

MODELAGEM MOLECULAR DO RECEPTOR DE DOPAMINA D4

MATHAUS KRÜGER¹; ROBSON DA SILVA OLIBONI²

¹Grupo de catálise e estudos teóricos, Universidade Federal de Pelotas –
krugermathaus@gmail.com

²Grupo de catálise e estudos teóricos, Universidade Federal de Pelotas – rooliboni@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Os receptores de dopamina fazem parte de um grande grupo denominado receptores acoplados a proteínas G (GPCR) e são caracterizados como proteínas transmembrana que atravessam a membrana celular 7 vezes com alfa-hélices, conectadas por alças extra e intracelulares, e interagindo com proteínas G para a transdução de sinal. Eles são divididos em dois tipos devido a características estruturais e farmacológicas entre os tipos D1 (D1 e D5) e D2 (D2, D3 e D4), sendo os primeiros excitatórios e os segundos inibitórios, se referindo ao tipo de proteína G com a qual interagem, que excitará ou inibirá a acetilcolina (BEAULIEU, 2011).

As vias dopaminérgicas estão relacionadas a muitos processos importantes no organismo como movimento voluntário, alimentação, afeto, recompensa, sono, atenção, memória de trabalho e aprendizado, fazendo com que os receptores sejam frequentemente associados à etiologia de diversos transtornos e doenças como Parkinson, esquizofrenia, transtorno do déficit de atenção e hiperatividade (TDAH), sendo mais associado a este último o Receptor D4, principalmente o polimorfismo de 7 repetições (MICHEALRAJ, 2014). De acordo com o dogma central da Biologia Molecular, a sequência de aminoácidos de uma proteína determina sua estrutura que, por consequência, determina sua função. Uma das formas de se compreender a função de uma proteína a partir de sua estrutura é através de ferramentas computacionais que simulam sistemas moleculares.

Porém, para que estas análises possam ser feitas, é necessário que exista uma estrutura resolvida depositada em um banco de dados, como o *Protein Data Bank* (PDB). No caso do receptor D4 de 4 repetições, esta estrutura está depositada sob o código 5WIU (WANG, 2017), o que possibilita uma análise do receptor comum, mas não a variante associada ao TDAH. Sendo assim, o objetivo deste trabalho é a modelagem do receptor D4 de 7 repetições, para que possam ser feitas análises comparativas em relação ao receptor de 4 repetições, buscando mecanismos que possam explicar sua relação com o TDAH.

2. METODOLOGIA

Para a modelagem do receptor D4 foi utilizada a estrutura 5WIU (WANG, 2017) disponível no PDB. A estrutura possuía átomos e resíduos faltantes que precisavam ser reparados. Para a adição de átomos foi utilizado o Software Chimera (PETTERSEN, 2004), através da função *Structure Edit - Rotamer*, substituindo resíduos com átomos faltantes por resíduos completos com posição de rotâmero estatisticamente esperada.

Para adição dos resíduos faltantes foi utilizado o software Modeller (WEBB, 2016), que adiciona os resíduos através de modelagem por homologia, baseando-se na sequência de aminoácidos, gerando 5 estruturas resultantes.

A minimização de energia da estrutura, em busca de mínimos locais, foi feita com o software Gromacs (BERENDSEN, 1995).



A validação das estruturas foi feita utilizando duas ferramentas online de avaliação de propriedades estéricas de proteínas: Procheck, na qual foram utilizados os resultados do gráfico de Ramachandran (LAKOWSKI, 1993), avaliando a relação entre os ângulos torcionais Phi e Psi e a ferramenta Errat (COLOVOS, 1993), que avalia a estatística das interações não covalentes.

As validações foram efetuadas antes e após a minimização de energia utilizando o Gromacs.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O gráfico de Ramachandran separa os resultados em ângulos permitidos ou proibidos, sendo esperado que a maioria dos aminoácidos estejam em posições permitidas, enquanto o ERRAT dá um score que é o percentual de interações não covalentes que estão dentro do estatisticamente esperado. Os resultados da validação estão demonstrados na Tabela 1.

De acordo com os resultados, a estrutura mais adequado para a continuação das análises é a número 5, que teve os melhores resultados após a minimização, com 95,3 % dos aminoácidos em posições permitidas (Figura 1) e um score de 98,9 no ERRAT (Figura 2).

Tabela 1. Percentual de amino ácidos em ângulos torcionais permitidos no gráfico de Ramachandran e score do ERRAT antes e após a minimização de energia.

	Min. de Energia	1	2	3	4	5
Ramachand. Permitidas	Pré	95%	94,7 %	94,7%	94,4%	94,4 %
	Pós	95,3%	94,7 %	94,7%	94,2%	95,3 %
ERRAT Score	Pré	98,63	99,45	99,18	99,45	99,72
	Pós	98,89	98,89	98,06	98,90	98,90

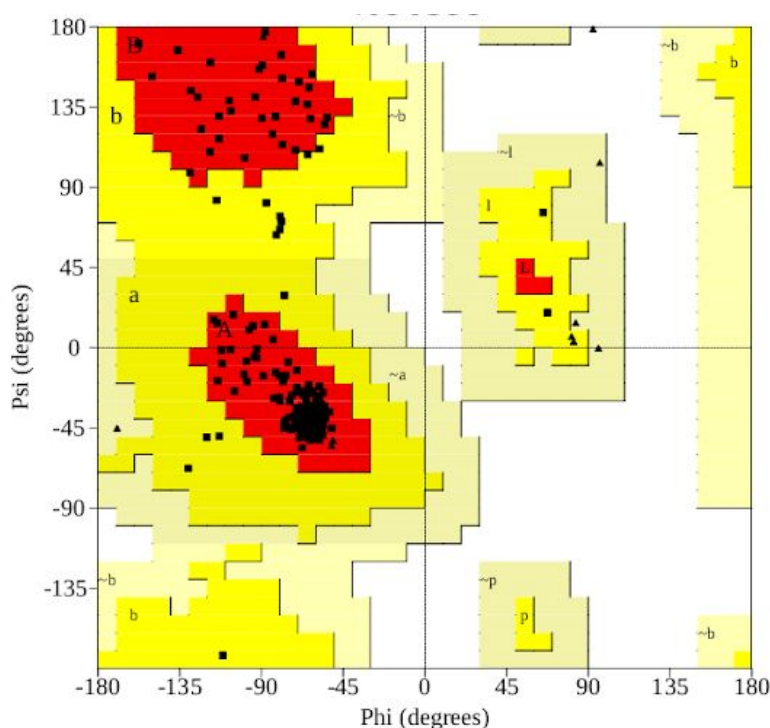


Figura 1. Gráfico de Ramachandran. Os pontos pretos representam amino a relação entre os ângulos torcionais Phi (eixo x) e Psi (eixo y) dos aminoácidos. As regiões vermelhas são as zonas permitidas, as amarelas zonas permitidas adicionais, enquanto as demais são zonas “proibidas”.

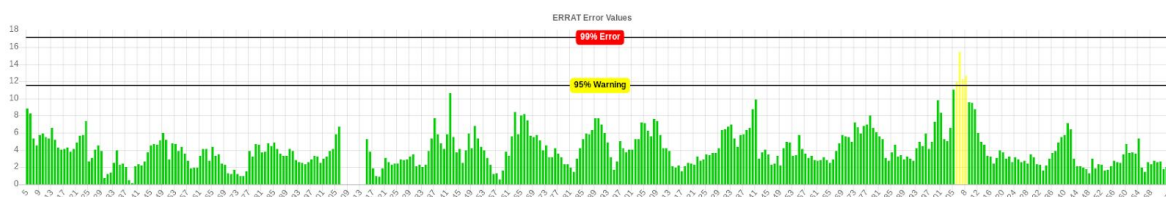


Figura 2. Gráfico do ERRAT. Cada coluna representa um amino ácidos, as colunas em verde representam interações não covalentes estatisticamente esperadas, enquanto as amarelas são regiões que devem ser verificadas.

4. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos pode-se concluir que as metodologias utilizadas para a modelagem da estrutura foram corretas, deixando-a dentro de zonas conformacionais estatisticamente esperadas. Com a estrutura modelada outros passos podem ser tomados, como a dinâmica e o Docking molecular, para melhor compreensão do funcionamento da estrutura e os possíveis impactos que este funcionamento pode causar na sua função e interação com outras moléculas, podendo ser um passo importante no desenvolvimento de fármacos.



5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTS, B. et al. *Molecular Biology of the Cell*. 6th edition. New York: Garland Science, Taylor & Francis Group, 2015.

BEAULIEU, JM; GAINETDINOV, RR. The Physiology, Signaling, and Pharmacology of Dopamine Receptors. **Pharmacological Reviews**, Estados Unidos, Vol. 63, No. 1, p. 182-217, 2011. doi:10.1124/pr.110.002642

BERENDSEN et al. (1995) *Comp. Phys. Comm.* **91**: 43-56.

BIOINFORMÁTICA: DA BIOLOGIA À FLEXIBILIDADE MOLECULAR: VERLI, Hugo (org.). 1. ed. São Paulo : SBBq, 2014.

COLOVOS, C; YEATES, TO. Verification of protein structures: patterns of nonbonded atomic interactions. **Protein Sci.** 1993;2(9):1511-1519. doi:10.1002/pro.5560020916

JATANA, N; THURKRAL, L; LATHA, N. Structure and dynamics of DRD4 bound to and agonist and an antagonist using in silico approaches. **Proteins**, 2014; 83:867–880.

LASKOWSKI, RA; MACARTHUR, MW; MOSS, DS; THORNTON, JM (1993). PROCHECK - a program to check the stereochemical quality of protein structures. **J. App. Cryst.**, 26, 283-291.

MICHEALRAJ, KA et al. Functional Characterization of rare variants in human Dopamina receptor D4 Gene by Genotype-Phenotype Correlations. **Neuroscience** 262 (2014) 176-189.

PETTERSEN, E.F. et al. UCSF Chimera - A Visualization System for Exploratory Research and Analysis. **J. Comput. Chem.** 25(13):1605-1612 (2004).

REECE, Jane B. et al. *Biologia de Campbell*, 10ª edição (2015).

RONDOU, P; HAEGEMAN, G; CRAENENBROECK, KV. The dopamine D4 receptor: biochemical and signalling properties. **Cellular and Molecular Life Sciences** (2010).

VAN TOL, H et al. Multiple dopamine D4 receptor in the human population. **Nature**, vol 358, p 149-152(1992).

WANG, Sheng et al. D4 dopamine receptor high-resolution structures enable the discovery of selective agonists. **Science** 358, 381–386 (2017).

WEBB, B; SALI, A. Comparative Protein Structure Modeling Using Modeller. **Current Protocols in Bioinformatics** 54, John Wiley & Sons, Inc., 5.6.1-5.6.37, (2016).