

DETERMINAÇÃO DA ESTRUTURA DE PROTEÍNAS USANDO RESTRIÇÕES DERIVADAS DE LIGAÇÃO CRUZADA EM ESPECTROMETRIA DE MASSAS: Comparação De Metodologias Computacionais

Matheus M. dos Santos*, Leandro Martínez.

Resumo

Sistemas biológicos trabalham como máquinas complexas e altamente coordenadas e, desde o surgimento da Biologia Estrutural, muitos mecanismos e estruturas biológicas foram elucidados devido a aplicação de métodos experimentais associados a metodologias computacionais que permitem compreender a dinâmica estrutural destes sistemas. Metodologias computacionais de modelagem molecular, que utilizam as distâncias experimentais como restrições para a determinação estrutural das macromoléculas, o método de determinação inferencial de estruturas (ISD, do inglês *Inferential Structure Determination*) tem se destacado como um método de alta resolução para determinação de estruturas terciárias e quaternárias de proteínas a partir de dados experimentais de espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) e de massas empregando ligações cruzadas (XL-MS). No presente trabalho foi possível observar que a alta resolução obtida provém da combinação de técnicas computacionais que empregam inferência bayesiana, obtendo parâmetros e modelos de maior precisão, e também de *simulated annealing*, obtendo maiores espaços conformacionais, e por fim gerando estruturas de alta precisão.

Palavras-chave:

Proteínas; modelagem molecular; determinação estrutural.

Introdução

Proteínas desempenham diversas funções e apresentam estruturas complexas que influenciam diretamente suas funcionalidades¹. A aplicação de métodos computacionais integrados a dados experimentais, vêm permitindo elucidar a estrutura de muito sistemas proteicos com resolução atômica^{1,2}.

Uma metodologia utilizada na determinação de estruturas de proteínas é a Determinação Inferencial de Estrutura (ISD, do inglês *Inferential Structure Determination*), que trata a determinação estrutural como um problema de inferência bayesiana³, apresentando altas resolução e qualidade de estruturas. Deste modo, o presente trabalho visou compreender as técnicas empregadas por tal metodologia computacional e suas aplicações.

Resultados e Discussão

Os estudos da metodologia de Determinação Inferencial de Estrutura (ISD) utilizaram programa ARIA⁴ que ao tratar a determinação estrutural como um problema de inferência bayesiana^{4,5}, calibra e obtém restrições de distância e, então, calculando a estrutura, empregando uma técnica de *simulated annealing* (SA), por meio de uma extensão do Crystallography & NMR System^{5,6,7}, de modo automatizado e iterativo. A combinação de tais técnicas na metodologia de ISD gera uma poderosa ferramenta de modelagem capaz de obter estruturas proteicas e espaços conformacionais de alta resolução e qualidade.

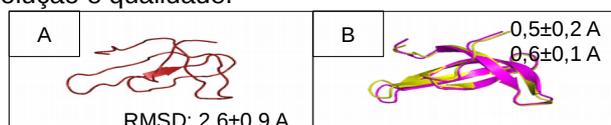


Figura 1: Estrutura genérica do domínio tudor gerada pelo ARIA em diferentes iterações: A) iteração 0; B) alinhamento iteração 8 (em amarelo) e estrutura refinada (em magenta), em solvente explícito.

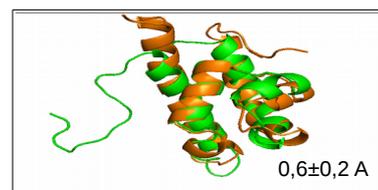


Figura 2: Alinhamento da estrutura do domínio HRDC da proteína da síndrome de Werner cristalográfica (em laranja) e determinada a partir da metodologia de ISD (em verde).

Conclusão

A metodologia de Determinação Inferencial de Estrutura (ISD) desenvolvida para elucidação de estruturas proteicas se mostra uma ferramenta poderosa de alta resolução, principalmente pela combinação do tratamento bayesiano do problema estrutural e do cálculo por meio de *simulated annealing*, que permite a análise de espaços conformacionais, obtenção de melhores taxas de convergência e eficiência computacional.

Agradecimentos

Esse trabalho foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Agradecemos a todos os membros do *Matínez Molecular Modeling Group (M³G)*, pelas discussões produtivas.

¹LODISH, H. *Molecular Cell Biology*. 7th ed., W. H. Freeman, 2012. ²SALI, A.; GLAESER, R.; EARNEST, T.; BAUMEISTER, W. From words to literature in structural proteomics. *Nature* 422, p.216-225, 2003. ³RIEPING, Wolfgang; HABECK, Michael; NILGES, Michael. *Inferential Structure Determination*. *Science* 309, 303-306, 2005. ⁴RIEPING, W.; HABECK M.; BARDIAUX, B.; BERNARD, A.; MALLIAVIN, T.E.; NILGES, M. (2007) ARIA2: automated NOE assignment and data integration in NMR structure calculation *Bioinformatics* 23:381-382. ⁵NILGES, Michael; O'DONOGHUE, Seán I. Ambiguous NOEs and automated NOE assignment. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* 32, p.107-139, 1998. ⁶A.T. Brunger, P.D. Adams, G.M. Clore, P.Gros, R.W. Grosse-Kunstleve, J.-S. Jiang, J. Kuszewski, N. Nilges, N.S. Pannu, R.J. Read, L.M. Rice, T. Simonson, G.L. Warren, *Crystallography & NMR System (CNS)*, A new software suite for macromolecular structure determination, *Acta Cryst.D*54, 905-921(1998). ⁷A.T. Brunger, Version 1.2 of the Crystallography and NMR System, *Nature Protocols* 2, 2728-2733 (2007).