



Ciencia Latina
Internacional

Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar, Ciudad de México, México.
ISSN 2707-2207 / ISSN 2707-2215 (en línea), mayo-junio 2024,
Volumen 8, Número 3.

https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i3

**PREDICCIÓN DE LA ESTRUCTURA
TRIDIMENSIONAL DE ENZIMAS CON
ACTIVIDAD DEGRADADORA DE
POLIURETANO EN EL AÑO 2023**

**PREDICTION OF THE THREE-DIMENSIONAL STRUCTURE OF
ENZYMES WITH POLYURETHANE-DEGRADING ACTIVITY IN
THE YEAR 2023**

Elizabeth Troya Castillo

Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Perú

Alejandra Estela Miranda

Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Perú

Erick Giancarlo Suclupe Farro

Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Perú

DOI: https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i3.11510

Predicción de la Estructura Tridimensional de Enzimas con Actividad Degradadora de Poliuretano en el Año 2023

Elizabeth Troya Castillo¹

etroyaca@unprg.edu.pe

<https://orcid.org/0000-0003-2599-4761>

Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo
Perú

Alejandra Estela Miranda

aestelam@unprg.edu.pe

<https://orcid.org/0009-0001-1653-9954>

Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo
Perú

Erick Giancarlo Suclupe Farro

esuclupef@unprg.edu.pe

<https://orcid.org/0000-0002-0334-2191>

Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo
Perú

RESUMEN

El plástico ha provocado graves problemas ambientales y de salud pública a nivel global debido a su uso extensivo. Este estudio se centra en la degradación de poliuretanos, destacando la importancia de predecir la estructura de enzimas mediante AlphaFold y el docking molecular para comprender su interacción con estos polímeros. La población de estudio incluyó todas las secuencias de proteínas en PubMed, seleccionando una muestra representativa con actividad catalítica relacionada con poliuretanos mediante búsqueda exhaustiva. Las secuencias, identificadas por códigos GenBank, fueron recopiladas de PubMed y otras fuentes. Las propiedades fisicoquímicas de las enzimas se caracterizaron con ProtParam, realizando alineamientos y cladogramas con Clustal Omega, identificando motivos con MEME, modelando estructuras con ColabFold y evaluándolas con SAVES. El docking molecular se llevó a cabo utilizando CB-Dock y AutoDock Vina. Se identificaron y caracterizaron 29 secuencias enzimáticas: 7 poliuretanasas, 15 cutinasas y 7 lipasas, con agrupaciones filogenéticas distintas y motivos significativos. El modelado en AlphaFold reveló diferencias estructurales evidenciadas en modelos tridimensionales y sus puntuaciones de calidad. El docking molecular con el poliuretano proporcionó información sobre la potencial interacción de estas enzimas con el compuesto. Este análisis meticuloso brindó un panorama detallado de propiedades, estructuras y potenciales interacciones. Basándose en estructuras tridimensionales predichas por AlphaFold, este estudio sugiere que las proteínas modeladas tienen un potencial significativo para unir y potencialmente degradar poliuretanos, representando una valiosa contribución a la bioinformática y prometiendo nuevas líneas de investigación en el estudio de proteínas y su actividad catalítica con polímeros.

Palabras claves: Poliuretanos, Enzimas, AlphaFold, Docking molecular, Degradación

¹ Autor principal

Correspondencia: etroyaca@unprg.edu.pe

Prediction of the Three-Dimensional Structure of Enzymes with Polyurethane-Degrading Activity in the Year 2023

ABSTRACT

Plastic has caused serious global environmental and public health problems due to its extensive use. This study focuses on the degradation of polyurethanes, emphasizing the importance of predicting enzyme structures through AlphaFold and molecular docking to understand their interaction with these polymers. The study population encompassed all protein sequences in PubMed, selecting a representative sample with catalytic activity related to polyurethanes through exhaustive searches. Sequences, identified by GenBankcodes, were compiled from PubMed and other sources. The physicochemical properties of the enzymes were characterized using ProtParam, and multiple alignments and cladograms were created with Clustal Omega. Motifs were identified using MEME, and structures were modeled with ColabFold and evaluated with SAVES. Molecular docking was conducted using CB-Dock and AutoDock Vina. Twenty-nine enzyme sequences were identified and characterized: 7 polyurethanases, 15 cutinases, and 7 lipases, exhibiting distinct phylogenetic groupings and significant motifs. AlphaFold modeling revealed structural differences in three-dimensional models and their quality scores. Molecular docking with polyurethane provided insights into the potential interaction of these enzymes with the compound. This meticulous analysis offered a detailed overview of properties, structures, and potential interactions. Based on three-dimensional structures predicted by AlphaFold, this study suggests that the modeled proteins have significant potential to bind and potentially degrade polyurethanes, representing a valuable contribution to bioinformatics and promising new avenues of research in the study of proteins and their catalytic activity with polymers.

Keywords: Polyurethanes, Enzymes, AlphaFold, Molecular docking, Degradation

Artículo recibido 22 abril 2024

Aceptado para publicación: 25 mayo 2024



INTRODUCCIÓN

La contaminación del plástico es un grave problema ambiental y de salud pública que afecta a todo el mundo. El plástico es un material muy versátil y ampliamente utilizado en una gran variedad de productos, desde envases y empaquetes hasta productos de consumo y equipamiento industriales. Sin embargo, el uso masivo de plástico ha llevado a una serie de problemas ambientales y de salud pública (Vandenberg et al., 2007).

Uno de los principales problemas es el desperdicio de plástico, causa por la cual muchos de estos productos que son producidos acaban siendo utilizados solo una vez y luego desechados, lo que contribuye a la creciente cantidad de residuos plásticos en el medio ambiente. Aunque algunos plásticos son reciclados, la mayoría termina en vertederos o en el medio ambiente, donde pueden tardar siglos en descomponerse (Eriksen et al., 2018).

El plástico también puede ser perjudicial para la salud humana y la de los animales, ya que algunos tipos de plástico contienen químicos tóxicos que pueden ser liberados durante su producción, uso o descomposición, y pueden ser dañinos para la salud humana si se inhalan o entran en contacto con la piel (Pérez-García et al., 2021). Además, cuando el plástico se descompone en el medio ambiente, puede liberar pequeñas partículas conocidas como microplásticos, que pueden ser ingeridas por animales y luego subir por la cadena alimenticia hasta llegar a los humanos (Ullah et al., 2023).

Otro problema es la contaminación causada por el plástico es que muchos de los productos de plástico se utilizan en el exterior, lo que significa que pueden ser transportados por el viento o la lluvia a lugares donde no son deseados, como ríos, océanos y playas. Esto puede tener un impacto negativo en la fauna y la flora locales y puede dificultar la actividad humana, como la pesca o el turismo (Plastics Europe, 2021).

La contaminación del plástico en los océanos es especialmente preocupante, estos residuos plásticos flotan en el agua y pueden ser transportados por las corrientes marinas a grandes distancias, lo que significa que el problema no es solo local sino global. Los residuos plásticos pueden entrar en la cadena alimenticia marina y dañar la salud de los peces y otros animales marinos, y también pueden afectar a los humanos que consumen esos animales. Además, el



plástico puede obstaculizar la actividad humana y ocasionar un impacto económico negativo en las comunidades que dependen de actividades extractivas y del turismo (Urbanek et al., 2018).

El plástico también puede tener un impacto ambiental negativo al liberar gases de efecto invernadero durante su producción y su descomposición. La producción de plástico requiere energía y la quema de combustibles fósiles (Magnin et al., 2020), lo que contribuye al cambio climático. Además, cuando el plástico se descompone en el medio ambiente, libera gases de efecto invernadero como el metano y el óxido de nitrógeno, que contribuyen a la intensificación del cambio climático.

A pesar de estos problemas, el uso de plástico sigue siendo muy popular y se ha extendido a casi todos los aspectos de nuestra vida. Sin embargo, es importante tomar medidas para reducir nuestro consumo de plástico y promover prácticas más sostenibles en su producción y uso (Danso et al., 2019).

Al día de hoy existen varias técnicas para reducir o eliminar el plástico después que ha sido usado, una de ellas por ejemplo es la incineración, sin embargo, los desechos plásticos cuando se incineran pueden liberar gases tóxicos y químicos que incluyen cloruro de hidrógeno, dioxina, cadmio (Awasthi et al., 2017b). Otra estrategia para combatir este problema es la conversión de plástico en energía, pero tiene sus propias desventajas, ya que provoca un aumento de las emisiones netas de dióxido de carbono (Emadian et al., 2017).

Una estrategia interesante es la biodegradación del plástico, la cual varía según el tipo de polímero, los aditivos químicos y la temperatura. Se han descrito varias enzimas que degradan diferentes componentes del plástico sin embargo muchas de ellas tienen poca actividad. El estudio de enzimas con actividad para degradar plástico se divide según qué tipo de componente del plástico son capaces de degradar, por ejemplo, PETasas, poliuretanasas, etc (Patel et al., 2022).

El poliuretano es un material plástico termoestable muy versátil y ampliamente utilizado en una gran variedad de aplicaciones, como el revestimiento de muebles, la fabricación de espumas para colchones y asientos de coche, y la producción de adhesivos y sellantes. Sin embargo, el uso masivo de poliuretano ha llevado a una serie de problemas ambientales y de salud pública.



Actualmente ya se tienen reportadas enzimas con capacidad degradadora de poliuretano (J. Liu et al., 2021).

Para analizar y dilucidar el mecanismo de acción de una enzima es necesario conocer su estructura 3D para posteriormente usando ingeniería de proteínas, que a día de hoy están siendo más firmes debido al aprendizaje automático o la inteligencia artificial, para mejorar su actividad a una escala aplicable a procesos industriales. Lamentablemente para muchas de las enzimas que se han reportado actividad degradadora de plástico no se tiene estructura cristalográfica, sin embargo, es posible predecir esta estructura mediante programas bioinformáticos como AlphaFold, TASSER, entre otros (Laskowski et al., 1993).

La modelización de enzimas sin una estructura cristalográfica conocida es fundamental en la investigación bioquímica moderna. AlphaFold ha revolucionado este campo al proporcionar modelos precisos de proteínas, incluso cuando no se dispone de datos cristalográficos. Estas predicciones son valiosas para comprender la estructura y la función de enzimas relevantes, como aquellas implicadas en la degradación de polímeros como el poliuretano.

El proceso de docking molecular, utilizando estos modelos de enzimas generados por AlphaFold, representa una herramienta esencial para explorar y predecir interacciones moleculares específicas. En el contexto de este estudio, el objetivo fue evaluar si estas enzimas modeladas tienen la capacidad de unirse y, potencialmente, catalizar la degradación del poliuretano.

Dado que las enzimas en cuestión carecían de una estructura cristalográfica conocida, el uso de modelos generados por AlphaFold brindó una oportunidad única para abordar esta cuestión. El docking molecular ofrece una vía efectiva para predecir y estudiar interacciones moleculares, permitiendo así investigar la afinidad y la viabilidad de estas enzimas para interactuar con el poliuretano, ofreciendo valiosas perspectivas para aplicaciones biotecnológicas y la comprensión de la degradación de polímeros.

METODOLOGÍA

Población y muestra

La población de estudio estuvo constituida por todas las secuencias de proteínas depositadas en la base de datos PubMed hasta la fecha de corte de este estudio. La muestra seleccionada para



este estudio consistió en un conjunto representativo de secuencias de proteínas depositadas en PubMed que han sido reportadas con actividad catalítica relacionada con poliuretanos. La selección de la muestra se basó en una búsqueda exhaustiva utilizando términos clave pertinentes y otros términos relacionados.

Diseño de investigación

El tipo de estudio del presente trabajo es: estudio básico. En él, manipulamos una variable independiente (los modelos de enzimas generados por AlphaFold) para observar su efecto en la interacción con el poliuretano, que sería la variable dependiente. El proceso de docking molecular representa la herramienta o método utilizado para evaluar esta interacción específica entre las enzimas y el poliuretano en un contexto controlado y sistemático.

El diseño de contrastación de hipótesis es descriptivo.

Hipótesis nula (H0): No existe una interacción significativa entre las enzimas modeladas por AlphaFold y el poliuretano durante el proceso de docking molecular. En otras palabras, la capacidad de las enzimas modeladas para unirse o interactuar con el poliuretano no difiere de lo que se esperaría por azar o aleatoriamente.

Hipótesis alternativa (H1): Existe una interacción significativa entre las enzimas modeladas por AlphaFold y el poliuretano durante el proceso de docking molecular. En este caso, se espera que las enzimas mostradas por AlphaFold tengan la capacidad de unirse o interactuar específicamente con el poliuretano, lo que sugiere una afinidad o potencial actividad catalítica hacia este sustrato.

Procedimiento

Recopilación de secuencias de proteínas

Se buscaron investigaciones que reportaran enzimas con actividad catalítica para poliuretanos. Una vez obtenido su identificador, se accedió a NCBI y se buscó con la opción "protein", y se descargó la secuencia de proteínas en formato "FASTA". Al archivo se le nombró con el código GenBank para un mejor orden en el manejo de datos.

Caracterización de las propiedades fisicoquímicas de poliuretanasas, cutinasas y lipasas

Se llevaron a cabo determinaciones clave utilizando la herramienta Protparam (<https://web.expasy.org/protparam/>). Se calculó el número de aminoácidos (NAA). El peso



molecular (MW), el punto isoeléctrico (PI), el coeficiente de extinción (CE), la composición de aminoácidos (aa), el tiempo de vida (TV) y el índice de inestabilidad (II), el índice alifático (IA) y el valor de Gran Promedio de Hidropaticidad (GRAVY). Estos cálculos en ProtParam permitieron una caracterización detallada de las propiedades fisicoquímicas de las enzimas estudiadas.

Alineamiento múltiple

Primero, las secuencias de las proteínas de interés, que incluyen cutinasas, poliuretanasas y lipasas, se depositaron en la plataforma de Clustal Omega. Luego, se llevó a cabo un alineamiento múltiple para todas las secuencias. Posteriormente, se realizaron alineamientos por separado para cada grupo de proteínas, es decir, uno para las cutinasas, otro para las poliuretanasas y otro para las lipasas. Para presentar de manera efectiva los resultados del alineamiento múltiple, se empleó ESPript 3.0 (<https://escript.ibcp.fr/ESPrpt/cgi-bin/ESPrpt.cgi>).

Cladograma

Clustal Omega fue utilizado para la construcción de un cladograma que englobó tanto a todas las proteínas en conjunto como a cada proteína de forma individual. Este enfoque de cladograma proporcionó una visión global y detallada de la evolución de las proteínas estudiadas.

Predicción de motif

Para obtener una evaluación más precisa de la presencia de motivos en estas proteínas, se llevó a cabo una búsqueda de motivos utilizando la herramienta MEME (<https://meme-suite.org/meme/tools/meme>). MEME es capaz de descubrir motivos novedosos y sin brechas (patrones recurrentes de longitud fija) en las secuencias de interés. Esta herramienta también tiene la capacidad de dividir patrones de longitud variable en dos o más motivos separados.

Modelado molecular

La estructura de las enzimas encontradas se modeló computacionalmente empleando ColabFoldAlphaFold2_advanced(https://colab.research.google.com/github/sokrypto/ColabFold/blob/main/beta/AlphaFold2_advanced.ipynb), que utilizó el algoritmo MMseqs2 (Mirdita et al., 2021) para el alineamiento de secuencias múltiples (MSA).



Evaluación del modelado molecular

El modelo final fue evaluado con la herramienta web Structural Analysis and Verification Server (SAVES) (<https://saves.mbi.ucla.edu/>) para obtener y analizar el factor de calidad global utilizando el programa ERRAT (Colovos & Yeates, 1993). Además, se analizó el gráfico de Ramachandran del paquete PROCHECK (Laskowski et al., 1993), que mostró el porcentaje de residuos dentro de sus regiones favorecidas, lo cual fue útil para analizar y detectar posibles impedimentos estéricos. Por último, se realizaron alineaciones estructurales y figuras utilizando el software PyMOL (The PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.8 Schrodinger, LLC, New York, NY, USA).

Docking Molecular

Para el estudio de acoplamiento molecular se hizo uso del servidor web de PubChem (C22H36N2O8) con un peso molecular de 456.5 unidades de masa atómica (UMA). Para el análisis, se utilizaron los mejores modelos predichos por Alphafold. El servidor CB-Dock (Cavity-detection guided Blind Docking) (<http://clab.labshare.cn/cb-dock/php/index.php>) es capaz de predecir los sitios de unión en una proteína dada y calcular sus centros y tamaños utilizando un innovador enfoque de detección de cavidades basado en la curvatura (Y. Liu et al., 2020, 2022).

RESULTADOS

Se obtuvo un total de 29 secuencias de aminoácidos de la base de datos PubMed. De estas secuencias, 7 de ellas fueron identificadas como poliuretanasas, 15 como cutinasas y 7 como lipasas (Tabla 1).

Tabla 1 Tabla general de secuencias de GenBank

NOMBRE [ORGANISMO]	GENBANK
POLYURETHANASE	
Polyurethanase [<i>Pseudomonas sp.</i> HS6]	WP_249486220.1
Polyurethanase [<i>Pseudomonas sp.</i> HS6]	UQS16381.1
Polyurethanase [<i>Pseudomonas sp.</i> HS6]	WP_249486221.1
Polyurethanase [<i>Pseudomonas sp.</i> HS6]	UQS16382.1
Polyurethanase [<i>Pseudomonas chlororaphis</i> subsp. <i>piscium</i>]	UQS88382.1

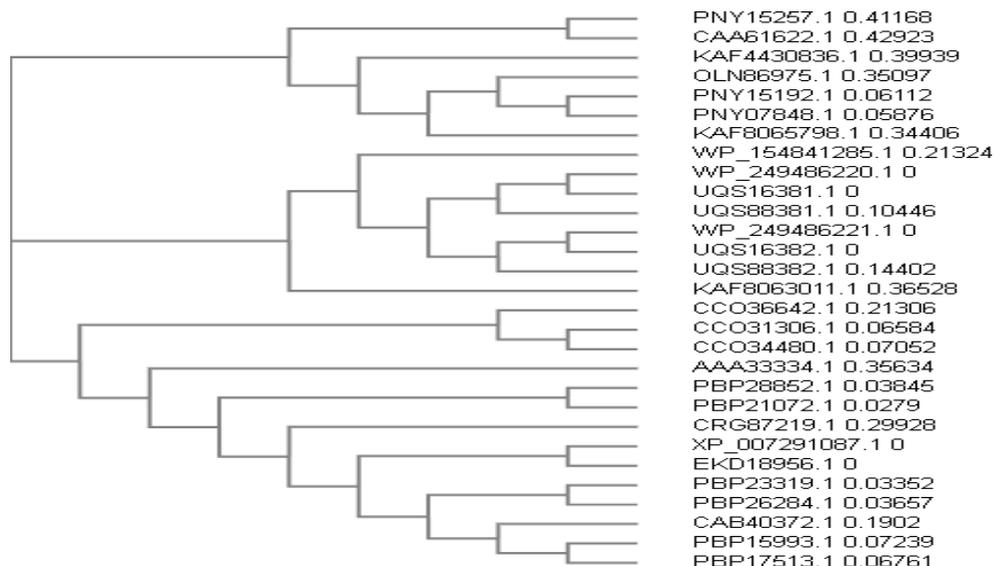


Polyurethanase [<i>Pseudomonas chlororaphis</i> subsp. <i>piscium</i>]	UQS88381.1
Polyurethanase [<i>Pseudomonas marginalis</i>]	WP_154841285.1
CUTINASE	
Cutinase [<i>Pyrenopeziza brassicae</i>]	CAB40372.1
Cutinase [<i>Drepanopeziza za brunnea</i> f. sp. 'multigermtubi' MB_m1]	XP_007291087.1
Cutinase [<i>Drepanopeziza za brunnea</i> f. sp. 'multigermtubi' MB_m1]	EKD18956.1
Cutinase [<i>Rhizoctonia solani</i> AG-1 IB]	CCO31306.1
Cutinase [<i>Rhizoctonia solani</i> AG-1 IB]	CCO34480.1
Cutinase [<i>Rhizoctonia solani</i> AG-1 IB]	CCO36642.1
Cutinase [<i>Fusarium solani</i>]	AAA33334.1
Cutinase [<i>Diplocarpon rosae</i>]	PBP23319.1
Cutinase [<i>Diplocarpon rosae</i>]	PBP15993.1
Cutinase [<i>Diplocarpon rosae</i>]	PBP26284.1
Cutinase [<i>Diplocarpon rosae</i>]	PBP28852.1
Cutinase [<i>Diplocarpon rosae</i>]	PBP21072.1
Cutinase [<i>Diplocarpon rosae</i>]	PBP17513.1
Cutinase [<i>Talaromyces islandicus</i>]	CRG87219.1
Cutinase [<i>Phytophthora capsici</i>]	CAA61622.1
LIPASE	
Lipase [<i>Colletotrichum chlorophyti</i>]	OLN86975.1
Lipase [<i>Colletotrichum fructicola</i>]	KAF4430836.1
Lipase [<i>Trifolium pratense</i>]	PNY15192.1
Lipase [<i>Trifolium pratense</i>]	PNY07848.1
Lipase [<i>Trifolium pratense</i>]	PNY15257.1
Lipase [<i>Scenedesmus</i> sp. PABB004]	KAF8065798.1
Lipase [<i>Scenedesmus</i> sp. PABB004]	KAF8063011.1

Se construyó un cladograma usando Clustal Omega, se puede observar como todas las secuencias se agrupan en 3 ramas principales (Figura 2), en la primera rama encontramos 6 lipasas y 1 cutinasa, en la segunda rama 7 poliuretanasas y 1 lipasa, y en la tercera rama todas son cutinasas.



Figura 1 Cladograma general



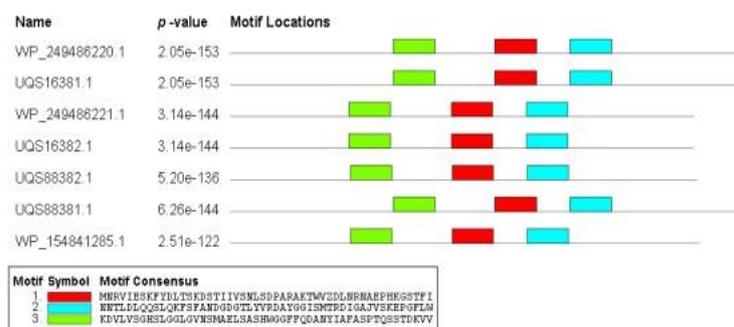
Poliuretanasas

Obtuvimos un total de 7 secuencias, las cuales fueron analizadas como se detalla a continuación.

Predicción de motif

Se realizó una búsqueda de los motif en MEME, que mostró 3 posibles motif consensus para las poliuretanasas (Figura 2).

Figura 2 Predicción y cálculo de motif en poliuretanasas



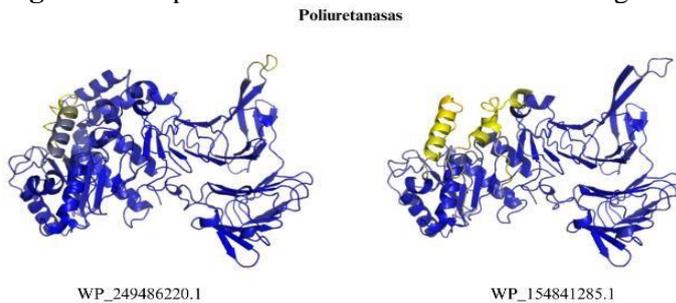
Modelamiento en Alphafold

Así pues, se continuó con el modelado de las proteínas usando AlphaFold Colab que para las poliuretanasas fueron un total de 7 secuencias. AlphaFold para cada secuencia dio como resultado 5 modelos, de los cuales después de analizar su estructura secundaria predicha, fueron seleccionados aquellos con mejor puntuación pLDDT (per-residue local distance difference test).

En las poliuretanasas la secuencia que mostró un mejor score pLDDT fue WP_249486220.1 con

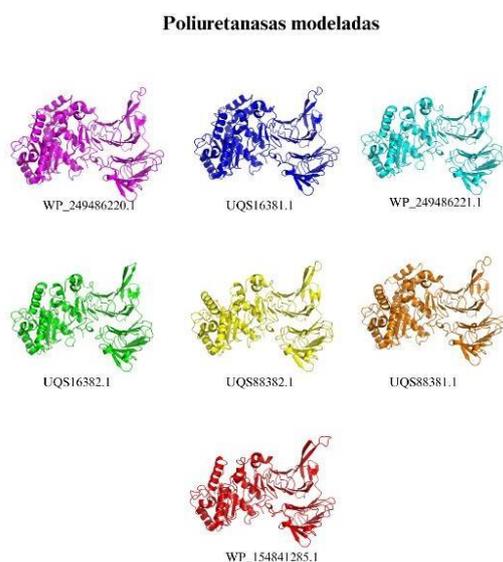
un score de 93.5 y la menor fue WP_154841285.1 con un score de 89.78 (Figura 3).

Figura 3 Comparación entre modelos coloreados según score



Para estos modelos predichos, todos tenían una estructura tridimensional similar con algunas pequeñas variaciones. Los modelos se muestran en la Figura 4, en la cual cada modelo fue coloreado siguiendo el espectro visible, la proteína con mejor puntuación estando en morado hasta la de menor puntuación estando en rojo.

Figura 4 Estructura tridimensional de las poliuretanasas modeladas

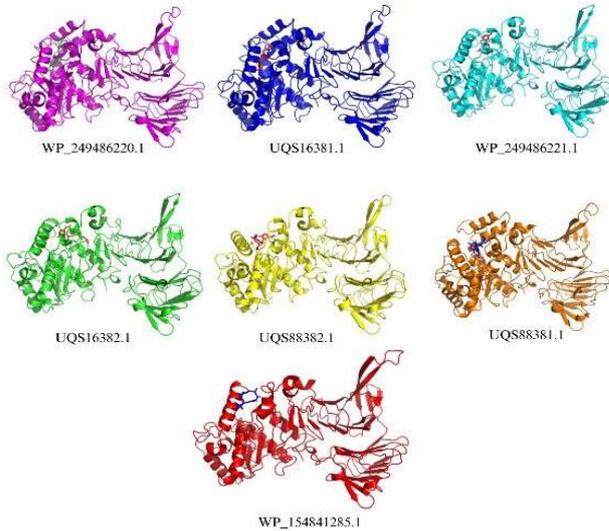


Docking molecular

Se obtuvo que WP_249486220.1 y UQS16381.1 tuvieron una buena puntuación Vina, y esto se podría correlacionar con que también fueron las secuencias que obtuvieron las mejores puntuaciones de predicción en AlphaFold, así pues, la secuencia WP_154841285.1 que fue la que obtuvo predicción más baja de AlphaFold, también obtuvo la puntuación Vina más baja de las poliuretanasas.

La Figura 6 muestra un resumen de todas las estructuras predichas con AlphaFold junto con los ligados en las cavidades predichas por CB-Dock2.

Figura 6 Docking molecular de las poliuretanasas con poliuretano
Docking Molecular de las Poliuretanasas



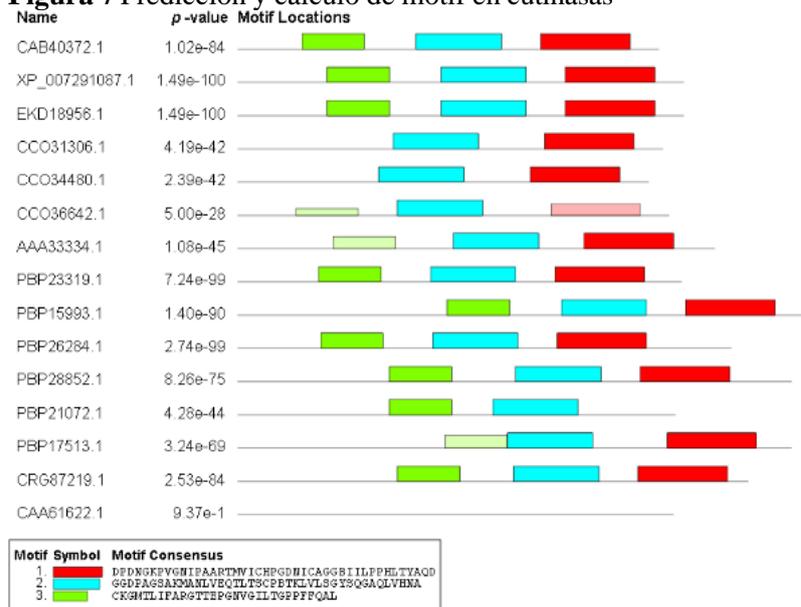
Cutinasas

Se obtuvo del Genbank un total de 15 cutinasas.

Predicción del motif

Se realizó una predicción de motif que arrojó los siguientes resultados que se muestran en la Figura 7.

Figura 7 Predicción y cálculo de motif en cutinasas



Modelamiento en Alphafold

En las cutinasas la secuencia que mostró un mejor score pLDDT fue CAB40372.1 con un score de 96.26 y la menor fue CAA61622.1 con un score de 58.61.

Todos los modelos eran bastante similares en estructura, con la diferencia de CAA61622.1 (Figuras 8 y 9).

Figura 8 Estructura tridimensional de las cutinasas modeladas

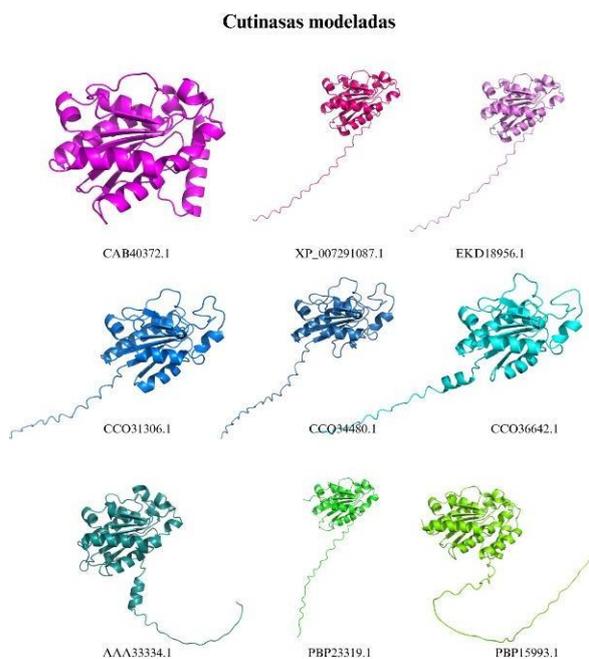
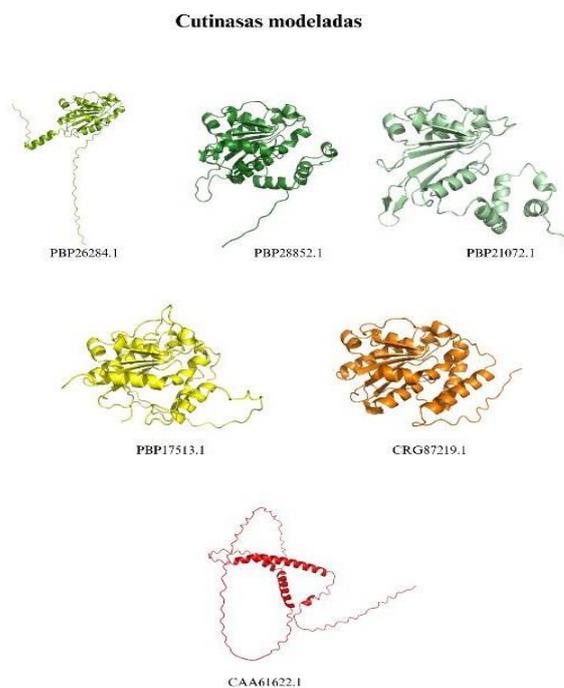


Figura 9 Estructura tridimensional de las cutinasas modeladas



Docking molecular

Realizamos un docking en CB-Dock2 con cada modelo predicho usando el poliuretano como ligando (Figura 10 y 11).

Figura 10 Docking molecular de las cutinasas con poliuretano
Docking molecular de cutinasas

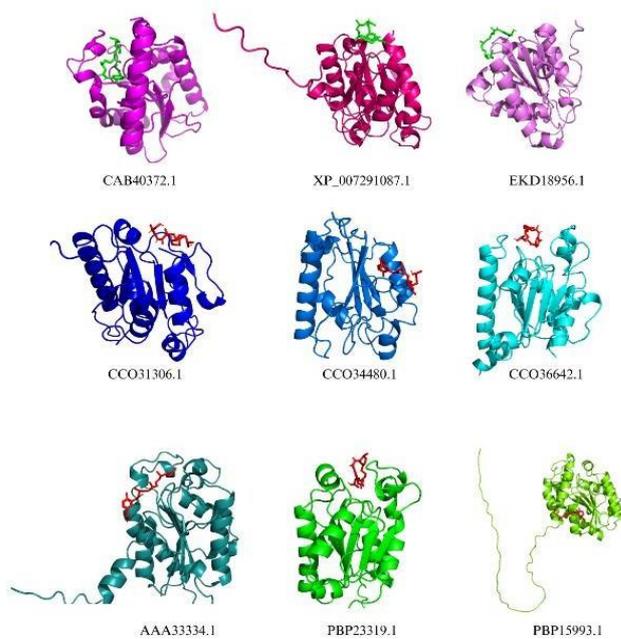
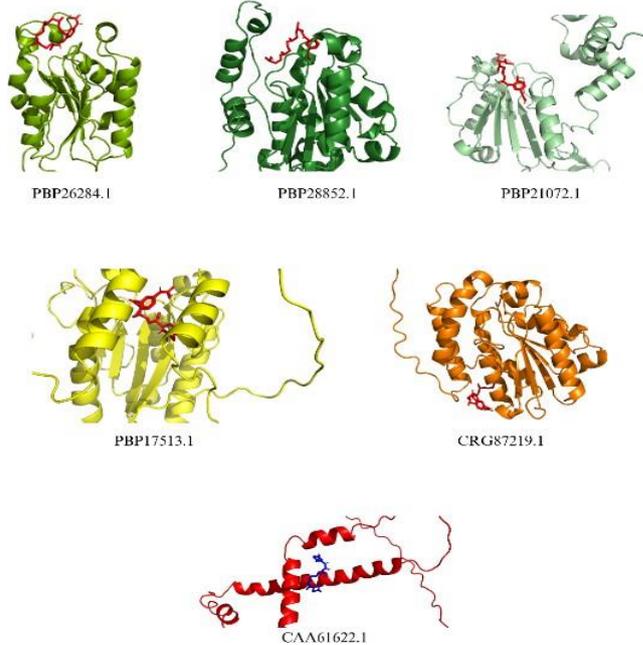


Figura 11 Docking molecular de las cutinasas con poliuretano
Docking molecular de cutinasas



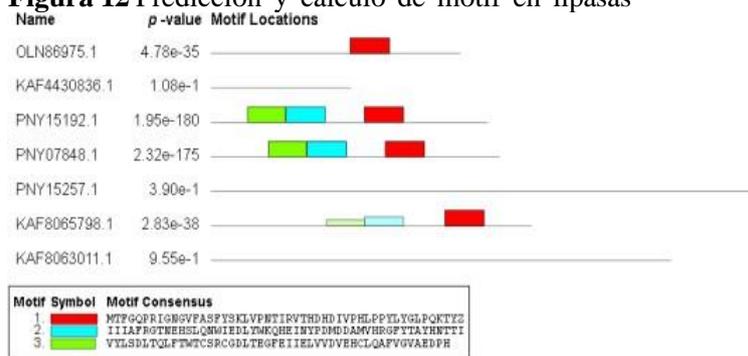
Lipasas

Para las lipasas encontramos un total de siete secuencias que pertenecían a organismos del género *Colletotrichum*, *Trifolium* y *Scenedesmus*.

Predicción de motif

Se realizó una predicción de motif como descrito en los materiales y métodos, que arrojó los siguientes resultados que se muestran en la Figura 12.

Figura 12 Predicción y cálculo de motif en lipasas

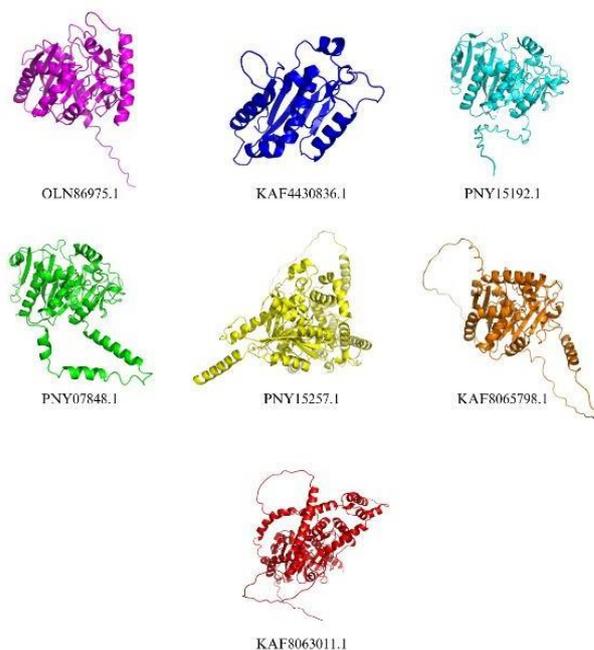


Modelamiento en Alphafold

En las cutinasas la secuencia que mostró un mejor score pLDDT fue OLN86975.1 con un score de 85.24 y la menor fue KAF8063011.1 con un score de 68.36.

Observando las estructuras predichas, notamos que estructuralmente no son muy parecidas como lo fueron las poliuretanasas modeladas, además PNY15257.1 y KAF8063011.1 son estructuralmente mucho más diferentes (Figura 13).

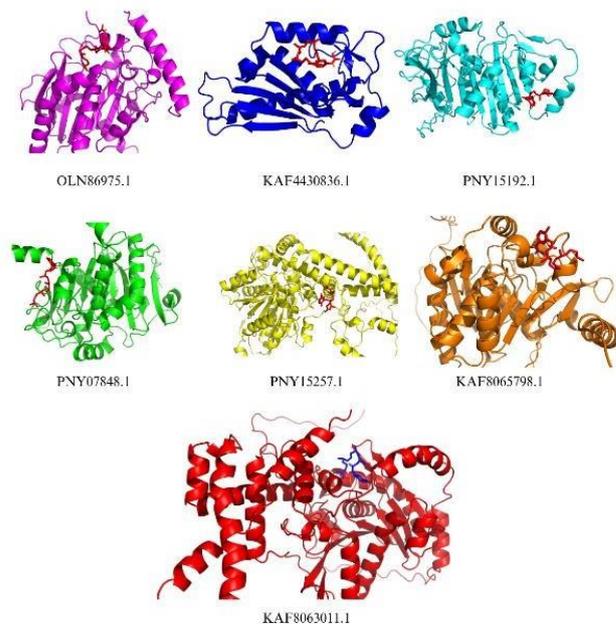
Figura 13 Estructura tridimensional de las lipasas modeladas
Lipasas modeladas



Docking molecular

Realizamos un docking en CB-Dock2 con cada modelo predicho usando el poliuretano como ligando.

Figura 14 Docking molecular de las lipasas con poliuretano
Docking molecular de lipasas



DISCUSIÓN

La producción mundial de plástico ha aumentado considerablemente en las últimas siete décadas, generando una gran cantidad de desechos, incluyendo microplásticos, que representan una amenaza ambiental (Pereiras Varela, 2019). Este estudio se enfoca en la utilización de enzimas que podrían tener actividad para degradar plásticos de poliuretano (PUR), que son difíciles de reciclar. Proporciona información importante sobre la posible degradación de plásticos de poliuretano por medio de enzimas cutinasas, lipasas o poliuretanasas, lo que podría contribuir a la reducción de la contaminación plástica y la gestión de residuos.

Todas las proteínas mostraron un alto número de hélices, las cuales podrían desempeñar un papel importante en la flexibilidad de los cambios conformacionales, así pues, en algunas proteínas modeladas más de la mitad de sus estructuras secundarias están compuestas por hélices. Un mayor porcentaje de α -hélice sugiere resistencia térmica significativa basada en la estabilidad intrínseca, lo que guarda correlación con los resultados de los parámetros calculados en ProtParam. Así mismo también las proteínas modeladas presentaron estructuras tipo β .

Varias pruebas experimentales indican que las hidrolasas, como las proteasas, ureasas y esterases, son capaces de degradar los poliuretanos (do Canto et al., 2019). En el presente trabajo presentamos pruebas que cutinasas y lipasas también pueden ligar poliuretano y posiblemente catalizarlo. Trabajos en proteínas modeladas por homología mostraron buena calidad estereoquímica y generalmente son acompañados de análisis de simulaciones de dinámica molecular, resultando en que todos los ligandos, monómeros de poliuretano, muestran interacciones favorables con las enzimas modeladas (do Canto et al., 2019).

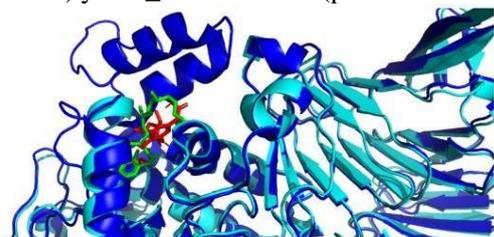
Poliuretanasas

En la proteína modelada WP_249486221.1 se observa que ligando está posicionado ligeramente diferente sin embargo está en la misma cavidad que WP_249486220.1. Si lo comparamos con el modelo WP_249486220.1 podemos observar que este modelo tiene 3 alfa hélices que el modelo WP_249486221.1 no tiene, puede que estas alfa hélices sean importantes para asegurar el ligando. En este trabajo no presentamos las otras opciones que CB-Dock2 ofrece cuando se realiza un docking, esto debido a que son 5 opciones y el trabajo sería demasiado largo, sin



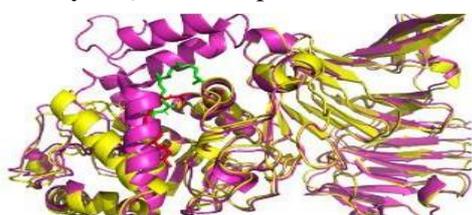
embargo, cabe destacar que analizamos todos los modelos y escogimos el que mejor puntuación Vina tenía y en caso la puntuación Vina fuese igual en dos modelos, se escogió el que mayor tamaño de cavidad tenía, esto siempre y cuando la cavidad predicha estuviese en la misma posición. Si bien presentamos los aminoácidos que estarían coordinando al ligando, este resultado es discutido puesto que los modelos conforme a menos puntuación pLDDT tienen, pueden tener variaciones en la posición de los aminoácidos, sin embargo, la cavidad se mantiene. Además, debemos tener en cuenta que en los modelos predichos por AlphaFold no se realizó un relajamiento de cadena secundaria, esto debido a que demandaba mayor tiempo en el modelado y para los objetivos de esta tesis y teniendo en cuenta que son modelos predichos consideramos que esto no era crucial puesto que aun así la cavidad sería identificada (Figura 15).

Figura 15 Comparación entre WP_249486221.1 (proteína coloreada en azul con ligando color verde) y WP_249486221.1 (proteína coloreada en cian con ligando color rojo)



Para el caso de UQS88382.1 cuando lo comparamos con WP_249486220.1 es bastante notable que carece de 3 alfa hélices y la alfa hélice que está coordinando el ligando se disloca. Puede que estas diferencias estructurales hagan que la puntuación Vina disminuya, sin embargo, como se observa, la cavidad sigue manteniéndose (Figura 16).

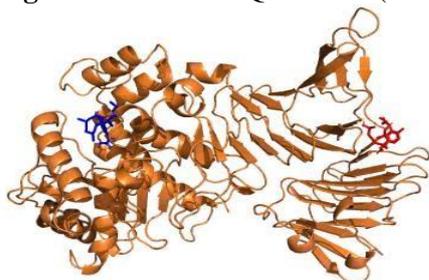
Figura 16 Enzima modelada WP_249486220.1 (proteína coloreada de magenta con ligando en verde) y UQS88382.1 (proteína coloreada en amarillo con ligando en rojo)



Para el caso del modelo UQS88381.1, el primer resultado del docking que tenía una puntuación Vina de -6.3 y un tamaño de cavidad de 538 no fue considerado como correcto, puesto que fue colocado en una posición que difería de otros modelos, intuimos que esto es debido a que en este modelo el score AlphaFold era más bajo y hacía que el docking fuese más inespecífico, es por

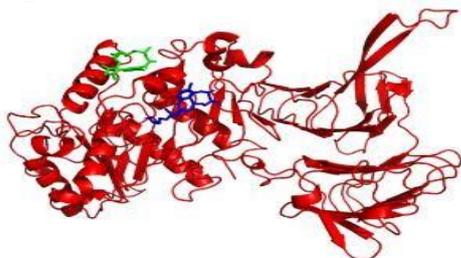
ello que optamos por el segundo resultado del docking que tenía una puntuación Vina de -6.1 y un tamaño de cavidad de 708 que aunque fuesen menores que el primer resultado sugerido si analizábamos su localización, parecía ser el correcto. Esto es un punto importante a tener en cuenta cuando se realiza blind docking usando modelos AlphaFold (Figura 17). Los motivos calculados en MEME también fueron un factor para escoger este sitio de unión.

Figura 17 Enzima UQS88381.1(en rojo score Vina - 6.3, en azul score Vina -6.1)



De forma similar sucedió con WP_154841285.1 en que el primer sitio propuesto por el docking con score Vina de -6.2 y un tamaño de cavidad de 322 estaba dislocado del sitio que anteriores modelos habían sugerido, así analizando la propuesta número 5 observamos que estaba mejor localizado el posible sitio de unión como se observa en la Figura 18 aunque con un score de -5.5 y un tamaño de cavidad de 321. Como hemos visto, estas estructuras han sido bastante similares, y la predicción del docking ha sido similar en cuanto a la cavidad de ligación del poliuretano. Los datos sugieren que esta cavidad para los modelos de más bajo score de AlphaFold se ha correlacionado con una baja puntuación Vina, que posiblemente se debe a la baja confiabilidad de la proteína modelada. Creemos que estas proteínas modeladas son candidatas a ser analizadas para evaluar su actividad enzimática in vitro frente al poliuretano.

Figura 18 WP_154841285.1 (en azul score Vina -6.2, en azul score Vina -5.5)

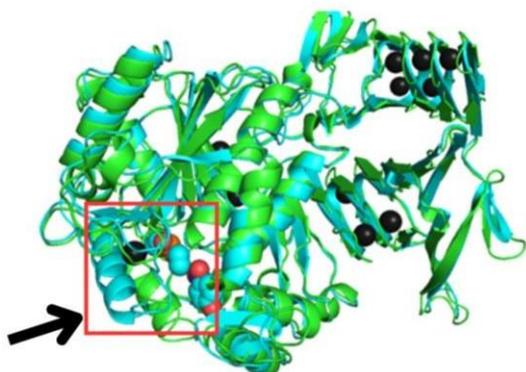


(Angkawidjaja et al., 2010) reportaron una estructura cristalográfica de una lipasa de *Pseudomonas* sp. en unión con fosfato de dietilo (PDB: 3A70). Observamos que el dominio compuesto por hojas beta actúa como un dominio de unión a metales que según reportan los autores sería calcio (se representan como círculos negros en la Figura 19. La estructura generada por AlphaFold (WP_249486220.1) muestra una gran similitud con la estructura obtenida por difracción de rayos X, con la excepción de una hélice alfa ligeramente desplazada que se muestra en el cuadrado rojo en la Figura 19 (en verde la estructura cristalográfica y en cian la estructura predicha por AlphaFold). Este cambio posiblemente se deba a que AlphaFold predice la estructura sin la presencia del ligando, permitiendo variaciones entre conformaciones abiertas y cerradas según el contexto (Figura 19). Esto es importante puesto que salta a discusión la pregunta ¿si los modelos predichos por AlphaFold son predichos en ocasiones cerrados o abiertos en sitios de unión, tendremos malos análisis de docking molecular?, para responder esta pregunta tenemos que tener en cuenta que muchas estructuras cristalográficas algunas veces son resueltas sin ligando con el sitio de unión posiblemente cerrado y para ello se realizan diferentes ensayos en las que se adiciona el ligando antes o después de cristalizar para poder observar este estado conformacional (Petock et al., 2001). Por lo tanto, se debate la importancia de llevar a cabo un acoplamiento molecular, ya sea a partir de modelos de proteínas derivados de la homología o AlphaFold, así como de estructuras cristalográficas con mucho análisis y cuidado pues es crucial abordar este análisis con meticulosidad y complementarlo con otras técnicas, como la dinámica molecular. Lamentablemente, en este estudio no fue factible realizar esta última debido a las demandas computacionales necesarias para llevarla a cabo.

Vemos también que el sitio donde el fosfato de dietilo se une, es el mismo que el docking ha calculado para que se ligue el poliuretano, afianzando aún más la confianza en este resultado, teniendo como una poliuretasa promisorio para ser estudiada con los nuevos avances de la biología estructural y evolución de proteínas para probar y eventualmente mejorar su estabilidad y eficiencia para degradar al poliuretano (Qiu & Wei, 2023).



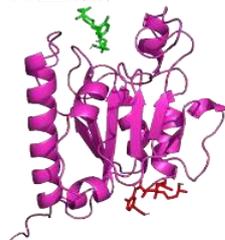
Figura 19 Comparación entre la enzima WP_249486220.1 modelada por AlphaFold y la estructura cristalográfica PBD:3A70



Cutinasas

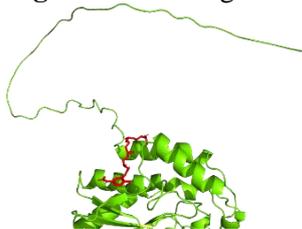
En el caso de las cutinasas, el binding docking fue bastante variable, aunque hubieron dos posibles sitios que podrían ser los más probables, como se muestra en la imagen (Figura 20), que contiene los dos sitios de unión, podemos observar que estos sitios se encuentran en extremos contrarios, en este caso en rojo un sitio de ligación que para CCO31306.1 mostró -5.0 de puntuación Vina, un tamaño de cavidad de 121 (que fue el seleccionado para presentar en resultados) y otro que se muestra en verde que tenía -4.6 de puntuación vina, y 127 de tamaño de cavidad.

Figura 20 Sitios de unión probables del poliuretano calculados por el docking para las enzimas cutinasas



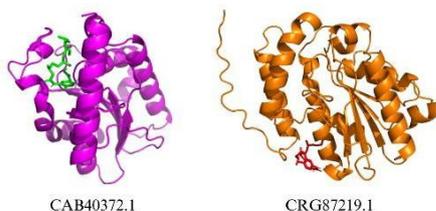
Es interesante analizar que para el modelo PBP15993.1, el sitio de unión es uno distinto, sin embargo, tiene una puntuación Vina relativamente buena de -6.1 con un tamaño de cavidad de 183. Se discute el hecho de que este modelo posee un loop bastante largo que no es bien modelado por AlphaFold. Este loop podría estar formando alguna otra estructura secundaria que podría hacer que este sitio de ligación sea también un buen candidato a receptor de poliuretano (Figura 21).

Figura 21 Docking molecular entre poliuretano y la enzima predicha por AlphaFold PBP15993.1



El sitio de unión en el que en la Figura 22 el poliuretano está coloreado de verde, fue el más común entre los modelos, pero es interesante analizar que conforme el score de AlphaFold iba disminuyendo en los modelos, este algunas veces se cerraba, haciendo que CB-Dock2 eligiera otros sitios alternativos, como se observa en la Figura 22 a continuación donde se compara CAB40372.1 que está con el dominio abierto y CRG87219.1 que está con el dominio cerrado.

Figura 22 Comparación entre CAB40372.1 que está con el dominio abierto y CRG87219.1 que está con el dominio cerrado



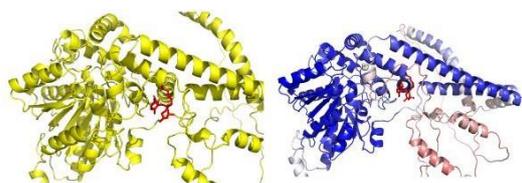
Finalmente, el modelo CAA61622.1 fue el que menos puntuación Vina tuvo y no estaba bien estructurado, aun así, hicimos el docking aunque no ofreció resultados confiables.

Lipasas

Las lipasas mostraron diferentes sitios de unión, sin embargo, era un resultado esperado debido a que estas eran bastante diferentes entre sí.

Para el caso de la proteína PNY15257.1, se discute el hecho de que la posible cavidad calculada por CB-Dock2 estaba en una región de baja confiabilidad modelada por AlphaFold, como se observa en la imagen (Figura 23).

Figura 23 Análisis por colores del score de predicción para la enzima PNY15257.1



Analizando los resultados de los score VINA del docking molecular podemos notar que estas enzimas son unas potenciales proteínas a ser estudiadas para su aprovechamiento en la industria y el tratamiento de los plásticos.

Estos resultados son consistentes con las hipótesis planteadas inicialmente en el estudio.

La hipótesis nula establecía que AlphaFold no predice con alto score la estructura tridimensional, pero observando los resultados vemos que efectivamente si predice con alta confiabilidad la estructura de las proteínas, es por ello que los resultados obtenidos respaldan la hipótesis alternativa.

A partir de los datos obtenidos, las Poliuretenasas con mejor Puntuación Vina son WP_249486220.1 y UQS16381.1, ambas presentan el valor más bajo (-8 kJ/mol) de su listado, mientras que las Cutinasas, PBP28852.1 y PBP17513.1 con los valores de -6.8 kJ/mol y -6.7 kJ/mol respectivamente, presentan la mejor Puntuación Vina en comparación de las otras cutinasas en lista, y finalmente, las Lipasas con puntuaciones más favorables en Vina son PNY15257.1 y KAF8063011.1, ambas con el valor de -6.2 kJ/mol. Estos resultados presentan puntuaciones mayores a los obtenidos por (Flores-Castañón et al., 2022) que presenta -6,5 de puntuación VINA, sin embargo, cabe resaltar que este autor trabaja con estructuras cristalográficas y en nuestro trabajo se usan modelos predichos.

CONCLUSIONES

Este estudio experimental ha generado un conjunto de estructuras tridimensionales predichas por AlphaFold, evaluadas meticulosamente mediante herramientas específicas. Además, el análisis de docking molecular sugiere que las proteínas modeladas poseen un potencial significativo para la unión y posible hidrólisis del poliuretano.

Los hallazgos presentados en este trabajo representan una contribución sustancial al conocimiento en el ámbito de la bioinformática y la biología estructural. Estos resultados prometen abrir nuevas líneas de investigación, particularmente en el estudio de proteínas y su actividad catalítica relacionada con los poliuretanos.

Se ha logrado no solo generar modelos tridimensionales precisos con la ayuda de AlphaFold, sino también evaluar su confiabilidad utilizando técnicas bioinformáticas específicas. La sugerencia



de la capacidad de estas proteínas modeladas para interactuar con poliuretanos ofrece un camino emocionante para investigaciones futuras.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrigach, F., Rokni, Y., Takfaoui, A., Khoutoul, M., Doucet, H., Asehraou, A., & Touzani, R. (2018). In vitro screening, homology modeling and molecular docking studies of some pyrazole and imidazole derivatives. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 103, 653–661.
- Al Hosni, A. S., Pittman, J. K., & Robson, G. D. (2019). Microbial degradation of four biodegradable polymers in soil and compost demonstrating polycaprolactone as an ideal compostable plastic. *Waste Management*, 97, 105–114. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.07.042>
- Álvarez-Barragán, J., Domínguez- Malfavón, L., Vargas-Suárez, M., González-Hernández, R., Aguilar-Osorio, G., & Loza-Tavera, H. (2016). Biodegradative Activities of Selected Environmental Fungi on a Polyester Polyurethane Varnish and Polyether Polyurethane Foams. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(17), 5225–5235. <https://doi.org/10.1128/AEM.01344-16>
- Amobonye, A., Bhagwat, P., Singh, S., & Pillai, S. (2021). Plastic biodegradation: Frontline microbes and their enzymes. *Science of The Total Environment*, 759, 143536. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143536>
- Angkawidjaja, C., Matsumura, H., Koga, Y., Takano, K., & Kanaya, S. (2010). X-ray Crystallographic and MD Simulation Studies on the Mechanism of Interfacial Activation of a Family I.3 Lipase with Two Lids. *Journal of Molecular Biology*, 400(1), 82–95. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jmb.2010.04.051>
- Awasthi, S., Srivastava, P., Singh, P., Tiwary, D., & Mishra, P. K. (2017). Biodegradation of thermally treated high-density polyethylene (HDPE) by *Klebsiella pneumoniae* CH001. *3 Biotech*, 7(5), 332. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0959-3>
- Barnetche, J. M. (2007). La bioinformática como herramienta para la investigación en salud humana. *Salud Pública de México*, 49, 64–66.



- Burelo, M., Gaytán, I., Loza-Tavera, H., Cruz-Morales, J. A., Zárata-Saldaña, D., Cruz-Gómez, M. J., & Gutiérrez, S. (2022). Synthesis, characterization and biodegradation studies of polyurethanes: Effect of unsaturation on biodegradability. *Chemosphere*, 307, 136136. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136136>
- Carr, C. M., Clarke, D. J., & Dobson, A. D. W. (2020). Microbial Polyethylene Terephthalate Hydrolases: Current and Future Perspectives. *Frontiers in Microbiology*, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.571265>
- Cherng, J. Y., Hou, T. Y., Shih, M. F., Talsma, H., & Hennink, W. E. (2013). Polyurethane-based drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics*, 450(1–2), 145–162. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.04.063>
- Colovos, C., & Yeates, T. O. (1993). Verification of protein structures: Patterns of nonbonded atomic interactions. *Protein Science*, 2(9), 1511–1519. <https://doi.org/10.1002/pro.5560020916>
- Danso, D., Chow, J., & Streit, W. R. (2019). Plastics: Environmental and Biotechnological Perspectives on Microbial Degradation. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(19). <https://doi.org/10.1128/AEM.01095-19>
- Da Silva Santos, F., & López Vargas, R. (2020). Efecto del Estrés en la Función Inmune en Pacientes con Enfermedades Autoinmunes: una Revisión de Estudios Latinoamericanos. *Revista Científica De Salud Y Desarrollo Humano*, 1(1), 46–59. <https://doi.org/10.61368/r.s.d.h.v1i1.9>
- Emadian, S. M., Onay, T. T., & Demirel, B. (2017). Biodegradation of bioplastics in natural environments. *Waste Management*, 59, 526–536. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.10.006>
- Eriksen, M. K., Pivnenko, K., Olsson, M. E., & Astrup, T. F. (2018). Contamination in plastic recycling: Influence of metals on the quality of reprocessed plastic. *Waste Management (New York, N.Y.)*, 79, 595–606. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.08.007>
- Flores-Castañón, N., Sarkar, S., & Banerjee, A. (2022). Structural, functional, and molecular



docking analyses of microbial cutinase enzymes against polyurethane monomers.
Journal of Hazardous Materials Letters, 3, 100063.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.hazl.2022.100063>

Gautam, R., Bassi, A. S., & Yanful, E. K. (2007). *Candida rugosa* lipase-catalyzed polyurethane degradation in aqueous medium. *Biotechnology Letters*, 29(7), 1081–1086.

<https://doi.org/10.1007/s10529-007-9354-1>

Hatti-Kaul, R., Nilsson, L. J., Zhang, B., Rehnberg, N., & Lundmark, S. (2020). Designing Biobased Recyclable Polymers for Plastics. *Trends in Biotechnology*, 38(1), 50–67.

<https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2019.04.011>

Jumper, J., Evans, R., Pritzel, A., Green, T., Figurnov, M., Ronneberger, O., Tunyasuvunakool, K., Bates, R., Židek, A., Potapenko, A., Bridgland, A., Meyer, C., Kohl, S. A. A., Ballard, A. J., Cowie, A., Romera-Paredes, B., Nikolov, S., Jain, R., Adler, J., ... Hassabis, D. (2021). Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*, 596(7873), 583–589.

<https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>

Laskowski, R. A., MacArthur, M. W., Moss, D. S., & Thornton, J. M. (1993). PROCHECK: a program to check the stereochemical quality of protein structures. *Journal Of Applied Crystallography*, 26(2), 283–291. <https://doi.org/10.1107/S0021889892009944>

Liu, J., He, J., Xue, R., Xu, B., Qian, X.,

Xin, F., Blank, L. M., Zhou, J., Wei, R., Dong, W., & Jiang, M. (2021). Biodegradation and up-cycling of polyurethanes: Progress, challenges, and prospects. *Biotechnology Advances*, 48, 107730.

<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2021.107730>

Liu, Y., Grimm, M., Dai, W., Hou, M., Xiao, Z.-X., & Cao, Y. (2020). CB-Dock: a web server for cavity detection-guided protein–ligand blind docking. *Acta Pharmacologica Sinica*, 41(1), 138–144. <https://doi.org/10.1038/s41401-019-0228-6>

Liu, Y., Yang, X., Gan, J., Chen, S., Xiao, Z.-X., & Cao, Y. (2022). CB-Dock2:



improved protein–ligand blind docking by integrating cavity detection, docking and homologous template fitting. *Nucleic Acids Research*, 50(W1), W159–W164.

<https://doi.org/10.1093/nar/gkac394>

Loredo-Treviño, A., Argüello, A., Rodríguez, R., Gutiérrez-Sánchez, G., Escamilla, A., & Aguilar, C. (2017). Fungal biodegradation of rigid polyurethane. *Química Nova*.

<https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170094>

Magnin, A., Pollet, E., Phalip, V., & Avérous, L. (2020). Evaluation of biological degradation of polyurethanes. *Biotechnology Advances*, 39, 107457.

<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.107457>

Nakajima-Kambe, T., Shigeno-Akutsu, Y., Nomura, N., Onuma, F., & Nakahara, T. (1999). Microbial degradation of polyurethane, polyester polyurethanes and polyether polyurethanes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 51(2), 134–140.

<https://doi.org/10.1007/s002530051373>

Nanguce López, M., & Sierra Ramírez, J. A. (2024). Funcionalidad familiar y depresión en adultos mayores con diabetes. *Revista Científica De Salud Y Desarrollo Humano*, 5(1), 378–391. <https://doi.org/10.61368/r.s.d.h.v5i1.101>

Parashar, N., & Hait, S. (2021). Plastics in the time of COVID-19 pandemic: Protector or polluter? *Science of The Total Environment*, 759, 144274.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144274>

Patel, D., Mamtora, D., Kamath, A., & Shukla, A. (2022). Rogue one: A plastic story. *Marine Pollution Bulletin*, 177, 113509. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113509>

Pereiras Varela, M. (2019). Contaminación marina por plásticos.

Pérez-García, P., Danso, D., Zhang, H., Chow, J., & Streit, W. R. (2021). Exploring the global metagenome for plastic-degrading enzymes (pp. 137–157).

<https://doi.org/10.1016/bs.mie.2020.12.022>

Petock, J. M., Wang, Y.-F., DuBois, G. C.,

Harrison, R. W., & Weber, I. T. (2001). Effects of different post-crystallization soaking conditions on the diffraction of Mtcp1 crystals. *Acta Crystallographica Section D*:



Biological Crystallography, 57(5), 763–765 Plastics Europe. (n.d.). Plásticos-Situación en 2020.

<https://plasticseurope.org/es/acerca-de/>

Plastics Europe. (2021). PLASTICS - THE FACTS 2020.

https://plasticseurope.org/wp-content/uploads/2022/04/PlasticsEurope-CircularityReport2021_28022022.pdf

Prajapati, K., Nayak, R., Shukla, A., Parmar, P., Goswami, D., & Saraf, M. (2021).

Polyhydroxyalkanoates: An Exotic Gleam in the Gloomy Tale of Plastics. *Journal of Polymers and the Environment*, 29(7), 2013–2032.

<https://doi.org/10.1007/s10924-020-02025-x>

Qiu, Y., & Wei, G.-W. (2023). Artificial intelligence-aided protein engineering: from topological data analysis to deep protein language models. *Briefings in Bioinformatics*, 24(5), bbad289.

Raval, K., & Ganatra, T. (2022). Basics, types and applications of molecular docking: A review.

IP International Journal of Comprehensive and Advanced Pharmacology, 7(1), 12–16. <https://doi.org/10.18231/j.ijcaap.2022.003>

Recycling and Energy | World Plastics Council. (n.d.).

<https://www.worldplasticscouncil.org/positions-actions/recycling-and-energy/>

[Robert](#), X., & Gouet, P. (2014). Deciphering key features in protein structures with the new ENDscript server. *Nucleic Acids Research*, 42(Web Server issue), W320-4.

<https://doi.org/10.1093/nar/gku316>

Rosenfeld, R., Vajda, S., & DeLisi, C. (1995). Flexible Docking and Design. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*, 24(1), 677–700.

<https://doi.org/10.1146/annurev.bb.24.060195.003333>

Ruiz Díaz Benítez, J. R. (2023). Diseño de una Arquitectura de Referencia en la Logística de Abastecimiento Inteligente de Almacenes mediante el uso de Tecnologías de la Industria 4.0. Caso Almacenes retail de la Ciudad de Pilar. *Revista Veritas De Difusão Científica*, 4(2), 55–70. <https://doi.org/10.61616/rvdc.v4i2.46>



- Salgado, C. A., Silva, J. G., Almeida, F. A.de, & Vanetti, M. C. D. (2023). Biodegradation of polyurethanes by *Serratia liquefaciens* L135 and its polyurethanase: In silico and in vitro analyses. *Environmental Pollution*, 333, 122016.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.en.vpol.2023.122016>
- Scardino, V., Di Filippo, J. I., & Cavasotto, C. N. (2023). How good are AlphaFold models for docking-based virtual screening? *Iscience*, 26(1).
- Selvam, K., Senbagam, D., Selvankumar, T., Sudhakar, C., Kamala-Kannan, S., Senthilkumar, B., & Govarthanam, M. (2017). Cellulase enzyme: homology modeling, binding site identification and molecular docking. *Journal of Molecular Structure*, 1150, 61–67.
- Santiago Flores, C. A., Solís Peralta, F. M., & Huerta Patraca, G. A. (2024). El Autorretrato como Estrategia Socioemocional para Fortalecer el Autoconcepto en Alumnos de Bachillerato. *Estudios Y Perspectivas Revista Científica Y Académica* , 4(2), 136–154.
<https://doi.org/10.61384/r.c.a.v4i2.204>
- Tovar Cuevas, J. R., Portilla-Yela, J., Burbano Pantoja, V. M., & Valdivieso Miranda, M. A. (2024). Factores asociados al desempeño en el primer curso de matemáticas para estudiantes universitarios. *Emergentes - Revista Científica*, 4(1), 316–349.
<https://doi.org/10.60112/erc.v4i1.110>
- Ullah, R., Tsui, M. T.-K., Chow, A., Chen, H., Williams, C., & Ligaba-Osena, A. (2023). Micro(nano)plastic pollution in terrestrial ecosystem: emphasis on impacts of polystyrene on soil biota, plants, animals, and humans. *Environmental Monitoring and Assessment*, 195(1), 252.
<https://doi.org/10.1007/s10661-022-10769-3>

