

Modelagem Comparativa e Dinâmica Molecular dos domínios transmembranares de VEGFR1, VEGFR2 e VEGFR3.

Fabrizio Bracht¹* (PG), **Lucas V. B. Hoelz** (PG), **Guilherme Barroso** (PG) e **Ricardo Bicca de Alencastro** (PQ). Pós Graduação em Química, IQ-UFRJ, Bloco A – CT - sala 609 - Ilha do Fundão, Rio de Janeiro, RJ, CEP 21949-909

¹ bracht@iq.ufrj.br

Palavras Chave: Dinâmica molecular, VEGF, simulação de membrana, modelagem comparativa.

Introdução

O mecanismo de angiogênese tumoral tem sido o foco principal de muitos trabalhos sobre câncer nas últimas décadas. Apesar de alguns estudos indicarem que a regulação do crescimento e a maturação de vasos novos seja extremamente complexa, existe o consenso de que um polipeptídeo homodímero, o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), seja o principal regulador da angiogênese. Entretanto, a função biológica dos membros da família de VEGFs, (VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D) e o fator de crescimento placentário (PlGF), é mediada principalmente, através da ligação destes com as regiões extracelulares de três proteínas tirosina quinase (VEGFR1, 2 e 3). [1, 2] A interação VEGF-VEGFR induz a dimerização do VEGFR, que causa a subsequente fosforilação do VEGFR. Os receptores de VEGF são formados por um componente extracelular contendo 7 domínios do tipo imunoglobulina, um segmento transmembranar, um segmento justamembranar, além de um domínio intracelular proteína tirosina quinase contendo uma inserção com cerca de 70 resíduos de aminoácidos e uma região carboxi-terminal.[3] Apesar dos VEGFRs terem alta similaridade nas sequências de aminoácidos, eles tem significativas diferenças de afinidade por VEGFs e proteínas quinases sem receptor. Estudos demonstram que para proteínas inseridas na membrana e com domínios intra e extra celulares, a transmissão de informação conformacional do meio extracelular para o meio intracelular através das membranas pode ser de natureza mecânica e sendo assim depende da capacidade conformacional das regiões transmembranares de transmitirem esta informação. Com isso, um estudo de dinâmica molecular da região transmembrânica dos receptores VEGF-1, -2 e -3 inseridos no modelo de membrana se destaca como objetivo principal deste trabalho.[4]

Resultados e Discussão

A modelagem comparativa é basicamente constituída por 4 etapas: a identificação e seleção de proteínas-molde, o alinhamento múltiplo de sequências de aminoácidos, a construção e validação dos modelos.[5] Para a construção das estruturas dos domínios transmembranares dos receptores VEGFR1, -2 e -3 foi utilizado o programa

Modeller 9v5. [6] A etapa de identificação de proteínas-moldes adequadas foi feita pelo servidor PHYRE de reconhecimento e analogia de estruturas de proteínas, [7,8]. A escolha recaiu sobre as alfa-hélices que tinham o maior grau de identidade em relação à estrutura problema: domínio transmembranar de Vpu de HIV-1 em bicéculas de fosfolipídios (código PDB: 2GOF, 27% i.d.), segmento transmembranar de integrina beta3 (código PDB: 2RMZ, 24% i.d.) para o receptor 2; complexo do citocromo b6f de *M. lamosus* (código PDB: 1VF5, 24% i.d.) e 2RMZ (23% i.d.) para o receptor 3. Por falta de um molde adequado, a modelagem comparativa do receptor 1 foi feita utilizando-se o modelo de receptor 2 (50% i.d.) como molde. O alinhamento entre as sequências primárias foi feito no servidor T-COFFEE e os modelos construídos utilizando o programa Modeller 9v5. [9] As estruturas obtidas foram minimizadas com o campo de força Optimized Potential for Liquid Simulations (OPLS), implementado para o pacote de dinâmica molecular GROMACS 4.0. [10,11] O algoritmo de minimização de energia utilizado foi o *steepest descent*. As estruturas foram validadas através do programa PROCHECK e ERRAT. [12,13]

Conclusões

A modelagem comparativa permitiu gerar modelos das estruturas transmembranares dos receptores VEGFR1, -2 e -3. Os mesmos serão utilizados posteriormente para o estudo do comportamento dinâmico destas estruturas em modelos de membrana celular.

Agradecimentos

CNPq, FAPERJ, CAPES.

¹ Ferrara, N., *Nat. Ver. Cancer*. **2002**, 2, 795.

² Carmeliet, P., *Nat.Med.* **2000**, 6, 389.

³ Roskoski, R., Jr., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2008**, 375, 287.

⁴ O'Toole, T.E., *Jour. Cell Biol.* **1994**, 124, 1047.

⁵ Santos Filho, O.A., e Alencastro, R.B., *Quim. Nova* **2003**, 26, 253.

⁶ Sali, A. e Blundell, T.L., *J. Mol. Biol.*, **1993**, 234, 779.

⁷ Bennett-Lovsey R.M. et al., *Prot.: Struc. Fun. Bioinform.* **2008**, 70, 3.

⁸ Notredame, C. et al, *J. Mol. Biol.* **2000**, 302, 205.

⁹ <http://tcoffee.vital-it.ch/cgi-bin/Tcoffee/tcoffee.cgi/index.cgi>

¹⁰ Jorgensen, W.L. et al., *Jour. Am. Chem. Soc.* **1996**, 45, 11225.

¹¹ Hess, B. et al, *J. Chem. Theory Comput.* **2008**, 4, 435.

¹² <http://www.biochem.ucl.ac.uk/~roman/procheck/procheck.html>

¹³ <http://nihserver.mbi.ucla.edu/ERRATv2/>