ANÁLISE *IN SILICO* DA PROTEÍNA MICROVIRINA DE *MICROCYSTIS AERUGINOSA* DE PROPRIEDADE ANTI-HIV

­

Ellen Kamila Miranda Gonçalves\*, Graduanda em biomedicina, Faculdade Integrada Brasil-Amazônia – FIBRA;

Marina Luiza Saraiva Möller, Graduanda em farmácia, Faculdade Integrada Brasil-Amazônia – FIBRA;

Adonis de Melo Lima, Doutor em biotecnologia, professor da Faculdade Integrada Brasil-Amazônia – FIBRA.

\*Email: kams.gon98@gmail.com

**Introdução:** o vírus da imunodeficiência humana (HIV) é pertencente à família *Retroviridae* e ao gênero lentivirus. A sua partícula viral possui um envelope lipídico no qual estão contidas diversas glicoproteínas, bem como a gp120 e gp41, que axiliam no processo de fusão viral em relação aos receptores de membrana da célula alvo (linfócito CD4). O receptor C-C receptor quimiocina tipo 5 (CCR5) da célula CD4, promove uma mudança conformacional na proteína gp41 iniciando a sequência do processo de fusão. Uma ótima estratégia para inibir a fusão viral é o uso fármacos a base de lectinas. a A cianovirina (CVN) e a microvirina (MVN), ambas lectinas, são produzidas por várias espécies de cianobactérias que possuem ampla distribuição e são de vida livre. CVN e MVN, mantém sua ligação á carboidratos do envelope viral, estabelecendo sua atividade microbicida através da interação com a manose da glicoproteína gp120 localizada na superfície do vírus. Estudos demonstram que a CVN compartilha identidade de 33% em nível de aminoácidos com a MVN. No entanto, observou-se que a MVN apresenta 50 vezes menos atividade citotóxica, e é um excelente inibidor de para HIV. A MVN é uma proteína de massa molecular de 14,3 kDa, possuindo 108 resíduos que mostram uma alta especificidade para as estruturas de elevado teor de manose terminais. Por isto, abordagens computacionais são importantes para obtenção de propriedades especificas desta molécula que pode influenciar na fusão HIV-CD4. **Objetivos:** realizar predição da estrutura tridimensional da MVN através de método de modelagem comparativa; validar o alvo 3D gerado quanto à qualidade estereoquímica e energia livre; realizar análises de atracamento molecular do alvo com o seu ligante; refinar o modelo gerado através de simulação de dinâmica molecular; reanalizar o atracamento molecular após a simulação de dinâmica molecular; gerar os gráficos de RMSD para o sistema obtido; calcular a energia livre dos sistemas pelos métodos de MM-PBSA e MM-GBSA após as simulações de dinâmica molecular. **Metodologia:** a sequência nucleotídica da MVN de *Microcystis aeruginosa*, utilizada neste trabalho foi obtida através do método de sequenciamento de nova geração (plataforma 454 FLX da Roche), o programa Bioedit 7.2.5 foi usado para traduzir a sequencia nucleotídica e BLAST para avaliar o nível de identidade e similaridade entre a sequência alvo e o molde (PDB ID 2YHH). A partir da proteína molde o alvo foi construído utilizando o programa Modeller 9.16. O alinhamento global entre a sequencia de aminoácidos da proteína molde e proteína alvo foi realizado pelo ClustalW2. Foram construídos 100 modelos obtidos através do DOPE (*Discrete Optimized Protein Energy*), e para validação estereoquímica do alvo foi utilizado o servidor MolProbity 4.2 gerando o gráfico de Ramachandran. Para o estudo do atracamento molecular (*molecular docking*) entre a MVN e a manose observou-se os contatos intermoleculares, para isso foi utilizado o software Molegro Virtual Docker (MVD). O processo de adição, otimização e minimização de hidrogênio em pH 7 foi executado no servidor H++. Após as etapas anteriormente descritas, utilizou-se o programa Amber16 para realização do refinamento do alvo através dinâmica molecular. A varredura de alanina foi realizada pelo servidor web *Alanine Binding-Site scan* (ABS scan) para determinar a importância dos resíduos da proteína em relação ao processo de interação com o seu ligante. O método *Molecular Mechanic / Poisson-Boltzmann Surface Area* (MM-PBSA) calculou a energia livre do complexo proteína-ligante (MVN e manose). Por fim, as análises de RMSD (do inglês, *Root Mean Square Deviation*) foram feitas usando o plugin RMSD *Trajectory Tool* do programa VMD para avaliar o comportamento estrutural das proteínas ao longo das simulações durante toda trajetória. **Resultados e discussões**: o alinhamento realizado pelo Clustaw entre as sequências 2YHH e MVN mostrou 95% de identidade, e também apresentou os cincos aminoácidos que não são conservados entre a sequencia do 2YHH e MVN, a alteração residual mais relevante ocorreu na posição Ser89Pro onde houve uma mudança de um resíduo polar para um resíduo apolar. O gráfico de Ramachandran resultou uma porcentagem de cada resíduo de aminoácido distribuído através da relação dos ângulos Ф e Ψ, sendo eles, 97% dos resíduos localizaram-se em regiões mais favoráveis do, 2% em regiões permitidas e apenas 1% em regiões não permitidas. O MVD foi usado para predição de atracamento, onde foram ranqueadas as cinco melhores conformações, sendo a de melhor pontuação de -114,29 no MolDock, -80,59 no Re-Rank e Hbond -19,89 (valores obtidos antes do processo de refinamento por dinâmica molecular). Na simulação da dinâmica molecular foi realizado 100ns sem restrição de posição. Os valores de RMSD mostraram estabilidade do complexo MVNe manose ao longo da trajetória de 100ns. A simulação de atracamento do ligante manose na estrutura da MVN apresentou resultados melhores de atracamento, sendo eles, -130,52 no MolDock, -97,09 no Re-Rank e Hbond -20,45. A MVN, foi submetido a simulação por dinâmica molecular durante 100ns. A plotagem do RMSD da simulação de dinâmica molecular mostra uma variação estrutural com valores mostrados estão abaixo de 2,5Å, confirmando uma constância conformacional para a região de interação proteica com a manose. A energia total menssurada para MM-GBSA se apresentou compatível em relação ao PDB 2YHH assim como os valores de MM-PBSA. **Conclusão:** nesse trabalho apresentamos uma estrutura tridimensional a partir da utilização de métodos computacionais, visando o estudo da interação da proteína obtida de *Microcystis aeruginosa* com a manose. O estudo permitiu elucidar interações intermoleculares cruciais para o atracamento molecular dos elementos envolvidos (MVN e manose), que apresentou a partir de estudos de energia valores favoráveis quando comparados molde PDB 2YHH. A proteína foi construída com base nas informações coletadas através das simulações computacionais. As características estruturais observadas na dinâmica, tais como as pontes de hidrogêni, interações hidrofóbicas e baixos valores de RMSD mostrando apontando estabilidade. A inserção da alanina como forma de testar a influência energética se mostrou apropriada, dada sua baixa interferência com o sistema. A associação dessa abordagem junto as simulações de DM, atracamento molecular e cálculo de energia livre por MM-PBSA e MM-GBSA se mostraram satisfatórios neste trabalho e têm sido aprimorados e isso nos permitiu propor uma proteína uma estrutura de boa estabilidade.

Palavras-chave: Modelagem comparativa. Dinâmica molecular. Microvirina.