

Visualização de Macromoléculas Biológicas

Objetivos

Visualizar a estrutura tridimensional de peptídeos e proteínas, usando-se recursos computacionais. Montar modelos estruturais de proteínas, usando-se kit de plástico “Protein Folder”.

Materiais

1. Computador iMac;
2. Programa VMD (*Visual Molecular Dynamics*) para visualização de macromoléculas biológicas;
3. Kit de montagem de proteína “Protein Folder”;
4. Programa em Perl para cálculo da área acessível ao solvente;
5. Arquivos com coordenadas atômicas de proteínas.

Procedimento

1) CDK2

A figura 1 ilustra a estrutura da CDK2 com um fármaco anticancerígeno, chamado roscovitine.

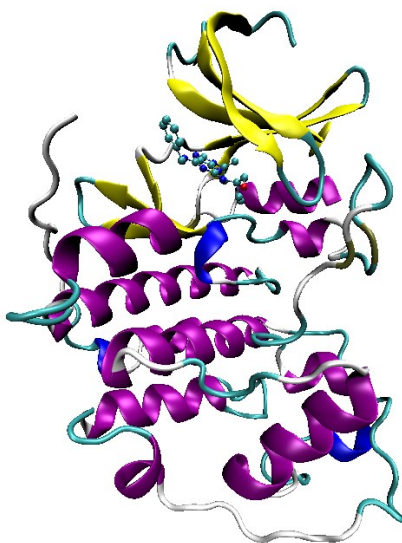


Figura 1. Estrutura tridimensional da CDK2 em complexo com o fármaco roscovitine.

A estrutura da CDK2 é formada por dois lóbulos, um com preponderância de fitas beta (terminal N) e outro com preponderância de hélices alfa, o inibidor liga-se no sítio ativo localizado entre os dois lóbulos.

Carregar coordenadas atômicas da proteína CDK2 (arquivo CDK2.pdb).

Visualizar a proteína nos seguintes esquemas de visualização (*Graphics* → *Representations* → *Drawing Method* nas opções: *line*, *VDW*, *CPK* e *NewCartoon*);

Questões

Relativas à CDK2

- a) Quantos átomos estão presentes na estrutura da CDK2? Dica: olhe no *VMD main*.
- b) Quais os elementos de estrutura secundária estão presentes na estrutura da CDK2? Dica: olhe na tela gráfica, com a opção *New cartoon* ativa.
- c) Quantos resíduos estão presentes na estrutura da CDK2? Dica: Clique, *VMD main* → *Extensions* → *Analysis* → *Sequence Viewer*. Você verá a estrutura primária da proteína.
- d) Faça uma estimativa da massa molecular da proteína (CDK2) (expressa em Dáltons, 1 Dálton representa a massa de 1/12 do átomo de carbono 12). 1 D = 1 Dálton. 1 kD = 1000 D. Use a equação abaixo.

$MW = 118,89 \cdot N_{aa}$ (resultado em Dáltons), onde MW é a massa molecular e N_{aa} é o número de aminoácidos.

- e) Faça uma estimativa da área acessível ao solvente (ASA) da proteína, em \AA^2 . 1 $\text{\AA} = 10^{-10}$ m. Use a equação abaixo.

$ASA = 11,1 \cdot (MW)^{2/3}$ (resultado em \AA^2), onde ASA é a área acessível ao solvente.

Vamos visualizar a superfície acessível ao solvente da CDK2, para isto siga o seguinte esquema: *Graphics* → *Representations* → *Create Rep* → *Drawing Method* na opção: *Surf*.

A CDK2 liga-se ao inibidor roscovitine, tente verificar a partir das cavidades da CDK2 uma cavidade potencial para ligação do inibidor.

Carregue as coordenadas do inibidor (roscovitine.pdb) e confirme sua previsão. Mude a representação do roscovitine para *Surf*. O que você pode dizer da interação intermolecular proteína-ligante?

2) Montagem de modelos estruturais

Os canais de K^+ dependentes de voltagem são de fundamental importância na sinalização nervosa (comunicação entre a célula pré-sináptica e célula pós-sináptica), assim qualquer interferência com esta proteína transmembranar pode ter efeitos danosos à transmissão do sinal nervoso. Algumas espécies de escorpião tiram vantagem disso para paralisar suas presas. Podemos pensar no veneno de escorpiões como um coquetel de peptídeos e proteínas. Um dos componentes do veneno do escorpião (*Leiurus quinquestriatus hebraeus*)(figura 2) apresenta uma neurotoxina, formada por um peptídeo de 38 resíduos de aminoácidos (agitoxina 2), que bloqueia o canal de K^+ dependente de voltagem, paralisando sua vítima.



Figura 2. Escorpião *Leiurus quinquestriatus hebraeus* (Fonte da foto: <http://www.latoxan.com/VENOM/SCORPION/Leiurus-quinquestriatus-hebraeus.php>)

Carregar coordenadas atômicas da proteína (arquivo agitoxina2.pdb).

Visualizar a proteína no seguinte esquema de visualização (*Graphics*→ *Representations*→ *Drawing Method* na opção: *NewCartoon*. No *Coloring Method* na opção *Secondary Structure*. Desenhe a estrutura secundária.

Use o kit de montagem “Protein Folder” e monte a estrutura que você está visualizando na tela.

3) Visualização da hemoglobina S

A partir da elucidação da estrutura tridimensional da hemoglobina (uma proteína formada preponderantemente por hélices) foi possível identificar as bases estruturais da patologia conhecida como anemia falciforme. Essa doença é caracterizada pela mutação de um resíduo de aminoácido da hemoglobina. A mutação é de glutamato para valina, na posição 6 da cadeia beta. **A denominação de cadeia beta não está relacionada com a estrutura secundária.** Pessoas com essa patologia apresentam problemas de circulação devido à perda de flexibilidade da hemácia. Vamos visualizar a estrutura da hemoglobina de pessoas que apresentam a mutação.

Carregar coordenadas atômicas da hemoglobina S (arquivo hemoglobinaS.pdb).

Visualizar a proteína nos seguintes esquemas de visualização (*Graphics* → *Representations* → *Drawing Method* → *NewCartoon*. No *Coloring Method* na opção *Chain*. Você tem na tela a estrutura da hemoglobina S, presente em pacientes com anemia falciforme.

Qual a estrutura quaternária desta proteína? _____

A hemoglobina humana é composta de duas cadeias do tipo alfa (com 141 resíduos de aminoácido cada uma), e duas cadeias do tipo beta, com 146 resíduos de aminoácido.

Faça uma estimativa da massa molecular desta proteína: _____

Faça uma estimativa da área acessível ao solvente da proteína: _____

A mutação que leva à anemia falciforme ocorre na posição 6 das cadeias betas (*chains* B e D). Clique no *VMD main* em *Extension* -> *Analysis*->*Sequence viewer*. Com esta opção você pode identificar o resíduo da posição 6 das cadeias B e D. O resíduo esperado nesta posição é um glutamato (Glu).

Qual o resíduo da posição 6 da cadeia beta? _____

O resíduo modificado encontra-se na superfície da proteína? _____

Por que mutação causa a patologia conhecida como anemia falciforme?

Referências

ALBERTS, B. *et al.* Biologia Molecular da Célula. 4a edição. Artmed editora, Porto Alegre, 2004 (Capítulo 3).

CANDURI F, DE AZEVEDO WF Jr. *Curr Computer-Aided Drug Design* 2005; 1(1): 53-64.

LESK, A. M. *Introduction to Protein Architecture*. Oxford University Press, New York, 2001.

BRANDEN, c. & TOOSE, J. *Introduction to Protein Structure*. 2nd Ed. Garland Publishing, Inc. New York, 1999.

<http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/>

<http://www.fi.muni.cz/usr/mejzlik/mirrors/www.nyu.edu/pages/mathmol/software.html>

<http://www.rcsb.org/pdb/>