



Grupo de
**Bioinformática
Estrutural**
Centro de Biotecnologia / UFRGS

Como e porquê modelar carboidratos

Hugo Verli

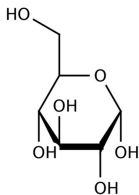
Grupo de Bioinformática Estrutural
Programa de Pós-Graduação em
Biologia Celular e Molecular
Centro de Biotecnologia, UFRGS

www.ufrgs.br/bioinfo

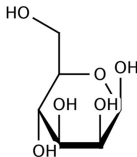
26 de Agosto de 2016

1. O que são carboidratos

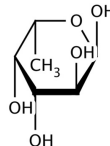
- ▶ Mono, oligo e polissacarídeos¹;
- ▶ Polihidroxilados, lineares ou cíclicos;
- ▶ São mais comuns hexoses e pentoses.



α -D-glucose



α -D-mannose

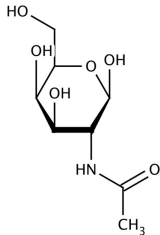


α -D-fucose

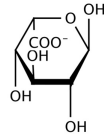
Exemplos de hexoses comuns biologicamente.

1. O que são carboidratos

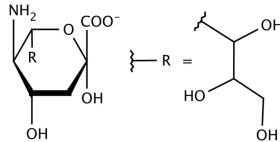
- ▶ Papel energético e estrutural...
- ▶ ... e em sinalização!



α -D-N-acetilgalactosamina



α -L-iduronato



ácido α -L-neuramínico

Exemplos de hexoses com papéis em sinalização.

1. O que são carboidratos

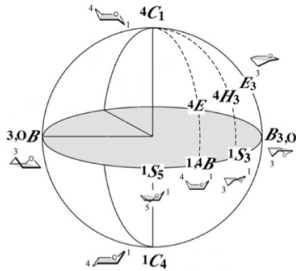
- ▶ Mais sacarídeos que aminoácidos:

- ▶ 20 aminoácidos no genoma
- ▶ >100 monossacarídeos na natureza

- ▶ Diversos tipos de ligação entre carboidratos:

- ▶ α -D-(1 \rightarrow 2) ou α -L-(1 \rightarrow 2) ou β -D-(1 \rightarrow 2) ou β -L-(1 \rightarrow 2)
- ▶ α -D-(1 \rightarrow 3) ou α -L-(1 \rightarrow 3) ou β -D-(1 \rightarrow 3) ou β -L-(1 \rightarrow 3)
- ▶ α -D-(1 \rightarrow 4) ou α -L-(1 \rightarrow 4) ou β -D-(1 \rightarrow 4) ou β -L-(1 \rightarrow 4)

1. O que são carboidratos



Diferentes estados conformacionais adotados por hexopiranosos.



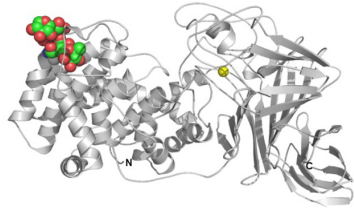
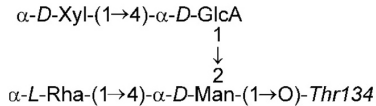
1. O que são carboidratos

- ▶ Podem ser encontrados em formas conjugadas:

- ▶ Saponinas
- ▶ Glicolipídeos
- ▶ Ácidos nucleicos
- ▶ Glicoproteínas

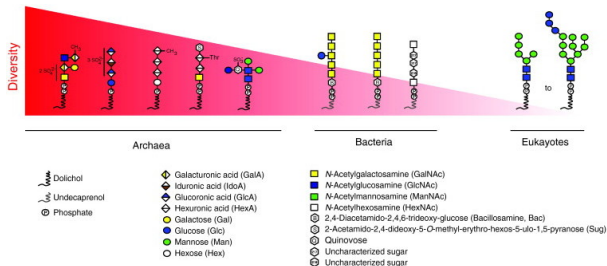
2. Glicoproteínas

- ▶ Glicoproteínas:
 - ▶ Adição co- ou pós-traducional de carboidratos à proteínas.



Heparinase II de *Pedobacter heparinus*².

2. Glicoproteínas

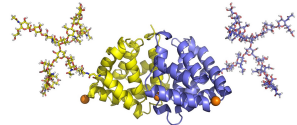
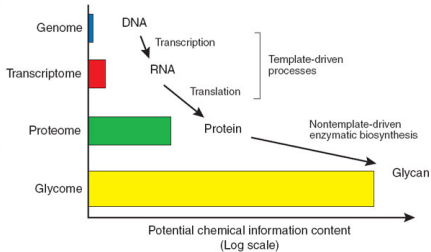


Current Opinion in Structural Biology

- ▶ Estima-se que são glicosiladas³:
 - ▶ ~50% das proteínas na natureza
 - ▶ ~2/3 das proteínas humanas

2. Glicoproteínas

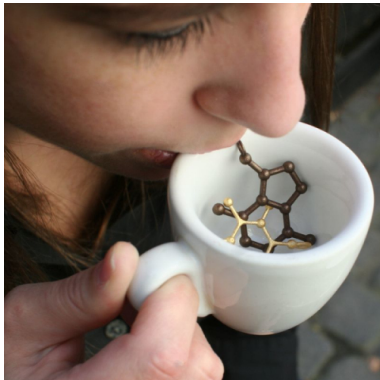
- Informação química associada a biomoléculas⁴:



5

2. Glicoproteínas

► Função *versus* estrutura:

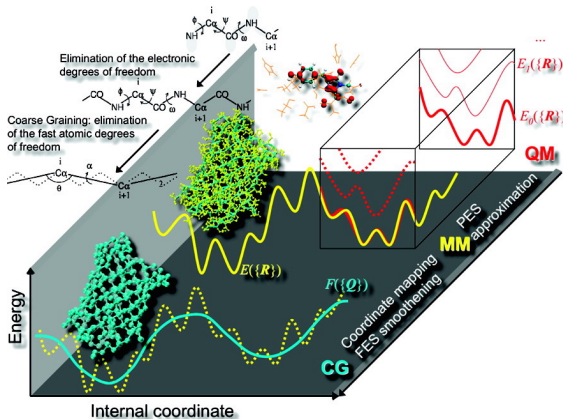


► Modelamento:

- Evolutivo (1D)
- Espacial (3D)
- Temporal (4D)

3. Modelagem de glicoproteínas

- Diferentes métodos computacionais podem ser usados para descrever moléculas em nível atômico⁶:

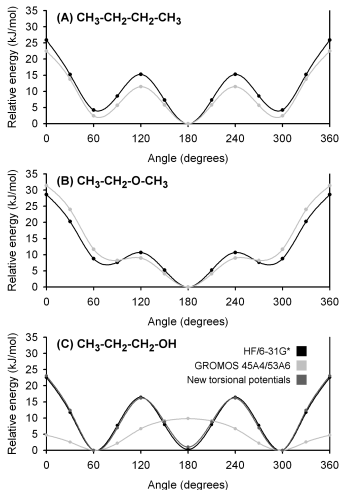


3. Modelagem de glicoproteínas

- ▶ Glicoproteínas são usualmente modeladas por mecânica molecular.

- ▶ Parametrizações específicas tornam-se necessárias para carboidratos e para sua ligação à aminoácidos:
 - ▶ Funções químicas específicas;
 - ▶ Características conformacionais únicas;
 - ▶ Variedade de unidades monoméricas;
 - ▶ Falta de dados experimentais.
- ▶ AMBER GLYCAM, CHARMM e GROMOS.

3. Modelagem de glicoproteínas



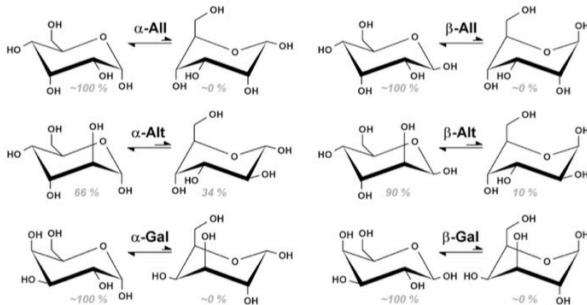
► GROMOS GLYC⁷:

- 16 hexopiranoses;
- 53A6 e 54A7.

Ajuste de termos torcionais.

3. Modelagem de glicoproteínas

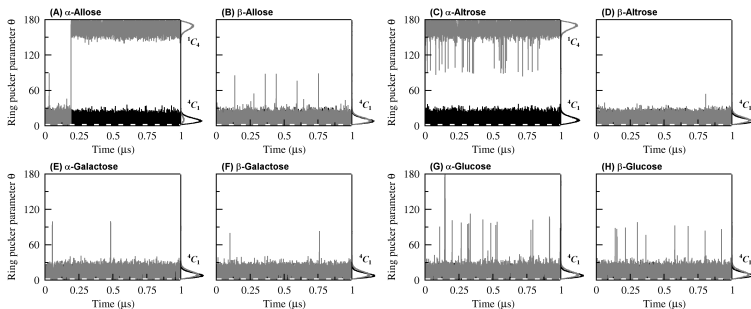
- Equilíbrio pseudo-rotacional⁸:



Equilíbrio 4C_1 e 1C_4 para hexopiranoses.

3. Modelagem de glicoproteínas

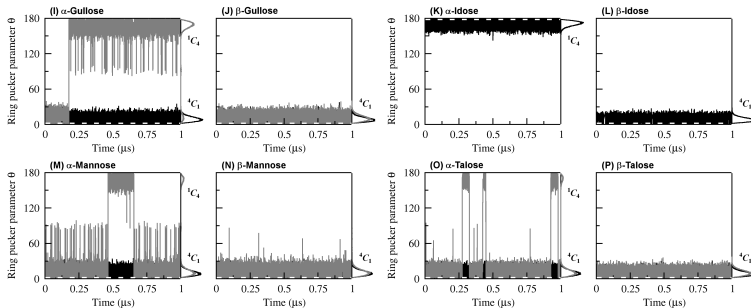
► Equilíbrio pseudo-rotacional⁹:



Equilíbrio 1C_4 e 4C_1 para GROMOS 53A6GLYC e GLYCAM06.
Pol-Fachin, L. et al. *J. Chem. Theory Comput.* **2012**, 8, 4681–4690

3. Modelagem de glicoproteínas

- Equilíbrio pseudo-rotacional¹⁰:

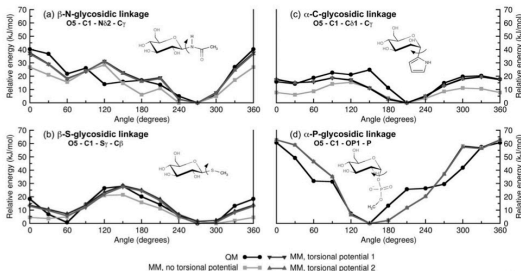


Equilíbrio 1C_4 e 4C_1 para GROMOS 53A6GLYC e GLYCAM06.

¹⁰ Pol-Fachin, L. et al. *J. Chem. Theory Comput.* **2012**, *8*, 4681–4690

3. Modelagem de glicoproteínas

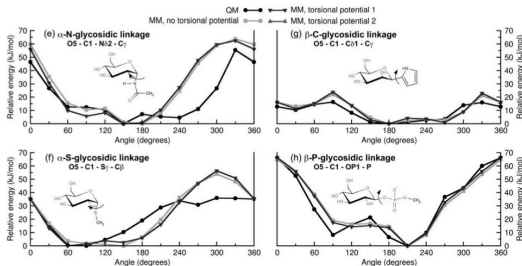
- ▶ Mas para glicoproteínas¹¹...
 - ▶ Parametrização das conexões carboidrato-aminoácido;
 - ▶ Ligações N-, O-, P-, S- e C-glicosídicas.



Ajuste de termos torcionais.

3. Modelagem de glicoproteínas

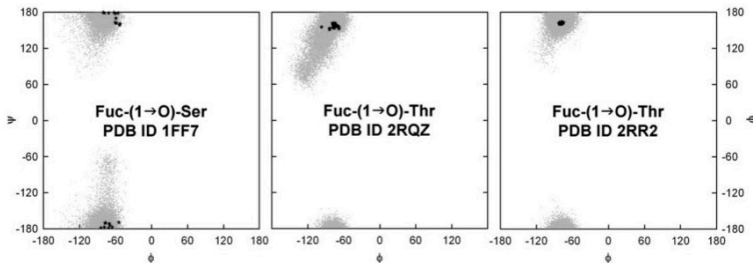
- ▶ Mas para glicoproteínas¹²...
 - ▶ Parametrização das conexões carboidrato-aminoácido;
 - ▶ Ligações N-, O-, P-, S- e C-glicosídicas.



Ajuste de termos torcionais.

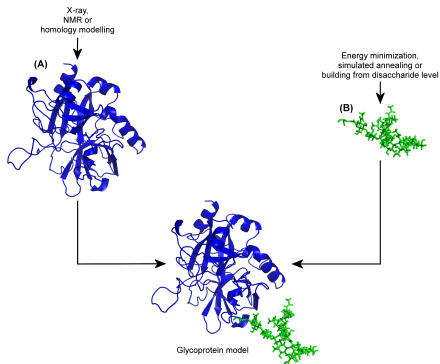
3. Modelagem de glicoproteínas

- Validação frente a dados de RMN¹³:



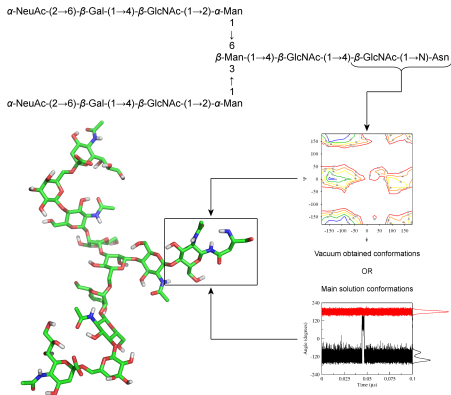
Conformação acessada por RMN (preto) e DM (cinza).

3. Modelagem de glicoproteínas



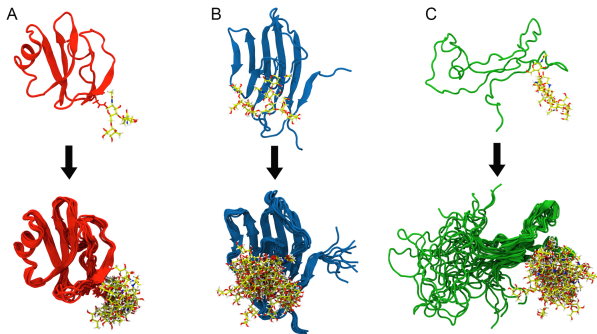
► Modelos de glicoproteínas¹⁴:

3. Modelagem de glicoproteínas



- ▶ Modelos de glicoproteínas¹⁵;
- ▶ Conformações majoritárias;
- ▶ Metadinâmica.

3. Modelagem de glicoproteínas



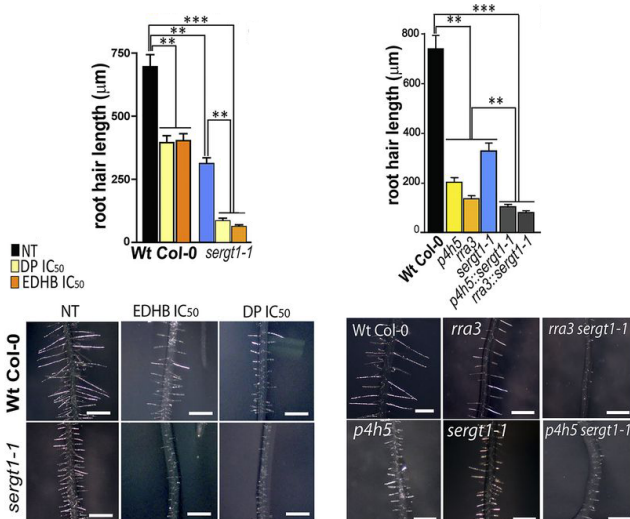
- Uma conformação *versus* múltiplas conformações (experimentais!)¹⁶

4. Alguns exemplos de aplicação

- ▶ Micelização de saponinas, adjuvantes vacinais¹⁷:



4. Alguns exemplos de aplicação

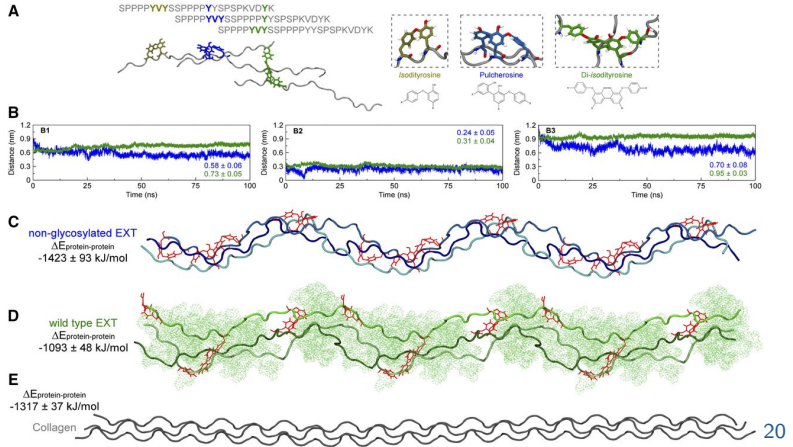


1819

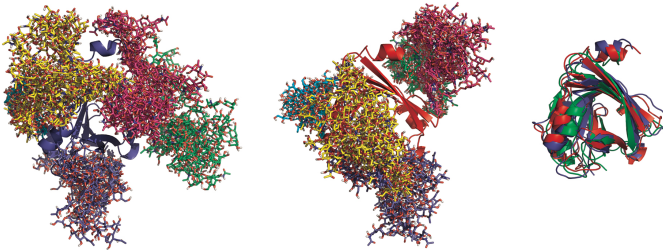
Velasquez, S. M. et al. *Science* (80-.). **2011**, 332, 1401–1403

Velasquez, S. M. et al. *Plant Physiol.* **2015**, 168, 808–13

4. Alguns exemplos de aplicação

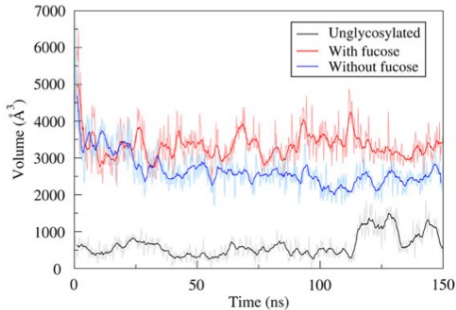


4. Alguns exemplos de aplicação



- Impacto da glicosilação na etapa farmacocinética da ação de fármacos²¹.

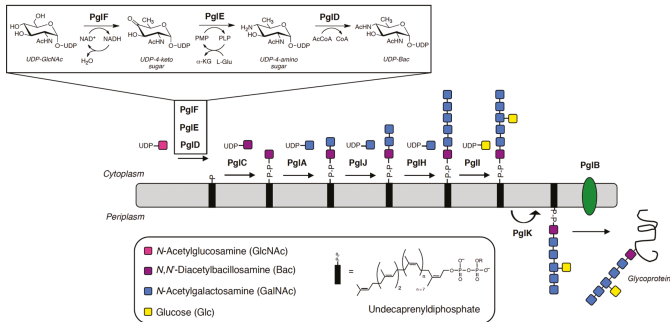
4. Alguns exemplos de aplicação



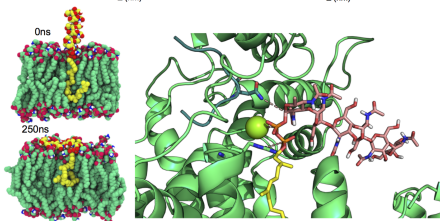
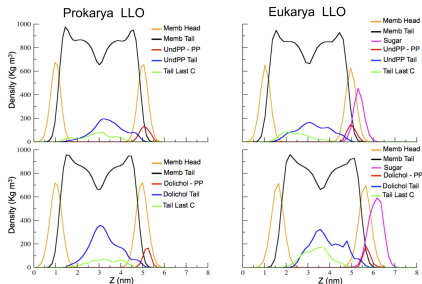
- Impacto da glicosilação na etapa farmacocinética da ação de fármacos²².

5. E usando o Santos Dumond

- Mecanismo de N-glicosilação em *Campilobacter jejuni*²³:

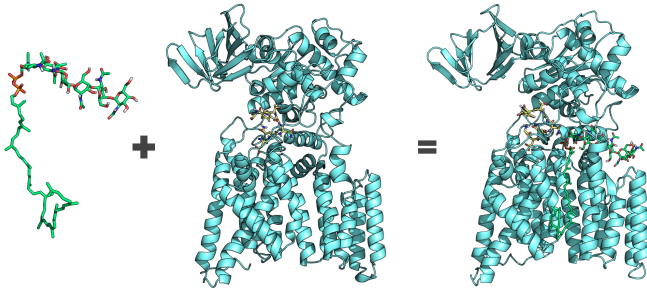


5. E usando o Santos Dumond



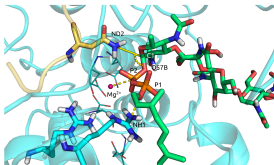
- Parametrização do glicolípídeo precursor:

5. E usando o Santos Dumond



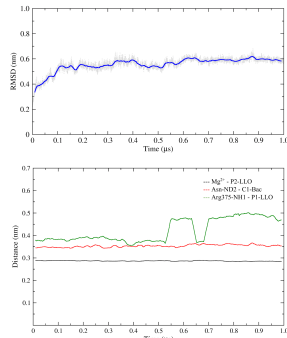
- Atracamento do glicolípídeo precursor na PgIB.

5. E usando o Santos Dumond



Atoms	MD Distance ^a	MD Angle
Mg ²⁺ - P2-LLO	2.86 Å ± 0.01 Å (< 6 Å)	-
Asn-ND2 - C1-Bac	3.53 Å ± 0.2 Å (< 4 Å)	-
Arg375-NH1 - P1-LLO	4.0 Å ± 0.3 Å (< 6 Å)	-
Asn-ND2 - C1-Bac - O57B-LLO	-	109.1° ± 8.6° (< 90°)

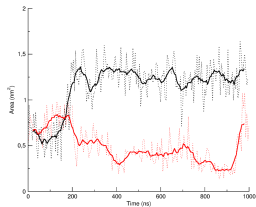
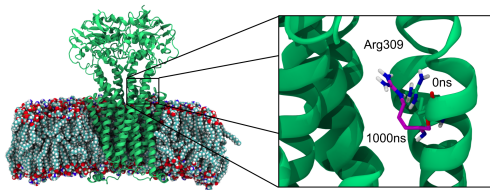
^aValues in parenthesis represent the expected values for the sn2 catalysis reaction.



- Estabilidade do complexo glicolípídeo-PglB após 1 μ s.

5. E usando o Santos Dumond

- Transposição do glicolípido através da membrana, pela enzima PgIK:



6. Agradecimentos

▶ Estudandes:

- ▶ MSc. Conrado Pedebos (doutorado, PPGBCM)
- ▶ MSc. Pablo Arantes (doutorado, PPGBCM)

▶ Colaboradores:

- ▶ Dra. Claudia Fernandes (pós-doc, PPGBCM)
- ▶ Dr. Rodrigo Ligabue Braun (pós-doc, PPGBCM)
- ▶ Dr. Laércio Pol Fachin (pós-doc, UFPE)
- ▶ Dr. Jose Estevez (UBA-Conicet, Argentina)
- ▶ Dr. Roberto Lins (Fiocruz, PE)

PPGBCM
CBiot/UFRGS



Grupo de
**Bioinformática
Estrutural**
Centro de Biotecnologia / UFRGS



CESUP
Centro Nacional de Supercomputação



