



Simposio Argentino de Jóvenes Investigadores en Bioinformática



LIBRO DE RESÚMENES

5 y 6 de Octubre
FBQyF-UNT

Tucumán - Argentina
Año 2022

Libro de Resúmenes de la 7ma edición del Simposio Argentino de Jóvenes Investigadores en Bioinformática (7SAJIB)

<https://rsg-argentina.netlify.app/conferences/sajib2022/>
<https://rsg-argentina.netlify.app/talk/7sajib/>

Libro digital publicado en el repositorio Zenodo del RSG Argentina con DOI asociado:

<https://zenodo.org/communities/rsgargentina/>

Diseño y edición: Carla Luciana Padilla Franzotti

Iniciativa del Comité Directivo del [RSG Argentina](#)
Período 2021-2022.



CONTENIDO

SOBRE EL EVENTO	2
Sede oficial del Simposio	2
PATROCINADORES Y COLABORADORES	3
Patrocinadores	3
Colaboradores	3
COMITÉ ORGANIZADOR	4
Comité Directivo General: RSG Argentina	4
Comité Directivo Local: FBQyF-UNT	4
PROGRAMA DEL SIMPOSIO	5
ORADORES PRINCIPALES	7
Dra. Monica Pickholz	8
Dr. Javier González	8
Dr. Ariel Amadio	8
DOCENTES DE WORKSHOPS	9
Dr. Daniel Kurth	10
Mg. Lucia Zarbá	10
Ing. Rafael Betanzos San Juan	10
RESÚMENES	11

SOBRE EL EVENTO

En la última década y principalmente durante la pandemia por COVID-19, la bioinformática tuvo un crecimiento exponencial convirtiéndose en una disciplina indispensable para el desarrollo científico y tecnológico de Argentina y el mundo. Debido a su naturaleza interdisciplinaria, muchos estudiantes y profesionales participan actualmente en eventos nacionales e internacionales en bioinformática para mejorar su formación y promover proyectos en beneficio de la sociedad.

En 2022 desde el RSG Argentina nos propusimos organizar la **7ma edición del Simposio Argentino de Jóvenes Investigadores en Bioinformática (7SAJIB)** en español y en modalidad híbrida (virtual + presencial), con el objetivo de promover la inclusión, el acceso abierto del conocimiento y la participación activa de estudiantes de distintos niveles de Argentina y otros países hispanohablantes.

Como todos los años, el SAJIB pretende ser un espacio de encuentro para la creación de nuevas redes de contacto y colaboración académica, ampliando los horizontes de la transferencia de conocimiento y las bases del método científico a nuevos sectores sociales, así como el desarrollo de la investigación en Bioinformática y Biología Computacional en nuevas regiones de Argentina.



Sede oficial del Simposio

Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia -
Universidad Nacional de Tucumán (FBQyF-UNT)

PATROCINADORES Y COLABORADORES

Patrocinadores

International Society for Computational Biology Student Council (ISCB-SC).
Asociación Argentina de Bioinformática y Biología Computacional (A2B2C).
Women in Bioinformatics and Data Science LA (WBDS-LA).



Asociación Argentina
de Bioinformática y
Biología Computacional



Women in
Bioinformatics
& Data Science LA
Fostering collaboration among women

Colaboradores

Asociación de Biología de Tucumán (ABT)
Centro Único de Estudiantes de la FBQyF-UNT - Frente Estudiantil



ASOCIACION DE
BIOLOGIA DE
TUCUMAN

COMITÉ ORGANIZADOR

Comité Directivo General: **RSG Argentina**

Carla Luciana Padilla Franzotti (SBG-UNQ) - **Chair**

Mercedes Didier Garnham (IIBIO-UNSaM) - **Co-chair**

Juliana Glavina (IIBIO-UNSaM)

Franco Simonetti (IIBBA-FIL)

Nicolás Nahuel Moreyra (IEGEBBA-UBA)

Agustin Baricalla (CEBIO-CITNOBA-UNNOBA)

Barbara Nogar (Sysbio-IFLYSIB-UNLP)

María Florencia Martínez (IBR-UNR)

Andrea Peñas Ballesteros (INTA-EEA Pergamino)

Juan Mac Donagh (SBG-UNQ)

Nataya Soledad Flores (FCEQyN-UNaM)

Comité Directivo Local: **FBQyF-UNT**

Juan Vicente Farizano

Bianca Agostina Kollrich

Mauricio José Colombo

Sofía Fernanda Lescano

Matheo Mazziotti

Matias Emilio Castillo

Andrea Estefania Irirarte

Santiago Bernabé Guiñazú

Keren Iael Gepner

PROGRAMA DEL SIMPOSIO

5 de Octubre	
Hora (GMT-3)	Orador/Charla
9:00 - 9:40	Acreditación y colgado de pósters (presencial)
9:40 - 10:00	Apertura: Presentación del RSG Argentina Chair y Co-chair: Carla Padilla Franzotti y Mercedes Didier Garnham
10:00 - 11:00	Charla principal: Perspectivas de las simulaciones de dinámica molecular en sistemas biológicos seleccionados. Oradora principal: Dra. Monica Pickholz Moderador: Franco Simonetti
11:00 - 11:20	Descanso
11:20 - 11:40	Charla: Caracterización Genómica de cepas de <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> con y sin actividad inmunomoduladora antiviral. Orador: Leonardo Albarracin Moderadora: Carla Padilla Franzotti
11:40 - 12:00	Charla: Pipeline bioinformático para la caracterización del sitio de unión: identificación de aminoácidos clave en proteínas virales. Orador: Marcelo Gamarra Moderadora: Mercedes Didier Garnham
12:00 - 13:00	Sesión de Pósters
13:00 - 14:30	Almuerzo
14:30 - 15:30	Charla principal: Buscando familias de proteínas en redes de similitud de secuencias (SSN). Orador principal: Dr. Javier González Moderadora: Carla Padilla Franzotti
15:30 - 15:50	Charla: Biogénesis de microARNs en plantas, nuevo nivel de regulación desbloqueado: Procesamiento co-transcripcional de pri-miARNs favorecido por la formación de R-loops. Orador: Ileana Tossolini Moderadora: Mercedes Didier Garnham
15:50 - 16:10	Charla: Diferencias clave dentro del género <i>Fructobacillus</i> estudiado por genómica comparativa Orador: Florencia Mohamed Moderadora: Carla Padilla Franzotti

16:10 - 16:30	Charla: ¿Qué hacer cuando el docking no alcanza? La Quimioinformática al rescate en la búsqueda de Inhibidores de Acetilcolinesterasa. Orador: Dante Nicolas Stratico Moderador: Agustin Baricalla
16:30 - 16:50	Sorteo 10 años de la Fundación del RSG Argentina
16:50 - 17:10	Descanso
14:30 - 15:30	Charla principal: Secuenciación en tiempo real y lecturas largas. Desde el SARS-CoV-2 a metagenomas. Orador principal: Dr. Ariel Amadio Moderador: Nicolás Nahuel Moreyra
16:10 - 16:30	Charla: Caracterización genómica de aislados de <i>Klebsiella pneumoniae</i> ST25 hipermucoviscosos resistentes a Carbapenem del Noroeste argentino. Orador: Stefania Dentice Maidana Moderadora: Carla Padilla Franzotti
16:10 - 16:30	Charla: Un Atlas subcelular de AKT como herramienta predictiva de sus roles fisiológicos y patológicos. Orador: Antonella Vila Moderadora: Andrea Peñas Ballesteros
16:10 - 16:30	Charla: Alteraciones transcripcionales y microARNs relevantes en la relación diabetes-cáncer pancreático. Orador: Maria Victoria Mencucci Moderadora: Andrea Peñas Ballesteros
9:40 - 10:00	Cierre y Premiación de trabajos Chair y Co-chair: Carla Padilla Franzotti y Mercedes Didier Garnham

6 de Octubre - Workshops

Hora (GMT-3)	Workshop/Docente
9:00 - 13:00	Workshop: Metagenómica y metataxonómica: caracterización de comunidades por secuenciación de amplicones. Docente: Dr. Daniel Kurth
	Workshop: Introducción a la programación en R. Docente: Mg. Lucía Zarbá
	Workshop: Herramientas computacionales para la predicción de complejos proteína-ligando. Docente: Ing. Rafael Betanzos San Juan

ORADORES PRINCIPALES



Dra. Monica Pickholz



Licenciada en Física por la FCEyN (1994). En 1999 terminó su Doctorado en la Universidade Estadual de Campinas, seguida de estadias postdoctorales en el exterior. En marzo del 2009 se incorporó a la Facultad de Farmacia y Bioquímica a través del Programa RAICES, del MinCyT. En la actualidad es investigadora independiente de CONICET con lugar de trabajo en el Instituto de Física de Buenos Aires (IFIBA) en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. La Dra. Pickholz posee una amplia experiencia con métodos de Química cuántica y simulaciones de Dinámica Molecular.

Dr. Javier González



Licenciado en Biotecnología por la Universidad Nacional de Rosario (2002). En 2009 terminó su doctorado en Ciencias Biológicas en el laboratorio IBR-CONICET de la misma universidad. Entre los años 2009 y 2012 llevó a cabo su Posdoctorado en la School of Pharmacy, University of Maryland en Baltimore. Entre los años 2013 y 2015, fue Director's Postdoctoral Fellow en la división de biociencias en Los Alamos National Lab. A partir de 2016 se desarrolla como profesor adjunto en la Universidad Nacional de Santiago del Estero y como Investigador

Independiente en CONICET. Su área de expertise se nuclea en la Enzimología y la Biología Estructural.

Dr. Ariel Amadio



Licenciado en Biotecnología y Doctor en Ciencias Biológicas. Actualmente se desarrolla como Investigador Independiente de CONICET en la Estación Experimental Agropecuaria de Rafaela-Santa Fe. Sus investigaciones se centran en la aplicación de herramientas genómicas y bioinformáticas para el mejoramiento de la salud animal. Durante la pandemia realizó grandes aportes haciendo vigilancia y secuenciación de cepas de COVID-19 con el proyecto PAIS.

DOCENTES DE WORKSHOPS



Dr. Daniel Kurth



Doctor en Ciencias Biológicas por la Universidad Nacional de Rosario (2010). Entre 2011 y 2013 realizó un posdoctorado en PROIMI-CONICET con la Dra. María Eugenia Farías. Desde 2014 es Investigador en PROIMI-CONICET. Sus principales temas de investigación son: Metagenómica de comunidades microbianas de lagunas de altura, identificación de elementos genéticos móviles en datos de secuenciación masiva e identificación de sistemas de defensa contra bacteriófagos.

Mg. Lucia Zarbá



Licenciada en Ciencias Biológicas por la Universidad Nacional de Tucumán (UNT) y Magíster en Ingeniería Ambiental por la Universidad de Florida. Actualmente se encuentra finalizando su doctorado en Biología en la UNT, estudiando los cambios en cobertura natural en las ecorregiones de Sudamérica. También se desempeña como profesional de apoyo en el laboratorio de cartografía en el instituto INTEPH CONICET-UNT y forma parte de la Oficina Nodal de América Latina del Global Land Programme donde

co-coordina el grupo de trabajo en Sistemas territoriales socio-ecológicos de Sudamérica.

Ing. Rafael Betanzos San Juan



Ingeniero en Agrobiotecnología por la Universidad Tecnológica de la Selva, maestro en ciencias de la vida con orientación en biomedicina y bionanotecnología por el CICESE. Actualmente forma parte del Laboratorio de Bio-FisicoQuímica y Bioinformática Estructural de Proteínas de la FCEyN-UBA donde sus principales actividades son la investigación y el desarrollo de métodos computacionales para la predicción de estructura proteína-ligando. También es abogado especializado en propiedad intelectual principalmente escritura y presentación de patentes; y

miembro profesional del Colegio Nacional de Biotecnólogos de México.

RESÚMENES



Hallazgo, modelado y validación de genes ortólogos distantes del gen DAF-12 en *Meloidogyne Incognita* mediante el uso de herramientas bioinformáticas

Rafael Betanzos San Juan^{1,2}, Claudio David Schuster^{1,2} y Carlos Modenutti^{1,2}

¹ Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Universitaria, Pab. II (CE1428EHA), Buenos Aires, Argentina

² Instituto de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (IQUIBICEN) CONICET. Ciudad Universitaria, Pab. II (CE1428EHA), Buenos Aires, Argentina

Introducción: *Meloidogyne incognita* es un nemátodo parasítico que daña cultivos y genera grandes pérdidas económicas. En la búsqueda de blancos moleculares para controlar otros nemátodos como *Strongyloides stercoralis* se descubrió que la interacción entre el receptor DAF-12 y los ácidos dafacrónicos (AD) es importante debido a que regula su ciclo de vida. Trabajos previos fallaron en identificar a DAF-12 en *M. incognita* debido a los métodos utilizados, pero mediante nuestra estrategia basada en minería de datos, filogenia y análisis estructural pudimos hallar posibles ortólogos de DAF-12 en *M. incognita*. La posterior validación experimental confirmó la eficiencia de esta estrategia.

Objetivos: Desarrollar una estrategia de búsqueda de genes ortólogos para hallar el gen DAF-12 en el parásito *M. incognita*.

Métodos: La identificación de potenciales ortólogos se hizo mediante una combinación de minería de datos con HMMER sobre el proteoma de *M. incognita* y un análisis filogenético de las proteínas obtenidas y ortólogos conocidos de DAF-12 para obtener candidatos validables. Las estructuras de los candidatos se modelaron con AlphaFold2 y se refinaron con simulaciones de dinámica molecular, se realizaron alineamientos estructurales de los candidatos y DAF-12 y se identificó el posible sitio activo mediante Fpocket. Además, ya que DAF-12 une compuestos de tipo AD, realizamos simulaciones de docking molecular entre los candidatos y diversos AD para analizar la energía de interacción, las formas y los modos de unión del ligando.

Resultados: Se identificaron 3 posibles ortólogos de DAF-12 en *M. incognita* con similitudes estructurales significativas en el plegado en comparación con estructuras cristalográficas de DAF-12 de otros organismos; con características fisicoquímicas similares en sus sitios activos; que pueden unir DA; y que el compuesto C24 funciona como antagonista de DAF-12 en *M. incognita*.

Conclusión: La estrategia antes descrita para identificar ortólogos permitió llegar desde el proteoma a 3 candidatos de DAF-12 en *M. incognita*, a su modelado estructural e incluso la validación experimental.

PALABRAS CLAVE: *M. incognita*, DAF-12, HAMMER, Docking, Dinámica molecular.

Comparative genomic analysis of three *Xanthomonas vesicatoria* strains with different degrees of aggressiveness on tomato

A Ponso¹, MI Bianco², J Garita-Cambronero³, J Cubero⁴, VP Conforte², G Dunger⁵,
G Morales⁶, AA Vojnov², AM Romero⁷ and PM Yaryura¹

¹ Instituto Multidisciplinario de Investigación y Transferencia Agroalimentario y Biotecnológica (IMITAB, UNVM-CONICET). Instituto Académico Pedagógico de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Nacional de Villa María, Córdoba, Argentina.

² Instituto de Ciencia y Tecnología "Dr. César Milstein", Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (ICT Milstein - CONICET) - Fundación Pablo Cassará, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

³ Asociación Nacional de Obtentores Vegetales (ANOVE), Madrid, España.

⁴ Departamento de Protección Vegetal, Laboratorio Bacteriología, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria (INIA), Madrid, España.

⁵ Instituto de Ciencias Agropecuarias del Litoral (ICIAGRO-Litoral, UNL-CONICET) Esperanza, Santa Fe, Argentina.

⁶ Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales. Instituto de Investigaciones en Tecnologías Energéticas y Materiales Avanzados, Universidad Nacional de Río Cuarto - CONICET, Córdoba, Argentina.

⁷ Cátedra de Fitopatología, Departamento de Producción Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

E-mail: aponso@unvm.edu.ar

Xanthomonas vesicatoria (Xv) is a member of a complex of species that causes bacterial spot on tomato (*Solanum lycopersicum*), a disease that affects different plant crops worldwide causing fruit quality decrease and also loss of entire crop production. In Argentina, bacterial spot is found in all tomato-producing areas, being Xv one of the main species detected in the fields. Currently, little is known about several virulence factors of Xv and it is important to understand them and the mechanism they use to cause disease to forward develop a new strategy to control this disease. Three native strains presenting different aggressiveness degrees on tomato plants were isolated and therefore, sequenced using Illumina HiSeq 2500 platform (2x100bp pair-end reads; coverage 98X). After processing, the novo assembly (MIRA v.4.0) and automatic annotation (Prokka v.1.13.3) was carried out using a specific database available at NCBI. We analyzed groups of genes known to encode for virulence factors in other phytopathogenic *Xanthomonas* spp., focusing our studies on xanthan and T4P. We did not find differences among the three strains in the gene cluster encoding xanthan production; however, we found differences in T4P related gene cluster. Interestingly, only BNM208 contains a Xac3241-like gene (encoding for one of the major pilin in *Xanthomonas citri*) and the three strains contain Xac3240-like gene (also pilA in *Xanthomonas citri*). Structural analysis was performed using the Phyre2 program to predict Xac3241-like and Xac3240-like tridimensional structures. Also, we did multi sequence alignment to identify conserved motifs. Xac3241-like and Xac3240-like showed to have major pilin (PilA) characteristics (similar tertiary structure and a conserved motif). Regarding these results, we hypothesized that these genes could encode for PilA in our strains. Future studies are required to confirm this hypothesis.

KEY WORDS: *Xanthomonas* - bacterial spot - virulence factors.

Taxonomic analysis of white gypsum-halite precipitations from Laguna Verde

Virginia Marcelino¹, Haydé Saracho¹ and Daniel German Kurth¹.

¹Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos (PROIMI - CONICET). Tucumán, Argentina.

E-mail: virumarcel@hotmail.com

The Argentine Puna represents a unique environment, characterized by high UV radiation, low oxygen pressure and extreme temperature fluctuations. There we find saline water deposits such as Laguna Verde (Salar de Antofalla, 3300 m.a.s.l.) surrounded by large extensions of white gypsum-halite precipitating crusts. These crusts harbor microbial communities distributed in layers (microbial mats) defined by physicochemical requirements, light and oxygen. These mats colonize both solid and sedimentary surfaces.

Metagenomic, physiological and geochemical studies reveal a series of strategies that allow these communities to survive in hypersaline wetlands by performing photosynthesis and serving as CO₂ sinks. The goal of this job was to determine the biodiversity associated to these large evaporitic biofilms surrounding the lake.

It was observed that the microorganisms are organized in two layers in the salt crust, an upper yellow layer, and a lower green layer. Samples were taken using a cut off sterile 10-ml syringe, were fixed immediately in RNAlater and transported to the laboratory on ice. Total genomic DNA was isolated from each of the layers using the FastDNA™ SPIN Kit for Soil (MP Biomedical) and it sequenced with Illumina HiSeq. Raw data obtained, was uploaded to the European Bioinformatic Archive (ENA). Once uploaded, it was analyzed using the MGnify Annotation Pipeline developed by Dr. Rob Finn's Team at EMBL-EBI. This pipeline performed the taxonomic annotation of the raw reads.

The taxonomic annotation obtained, showed that the orange layer is dominated by oxygenic photoautotrophic bacteria (Cyanobacteria, ca. 65%) followed by anoxygenic photoautotrophs (Proteobacteria, ca. 10%) from the classes Alphaproteobacteria and Gammaproteobacteria and heterotrophic bacteria (Bacteroidetes, ca. 10%). The green layer is dominated by the phyla Proteobacteria, ca. 50% followed by Bacteroidetes, ca. 30% and Cyanobacteria, ca. 20%. In both layers, the phyla Actinobacteria and Euryarcheota represent at least 1% of the relative abundance.

KEY WORDS: Taxonomy, Metagenomic

Estudio de las repeticiones invertidas de origen transposónico como elementos reguladores de la expresión génica en la familia Brassiceae y su potencial relevancia evolutiva

Aguilar, Florencia M.¹; Manavella, Pablo A.¹ y Arce, Agustín L.¹

¹ Laboratorio de Biología del ARN, Instituto de Agrobiotecnología del Litoral, CONICET/UNL, CCT-Santa Fe Colectora Ruta Nac. N°168 km. 0 Paraje el Pozo s/n, Santa Fe, Argentina.

Los elementos transponibles (TE) son extremadamente abundantes en los complejos genomas vegetales. Los TE pueden actuar como elementos reguladores de la expresión génica a través de mecanismos dinámicos que pueden combinar el silenciamiento mediado por pequeños ARNs, las modificaciones epigenéticas y la remodelación de la cromatina. Esto se demostró en el grupo con repeticiones invertidas (IRs) de origen transposónico en girasol y, a nivel genómico, en la planta modelo *Arabidopsis thaliana*. El objetivo del trabajo es identificar IRs de origen transposónico cercanos a genes en los genomas de plantas de la familia Brassicaceae, analizar su conservación y evaluar su potencial actividad reguladora de la expresión génica. Para lograrlo se utilizó el programa *einverted*, que identifica repeticiones invertidas, en 17 genomas completos de Brassicaceae disponibles en el portal Phytozome. Luego identificamos los IRs cercanos a genes, con una distancia máxima de 3000 pb corriente arriba y corriente abajo, encontrando un total de entre 250 y 4000 elementos por genoma. Con el objetivo de evaluar IRs conservados, seleccionamos entonces como referencia los genes cercanos a IRs en *Arabidopsis thaliana* y buscamos, utilizando información pública de relaciones de ortología obtenidas con *inParanoid*, genes ortólogos que también tuvieran IRs cerca en los genomas de las especies de la familia Brassicaceae analizadas. Como resultado hallamos 28 genes con IRs cercanos también en al menos 5 o más especies. Estos resultados nos permiten explorar la relevancia evolutiva que han tenido estos elementos, muchas veces considerados “ADN basura”, en la regulación de la expresión génica en la familia Brassicaceae, que representa un excelente conjunto de especies modelo para estudios genómicos y evolutivos.

Dicodon-based measures improve the prediction performance of gene expressivity

Andres Alonso¹ and Luis Diambra¹

¹ Centro Regional de Estudios Genómicos, Univ. Nac. de La Plata, CONICET, Argentina

E-mail: ldiambra@gmail.com

Introduction: Codon usage preference patterns have been associated with modulation of translation efficiency, protein folding and mRNA decay. However, new studies support that codon pair usage also has a remarkable effect on the level of gene expression.

Objectives: Here, we expand the concept of CAI, to answer if codon pair usage patterns can be understood in terms of codon usage bias, or if they offer new information for coding translation efficiency.

Methods: The weighting strategy for considering the dicodon contributions was applied to sequences from *E. coli*, yeast and *D. melanogaster*.

Results: we improve the prediction of gene expression level in around 20% respect CAI in yeast and 200% in fly. Interestingly, we note that dicodon associated with low value of adaptiveness are related to dicodons which mediate strong translational inhibition in yeast. We also notice that some codon-pairs have a smaller dicodons contribution than estimated by the product of the respective codon contributions.

Conclusions: Our results show that dicodons are more informative than codons and could be used to design new biotechnological applications, like the design of attenuated virus and the improvement of protein heterologous expression to a rational design of transcripts that reduce protein misfolding.

KEYWORDS: codon usage bias, codon-pair usage bias, dicodons, gene optimization.

Bioinformatic pipeline for binding site characterization: Identifying key amino acids in viral protein

Gamarra M. D^{1,2}; Blanco C. J^{1,2} and Modenutti C^{1,2}.

¹ Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Universitaria, Pab. II (CE1428EHA), Buenos Aires, Argentina

² Instituto de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (IQUIBICEN) CONICET. Ciudad Universitaria, Pab. II (CE1428EHA), Buenos Aires, Argentina

In recent years, structural bioinformatics has played an important role in predicting structure and estimating protein function. Molecular Docking algorithms allow to predict protein–ligand structures, and there are several packages available in the community, also Molecular Dynamics estimate how they behave in aqueous solution through time. These tools are useful for identifying the position of molecules at their target binding sites and in turn revealing the main amino acids of the interaction.

Phage J-1 belongs to the Siphoviridae family and can infect many strains of *Lactobacillus casei/paracasei* used in elaboration of fermented products, either retarding production, affecting quality of the product or totally interrupting the process. Carbohydrate Binding Module 2 (CBM2) of “Dit” protein present in Phage J-1 base plate, is directly involved in the recognition of bacterial cell wall carbohydrates. In this context, we present here a pipeline that allows identifying the key amino acids for protein-ligand interaction, applying it to the recognition of molecular determinants of phage J1 - *Lactobacillus casei* interaction.

For this work, free-use bioinformatic tools were used. BLAST protein, DALI server and Fpocket were used for the identification of domains and binding sites. Autodock4.2, AmberTools21, Amber were used for docking and molecular dynamics calculations.

Computational tools including DM and Docking assays allowed to identify three aminoacids (H410, W440 and D498) that show a polar interaction more frequently with all variants of the ligand. Rhamnose saccharide present in all ligands showed the highest frequency of receptor interaction according to experimental data. In this sense, the results obtained show that the combination of web available tools for use with computational simulation methods of molecules (docking, DM and solvent sites interactions) are capable of detecting the key amino acids in the interaction of the protein with its target carbohydrate. The proposed method was evaluated in vitro demonstrating its validity.

The results obtained show that the proposed pipeline is useful not only for knowing how a ligand binds to its target protein, but also how the recognition process is. All this contributes to the molecular knowledge of the phage-bacteria interaction, directing the development of strategies that prevent phage infection.

KEYWORDS: Molecular Docking, Molecular Dynamics, Solvent Sites.

“A workflow to compare ligand binding sites from molecular dynamics simulations”

José Carlos Estanislao Márquez Montesinos¹, Yuliet Mazola Reyes¹
and Wendy González Díaz^{1,2}

¹Center for Bioinformatics, Simulation and Modeling (CBSM), Universidad de Talca, Chile.

²Millennium Nucleus of Ion Channels-Associated Diseases (MINICAD), Chile.

Introduction: Polypharmacology is a modern drug research paradigm that can be used to tackle complex diseases, taking advantage that several molecules are involved in the pathology. This criterion focuses on the design and development of a drug that might interact and modulate several key targets involved in the same pathology, i.e., multi-target directed ligands (MTDL). The binding site (BS) comparison is meaningful to assist the rational MTDL design and there are several tools to address this task. However, to the best of our knowledge, there is no protocol that can take advantage of molecular dynamics (MD) data to fulfill the comparison of BSs. Hence, A computational workflow is presented to achieve the BS comparison using information from MD.

Methods: The workflow has two main sections: (1) BS characterization and (2) BS comparison. The step (1) includes Fpocket physicochemical features and contact residues frequency calculation, and a prediction of PLIP interaction profile. Next, the physicochemical data of the BS is used to cluster and retrieve the representative frames from the MD. The step (2) takes the BS of the representative frames and compares them by pairs using PocketMatch, selecting the best match between the systems. Finally, a BS structural alignment is performed by PocketAlign, using the information of contact residues frequency and the interaction profile calculations.

Discussion and conclusion: MDs from Kv1.5 and Nav1.5 channels bound with the antiarrhythmic flecainide were used to prove the concept. A common structural pattern for flecainide BS was found, revealing two matching areas: a hydrophobic patch and a polar region. Moreover, a distinctive feature was identified in Nav1.5, which could be responsible for the higher affinity presented by flecainide. This workflow is intended to be used in rational MTDL design and could be extended for a comparison of more than two systems.

KEYWORDS: Multi-target; drug promiscuity; druggable binding site; binding site comparison; polypharmacology

Funding: This research was funded by Fondo Nacional de Desarrollo Científico, Tecnológico y de Innovación Tecnológica (FONDECYT) grant number 1191133 and Millennium Nucleus of Ion Channel Associated Diseases (Minicad).

Key differences within the *Fructobacillus* genus studied by comparative genomics

Mohamed F.¹, Ruiz Rodriguez L.G.¹, Mozzi F.¹ and Raya R.R.¹.

¹Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA – CONICET), San Miguel de Tucumán.

E-mail: fmohamed@cerela.org.ar

The *Fructobacillus* genus is a group of obligatory fructophilic lactic acid bacteria, recently reclassified from *Leuconostoc* due to phylogenetic and biochemical differences. These bacteria require the use of fructose or another electron acceptor for its growth, because of the lack of an alcohol-acetaldehyde dehydrogenase gene (*adhE*). Previously, some genomic differences were reported by other authors in *Fructobacillus* respect to *Leuconostoc*, suggesting a reductive evolution in carbohydrate metabolism of this group caused by an adaptation to fructose-rich niches. However, genomic differences within this recently described genus have not been studied in detail yet. In this work, a comparative genomic analysis within the *Fructobacillus* genus was performed to evaluate genomic and metabolic differences among 15 available genomes. Slight differences were observed in the genome size (1.22-1.75 Mbp) among the studied strains. Phylogenetic analyses by two different approaches (using 16S rRNA and *Fructobacillus* core genes as query) located the studied genomes in two different clades. A pangenome analysis and a functional classification of their genes revealed that genomes of the first clade presented a clear reduction in the number of genes involved in the synthesis of amino acids and other nitrogen compounds. Moreover, the presence of genes strictly related with the use of fructose and electron acceptors was variable within the genus, although these variations were not always related to the phylogeny. These findings contribute to a better understanding of the unusual metabolism of these organisms that may be exploited for future biotechnological applications.

PALABRAS CLAVES: *Fructobacillus*, lactic acid bacteria, comparative genomics, phylogenetic analyses

Características conformacionales de las regiones intrínsecamente desordenadas de LTSV40 y su implicación en su mecanismo de unión a pRb

Carla Luciana Padilla Franzotti^{1,2}, Nicolas Palopoli^{1,2} y Gustavo Pierdominici-Sottile^{1,2}

¹Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes, Buenos Aires, Argentina.

²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.

E-mail: carlastembio@gmail.com

Introducción: Las proteínas de bolsillo humanas, como retinoblastoma (pRb), son reguladores negativos del ciclo celular eucariota. Mediante interacciones proteína-proteína inactivan factores transcripcionales, reprimen la expresión de ciertos genes y son por ello consideradas supresores tumorales.

SV40 (Simian Virus 40) es un virus oncogénico que codifica dos oncoproteínas no estructurales. Entre ellas, el antígeno T grande (LTSV40) contiene una región intrínsecamente desordenada (ID) en la cual se encuentra el motivo lineal (SLiM) de unión a pRb caracterizado por el patrón secuencial LxCxE. Este SLiM más sus residuos flanqueantes inactivan a pRb, provocando la modificación del ciclo celular en oncogénesis.

Objetivos: Mediante técnicas de simulación computacional buscamos comprender los aspectos moleculares del mecanismo de unión entre LTSV40 y pRb, caracterizando los determinantes secuenciales y conformacionales de esta interacción.

Metodología y Resultados: Utilizamos diferentes estructuras conocidas (PDB: 1GH6, 1Q1S y 4GDF) para obtener la conformación inicial del complejo pRb-LTSV40. Realizamos Dinámicas Moleculares (DM) de este sistema en las que se pudo observar que el SLiM interactúa fuertemente y con movimiento restringido. Las regiones flanqueantes al motivo poseen movilidad sensiblemente mayor, alternando entre interactuar con pRb y estar libres interactuando con el solvente. Estudios de Umbrella Sampling nos sugirieron que en el evento de separación de las proteínas, el SLiM de LTSV40 es la última región que deja de interactuar con pRb, lo que implica que actúa en el proceso de reconocimiento para la unión. Luego caracterizamos las conformaciones y flexibilidad de LTSV40 y pRb cuando se hallan libres mediante DM. Notamos que el bolsillo de pRb es relativamente rígido, mientras que en LTSV40 la región ID posee un vasto conjunto de conformaciones posibles, todas compatibles con la unión a pRb.

Por último empleamos análisis de componentes principales y pudimos observar que tanto el SLiM como toda la región ID poseen movimientos globales coordinados y de gran amplitud. Estos podrían permitirle al sistema establecer una cinética de interacción relativamente rápida.

Conclusión: Estos hallazgos aportan información valiosa para comprender las razones energéticas y estructurales de unión entre LTSV40 a pRb. Además, podrían contribuir al conocimiento general de la interacción proteica mediada por regiones desordenadas.

PALABRAS CLAVE: Antígeno T grande de SV40, retinoblastoma, dinámica molecular.

Análisis in-silico de manos EF del canal TPC1 en *Physcomitrella patens*

Fernando Vergara-Valladares¹, Franko Mérida-Quesada¹, Erwan Michard², Carlos Navarro-Retamal³ y Ingo Dreyer¹

¹ Centro de Bioinformática, Simulación y Modelado (CBSM), Facultad de Ingeniería, Universidad de Talca, 2 Norte 685, Talca 3460000, Chile

² Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad de Talca, Campus Talca, Avenida Lircay, Talca 3460000, Chile.

³ Cell Biology and Molecular Genetics, University of Maryland, College Park, College Park, MD, United States

Los canales de dos poros (TPC) son miembros de la superfamilia de canales iónicos activados por ligando y voltaje selectivos de cationes en las membranas de los orgánulos intracelulares de las células eucariotas. La evolución del canal TPC1 wild-type siguió esencialmente un patrón muy conservador, sin cambios en las huellas estructurales características de estos canales, como las regiones citosólica y luminal implicadas en la unión de Ca²⁺. Sin embargo, análisis filogenéticos detallados revelaron aspectos interesantes en musgos como *Physcomitrella patens*. En este tipo de planta aparece una segunda subclase de canales similares a TPC1 (subclase TPC1b), que es exclusivo de las briofitas. En el presente trabajo se realizó un análisis de las secuencias de los aminoácidos que codifican para canales similares a TPC1 de *Physcomitrella patens*, comparándolas con la secuencia de TPC1 en *Arabidopsis thaliana* (AtTPC1), para identificar las diferencias que podrían influir en la detección de Ca²⁺ y consecuentemente con la actividad del canal. Como resultado se identificaron 9 secuencias correspondientes a la familia de canales TPC1 en *Physcomitrella patens*. Aunque todas ellas aún comparten la arquitectura estructural de la conocida de AtTPC1, se distinguen aquellas que comparten una mayor identidad en su secuencia con AtTPC1, y las que corresponden a la subclase TPC1b. En los canales de este tipo, los aminoácidos clave que son esenciales para la detección de Ca²⁺ (especialmente en las manos EF) están mutados, lo que podría afectar la capacidad del canal para coordinar los iones Ca²⁺.

Posteriormente, se desarrollaron modelos con la herramienta Alphafold2, para las manos EF de los canales AtTPC1, PpTPC1 (similar a AtTPC1) y PpTPC1b (presente en briofitas), los cuales se sometieron a dinámicas de simulación molecular, usando el software Desmond, con cajas de agua a concentraciones de 0.1M de CaCl₂, y de 0.08M de CaCl₂ + 0.08M de KCl. Se comparó el número la cantidad y la estabilidad de las interacciones entre los residuos con los iones de Ca²⁺ y K⁺ durante la dinámica molecular. Se observó que las interacciones de los iones Ca²⁺ presentaban una gran estabilidad al interactuar en sistemas con 0.1M de CaCl₂. Sin embargo, los residuos que conforman la mano EF2 en los modelos de *Physcomitrella patens* no mostraron una buena coordinación de los iones, a diferencia de la mano EF1, donde tres residuos coordinan un mismo ión, en la mano EF2, cada residuo coordina un ión por separado, deformándose el sitio de EF2, esto no ocurre en el caso del modelo de AtTPC1, en donde tanto EF1 como EF2 conservaron las interacciones con iones Ca²⁺, lo que sugeriría una mejor coordinación de iones Ca²⁺ en el canal AtTPC1 respecto de PpTPC1 y PpTPC1b.

PALABRAS CLAVES: manos EF, TPC1, *Physcomitrella patens*, simulación molecular.

Tracking key regulators of metastasis in triple-negative breast cancer through combined gene regulatory network activity and non-coding somatic mutation analysis

Pedro J. Salaberry^{1,2} and Ignacio E. Schor^{1,2}

¹ Instituto de Fisiología, Biología Molecular y Neurociencias (UBA-CONICET), Buenos Aires, Argentina;

² Departamento de Fisiología, Biología Molecular y Celular, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

Introduction: Whole-genome sequencing of tumor samples has revealed the high frequency of somatic mutations in non-coding regions. However, limited effort has been made to understand the oncogenic potential of these mutations. Triple-negative breast cancer (TNBC) has the worst prognosis among breast cancer subtypes, with high rates of metastasis and lack of targeted treatments, making traditional chemotherapy the main therapeutic option. Even though tumors classified as TNBC are heterogeneous and originate from different driver mutations, they share similar gene expression profiles suggesting deregulation and dependence of common pathways. The characterization of critical checkpoints within these networks is the key to identify new markers and therapeutic targets. **Objectives:** In this work, we use gene expression data from isogenic TNBC cell lines with different metastatic ability to identify genes and pathways associated with a more malignant phenotype. Then, we analyzed the frequency of potentially pathogenic regulatory mutations in their promoters in order to prioritize candidates through mutation recurrence. **Description:** We combined a widely-used differential expression analysis method (DESeq2) and a breast cancer gene regulatory network (aracne.networks) with an algorithm (VIPER) which allowed us to infer changes in the activity of specific regulators through the interrogation of the expression levels of their target genes. We analyzed all possible pairs of isogenic TNBC lines, leading us to a list of 354 differentially active regulators. From this candidate set, we obtained an expanded network using the STRING database, and we delimited their active promoter regions in breast tissue using CAGE data from the FANTOM5 project. Finally, we retrieved reported TNBC mutations from COSMIC and PCAWG databases, and we used multiple scores to assess their pathogenic potential including FATHMM-MKL, CADD and DeepSEA. By means of a network propagation analysis, we found recurrently mutated sub-networks and functionally characterized them, identifying SWI/SNF as a protein complex with recurrent high-score non-coding mutations harbored in active promoters of its genes. **Conclusions:** This work presents an effort to explore the potential use of regulatory mutations to understand cancer progression and identify key pathways driving malignant phenotypes. In the future, we intend to evaluate the consequences of the reported regulatory mutations on the promoters' activity, in order to assess their relevance on the deregulation of gene regulatory networks involved in TNBC metastatic ability. **KEYWORDS:** triple-negative breast cancer, gene regulatory network, non-coding somatic mutations.

Estudio estructural y energético de la enzima aldo-ceto reductasa de *T. cruzi* (*TcAKR*) en su forma dimérica mediante simulaciones computacionales

Pablo Trujillo¹, Patricia Garavaglia², Sebastian Aduviri¹, Guadalupe Alvarez³, Eliana. K. Ascitutto³, Joaquín Cannata⁴, Gabriela García² y Mónica Pickholz¹

¹CONICET-University of Buenos Aires, Physics Institute of Buenos Aires (IFIBA).

²National Institute of Parasitology "Dr. Mario Fatała Chaben"- ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán".

³School of Science and Technology, National University of San Martín (UNSAM), ICIFI and CONICET, 4IIB-INTECH.

El mecanismo de acción de los fármacos tripanocidas empleados en el tratamiento de la enfermedad de Chagas, aún no está del todo claro, además no existen terapéuticas eficientes en las etapas avanzadas de la enfermedad. Algunas investigaciones recientes sugieren que la enzima aldo-ceto reductasa de *T. cruzi* (*TcAKR*) puede participar en el metabolismo de acción de drogas tripanocidas como el Benznidazol (principal terapéutica en la infección por *T. cruzi*) y la β -lapachona. Por otra parte, estudios cinéticos experimentales demostraron que la *TcAKR* presenta actividad como aldo-ceto reductasa con una cinética michaeliana (hiperbólica) y actividad como quinona óxido-reductasa con cinética sigmoidal. En concordancia con la cinética sigmoidea, distintas técnicas experimentales indican que la *TcAKR* puede formar oligómeros. Los arreglos supramoleculares diméricos de la *TcAKR* aún no han sido caracterizados en la literatura. Sin embargo la presencia de distintas formas oligoméricas explicaría el comportamiento diferencial de la enzima a nivel experimental. Por otra parte, se conoce que las proteínas juegan un rol muy importante en múltiples procesos celulares. Algunos procesos donde participan son: señalización, reacciones catalíticas, regulación de canales iónicos, transmisión de información desde el ADN al ARN, sistemas de liberación controlada, síntesis metabólica, interacción con fármacos, etc. Estos procesos generalmente se encuentran relacionados con las interacciones proteína-proteína (PPI). En los últimos años la comprensión estructural y energética de la naturaleza de las PPI ha sido un enorme desafío. Su entendimiento a nivel molecular y energético es un paso fundamental para el diseño de nuevos fármacos así como la elucidación de mecanismos bioquímicos de regulación. En esta investigación se emplearon herramientas computacionales para estudiar las PPI entre dos monómeros de *TcAKR* a partir de diferentes conformaciones iniciales mediante extensas simulaciones de Dinámica Molecular. Se determinó que la proteína puede agregarse en estructuras supramoleculares formando dímeros estables. Este comportamiento se estudió a nivel energético mediante cálculos de energía libre de afinidad entre monómeros por el método MMPGSA encontrándose que los sistemas que presentan mayor número de contactos entre monómeros, puentes de hidrógenos, interacciones salinas son los más favorecidos a nivel energético. La capacidad de agregación permitiría explicar el comportamiento cinético diferencial de la enzima. La agregación afecta tanto la estructura como la dinámica del sistema, lo que sugiere que afectaría también diferencialmente la ligación de potenciales fármacos. Adicionalmente se realizó un estudio exhaustivo propiedades estructurales. Determinándose en todos los casos que el loop C-terminal de los últimos 20 residuos presenta la mayor movilidad de la proteína.

PALABRAS CLAVES: Enfermedad de Chagas, Interacciones Proteína-Proteína Molecular Dynamics, *T. cruzi*.

Phenotypic and genotypic evaluation of wakame assimilation ability in *Ligilactobacillus salivarius* strains isolated from wakame fed pigs.

Mariano Elean¹, Leonardo Albarracín¹, Fernanda Raya Tonetti¹, Ramiro Ortiz Moyano¹, Stefania Dentice Maidana², Haruki Kitazawa³ and Julio Villena^{1,3}

¹ Laboratory of Immunobiotechnology, Reference Centre for Lactobacilli (CERELA-CONICET), Tucuman 4000, Argentina.

² Laboratory of Antimicrobials, Institute of Microbiology, Faculty of Biochemistry, Chemistry and Pharmacy, National University of Tucuman, Tucuman 4000

³ Food and Feed Immunology Group, Laboratory of Animal Food Function, Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, Sendai, Japan.

Wakame contains some bioactive components including fucoidan, alginic acid, omega 3 fatty acids, vitamins, and minerals, which has been reported to have beneficial effects in the human host. Among the beneficial effects attributed to wakame are its antibacterial, antioxidant and anti-inflammatory functions. Recently, we demonstrated that feeding pigs with wakame improved gastrointestinal immunity and induced a significant increase in the abundance of members of the Lactobacillus family, specially *Ligilactobacillus salivarius*. To determine whether the beneficial immunological effects of wakame were associated to the increment of *L. salivarius* strains, we isolated and characterized strains from wakame-fed pigs belonging to this species. The complete genome of eight selected *L. salivarius* strains (named FFIG) were sequenced and the functional and genomic characterization of those strains revealed that their immunomodulatory and adhesion capabilities are a strain-specific characteristic. In this work we aimed to further characterize the *L. salivarius* FFIG strains studying their wakame assimilation abilities by phenotypic and genotypic approaches. A prolonged fermentation experiment was designed to investigate the consumption of the saccharides by the FFIG strains in two different wakame broths (wakame leaf and wakame stalk). TLC analysis showed that the eight FFIG strains were able to utilize the saccharides contained in enzyme-treated wakame. The strains had different preferences for the two wakame broths. In wakame leaf, FFIG58, FFIG24 and FFIG63 were the strains with the highest ability to grow, whereas FFIG130 and FFIG79 were the strains with the lowest bacterial counts. In wakame stalk, the strains FFIG60, FFIG79 and FFIG130 stood out over the eight strains with the highest viable counts, whereas the FFIG58 have the lowest counts. It was reported that *L. salivarius* strains have different abundance of genes belonging to glycosyltransferases and glycosylhydrolases families, and that the set of enzymes determine the carbon sources that each strain can use for growing. Then, we evaluated the abundance of genes belonging to glycosylhydrolases families among the FFIG strains and compared them with other *L. salivarius* strains of animal origin. The clustering analysis considering the numbers and types of glycosylhydrolases showed that strains FFIG58, FFIG63, FFIG79 and FFIG124 had a significant higher abundance of enzymes from the families GH25 and GH13, when compared with all the other *L. salivarius* strains. Finally, we performed comparative genomic studies between the FFIG strains and other strains isolated from human and porcine origins. We found a core genome compound of 710 genes, and there was no correlation between the number of unique genes and the difference in the phenotypes. To the best of our knowledge, this is the first study that evaluated wakame assimilation capacity of *L. salivarius* strains using phenotypic and genomic approaches.

KEY WORDS: *Ligilactobacillus salivarius* - Wakame assimilation, Pigs, Probiotics.

Modelado molecular de la inhibición del efecto angiogénico de las proteínas VEGFR y PKC mediada por productos naturales de plantas argentinas.

Barbieri, Cecilia L.¹; Lanza Castronuovo, Priscila A.¹; Llorens, M. Candelaria²;
Joray, M. Belen²; M. Cecilia Carpinella² y Vera, D. Mariano A.¹

¹ Química Analítica y Modelado Molecular (QUIAMM), Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología (INBIOTEC), Mar del Plata.

² Instituto de Investigaciones en Recursos Naturales y Sustentabilidad José Sánchez Labrador S. J. (IRNASUS), Universidad Católica de Córdoba

Introducción: La angiogénesis es un mecanismo esencial implicado en procesos biológicos como la reproducción, el desarrollo y la cicatrización de heridas. Los desequilibrios entre los factores que regulan la angiogénesis se han relacionado con diferentes enfermedades que afectan la salud humana. A pesar del gran progreso logrado en la terapia antiangiogénica al día de hoy, existen obstáculos tales como su eficacia limitada, los efectos adversos severos y el desarrollo de resistencia, lo que exige una búsqueda continua de nuevos agentes terapéuticos. Un aislamiento bioguiado a partir de extractos de *Tagetes minuta* arrojó al tertiofeno tertienilmetanol como potencial metabolito activo, mostrando un efecto sobresaliente ya que logró inhibir la formación de túbulos inducida por VEGF y redujo significativamente la invasividad de las células endoteliales aórticas bovinas (BAEC), así como de las células de cáncer de mama altamente agresivas MDA-MB-231. Además, este compuesto no mostró evidencia de toxicidad contra las células mononucleares y eritrocitos de sangre periférica.

Objetivos: Estudiar el modo de ligado del tertienilmetanol y explicar su papel en la actividad antiangiogénica en las isoformas α y $\beta 2$ de la proteína quinasa C (PKC) y de VEGFR2.

Materiales y métodos: El efecto inhibitorio del compuesto sobre la activación de VEGFR2 y las isoenzimas α y $\beta 2$ PKC se estudió mediante simulaciones de docking molecular y dinámica molecular (MD). El protocolo de docking molecular se basó en Autodok Vina 1.1.2 para obtener las geometrías iniciales para las simulaciones MD, utilizando el software AMBER18. Los cálculos de energía libre y el análisis per-residue se realizaron utilizando el módulo mmpbsa de AMBER18 aplicando los modelos Poisson-Boltzman (PB) y Generalized Born (GB). Los análisis de energía se realizaron para los últimos 8 a 12 ns de simulación como el promedio de al menos dos trayectorias independientes. Se validó el protocolo reproduciendo las poses cristalográficas de inhibidores conocidos y obteniéndose una buena correlación entre energías libres de ligado y las IC50 de un set de inhibidores conocidos. **Resultados:** Para determinar la inhibición directa de VEGFR-2 y las isoformas α y $\beta 2$ de la PKC se realizó un análisis exhaustivo de las interacciones proteína-ligando de inhibidores de referencia. A partir de las simulaciones de cada complejo proteína-ligando se realizaron cálculos donde se estimó la energía de *binding* y la contribución energética de cada aminoácido. Las energías de *binding* del tertiofeno fueron comparadas con un panel de 10 inhibidores de PKC de actividad conocida, encontrándose su valor entre los de actividad moderada y los más potentes. Las energías *binding* obtenidas validaron el efecto inhibitorio sobre las isoenzimas α y, sobre todo $\beta 2$ de la PKC como principal mecanismo subyacente a la actividad antiangiogénica del tertienilmetanol, que evidenció estar imitando las interacciones de los inhibidores de referencia más potentes durante las simulaciones. **Conclusión:** Estos hallazgos respaldan este tiofeno natural como un fitoquímico antiangiogénico prometedor digno de ser investigado más a fondo y posicionan a *T. minuta* como un alimento funcional para ser empleado como medicina preventiva, profiláctica o incluso complementaria para muchas enfermedades dependientes de angiogénesis.

PALABRAS CLAVES: inhibidores de la angiogénesis, proteína quinasa C, dinámica molecular, docking molecular, tertienilmetanol.

Estudio de las Interacciones Moleculares del Detergente CHAPS con Proteínas solubles y de Membrana mediante Dinámica Molecular.

Ferrero Paulina Sofía¹

Director: Garay Sergio A.¹ y Codirector: Rodrigues Daniel E.¹

¹Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas-UNL

Introducción: El detergente CHAPS (3-cholamidopropil dimetilamonio 1-propanosulfonato) es un detergente zwitteriónico no desnaturizante, está compuesto por un grupo “cadena” (hidrofílico) y un grupo “colico” (hidrofílico/hidrofóbico) (Herrera et al., 2014). Es frecuentemente empleado para solubilizar proteínas de membrana y romper las interacciones proteína-proteína. Si bien existen numerosas proteínas cristalizadas con este detergente, no existen estudios previos que muestren las interacciones que podrían facilitar su efecto solubilizador.

Objetivo: Estudiar las interacciones atómicas entre las moléculas de CHAPS y dos proteínas con propiedades de hidrosolubilidad diferentes, mediante simulaciones de Dinámica Molecular, lo cual redundará en una mejor comprensión del uso de este detergente y eventualmente en el rediseño químico del mismo.

Materiales y métodos: Se realizaron simulaciones de dinámica molecular (2 μ s) para estudiar las interacciones de las moléculas CHAPS con las proteínas Interleuquina 18 (hidrosoluble) y Rodopsina (proteína de membrana), empleando el programa GROMACS, junto con el campo de fuerzas GROMOS 53a6. Para evaluar la llegada al equilibrio se utilizaron varias herramientas: A) Puentes de hidrógeno (PH) intra proteicos, proteína-agua y proteína-chaps, utilizando la herramienta de visualización de PH de VMD.

B) La variación de RMSD se calculó empleando las herramientas de VMD, RMSD Visualizer Tool y RMSD Trajectory Tool.

C) Evolución temporal de las estructuras secundarias de los sistemas, empleando el algoritmo DSSP (Dictionary of Secondary Structure of Proteins).

D) Análisis de la evolución temporal de los contactos entre los anillos de las moléculas CHAPS y proteínas, empleando un programa “ad hoc” en lenguaje tcl utilizado dentro de la interfaz VMD.

Resultados: El análisis conjunto de la evolución temporal de los PH, RMSD, Contactos atómicos y Estructuras Secundarias permitió establecer la llegada al equilibrio del sistema Interleuquina 18 con CHAPS en 1 μ s y sin CHAPS en 1,5 μ s. En Rodopsina con CHAPS se estableció el equilibrio en 1,3 μ s y sin CHAPS en 1,7 μ s. Se observa que esta proteína deja de formar PH con el agua para formar nuevos con las moléculas de CHAPS. Los valores de RMSD del esqueleto peptídico mostraron diferencias entre las simulaciones realizadas en agua y agua + CHAPS, indicando un claro efecto estabilizador (menor RMSD) en presencia de CHAPS.

Conclusión: A partir de los resultados obtenidos en el análisis RMSD se pueden inferir los puntos de equilibrio de los sistemas para continuar el análisis de las interacciones. Los resultados de los contactos atómicos entre los anillos de las moléculas Chaps y los residuos hidrofóbicos e hidrofílicos para ambas proteínas muestra que Rodopsina realiza mayor número de contactos con residuos hidrofóbicos, mientras que Interleuquina 18 con residuos hidrofílicos.

Bibliografía:

Herrera, F. E., Garay, A. S., & Rodrigues, D. E. (2014). Structural Properties of CHAPS Micelles, Studied by Molecular Dynamics Simulations. *The Journal of Physical Chemistry B*, 118(14), 3912-3921. <https://doi.org/10.1021/jp501729s>

PALABRAS CLAVES: CHAPS, Dinámica Molecular, Interleuquina 18, Rodopsina.

Caracterización de las Interacciones Anfifilo Peptídico AP18 con ADN mediante Dinámica Molecular.

Juarez Anahí¹

Director: Garay Sergio A.¹ y Codirector: Rodrigues Daniel E.¹

¹Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas - UNL- Área de modelado molecular.

Introducción: La terapia génica y sus potenciales aplicaciones en la salud, ha impulsado el estudio de sistemas de transfección génica (para introducir material genético exógeno al interior celular) eficientes, seguros y estables. El Anfifilo Peptídico AP18 (un surfactante tipo gemini dimérico), mostró anteriormente (Peña y col, 2017) un excelente desempeño en los procesos de transfección, convirtiéndose en objeto de nuestro estudio.

Objetivos: Construcción y optimización de una topología funcional para la molécula de AP18 y otra para el estándar de oro considerado en los procesos de transfección, la lipofectamina, para su posterior empleo en simulaciones de dinámica molecular que permitan dilucidar su interacción molecular con moléculas de ADN.

Materiales y Métodos: Obtención de la estructura tridimensional de las moléculas: para la Lipofectamina, se descargó el archivo sdf desde la base de datos pubchem, utilizando Chimera se guardó como pdb, y se retocó y minimizó en Avogadro utilizando el campo de fuerza GAFF (General Amber Force Field). Por otro lado, para AP18 se construyó la cabeza polar formada por la secuencia en una letra [NO-O-C-W-WC], el aminoácido lisina fue utilizado para construir las ornitinas, por último se unió covalentemente, mediante un enlace amida al triptófano C-terminal, la cola hidrofóbica de ácido oleico, cuya parametrización fue tomada desde Slipid. Dos de estas unidades monoméricas se unieron mediante enlace disulfuro formando el dímero empleado durante los procedimientos de transfección. Campo de fuerza: Se construyó un campo de fuerza fusionando, amber99sb-ildn (apropiado para simulaciones de proteínas), con los parámetros de un grupo selecto de tipos de átomos de Slipid para describir las colas hidrofóbicas. Construcción de las topologías: Las dos topologías fueron construidas empleando la herramienta pdb2gmx de GROMACS, el campo de fuerzas modificado y el modelo de agua adecuado para amber (TIP3P). Las colas hidrofóbicas de ambas moléculas fueron construidas a partir de lo estandarizado por Slipid para el ácido oleico perteneciente al residuo DOPE (dioleoylphosphatidylethanolamine), para describir la colina de la lipofectamina, se utilizó también el residuo DOPC (Dioleoylphosphatidylcholine). Para las cabezas polares se utilizó el campo de fuerza amber99sb_ildn, particularmente para la lipofectamina a partir del aminoácido ornitina. Redistribución de cargas: fueron ajustadas a lo esperado a pH fisiológico (+2 por monómero para AP18 y +5 para lipofectamina). Para AP18 se realizó modificando las cargas alrededor del enlace amida WC-Oleico por similitud con la esfingomiélinea SM18. Para la lipofectamina se realizó un cálculo cuántico empleando el servidor RESP ESP charge Derive Server (REDS). Minimización en vacío: se realizó como prueba de validación de que el campo de fuerza respeta la estereoquímica esperada. **Resultados:** Obtuvimos las topologías buscadas, un campo de fuerza fusionado entre amber99sb-ildn y Slipid, y un set de cargas para la lipofectamina desde el servidor REDS. Todo esto permitió reproducir correctamente la estereoquímica esperada para las moléculas. **Conclusión:** Las topologías obtenidas están siendo utilizadas para realizar simulaciones en dinámica molecular en agua explícita, en conjunto con moléculas de ADN. Este estudio aportará nuevos modelos que permitan proponer modificaciones moleculares para mejorar la función específica buscada.

Bibliografía:

Peña, L. C., Argarañá, M. F., de Zan, M. M., Giorello, A., Antuña, S., Prieto, C., Veute C. M. I. & Muller, D. (2017). New amphiphilic amino acid derivatives for efficient DNA transfection in vitro.

PALABRAS CLAVES: Topología, Lipofectamina, Gemini, Transfección.

Acción de extractos vegetales sobre la Miocardiopatía Chagásica.

J. Leonardo Gómez Chávez¹, Germán A. Conti¹, E. Rafael Perez¹, Emilio L. Angelina¹
y Nelida M. Peruchena¹

¹ Lab. Estructura Molecular y Propiedades, IQUIBA-NEA, Universidad Nacional del Nordeste, CONICET, FACENA, Av. Libertad 5470, Corrientes 3400, Argentina.

Introducción: La etapa crónica de la enfermedad de Chagas (ECh) se caracteriza por una intensa miocardiopatía causada por la infección con el parásito *Trypanosoma cruzi*. Extractos de *Cymbopogon citratus* (CC) han demostrado ser efectivos en esta etapa reduciendo los nidos de amastigotes e infiltrados inflamatorios en el tejido cardíaco de ratones. En este trabajo se emplearon herramientas bioinformáticas en conjunto con herramientas quimioinformáticas y de cribado virtual para entender el mecanismo de acción a nivel molecular del extracto de *C. citratus* en la miocardiopatía chagásica.

Objetivos: Comprender los mecanismos moleculares de la acción antiinflamatoria del extracto de CC en la miocardiopatía chagásica. Priorizar los genes de las principales vías biológicas asociadas a ECh mediante la construcción de una red de interacción de proteínas (PPI). Determinar los probables blancos de acción de los compuestos de CC por medio de Docking inverso.

Materiales y métodos: Se utilizó el dataset GSE41089 constituido por datos de expresión génica en corazón de ratones infectados con *T. cruzi* versus control disponible en NCBI-GEO. El procesamiento, expresión diferencial, enriquecimiento de Ontología génica (GO), pathways e interacciones proteína-proteína (PPI) fueron obtenidos con Oligo, LIMMA, TopGO, SPIA y STRINGdb respectivamente, disponibles en Bioconductor(<http://www.bioconductor.org>). Los alineamientos de secuencias fueron realizados con BLAST implementado en Biopython. Los compuestos de CC fueron obtenidos mediante revisión bibliográfica. El docking molecular fue realizado con Quick-vina y la normalización de los datos (Z-score) siguiendo la metodología de Kim, S.et.al (2018). Las dinámicas moleculares (DM) con AMBER16.

Resultados: El estudio de enriquecimiento funcional del dataset GSE41089 constituido por datos de expresión génica en corazón de ratones infectados con *T. cruzi* versus control, resultó en un set de genes sobreexpresados ($\log\text{Fold-Change}>1$ y p-valor ajustado $<0,05$) relacionados con términos GO involucrados con respuesta inmune innata y vías biológicas de liberación de citoquinas. La PPI construida a partir de los genes de las vías biológicas más afectadas destacó aquellos con un alto valor de interacción en la red. Los genes priorizados en la PPI sometidos a alineamientos de secuencias contra la base de datos de PDB destacó los productos génicos de los mismos. El conjunto de productos génicos (Proteínas) y sus ligandos nativos se implementaron en una campaña de docking inverso con diferentes métricas para validar la performance del docking. La implementación de Z-score por ligando resultó más eficaz para discriminar el par de Receptor-Ligando nativo del resto. La información aprendida con el set de validación fue implementada con los dockings de compuestos de CC resultando en una serie de receptores y ligandos para posteriores análisis. Los complejos más prometedores sometidos a Dinámica molecular corroboran los resultados del docking inverso, entre los cuales destacamos a Nerolidol unido a Ptgs2 con una ΔG_{bind} similar a inhibidores específicos como diclofenac e ibuprofeno.

Conclusión: La combinación de estrategias de farmacología en red en conjunto con herramientas de docking molecular resultan en una estrategia innovadora para el estudio de la acción de extractos vegetales contra ECh y permitirá buscar tratamientos más efectivos para la misma.

PALABRAS CLAVES: enfermedad de chagas, etnomedicina, expresión diferencial, pathways biológicos, docking

Alteraciones transcripcionales y microARNs relevantes en la relación diabetes-cáncer pancreático

Mencucci MV¹, Abba MC² y Maiztegui B¹

¹ CENEXA. Centro de Endocrinología Experimental y Aplicada (UNLP-CONICET) Centro Asociado CICPBA, Facultad de Ciencias Médicas UNLP, La Plata, Argentina.

² CINIBA. Centro de Investigaciones Inmunológicas Básicas y Aplicadas (UNLP- CICPBA), Facultad de Ciencias Médicas UNLP, La Plata, Argentina.

Introducción y antecedentes: La diabetes tipo 2 (DT2) se asocia con un mayor riesgo de cáncer pancreático (CP). Si bien la DT2 de larga duración es un factor etiológico del CP, la DT2 de nueva aparición podría ser una manifestación temprana del CP. Profundizar el conocimiento acerca de la asociación entre ambas patologías es fundamental para mejorar el diagnóstico y tratamiento de los pacientes con CP. Tanto la patogénesis de la DT2 como del CP está condicionada por alteraciones en la expresión génica, así como en los mecanismos involucrados en su regulación, como los microARNs (miARNs). Estos son ARN pequeños que regulan la expresión génica interactuando con ARNs mensajeros (ARNms) blanco. Las alteraciones transcripcionales, así como el rol de los miARNs en la asociación entre ambas patologías han sido escasamente abordados. **Objetivo:** Identificar alteraciones en la expresión génica y en los miARNs involucrados en la relación entre la DT2 y el CP a través de la integración de datos disponibles en bases de datos públicas.

Materiales y Métodos: En primer lugar, se identificaron alteraciones transcripcionales comunes a ambas patologías: 1) se identificaron los genes diferencialmente expresados (GDEs) entre muestras de páncreas no tumorales (NT) y tumorales (T) (PAAD-GTEX-TCGA); así como los GDEs entre muestras de páncreas no diabéticos (ND) y con diabetes tipo 2 (DT2) (GSE50244); 2) se determinaron los GDEs comunes a ambas patologías y 3) se realizó con ellos un análisis funcional (ClusterProfiler/Bioconductor). Luego, se identificaron los miARNs involucrados en la regulación de las alteraciones transcripcionales seleccionadas: 1) se identificaron miARNs diferencialmente expresados (MDEs) entre NT vs T (dbDEMC) y ND vs DT2 (GSE52314); 2) se determinaron los MDEs comunes a ambas patologías y 3) se realizó la predicción de interacciones entre los MDEs y GDEs seleccionados (multimiR/Bioconductor). Adicionalmente, se analizó si alguno de los miARNs podría ser biomarcador de diabetes asociada a CP. Para ello se analizó un estudio realizado en sangre de pacientes con DT2, con o sin CP (GSE15932). Asimismo, se evaluó la relación de los miARNs con la agresividad tumoral (Xenabrowser.net).

Resultados: Se identificaron 245 genes alterados (11 downregulados y 234 upregulados) en ambas patologías. Como resultado del enriquecimiento funcional se observó que dichos genes están mayoritariamente relacionados con la matriz extracelular y la adhesión celular. Por otra parte, se identificaron 13 MDEs en común entre ambas patologías, que podrían estar involucrados en la regulación transcripcional de los genes identificados anteriormente. En particular, se detectaron 124 interacciones miARN-ARNm que podrían ser relevantes en la asociación entre ambas patologías. Más aún, 7 de los miARNs implicados en dichas interacciones se identificaron como posibles biomarcadores de diabetes asociada a una manifestación temprana de CP. Asimismo, la expresión de uno de ellos (miR-494-3p) resultó asociada a la agresividad tumoral del CP. **Conclusión:** Futuros ensayos podrían validar el rol de las alteraciones transcripcionales y miARNs identificados en la asociación entre ambas patologías y su posible uso para mejorar el diagnóstico y tratamiento del CP.

PALABRAS CLAVES: DIABETES, CÁNCER PANCREÁTICO, EXPRESIÓN GÉNICA, microARNs.

Análisis de Componentes Principales (PCA) y Docking Molecular como herramientas de selección de potenciales fungicidas de uso agrícola

María Liliana Miranda Sanguino¹, Victoria Richmond^{1,3} y Marcelo Otero^{2,3}

¹ Laboratorio de Modelado y Diseño Molecular, UMYMFOR-DQO (CONICET-UBA).

² IFIBA-DF (CONICET-UBA).

³ FCEN-UBA.

Las enfermedades de origen fúngico que afectan cultivos alimentarios de interés económico continúan siendo la principal causa de pérdidas. Además, la aparición de líneas resistentes a los fungicidas comerciales, urgen al descubrimiento de nuevos compuestos activos. En este sentido, el uso de herramientas computacionales para el desarrollo de fungicidas presenta las mismas ventajas que aquellas demostradas en el desarrollo de cualquier fármaco. Es así como iniciamos un estudio quimiocinformático tomando como referencia los compuestos de uso comercial reportados por el Comité de Acción de Resistencia a Fungicidas (FRAC). El espacio químico de estas moléculas se definió utilizando 19 descriptores estructurales y fisicoquímicos, cuyo análisis de componentes principales (PCA) permitió la agrupación de algunos compuestos fungicidas de acuerdo con sus blancos moleculares. Entre estos blancos destaca la β -tubulina, unidad constitutiva del heterodímero que da lugar a la formación de los microtúbulos, que además ya es usada como target en medicina no sólo de antifúngicos sino también de antineoplásicos.

Es el propósito de este trabajo identificar potenciales inhibidores de la polimerización de la tubulina para ser usados como fungicidas, empleando herramientas de quimiocinformática (PCA) y modelado computacional (docking molecular). Esta búsqueda se realiza sobre dos bibliotecas virtuales de compuestos: una pública (DrugBank-1.028 compuestos aprobados) y una propia del Departamento de Química Orgánica de la UBA (DQO-35 compuestos).

El cálculo de descriptores moleculares se realizó con ChemAxom. El PCA y la proyección de las bases de datos se ejecutó con el paquete R version 4.0.2. El docking de los diferentes conformeros de cada compuesto se realizó con AutoDock Vina y los resultados fueron analizados empleando los visualizadores VMD y PyMol.

Resultados y Conclusión: En el PCA se graficaron los elipsoides de 80% de concentración para tres blancos fúngicos diferentes, entre ellos la tubulina. Sobre este espacio se proyectaron los compuestos tanto de DrugBank como de DQO, quedando dentro de la elipse de tubulina 187 y 16 compuestos, respectivamente. En cuanto al docking, para los compuestos de DrugBank se hizo un cut-off en $-8,3 \pm 2$ Kcal/mol, valor de referencia del docking del nocodazol, compuesto cristalizado junto con la β -tubulina (PDB: 5ca1), quedando dentro de este rango un total de 603 compuestos. El docking por sí solo no estaría permitiendo una reducción considerable de candidatos a evaluar mediante Dinámica Molecular (MD). Al evaluar los conformeros de DQO encontramos que en su totalidad presentan afinidades entre $-8,6$ y $-6,4$ Kcal/mol, pero tomando en cuenta los resultados del PCA, el número de candidatos se reduce al 50%. Haciendo el mismo análisis para los compuestos de DrugBank encontramos que el 88,2% de los compuestos dentro de la elipse corresponden a compuestos dentro del rango de afinidad indicado. Vemos que compuestos parecidos en propiedades a aquellos que actúan sobre nuestro blanco de interés, agrupados dentro de la elipse de concentración, también se correlacionan con una buena afinidad frente a este blanco de acuerdo con los resultados de docking. Estos resultados permitirán seleccionar compuestos que serán estudiados de manera más precisa por DM en una etapa posterior de estudio.

PALABRAS CLAVES: Fungicidas, Análisis de Componentes Principales (PCA), Docking Molecular, β -tubulina.

Caracterización genómica de cepas de *Lactiplantibacillus plantarum* con y sin actividad inmunomoduladora antiviral

Leonardo Albarracin^{1,2}, Mariano Elean¹, Fernanda Raya Tonetti¹, Stefania Dentice Maidana³, Ramiro Ortiz Moyano¹ y Julio Villena¹

¹ Laboratorio de Inmunobiotecnología, Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA - CONICET)

² Laboratorio de Computación Científica (LABCC), Departamento de Ciencias de la Computación, Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología, Universidad Nacional de Tucumán.

³ Laboratorio de Antimicrobianos, Instituto de Microbiología, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán.

Bacterias de la especie *Lactiplantibacillus plantarum* son utilizadas en la industria alimentaria por sus propiedades biotecnológicas y probióticas. Algunas cepas tienen efectos inmunomoduladores sobre el huésped y son capaces de mejorar la resistencia frente a diferentes patógenos, incluidos los virus. Sin embargo, hasta la fecha no se conocen con precisión los genes bacterianos implicados en el efecto inmunomodulador. En este trabajo se utilizaron los genomas completos de *L. plantarum* MPL16, CRL1506, CRL681 y TL2766 para realizar estudios de genómica comparativa y funcional con el objetivo de identificar los genes implicados en sus efectos inmunomoduladores diferenciales. *L. plantarum* WCFS1, una cepa con probada actividad probiótica también fue utilizada para las comparaciones. El análisis de los genes implicados en las vías metabólicas de las cinco cepas no reveló diferencias en el metabolismo de aminoácidos, lípidos, nucleótidos, cofactores y vitaminas, ni en los genes asociados al metabolismo energético ni a la biosíntesis de lipoproteínas y ácidos teicoicos. Sin embargo, se encontraron diferencias entre las cinco cepas al considerar las vías del metabolismo de los carbohidratos, particularmente en presencia/ausencia de glicosilhidrolasas y glicosiltransferasas. En *L. plantarum* están descritos 4 clústeres de genes que codifican exopolisacáridos. Se encontró una gran variabilidad en la presencia/ausencia de estos genes entre las 5 cepas en estudio. Además, se detectó una gran variación en la presencia/ausencia de los genes para proteínas de superficie en cada cepa de *L. plantarum*, las cuales están involucradas en procesos como la adherencia al hospedador, el reconocimiento de receptores, la degradación y absorción de nutrientes, así como en la transducción de señales. Se considera que los factores de adhesión ayudan a las bacterias probióticas a persistir en el tracto gastrointestinal del hospedador y a competir con los patógenos, así como a estimular el sistema inmunológico. En cepas de *L. plantarum* se han identificado proteínas con múltiples copias de los dominios de unión a mucina MucBP (PF06458) o Mub_B2. El análisis genómico reveló que las cinco cepas evaluadas en este trabajo presentaron varias proteínas con múltiples dominios MucBP. Se observó además que *L. plantarum* MPL16 se diferenció de las demás cepas en estudio por la ausencia de los genes *fbp1*, *cbp2* y *cnaB*; y por ser la única en presentar genes para una proteína con dominio SplA (PF03217) y una proteína con dominio bacteriano similar a la inmunoglobulina (Ig-like Big_3, PF07523). Los resultados de este trabajo de investigación sugieren que existiría una gran variabilidad en las proteínas que decoran la superficie de cada una de las cepas de *L. plantarum* estudiadas y que podrían estar involucradas en su capacidad diferencial para modular la respuesta inmune antiviral innata. Por otro lado, los estudios de genómica comparativa y funcional realizados no permitieron proponer genes bacterianos involucrados en el efecto inmunomodulador, ya que no fue posible correlacionar un grupo específico de genes con la capacidad inmunomoduladora diferencial de las cepas de *L. plantarum* evaluadas.

PALABRAS CLAVES: INMUNOBÍOTICOS, INMUNIDAD ANTIVIRAL, *Lactiplantibacillus plantarum*, GENÓMICA COMPARATIVA

Genomic characterization of hypermucoviscous Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* ST25 isolates from northwest Argentina

Stefania Dentice Maidana¹, Leonardo Albarracín², Ramiro Ortiz Moyano², Fernanda Raya Tonetti², Mariano Elean², María Angela Jure¹ and Julio Villena²

¹ Laboratory of Antimicrobials, Institute of Microbiology, Faculty of Biochemistry, Chemistry and Pharmacy, National University of Tucuman, Tucuman 4000, Argentina.

² Laboratory of Immunobiotechnology, Reference Centre for Lactobacilli (CERELA-CONICET), Tucuman 4000, Argentina.

In recent years, an increase in the prevalence hypermucoviscous carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* with sequence type 25 (ST25) was detected in hospitals of Tucuman (Northwest Argentina). In this work, a comparative genomic analysis was performed with two *K. pneumoniae* ST25 strains (LABACER 01 and LABACER 27) to characterize the genes associated with virulence and host's colonization. The complete genomes of *K. pneumoniae* LABACER 01 and LABACER 27 were sequenced with the Illumina MiSeq platform (Illumina Inc., San Diego, CA, USA) at INDEAR-BIOCERES (Rosario, Argentina), using a 2_150 bp read length sequencing protocol. Ribosomal Multilocus Sequence Typing (rMLST) was applied to the *Klebsiella* genomes and 32/51 genes encoding ribosomal protein subunits (rps) were recovered from the species *K. pneumoniae* and queried with the other *Klebsiella* genomes using the BLASTn algorithm. The sequences were concatenated with Mafft software and used for phylogenomic reconstruction with RAXML software. For the reconstruction of the phylogenetic tree, the GTR substitution model and 1000 bootstrap replications were used. Virulence factors associated with *K. pneumoniae* infections were retrieved from the NCBI database and compared across genomes using the BLASTp algorithm. Genomic analysis revealed that *K. pneumoniae* LABACER01 and LABACER27 possess virulence factors found in other strains that have been shown to be hypervirulent, including genes required for enterobactin (entABCDEF) and salmochelin (iroDE) biosynthesis. In both strains, the genes of toxin-antitoxin systems, as well as regulators of the expression of virulence factors and adhesion genes were also detected. Comparative genomics studies performed in this work also showed that the LABACER 01 and LABACER 27 strains possess unique virulence factors when compared to each other, the presence of tamA in the genome of LABACER 01 and not in LABACER 27 could be associated with the ability of the former to colonize the lungs and spread to the blood of infected mice more efficiently. On the other hand, *K. pneumoniae* LABACER 27 possesses the fimbriae genes yadV2, yadV3, and bfpA, associated with the ability of pathogenic *E. coli* strains to colonize abiotic surfaces, as well as to adhere to epithelial cells and even inhibit the phagocytic activity of macrophages. Our genomic study also detected the presence of the rfaH, copA, and aroE genes in the *K. pneumoniae* LABACER 27 genome, were rfaH and aroE are necessary to resist the microbicidal action of the complement system and copA to prevent the bactericidal effect of copper. Studies on the genetic potential of multiresistant *K. pneumoniae* strains as well as their cellular and molecular interactions with the host are of fundamental importance to assess the association of certain virulence factors with the intensity of the inflammatory response. In this sense, this work explored the virulence profile based on genomic and in vivo studies of hypermucoviscous carbapenem-resistant *K. pneumoniae* ST25 strains, expanding the knowledge of the biology of the emerging ST25 clone in Argentina.

KEYWORDS: *Klebsiella pneumoniae*; hypermucoviscous; carbapenem resistant; respiratory infection; genomic; sequence type 25.

¿Qué hacer cuando el docking no alcanza? La Quimioinformática al rescate en la búsqueda de Inhibidores de Acetilcolinesterasa

Dante Nicolas Stratico¹, Marcelo Otero² y Victoria Richmond¹

¹ Laboratorio de Modelado y Diseño Molecular, UMYMFOR-DQO (CONICET-UBA).

² IFIBA -DF(CONICET-UBA), 2FCEyN (UBA), Ciudad Universitaria (1428) Bs. As., Argentina.

La Enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad que genera pérdida de memoria y de distintas funciones cognitivas. Actualmente, la mayoría de los tratamientos intentan restituir a niveles fisiológicos la concentración de acetilcolina (AC) disminuida en la EA, mediante la inhibición de la enzima Acetilcolinesterasa (ACE) y de esta manera mejorar las capacidades cognitivas de quienes padecen esta enfermedad. Dado que para el año 2050 se espera que 50 millones de personas alrededor del mundo sufrirán demencia, es importante abordar la búsqueda de nuevos inhibidores de ACE (IACEs) más potentes, específicos y seguros.

Este trabajo forma parte de un proyecto de búsqueda de nuevos IACEs, basado en la modificación del esteroide 2 β ,3 α -dihidroxi-5 α -colestano-6-ona (1), cuyo derivado disulfatado presenta actividad IACE a nivel micromolar al ubicarse en la entrada del bolsillo enzimático de la ACE. Con estos antecedentes, se propone la hipótesis de que una correcta funcionalización de la cadena lateral de (1) generaría una mayor afinidad proteína-ligando, ya que además de interactuar el esqueleto esteroide con la entrada del bolsillo, sumaría interacciones con el sitio activo mediante la cadena funcionalizada, otorgándole actividad IACE. Con este objetivo se creó una biblioteca virtual de 3000 compuestos con un esqueleto esteroide dihidroxilado con variaciones en la cadena lateral, utilizando la reacción multicomponente de Ugi.

Si bien el esteroide disulfatado fue el que presentó actividad, se optó por derivados de (1) ya que tenían menores probabilidades de atravesar la Barrera Hemato Encefálica (BHE) dada su alta densidad de carga. Con el objetivo de estudiar la permeabilidad de los esteroides disulfatados, se diseñó una biblioteca virtual análoga a la ya diseñada, en su versión sulfatada. Mediante un Análisis de Componentes Principales (PCA) se pudo verificar que los esteroides disulfatados presentan propiedades estructurales y fisicoquímicas diferentes a compuestos de permeabilidad conocida (base de datos B3DB). Este estudio nos indicó que los derivados disulfatados tienen baja probabilidad de atravesar la BHE, siendo descartados.

En este trabajo mostramos como partiendo de la biblioteca de 3000 compuestos esteroideales derivados de (1), se pudo reducir a 10 candidatos utilizando herramientas de filtrado relacionadas con la estabilidad ligando-enzima (docking), similitud en propiedades con IACEs conocidos (PCA) y capacidad de atravesar la BHE.

Finalmente, se realizaron simulaciones de dinámica molecular para los 10 compuestos Ugi seleccionados. Se descartaron 2 compuestos debido a su baja afinidad con la enzima (estudios de MM-PBSA). Para los 8 compuestos Ugi restantes, se analizaron los modos de unión a la enzima y las interacciones Ugi-ACE durante la simulación. 7 de los 8 compuestos seleccionados cumplen con la hipótesis, al interactuar mediante el esqueleto esteroide con la entrada al sitio activo e interactuar con la cadena lateral funcionalizada con aminoácidos del sitio activo de la ACE por interacciones hidrofóbicas y de π -stacking.

En conclusión, la combinación de técnicas quimioinformáticas permitió obtener 7 candidatos prometedores que interactúan tanto con el sitio activo de la enzima mediante la cadena lateral funcionalizada como con la entrada a este mediante el esqueleto esteroide para una futura etapa de síntesis y medición de actividad.

PALABRAS CLAVES: Virtual Screening, Acetilcolinesterasa, Dinámica Molecular, Ciencia de Datos, Quimioinformática

Biogénesis de microARNs en plantas, nuevo nivel de regulación desbloqueado: Procesamiento co-transcripcional de pri-miARNs favorecido por la formación de R-loops

Tossolini I¹, Gonzalo L¹, Cambiagno DA¹, Marquardt S² y Manavella PA¹

¹ Instituto de Agrobiotecnología del Litoral (CONICET-UNL), Cátedra de Biología Celular y Molecular, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral.

² Copenhagen Plant Science Centre, Department of Plant and Environmental Sciences, University of Copenhagen.

Introducción: Los micro ARNs (miARNs), pequeñas moléculas de ARN de 20-22 nucleótidos de longitud, son una de las clases más abundantes de ARNs pequeños no codificantes endógenos en plantas. La biogénesis de los mismos sucede en el núcleo celular y comienza con la transcripción de los genes MIR por la ARN polimerasa II (ARNPII) generando así los transcritos primarios (pri-miARNs), los cuales se pliegan sobre sí mismos debido a regiones largas de secuencias invertidas complementarias, para generar estructuras de tallo-bucle imperfectas. Los pri-miARNs son procesados luego por el complejo que contiene a la enzima DICER-Like1 (DCL1) desde la base hacia el bucle (BTL) o viceversa (LTB), en dos o más cortes secuenciales. Estudios recientes han demostrado que parte de dicha maquinaria de procesamiento es reclutada tempranamente a los loci de genes MIR. **Objetivo:** El objetivo de este trabajo es demostrar que el procesamiento de los pri-miARNs en plantas se realiza total o parcialmente de forma co-transcripcional. **Materiales y Métodos:** Análisis bioinformáticos: utilizamos datos obtenidos por plaNET-seq en *Arabidopsis thaliana* (GEO: GSE131733; GSE133143), técnica reciente que se usa para perfilar todos los ARNs nacientes aún unidos a la ARNPII a escala genómica, para analizar el procesamiento co-transcripcional de los pri-miARNs según su tipo de biogénesis. También se emplearon datos obtenidos por ssDRIP-seq para el análisis de R-loops (GEO: GSE95765; GSE116232). Las lecturas de plaNET-seq fueron procesadas con Trimmomatic y alineadas contra el genoma de referencia TAIR10. El procesamiento se realizó con scripts disponibles en https://github.com/Maxim-Ivanov/Kindgren_et_al_2019. El paquete deepTools se usó para generar los "metagene plots" con los datos de plaNET-seq y ssDRIP-seq. Se escalan las coordenadas de los pri-miARNs, para excluir los brazos 5' y 3' evitando así señales de ruido, y se agruparon según su dirección de procesamiento. Además se llevaron a cabo diversas técnicas experimentales como FISH + microscopía confocal, RIP + 5'-RACE, entre otras, que complementan los análisis bioinformáticos, pero que no serán detalladas aquí.

Resultados: Encontramos que el procesamiento BTL ocurre en un primer paso co-transcripcional seguido de uno post-transcripcional, en el cual se libera el miARN maduro, mientras que todos los pasos de la biogénesis LTB ocurren co-transcripcionalmente. Además, analizamos los datos de diferentes condiciones de plaNET-seq, y logramos definir la dirección del procesamiento de ciertos pri-miARNs con perfiles desconocidos o con mecanismos de procesamiento inusuales. También, observamos que el procesamiento co-transcripcional y post-transcripcional co-existen y fluctúan en función de las condiciones de crecimiento para gran parte de los pri-miARNs. Adicionalmente, mediante el análisis de datos obtenidos por ssDRIP-seq, descubrimos que el procesamiento co-transcripcional de pri-miRNAs es potenciado en gran medida por la formación de R-loops cerca del sitio de inicio de la transcripción de genes MIR. **Conclusión:** En conclusión, en este trabajo identificamos un nuevo nivel regulatorio en la biogénesis de miARNs en plantas, demostrando que los miARNs se procesan de forma co-transcripcional y que dicho mecanismo se basa en la formación de R-Loops, lo cual desplaza el equilibrio de la biogénesis de miARNs de la vía post-transcripcional canónica a un proceso co-transcripcional que fluctúa dependiendo de las diversas condiciones medioambientales.

PALABRAS CLAVES: micro ARN, biogénesis de miARN, R-loops, Procesamiento co-transcripcional, plaNET-sequencing.

A subcellular atlas of AKT as a predictive tool of its physiological and pathological roles

Vila, Antonella^{1,2}; Colman-Lerner, Alejandro^{2,3} and Blaustein, Matías^{1,2}

¹ Instituto de Biociencias, Biotecnología y Biología Traslacional (iB3), Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

² Departamento de Fisiología, Biología Molecular y Celular (DFBMC), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FCEN), Universidad de Buenos Aires (UBA), Buenos Aires, Argentina.

³ Instituto de Fisiología, Biología Molecular y Neurociencias (IFIBYNE), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)-UBA, Buenos Aires, Argentina.

Introduction: Regulation of protein kinase AKT activity is associated with a diversity of processes, including cell metabolism, proliferation, differentiation and survival, as well as pathological processes such as viral infection and cancer development. AKT is a therapeutic target for cancer treatment and it is known to be regulated through numerous posttranslational modifications (PTMs) as well as to be recruited to different subcellular compartments. However, little is known about how a cell determines which substrates and functions AKT should regulate. Our hypothesis is that the profile of AKT PTMs can determine the subcellular localization of AKT, and vice versa, affecting each other and thus establishing the subset of AKT target substrates and the set of functions that AKT displays in response to each stimulus and each particular cellular context. This is of particular relevance when defining which targets to attack with therapeutic drugs to specifically block the pathology and not to inhibit physiological processes whose dysfunction may generate toxicity or harm in patients.

Aim: To develop an atlas of AKT subcellular localizations as a predictive tool of AKT physiological and pathological functions using bioinformatic and experimental tools.

Materials and methods: Bioinformatic analysis. In this study, a protein-protein interaction network of AKT and AKT substrates was built, using the STRING database (v 11.5). The list of known AKT substrates was obtained using the PhosphoSitePlus database. Spatial analysis of functional enrichment (SAFE) was used to identify and color network regions enriched for similar Gene Ontology (GO) biological process terms, GO cellular component terms, diseases (DisGeNET), and drugs (DGIdb). Fluorescence microscopy analysis. HeLa Kyoto cells were co-transfected with AKT reporters and nuclear speckle markers coupled to fluorescent proteins. An immunofluorescence staining was performed using the phospho-AKT-substrate (RXRXXS*/T*) antibody to evaluate the localization pattern of phosphorylated AKT substrates. Images were acquired with an Olympus FluoView1000 confocal microscope. **Results:** We generated a protein-protein interaction network of AKT and AKT substrates that contains 651 nodes (the three AKT isoforms -AKT1/2/3-, 325 known AKT substrates and 323 direct interactors), and 15923 edges. Using SAFE, we found that de AKT substrates and interactors located within the domain associated with endoplasmic reticulum and Golgi apparatus of the cellular component map, correspond to the domain associated with proliferation, cell death, autophagy, stress response of the biological process map, and the domain associated with breast cancer of the disease map. This is consistent with recently published work from our laboratory. Interestingly, SAFE analysis revealed a nuclear speckle-enriched domain. However, to date, AKT has not been reported to be recruited to this subcellular compartment. Indeed, fluorescence microscopy experiments showed that both AKT and phospho-AKT-substrates colocalize with nuclear speckles. **Conclusions:** Using a combination of different bioinformatic tools, we performed an analysis of the AKT interactome, which allows us to explain and even predict the functional and subcellular code of AKT.

Our bioinformatics analysis allowed us to find a novel subcellular compartment to which AKT is recruited: nuclear speckles.

KEYWORDS: AKT; protein network; nuclear speckles

rsg-argentina.iscbsc.org

