



## EVALUACIÓN DE MODELOS POR HOMOLOGÍA DEL RECEPTOR RDL DE INSECTOS PARA SCREENING VIRTUAL: INFLUENCIA DEL ESTADO CONFORMACIONAL DEL TEMPLADO EN pLGICs

Iván Felsztyna<sup>1,2</sup>, Marcos A. Villarreal<sup>3,4</sup>, Daniel A. García<sup>1,2</sup>, Virginia Miguel<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Dto. de Química. Cátedra de Química Biológica. <sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Biológicas y Tecnológicas (IIByT - CONICET-UNC). <sup>3</sup>Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Químicas. Dto. de Química Teórica y Computacional. <sup>4</sup>Instituto de Investigaciones en Físico-Química de Córdoba (INFIQC – CONICET-UNC).

Los canales iónicos pentaméricos activados por ligando (pLGICs) constituyen una gran familia de receptores transmembrana ampliamente expresados en animales y en algunas bacterias. Esta familia incluye a los receptores del ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), entre otros. El homopentámero de la subunidad RDL es el principal receptor de GABA en el sistema nervioso de los insectos. Este receptor presenta diferencias estructurales con los receptores GABA<sub>A</sub> de vertebrados que le otorgan un comportamiento farmacológico particular. Por ello, el receptor RDL (R-RDL) es uno de los blancos más relevantes para la unión de insecticidas. Debido a las dificultades que implica la cristalización de pLGICs, se ha utilizado en numerosos estudios el modelado por homología para obtener estructuras de estas proteínas y realizar estudios computacionales de su unión a ligandos. Sin embargo, no ha sido estudiado en profundidad el impacto que podría tener el estado conformacional del templado (o estructura molde) en el desempeño del modelo obtenido para un screening virtual. En este trabajo nos proponemos obtener modelos por homología del R-RDL en distintos estados conformacionales y evaluar su desempeño en un screening virtual retrospectivo de insecticidas bloqueantes del canal. Para ello, se obtuvieron quince modelos del R-RDL basados en distintos templados de la familia pLGICs, cuyas estructuras representan los tres estados conformacionales conocidos para estos canales iónicos: cerrado, abierto y desensibilizado. Sobre estos modelos, se realizaron ensayos de docking molecular con un conjunto de ligandos activos e inactivos. Para evaluar el desempeño, se calcularon la curva ROC y los factores de enriquecimiento para cada modelo. Además, se realizaron simulaciones de dinámica molecular



(SDM) de los mejores modelos para cada estado conformacional. Las estructuras iniciales se tomaron de las poses obtenidas para el insecticida fipronil, un compuesto canónico para el sitio de unión. Los parámetros de desempeño mostraron variaciones de acuerdo a los estados conformacionales de los modelos, particularmente en cuanto al enriquecimiento temprano de ligandos activos. Se evaluó la correlación de estos parámetros con distintas variables, con el objetivo de analizar cuáles fueron los factores determinantes para la correcta identificación de ligandos. Se observó que la identidad de secuencia no resultó relevante, mientras que algunas propiedades estructurales del canal, como el área y el volumen accesibles al solvente y el diámetro del poro a la altura de ciertos residuos, pueden dar cuenta de las variaciones en el desempeño. Los mejores resultados se obtuvieron con un modelo basado en un templado en estado conformacional cerrado. El análisis de las SDM confirma que las interacciones entre los residuos del sitio de unión y el insecticida fipronil coinciden con los resultados experimentales disponibles en el modelo cerrado, mientras que no se presentan de manera estable en los otros dos estados conformacionales. Tomando en conjunto estos resultados, puede destacarse que es necesario explorar diversos templados para obtener modelos por homología confiables en este receptor de la familia pLGICs, siendo particularmente relevante el estado conformacional del canal. El modelo que presentó las mejores métricas de desempeño podría ser utilizado en un screening virtual prospectivo de nuevos compuestos insecticidas.

**PALABRAS CLAVES:** pLGICs, receptor RDL, modelado por homología, insecticidas, screening virtual.

# EVALUACIÓN DE MODELOS POR HOMOLOGÍA DEL RECEPTOR RDL DE INSECTOS PARA SCREENING VIRTUAL: INFLUENCIA DEL ESTADO CONFORMACIONAL DEL TEMPLADO EN pLGICs

Iván Felsztyna<sup>1,2</sup>, Marcos A. Villarreal<sup>3,4</sup>, Daniel A. García<sup>1,2</sup>, Virginia Miguel<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Dto. de Química. Cátedra de Química Biológica. <sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Biológicas y Tecnológicas (IBYT - CONICET-UNC). <sup>3</sup>Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Químicas. Dto. de Química Teórica y Computacional. <sup>4</sup>Instituto de Investigaciones en Físico-Química de Córdoba (INFIQC - CONICET-UNC).

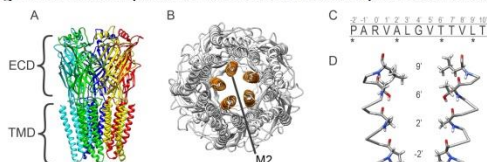
## Introducción

Los canales iónicos pentaméricos activados por ligando (pLGICs) constituyen una gran familia de receptores transmembrana que incluye a los receptores del ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA).

El homopentámero de la subunidad RDL (R-RDL) es el principal receptor de GABA en el sistema nervioso de los insectos.

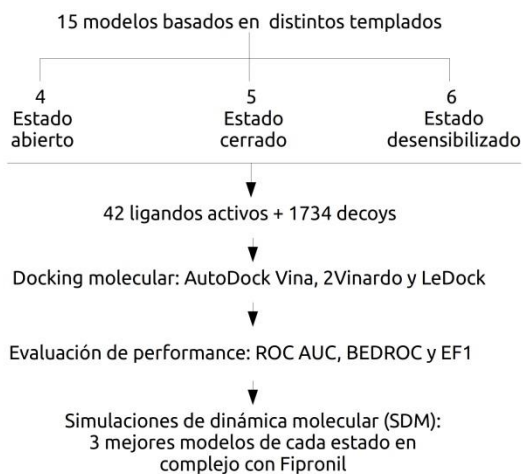
Debido a las dificultades que implica la cristalización de pLGICs, se ha utilizado en numerosos estudios el modelado por homología para obtener sus estructuras y realizar estudios computacionales de su unión a ligandos. Sin embargo, no ha sido estudiado en profundidad el impacto que podría tener el estado conformacional del templado en el desempeño del modelo obtenido para un screening virtual.

En este trabajo nos proponemos obtener modelos por homología del R-RDL en distintos estados conformacionales y evaluar su desempeño en un screening virtual retrospectivo de insecticidas bloqueantes del canal.

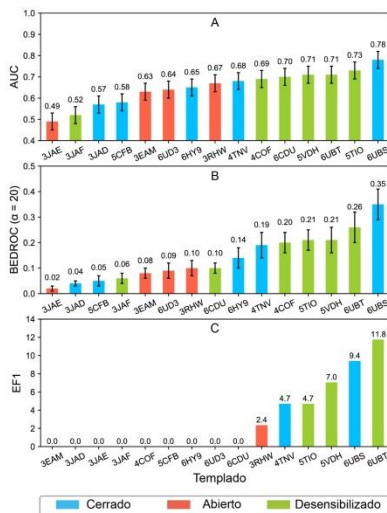


Estructura de un modelo por homología del receptor RDL. A) Vista lateral. B) Vista inferior. C) Secuencia del sitio de unión con los residuos clave marcados con asteriscos. D) Detalle de los residuos del sitio de unión.

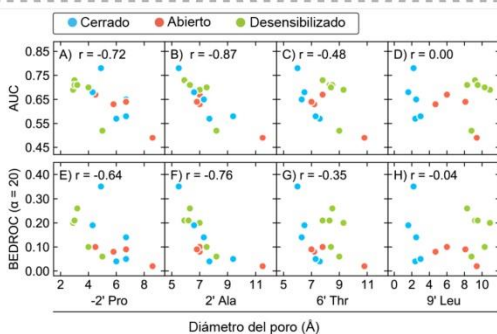
## Metodología



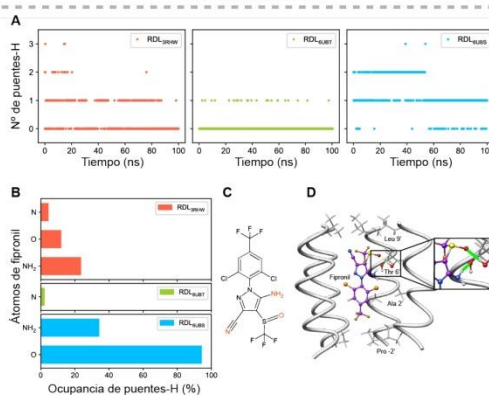
## Resultados



Parámetros de performance del screening virtual retrospectivo con AutoDock Vina en los modelos del receptor RDL. A) Área bajo la curva ROC (AUC). B) BEDROC. C) Factor de enriquecimiento al 1% (EF1). En el eje X se indican los códigos de identificación de los templados en el PDB. Los colores de las barras representan el estado conformacional de los modelos.



Análisis de correlación entre los parámetros AUC y BEDROC y el diámetro del poro a la altura de los residuos clave del sitio de unión: -2'Pro (A y E), 2'Ala (B y F), 6'Thr (C y G) y 9'Leu (D y H). Cada punto representa un modelo y el color indica el estado conformacional. En cada panel se muestra el coeficiente de correlación de Pearson.



Puentes de H entre fipronil y tres modelos del receptor RDL en las SDM. A) Nº de puentes de H entre fipronil y la cadena lateral de 6'Thr. B) Porcentaje de ocupancia de los puentes de H entre átomos del fipronil y los 6'Thr. C) Estructura molecular del fipronil. Los átomos en color rojo corresponden a los indicados en B. D) Imagen de la dinámica molecular del receptor cerrado mostrando los puentes de H con líneas verdes.

## Conclusiones

Los mejores resultados se obtuvieron con un modelo basado en un templado en estado conformacional cerrado.

El análisis de las SDM confirma que las interacciones entre los residuos del sitio de unión y el insecticida fipronil coinciden con los resultados experimentales disponibles en el modelo cerrado, mientras que no se presentan de manera estable en los otros dos estados.

Es necesario explorar diversos templados para obtener modelos por homología confiables en este receptor de la familia pLGICs, siendo particularmente relevante el estado conformacional del canal. El modelo que presentó las mejores métricas de desempeño podría ser utilizado en un screening virtual prospectivo de nuevos compuestos insecticidas.

6to Simposio Argentino de Jóvenes Investigadores en Bioinformática