

# Integración de datos ómicos para la priorización de Blancos Moleculares

Darío A. Fernández Do Porto

Instituto de Cálculo  
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA.  
✉ dariofd@gmail.com

# Los patógenos contraatacan



Pathogens

La resistencia a antibióticos amenaza la prevención y el tratamiento de un rango incremental de infecciones causadas por un amplio rango de bacterias, parásitos y hongos.

Los costos de pacientes con infecciones resistentes son elevados debido a la mayor prolongación de las infecciones, la necesidad de exámenes adicionales y el uso de drogas más costosas.

Globalmente 480 000 personas contraen TB multirresistente cada año.

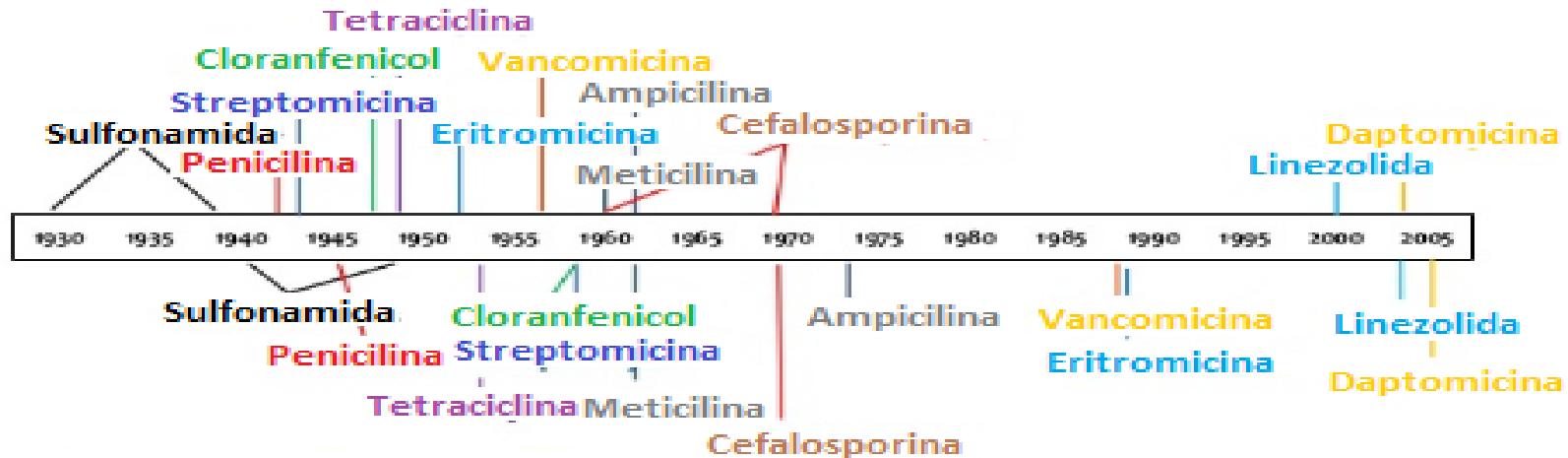


World Health Organization

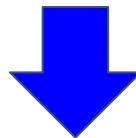
# Aparición de cepas resistentes

## Línea de tiempo de resistencia a antibiótico

### Utilización de antibiótico

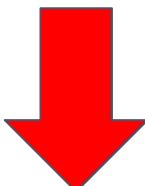
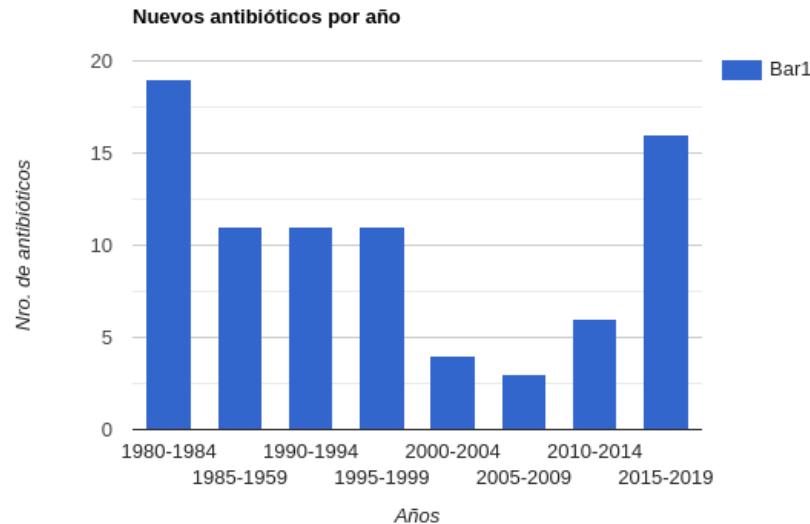
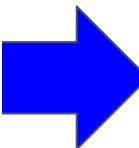
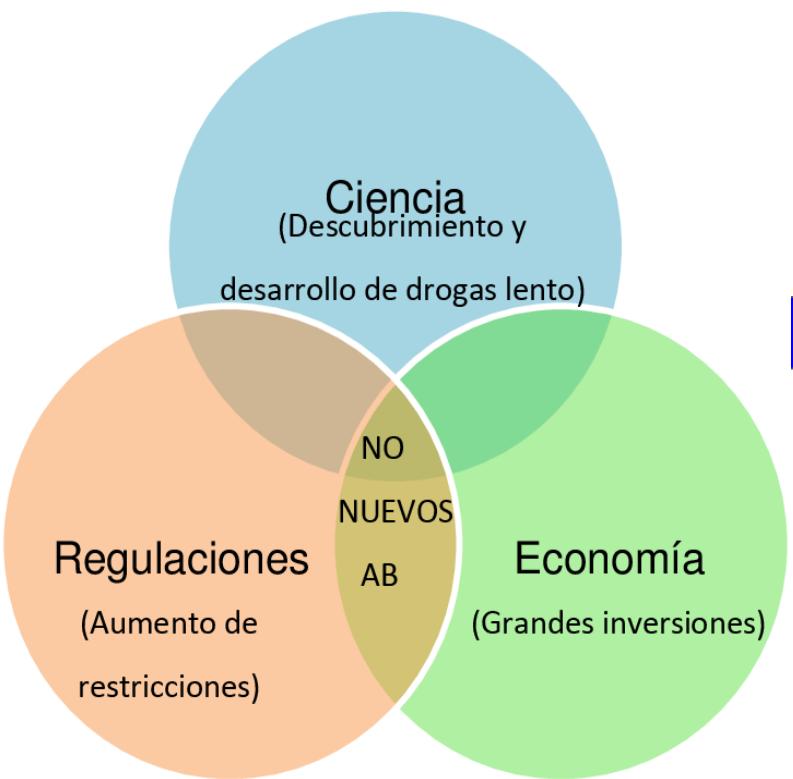


### Resistencia a antibiótico observada



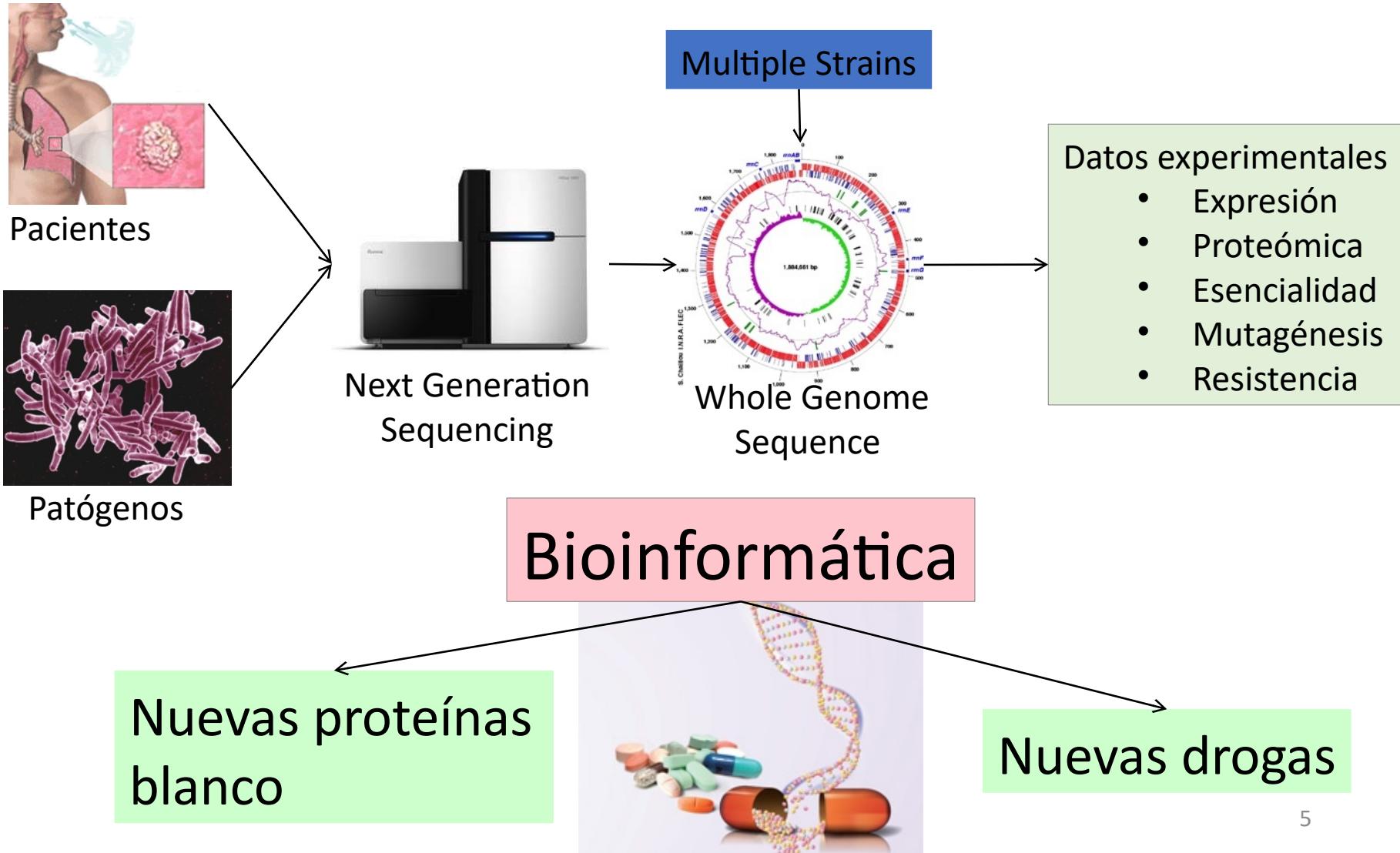
Necesidad de nuevos antibióticos.

# El desarrollo de nuevos fármacos no acompaña el surgimiento de cepas resistentes

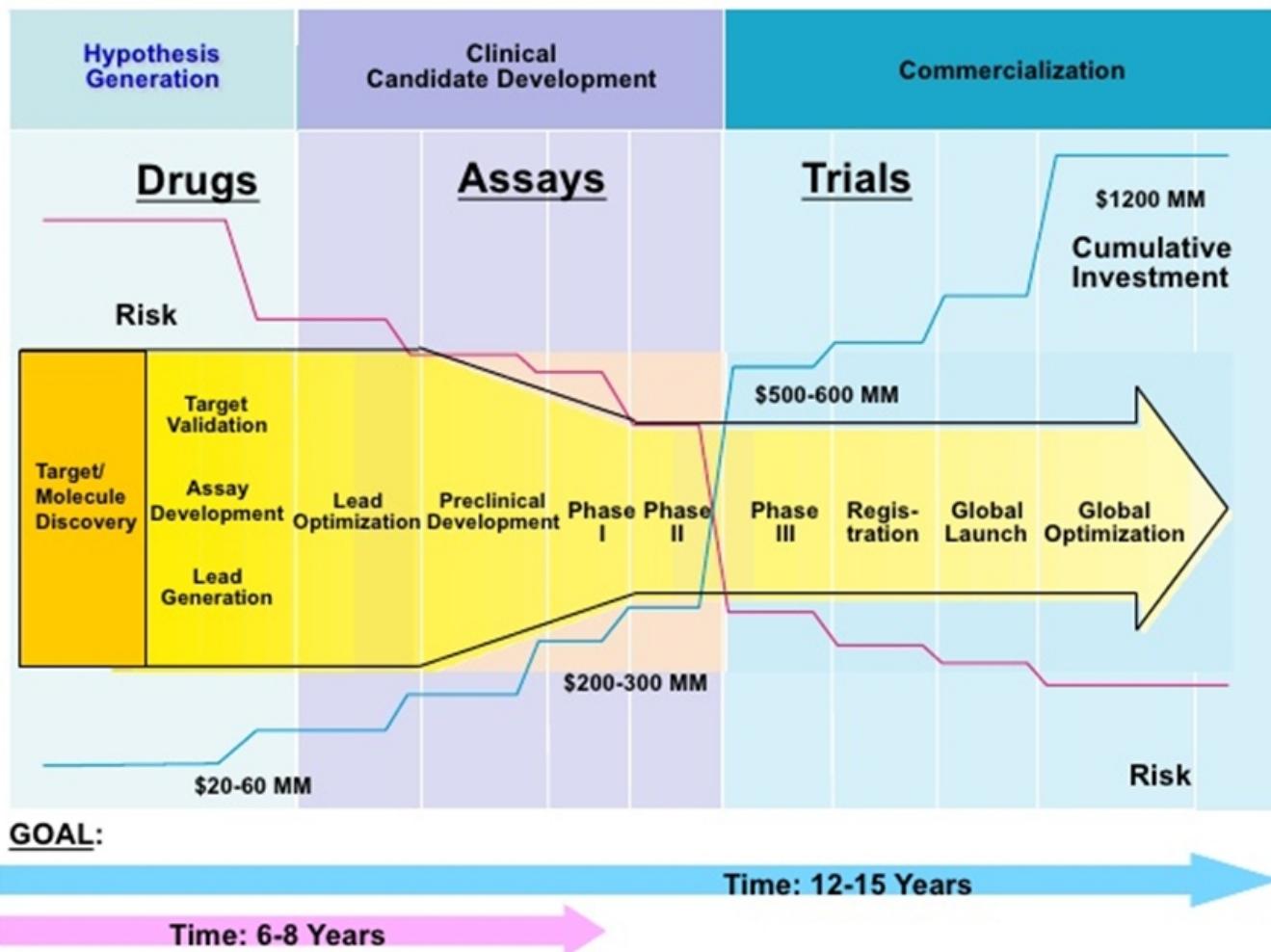


Nuevas estrategias eficaces que  
ahorren recursos y esfuerzos.

# Nuevas tecnologías y nuevos paradigmas



# Desarrollo de fármacos



# A qué llamamos Blanco Molecular?



**blanco molecular** puede definirse como el lugar del organismo donde un fármaco ejerce su acción



# ¿Qué características tiene que tener una proteína para ser un blanco molecular?

La proteína blanco debe ser relevante biológicamente para nuestro propósito:

Ejemplo: Regular un proceso vital en bacterias

El blanco elegido tiene que ser “drogable”, es decir capaz de ser modulada por un compuesto tipo droga

.

# Blancos moleculares en patógenos

## Qué tipo de datos?

Genómica



Criterio *off-target*.  
Esencialidad.  
Otros

Reconstrucción metabólica



Predicción de reacciones y vías metabólicas  
chokepoints  
centralidad

Transcriptómica



Expresión  
diferencial

Estructurómica



Drogabilidad estructural  
Sitios catalíticos  
Residuos conservados

Experimentos a escala  
genómica



Esencialidad

# Blancos moleculares en patógenos

## Qué tipo de datos?

Genómica



Criterio *off-target*.  
Esencialidad.  
Otros

Reconstrucción metabólica



Predicción de reacciones y vías metabólicas  
chokepoints  
centralidad

Transcriptómica



Expresión  
diferencial

Estructurómica



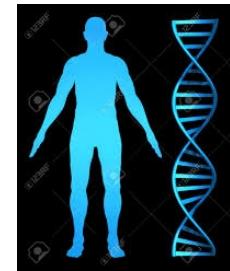
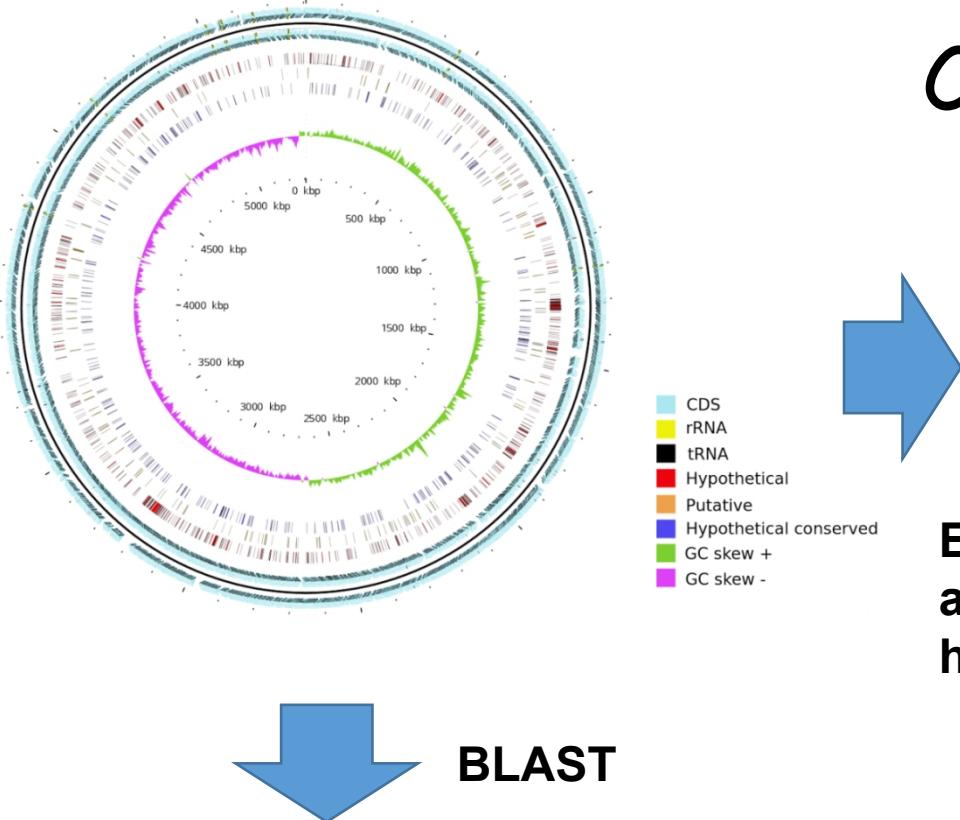
Drogabilidad estructural  
Sitios catalíticos  
Residuos conservados

Experimentos a escala  
genómica



Esencialidad

# Criterio off-target

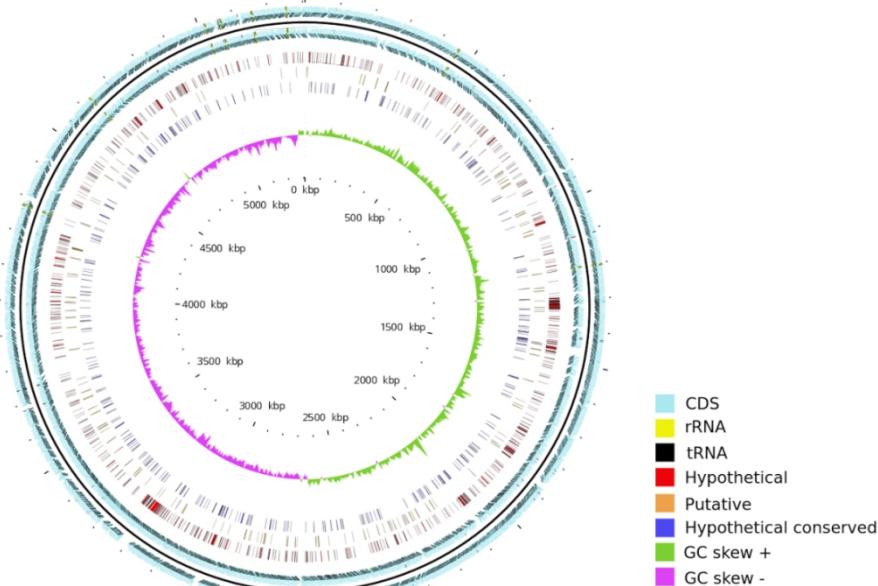


Está la proteína blanco altamente representada en el hospedador?



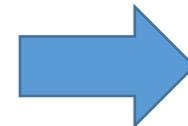
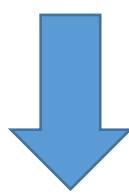
Está la proteína blanco altamente representada en los organismos del microbioma?

# Esencialidad



E-value inferior a  $10^{-5}$

Esencial



BBH (BLASTp)

DEG

# Blancos moleculares en patógenos

## Qué tipo de datos?

Genómica



Criterio *off-target*.  
Esencialidad.  
Otros

Reconstrucción metabólica



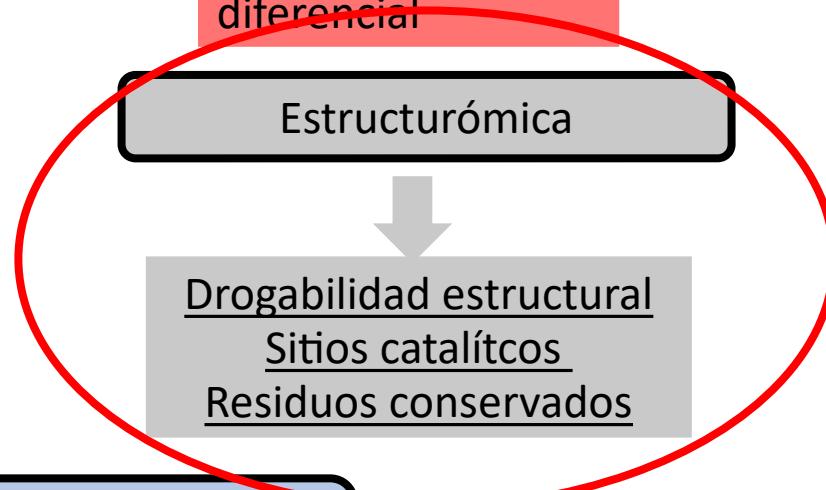
Predicción de reacciones y vías metabólicas  
chokepoints  
centralidad

Transcriptómica



Expresión  
diferencial

Estructurómica



Experimentos a escala  
genómica



Esencialidad

Cómo determinar la drogabilidad  
de una proteína.

# Qué es la drogabilidad?

- Es la habilidad de una proteína de unirse a un compuesto tipo droga en un pocket relevante



# Cómo obtener el estructuroma completo?

**RCSB PDB**  
PROTEIN DATA BANK

CONTACT US | HELP | PRINT PAGE      PDB ID or keyword      Author      Site Search | Advanced Search

**Home** **Search**

**Home**  
**Getting Started**  
**Download Files**  
**Deposit and Validate**  
**Structural Genomics**  
**Dictionaries & File Formats**  
**Software Tools**  
**General Education**  
**Site Tutorials**  
**BioSync**  
**General Information**  
**Acknowledgements**  
**Frequently Asked Questions**  
**Report Bugs/Comments**

**Quick Tips:**     
Click [here](#) to see structures released this week.

**Are you missing data updates? The PDB archive has moved to <ftp://ftp.wwpdb.org>. For more information click [here](#).**

## Welcome to the RCSB PDB

The RCSB PDB provides a variety of tools and resources for studying the structures of biological macromolecules and their relationships to sequence, function, and disease.

The RCSB is a member of the [wwPDB](#) whose mission is to ensure that the PDB archive remains an international resource with uniform data.

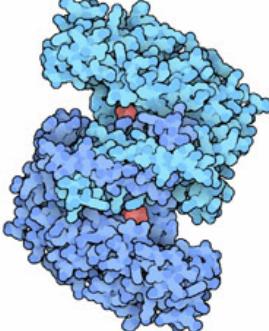
This site offers tools for browsing, searching, and reporting that utilize the data resulting from ongoing efforts to create a more consistent and comprehensive archive.

Information about compatible browsers can be found [here](#).

A [narrated tutorial](#)  illustrates how to search, navigate, browse, generate reports and visualize structures using this new site. [This requires the Macromedia Flash player download.]

**Comments?** [Info@rcsb.org](mailto:Info@rcsb.org)

### Molecule of the Month: Citrate Synthase



Your body burns up a lot of food every day. However, cells don't burn food like a fireplace. Instead, food molecules are combined with oxygen molecules one-by-one, in many carefully controlled steps. In this way, the energy that is released can be captured in convenient forms, like ATP or NADH, which are then used elsewhere to power essential cellular functions. Our cells get most of their energy from a long series of reactions that combine oxygen and glucose, forming carbon dioxide and water, and creating lots of ATP and NADH in the process.

[More ...](#)  
[Previous Features](#)

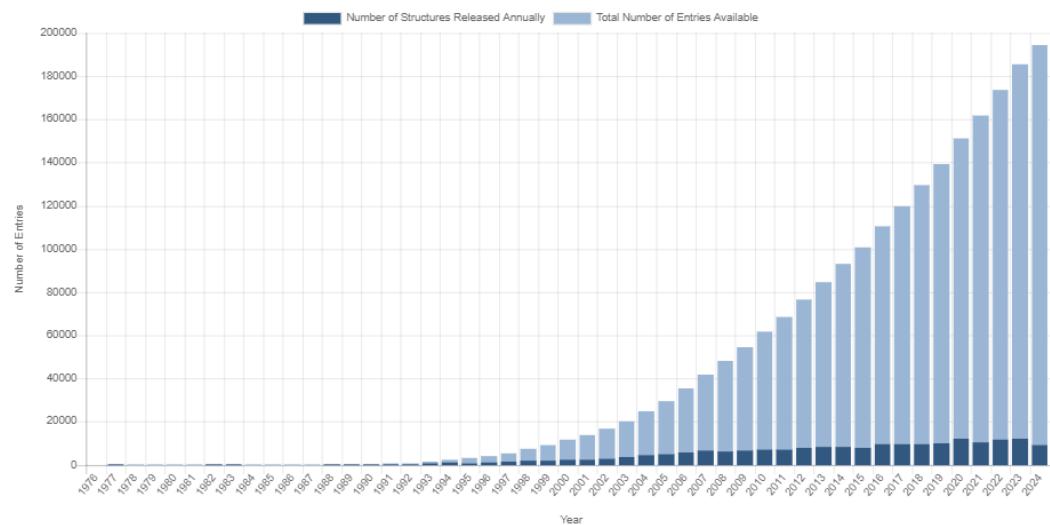
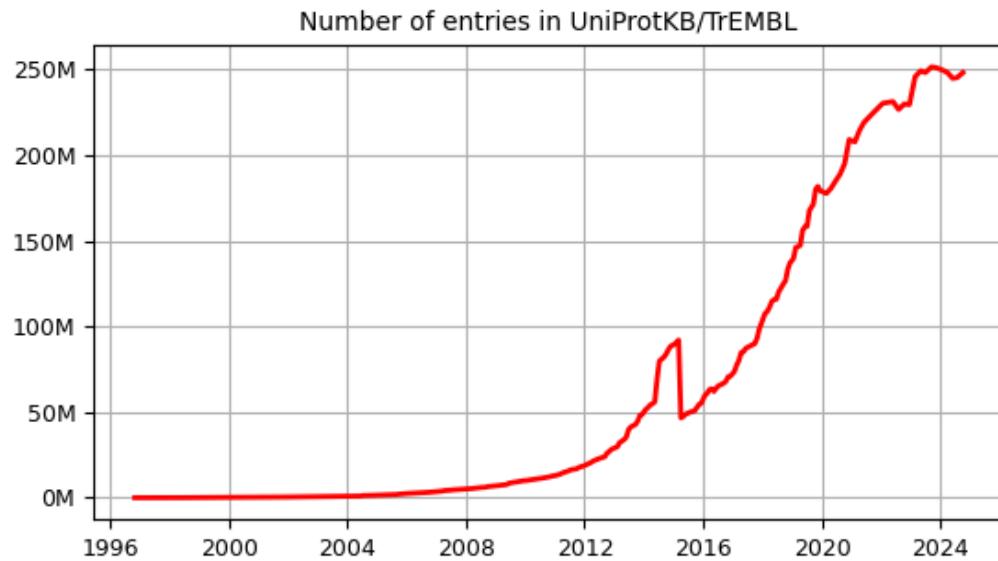
**A MEMBER OF THE  PDB**  
An Information Portal to Biological Macromolecular Structures  
As of Tuesday Sep 18, 2007  there are 45865 Structures  | [PDB Statistics](#) 

**News**  
[Complete News](#)  
[Newsletter](#)  
[Discussion Forum](#)

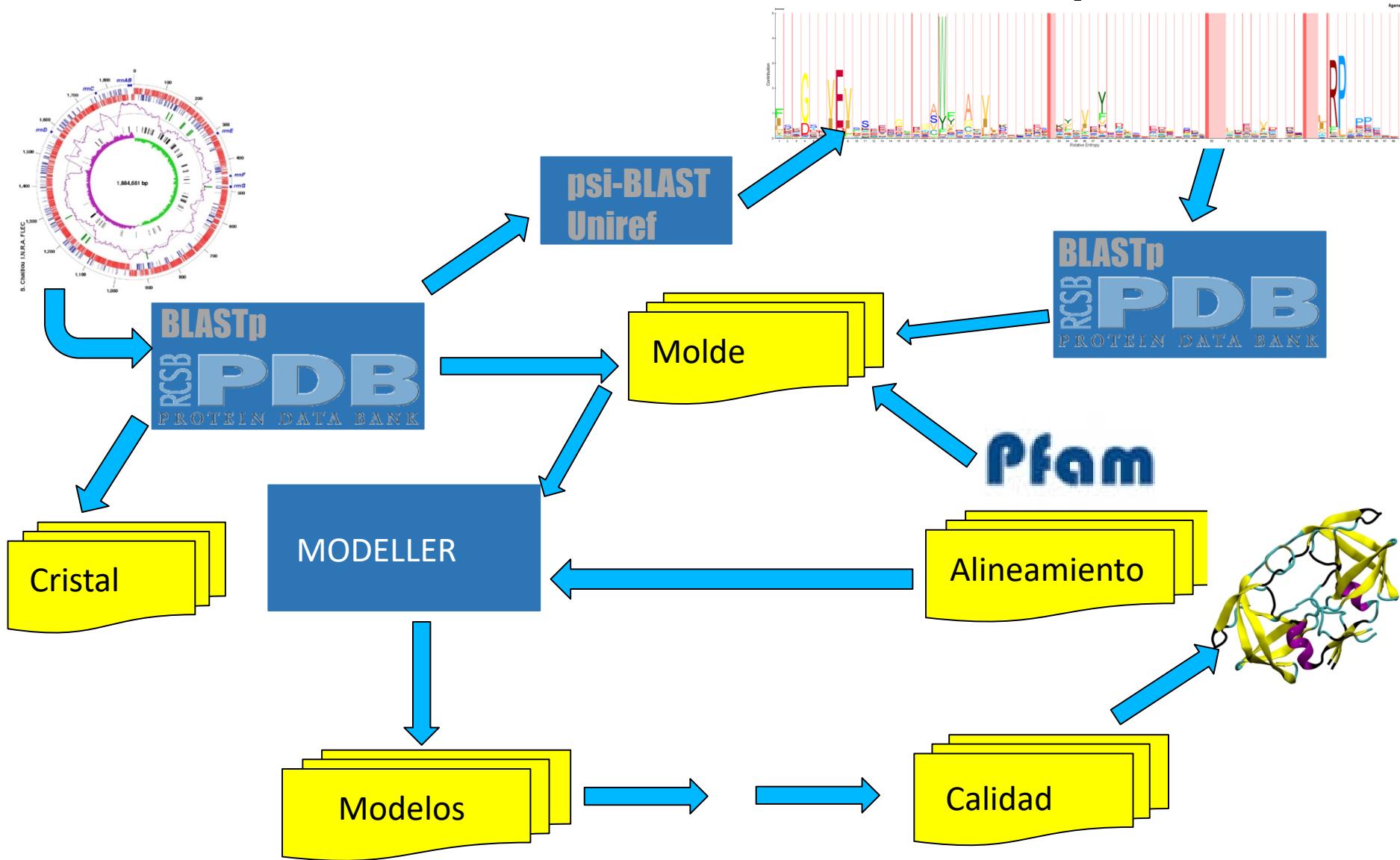
18-September-2007  
**PDB Data Summaries**  
Various summaries of current data in the PDB archive are available through the /pub/pdb/derived\_data directory of the FTP site at <ftp://ftp.wwpdb.org>.  
[Full article ...](#)

11-September-2007  
**RCSB PDB Poster Prize Awarded, Art of Science shown at ISMB Meeting**  
[Full article ...](#)

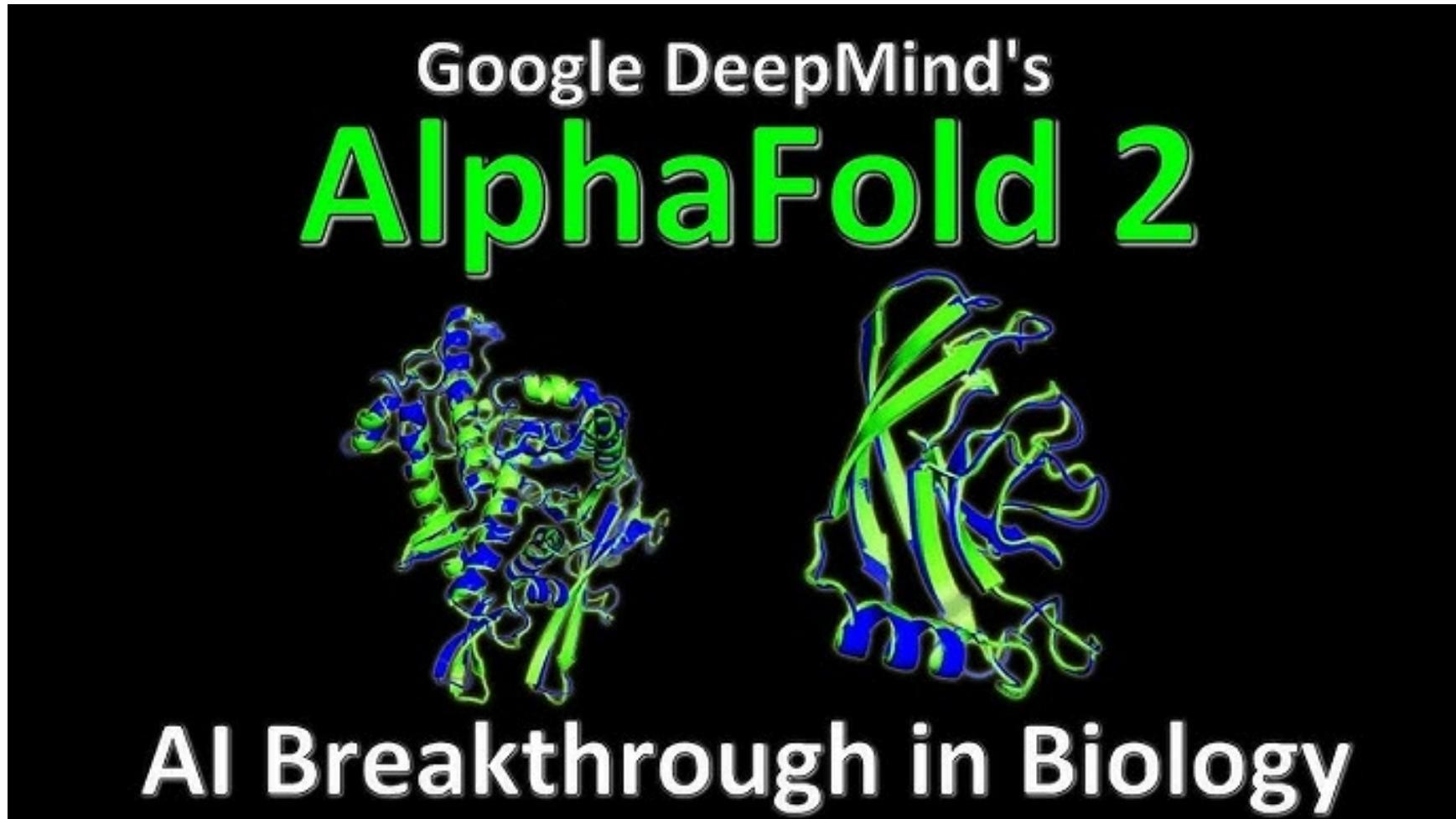
# Cómo obtener el estructuroma completo?



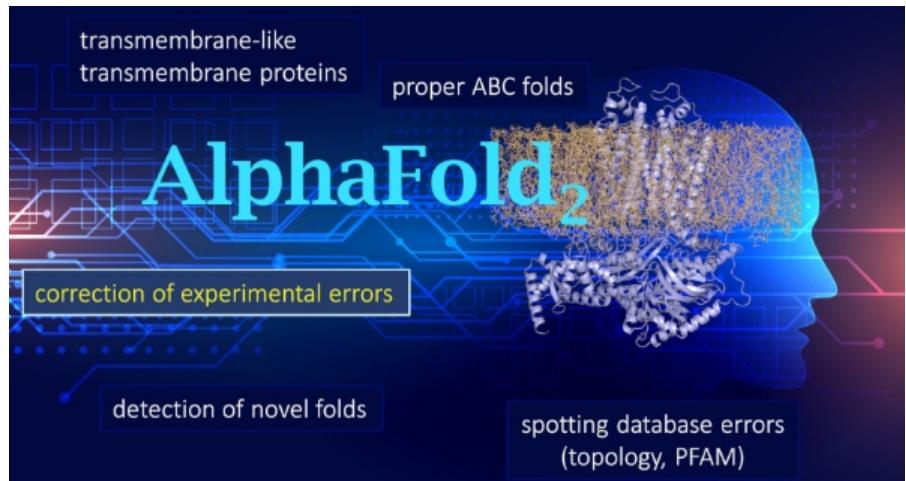
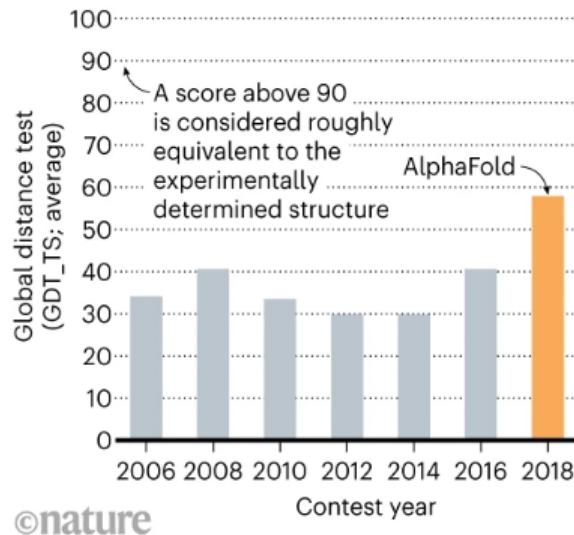
# Predictión de la estructura proteica



# Predicción de la estructura proteica



# La primera participación de AlphaFold en CASP: Un avance significativo, pero con margen de mejora



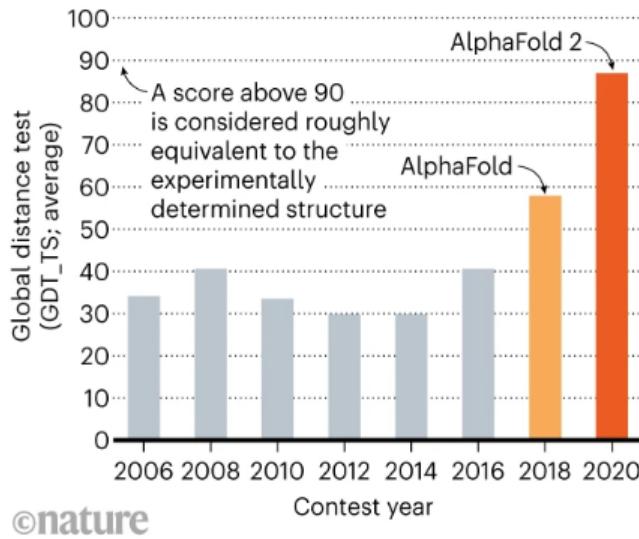
Año: 2018

Concurso: Critical Assessment of Protein Structure Prediction (CASP) 13.

Logro: AlphaFold predijo la estructura de proteínas con una precisión sin precedentes, superando a otros métodos.

Limitaciones: A pesar del avance significativo, AlphaFold no alcanzó la precisión deseada en algunas estructuras de proteínas complejas.

# La incorporación de biólogos impulsa el rendimiento de AlphaFold



©nature



**Año:** 2020

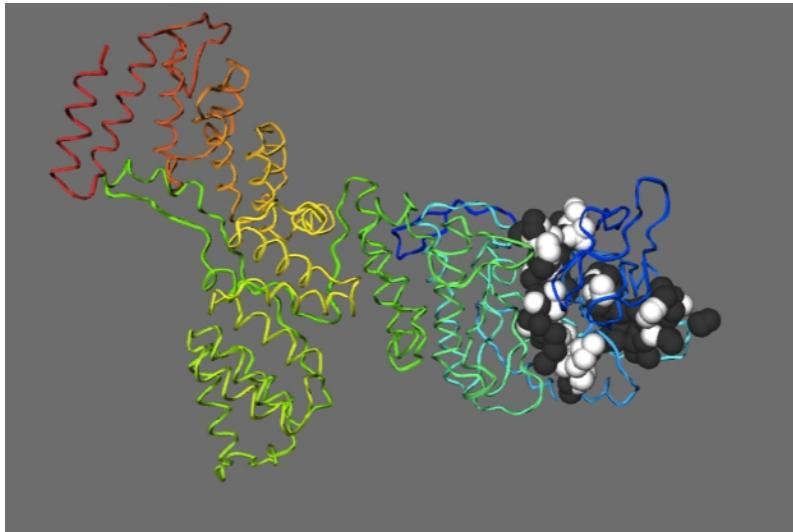
**Concurso:** Critical Assessment of Protein Structure Prediction (CASP) 14.

**Colaboración:** Tras la participación inicial en CASP, DeepMind incorporó biólogos al equipo de desarrollo de AlphaFold.

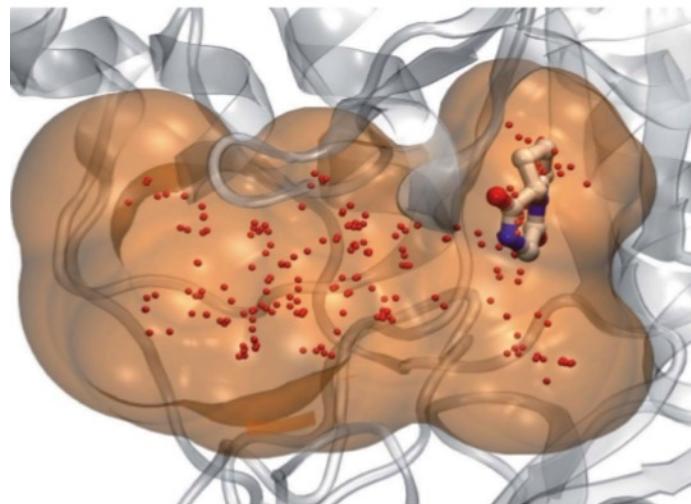
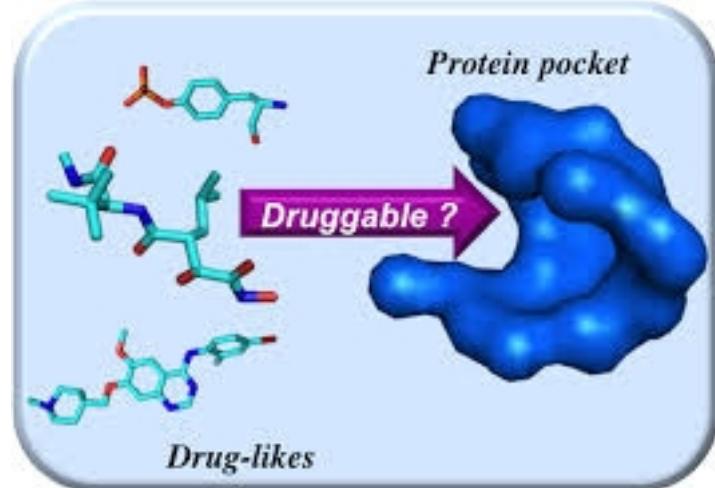
**Logro:** AlphaFold-2 predijo la estructura de proteínas la cual logró una mejora significativa en la precisión casi comparable con la experimental.

# Cómo podemos seleccionar una proteína que se une a un compuesto tipo droga

Find pockets?

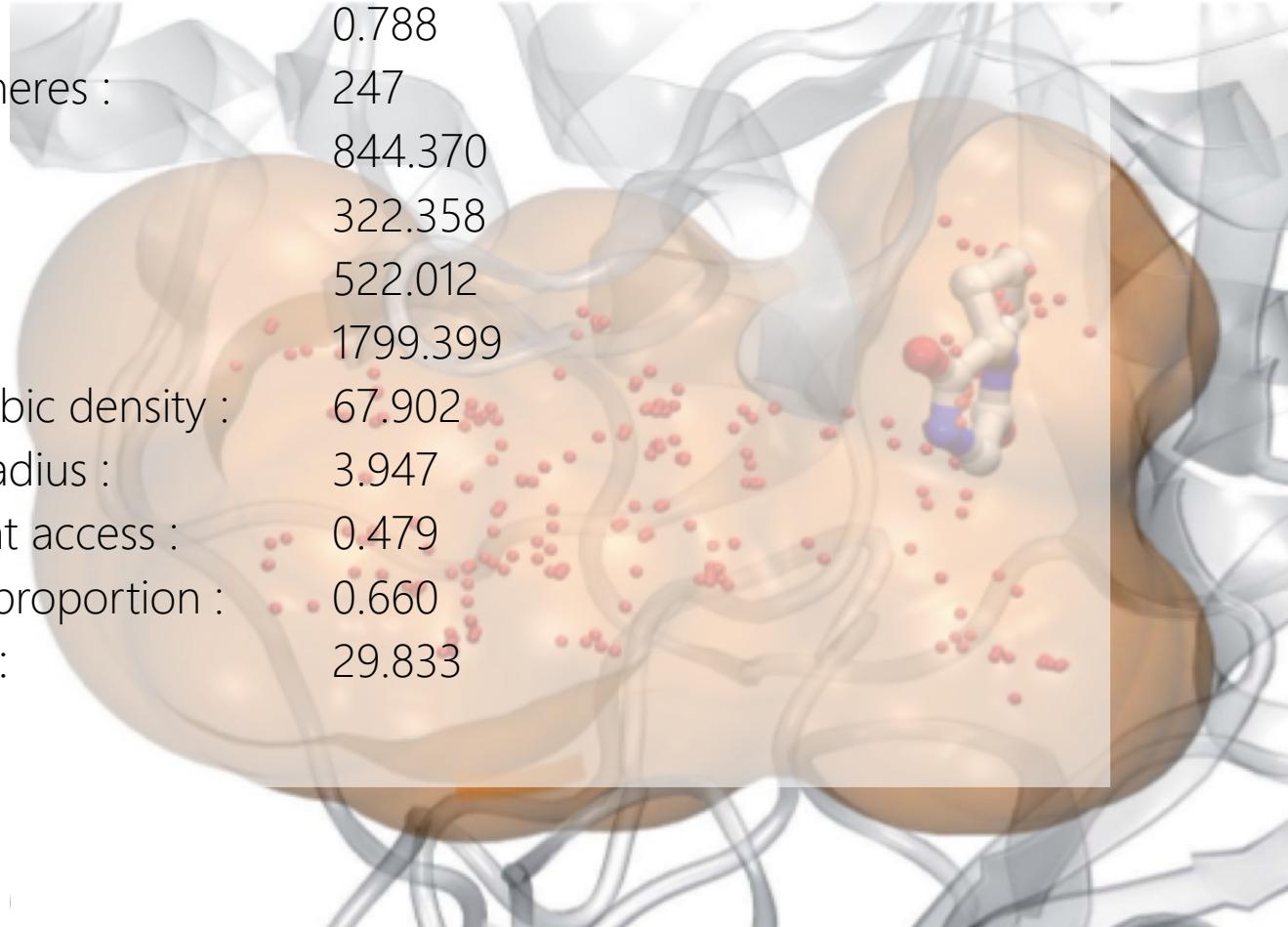


Concept of Druggability



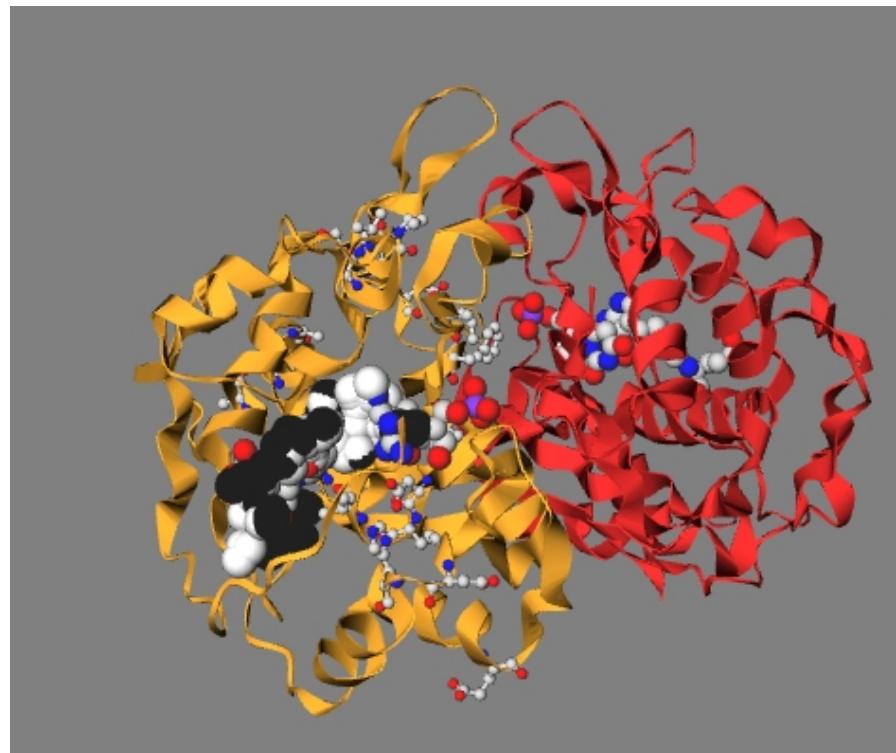
# Una vez identificadas las cavidades... se describen

- Druggability Score : 0.788
- Number of Alpha Spheres : 247
- Total SASA : 844.370
- Polar SASA : 322.358
- Apolar SASA : 522.012
- Volume : 1799.399
- Mean local hydrophobic density : 67.902
- Mean alpha sphere radius : 3.947
- Mean alp. sph. solvent access : 0.479
- Apolar alpha sphere proportion : 0.660
- Hydrophobicity score: 29.833



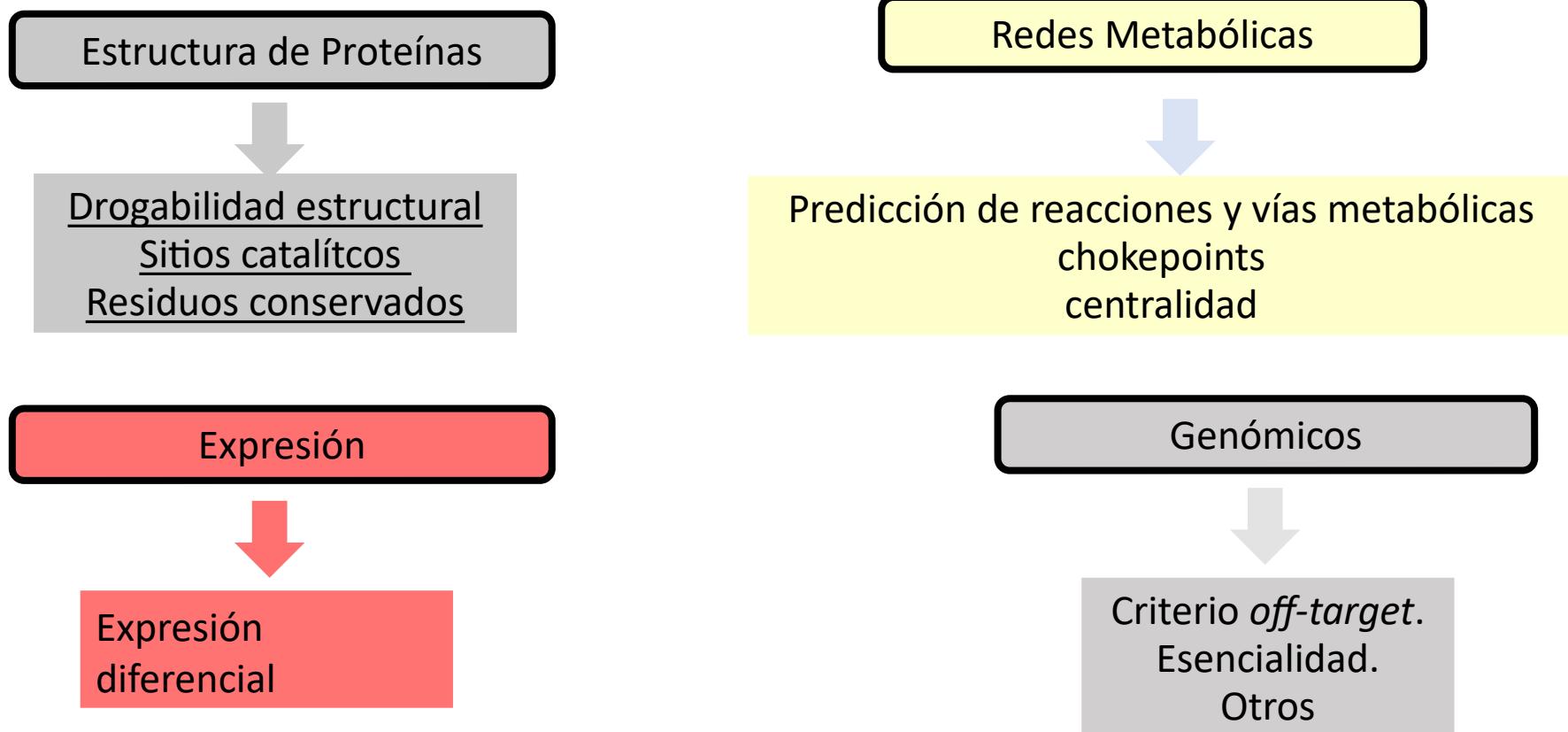
# Residuos relevantes

- Residuos catalíticos: CSA, Catalytic Site Atlas
- Residuos de unión a ligandos
- Residuos conservados



# Blancos moleculares en patógenos

## Qué tipo de datos?



# Blancos moleculares en patógenos

## Qué tipo de datos?

Genómica



Criterio *off-target*.  
Esencialidad.  
Otros

Reconstrucción metabólica



Predicción de reacciones y vías metabólicas  
chokepoints  
centralidad

Transcriptómica



Expresión  
diferencial

Estructurómica



Drogabilidad estructural  
Sitios catalíticos  
Residuos conservados

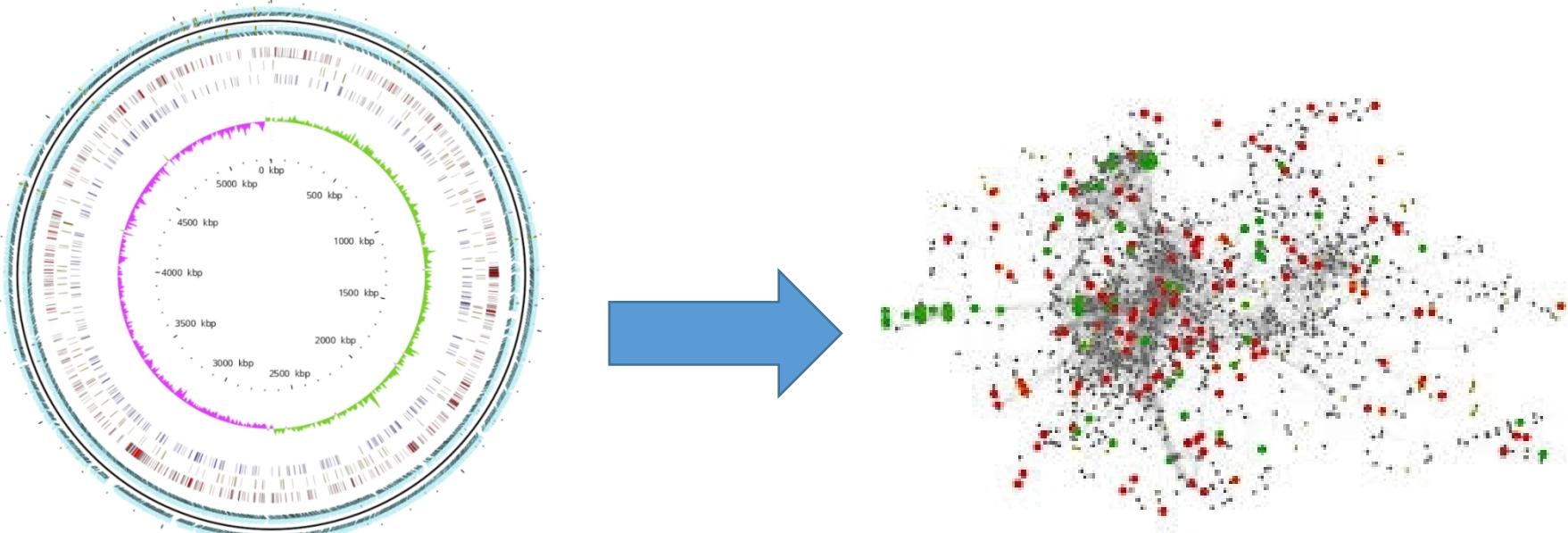
Experimentos a escala  
genómica



Esencialidad

# Redes metabólicas.

# Información contextual Redes metabólicas



```

/db_xref="GI:489012776"
complement(25467..26795)
/locus_tag="KP13_RS01015"
/old_locus_tag="KP13_00073"
complement(25467..26795)
/locus_tag="KP13_RS01015"
/old_locus_tag="KP13_00073"
/EC_number="2.1.3.1"
/inference="EXISTENCE: similar to AA
sequence:RefSeq:WP_002923300.1"
/note="Derived by automated computational analysis using
gene prediction method: Protein Homology."
/codon_start=1
/transl_table=11
/product="D-serine dehydratase"
/protein_id="WP_025367793.1"
/db_xref="GI:644796042"

```

**2.1.3.1**

Methylmalonyl-CoA carboxytransferase

Carboxy- y carbamoyltransferasas

Transferasa de un grupo de carbono

Transferasa

# Pathway Tools

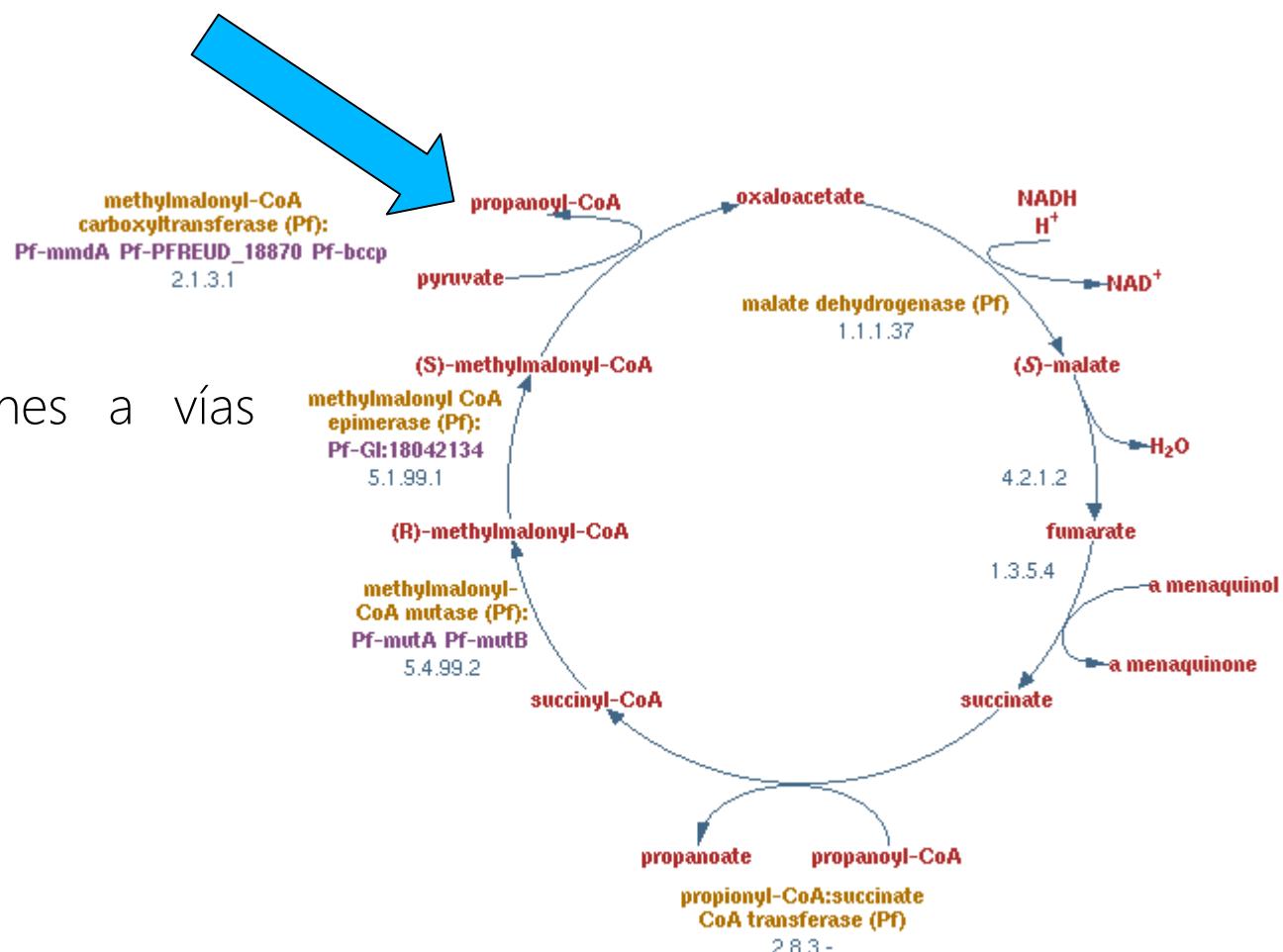


- Reconstruye la red metabólica de un organismo a partir de un diccionario que asigna un E.C. a una reacción.

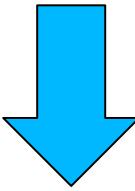


Grupo	Reacción catalizada	Reacción típica
EC 1 <i>Oxidorreductasas</i>	Reacciones de oxidación/reducción y de transferencia de átomos de H, O o electrones desde una substancia a otra.	AH + B → A + BH (reducido) A + O → AO (oxidado)
EC 2 <i>Transferasas</i>	Transferencia de un grupo funcional desde una substancia a otra. El grupo puede ser metil-, acil-, amino- o fosfato.	AB + C → A + BC
EC 3 <i>Hidrolasas</i>	Formación dos productos de un substrato por hidrólisis.	AB + H <sub>2</sub> O → AOH + BH
EC 4 <i>Lisas</i>	Adición o eliminación no hidrolítica de grupos de los substratos. Pueden romper los enlaces C-C, C-N, C-O o C-S.	RCOCOOH → RCOH + CO <sub>2</sub>
EC 5 <i>Isomerasas</i>	Isomerización de una molécula.	AB → BA
EC 6 <i>Ligasas</i>	Unión de dos moléculas por síntesis de nuevos enlaces C-O, C-S, C-N o C-C con la rotura simultánea de ATP.	X + Y+ ATP → XY + ADP + Pi

# Pathway Tools



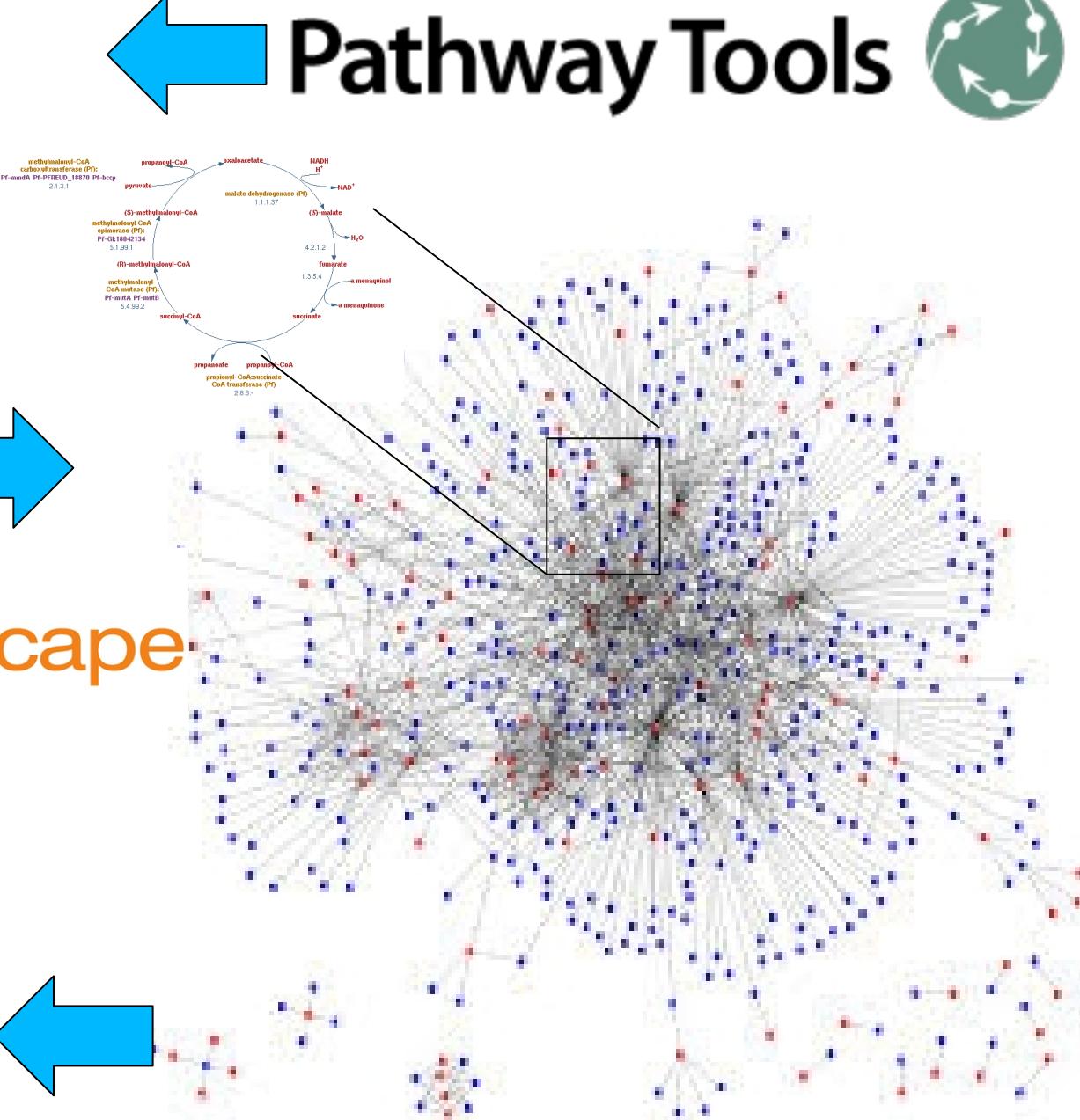
- ... y asigna reacciones a vías metabólicas.



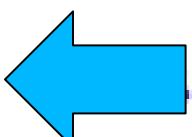
.sif



Cytoscape

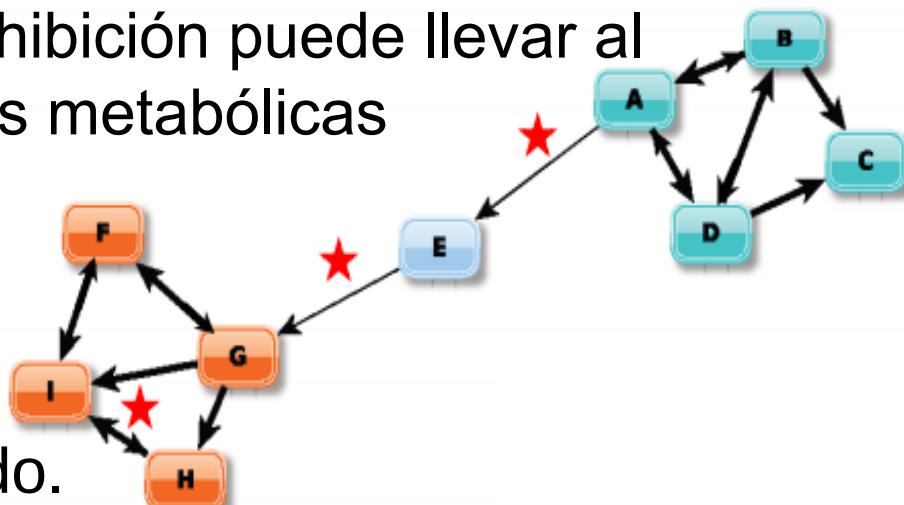


Métricas y  
parámetros del  
grafo



# Qué define la importancia de un nodo?

**Centralidad:** Medida que cuantifica la frecuencia o el número de veces que un nodo actúa como intermediando a lo largo del camino más corto entre todos los pares de nodos. Su atractivo reside en que su inhibición puede llevar al desequilibrio de distintas vías metabólicas de manera simultánea



**Grado:** Es la cantidad de conexiones que tiene un nodo.

**“Choke-points”:** Reacciones con la característica de ser las únicas capaces de consumir o producir un metabolito determinado, por lo que su inhibición implicaría la acumulación de compuestos potencialmente tóxicos o la carencia de metabolitos posiblemente esenciales.

# Blancos moleculares en patógenos

## Qué tipo de datos?

Genómica



Criterio *off-target*.  
Esencialidad.  
Otros

Reconstrucción metabólica



Predicción de reacciones y vías metabólicas  
chokepoints  
centralidad

Transcriptómica



Expresión  
diferencial

Estructurómica



Drogabilidad estructural  
Sitios catalíticos  
Residuos conservados

Experimentos a escala  
genómica



Esencialidad

# Transcriptómica.

# Transcriptómica

La transcriptómica es el estudio de **transcriptomas**. Es decir, los conjuntos de las diferentes especies de RNA (incluyendo mRNA, rRNA, tRNA, y otros RNA no codificantes) transcriptos en una célula o una población celular en un momento dado.

En qué casos se pueden utilizar estos datos para determinar blancos?

Para qué se utilizan los datos de expresión?

# Blancos moleculares en patógenos

## Qué tipo de datos?

Genómica



Criterio *off-target*.  
Esencialidad.  
Otros

Reconstrucción metabólica



Predicción de reacciones y vías metabólicas  
chokepoints  
centralidad

Transcriptómica



Expresión  
diferencial

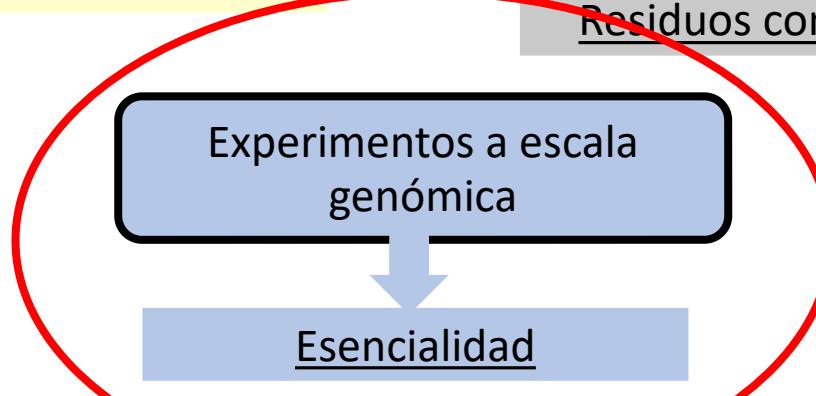
Estructurómica



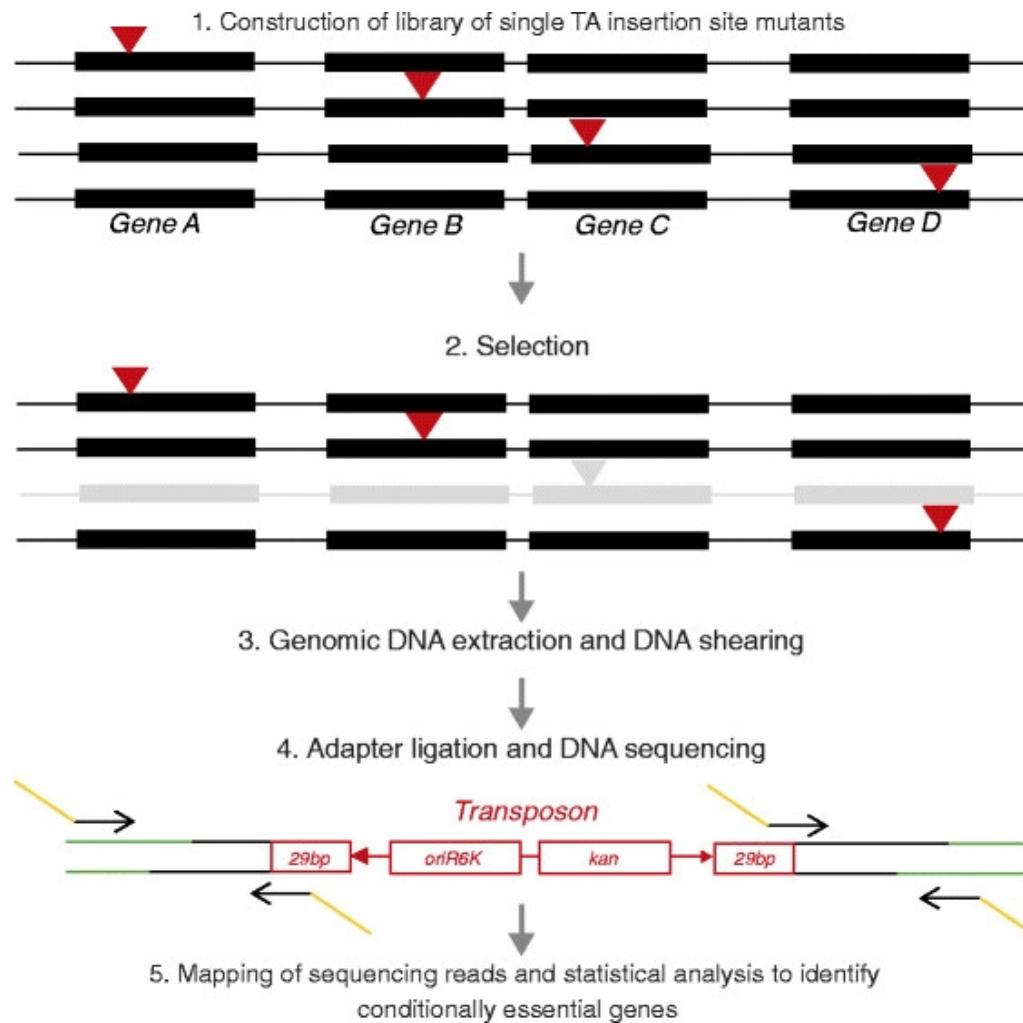
Drogabilidad estructural  
Sitios catalíticos  
Residuos conservados

Experimentos a escala  
genómica

Esencialidad

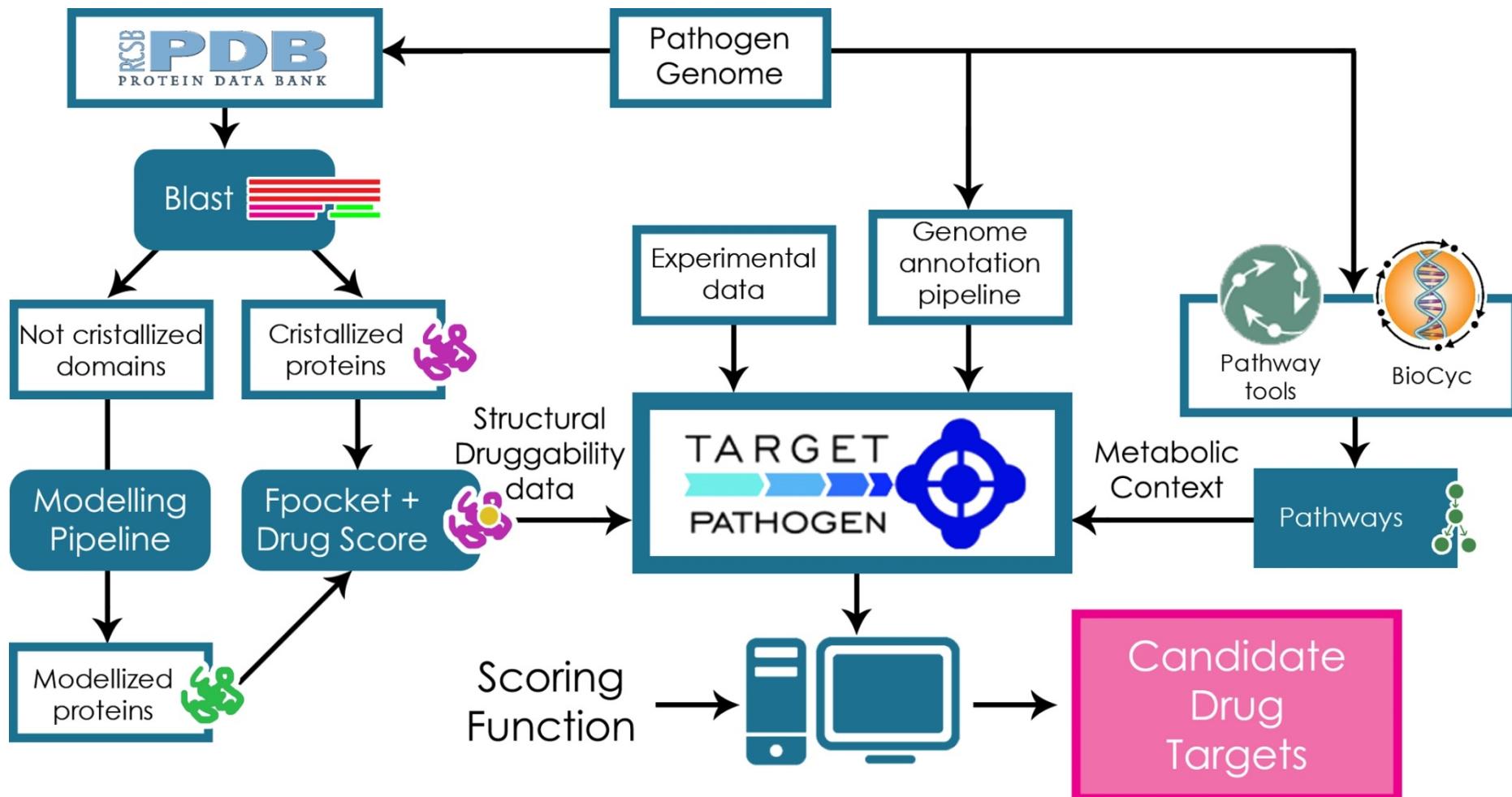


# Tecnologías basadas en TraSH (Transposon Site Hybridization)



# Target-Pathogen: a structural bioinformatic approach to prioritize drug targets in pathogens

Ezequiel J. Sosa<sup>1,2</sup>, Germán Burguener<sup>1,2</sup>, Esteban Lanzarotti<sup>1,2</sup>, Lucas Defelipe<sup>1,2</sup>, Leandro Radusky<sup>1,2</sup>, Agustín M. Pardo<sup>3</sup>, Marcelo Martí<sup>1,2,3</sup>, Adrián G. Turjanski<sup>1,2,3,\*</sup> and Darío Fernández Do Porto<sup>1,2,\*</sup>



<http://target.sbg.qb.fcen.uba.ar>

- Sun, 22 Apr 2018  
[TP in BioVisionAlexandria 2018](#)  
Today, Adrian Turjanski, research group leader, gave a presentation about Drug Discovery and TP applications in BioVisionAlexandria 2018.
- Thu, 01 Mar 2018  
[Presentation in PWTools Workshop](#)  
Dario Fernandez Do Porto presented TP during Pathway Tools Workshop on Microbial Community Modeling 2018, in Stanford Research Institute, Menlo Park, California, USA.  
<https://bioinformatics.ai.sri.com/ptoc>
- Mon, 08 Jan 2018  
[Congress presentations during 2017](#)  
July. Talk "Target Prioritization with TP" – CABBIO "Ferramentas de Bioinformática Aplicadas as Análises de Sequências de RNA-SEQ" – LNCC, Petrópolis, Brasil.  
November. Conference "Integration of multi-omic data for pathogen molecular target selection" – Universidad de Puebla, México.  
November. Conference "Target-Pathogen, an introduction" – Workshop DEANN "multiomic data integration and technology transfer", México DF, México.
- Fri, 03 Nov 2017  
[Main Article](#)  
TP main publication is out on NAR Databases 2018! Target-Pathogen: a structural bioinformatic approach to prioritize drug targets in pathogens
- Fri, 01 Sep 2017  
[Questions](#)

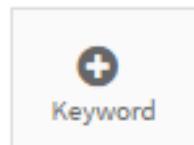


Target-Pathogen database is a bioinformatic approach to prioritize drug targets in pathogens. Available genomic data for pathogens has created new opportunities for drug discovery and development, including new species, resistant and multiresistant ones. However, this data must be cohesively integrated to be fully exploited and be easy to interrogate. Target-Pathogen has been designed and developed as an online resource to allow genome wide based data consolidation from diverse sources focusing on structural druggability, essentiality and metabolic role of proteins. By allowing the integration and weighting of this information, this bioinformatic tool aims to facilitate the identification and prioritization of candidate drug targets for pathogens. With the structurome and drugome information Target-Pathogen is a unique resource to analyze whole genomes of relevant pathogens.

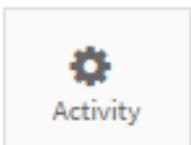


## Filter

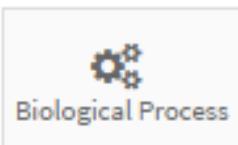
Removes the proteins that do not fullfill ALL the conditions



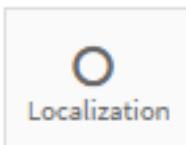
Keyword



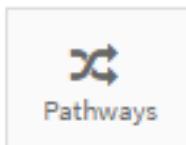
Activity



Biological Process



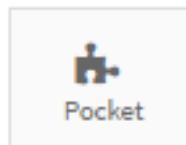
Localization



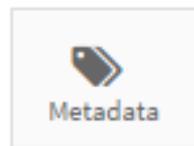
Pathways



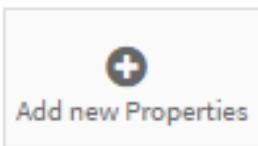
Structure



Pocket



Metadata

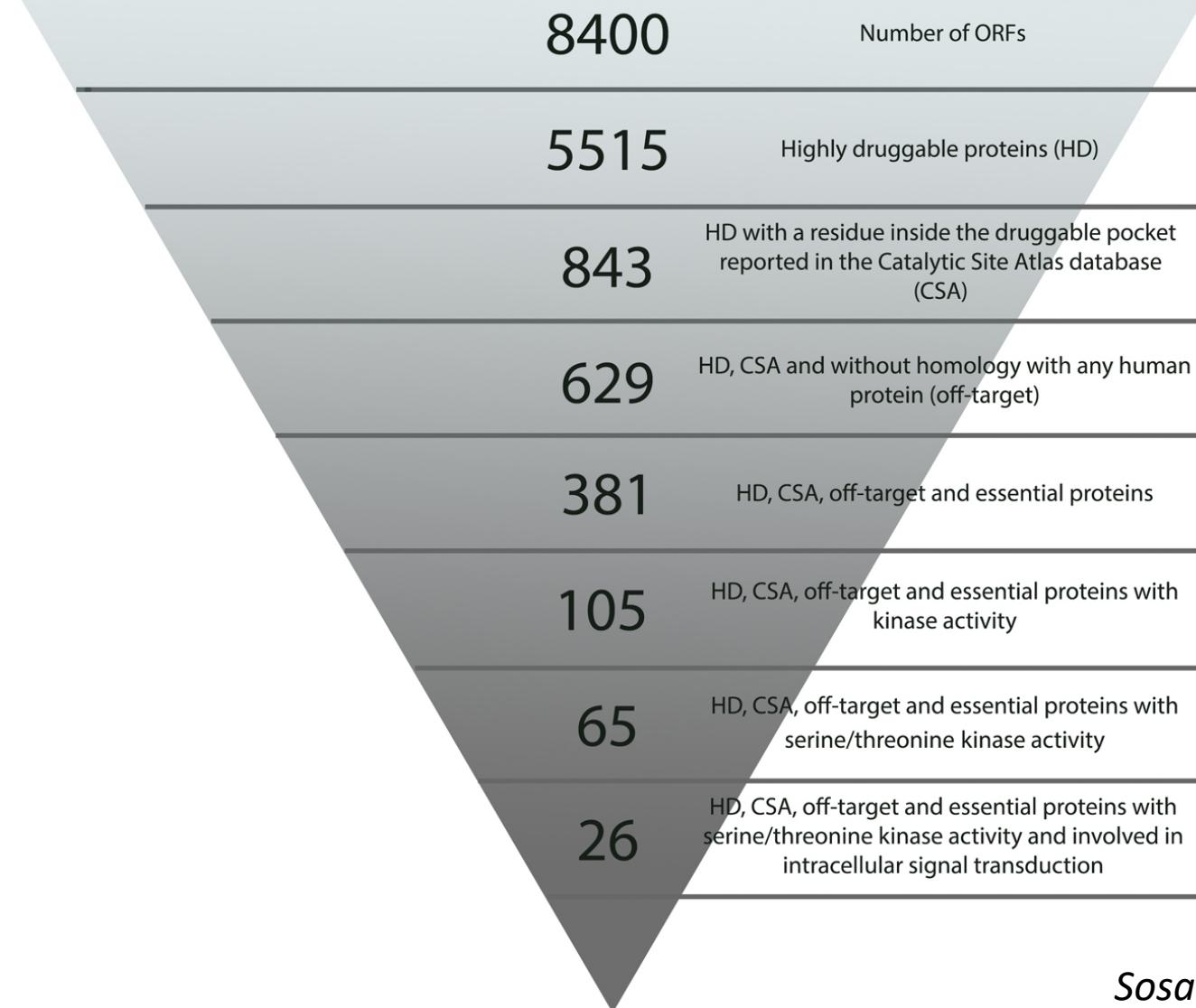


Add new Properties

Name	Description	Operation	Value
X druggability	Druggability score from the most druggable pocket. Druggable: druggability > 0.5 / Highly Druggable druggability > 0.7. ( <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4014675/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4014675/</a> )	> ▾	0.5
X essentiality	Critical for the organism survival ( <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26791267">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26791267</a> )	equal ▾	true ▾
X human_offtarget	Max identity in a simple blast alignment with a human protein	< ▾	0.4

## Filtros

# Target Pathogen Filtros



# Scoring function

## Score

Sorts all / the filtered proteins by calculating a numeric value o score. Score formula is a weighted linear sum of the protein properties.

Activity
Biological Process
Localization
Pathways
Structure
Pocket
Metadata

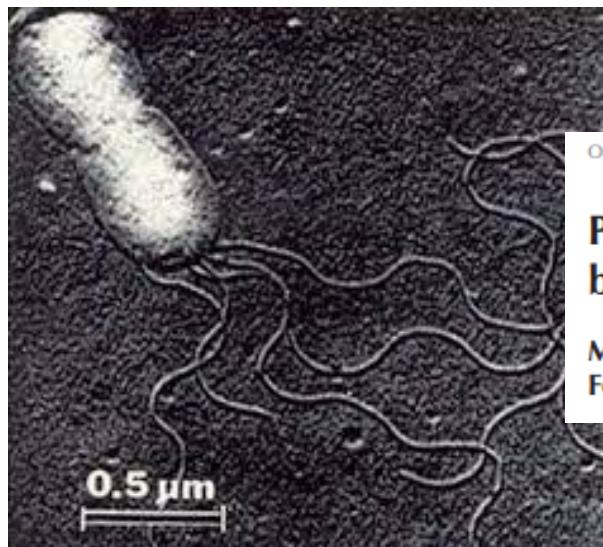
+  
 Add new Properties

Name	Description	Coefficient	Norm.
X centrality	Shortest-path betweenness centrality (normalized) for a reaction graph.	1	0.50
X chokepoint	The protein catalyzes a chokepoint reaction	1	if is equal to true ▾

Score = centrality + chokepoint

$$SF=((Emgh+Edeg)/2+Cv+Cy +chk)/4 +Pb$$

# Priorización de blancos moleculares en *Bartonella Bacilliformis*



ORIGINAL ARTICLE

Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 115: e200184, 2020 1 | 11

## Prioritisation of potential drug targets against *Bartonella bacilliformis* by an integrative *in-silico* approach

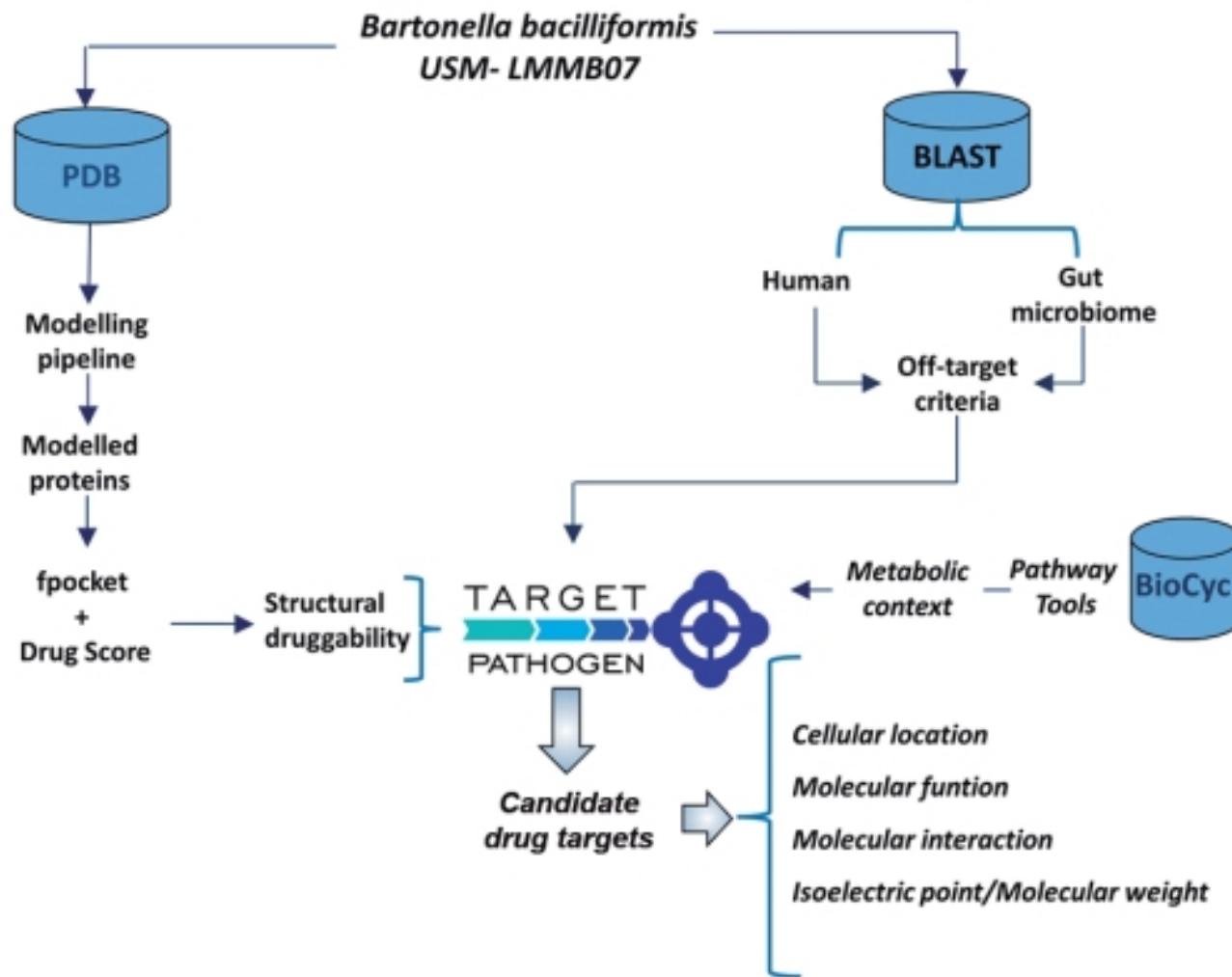
Mariella Farfán-López<sup>1</sup>, Abraham Espinoza-Culupú<sup>1,2</sup>, Ruth García-de-la-Guarda<sup>1</sup>, Federico Serral<sup>3</sup>, Ezequiel Sosa<sup>3,5</sup>, María Mercedes Palomino<sup>4,5</sup>, Darío A Fernández Do Porto<sup>3,4/+</sup>

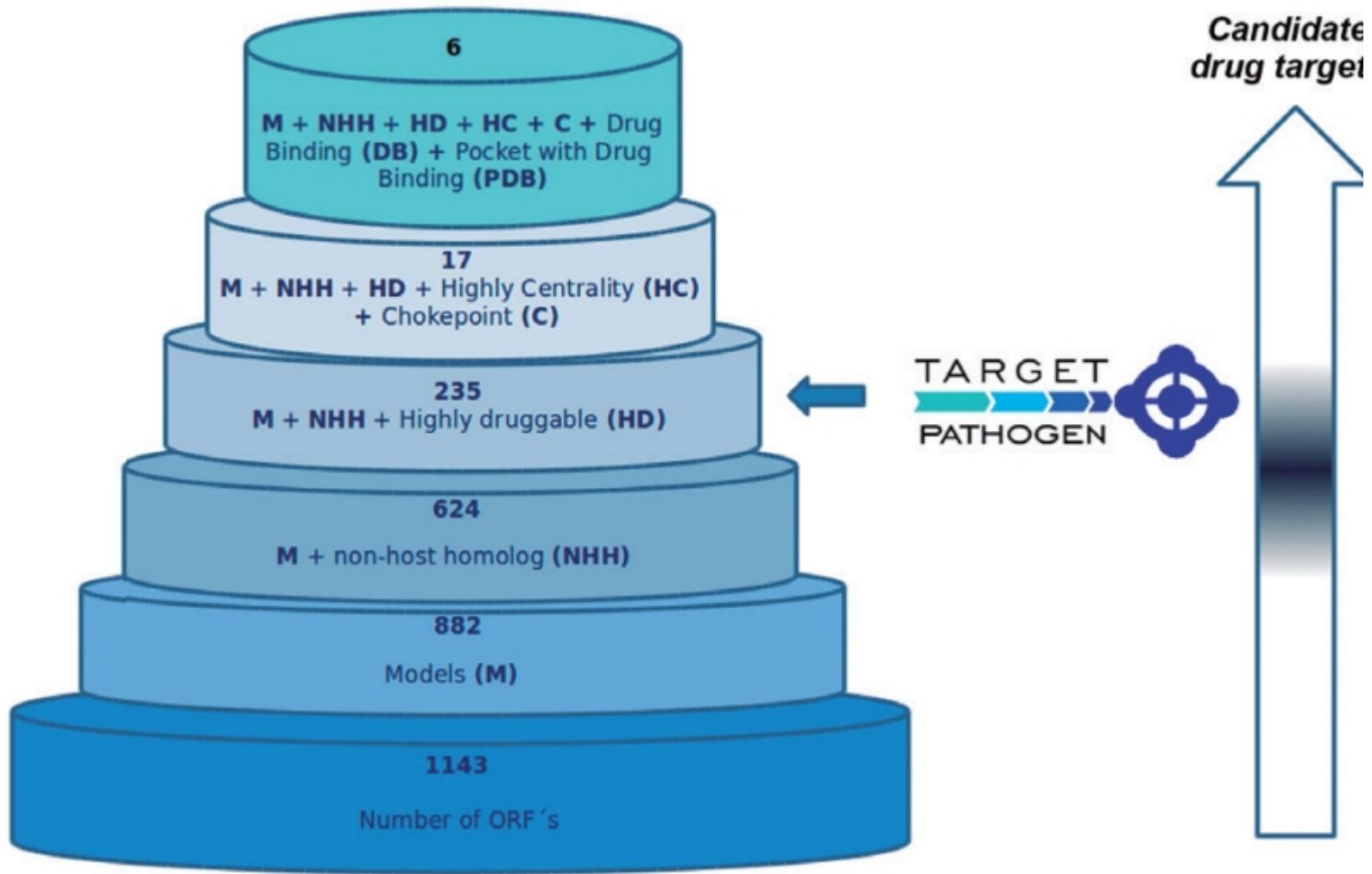
*Bartonella Bacilliformis*: es una bacteria aerobia facultativa, gramnegativa, perteneciente al grupo de alfa-proteobacterias



- Responsable de la enfermedad de Carrion
- Endémica de Perú, Colombia y Ecuador
  - 1. Fiebre de Oroya: Fiebre y anemia
  - 2. Verruga Peruana: Erupciones cutáneas

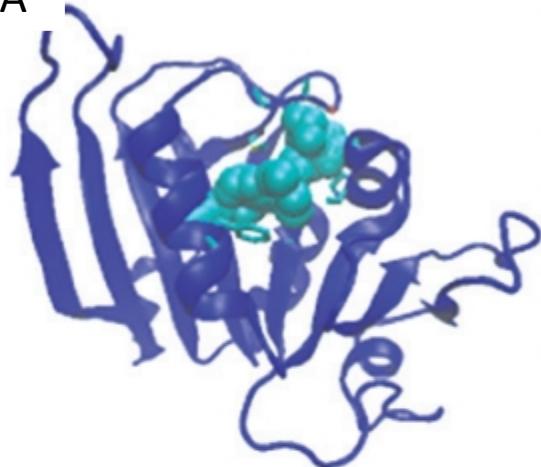
# Integración de datos





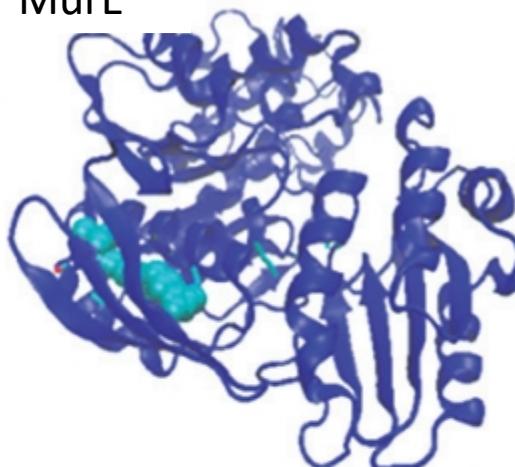
# Proteínas mejor ranquadas.

FolA



Druggability: 0.972  
Centrality: High  
Choke-point: Yes  
Human offtarget: Low  
Gut microbiome: Low

MurE

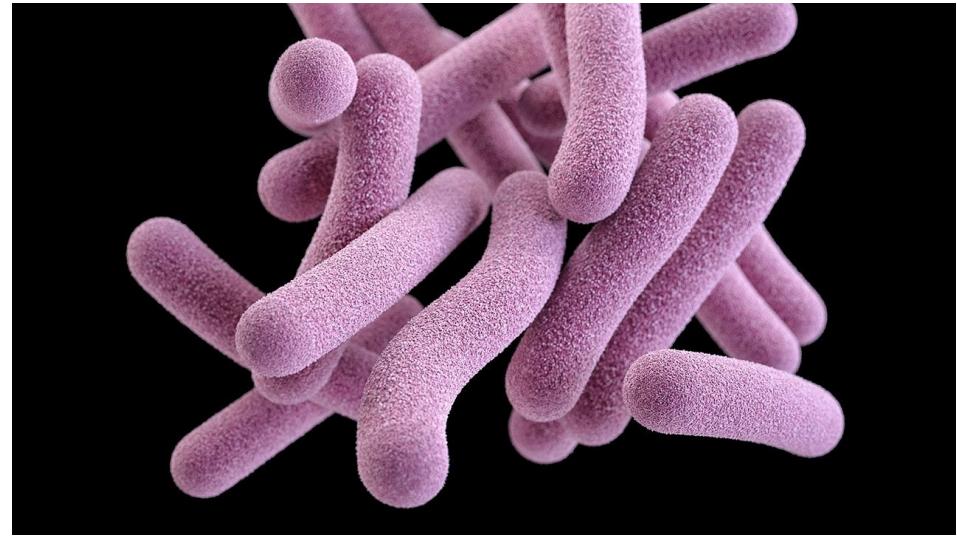


Druggability: 0.952  
Centrality: High  
Choke-point: Yes  
Human offtarget: Low  
Gut microbiome: Low

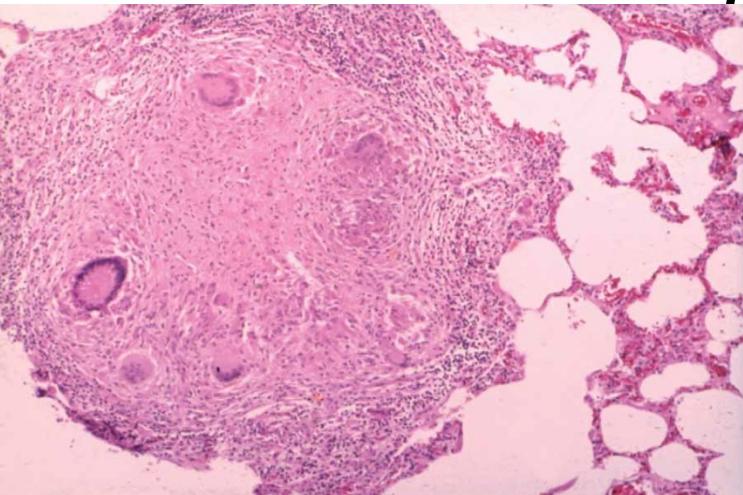
AroA



Druggability: 0.775  
Centrality: High  
Choke-point: Yes  
Human offtarget: Low  
Gut microbiome: Low



# Integración de datos para la selección de blancos moleculares terapéuticos en *M. tuberculosis*



---

 ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

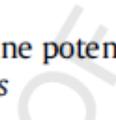
**Tuberculosis**

journal homepage: <http://intl.elsevierhealth.com/journals/tube>

---

DRUG DISCOVERY AND RESISTANCE

A whole genome bioinformatic approach to determine potential latent phase specific targets in *Mycobacterium tuberculosis*



# *Mycobacterium tuberculosis*

**WHO estima que el 40% de los casos no se diagnostica y/o se trata correctamente**

Tratamientos largos

Efectos adversos

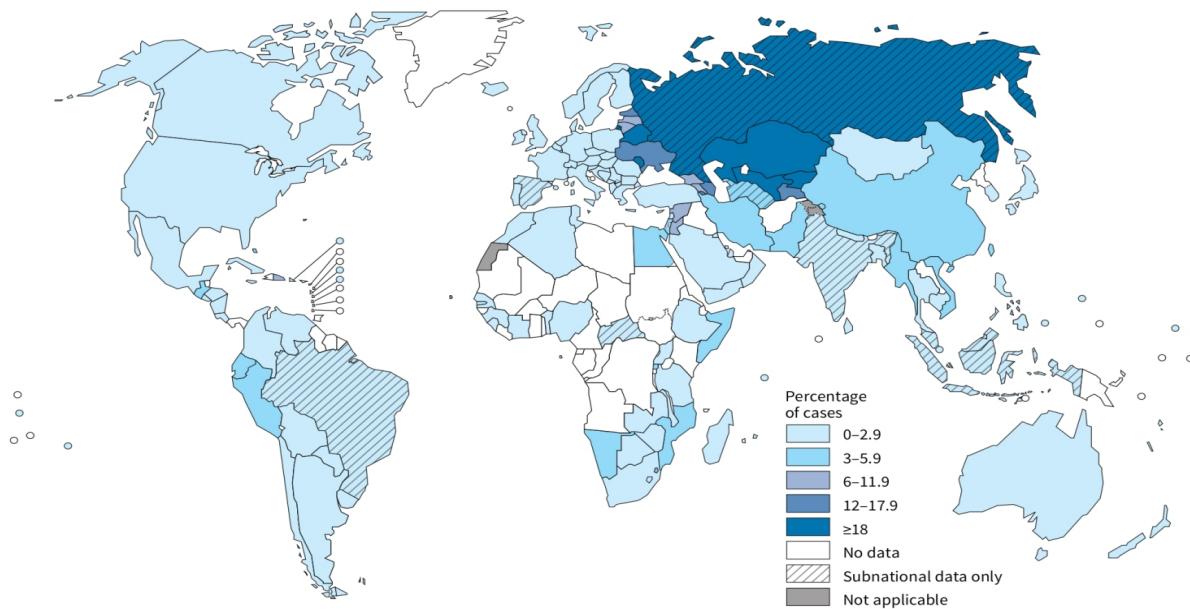
MDR y XDR-TB

**Diagnóstico difícil**

Bacteria de crecimiento lento

Métodos rápidos: caros

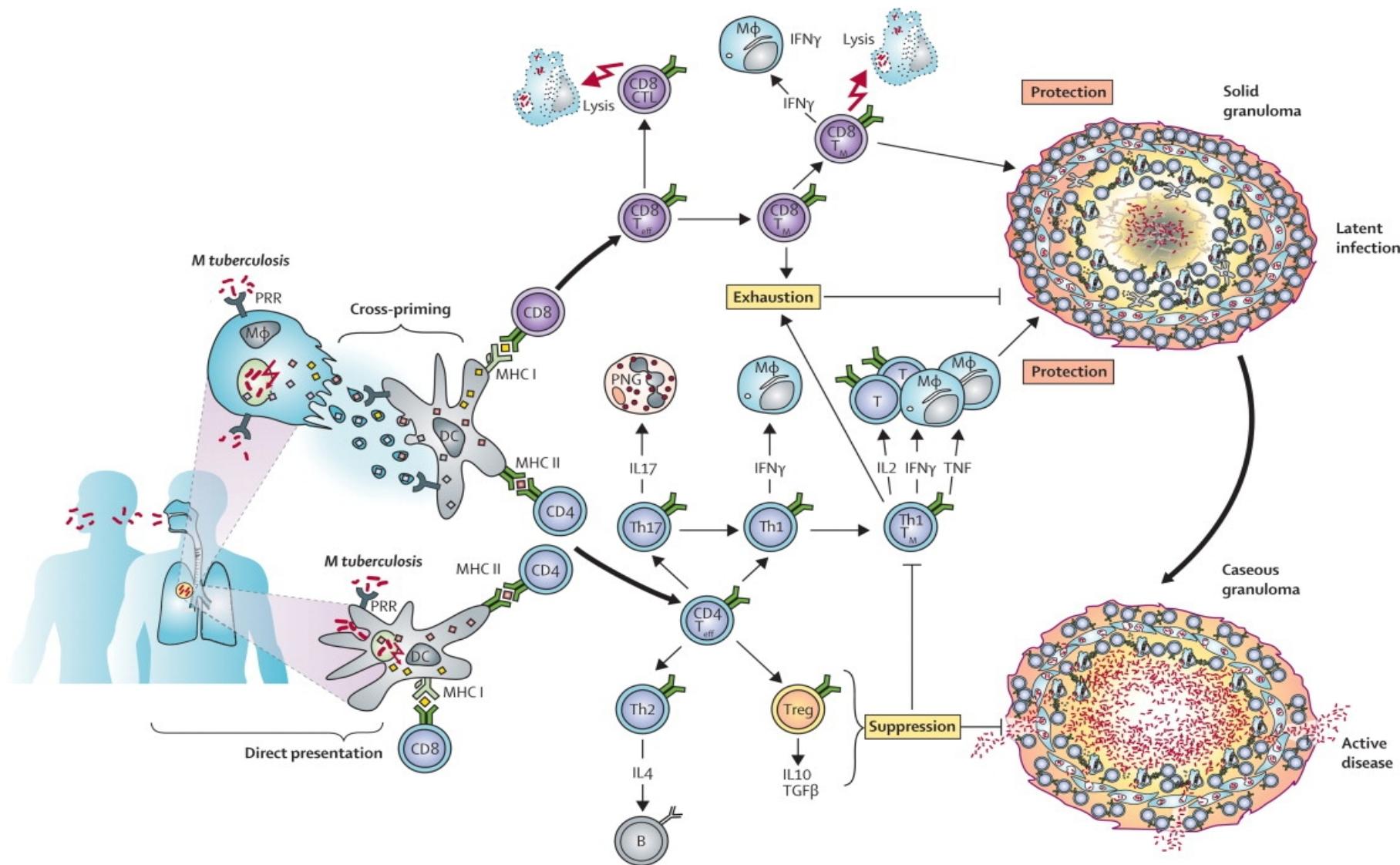
# *Mycobacterium tuberculosis*



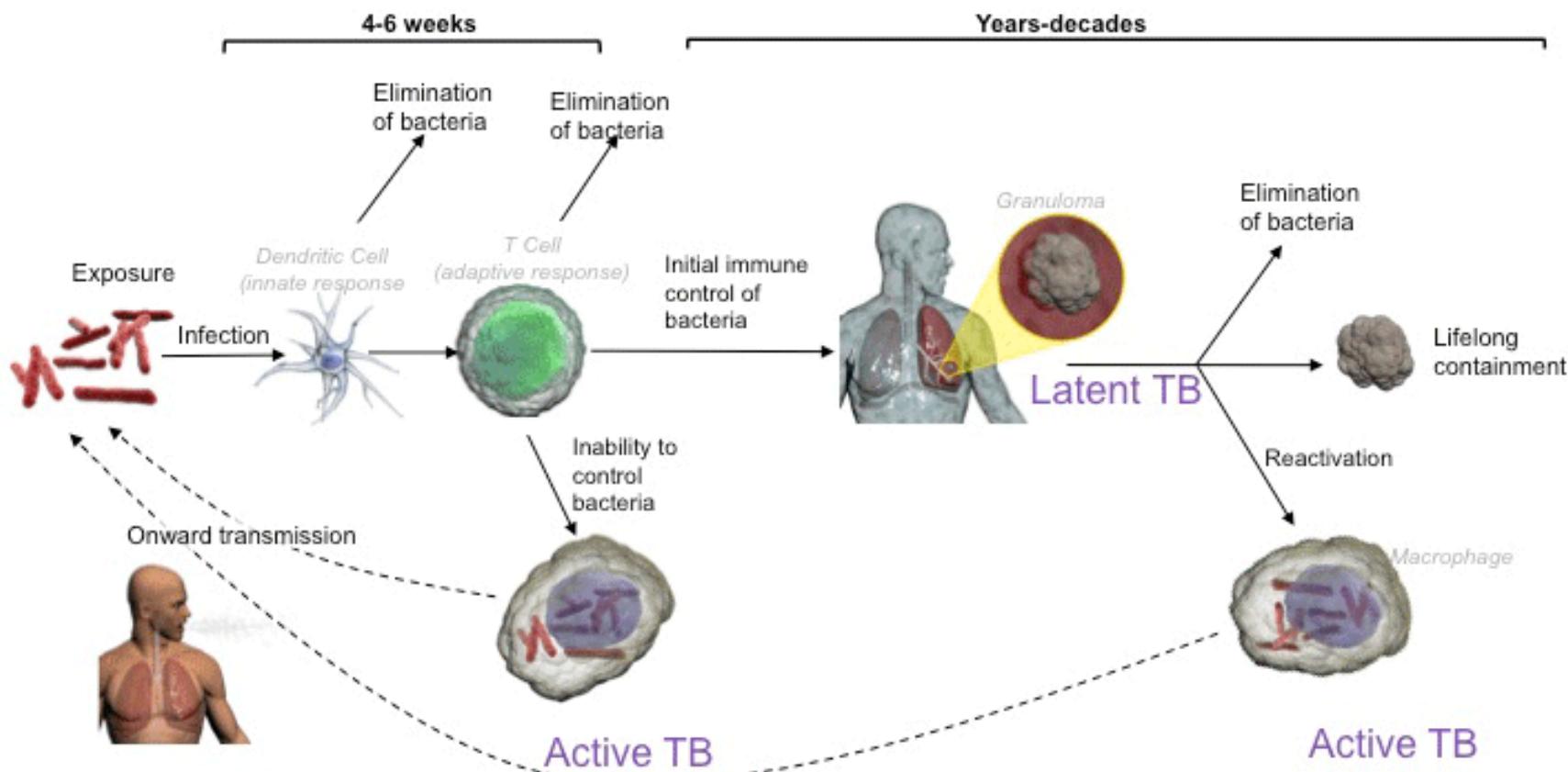
<sup>a</sup> Figures are based on the most recent year for which data have been reported, which varies among countries.

- Cerca de 5000 personas mueren en todo el mundo de Tuberculosis (TB) cada día.
  - TB es una de las primeras causas de muerte en pacientes infectados con HIV
  - Aproximadamente un tercio de la población mundial infectadas en estado latente

# Infección y respuesta inmune



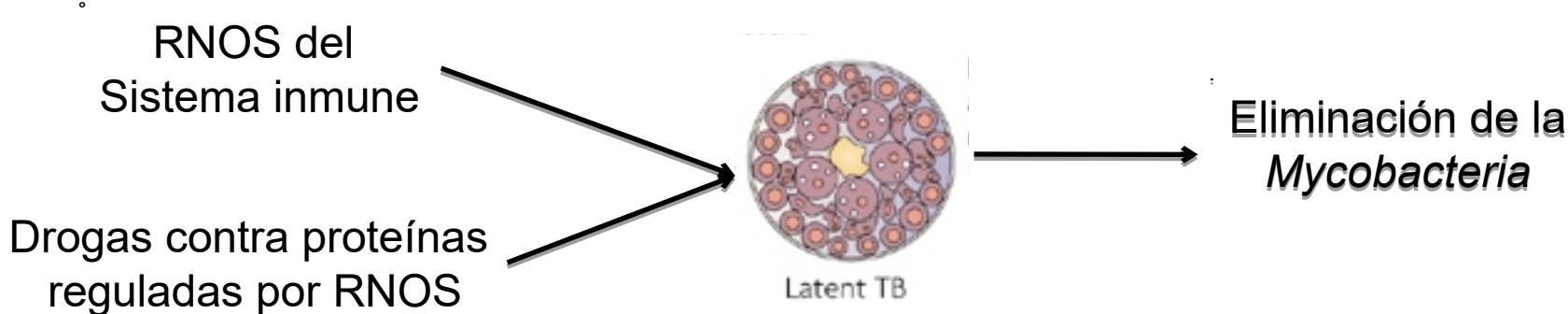
# Fase latente



- *Mycobacterium tuberculosis* es capaz de sobrevivir en fase latente dentro del macrófago por años
- Dentro del macrófago el bacilo es atacado por especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno (RNOS)
- No existe tratamiento para *M tuberculosis* en la fase latente

# Matando TB en la fase latente

- Hipótesis:
  - Si sabemos qué **proteínas** están **reguladas por RNOS** o son relevantes para la **supervivencia dentro del macrófago**, podemos **diseñar drogas para inhibir** estas proteínas sinérgicamente con el sistema inmune del hospedador



Qué esperamos de una proteína para que sea  
buen blanco para eliminar *M. tuberculosis* en la  
fase latente?

Qué esperamos de una proteína para que sea  
buen blanco para eliminar *M. tuberculosis* en la  
fase latente?

Drogable

Qué esperamos de una proteína para que sea  
buen blanco para eliminar *M. tuberculosis* en la  
fase latente?

Drogable

Esencial

Qué esperamos de una proteína para que sea  
buen blanco para eliminar *M. tuberculosis* en la  
fase latente?

Drogable

Esencial

Relevante en la fase de latencia

# Qué esperamos de una proteína para que sea buen blanco para eliminar *M. tuberculosis* en la fase latente?

Drogable

Esencial

Relevante en la fase de latencia

Importante en el contexto metabólico

# Qué esperamos de una proteína para que sea buen blanco para eliminar *M. tuberculosis* en la fase latente?

Drogable

Esencial

Relevante en la fase de latencia

Importante en el contexto metabólico

Que al ser inhibida no presente efectos adversos

# Qué esperamos de una proteína para que sea buen blanco para eliminar *M. tuberculosis* en la fase latente?

Drogable

Esencial

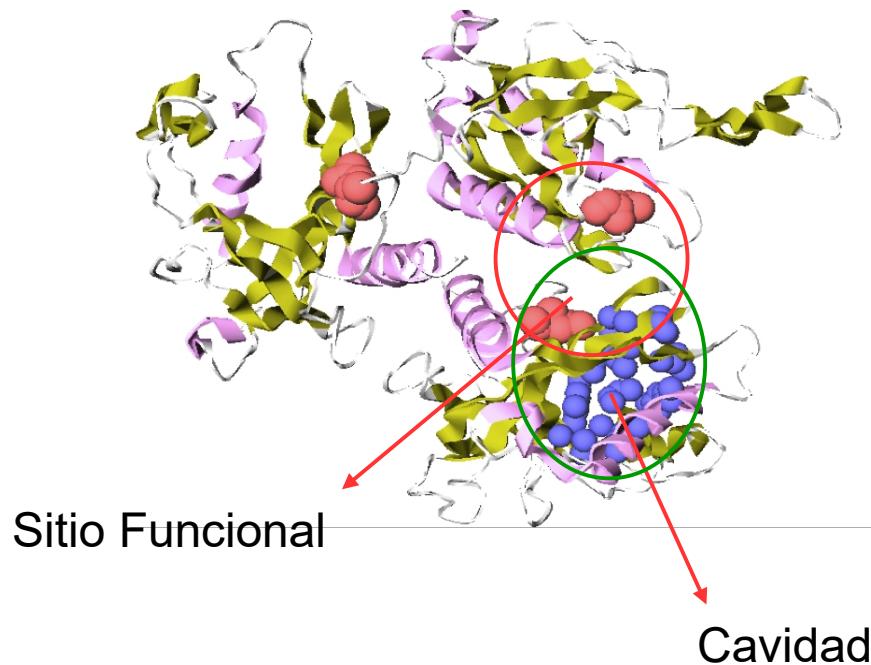
Relevante en la fase de latencia

Importante en el contexto metabólico

Que al ser inhibida no presente efectos adversos

# Drogabilidad estructural

- CSA: Catalytic Site Atlas
- UniProt: Funcionalidad



# Qué esperamos de una proteína para que sea buen blanco para eliminar *M. tuberculosis* en la fase latente?

Drogable

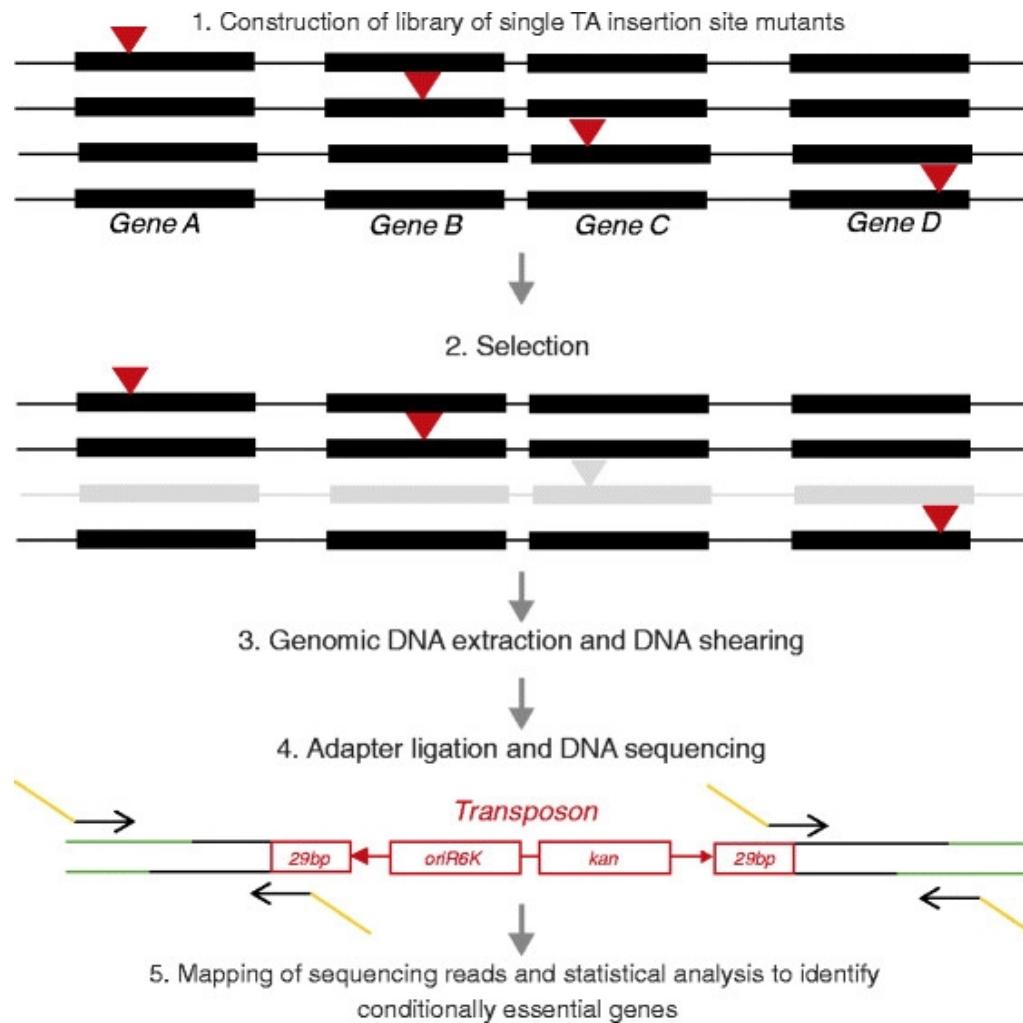
Esencial

Relevante en la fase de latencia

Importante en el contexto metabólico

Que al ser inhibida no presente efectos adversos

# Tecnologías basadas en TraSH (Transposon Site Hybridization)



# Qué esperamos de una proteína para que sea buen blanco para eliminar *M. tuberculosis* en la fase latente?

Drogable

Esencial

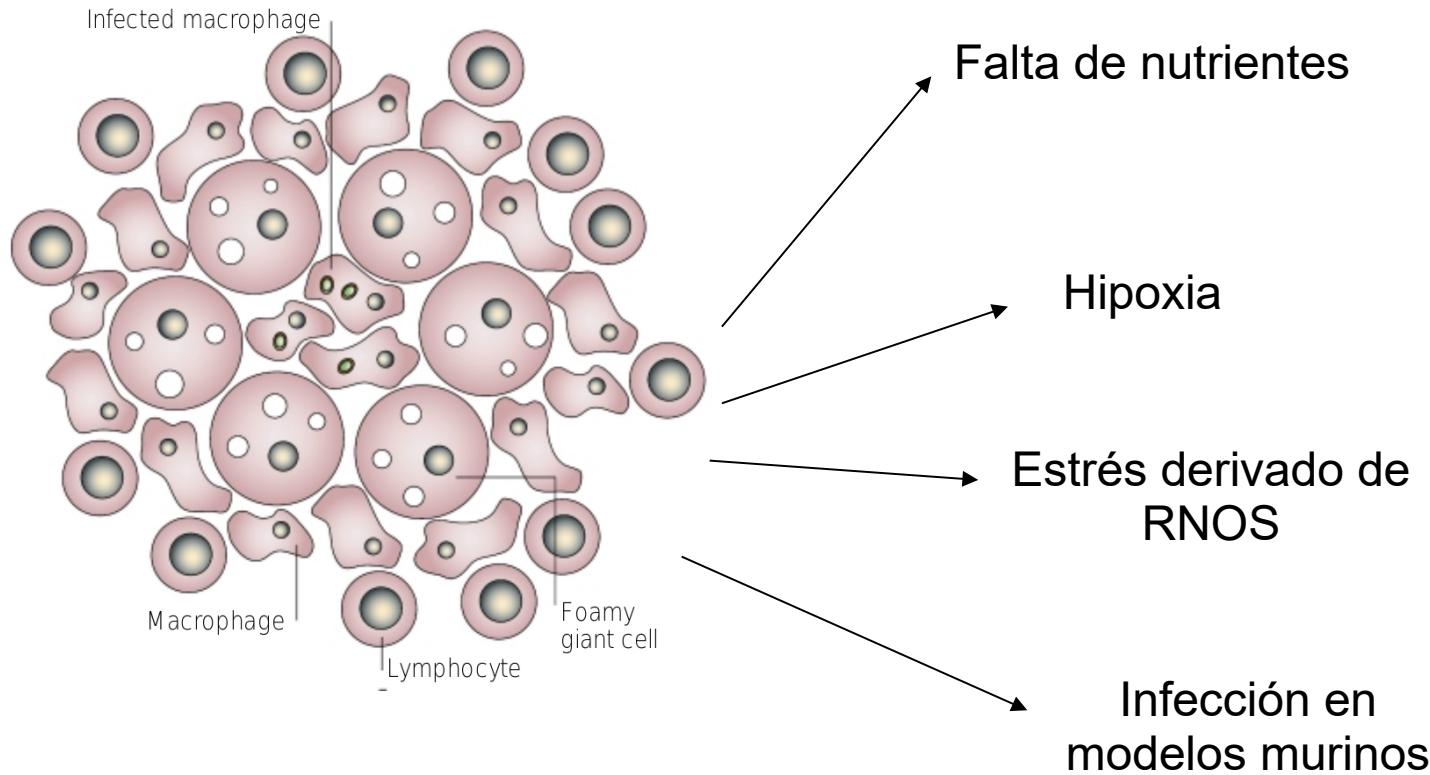
Relevante en la fase de latencia

Importante en el contexto metabólico

Que al ser inhibida no presente efectos adversos

# Datos de expresión

Expresión de genes en diferentes modelos que imitan la infección.



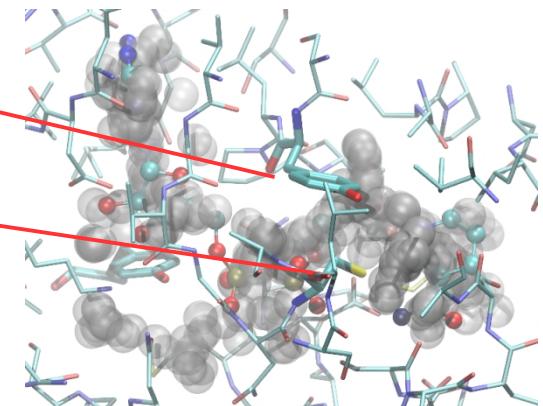
# Determinación in sílico

- Sensibilidad a estrés

Centros metálicos  
(Fe, Cu y Zn)  
accesibles a  
solvente

Residuos Cisteína y  
Tirosina accesibles  
a solvente

Tyr  
oxidable  
Cys  
oxidable



# Qué esperamos de una proteína para que sea buen blanco para eliminar *M. tuberculosis* en la fase latente?

Drogable

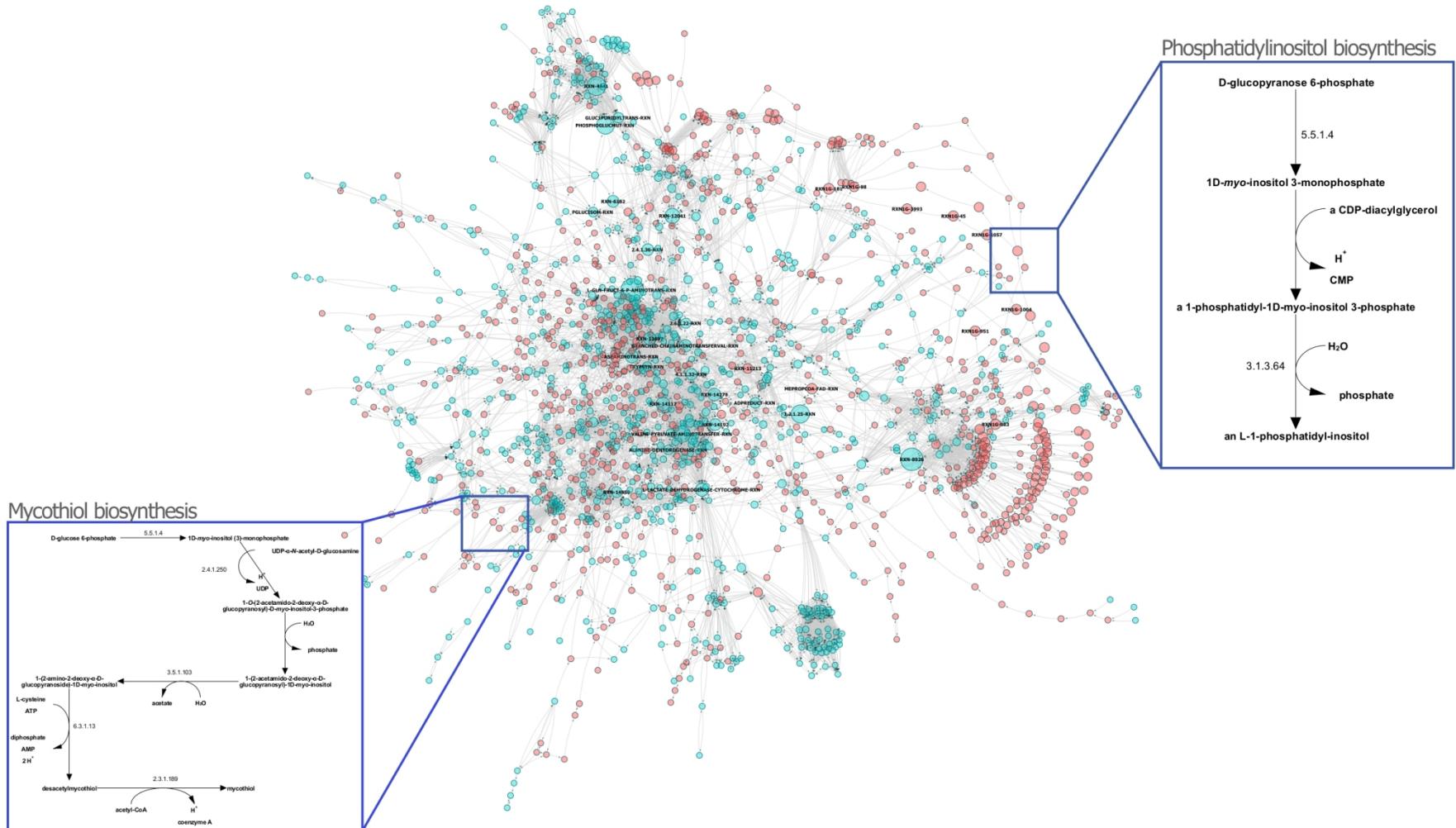
Esencial

Relevante en la fase de latencia

Importante en el contexto metabólico

Que al ser inhibida no presente efectos adversos

# Red Metabólica de *M.tb*



# Qué esperamos de una proteína para que sea buen blanco para eliminar *M. tuberculosis* en la fase latente?

Drogable

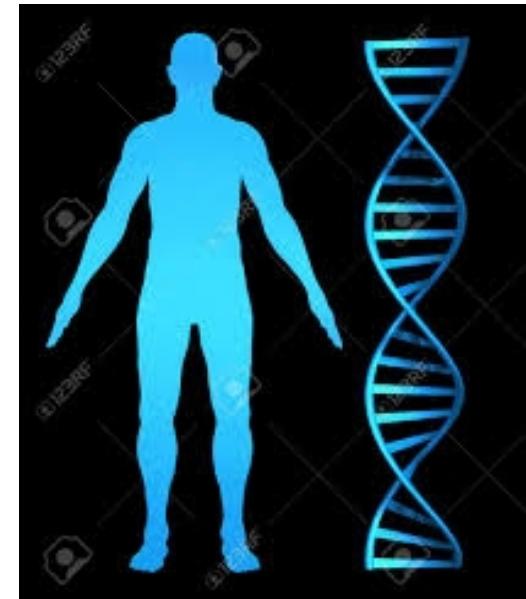
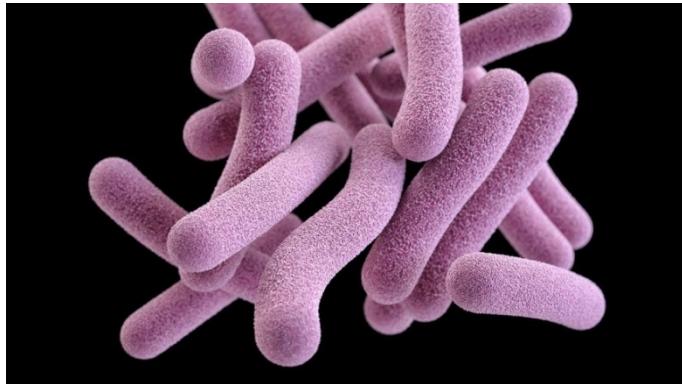
Esencial

Relevante en la fase de latencia

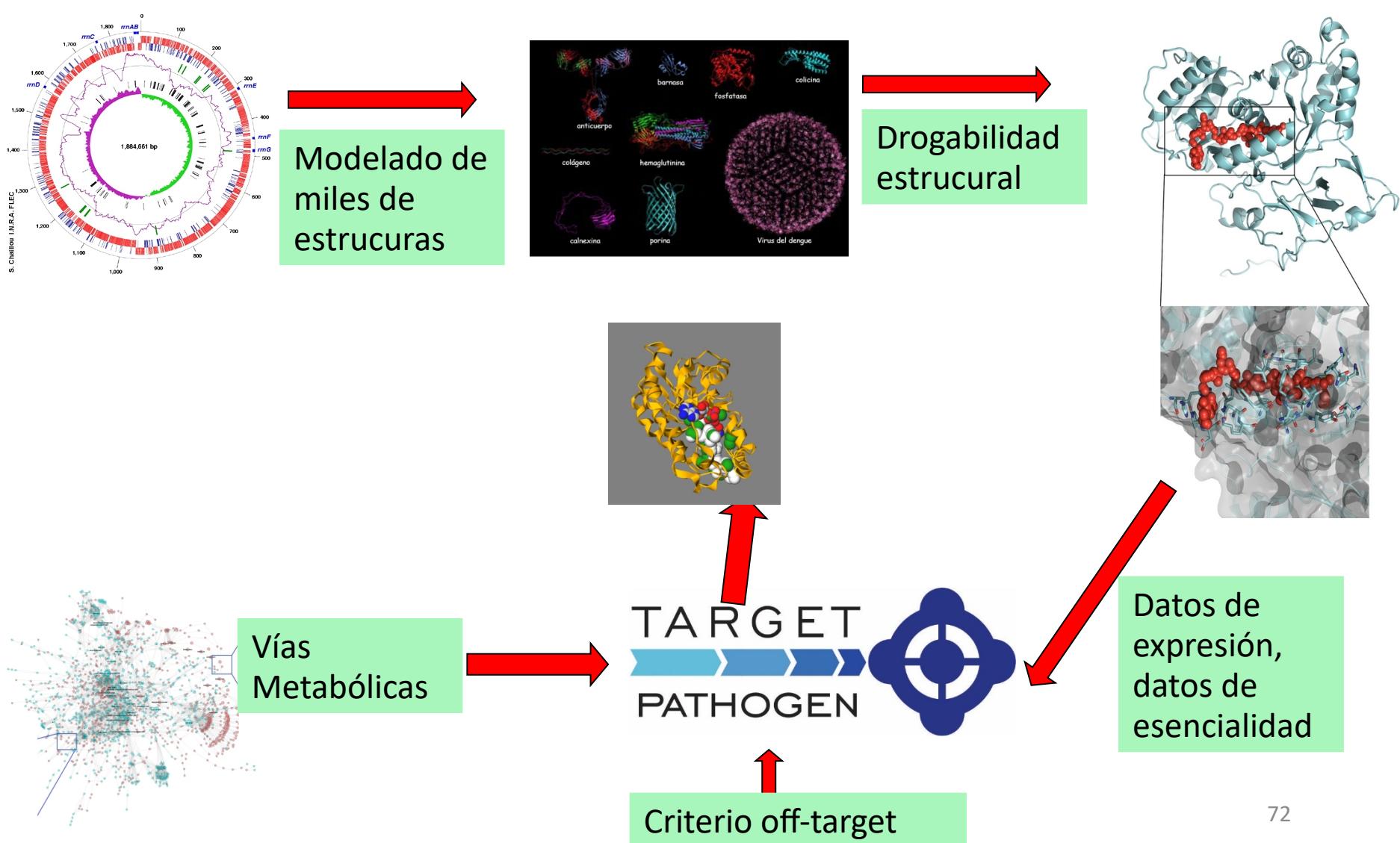
Importante en el contexto metabólico

Que al ser inhibida no presente efectos adversos

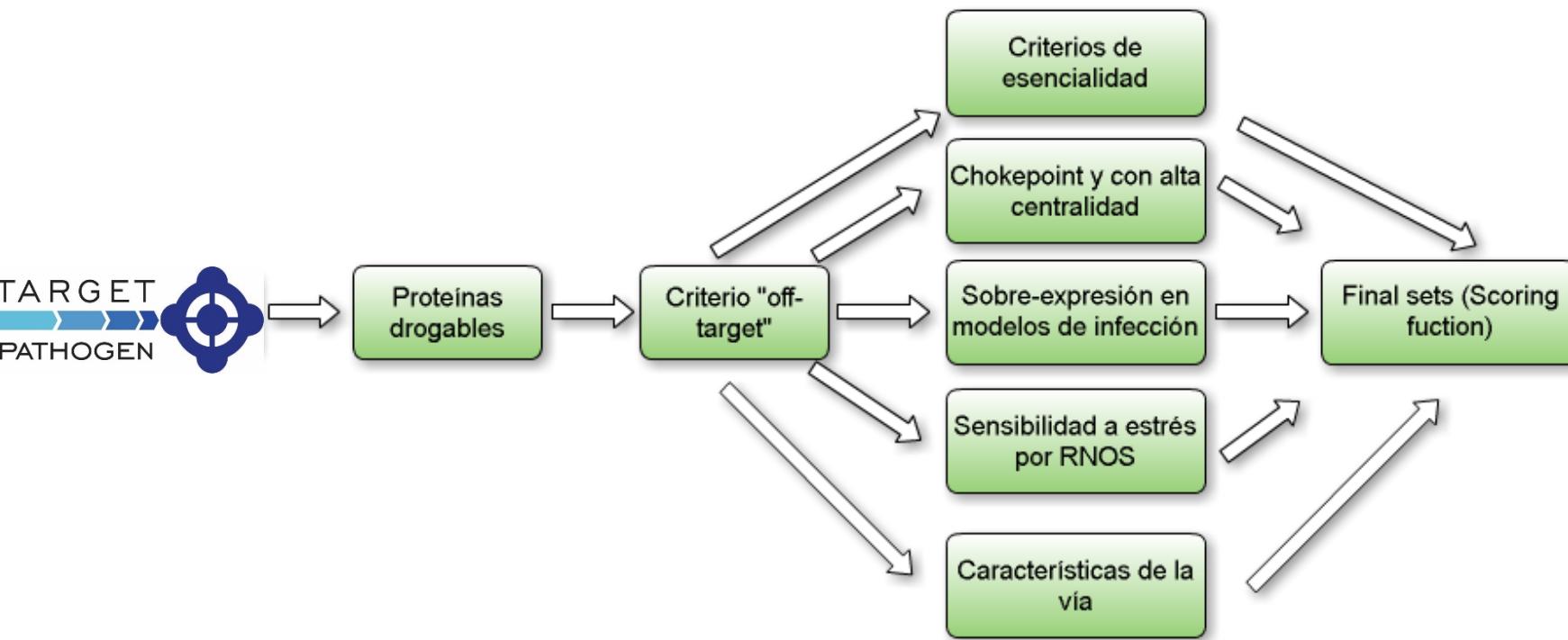
# Criterio off-target



# Tuberculosis: Del genoma a la predicción de blancos moleculares



# Rankeo de vías metabólicas

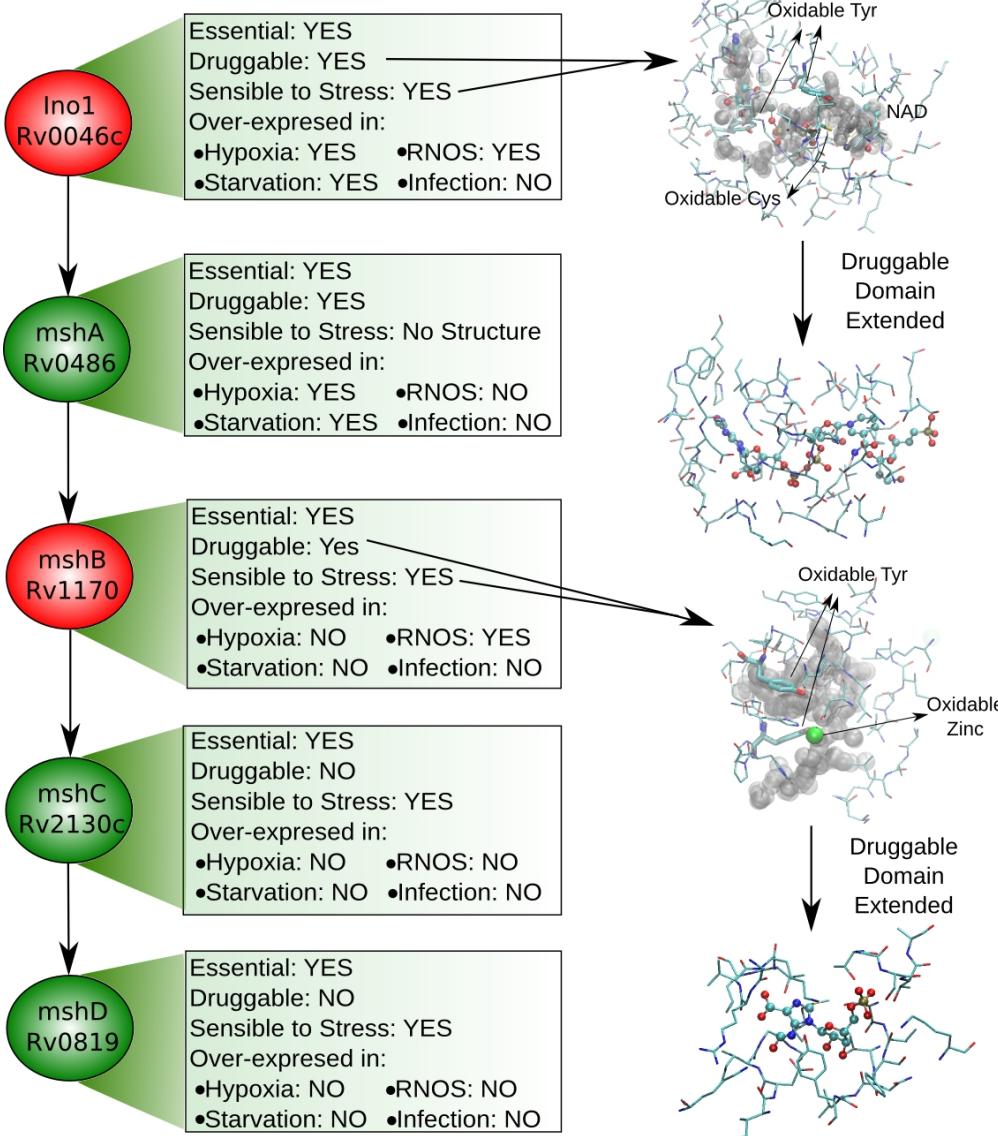


Dado que se desea buscar blancos relevantes para la fase de latencia las características a analizar son aquellas que se consideran importantes para dicha etapa.

$$SF = \frac{1}{2} * \left( \frac{NR + Cy + Chk + Es + C}{5} + \frac{S + H + St + I}{4} \right)$$

# Predictión de blancos de *M.tbc*

## Mycothiol Biosynthesis



Identificamos Pathways

Regulación Redox Regulation

- Mycothiol Biosynthesis

Integridad de la Cápsula

- Micolic Acid

# Blancos nuevos y revalidados

Newly and revalidated *Mtb* targets found using structural druggability, metabolic importance analysis and expression data in infection mimicking conditions. Revalidated targets are taken from [25].

Protein name	Rv	Status	Druggability	Pathway (importance)	Profile expression
Inositol-3-phosphate synthase	Rv0046c	New target	0.719	Myo-inositol biosynthesis (0.3871) L-1-phosphatidyl- inositol biosynthesis (Mycobacteria) (0.6063). mycothiol biosynthesis (0.5370)	Str, Hyp, Sta
3-phosphoshikimate 1-carboxyvinyltransferase	Rv3227	New target	724	Chorismate biosynthesis from 3-dehydroquinate (0.4828)	Str
0-acetylhomoserine aminocarboxypropyltransferase	Rv3340	New target	635	Homocysteine biosynthesis (0.4681)	Hyp, Sta, Inf
3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] synthase 2	Rv2246	New target	709	Mycolate biosynthesis (0.4517) fatty acid biosynthesis initiation II (0.3883) 8-amino-7-oxononanoate biosynthesis I (0.3765)	Str, Hyp
Octanoyltransferase	Rv2217	New target	703	Lipoate biosynthesis and incorporation I (0.4529)	Sta
Bifunctional protein GlmU	Rv1018c	New target	911	UDP-N-acetyl-D-glucosamine biosynthesis I (0.4523)	Str, Hyp, Inf
Rv1465	Rv1465	New target	926	[2Fe–2S] iron-sulfur cluster biosynthesis	Str
1D-myo-inositol 2-acetamido-2-deoxy-alpha-D-glucopyranoside deacetylase	RV1170	Revalidated	781	Mycothiol biosynthesis (0.5370)	Str
Sulfate adenylyltransferase subunit 2	Rv1285	Revalidated	891	Selenate reduction (0.4579) sulfate activation for sulfonation (0.4326)	Str, Hyp, Sta
dTDP-glucose 4,6-dehydratase	Rv3464	Revalidated	676	dTDP-L-rhamnose biosynthesis I (0.4459)	Str
Enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADH]	Rv1484	Revalidated	919	8-amino-7-oxononanoate biosynthesis I (0.3765) stearate biosynthesis II (bacteria and plants) (0.3700)	
3-methyl-2-oxobutanoate hydroxymethyltransferase	Rv2225	Revalidated	937	Phosphopantothenate biosynthesis I (0.4351)	Str, Hyp, Inf
Mycocyclosin synthase	Rv2276	Revalidated	887	Mycocyclosin biosynthesis (0.4435)	Hyp

# TARGET PATHOGEN



Templates

Reference: D: Drug Binding, I: Important PFAM Residue, P: Pocket Number

name Rv0046c

1gr0\_A\_14\_367

1gr0\_A\_14\_367

Chain/s List

Select intersection Clear intersection Reset Zoom

Visible Name Center In Style

A  Cartoon

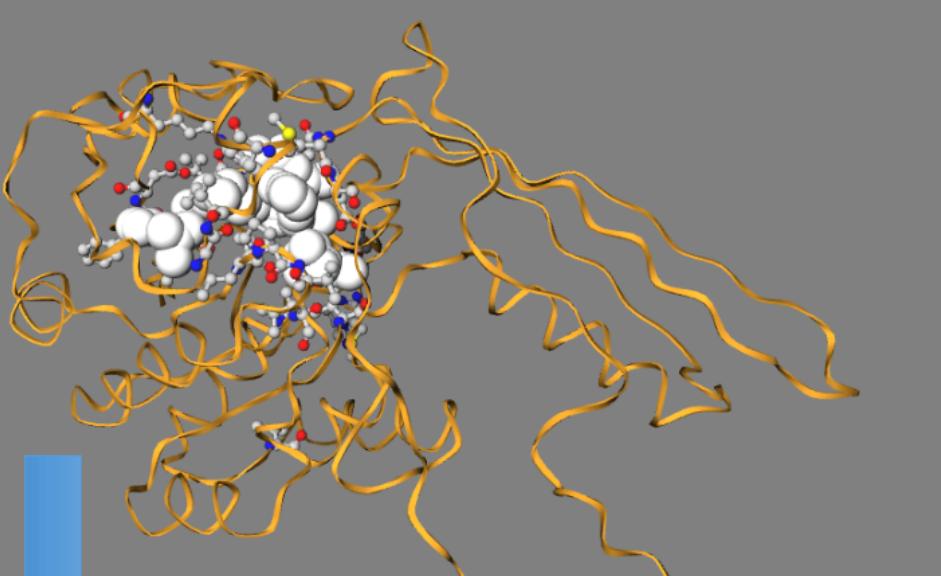
Pocket List

Visible Name Center In Style Druggability

<input checked="" type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/>	alpha	POLAPOL	0.676
<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/>	atoms		0.275
<input checked="" type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/>	alpha	POLAPOL	0.946

Features List

Visible Name	Center	Style	
free_cys	<input type="checkbox"/>	Atoms	H C O N S P F CL BRI FE CA
free_tyr	<input type="checkbox"/>	Atoms	H C O N S P F CL BRI FE CA
cys	<input type="checkbox"/>	Atoms	H C O N S P F CL BRI FE CA
tyr	<input type="checkbox"/>	Atoms	H C O N S P F CL BRI FE CA
PF01658.12_202_311	<input type="checkbox"/>	Atoms	H C O N S P F CL BRI FE CA
important_pfam	<input type="checkbox"/>	Atoms	H C O N S P F CL BRI FE CA
drug_binding_1gr0	<input checked="" type="checkbox"/>	Atoms	H C O N S P F CL BRI FE CA



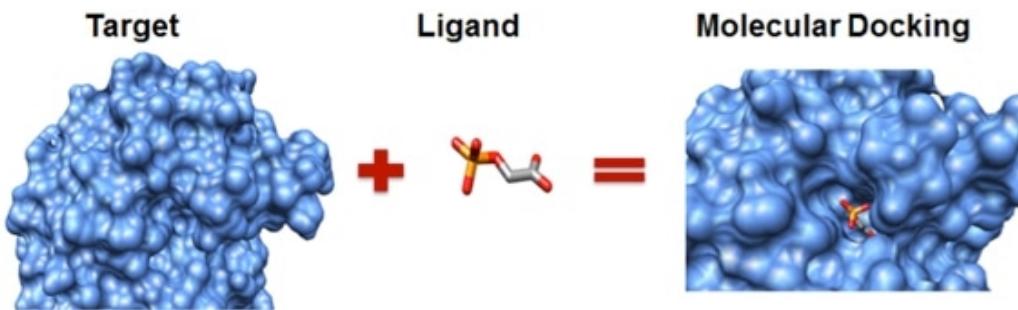
Download for docking

# Y ahora??

## LIGq

<http://ligq.qb.fcen.uba.ar/>

DOCKING  
↓



DINAMICA MOLECULAR

↓

ENSAYOS EXPERIMENTALES



# Diferentes Patógenos

- ❖ *Mycobacterium Tuberculosis* (Marcelo Martí): Database 2014, *Tuberculosis* 2015
- ❖ *Corynebacterium paratuberculosis* (Acevedo, B. Horizonte): *BMC Genomics*, 2014; *BMC Genomics*, 2015, *Frontiers in Genomics* 2018
- ❖ *Klebsiella pneumoniae* (Ramos, Nicolas): *Scientific Reports* 2018, *Frontiers in Microbiology*
- ❖ *Leishmania Infantum* (Ramos, UFB, Bahia)
- ❖ *Bartonella bacilliformis* (Abraham Espinosa, University of São Paulo): M. Fiocruz 2020.
- ❖ *Trypanozoma Cruzi* (Pablo Smircich, I. C. Estable, Montevideo): *Frontiers in Microbiology*
- ❖ *Staphylococcus aureus* (Dra. Tribelli, Universidad de Buenos Aires)



**THE END**

# Construcción de la lista de reacciones: evidencia.

- **Bioquímica**

→ enzima aislada de un organismo de interés,  
atividade catalítica demonstrada.

- **Genómica**

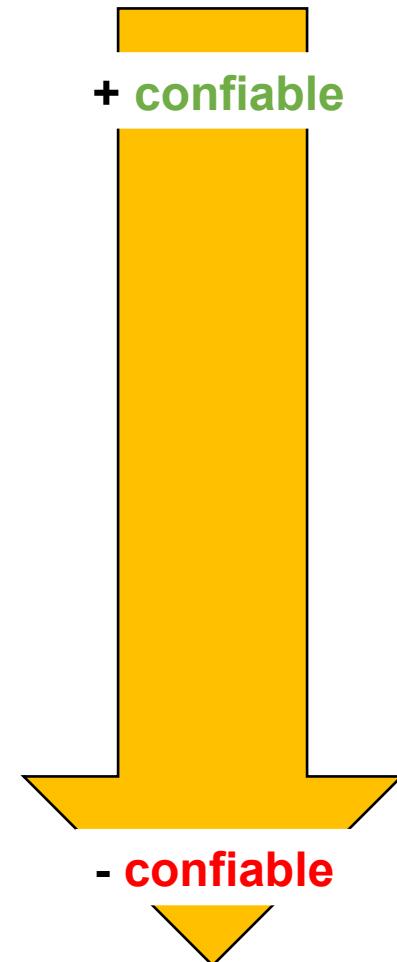
→ identidad de secuencia com uma enzima  
conocida, contexto genómico similar

- **Fisiológica**

→ Ej: célula sintetiza AA *in vivo*

- **Modelaje *in silico***

→ El modelo no crece sin una adherir una,  
reacción, se infiere presencia.



El tetrahidrofolato (THF) es una coenzima derivada del ácido fólico (vitamina B9) que desempeña un papel crucial en las reacciones de transferencia de grupos de un carbono en el metabolismo de los aminoácidos y en la síntesis de bases nitrogenadas.

MurE Esta enzima es responsable de catalizar la formación de UDP-N-acetilmuramil-péptido, un componente esencial de la pared celular peptidoglicana en bacterias.

Esta enzima es esencial para la biosíntesis de aminoácidos aromáticos, como la fenilalanina, la tirosina y el triptófano.