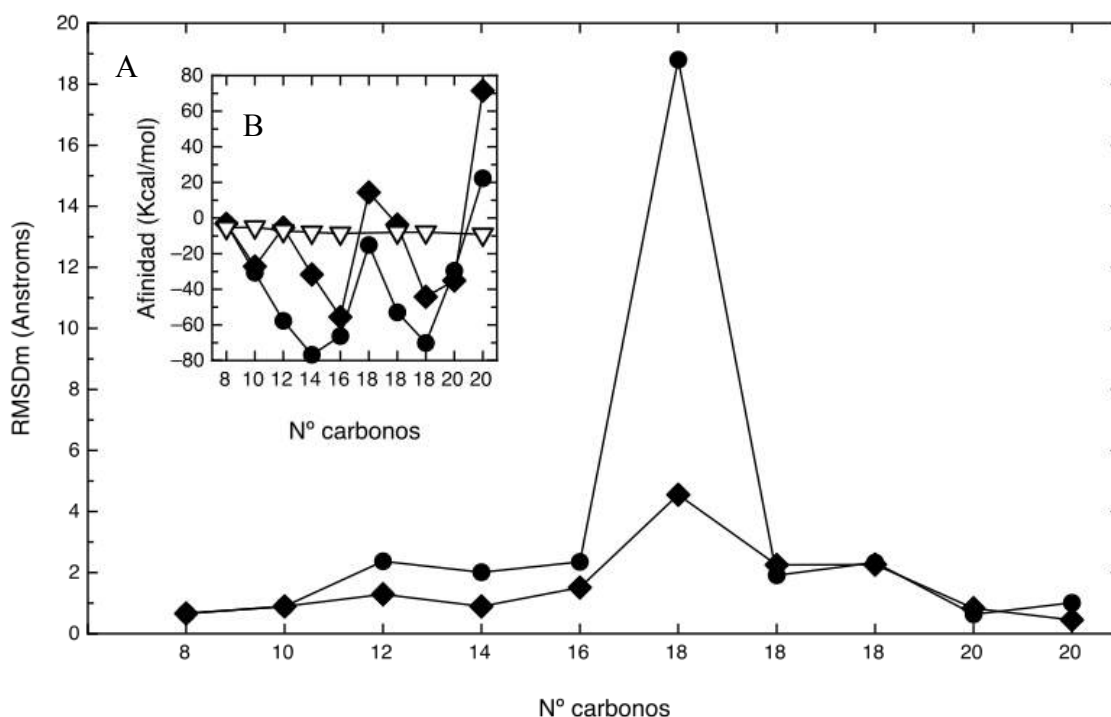
**Figura 5. Simulación de afinidad de 1GXA con ácido octanoico con respecto a la distancia del ligando.** La afinidad por el ligando con respecto a los residuos móviles encontrados a una distancia alrededor del ligando, el intervalo contemplado va desde que solo el ligando es móvil, hasta toda proteína. Simbología con relación a la tabla 3, los círculos rellenos corresponde a la instrucción 10, cuadrados rellenos a 100, triángulos rellenos a 500 y triángulo relleno invertido a 1000

las configuraciones 1k/10k/1k y 10k/100k/10k (Tabla 3) para experimentar con los 10 ligandos propuestos inicialmente en la tabla 1. La nomenclatura X/X/X corresponde al número de pasos de minimización de energía, mecánica molecular y segunda minimización.

## Resultados y discusión.

### 1.1. Unión computacional usando Vina

Todos los dockings hechos en Vina se realizaron con residuos móviles seleccionados de acuerdo a previos experimentos (Domínguez-Ramírez, Del Moral-Ramírez, Cortes-Hernández, García-Garibay, & Jiménez-Guzmán, 2013). Todos los dockings hechos con Vina tuvieron resultados cercanos a los valores obtenidos experimentalmente (Fig. 3). No obstante, los resultados computacionales considerados como iguales a los experimentales (con un valor de  $P < 0.05$ ) fueron los obtenidos para los ligandos: ácido octanoico, láurico, oleico, linoleico y retinoico. Mientras que los considerados distintos (por tener un valor  $P > 0.05$ ) son el ácido cáprico, mirístico, palmítico. Para el análisis estadístico no se tomaron en cuenta al ácido esteárico ni al ácido retinoico ya que no existen valores experimentales para comparación.



**Figura 6. Afinidad y RMSDm por ligando en 1k/10k/1k y 10k/100k/10k.** (A) RMSDm determinado por Dock6 según ligando de forma computacional en dockings 10k/100k/10k y 1k/10k/1k. (B) Afinidad (kcal/mol) contra el número de carbonos presentes en cada ligando (Tabla I), experimental (triángulos invertidos) dockings 10k/100k/10k (círculos completos) y el 1k/10k/1k (rombos completos) fueron configurados con los parámetros estándar presentes en la Tabla 2

En la Fig. 3 se muestran los residuos seleccionados como móviles durante los dockings; las selecciones Vina3 y 4 tuvieron mejores resultados que el Vina1 y 2. Los valores en los extremos de las cajas de Vina3 y 4 están muy cercanas a las afinidades experimentales del ácido láurico, linoleico y retinoico. Los dockings 3 y el 4 incluyen los residuos F105 y M107, que se encuentran dentro del cáliz de la BLG. La fenilalanina 105 toma el papel de puerta al tener un anillo aromático que al moverse da la capacidad de permitir el paso al ácido oleico, linoleico y retinoico; no obstante es interesante remarcar que el modelo experimental de esta misma fenilalanina se queda a medio recorrido, dejando igualmente espacio para que los ligandos entren pero solamente hasta la mitad del sitio activo, mientras que durante el docking el ligando entra por lo general hasta el fondo del sitio activo. Por otra lado, la metionina también controla la orientación de los ligandos pero limitada por su menor volumen que la fenilalanina. Las limitaciones de Vina en el estudio de BLG es que requiere que se seleccionen residuos móviles para tener una interacción ligando-receptor viable, es decir, el

usuario requiere conocimiento previo del mecanismo de interacción. Con el objetivo de superar esta limitación probaremos otras herramientas de simulación más sofisticadas.

### **1.2. Unión computacional usando Dock6, rígido.**

Durante la etapa de exploración se realizaron dockings rígidos con el software Dock6 con el ácido palmítico. La demanda computacional fue baja pero los resultados de la simulación fueron muy distantes a los vistos en experimentación, al no haber interacción entre el receptor y el ligando. En ninguno de los experimentos el ligando encontró al receptor, sin importar el número de pasos y demanda computacional que se le designara. Sus valores de afinidad resultaron ser muy altos en comparación con lo registrado en la literatura al estar en el intervalo de 7 a 600 kcal/mol, mientras que los datos experimentales del ácido palmítico son de -8.6 Kcal/mol. Curiosamente en Vina el docking rígido obtuvo mejores resultados y existió interacción proteína-ligando

### **Unión computacional usando Dock6, anchor\_and\_grow.**

Se realizaron dockings exploratorios anchor\_and\_grow con el ácido palmítico. En esta simulación no hubo interacción proteína ligando al igual que en el docking rígido el ligando nunca encontro al receptor sin importar la el número de pasos de la simulación ni la demanda computacional. Sus energías de afinidad oscilan entre los 7 y 10 Kcal/mol que son lejanos a los -8.6 Kcal/mol reportados experimentalmente.

### **Unión computacional usando Dock6, mecánica molecular.**

En contraste con Vina, Dock6 permite cambios en la estructura de las proteínas en función de su distancia al ligando. Los primeros 42 dockings exploratorios mostraron una afinidad muy agrupada en los primeros 30 residuos, con diferencias dramáticas al usar el total de residuos de la proteína (160 residuos, Fig. 4). El docking llamado 1000 (por el número de pasos de cálculo de energía, rombos vacíos ) tiene los resultados más similares a la afinidad experimental de todos. Esto sugiere que este factor es importante para el método pues los resultados obtenidos con menos pasos y los valores de energía de afinidad son menos consistentes. En la figura 5 se muestra la relación entre la afinidad por

el ligando con respecto a la distancia contemplada a partir del ligando. En el intervalo de 3.5 a 6 angstroms se midieron energías de -25 Kcal/mol a -10 Kcal/mol, pero los dockings denominados como 10, 100 y 1000 calcularon valores cercanos a -5 Kcal/mol que es valor experimental registrado para el ácido octanoico. También en este intervalo los dockings lograron encontrar con un total de 6 hasta 29 aminoácidos con capacidad de interacción entre la BLG y ligandos. Ninguno de los residuos así seleccionados coincide con los usados en Vina. Al usar a toda proteína por completo como flexible la cual fue la que requirió mayor demanda computacional (instrucción 1000 con “amber score movable region” everything) fue insuficiente para reproducir los datos experimentales, pero el docking 1000 fue el más cercano. Por último, la instrucción 1000 con “amber score movable region” everything (Fig. 5, triángulo invertido relleno), se utilizó con los otros 9 ligandos restantes bajo el nombre de 1k/10k/1k y también persiguiendo una posible mejoría de los resultados de afinidad se hizo el docking 10k/100k/10k que requirió más poder computacional (Fig. 6). La instrucción 1k/10k/1k resultó tener mejores valores de afinidad que el 10k/100k/10k mostrando que el mayor uso de tiempo de computo no correlaciona con cálculos más precisos. El RMSDm (minimum-distance heavy-atom RMSD) no varía (Fig. 5), a excepción del ligando de 18 carbonos ácido esteárico. En particular, las vitaminas, ácido oleico y linoleico mantuvieron un RMSDm similar. Ninguna de las distancias configuradas tomó en cuenta a los residuos de aminoácidos que se le indicaron a Vina, ni siquiera la de 6 angstroms una distancia que cubre todo el cáliz. La configuración “everything”, que contempla a toda la proteína, no tuvo mejores resultados que los vistos en Vina.

## **Conclusiones**

Tanto Vina como UCSF Dock6 son herramientas que tienen una amplia capacidad de configuración dependiendo de las proteínas y ligandos que se les proporcionen; como método exploratorio y para proteínas semejantes la BLG demuestran un desempeño variable. Ni Vina ni Dock6 fueron 100% eficaces en reproducir la energía de interacción y la conformación experimental. Sin embargo, si se requiere un análisis exploratorio con bajos requerimientos de tiempo y poder computacional. Vina proporciona mejores resultados. Por otro lado, UCSF Dock6 no se recomienda para proteínas como

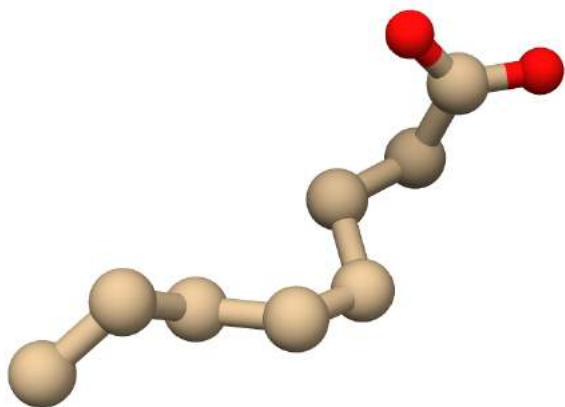
BLG por que la mayoría de sus resultados no son cercanos a las afinidades vistas experimentalmente además de requerir mayor tiempo de preparación y poder computacional. Vina, que da la capacidad de seleccionar manualmente los residuos de aminoácidos, mostró ser una herramienta más confiable de ejecutar una simulación y crear una idea de como es la interacción proteína-ligando, antes de realizar cualquier experimento en laboratorio. Finalmente, concluimos que una metodología que permita seleccionar residuos en base a los conocimientos bioquímicos y evolutivos de la BLG ayudan en gran manera a la obtención de resultados, en comparación de usar una metodología que otorgue mayores grados de libertad en un radio alrededor del ligando y mayores tiempos de cómputo.



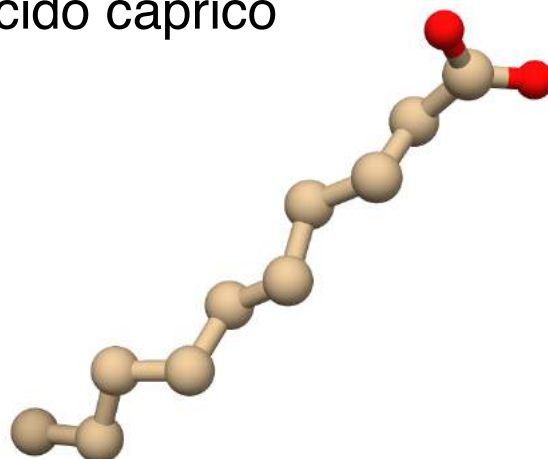
## **Apéndice 1, videos tutoriales:**

1. Preparación de redeptor y ligandos y docking con Vina desde la interfaz gráficaa PyRx.
2. Preparación de redeptor y ligandos y docking para Dock6.
3. Preparación de esferas y rejilla para docking con Dock6.
4. Docking rígido, anchor\_and\_grow con Dock6.
5. Docking/mecánica molecular con Dock6/Amber

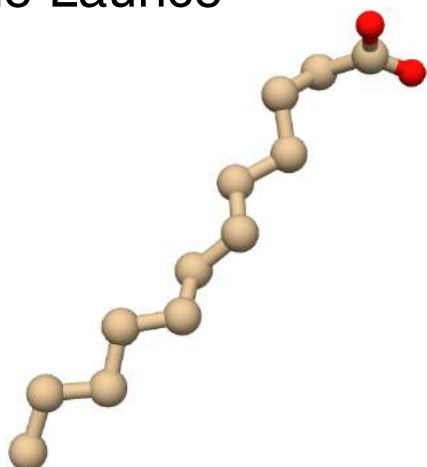
Ácido octanoico



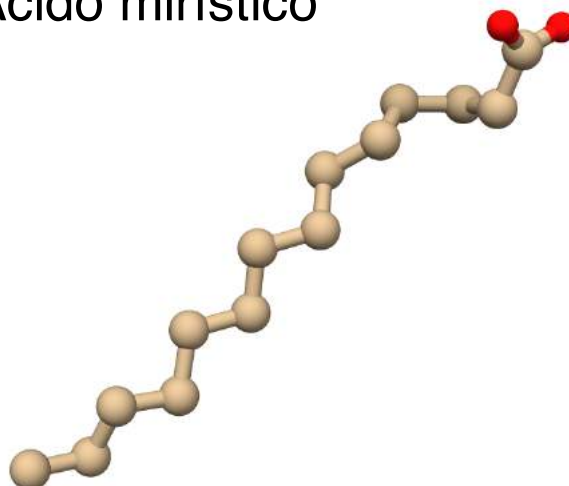
Ácido cáprico



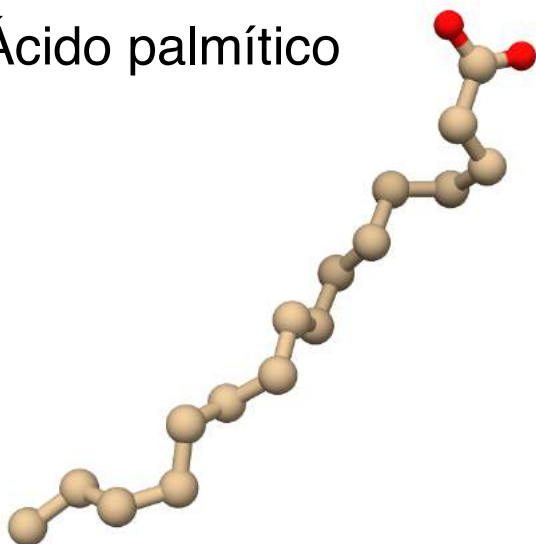
Ácido Laurico



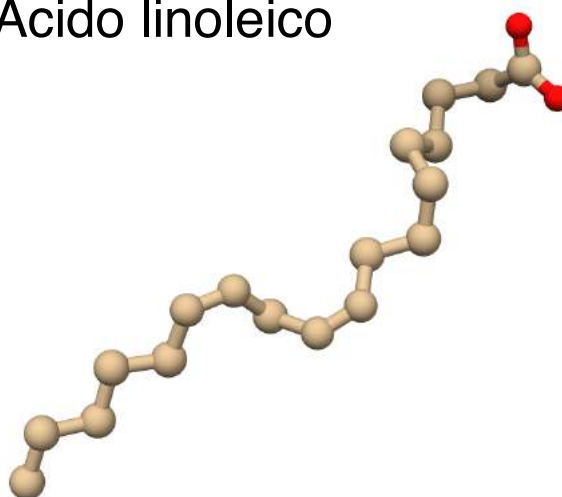
Ácido mirístico



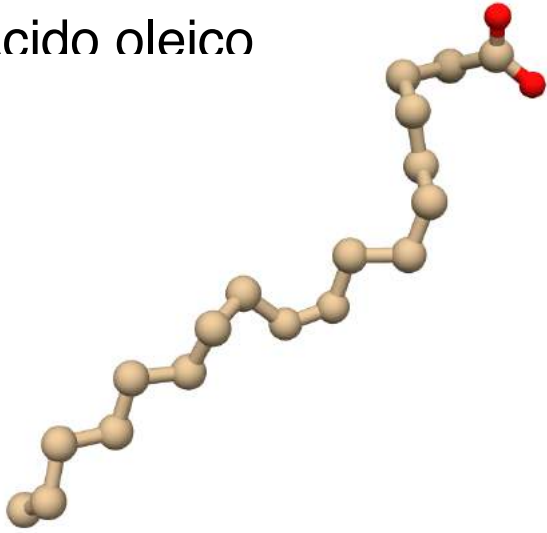
Ácido palmítico



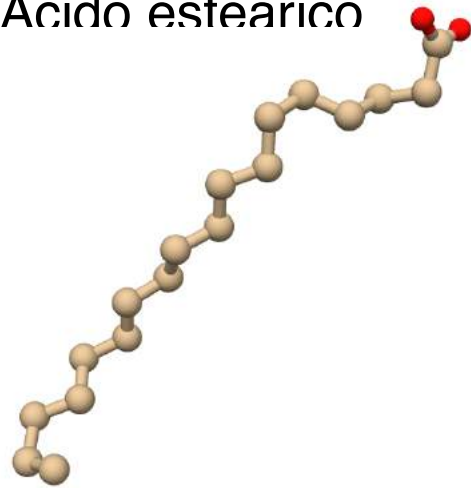
Ácido linoleico



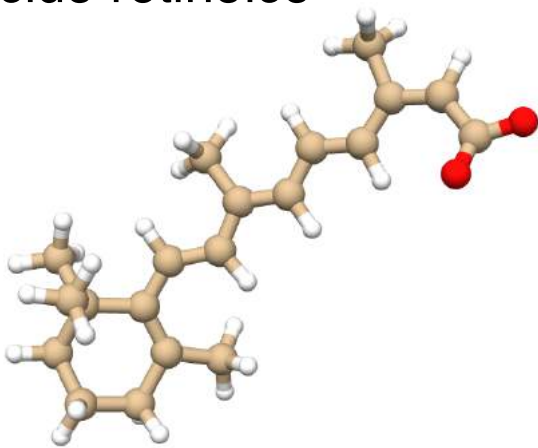
Ácido oleico



Ácido esteárico



Ácido retinoico



Retinol

