



## Dinâmica molecular de anticorpos IgG e IgA na neutralização do SARS-CoV-2

\*Micael Davi Lima de Oliveira<sup>1</sup> (IC), Kelson Mota Teixeira de Oliveira<sup>1</sup> (PQ), Jonathas Nunes da Silva<sup>1</sup> (PQ), Isabelle Bezerra Cordeiro<sup>3</sup> (PQ), Rosiane de Freitas<sup>2</sup> (PQ)

\* [micaeloliveira@ufam.edu.br](mailto:micaeloliveira@ufam.edu.br)

<sup>1</sup>Laboratório de Química Teórica e Computacional, Universidade Federal do Amazonas, 69077-000, Manaus, AM, Brasil.

<sup>2</sup>Laboratório de Otimização, Algoritmos e Complexidade. Instituto de Computação, Universidade Federal do Amazonas, 69077-000, Manaus, AM, Brasil.

<sup>3</sup>Departamento de Ciências Fisiológicas, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, 69077-000, Manaus, AM, Brasil.

*Palavras Chave: SARS-CoV-2, anticorpo IgA, dinâmica molecular.*

### Introdução

Os anticorpos são proteínas produzidas por células de defesa do nosso organismo e são capazes de reconhecer uma ampla variedade de estruturas antigênicas. Essas moléculas de anticorpos podem ser divididas em classes e subclasses. Também são classificadas em isotipos, com funções efetoras distintas. Dentre os diferentes isotipos estudados, abordamos nesse trabalho os anticorpos IgA e IgG, anticorpos de importância biológica no contexto da COVID-19. Entre os anticorpos mais importantes temos o tipo IgA que prevalece na resposta inicial do corpo humano à infecção por SARS-CoV-2, em comparação com as concentrações de IgG e IgM<sup>1</sup>. Uma recente pesquisa descobriu que a forma monomérica do anticorpo IgA apresentou menor neutralização em comparação aos anticorpos IgG<sup>2</sup>. Contudo, ainda não se sabe exatamente como ocorre em nível molecular essa interação entre IgA e a proteína Spike (do vírus). Dessa maneira, estudos de dinâmica molecular se apresentam como alternativas promissoras em compreender esse nível de interação, uma vez que as regiões de interação desse anticorpo com o antígeno permanecem desconhecidas.

### Material e Métodos

A dinâmica molecular é como um microscópio computacional e por isso é tão imprescindível para a compreensão da interação anticorpo-antígeno. Desta forma, utilizamos o algoritmo Desmond<sup>3</sup> implementado no software Schrodinger Maestro 2021-2 de modo que foram simulados 100 ns para o monômero do anticorpo IgA (PDB ID: 1OW0)<sup>4</sup>, IgG (PDB ID: 7BZ5)<sup>5</sup>, dímero IgA (PDB ID: 6UE7) e IgM (PDB ID: 2AGJ). O ensemble do sistema (veja Figura 1) foi NPT a 300,0 K e 1 atm de modo que o tempo de integração foi de 2 fs com o campo de força OPLS4 descrita pelo modelo TIP3P para água.

No intuito de maximizar a interação anticorpo-antígeno, utilizamos o método de Monte Carlo para testar as inúmeras combinações possíveis de mutações no

antígeno. Desta forma, utilizamos o software Schrodinger Maestro 2021-2 com o módulo "Residue Scanning"<sup>6</sup> e funcionalidade "Affinity Maturation" com 200 iterações.

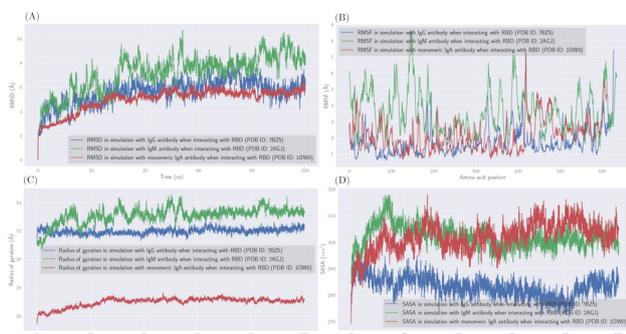
### Resultados e Discussão

Quando a estabilidade estrutural foi quantificada (veja Tabela 1 e Figura 1), apenas os resultados de RMSD e Raio de Giro corroboram a hipótese de maior estabilidade do monômero IgA em comparação com IgG. Enquanto os valores de RMSF e SASA negam essa hipótese. Essas análises são importantes porque buscamos entender as diferentes seletividade entre os tipos IgG e IgA na interação com Spike. Além disso, a forma dimérica do anticorpo IgA apresentou flutuações expressivas o que pode indicar o aumento de afinidade para neutralização do antígeno.

Mediante o auxílio do módulo "Protein Interaction Analysis" do software Schrodinger Maestro 2021-2, pudemos quantificar um total de 9 (nove) ligações de hidrogênio formadas no complexo anticorpo-antígeno com o tipo IgA (monômero) correspondente ao último quadro da dinâmica molecular. Por outro lado, para o tipo IgG, um total de 14 (quatorze) ligações de hidrogênio foram formadas. Isso é, portanto, uma indicação de maior seletividade e interação com o antígeno pelo tipo IgG. Por outro lado, na forma dimérica do anticorpo IgA formaram-se 20 (vinte) ligações de hidrogênio.

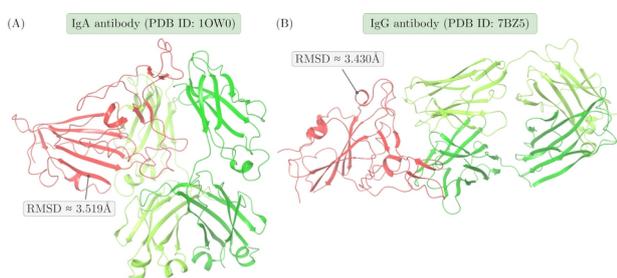
**Tabela 1.** Resultados das simulações de dinâmica molecular em 100 ns no software Desmond entre o complexo RBD e 2 (dois) anticorpos neutralizantes do SARS-CoV-2.

Anticorpo	RMSD	RMSF	SASA	Raio de giro
IgG B38	5,605Å	1,690Å	283,18nm <sup>2</sup>	31,976Å
IgA1 (monomer)	4,972Å	2,105Å	301,97nm <sup>2</sup>	26,991Å
IgA (dimer)	31,697Å	6,706Å	546,09nm <sup>2</sup>	43,890Å
IgM	7,152Å	3,585Å	301,93nm <sup>2</sup>	33,086Å



**Figura 1.** (A) Comparação dos valores de RMSD contra o complexo entre RBD e anticorpos IgA1 (monômero), IgG e IgM. (B) Comparação de flutuações RMSF. (C) Comparação dos valores SASA. (D) Comparação do raio de giro.

Podemos notar que o valor RMSD de alinhamento (veja Figura 2) para o anticorpo IgG foi menor do que para o monômero IgA, indicando maior estabilidade estrutural no complexo anticorpo-antígeno.



**Figura 2.** Visualização do último quadro da dinâmica molecular em 100 ns do anticorpo IgA e IgG neutralizando a região RBD da proteína Spike. Além disso, é apresentado o RMSD do alinhamento estrutural entre o último frame em relação ao primeiro.

A partir da análise de docking molecular (veja Tabela 2), o anticorpo IgG (monômero) apresentou maior afinidade em 2 (duas) ferramentas, HDock e PatchDock, e o tipo IgA foi maior apenas na ferramenta ClusPro. Isso é uma indicação de que o tipo IgG tem maior potencial neutralizante.

**Tabela 2.** Docking molecular para o último quadro das simulações de dinâmica molecular em 100 ns do complexo antígeno-anticorpo.

Anticorpo	HDock	PatchDock	ClusPro
IgG B38	-386	12616	-861,4
IgA1 (monomer)	-313,35	11218	-928,7
IgA (dimer)	-587,44	13598	-1458,9
IgM	-244,94	12512	-768,2

A otimização Monte Carlo é mais adequada para analisar um grande número de mutações. Isso ocorre porque a dinâmica molecular tem um custo computacional muito alto e, portanto, não é viável para ser usada para varredura de mutações em grande escala. Desta forma, descobrimos um conjunto de mutações que poderiam maximizar a interação dos anticorpos neutralizantes com a região RBD (veja Tabela 3). Assim, ao fazer as modificações corretas no antígeno, podemos melhorar a eficácia das vacinas atuais, por exemplo.

Embora a afinidade maximizada e o valor de estabilidade sejam ideais para aumentar a neutralização de anticorpos,

as proteínas inevitavelmente tendem a buscar valores de estabilidade marginais. No entanto, não sabemos exatamente os valores marginais para os anticorpos estudados, e a única informação que temos é o valor entre -10 kcal/mol que é relatado na literatura como estabilidade marginal ótima. Recomendamos que, para melhorar a interação dos anticorpos com o antígeno, possamos adotar o valor de afinidade maximizado.

**Tabela 3.** Análise de estabilidade para as principais combinações de mutações entre a região RBD da proteína Spike e o anticorpo IgG B38 (PDB ID: 7BZ5).

Categoria	Mutações	Afinidade	Estabilidade
Estabilidade maximizada	A352M, T470I, S477F	-8,992	-23,607
Afinidade maximizada	A352M, S477F	-9,155	-22,271
Estabilidade marginal	N343F, K444H, P527A	-0,087	-9,979
Estabilidade marginal	A352Y, T470I	-2,993	-9,486
Estabilidade marginal	N360I, P527V	-0,010	-9,471
Estabilidade minimizada	N360S, K458G, P527M	6,757	0,578
Afinidade minimizada	N360Y, K458G, P527R	6,759	-5,928

## Conclusões

Após a dinâmica molecular em 100 ns dos anticorpos neutralizantes IgG e IgA, descobrimos que a forma monomérica do anticorpo IgA apresentou menor estabilidade e afinidade com a Spike em comparação ao tipo IgG. Por fim, estamos prosseguindo nas simulações com a forma dimérica do IgA para entendermos as diferenças quanto ao potencial de neutralização.

## Agradecimentos

Agradecemos sinceramente a todas as pessoas que se uniram para enfrentar este difícil período da COVID-19. Gostaríamos de agradecer ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de IC com número 128869/2021-6. Este estudo foi parcialmente financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Código Financeiro 001.

<sup>1</sup> D. Sterlin et al., "IgA dominates the early neutralizing antibody response to SARS-CoV-2," *Sci. Transl. Med.*, vol. 13, no. 577, Jan. 2021, doi: 10.1126/scitranslmed.abd2223.

<sup>2</sup> Z. Wang et al., "Enhanced SARS-CoV-2 neutralization by dimeric IgA," *Sci. Transl. Med.*, vol. 13, no. 577, Jan. 2021, doi: 10.1126/scitranslmed.abf1555.

<sup>3</sup> K. J. Bowers et al., "Molecular dynamics - Scalable algorithms for molecular dynamics simulations on commodity clusters," *ACM/IEEE conference*, 2006. doi: 10.1145/1188455.1188544.

<sup>4</sup> A. B. Herr et al., "Insights into IgA-mediated immune responses from the crystal structures of human FcαRI and its complex with IgA1-Fc," *Nature*, vol. 423, no. 6940, pp. 614–620, May 2003, doi: 10.1038/nature01685.

<sup>5</sup> Y. Wu et al., "A noncompeting pair of human neutralizing antibodies block COVID-19 virus binding to its receptor ACE2," *Science*, vol. 368, no. 6496, pp. 1274–1278, May 2020, doi: 10.1126/science.abc2241.

<sup>6</sup> H. Beard et al., "Applying Physics-Based Scoring to Calculate Free Energies of Binding for Single Amino Acid Mutations in Protein-Protein Complexes," *PLoS ONE*, vol. 8, no. 12, Dec. 2013, doi: 10.1371/journal.pone.0082849.