

**ESTUDI PER DINAMICA MOLECULAR DE LA ZONA CENTRAL DEL LOOP
ANTIGENIC DEL VIRUS DE LA FEBRE AFTOSA (SEROT. C- SOCA
SANTA PAU). INFLUENCIA DEL MODEL DE SOLVATACIO**

M. Cristina Vega, Carles Alemán i Juan J. Pérez

Dept. d'Enginyeria Química .E. T. S. d'Enginyers Industrials

Diagonal 647. 08028 Barcelona

Hem realitzat un estudi mitjançant Dinàmica Molecular de la zona central del loop antigènic del FMDV. Tambè hem estudiat la influència dels diferents medis de solvatació recomanats pels autors per estudiar molècules biològiques .

INTRODUCCIO

La família dels Picornavirus presenten un gran nombre de virus patògens tant pels animals com pels humans (virus de la hepatitis A, virus de la encefalomiocarditis (FMCV), virus del refredat comú etc). El FMDV és actualment objecte de nombrosos estudis degut a les pèrdues econòmiques que ocasiona al atacar al bestiar porcí de molts indrets. Malgrat això encara no s'ha trobat una vacuna amb aplicació extensiva a tots els serotipes (1). Relacionat amb les seves característiques biològiques cal dir que són els virus portadors de RNA de menor mida i el seu diàmetre exterior mig és de 300Å. Tots els membres de la família presenten una càpside proteica amb estructura icosaèdrica constituïda per quatre proteïnes (VP1, VP2, VP3 i VP4) .

S'han realitzat estudis cristal·logràfics de tots els gèneres de la família (3). En el més recent relacionat amb el FMDV (ser. O) s'ha observat que l'anomenat loop antigènic presenta una zona de densitat difusa en el mapa de densitats electròniques amb la qual cosa no es pot saber quina estructura pot tenir el loop, amb la possibilitat de que es tracti d'un loop multiconformacional (4). Degut al seu interès biològic és de gran interès abordar el problema de forma teòrica per tal de suplementar la informació obtinguda mitjançant la difracció de raigs-X .

Nosaltres hem estudiat el ser. C (Soca Santa Pau) que és va aïllar en la localitat gironina del mateix nòm. La seqüència seleccionada (Thr-Ala-Ser-Ala-Arg-Gly-Asp-Leu-Ala) del loop antigènic del FMDV conté els residus RGD altament conservats entre tots els serotipes del FMDV, implicats en la seva activitat infecciosa (les cèl.lules

susceptibles d'infecció (posseïen receptors per aquesta seqüència) i que durant l'atac cel·lular un àtom de Ca^{2+} interacciona amb la cadena lateral del residu d'Asp (5).

MATERIALS I METODES

Per la realització d'aquest estudi hem emprat els programes ECEPP pel "build up" i el programa AMBER 3.0 per les trajectòries de Dinàmica Molecular.

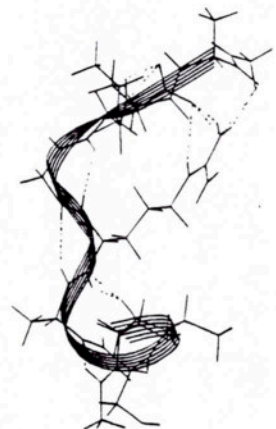
Hem utilitzat com conformacions inicials les estructures obtingudes mitjançant "build up" que consisteix en construir la seqüència utilitzant els diferents mínims conformacionals dels residus segons el mapa de Ramachandran. El rastreig conformacional s'ha realitzat emprant la tècnica anomenada "simulated annealing", la qual consisteix en refredar conformacions (310K) trobades en trajectòries de Dinàmica Molecular a altes temperatures (900K) per tal de rastregar a fons els mínims energètics locals (6).

Amés s'ha estudiat la flexibilitat de l'estructura més estable (Fig. 1) mitjançant trajectòries llargues (200ps-300ps) variant les condicions de solvatació indicades com les apropiades per simulacions amb interès biològic.

RESULTATS I DISCUSSIO

Es van obtenir com resultat del rastreig conformacional 15000 estructures de les quals representem la més estable.

Fig.1 Conformació més estable representada amb un diagrama de cintes. Aquesta estructura es caracteritza per ser una estructura rica en motius estructurals.



Es de destacar tres motius estructurals fonamentals: i) La presència d'hèlix α en el extrem N-t (fins el residu cinquè); ii) L'existència d'un γ turn entre els residus Ala(5)-Gly(7); iii) Presència de un segon γ turn entre els residus d'Arg(6)-Asp(8). Aquest últim motiu conté la seqüència RGD altament conservada entre tots els serotips del FMDV . En els conformers més estables trobats en un marge de 4 kcal/mol s'ha observat únicament petites desviacions del backbone de la conformació de menor energia.

L'estudi de la flexibilitat ha mostrat una baixa probabilitat de que l'estructura mostri grans fluctuacions respecte a la conformació més estable (Fig. 2). Al llarg de tota la trajectòria es conserva la presència del γ turn entre el residu d' Ala(5)-Gly(7).

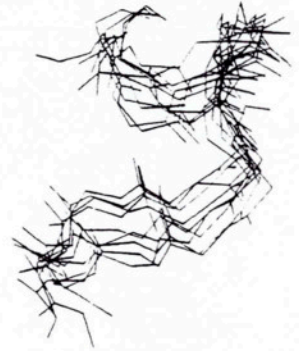


Fig. 2. - Fluctuacions mostrades respecte l'estructura més estable. Es pot observar la conservació del γ turn i les variacions respecte l'hèlix α a l'extrem N-t.

S'ha trobat una gran dependència dels perfils energètics i les geometries de les interaccions del pont d'hidrògen utilitzat per descriure la constant dielèctrica. Així la contribució electrostàtica presenta un perfil molt similar al de l'energia total quan utilitzem una constant dielèctrica independent de la distància. No obstant, quan utilitzem l'expressió dependent de la distància passa a ésser una contribució minoritària. La geometria de pont d'hidrògen obtingudes a partir d'una expressió dependent de la distància són més estabilitzades que les obtingudes a partir d'una expressió independent (Fig. 3).

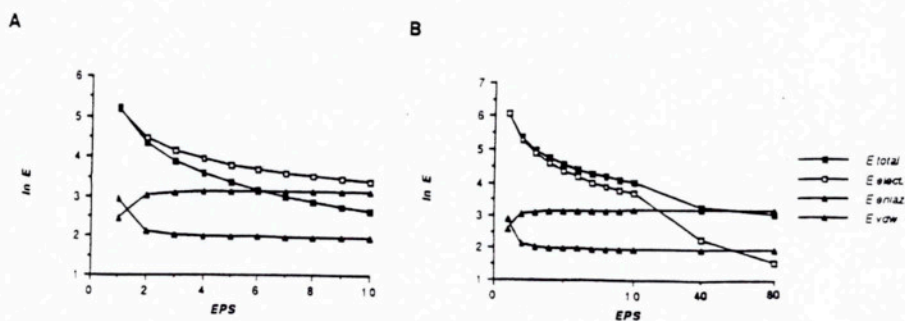


Fig. 3 Gràfic del logaritme del valor absolut de l'energia total, electrostàtica, enllaçant i de van der Waals de l'estructura objecte d'estudi, emprent: A) Una expressió de la constant dielèctrica dependent de la distància; b) Una expressió de la constant dielèctrica independent de la distància. L'energia enllaçant és desestabilitzant (positiva), i el reste dels termes són estabilitzants (negatius).

En l'actualitat estem realitzant estudis en presència explícita de molècules d'aigua. Resultats preliminars indiquen que la seqüència RGD segueix implicada en una estructura de γ turn.

BIBLIOGRAFIA

- 1) DiMarchi, R.; Brooke, G.; Galue, C.; Cracknell, V.; Doel, T. and Mowat, N. *Science* **232**, 639-641 (1986); Rouslahti, E. A. *Rev. Biochem.* **57**, 375-572 (1990).
- 2) Paul, A.V.; Schultz, A.; Pincus, S.E.; Oroszlam, S. and Wimmer, E. *Proc. Natl. Acad. Sci, U.S.A.* **84**, 7827-7831 (1987).
- 3) Rossmann, M.G.; Arnold, E.; Erickson, J.W.; Frankenberger, E.A.; Griffith, J.P.; Hecht, H.J.; Johnson, J.E.; Kamer, G.; Luo, M.; Mosser, A.G.; Rueckert, R.R.; Sherry, B. and Vriend, G. *Nature* **317**, 145-153 (1985); Hogle, J.M.; Chow, M. and Filman, D.J. *Science* **229**, 1358-1365 (1985); Luo, M.; Vriend, G.; Kamer, G.; Minor, I.; Arnold, E.; Rossmann, M.G.; Boegew, U.; Scraba, D.G.; Duke, G.M. and Palmenberg, A.C. *Science* **235**, 182-191 (1987).
- 4) Acharya, R.; Fry, E.; Stuart, D.; Fox, G.; Rowlands, D. and Brown, F. *Nature* **337**, 709-716 (1989).
- 5) Parry, H.; Fox, G.; Rowlands, D.; Brown, F.; Fry, E.; Acharya, R.; Logan, D. and Stuart, D. *Nature* **347**, 569-572 (1990).
- 6) Kirkpatrick, S.; Gelatt, C.D. Jr. and Vecchi, M.P. *Science* **220**, 671 (1983).