

# Dinámica molecular de la interacción enzima-sustrato en complejos de sepiolita funcionalizados

José Manuel Jiménez-Barrera (1\*), Tomás Undabeytia (1), Fernando Madrid (1), Juan Vázquez-Cabello (2), Pablo Llombart (3)

(1) Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología (IRNAS). CSIC, 41012, Sevilla (España)

(2) Facultad de Química. Universidad de Sevilla, 41012, Sevilla (España)

(3) Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid, 28040, Madrid (España)

\* Autor de correspondencia: [josemanuel.j.b@csic.es](mailto:josemanuel.j.b@csic.es)

**Palabras Clave:** Enzima, Arcilla, Inmovilización, Dinámica molecular. **Key Words** Enzyme, Clay, Immobilization, Molecular dynamics.

## INTRODUCCIÓN

Los contaminantes emergentes (**CEs**) comprenden una amplia variedad de compuestos (fármacos, productos de cuidado personal, retardantes de llama, plastificantes, etc.) que representan una amenaza creciente para los ecosistemas acuáticos debido a su alta toxicidad y persistencia, por su difícil eliminación en las plantas de tratamientos de aguas residuales, que es su principal entrada en el medioambiente. Entre las tecnologías auxiliares que pueden incrementar su eliminación se encuentra el uso de enzimas. Entre éstas, las oxidoreductasas son prometedoras para la eliminación por oxidación de estos compuestos, entre las cuales se encuentra la lacasa, la cual ha demostrado su eficacia en la degradación de polifenoles, aminofenoles y arilaminas.

La inmovilización de enzimas, en soportes como minerales de arcilla mejora su estabilidad y eficiencia, pero el proceso puede afectar a la actividad enzimática. La simulación molecular, en particular la dinámica molecular, permite estudiar a nivel microscópico las interacciones entre las enzimas y los soportes, proporcionando información valiosa sobre los aspectos estructurales y energéticos de la inmovilización, responsables de las alteraciones observadas en el comportamiento enzimático. Estas simulaciones pueden ayudar a optimizar el diseño de los sistemas enzimáticos, mejorando su rendimiento en la degradación de CEs. Este enfoque computacional es clave para abordar aspectos que no pueden resolverse únicamente mediante experimentación, lo que abre nuevas posibilidades para el desarrollo de tratamientos más eficaces para la eliminación de CEs.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materiales.

Lacasa de *Aspergillus* sp, (3-aminopropil)trietoxisilano (**APTES**) y glutaraldehído (**GLUT**) fueron obtenidos de Sigma Chemical Co. (St. Louis, Missouri, EEUU). Sepiolita (Pangel S9) fue amablemente suministrada por Tolsa S.A. (Madrid, España).

### Métodos.

La dinámica molecular se realizó a través del software GROMACS. Las topologías de moléculas orgánicas simples se generaron usando Automated Topology Builder & Repository (**ATB**), con el campo de fuerzas *GROMOS 54A7*. La topología de la sepiolita se obtuvo con *ATOM*, una librería de Matlab para construir y manipular sistemas de arcillas con campos de fuerzas como *Clayff* o *Interfaceff* (Holmboe, 2019). La estructura de la lacasa (ID 6F5K) se descargó del Protein Data Bank (**PDB**).

El complejo sepiolita-APTES (**SA**) se sintetizó según descrito en Undabeytia y col. (2019). El complejo sepiolita-APTES-GLUT (**SAG**) se obtuvo mediante la adición de 15 mL de GLUT al 0,1% v/v a 100 mg de SA, permitiendo que la reacción transcurriera durante 1 hora. Tras centrifugación y eliminación del sobrenadante, el complejo resultante se liofilizó.

Se realizó la isoterma de adsorción mediante concentraciones variables de lacasa (1.5  $\mu\text{M}$  – 30  $\mu\text{M}$ ) en contacto con 10 g/L de los complejos SA y SAG. Tras 1 h, se centrifugaron las suspensiones y se determinó en el sobrenadante la concentración de enzima remanente mediante el método de Bradford.

## RESULTADOS Y DISCUSIONES

Se realizaron simulaciones en el colectivo NPT (número de moléculas, presión y temperatura constantes) para estudiar la interacción enzima-sustrato en los complejos SA y SAG. En la Figura 1 se muestra una representación esférica de la enzima, destacando las diferentes zonas de interacción con el sustrato. En el complejo SA se observó una mayor heterogeneidad en la distribución de la energía superficial, con valores más negativos en comparación con el SAG, lo que sugiere interacciones más fuertes con el complejo SA.

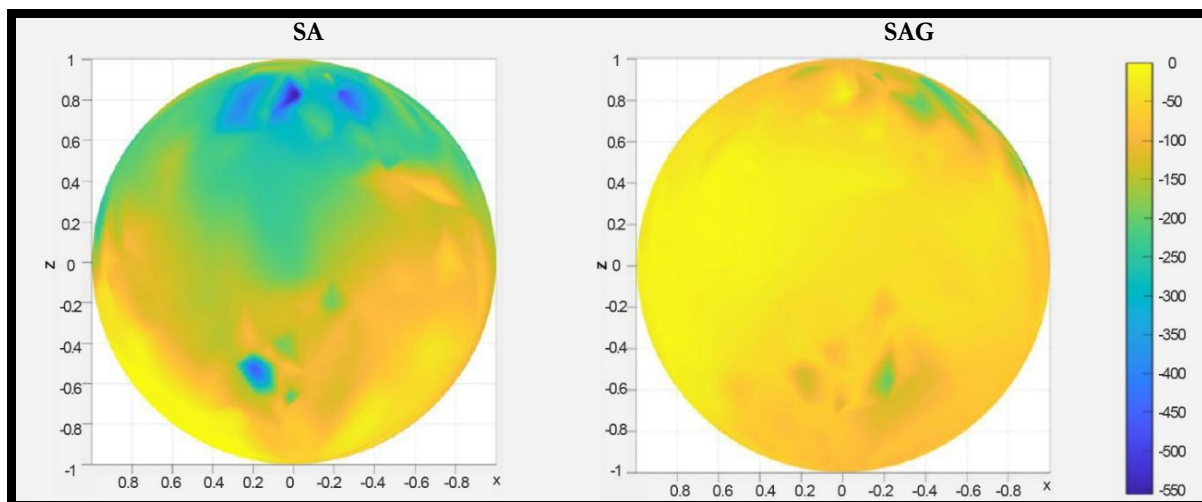


Fig. 1. Mapa esférico de la distribución de energía (KJ/mol) en la interacción enzima-sustrato para los complejos SA (izquierda) y SAG (derecha).

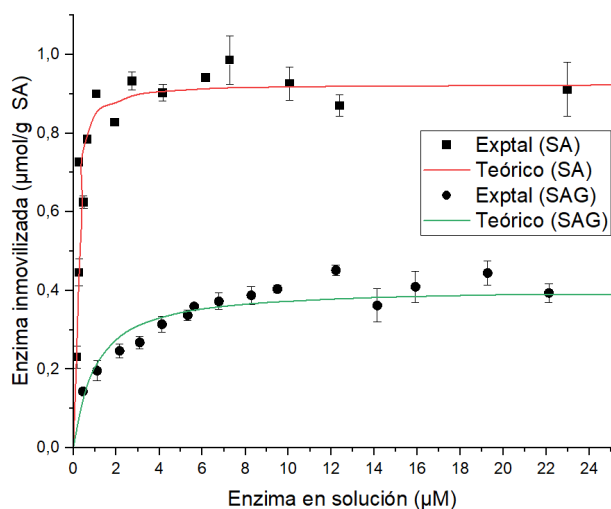


Fig. 2. Isotermas de adsorción de la enzima en SA y SAG. Ajuste teórico según isoterma de Langmuir.

En la isoterma de adsorción de lacasa (Fig. 2), se observó una clara diferencia en la afinidad hacia el sustrato entre los complejos SA y SAG. El complejo SA presentaba una mayor capacidad de adsorción de lacasa, con un valor máximo experimental de adsorción ( $q_{\max}$ ) de 0.91  $\mu\text{mol/g SA}$ . En contraste, el complejo SAG mostraba una capacidad significativamente menor, con un  $q_{\max}$  de 0.39  $\mu\text{mol/g SA}$ .

## CONCLUSIONES

La modelización molecular ha mostrado un excelente ajuste con los resultados experimentales de las isotermas de adsorción, permitiendo una estimación precisa de los datos. Esto proporciona una comprensión más profunda de las interacciones enzima-complejo y abre la posibilidad de estudiar en el futuro las propiedades catalíticas de la enzima inmovilizada.

## AGRADECIMIENTOS

J.M. Jiménez-Barrera agradece un contrato como Personal Técnico de Apoyo financiado por la Unión Europea «Next Generation EU», dentro del Plan de Recuperación, Transformación y Resiliencia (PRTR), Gobierno de España.

## REFERENCIAS

- Holmboe, M. (2019): *Atomr*. A Matlab package for manipulation of molecular systems. *Clays Clay Miner.*, **67**, 419-426.
- Undabeytia, T., Madrid, F., Vázquez, J., Pérez-Martínez, J. (2019): Grafted sepiolites for the removal of pharmaceuticals in water treatment. *Clays Clay Miner.*, **67**, 173-182.