

# Máster Universitario en Bioinformática

## Proteómica y Bioinformática Estructural

Curso académico 2024-2025



**Universidad**  
Internacional  
de Valencia

**Dra. Magdalena Nikolaeva Koleva**

[magdalena.nikolaeva@professor.universidadviu.com](mailto:magdalena.nikolaeva@professor.universidadviu.com)

24/10/2024

De:



Planeta Formación y Universidades

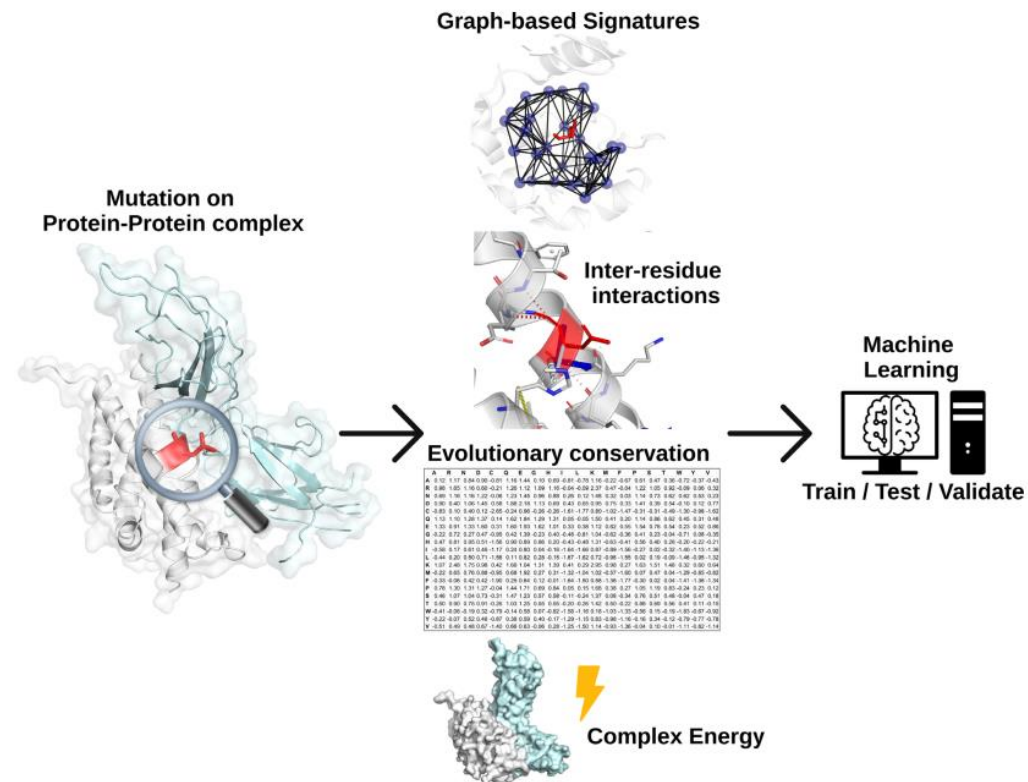
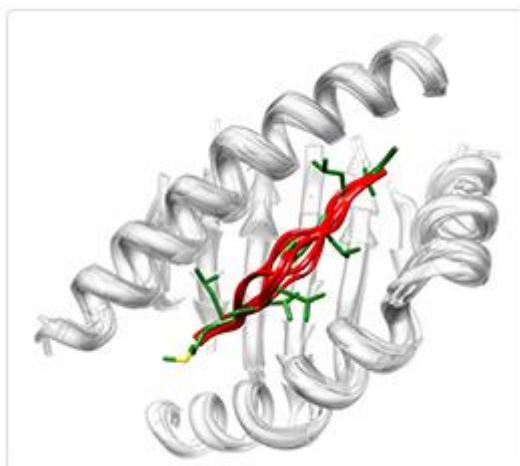
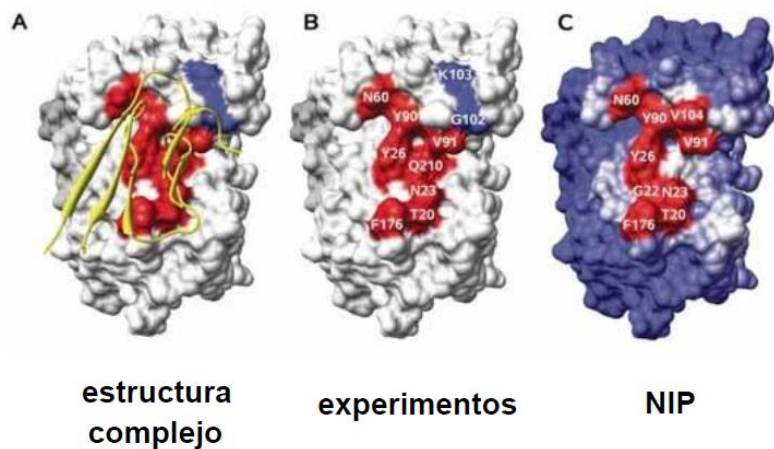
# Sesión 12

Modelización de interacciones: aplicaciones



**Universidad**  
Internacional  
de Valencia

## ¿Qué vimos en la sesión anterior?



# Temario - Contenidos

Tema 7. Modelización de interacciones: otros aspectos

7.1. Predicción de regiones de interacción

7.2. Identificación de residuos energéticamente relevantes (*hot-spots*)

7.3. Interpretación molecular del impacto de mutaciones

7.4. Aplicaciones en biomedicina

# Temario - Contenidos

Tema 7. Modelización de interacciones: otros aspectos

7.1. Predicción de regiones de interacción

7.2. Identificación de residuos energéticamente relevantes (*hot-spots*)

7.3. Interpretación molecular del impacto de mutaciones

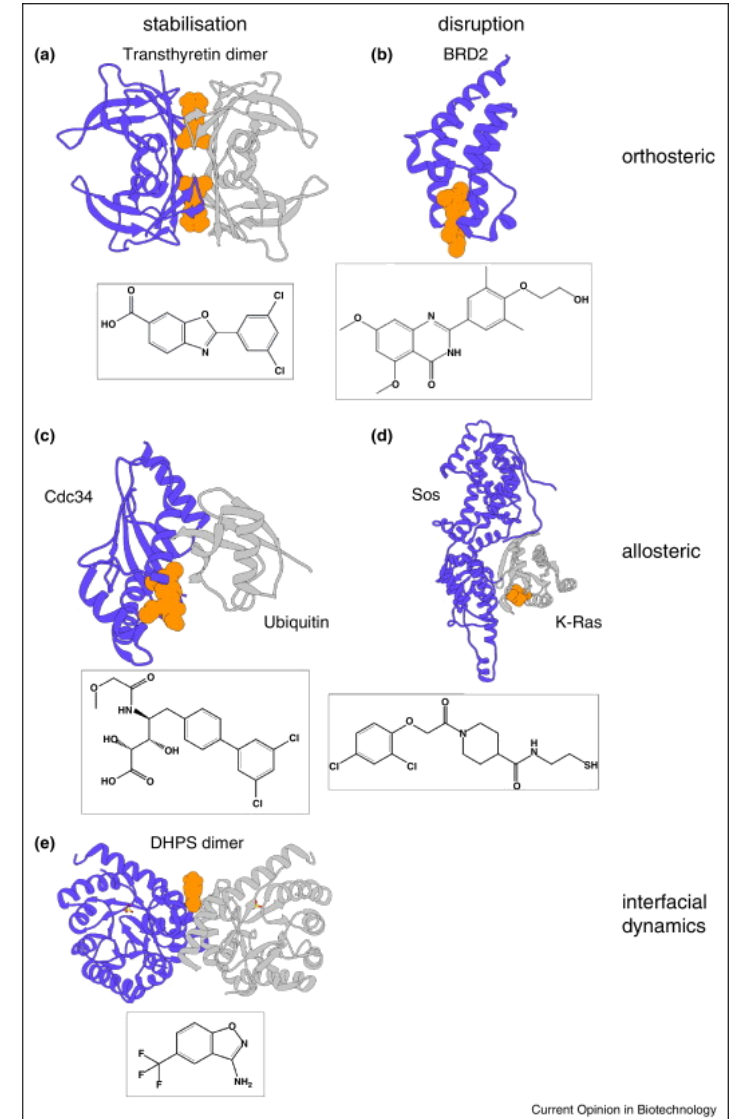
**7.4. Aplicaciones en biomedicina**

## 7.4. Aplicaciones en biomedicina

- Entender mecanismos fisiológicos
- Entender aspectos patológicos
- Desarrollar soluciones terapéuticas

### Dianas farmacológicas

- GPCR, canales iónicos, quinasas, receptores nucleares (15% de todas las proteínas).
- PPIs en punto de mira en farmacología
- Dificultades:
  - Falta de estructura del complejo, se desconoce el sitio de interacción.
    - ✓ Docking entre proteínas, predicción de *hot-spots*.
  - Superficies de interacción sin bolsillos
    - ✓ DM para crear cavidades transitorias
  - Pequeños ligandos vs grandes superficies de interacción naturales
    - ✓ Dirigirlos contra *hot-spots*



## 7.4. Aplicaciones en biomedicina

- Empleo de técnicas bioinformáticas en el diseño de péptidos inhibidores de interacciones proteína-proteína (PPI).
  - Modelado por homología
  - *Docking* de proteínas
  - Mutagénesis y medida de energía de interacción de péptidos poly-Ala a los 20 amino ácidos naturales.
  - Creación de PSSM para determinar *hot-spots* en interacción.
  - Selección de residuos que maximizan energía de unión.
  - Modelado de péptido mutante entero, minimización de energía.

Received: 1 December 2022 | Revised: 13 March 2023 | Accepted: 24 March 2023  
DOI: 10.1111/exd.14804

### CONCISE COMMUNICATION

Experimental Dermatology WILEY

## Design and validation of neuronal exocytosis blocking peptides as potential novel antiperspirants

Laura Butron<sup>1</sup> | Magdalena Nikolaeva-Koleva<sup>2</sup> | Ana Sempere<sup>2</sup> | Verónica Rivero<sup>1</sup> | Gregorio Fernandez-Ballester<sup>1</sup> | Ana Espinosa<sup>2</sup> | Matteo Vergassola<sup>3</sup> | Elena Mastrocola<sup>3</sup> | Sara Zucchi<sup>3</sup> | Lorella Ragni<sup>3</sup> | Asia Fernández-Carvajal<sup>1</sup> | Giorgia Mangano<sup>4</sup> | Antonio Ferrer-Montiel<sup>1</sup> | Isabel Devesa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigación, Desarrollo e Innovación en Biotecnología Sanitaria de Elche (IDiBE), Universitat Miguel Hernández, 03202 Elche, Alicante, Spain

<sup>2</sup>AntalGenics SL, Ed. Quorum III, UMH Scientific Park, 03202 Elche, Alicante, Spain

<sup>3</sup>Angelini Pharma S.p.A. Global R&D PLCM Preclinical Development, Ancona, Italy

<sup>4</sup>Senior Scientific Consultant, Rome, Italy

**Correspondence**  
Magdalena Nikolaeva-Koleva, AntalGenics SL, Av. de la Universidad s/n, Ed. Quorum III, UMH Scientific Park, 03202 Elche, Alicante, Spain.  
Email: mnikolaeva@antalgenics.com

**Funding information**  
Angelini Pharma

### Abstract

Thermoregulation and heat dissipation by sweat production and evaporation are vital for human survival. However, hyperhidrosis or excessive perspiration might affect people's quality of life by causing discomfort and stress. The prolonged use of classical antiperspirants, anticholinergic medications or botulinum toxin injections for persistent hyperhidrosis might produce diverse side effects that limit their clinical use. Inspired by botox molecular mode of action, we used an in silico molecular modelling approach to design novel peptides to target neuronal acetylcholine exocytosis by interfering with the Snapin-SNARE complex formation. Our exhaustive design rendered the selection of 11 peptides that decreased calcium-dependent vesicle exocytosis in rat DRG neurons, reducing  $\alpha$ CGRP release and TRPV1 inflammatory sensitization. The most potent peptides were palmitoylated peptides SPSR38-4.1 and SPSR98-9.1 that significantly suppressed acetylcholine release in vitro in human LAN-2 neuroblastoma cells. Noteworthy, local acute and chronic administration of SPSR38-4.1 peptide significantly decreased, in a dose-dependent manner, pilocarpine-induced sweating in an in vivo mouse model. Taken together, our in silico approach lead to the identification of active peptides able to attenuate excessive sweating by modulating neuronal acetylcholine exocytosis, and identified peptide SPSR38-4.1 as a promising new antihyperhidrosis candidate for clinical development.

### KEYWORDS

peptides, Snapin, SNARE complex, sweat, TRPV1



## 7.4. Aplicaciones en biomedicina

### ○ **Objetivo:**

- Diseño de péptidos con aplicación antiperspirante.
- Dirigidos contra el complejo proteico Snapin-SNARE encargado de realizar la fusión de vesículas celulares con la membrana celular durante procesos de exocitosis.
- Inhibir liberación de acetilcolina desde terminales nerviosos en contacto con células de glándulas sudoríparas.

Design and validation of neuronal exocytosis blocking peptides as potential novel antiperspirants

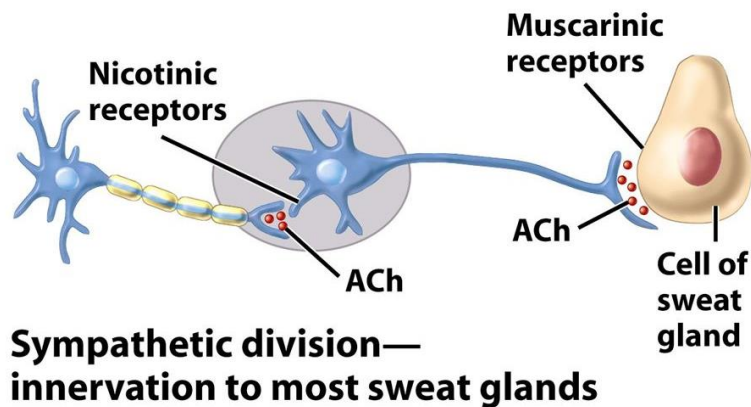
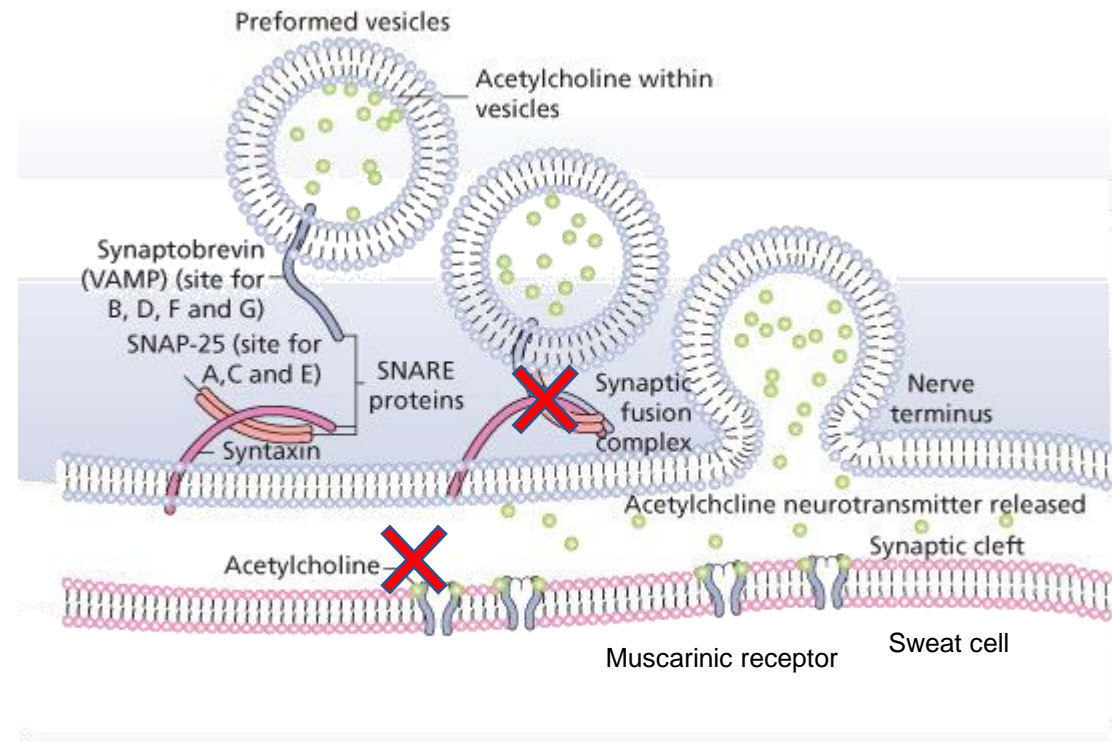


Figure 15-6b Principles of Anatomy and Physiology, 11/e  
© 2006 John Wiley & Sons



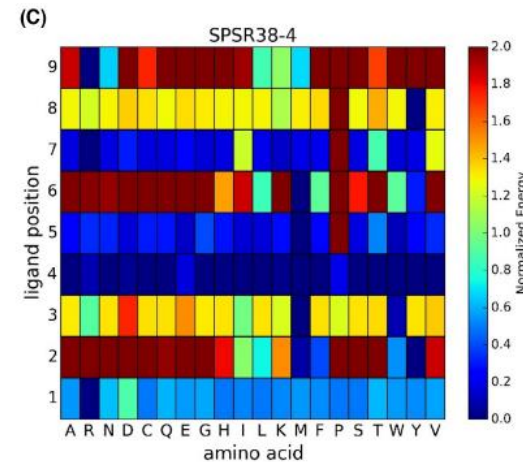
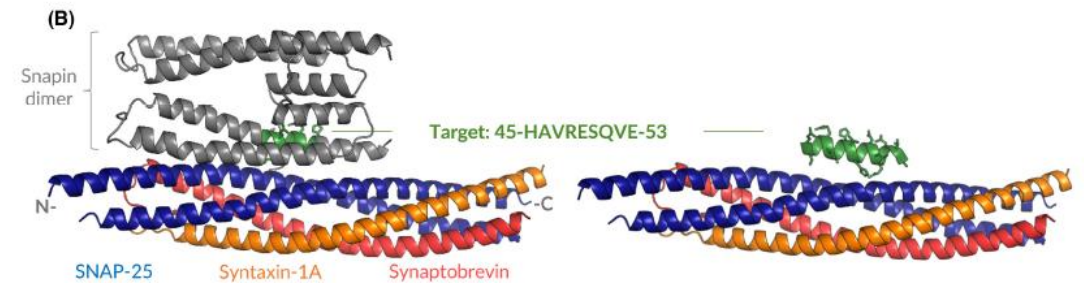
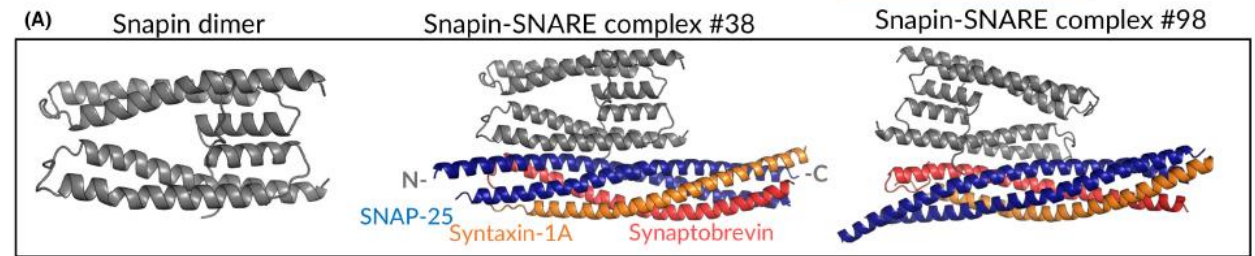


## 7.4. Aplicaciones en biomedicina

- **Resultados:**
- Creación de listado de péptidos putativamente inhibidores de la PPI, selección de los más potentes para testeo *in vitro*.
- Inhibición de la liberación de acetilcolina.
- Inhibición de la liberación de CGRP (específico de neuronas).
- Otros

Uso de técnicas experimentales de proteómica clásica - ELISA

- Estudio *in vivo* en modelo roedor de hiperhidrosis.



(D)

Position	Wild-type	Mutant	Total combinations
1	H	HR	270
2	A	MYFLW	
3	V	MWR	
4	R	R	
5	E	E	
6	S	MYL	
7	Q	Q	
8	V	Y	
9	E	RNM	

Design and validation of neuronal exocytosis blocking peptides as potential novel antiperspirants

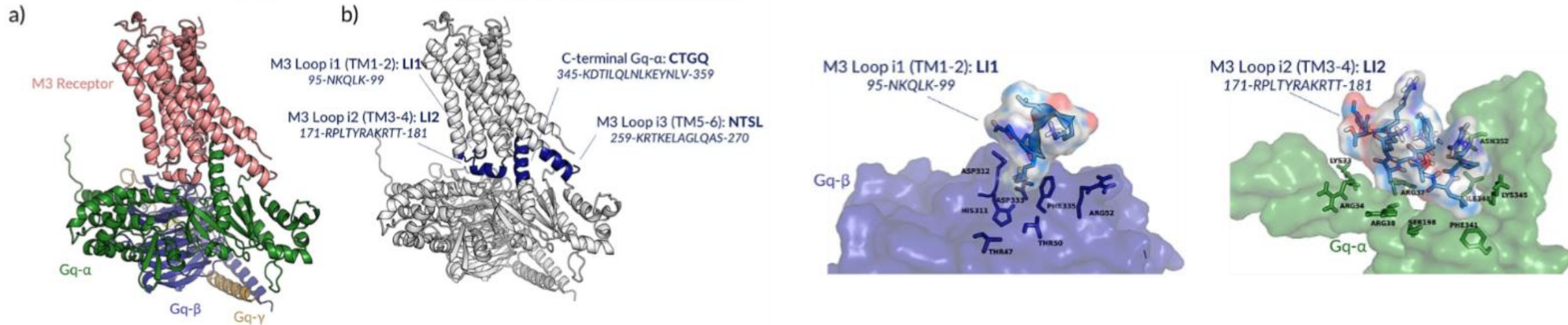
# 7.4. Aplicaciones en biomedicina

## Design and Validation of Novel Potential Antiperspirant Peptides Blocking M3-Gaq Sweat Signaling Cascade

Magdalena Nikolaeva-Koleva<sup>1</sup> · Laura Butron<sup>2</sup> · Ana Sempere<sup>1</sup> · Veronica Rivero<sup>2</sup> · Gregorio Fernández-Ballester<sup>2</sup> · Ana Espinosa<sup>1</sup> · Matteo Vergassola<sup>3</sup> · Elena Mastrocola<sup>3</sup> · Sara Zucchi<sup>3</sup> · Lorella Ragni<sup>3</sup> · Giorgina Mangano<sup>4</sup> · Isabel Devesa<sup>1</sup>

International Journal of Peptide Research and Therapeutics (2024) 30:47

<https://doi.org/10.1007/s10989-024-10628-4>



# 7.4. Aplicaciones en biomedicina

- Entender mecanismos fisiológicos
- Entender aspectos patológicos
- Desarrollar soluciones terapéuticas



## Dianas farmacológicas

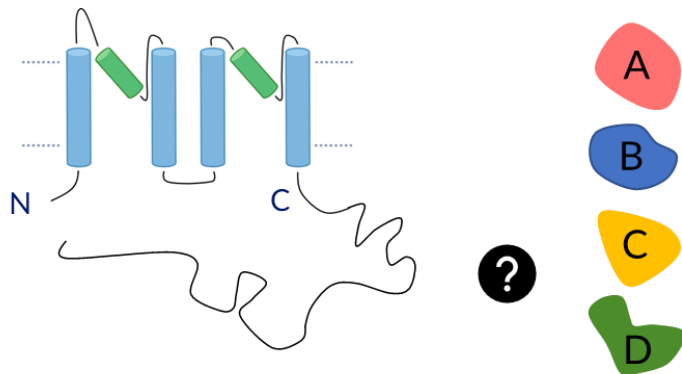
- Canales iónicos: características estructurales
  - PPIs mediante N o C-terminal intracelulares
  - Estructuras rayos-X: dominios intracelulares móviles
  - Estructuras RMN: canales iónicos son proteínas demasiado grandes

PROBLEMA

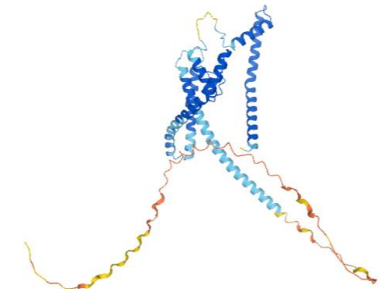
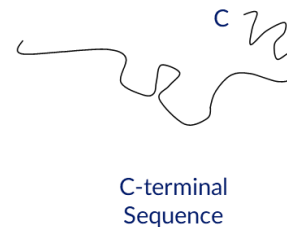
Análisis de secuencia del dominio intracelular



Modelado por homología, aun así, baja fiabilidad



- Necessity



Model Confidence:

- Very high (pLDDT > 90)
- Confident (90 > pLDDT > 70)
- Low (70 > pLDDT > 50)
- Very low (pLDDT < 50)

## 7.4. Aplicaciones en biomedicina

- Entender mecanismos fisiológicos
- Entender aspectos patológicos
- Desarrollar soluciones terapéuticas



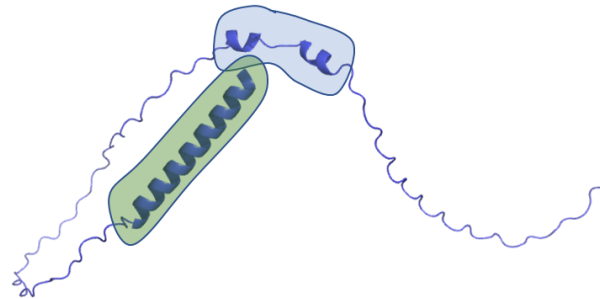
Análisis de secuencia del dominio intracelular



### Dianas farmacológicas

- Canales iónicos: características estructurales
  - PPIs mediante N o C-terminal intracelulares

C-terminal	SH3 domain canonical motifs
261-SRRTRAEMGGLTAQAASWTGTARVTORAGFAA <b>PPPEKEQPL</b>	<b>+xxPxxP</b> x - any aa
L <b>PPPP</b> CPAQPLGR <b>PRSP</b> PEKAQ <b>PPSP</b> TASALDY <b>PS</b> ENLAFIDES	+ - positively charged (K,R)
SDTQSE <b>RGCP</b> L <b>PRA</b> PRGRRR <b>P</b> NP <b>PRK</b> PVR <b>PRG</b> PR <b>PR</b> DKGV <b>PV</b> -393	P - proline





# 7.4. Aplicaciones en biomedicina

- Entender mecanismos fisiológicos
- Entender aspectos patológicos
- Desarrollar soluciones terapéuticas



Análisis de secuencia del dominio intracelular

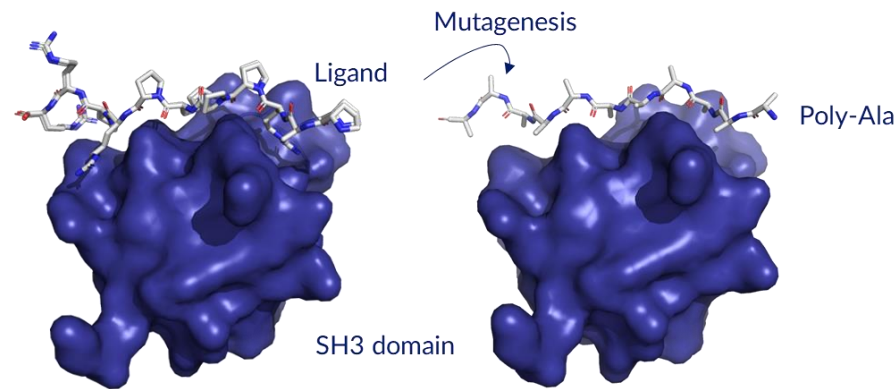


## Dianas farmacológicas

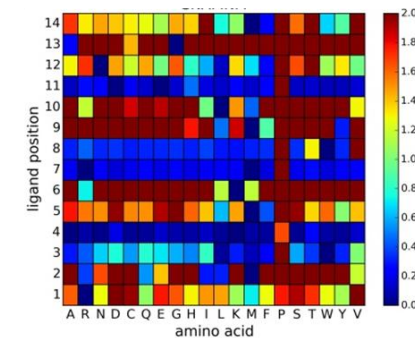
- Canales iónicos: características estructurales
  - PPIs mediante N o C-terminal intracelulares

**C-terminal**  
261-SRRTRAEMGGLTAQAASWTGTVTARVTQRAGPAAPPPEKEQPL  
LPPPPCPAQPLGRPRSPPEKAQPPSPPTASALDYPSENLAFIDES  
SDTQSERGCPLPRAPRGRRRPNPPRKPVRPRGPGRPRDKGVPV-393

**SH3 domain canonical motifs**  
+xxPxxP x - any aa  
+ - positively charged (K,R)  
xPxxPx+ P - proline



Adan database:  
x84 SH3 domains



Position-specific scoring matrix (PSSM)

# 7.4. Aplicaciones en biomedicina

- Entender mecanismos fisiológicos
- Entender aspectos patológicos
- Desarrollar soluciones terapéuticas

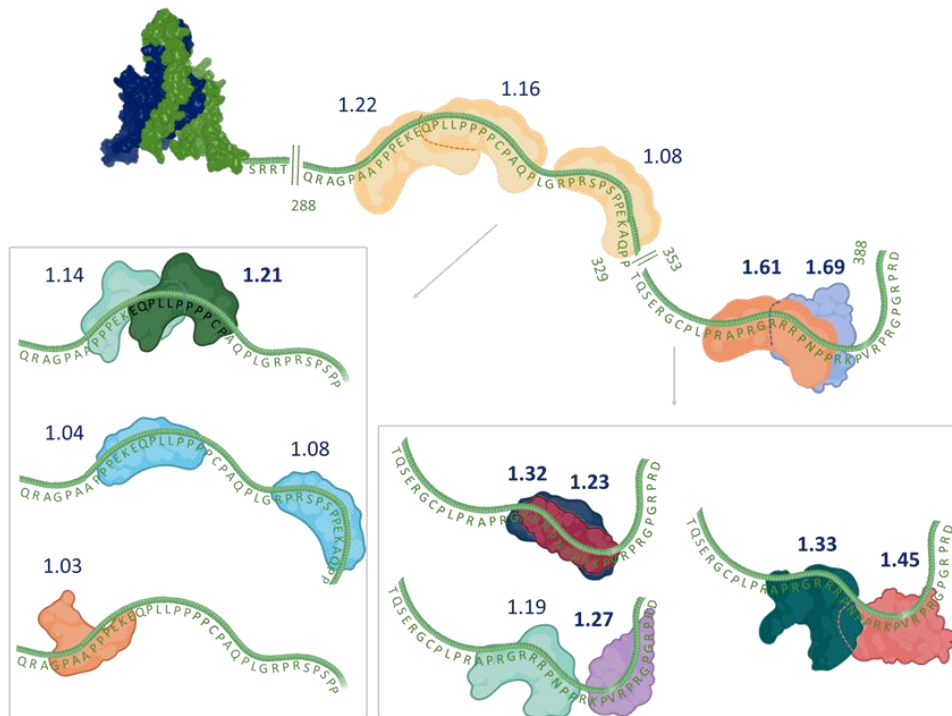


Análisis de secuencia del dominio intracelular



## Dianas farmacológicas

- Canales iónicos: características estructurales
  - PPIs mediante N o C-terminal intracelulares



## Resultados:

- Listado de posibles parejas proteicas (que contienen dominios SH3).
- Zona de interacción putativa.

## Futuro avance:

- *Docking* con modelo por homología del C-terminal.
- Y2H
- Mutagénesis: computacional y experimental para validar
- Refinar modelo por homología según resultados *docking*
- Diseño de moduladores de PPIs

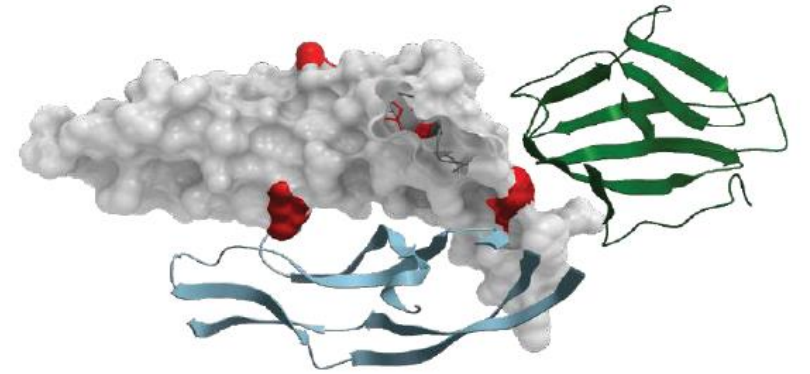


## 7.4. Aplicaciones en biomedicina

- Entender mecanismos fisiológicos
- Entender aspectos patológicos
- Desarrollar soluciones terapéuticas

### Mutaciones patológicas

- Determinar en qué medida afecta a las PPI, para ello se necesita de la estructura 3D del complejo.
- En redes de interacción: estimar qué rutas metabólicas pueden estar afectadas.
  - Docking para simular interacciones – localización y residuo afectado, pero también
  - Estimar impacto energético



# 7.4. Aplicaciones en biomedicina

- Entender mecanismos fisiológicos
- Entender aspectos patológicos
- Desarrollar soluciones terapéuticas

## Mutaciones patológicas

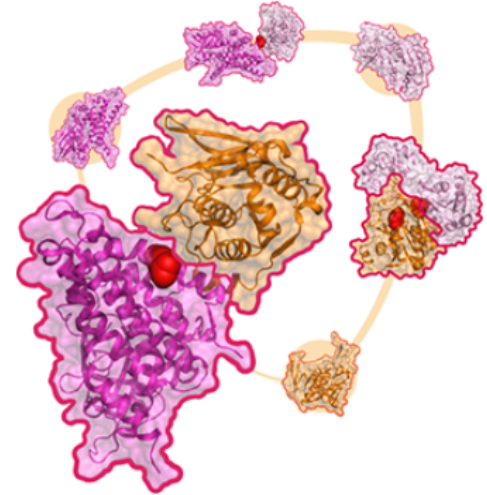


**dSysMap** (Mapping of Human disease-related mutations at the systemic level) displays Human disease-related mutations on the structural interactome. Mapping of mutations on protein structures and on interaction interfaces allows you to visualize the region of the interactome that they affect and helps in rationalizing their mechanism of action.

The current version of **dSysMap** is **2020\_05**

Is this your first time with dSysMap? **Take a 5 minutes Tutorial!**

**Tutorial :: Learn how to use dSysMap**



### Browse diseases

Select a disease from the following list.

Example: **Loeys-Dietz syndrome**

Type here the name of a disease or browse the list...

- + Bacterial infection or mycosis
- + Blood disease
- + Cancer
- + Cardiovascular disease
- + Congenital abnormality

### Query with a list of proteins

Enter a list of proteins (Uniprot AC or gene name)

Example

For example...

ETFA, ETFB, ACADM, ACADS, ACADVL, SOCS3, IRF7, GPHN, RPSA

**Submit**

## 7.4. Aplicaciones en biomedicina

- Entender mecanismos fisiológicos
- Entender aspectos patológicos
- Desarrollar soluciones terapéuticas

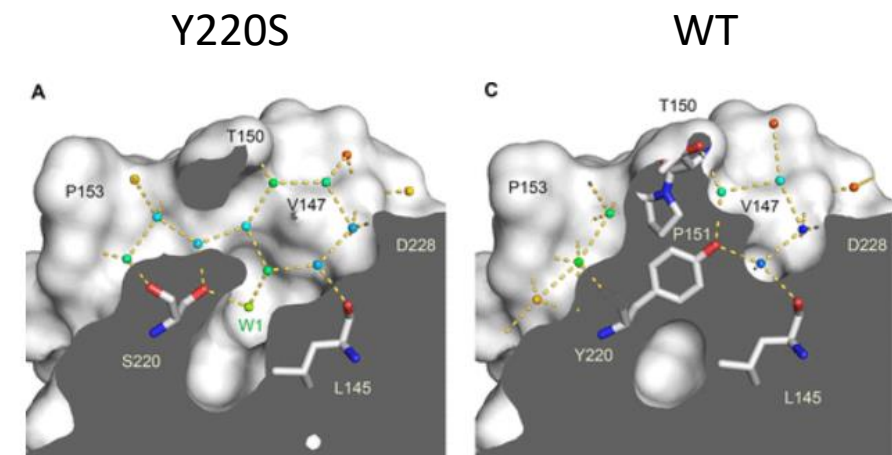
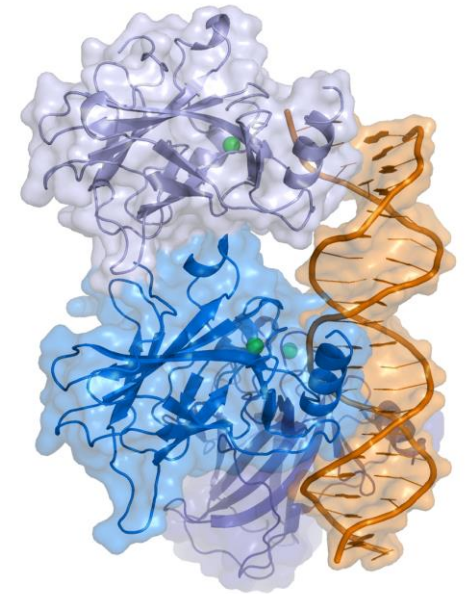
### Mutaciones patológicas

- Estados patológicos causados por disrupción de PPIs debido a mutaciones.
  - Mutación en dominio de unión a ADN de p53
    - Evita activación de rutas anticancerígenas
    - Afecta a gran cantidad de rutas: apoptosis, estabilidad genética, inhibición de angiogénesis.
    - Uso de DM para simular el comportamiento de *mut* vs *WT*
    - Desarrollo de estabilizadores químicos que rescaten estructuralmente el efecto de la mutación (08MBIF)

#### Targeting Cavity-Creating p53 Cancer Mutations with Small-Molecule Stabilizers: the Y220X Paradigm

Matthias R. Bauer, Andreas Krämer, Giovanni Settanni, Rhiannon N. Jones, Xiaomin Ni, Raysa Khan Tareque, Alan R. Fersht, John Spencer, and Andreas C. Joerges\*

☛ Cite this: *ACS Chem. Biol.* 2020, 15, 3, 657–668  
Publication Date: January 28, 2020  
<https://doi.org/10.1021/acscchembio.9b00748>



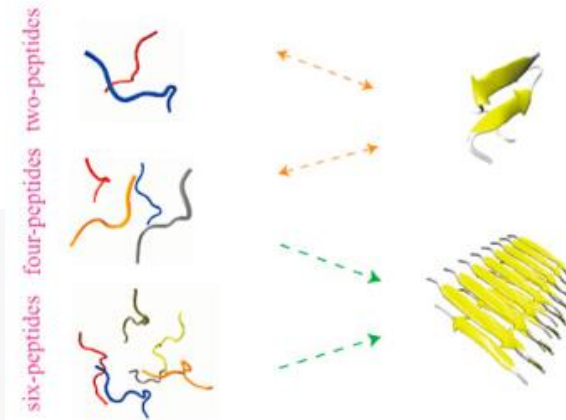
## 7.4. Aplicaciones en biomedicina

- Entender mecanismos fisiológicos
- Entender aspectos patológicos
- Desarrollar soluciones terapéuticas

### Enfermedades neurodegenerativas

- Fallo en plegamiento correcto de proteínas.
- Formación de agregados y precipitados tóxicos.
  - Estudio del mecanismo mediante DM.
  - Identificación de zonas propensas a interacción.

ORIGINAL RESEARCH article  
Front. Mol. Biosci., 31 August 2022  
Sec. Biological Modeling and Simulation  
Volume 9 - 2022 |  
<https://doi.org/10.3389/fmolb.2022.982276>

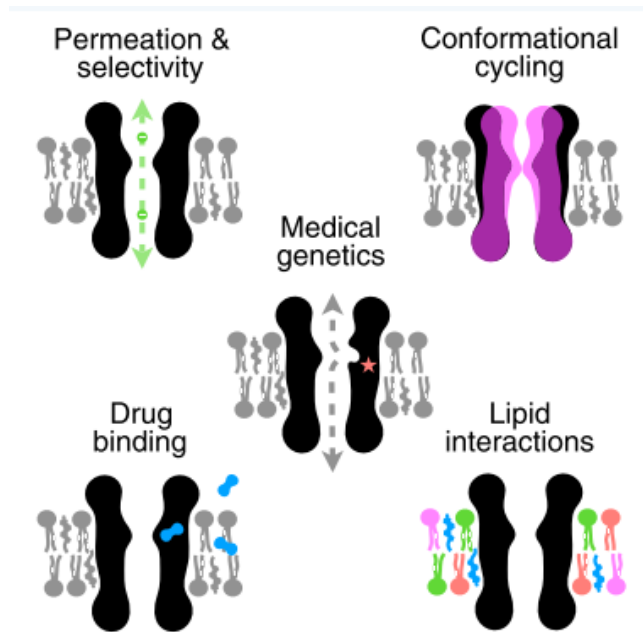


Exploring the misfolding and self-assembly mechanism of TTR (105–115) peptides by all-atom molecular dynamics simulation

## 7.4. Aplicaciones en biomedicina

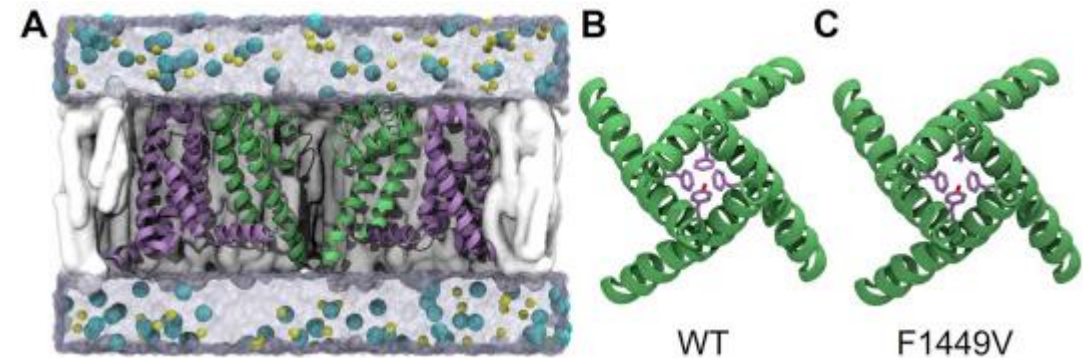
- Entender mecanismos fisiológicos
- Entender aspectos patológicos
- Desarrollar soluciones terapéuticas

### Mecanismos fisiológicos



Extraído de doi: 10.1016/j.tibs.2021.04.005

### Mutaciones patológicas



Extraído de doi: 10.1016/j.neuropharm.2017.06.030



viu

**Universidad**  
Internacional  
de Valencia

[universidadviu.com](http://universidadviu.com)

De:  
 Planeta Formación y Universidades