

COORDENAÇÃO DE INVESTIGAÇÃO CIENTÍFICA

PROJETO DE INVESTIGAÇÃO CIENTÍFICA

Estudo das mutações do gene CYP21A2 associadas à hiperplasia adrenal congênita através de cálculos de energia livre *in silico*.

COORDENADOR

Prof. Dr. Nelson Alberto Nascimento de Alencar

COLABORADORES

Prof. Dr. Tarcísio André Amorim de Carvalho

Prof. Dr. Adonis de Melo Lima

Prof. Dr. Ronaldo Correia da Silva

OBJETIVO

Montar modelos moleculares das enzimas mutadas dos sequenciamentos do gene CYP21A2, e utilizar ferramentas de bioinformática para simular as energias de ativação encontradas em cada modelo, a fim de planejar possíveis candidatos a fármacos contra a Hiperplasia Adrenal Congênita (HAC).

RESUMO

A deficiência da enzima 21-hidroxilase (21OH) é responsável por cerca de 95% dos casos de HAC. Bacheega e colaboradores (2004) demonstraram que o gene que codifica a enzima 21OH, CYP21A2, está localizado no braço curto do cromossomo 6, juntamente com o seu pseudogene altamente homólogo CYP21A1P. A alta homologia entre esses genes favorece o emparelhamento desigual durante a meiose e eventos de conversão gênica, transferência de sequências deletérias do pseudogene para o gene ativo ou mutações de ponto. Quimicamente uma mutação sozinha que não esteja presente no sítio ativo de proteínas, em geral não apresenta grande significância em estudos de estatísticos. Uma opção para aperfeiçoamento é buscar um conjunto de mutações que se repetem em pacientes para verificar se alterando simultaneamente essas mutações pode ocorrer alteração significativa na energia livre da enzima. A bioinformática é um campo emergente, no qual lida com a aplicação de *softwares* e servidores dedicados a coletar, organizar, analisar, manipular e apresentar dados biológicos. No projeto anterior (2016), foram analisados todos os resíduos desta enzima, a fim de selecionar os melhores resíduos com mutações consideráveis através da determinação molecular utilizando métodos de dinâmica molecular e Alanine Scan. No projeto atual o desafio é encontrar o modelo já mutado que apresente melhor interação com o substrato da enzima em questão, tendo como

finalidade principal o planejamento de moléculas que tenham a visão farmacológica contra a HAC.

PALAVRAS-CHAVE: HAC; Enzima 21-hidroxilase (21OH); Gene CYP21A2; Bioinformática.

REFERÊNCIAS

ALENCAR, N. A., SOUZA, P. R., SILVA J. R., LAMEIRA, J. S. *ET AL* (2012). Computational analysis of Human OGA structure in complex with PUGNAc and NAG-thiazoline derivatives. *Journal of Chemical Information and Modeling*. September 3.

ARCHONTIS JMH AND G (2012) MM-GB(PB)SA Calculations of Protein-Ligand Binding Free Energies. doi: 10.5772/37107.

BACHEGA, TÂNIA A.S.S. Estudo multicêntrico de pacientes brasileiros com deficiência da 21-hidroxilase: correlação do genótipo com o fenótipo. *Arq Bras Endocrinol Metab* [online]. **2004**, 48(5), pp. 697-704.

BACHEGA, TÂNIA A.S.S. Tratamento da hiperplasia supra-renal congênita por deficiência da 21-hidroxilase. *Arq Bras Endocrinol Metab* [online]. **2001**, vol.45, n.1, pp. 64-72.

BROOKS, B. R.; BRUCCOLERI, R. E.; OLAFSON, B. D.; STATES, D. J.; SWAMINATHAN, S.; KARPLUS, M. CHARMM: A program for macromolecular energy, minimization, and dynamics calculations". *J Comp Chem* 4: 187–217, 1983.

CORNELL, W. D., P. CIEPLAK, C. I. BAYLY, I. R. GOULD, K. M. MERZ, D. M. FERGUSON, D. C. SPELLMEYER, T. FOX, J. W. CALDWELL, P. A. KOLLMAN "A Second Generation Force Field for the Simulation of Proteins, Nucleic Acids, and Organic Molecules." *Journal of the American Chemical Society*. **1995**, 117(19): 5179-5197.

CRAMER, C. "Wiley: Essentials of Computational Chemistry: Theories and Models, 2nd Edition - Christopher J. Cramer." 618 p. **2004**.

CUI, Q., T. SULEA, J. D. SCHRAG, C. MUNGER, M.-N. HUNG, M. NAÏM, M. CYGLER, E. O. PURISIMA "Molecular Dynamics—Solvated Interaction Energy Studies of Protein–Protein Interactions: The MP1–p14 Scaffolding Complex." *J Mol Biol*. **2008**, 379(4): 787-802.

GAUGUIN L, DELAINE C, ALVINO CL, MCNEIL KA, WALLACE JC, FORBES BE, DE MEYTS P. "Alanine scanning of a putative receptor binding surface of insulin-like growth factor-I". *J. Biol. Chem*. **2008**, 283 (30): 20821–9.

GRUBER, A. et al. (Ed.). **Bioinf. in Tropical Dis. Res.: A Practical and Case-Study Approach**. Bethesda: National Center for Biotechnology Information, **2008**.

HARTMANN, M. "Molecular mechanics. Von ULRICH BURKERT und NORMAN L. ALLINGER. ACS Monograph 177. Washington: American Chemical Society 1982. 430 S., US \$ 77.95." *Acta Polymerica*, **1984**, 35(7): 528-528.

HOWLADER MT, KAGAWA Y, MIYAKAWA A, YAMAMOTO A, TANIGUCHI T, HAYAKAWA T, SAKAI H. "Alanine scanning analyses of the three major loops in domain II of *Bacillus thuringiensis* mosquitoicidal toxin Cry4Aa". *Appl. Environ. Microbiol.* **2010**, 76 (3): 860–5.

JORGENSEN, W. L., D. S. MAXWELL, J. TIRADO-RIVES "Development and Testing of the OPLS All-Atom Force Field on Conformational Energetics and Properties of Organic Liquids." *Journal of the American Chemical Society.* **1996**, 118(45): 11225-11236.

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

MORRISON KL, WEISS GA. "Combinatorial alanine-scanning". *Curr Opin Chem Biol* 5, **2001**, (3): 302–7.

NORBERG, J., NILSSON L. Advances in biomolecular simulations: methodology and recent applications. *Q Rev Biophys.* **2003**, 36(3):257-306.

POOL, R.; ESNAYRA, J. (Ed.). **Bioinformatics: Converting Data to Knowledge**. Washington: National Academies Press, **2000**.

SIMONSEN SM, SANDO L, ROSENGREN KJ, WANG CK, COLGRAVE ML, DALY NL, CRAIK DJ. "Alanine scanning mutagenesis of the prototypic cyclotide reveals a cluster of residues essential for bioactivity". *J. Biol. Chem.* **2008**, 283 (15): 9805–13.

SULEA, T., E. O. PURISIMA "The solvated interaction energy method for scoring binding affinities." *Methods Mol Biol.* **2012**, 819: 295-303.

VAN GUNSTEREN, W. F., S. R. BILLETER, A. A. EISING, P. H. HÜNENBERGER, P. KRÜGER, A. E. MARK, W. R. P. SCOTT, I. G. TIRONI *Biomolecular Simulation: The {GROMOS96} manual and userguide*, Hochschulverlag AG an der ETH Zürich. **1996**.

VIEIRA, A. Hiperplasia congênita da suprarenal de expressão tardia por deficiência de 21-hidroxilase Revisão da Literatura e Estudo Genético Preconcepção de Cinco Casais. *Acta Med Port* **2011**; 24: 099-110.

WANG, W., O. DONINI, C. M. REYES, P. A. KOLLMAN "Biomolecular simulations: recent developments in force fields, simulations of enzyme catalysis, protein-ligand, protein-protein, and protein-nucleic acid noncovalent interactions." *Annu Rev Biophys Biomol Struct* **2001**; 30: 211-243.

WEISS GA, WATANABE CK, ZHONG A, GODDARD A, SIDHU SS. "Rapid mapping of protein functional epitopes by combinatorial alanine scanning". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2000**, 97 (16): 8950–4.