

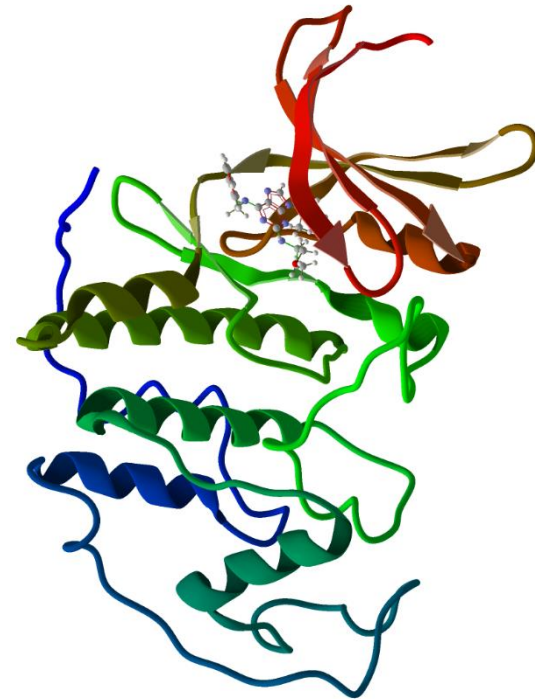
Complexo da CDK2 com Fármaco Anticâncer

Prof. Dr. Walter F. de Azevedo Jr.



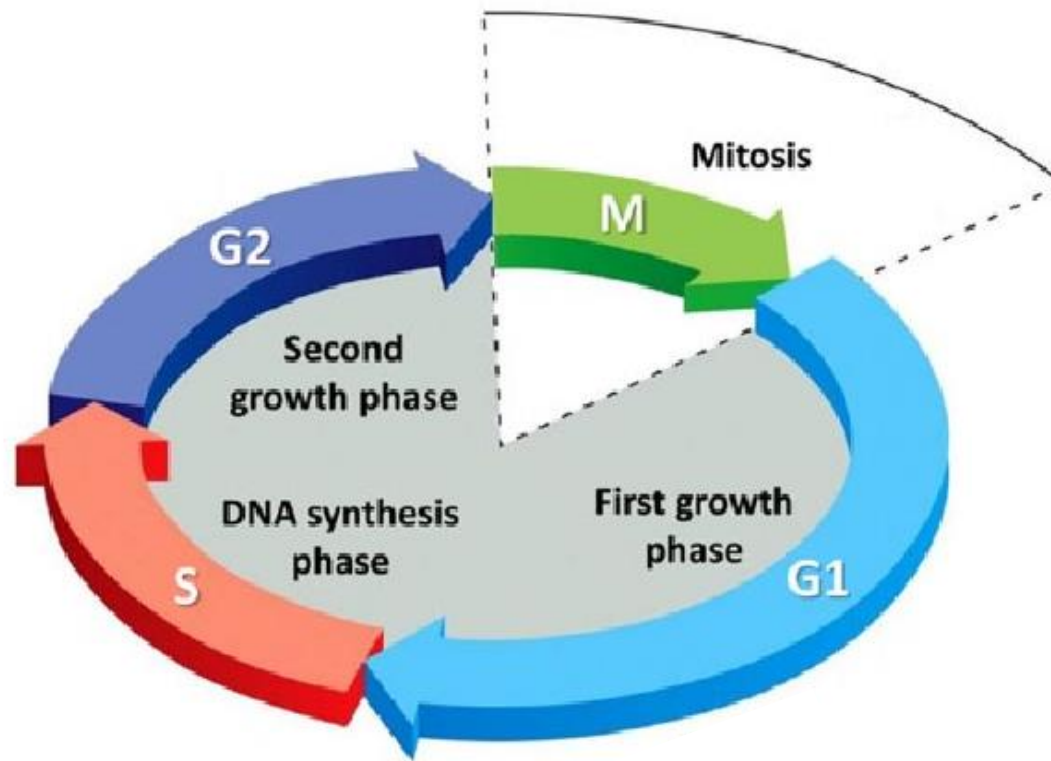
Trabalho discente efetivo sobre a estrutura tridimensional do complexo quinase dependente de ciclina 2 (*cyclin-dependent kinase 2, CDK2*) em complexo com o fármaco anticâncer roscovitina usando recursos computacionais interativos disponíveis no site <https://www.rcsb.org/3d-view/2A4L/1>.

Após o estudo do texto a seguir, responda as questões.



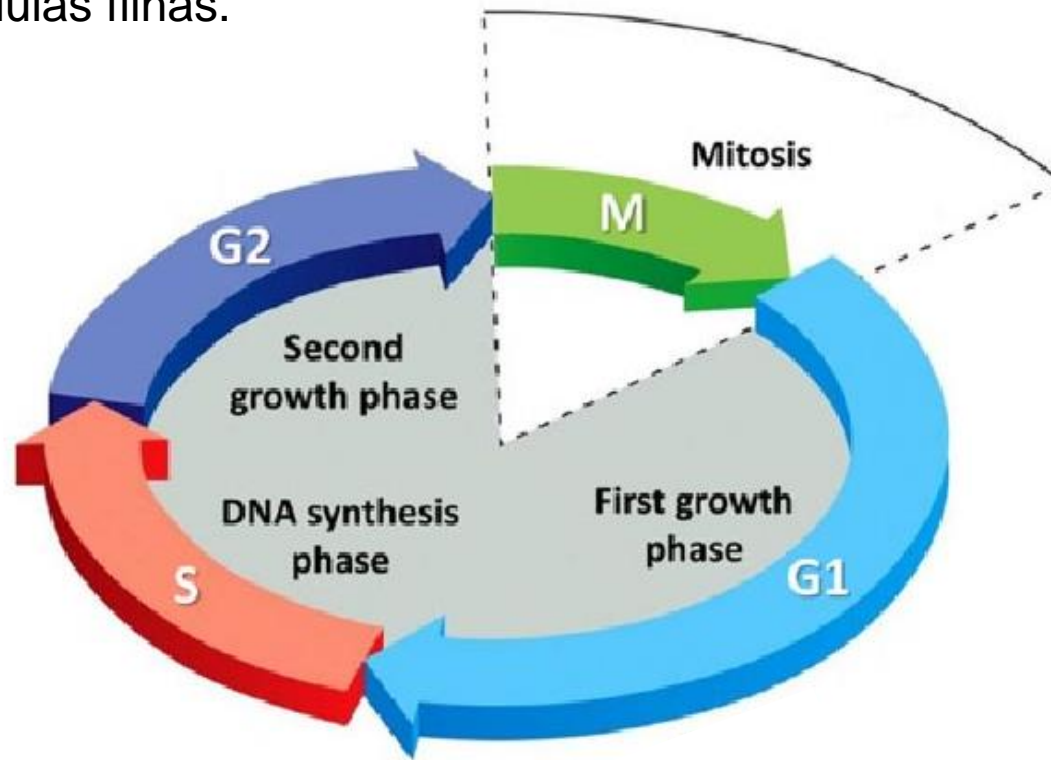
Estrutura cristalográfica da CDK2 em complexo com o fármaco anticâncer roscovitina (De Azevedo *et al.*, 1997).

Ao entrar em processo de divisão, a célula eucariótica segue uma série de eventos chamados de ciclo celular. A figura abaixo ilustra a progressão de tais eventos. A CDK2 está envolvida na transição G_1/S e S/G_2 .



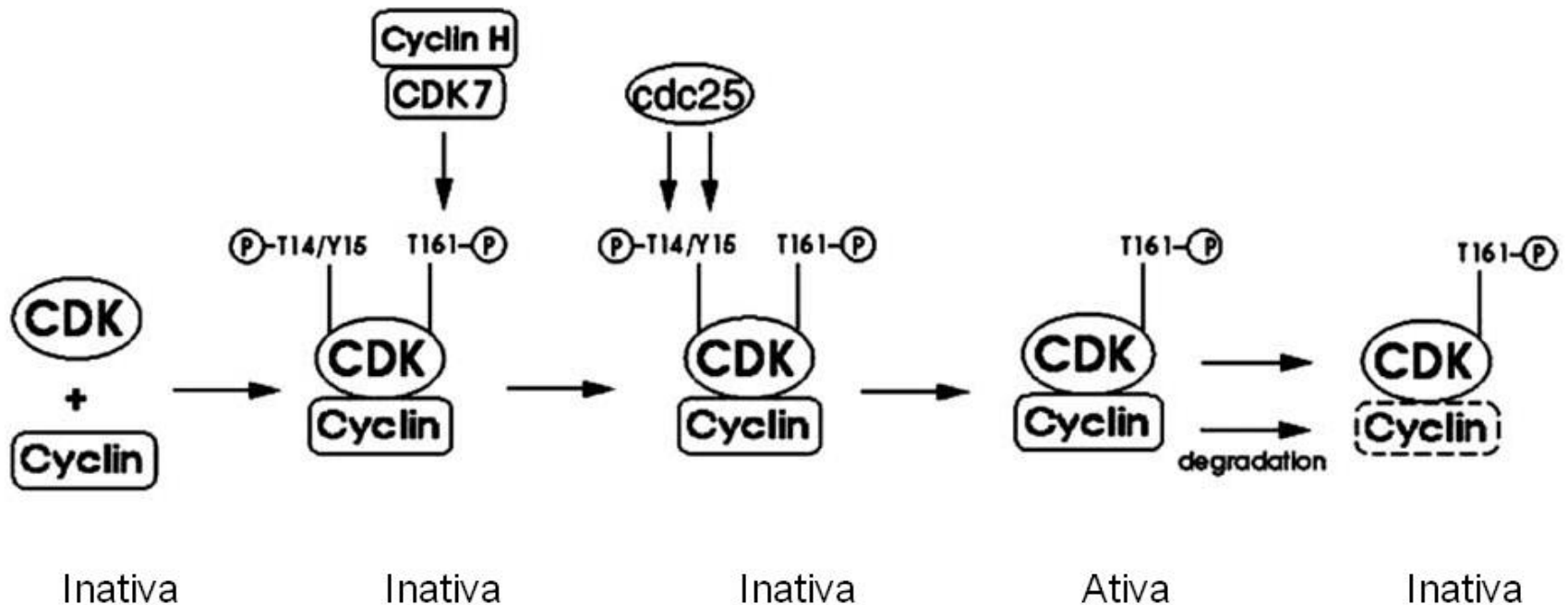
Progressão do ciclo celular (fonte: <https://d3i71xaburhd42.cloudfront.net/74dd51adc35aab5f8d6655fe36a725479d18b5fe/3-Figure1-1.png>). A fase G_1 é chamada de *gap 1* (intervalo 1), onde a célula aumenta de tamanho. A fase S (síntese) é quando ocorre a replicação do DNA. G_2 é o *gap 2*, a célula continua a crescer, este é o intervalo entre a replicação do DNA e a mitose (fase M).

A célula sai da fase quiescente (G_0) e entra em G_1 , este G significa *gap*, ou seja, intervalo de tempo. Após a fase G_1 , a célula duplica seu DNA, esta é fase de síntese (chamada de fase S). Segue a fase G_2 para finalmente chegarmos à mitose (M) onde a célula gera duas células filhas.



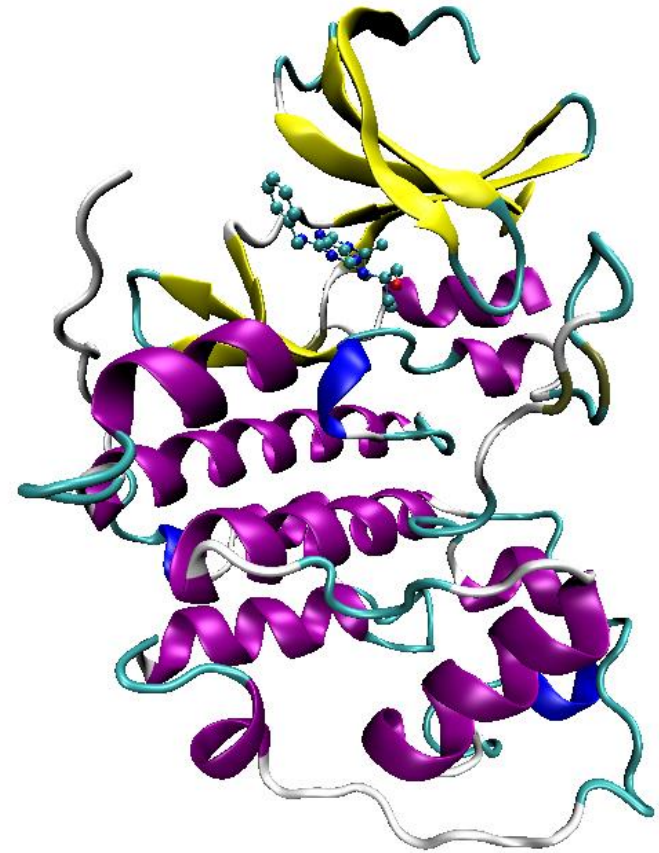
Progressão do ciclo celular (fonte: <https://d3i71xaburhd42.cloudfront.net/74dd51adc35aab5f8d6655fe36a725479d18b5fe/3-Figure1-1.png>). A fase G_1 é chamada de *gap 1* (intervalo 1), onde a célula aumenta de tamanho. A fase S (síntese) é quando ocorre a replicação do DNA. G_2 é o *gap 2*, a célula continua a crescer, este é o intervalo entre a replicação do DNA e a mitose (fase M).

Para passar de G_1 para S (etapa onde ocorre a replicação do DNA) é necessário que uma proteína esteja ativa, a CDK2, sigla em inglês para *Cyclin-Dependent Kinase 2*, ou seja, quinase dependente de ciclina 2. Para sua ativação a CDK2 precisa ligar-se numa outra proteína, chamada ciclina, e sofrer fosforilação no resíduo Thr 161 e desfosforilação nos resíduos Thr 14 e Tyr 15, como indicado no diagrama abaixo (Canduri & De Azevedo, 2005).



Ativação da CDK2. Fosforilação do resíduo Thr 161 pelo complexo CDK7-ciclina H e desfosforilação dos resíduos Thr 14 e Tyr 15 pela fosfatase cdc25 (Fonte: Canduri & De Azevedo, 2005).

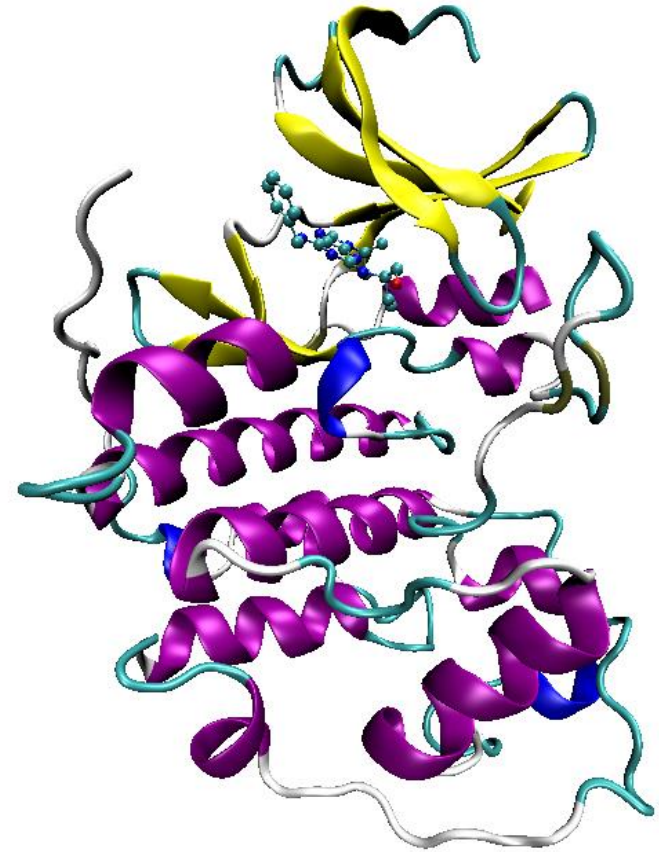
A inibição da CDK2 bloqueia a progressão do ciclo celular, podendo levar a célula à apoptose, para informações adicionais veja os seguintes artigos de revisão (de Azevedo Jr, 2016; Levin *et al.*, 2017; Volkart *et al.*, 2019). As CDKs envolvidas na progressão do ciclo celular têm sido intensivamente estudada pois são alvos para o desenvolvimento de fármacos anticâncer (de Azevedo Jr, 2016).



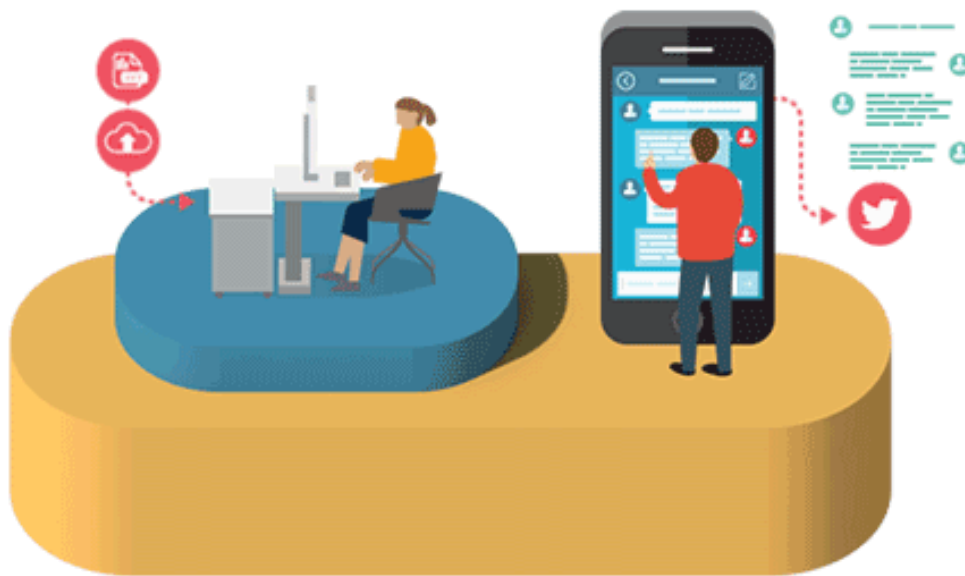
Estrutura cristalográfica da CDK2 em complexo com o fármaco anticâncer roscovitina (De Azevedo *et al.*, 1997).

Quando há um dano no DNA, como por exemplo exposição à radiação ultravioleta, a célula ativa um mecanismo de proteção onde a proteína supressora de tumores p53 leva à transcrição da proteína inibidora de CDK, chamada de p21 (Waldman *et al.*, 1995; Bunz *et al.*, 1998). Esta proteína liga-se à CDK2 bloqueando o seu sítio ativo, de forma que trava a progressão do ciclo celular. Assim, há uma grande chance da célula ir para apoptose, o processo de morte celular programada. O que é desejável para uma célula cancerígena.

Neste trabalho discente efetivo vemos a molécula de CDK2 interagindo com o fármaco roscovitina (de Azevedo *et al.*, 1997). Esta estrutura foi determinada por meio de técnicas de cristalografia por difração de raios X.



Estrutura cristalográfica da CDK2 em complexo com o fármaco anticâncer roscovitina (De Azevedo *et al.*, 1997).



Use o 3D-View para responder as questões abaixo.

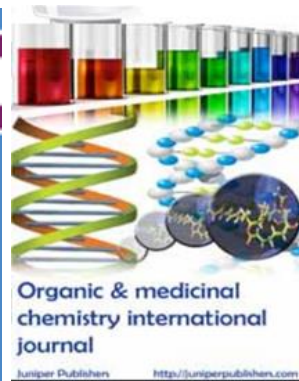
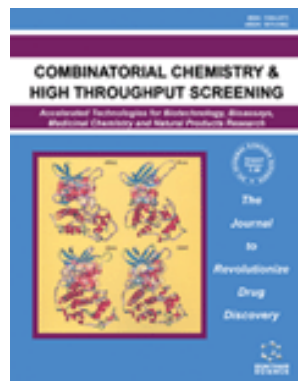
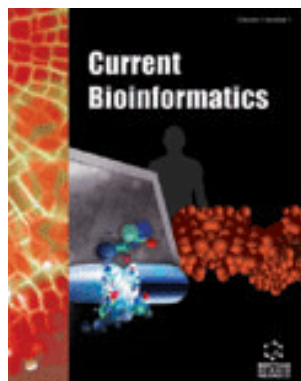
- 1) Identifique os tipos de moléculas presentes na estrutura com código PDB 2A4L (acesse ao link: <https://www.rcsb.org/3d-view/2A4L/1>).
- 2) Descreva qual o papel biológico da CDK2 e sua importância para câncer.
- 3) Identifique que tipo de interação intermolecular que envolve átomos da Leu 83 e o fármaco roscovitina. Clique no aminoácido L na posição 83 (próximo ao número 81 mostrado na sequência na parte superior da tela). A leucina é o aminoácido L no trecho da sequência mostrada na parte superior da tela: VFEFL. Acesse ao link: <https://www.rcsb.org/3d-view/2A4L/1>.



Prof. Azevedo is Frontiers Section Editor (Bioinformatics and Biophysics) of the Current Drug Targets, section editor (Bioinformatics in Drug Design and Discovery) of the Current Medicinal Chemistry, section editor (Combinatorial/Medicinal Chemistry) for the Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening, member of the editorial board of Current Bioinformatics, and editor of Docking Screens for Drug Discovery (Methods of Molecular Biology)(Springer Nature). He is also member of the editorial board of PeerJ, PeerJ Physical Chemistry, Organic & Medicinal Chemistry International Journal, and section editor in chief (Bioinformatics) of the Bioengineering International. He graduated in Physics (BSc in Physics) from the University of São Paulo (USP) in 1990. He completed a Master Degree in Applied Physics also from the USP (1992), working under the supervision of Prof. Yvonne P. Mascarenhas, the founder of crystallography in Brazil. His dissertation was about X-ray crystallography applied to organometallics compounds (De Azevedo Jr. et al., 1995). During his PhD, he worked under the supervision of Prof. Sung-Hou Kim (University of California, Berkeley), on a split Ph.D. program with a fellowship from Brazilian Research Council (CNPq)(1993-1996). His PhD was about the crystallographic structure of CDK2 (De Azevedo Jr. et al., 1996). His current position is coordinator of the Structural Biochemistry Laboratory at Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS). His research interests are interdisciplinary with two major emphases: molecular simulations and protein-ligand interactions. He published over 190 scientific papers about protein structures and computer models to assess intermolecular interactions involving biomolecules and potential ligands (H-index: 37, RG Index > 41.0). These publications have over 4900 citations in the Web of Science (Publons h-index: 37), more than 5600 citations in the Scopus (h-index: 41), and over 7100 citations in the Google Scholar (h-index: 44).

PROUD
to be
a **Springer Author**

Read a free
preview!



<https://www.facebook.com/azevedolab.net/>

The screenshot shows the Facebook profile page for 'azevedolab.net'. At the top, there is a navigation bar with the Facebook logo and login fields for 'Email ou telefone' and 'Senha', with an 'Entrar' button and a link for 'Esqueceu a conta?'. On the left, a sidebar menu lists: 'Página inicial', 'Sobre', 'Fotos', 'Website', 'Vídeos', 'Publicações', and 'Comunidade'. The main content area features a 'Fotos' section with a large schematic flowchart titled 'Schematic Flowchart for Application of Bioinformatics Tools to Discover Drugs Against COVID-19'. The flowchart details a process: 'Protein Structures of SARS-CoV-2' and 'Selection of Targets of SARS-CoV-2' lead to 'Protein-Ligand Binding Affinity Databases' (including G-PPII and MOAD). This is followed by 'Molecular Docking' and 'Machine Learning' (involving IC50 and 3D structures), leading to 'Selection of the Machine-Learning Models'. From there, it goes to 'Virtual Screening' (using ZINC database) and 'Selection of the Best Hits (Potential New Drugs Against COVID-19)'. Below the flowchart are three smaller images: a book cover 'TOP DOWNLOADED PAPER 2019-2019' by Walter Filgueira de Azevedo, Jr.; a book cover 'CHEMICAL BIOLOGY & DRUG DESIGN'; and a movie poster for 'ALIEN'. To the right of the main content, there are sections for 'Azevedolab' (Ciência, tecnologia e engenharia em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Sempre aberto), 'Comunidade' (97 pessoas curtiram isso, 97 pessoas estão seguindo isso), and 'Sobre' (Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS) (5,61 km), 90619-900 Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Como chegar, +55-53535555, azevedolab.net, Ciência, tecnologia e engenharia).

Waiting for static.xx.fbcdn.net...

Bunz F, Dutriaux A, Lengauer C, Waldman T, Zhou S, Brown JP, Sedivy JM, Kinzler KW, Vogelstein B. Requirement for p53 and p21 to sustain G2 arrest after DNA damage. *Science*. 1998; 282: 1497–1501.

Canduri F, de Azevedo Jr. WF. Structural Basis for Interaction of Inhibitors with Cyclin-Dependent Kinase 2. *Curr Comput Aided Drug Des*, 2005; 1(1): 53–64.

de Azevedo WF, Leclerc S, Meijer L, Havlicek L, Strnad M, Kim SH. Inhibition of cyclin-dependent kinases by purine analogues: crystal structure of human cdk2 complexed with roscovitine. *Eur J Biochem*. 1997; 243(1-2): 518–526.

de Azevedo Jr. WF. Opinion Paper: Targeting Multiple Cyclin-Dependent Kinases (CDKs): A New Strategy for Molecular Docking Studies. *Curr Drug Targets*. 2016;17(1):2.

Levin NM, Pinto VO, de Ávila MB, de Mattos BB, De Azevedo WF Jr. Understanding the Structural Basis for Inhibition of Cyclin-Dependent Kinases. New Pieces in the Molecular Puzzle. *Curr Drug Targets*. 2017; 18(9): 1104–1111.

Volkart PA, Bitencourt-Ferreira G, Souto AA, de Azevedo WF. Cyclin-Dependent Kinase 2 in Cellular Senescence and Cancer. A Structural and Functional Review. *Curr Drug Targets*. 2019; 20(7): 716–726.

Waldman T, Kinzler KW, Vogelstein B. p21 is necessary for the p53-mediated G1 arrest in human cancer cells. *Cancer Res*. 1995; 55: 5187–5190.