

Ottimizzazione e riduzione della sperimentazione animale mediante SPILLO-PBSS: un innovativo metodo *in silico* 3D per l'individuazione di proteine bersaglio di agenti tossici su scala proteomica

A.Di Domizio

Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Via Balzaretti, 9, 20133 Milano, Italia
SPILLOproject, Via Stradivari, 17, 20037 Paderno Dugnano (Mi), Italia

L'individuazione dei *target* proteici degli xenobiotici finalizzata alla comprensione dei meccanismi biomolecolari alla base della tossicità riveste un'importanza fondamentale in tossicologia. Le strategie di *screening* sperimentali spesso, però, richiedono tempi lunghi e l'utilizzo di ingenti risorse economiche, nonché il ricorso alla sperimentazione animale.

Un conveniente supporto ai tradizionali test *in vitro* e *in vivo* può essere oggi rappresentato dalle più recenti tecniche *in silico*, favorite sia dalla crescente disponibilità di dati, i cosiddetti '*big data*' biologici, sia dal continuo aumento della potenza di calcolo dei calcolatori.

Verrà presentato il **software innovativo** *SPILLO-potential binding sites searcher (SPILLO-PBSS)*¹, che, con risorse e tempi di calcolo minimi, è in grado di **analizzare in 3D** (approccio *structure-based*) l'intero proteoma strutturale umano disponibile depositato nel *Protein Data Bank* (38500+ strutture proteiche, in continuo aumento) e di individuare i potenziali *target* proteici degli xenobiotici utili per **spiegare** e/o **prevedere** a livello biomolecolare le **cause della tossicità**.

SPILLO-PBSS è uno strumento **totalmente diverso dagli altri metodi esistenti**: la sua unicità e punto di forza consiste nel riuscire ad indentificare i potenziali siti di legame (degli xenobiotici) sulle proteine anche se essi sono fortemente distorti e/o apparentemente inaccessibili (es. completamente chiusi, molto interni, occupati) agli xenobiotici stessi, rispetto ad una conformazione ideale per il *binding*. In questo modo esso è in grado di **identificare target proteici (off-target, nel caso specifico di farmaci) non individuabili dai software tradizionali**.

Inoltre, SPILLO-PBSS offre la possibilità di eseguire analisi di proteomi strutturali appartenenti ad organismi diversi dall'*Homo sapiens* (es. ***Mus musculus***, ***Rattus norvegicus***, ecc.) e di valutare in modo razionale la trasferibilità dei risultati dall'*Homo sapiens* al modello animale e viceversa. Ciò si traduce in una migliore valutazione dell'attendibilità dei modelli animali usati nei test sugli xenobiotici ed in una progettazione più mirata e consapevole di tali esperimenti, in accordo con un contesto legislativo che tende a **ridurre la sperimentazione animale**.

Verranno presentati esempi applicativi in cui SPILLO-PBSS si è dimostrato particolarmente efficace nella soluzione di problemi riguardanti la tossicità di farmaci e, più in generale, di xenobiotici.