

## COORDENAÇÃO DE INVESTIGAÇÃO CIENTÍFICA

### PROJETO DE INVESTIGAÇÃO CIENTÍFICA

Estudo de mutações sítio dirigidas e seleção de candidatos a fármacos por meio de simulação computacional

### COORDENADOR

Prof..Dr. Ronaldo Correia

### OBJETIVO

Utilizar ferramentas de bioinformática para simular mutações sítio dirigidas usando modelagem por homologia e dinâmica molecular de L-Asparaginases de ciano bactérias obtidas do Laboratório de Tecnologia Biomolecular/UFPA.

### RESUMO

Desde 1953, as asparaginases (L-asparagina amidohidrolase E.C. 3.5.1.1, L-ASNase) são conhecidas por sua atividade anticancerígena (KIDD *et al.*, 1953). Assim, uma vez injetadas na corrente sanguínea, as L-ASNases reduzem a quantidade de asparagina no corpo, impedindo que as células tumorais absorvam esse aminoácido, levando a uma inibição na síntese de DNA e RNA, com conseqüente deterioração da função celular e morte da célula. Os microrganismos, em especial as bactérias gram-negativas, constituem fontes eficientes e baratas de obtenção de L-ASNases. Grande parte das preparações de asparaginases para uso terapêutico é produzida por *Escherichia coli*. A exceção é o medicamento de nome comercial Erwinase® (Speywood). A proposta pode ser uma importante estratégia para a otimização de L-asparaginases e, em conjunção com as tecnologias de predição estrutural *in silico*, pode racionalizar o desenho de novos fármacos. As formulações de L-ASNases comercialmente apresentam, no entanto, elevadas taxas de reações de hipersensibilidade como urticária, edema, febre, erupções na pele e mais raramente choques anafiláticos fatais. Esse cenário demonstra a importância dos estudos de mutações no sítio catalítico no planejamento de fármacos. Desta forma, surgiu a seguinte questão problemática: Será possível otimizar a atividade asparaginase dessas enzimas? Esta proposta está baseada, inicialmente, na análise de linhagens cianobacterianas. As cianobactérias fazem parte do banco de linhagens do Laboratório de Tecnologia Biomolecular/UFPA, as quais foram isoladas a partir de amostras de água do Lago Bolonha, um dos reservatórios de água que abastecem a região metropolitana de Belém, e do reservatório da UHE Tucuruí no Estado do Pará.

**PALAVRAS-CHAVE:** Asparaginases; Predição estrutural *in silico*; Linhagens cianobacterianas.

### REFERÊNCIAS

KIDD, J.G. (1953) Regression of transplanted lymphomas induced in vivo by means of normal guinea pig serum—course of transplanted cancers of various kinds in mice and rats given guinea pig serum or rabbit serum. **J Exp Med**, v. 98, p. 565–582.

MÜLLER, H. J.;BOOS J. (1998) Use of l-asparaginase in childhood ALL. **Crit Ver Oncol Hemat**,v. 28, p. 97–113.

ALTSCHUL, S. F. et al. Basic local alignment search tool. **J. Mol. Biol.**, v. 215, p. 403–410, 1990.

BAS, D. C.; ROGERS, D.M.; JENSEN, J.H. Very fast prediction and rationalization of pKa values for protein–ligand complexes, **Proteins** 73 (2008) 765-783.

BRENNER, S. E.; CHOTHIA, C.; HUBBARD, T. J. Assessing sequence comparison methods with reliable structurally identified distant evolutionary relationships. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 95, p. 6073–6078, 1998.

CHEN, V. B. et al., MolProbity: all-atom structure validation for macromolecular crystallography, **Acta Crystallogr D** 66 (2010) 12-21.

CHEN, Y.; POHLHAUS, D. T. In silico docking and scoring of fragments, **Drug Discov. Today Technologies**. 2010;7:149-156.

ENGH, R. A.; HUBER, R. Accurate bond and angle parameters for X-ray protein structure refinement. **Acta Cryst.**, v. 47, p. 392-400, 1991.

FINN, R. D. The Pfam protein families database. **Nucleic Acids Research**, v. 38, p. 211-222, 2010.

GOUET, P. et al. ESPript: analysis of multiple sequence alignments in PostScript, **Bioinformatics** 15 (1999) 305-308.

LASKOWSKI, R. A. et al. PROCHECK: A program to check the stereo chemical quality of protein structures. **J. Appl. Cryst.**, v. 26, p. 283-291, 1993.

LEACH, A. R. **Molecular modelling: principles and applications**. 2001;2<sup>a</sup> ed Pearson Education Limited, Edinburgh Gate, 744.

MARTI-RENOM, M. A. et al. Comparative protein structure modeling of genes and genomes. **Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.**, v. 29, p. 291-325, 2000.

MELO, F. et al. ANOLEA: a www server to assess protein structures. **Proc. Int. Conf. Intell. Syst. Mol. Biol.**, v. 5, p. 187-190, 1997.

MELO, F.; FEYTMANS, E. Assessing proteins structures with a non-local atomic interaction energy. **J. Mol. Biol.**, v. 277, p. 1141-1152, 1998.

MORGON, N. H.; COUTINHO, K. **Métodos de Química Teórica e Modelagem Molecular**. 2007;São Paulo, Editora Livraria da Física, 539p.

MORRIS, G. M.; WILBY, L. M. Molecular docking. 2008; In: Andreas Kukol. Methods in Molecular Biology, Molecular Modeling of Proteins. **Human Press**, Totowa, 443, 365-378.

PEARSON, W. R. Rapid and sensitive sequence comparison with FASTP and FASTA. **Methods Enzymol.**, v. 183, p. 63-98, 1990.

RICHARD, H. B.; PEIHUANG, L. A Limited-Memory Algorithm For Bound-Constrained Optimization, **SIAM J. Sci. Comput.** 16 (1995) 1190-1208.

SALI, A.; BLUNDELL, T. L. Comparative protein modeling by satisfaction of spatial restraints. **J. Mol. Biol.**, v. 234, p. 779-815, 1993.

THOMSEN, R.; CHRISTENSEN, M. H. MolDock: A new technique for high-accuracy molecular docking. **J. Med. Chem.** 2006;49:3315-3321.