

# ANÁLISIS DEL SITIO CATALÍTICO EN LACASAS: CLAVES MOLECULARES DEL ACOPLAMIENTO CON LIGANDOS

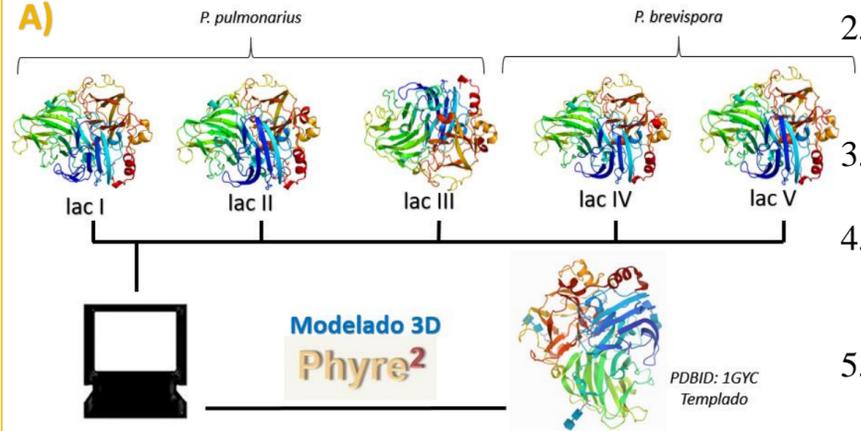
## INTRODUCCIÓN

Las lacasas son enzimas de topología general conservada con un centro de cuatro iones de Cobre (Cu) como sitio catalítico. Las mismas son capaces de catalizar la oxidación de una amplia gama de sustratos. En este contexto, las lacasas de basidiomicetos de pudrición blanca resultan excelentes candidatos biotecnológicos para biodegradar y monitorear compuestos del entorno, sin embargo, son escasos los estudios bioinformáticos relevantes en biotecnología ambiental haciendo uso de los mismos. Las simulaciones de Docking Molecular son una estrategia eficiente para la predicción del acoplamiento proteína-ligando, estando reportado que al disponer de información de sitios ideales (farmacofóricos) del receptor, se mejora considerablemente el docking en términos de precisión y energía.

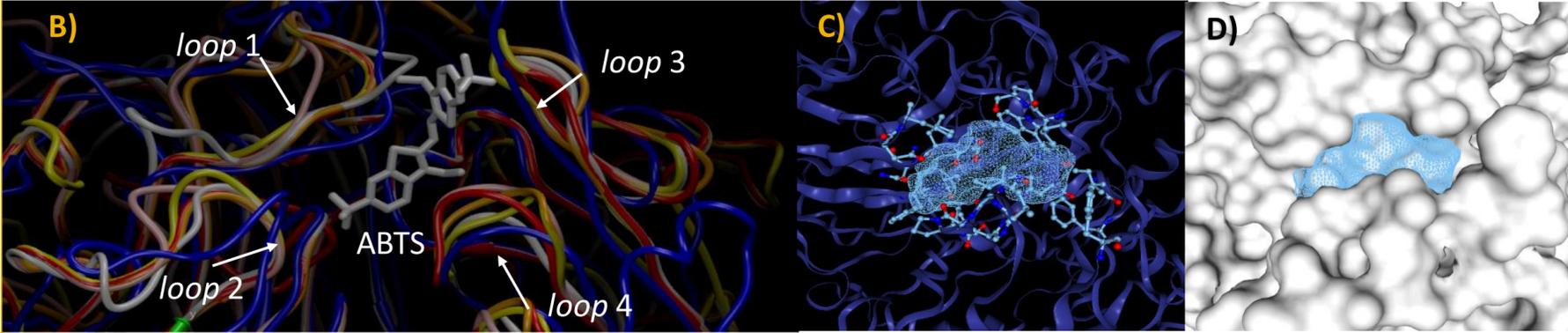
## OBJETIVO

Evaluar cinco lacasas fúngicas provenientes de *Pleurotus pulmonarius* (lac I-III) y *Phlebia brevispora* (lac IV y V), a partir de la caracterización y análisis de los sitios de interacción más probable en cada caso, verificando las conformaciones resultantes del acoplamiento con ABTS.

## METODOLOGÍA



1. Modelado de cada enzima utilizando lacasa de *T. versicolor* "PDBID:1GYC" como templado. (A)
2. Caracterización de ambiente aminoacídico (*loops*) en T<sub>1</sub> mediante alineamiento con lacasa co-cristalizada con ABTS "PDBID: 3ZDW" (B)
3. Validación del *pocket* T<sub>1</sub> utilizando DogSiteScorer y CASTp 3.0 visualizado en formato cinta (C) y superficie (D).
4. Cálculo de sitios farmacofóricos mediante módulo *ideal\_sites.py* de AutoDockTools disponible dentro del paquete MGLTools1.5.7
5. Evaluación del acoplamiento ABTS-3ZDW y ABTS-lacasas con y sin los sesgos.



## RESULTADOS

Re-docking convencional (sin sesgos) **-5,84 kcal/mol**

Re-docking convencional y sesgado (sitios ideales) en lacasa cristalizada con ABTS (3ZDW)

Re-docking sesgado **-7,31 kcal/mol**

Principales sitios identificados:

1° Sitio aceptores de electrones

2° Ubicado en coordinación con la His del sitio T<sub>1</sub>.

3° Sitio Hidrofóbico

Acoplamiento lacasa II-ABTS **-9,91 kcal/mol**

Acoplamiento lacasa IV-ABTS **-9,41 kcal/mol**

Ensayos de docking sesgado en lacasas. Se presentan aquellas con mayor energía de afinidad.

- ✓ Se identificaron tres principales sitios ideales en el *pocket* T<sub>1</sub>.
- ✓ El re-docking con sesgos en 3ZDW mejoró considerablemente en términos energéticos.
- ✓ Dos lacasas en estudio, lograron las mejores energías de afinidad utilizando éstos nuevos parámetros.

## CONCLUSIÓN

Éstos resultados sientan las bases para la identificación de rasgos estructurales determinantes de la afinidad en estas lacasas fúngicas con el fin de mejorar su capacidad de unión a sustratos.