

Modelagem de Sistemas Biológicos

Novo fórum de discussão

A Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBq) decidiu, durante sua Reunião Anual realizada em 2010, a partir da sugestão do Prof. Guilherme Menegon Arantes, incluir a área de:

> Bioquímica e Biofísica Computacional

dentro das áreas temáticas para apresentação de trabalhos durante suas reuniões.

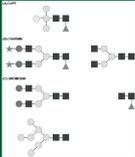
Contents

1. Quantum mechanical calculations on carbohydrates: What they can tell?
Christina Qi de Sá, André O. Moraes, Alan Y. Chocho, Valter J. de Oliveira, Claudio R. Siqueira
2. Techniques for force field parameterization
Ellen Bielecki, Elina Ribeiro, Rafael Soares, and Andre de Andrade
3. Hydration of carbohydrates
Eleonora B. Colonna and J. David Grayson
4. Molecular recognition: the characterization of glycoproteins conformation
Guercio P. de Faria and Hugo Verli
5. Three-dimensional structural elucidation of aspartate
Silvana C. B. Oliveira and César Guimarães

For orders and details:
www.reseg.com, www.tms.com, www.sigpubbooks.com
E-mail: ggcom@tms.com & admin@reseg.com

Strategies for the Determination of Carbohydrates Structure and Conformation

Editor:
Hugo Verli
Chief Editorial Consultant:
Jorge A. Guimarães
ISBN: 978-81-7895-490-5



TRANSWORLD RESEARCH NETWORK
www.tms.com
www.reseg.com, www.tms.com
Website: www.reseg.com, www.tms.com
Email: ggcom@tms.com & admin@reseg.com

BIOINFORMÁTICA ESTRUTURAL

Modelagem molecular de carboidratos: ferramenta para o entendimento de problemas biológicos

Hugo Verli

Grupo de Bioinformática Estrutural
Centro de Biotecnologia/Faculdade de Farmácia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

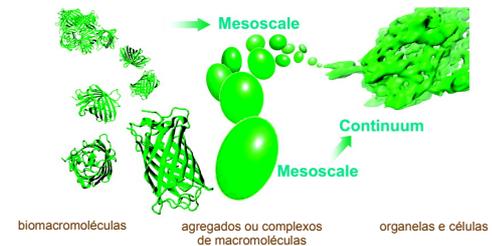
PPGBCM
CBiot/UFRGS



1. Modelagem de sistemas biológicos

1.1. Alvos moleculares

- Quem são os sistemas biológicos-alvos da modelagem molecular?



Tozzini, Acc. Chem. Res. 2010, 43, 220-230.

1. Modelagem de sistemas biológicos

1.1. Alvos moleculares

- Quem são os sistemas biológicos-alvos da modelagem molecular?

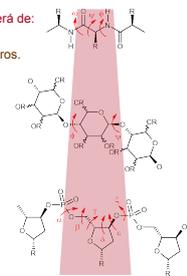
- > **Biomacromoléculas:**
 - ❖ Proteínas e seus moduladores;
 - ❖ Em geral pequenas moléculas, sintéticas ou naturais;
 - ❖ Ácidos nucleicos;
 - ❖ Membranas;
 - ❖ Carboidratos.
- > **Agregados moleculares:**
 - ❖ Complexos protéicos;
 - ❖ Proteínas inseridas em membranas;
 - ❖ Ácidos nucleicos complexados à proteínas.
- > Mas a grande maioria dos trabalhos computacionais (incluindo parametrização) é baseada em proteínas. Frequentemente inexistem parâmetros para outras biomoléculas nos campos de força mais comumente utilizados.
 - ❖ Porque?

1. Modelagem de sistemas biológicos

1.1. Alvos moleculares

- Considerando que, à exceção de membranas, as demais biomacromoléculas são polímeros:

- > **A variabilidade (e complexidade) estrutural dependerá de:**
 - ❖ Número de diferentes substituintes R;
 - ❖ Número de possíveis conexões entre monômeros.
- > **No caso de proteínas:**
 - ❖ 20 aminoácidos codificados no genoma;
 - ❖ Embora diversos outros existam.
- > **No caso de ácidos nucleicos:**
 - ❖ 4 bases nitrogenadas de DNA;
 - ❖ 4 bases nitrogenadas de RNA;
 - ❖ 3 são comuns, gerando um total de 5 grupos R.
- > **E para carboidratos?**



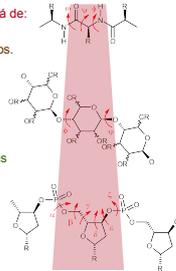
1. Modelagem de sistemas biológicos

1.2. O caso dos carboidratos

- Considerando que, à exceção de membranas, as demais biomacromoléculas são polímeros:

> A variabilidade (e complexidade) estrutural dependerá de:

- Número de diferentes substituintes R;
 - Número de possíveis conexões entre monômeros.
- > No caso de carboidratos:
- Número de possíveis monômeros (>100);
 - Múltiplas ligações possíveis;
 - Efeito anomérico (α , β).
 - Estes fatores ilustram as razões pelas quais tais biomoléculas são umas das menos estudadas por técnica computacionais.

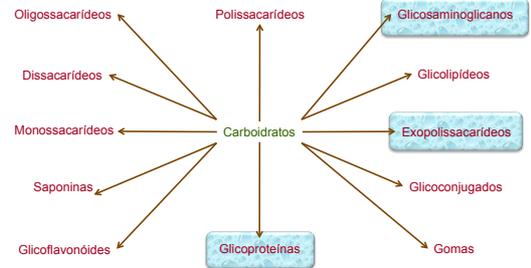


- Ah, mais uma coisa: qual tipo de carboidrato?

1. Modelagem de sistemas biológicos

1.2. O caso dos carboidratos

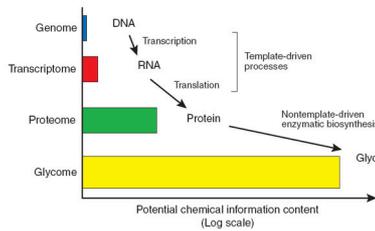
- Diferentes formas de carboidratos encontradas na natureza:



1. Modelagem de sistemas biológicos

1.2. O caso dos carboidratos

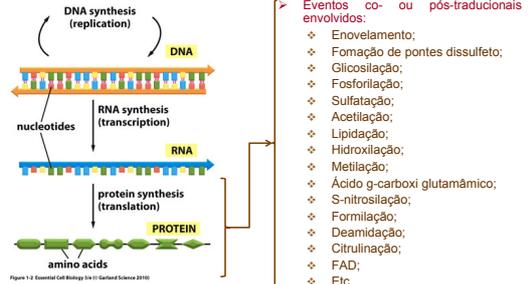
- Complexidade da informação associada a diferentes macromoléculas biológicas:



2. Modelagem de carboidratos

2.1. O caso das glicoproteínas

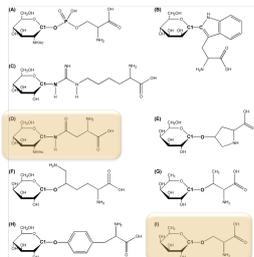
- Como entendemos a estrutura de proteínas:



2. Modelagem de carboidratos

2.1. O caso das glicoproteínas

- Diversos tipos de glicosilação identificados até o momento:
- Modificações co- e pós-traducionais...

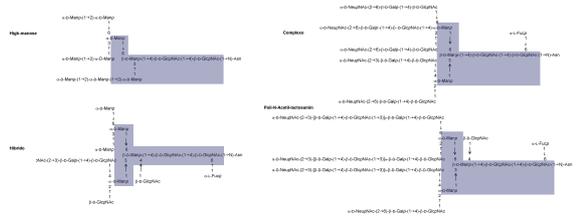


Pol-Fachin & Verli., Molecular modeling on the characterization of glycoproteins conformation, Em Strategies for the determination of carbohydrates structure and conformation, 2010.

2. Modelagem de carboidratos

2.1. O caso das glicoproteínas

- Tipos de N-glicosilação, no resíduo de Asn, conhecidos:
- N-glicosilação ocorre no Retículo Endoplasmático:
- Variações em estruturas centrais e externas não determinadas no gene.

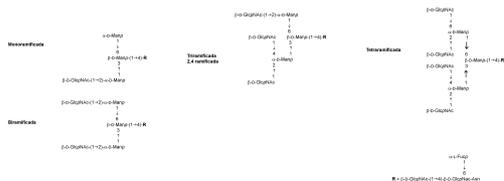


Dwek et al., Chem. Rev., 1996, 96, 863.

2. Modelagem de carboidratos

2.1. O caso das glicoproteínas

- Tipos de N-glicosilação, no resíduo de Asn, conhecidos:
 - N-glicosilação ocorre no Reticulo Endoplasmático:
 - Variações em estruturas centrais e externas não determinadas no gene.
 - Variações adicionais no tipo complexo.

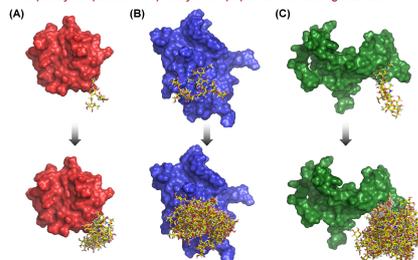


Dwek et al., *Chem. Rev.*, 1996, 96, 863.

2. Modelagem de carboidratos

2.1. O caso das glicoproteínas

- Aspectos conformacionais:
 - Implicações para a interpretação do papel funcional de glicanas...



Pol-Fachin & Verli., *Mini Rev. Org. Chem.*, in press.

2. Modelagem de carboidratos

2.2. Fontes de informação estrutural

- Limitação dos principais métodos no estudo de estruturas 3D de carboidratos:
 - Cristalografia de raios-X:
 - Efeitos de empacotamento cristalino, provocando distorções conformacionais, principalmente sobre a ligação glicosídica e anéis;
 - Assinalamento errado das isoformas α/β para um dado monossacarídeo;
 - Assinalamento errado dos monossacarídeos constituintes.
 - RMN:
 - Pequeno número de sinais de NOEs para caracterização conformacional;
 - Os dados obtidos são referentes a geometrias médias, que podem não ter significado físico real.
 - Modelagem molecular:
 - Adequação do campo de força empregado ao sistema em estudo;
 - Inclusão das variáveis e componentes moleculares relevantes ao processo em estudo;
 - Tamanho do espaço conformacional simulado.

2. Modelagem de carboidratos

2.3. Estratégia empregada

- Desafios imediatos incluem:
 - Parametrização de resíduos apresentando grupos exocíclicos diferente de hidroxila;
 - Parametrização de grupos exocíclicos hipervalentes (i.e. sulfato e fosfato);
 - Parametrização de diferentes conectividades monossacarídeo-aminoácidos;
 - Controle do efeito de grupos hipervalentes sobre a geometria e conformação de monossacarídeos;
 - Coordenação de metais.
- Como nosso grupo tem lidado com estes desafios?
 - Escolha de procedimentos rápidos e ágeis para a obtenção de parâmetros;
 - Parametrização de múltiplos resíduos:
 - Número de possíveis monômeros (>100)!

2. Modelagem de carboidratos

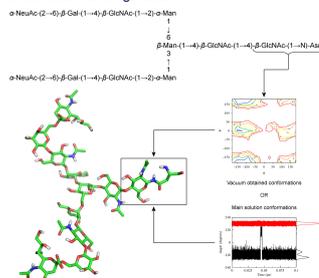
2.3. Estratégia empregada

- Procedimentos:
 - Minimização de mono- e dissacarídeos na base HF/3-21G;
 - Singlet point na base HF/6-31G**;
 - Obtenção de cargas de Löwdin;
 - Uso de topologias derivadas do servidor ProdrG, complementadas por diedros incluídos nos monossacarídeos descritos no campo de força GROMOS96 43a1;
 - Um conjunto de diedros impróprios adicionais se tornou necessário:
 - Controle da conformação das hexopiranoses;
 - Cadeiras;
 - Botes-torcidos.
 - Impedir a distorção dos anéis durante as simulações, principalmente em compostos sulfatados.
 - Parametrização de múltiplas conectividades:
 - Múltiplas ligações possíveis (1→2, 1→3, 1→4, 1→6, e etc.).

2. Modelagem de carboidratos

2.3. Estratégia empregada

- Estado conformacional de glicanas:

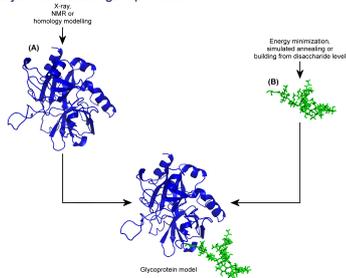


Pol-Fachin & Verli., *Mini-Rev. Org. Chem.*, in press.

2. Modelagem de carboidratos

2.3. Estratégia empregada

- Construção do modelo glicoprotéico:



Pol-Fachin & Verli, *Mini-Rev. Org. Chem.*, in press.

2. Modelagem de carboidratos

2.4. Conexões validadas até o momento

- NOESY:
 - β -Glc-(1 \rightarrow 4)-Glc
 - β -Glc-(1 \rightarrow 4)-^{6S}Tal
 - β -Gal-(1 \rightarrow 4)-Gal
 - α -Gal-(1 \rightarrow 3)-Gal
 - β -Glc-(1 \rightarrow 4)-GlcA
 - α -GlcA-(1 \rightarrow 3)-Man
 - α -Man-(1 \rightarrow 3)-Glc
 - α -Gal-(1 \rightarrow 2)-GlcA
 - α -Rha-(1 \rightarrow 2)-GlcA
 - α -Rha-(1 \rightarrow 3)-GlcA
 - α -Rha-(1 \rightarrow 4)-GlcA
 - β -Gal-(1 \rightarrow 2)-Rha
 - β -Gal-(1 \rightarrow 6)-Man
 - β -Gal2S-(1 \rightarrow 3)-Gal
 - β -Gal-(1 \rightarrow 3)-Gal2S
 - (15 dissacarídeos)
- Ângulos de diedro (ϕ e ψ):
 - α -IdoA2S-(1 \rightarrow 4)-GlcNS,6S (IdoA¹C₄)
 - α -IdoA2S-(1 \rightarrow 4)-GlcNS,6S (IdoA²S₃)
 - α -GlcNS,6S-(1 \rightarrow 4)-IdoA2S (IdoA¹C₄)
 - α -GlcNS,6S-(1 \rightarrow 4)-IdoA2S (IdoA²S₃)
 - α -Man-(1 \rightarrow 2)-Man
 - α -Man-(1 \rightarrow 3)-Man
 - α -Man-(1 \rightarrow 6)-Man
 - β -Man-(1 \rightarrow 4)-GlcNAc
 - β -Gal-(1 \rightarrow 4)-GlcNAc
 - β -GlcNAc-(1 \rightarrow 4)-GlcNAc
 - β -GlcNAc-(1 \rightarrow 2)-Man
 - α -Fuc-(1 \rightarrow 6)-GlcNAc
 - (12 dissacarídeos)

➢ Dentre um total de ~100 dissacarídeos

Pol-Fachin, Serrato & Verli, *Carbohydr. Res.* 2010, accepted; Padebos, Pol-Fachin & Verli, in preparation; Castro et al., *J. Biol. Chem.*, 2009, 284, 18790; Pol-Fachin & Verli, *Carbohydr. Res.*, 2008, 343, 1435; Fernandes et al., *Carbohydr. Res.* 2010, 345, 663.

3. Alguns exemplos de aplicações

3.1. Estudo de GAGs

- Sobre os dados experimentais para a geometria da heparina:

		IdoA(1 \rightarrow 4)-GlcNS		GlcNS(1 \rightarrow 4)-IdoA	
		ϕ	ψ	ϕ	ψ
Khan et al., 2010	Average from 05 crystal structures	-75 \pm 10	135 \pm 13	78 \pm 16	103 \pm 19
Khan et al., 2010	Average from 19 crystal structures	-79 \pm 20	132 \pm 19	84 \pm 22	100 \pm 19
Mulloy et al., 1993	NMR structure	-55	135	108	63
Pol-Fachin & Verli, 2008	Disaccharide MD (IdoA ¹ C ₄)	-113 \pm 28	98 \pm 31	77 \pm 14	90 \pm 11
Verli & Guimarães, 2004	Decasaccharide MD (IdoA ¹ C ₄)	-124 \pm 18	95 \pm 11	90 \pm 12	99 \pm 11
Pol-Fachin & Verli, 2008	Disaccharide MD (IdoA ² S ₃)	-84 \pm 39	114 \pm 32	94 \pm 20	144 \pm 17
Verli & Guimarães, 2004	Decasaccharide MD (IdoA ² S ₃)	-75 \pm 11	123 \pm 11	97 \pm 14	115 \pm 15
Khan et al., 2010	dp18	-55 \pm 25	138 \pm 21	105 \pm 26	90 \pm 32
Khan et al., 2010	dp24	-40 \pm 24	139 \pm 27	97 \pm 29	90 \pm 29
Khan et al., 2010	dp30	-55 \pm 26	139 \pm 26	108 \pm 23	73 \pm 20
Khan et al., 2010	dp36	-53 \pm 32	131 \pm 31	127 \pm 21	75 \pm 27

3. Alguns exemplos de aplicações

3.1. Estudo de GAGs

- Uso das cargas geradas por outros grupos:



Can current force fields reproduce ring puckering in 2-O-sulfo- α -L-iduronic acid? A molecular dynamics simulation study

Neha S. Gandhi¹, Ricardo L. Mancera^{2,3*}

¹Queens Health Innovation Research Institute, Western Australian Biomedical Research Institute, School of Biomedical Sciences, Curtin University of Technology, GPO Box U1987 Perth, Western Australia 6102, Australia;

²School of Pharmacy, Curtin University of Technology, GPO Box U1987 Perth, Western Australia 6102, Australia

Calculated proton NMR coupling constants (J_{ax} , Hz) for IdoA2S and calculated MD ensemble average

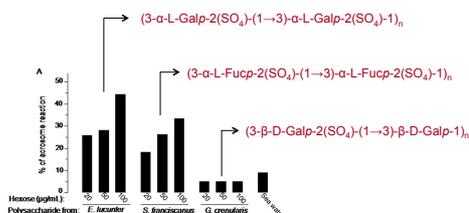
Experiment ¹	GROMOS96			GLYCAM06		
	J_{ax}	$^1J_{\text{C}_5}$	$^2J_{\text{C}_5}$	J_{ax}	$^1J_{\text{C}_5}$	$^2J_{\text{C}_5}$
$J_{1,2}$	1.76	3.29	1.75	6.75	1.835	1.16
$J_{1,3}$	3.34	4.08	2.23	7.87	1.785	1.20
$J_{1,4}$	3.44	3.69	2.16	5.53	3.231	3.19
$J_{1,5}$	2.22	1.84	1.23	2.66	1.373	0.86

J_{ax} is the average of the theoretical coupling constants on the entire ensemble.

3. Alguns exemplos de aplicações

3.2. GAGs de ouriço do mar

- Especificidade da reação acrossômica em *Echinometra lucunter* frente a diferentes polissacarídeos:

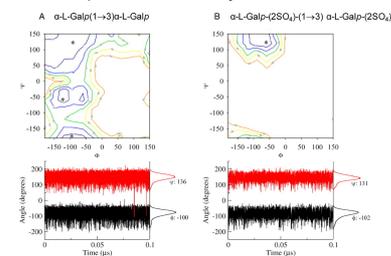


Castro et al., *J. Biol. Chem.*, 284, 2009, 18790.

3. Alguns exemplos de aplicações

3.2. GAGs de ouriço do mar

- Caracterização conformacional por RMN, sugerindo um estado conformacional predominante em solução:

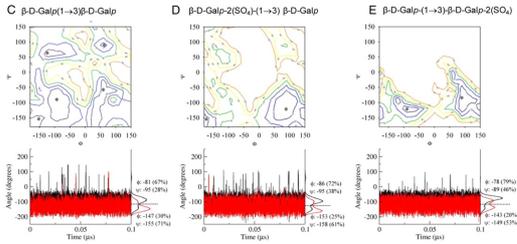


Castro et al., *J. Biol. Chem.*, 284, 2009, 18790.

3. Alguns exemplos de aplicações

3.2. GAGs de ouriço do mar

- Dados de RMN sugerem um comportamento conformacional dinâmico, com a ausência de uma conformação preponderante:

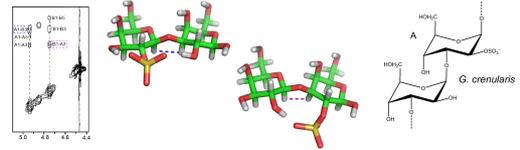


Castro et al., *J. Biol. Chem.*, 284, 2009, 18790.

3. Alguns exemplos de aplicações

3.2. GAGs de ouriço do mar

- Distâncias entre átomos de hidrogênio das ligações glicosídicas para a β -D-galactana de *Glyptocidaris crenularis*:
 - Polímero formado por unidades (3- β -D-Galp-2(OSO₃)-1 \rightarrow 3- β -D-Galp-1),
 - Emprego das geometrias mais abundantes em solução para a unidade mínima dissacarídica:

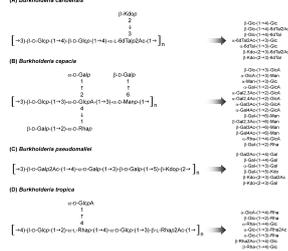


Castro et al., *J. Biol. Chem.*, 284, 2009, 18790.

3. Alguns exemplos de aplicações

3.3. EPSs do gênero Burkholderia

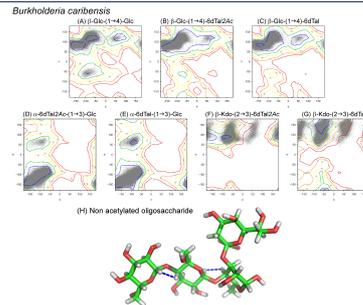
- Caracterização de exopolissacarídeos de diferentes espécies do gênero *Burkholderia*:



Poi-Fachin et al., *Carbohydr. Res.*, 2010, 345, 1922.

3. Alguns exemplos de aplicações

3.3. EPSs do gênero Burkholderia



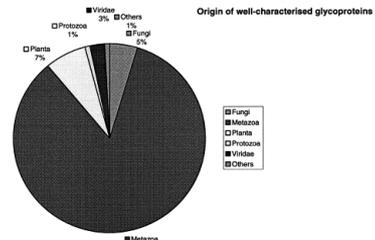
Poi-Fachin et al., *Carbohydr. Res.*, 2010, 345, 1922.

4. Considerações finais

- Dado o papel-chave de carboidratos em processos biológicos, há uma grande demanda por estudos estruturais destes compostos, em suas diferentes formas biológicas.
 - Neste contexto, a potencialidade de ferramentas computacionais merece destaque tendo em vista a dificuldade de técnicas experimentais tradicionais em lidar com esta família de biomoléculas.
- As demandas incluem, por exemplo:
 - Novos parâmetros;
 - Novos trabalhos com os parâmetros já disponíveis;
 - Novas abordagens para o problema.

4. Considerações finais

- Vale lembrar que:
 - Carboidratos são encontrados em diversas biomoléculas;
 - Mais da metade das proteínas na natureza devem ser glicosiladas.



Apweiler et al., *Biochem. Biophys. Acta*, 1437, 1999, 4-8.

5. Equipe

- Centro de Biotecnologia - UFRGS
 - > Prof. Jorge A. Guimarães
 - > Prof. Hugo Verli
 - ◇ Claudia L. Fernandes Dout.
 - ◇ Laércio Pol-Fachin Dout.
 - ◇ Guilherme M. Giesel Dout.
 - ◇ Giovana Bergamini Dout.
 - ◇ Gustavo Riboldi Dout.
 - ◇ Clóvis Woicickoski Mestr.
 - ◇ Juliana Ceolato Mestr.
 - ◇ Liana Sachett Mestr.
 - ◇ Carla Chiodi IC
 - ◇ Conrado Pedebos IC
 - ◇ Pedro Mentges IC
 - ◇ Pablo Arantes IC
 - > Profa. Célia Carlini
 - ◇ Rodrigo Braum Dout.
- HCPA – UFRGS
 - > Prof. Maria Luiza Saraiva Pereira
 - ◇ Marina Siebert Dout.
- Embrapa - Cenargen
 - > Dra. Fátima Grossi de Sá
 - ◇ Wagner Lucena Dout.
- HUCFF – UFRJ
 - > Prof. Paulo A. S. Mourão
- Depto. Bioquímica – UFPR
 - > Prof. Rodrigo V. Serrato
- Fomento:
 - > CNPq, CAPES, FAPERGS