



Análise de simulações computacionais do complexo II mitocondrial através de mapas de desvio quadrático médio

Bruno Kleine Mollica

Prof. Dr. Guilherme Menegon Arantes

INSTITUTO DE QUÍMICA

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

bkmollica@usp.br

Objetivos

Nosso objetivo principal foi caracterizar em nível atômico a flexibilidade do substrato ubiquinona (UQ) ligado à enzima Succinato-Desidrogenase (Complexo II mitocondrial [1]), integrando abordagens computacionais e dados disponíveis na literatura.

Processamos uma longa trajetória de dinâmica molecular simulada da enzima e analisamos as flutuações conformacionais do substrato ubiquinona através de mapas de Desvio Quadrático Médio (RMSD) e da identificação de estados estruturais e de eventos de transição entre estes estados.

Construímos e validamos um caminho de reação suave, composto por uma série de estruturas de referência (milestones), que descreve de forma contínua o processo de associação e/ou dissociação da ubiquinona no sítio de ligação da enzima.

Assim, estabelecemos um modelo da dinâmica da da ubiquinona no Complexo II, conectando propriedades moleculares e sua função bioenergética.

Métodos e Procedimentos

A metodologia proposta baseia-se em trabalhos anteriores do grupo e em protocolos estabelecidos na literatura para análise de simulações de dinâmica molecular (DM) [2]. Todas as análises foram realizadas utilizando o pacote de simulação GROMACS (versão 2023.3) [3], o software de visualização molecular PyMOL [4] e scripts customizados em Python com as bibliotecas Matplotlib e Bio.PDB.

Para caracterizar a dinâmica conformacional da ubiquinona, foi calculada uma matriz de RMSD pareado. Esta análise compara cada estrutura (frame) com todas as outras no trecho selecionado.

O cálculo foi realizado com um script em Python que emprega a classe Superimposer da biblioteca Bio.PDB para alinhar cada par de estruturas da ubiquinona antes de calcular o RMSD, cuja fórmula é dada por:

$$RMSD(t) = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \|\mathbf{r}_i(t) - \mathbf{r}_i^{ref}\|^2}$$

onde $r_i(t)$ são as coordenadas atômicas no tempo e r_i^{ref} as coordenadas de referência.

Para investigar interações específicas entre a ubiquinona e resíduos do sítio ativo, distâncias entre pares de átomos foram calculadas ao longo da trajetória com o programa gmx distance [3]. Grupos de seleção específicos foram criados com gmx make ndx para isolar os átomos de interesse, como o átomo de Carbono Alfa (CA) do resíduo TRP 173 da cadeia B pertencente ao sítio ativo e um átomo de oxigênio da cabeça da ubiquinona(O2). Os dados resultantes foram plotados como um gráfico de distância em função do número da estrutura de referência.

Resultados

O estudo se iniciou a partir de uma longa simulação de dinâmica molecular de 1.7 μ s do Complexo II em uma bicamada lipídica, obtida de trabalhos anteriores do grupo. A trajetória original, contendo 342 frames com uma separação de 5 ns entre cada um, foi processada para corrigir artefatos de visualização e permitir uma análise estável. Desta simulação, um trecho de 136 frames contendo o evento de entrada/saída da Ubiquinona foi isolado.

Para analisar a dinâmica em detalhe, este trecho foi dividido em segmentos, e a matriz de RMSD da ubiquinona foi calculada para cada um (Figura 1).

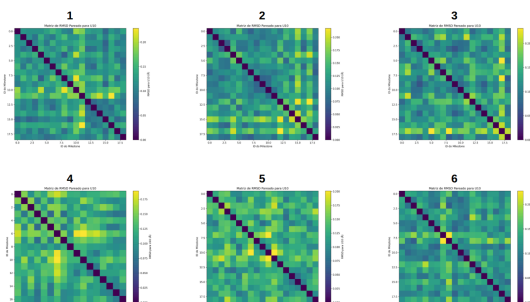


Figura 1: Matrizes de RMSD da trajetória.

As matrizes de RMSD revelam diferentes comportamento de cada segmento em que o segmento 4 é o que se mostra com a transição mais suave e progressiva, ideal para a construção de um caminho de reação.

A análise de distância dentro deste segmento (Figura 2) mostra um evento claro de aproximação da ubiquinona em relação ao resíduo TRP 173 indicando um possível evento de entrada da Ubiquinona no sítio.

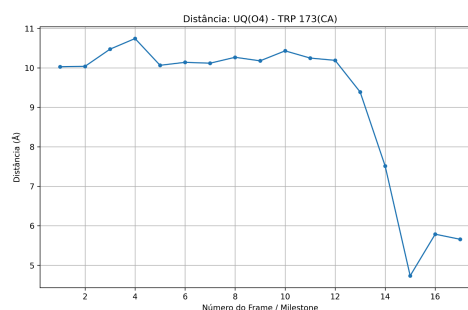


Figura 2: Distância do Óxigênio 2 da cabeça da Ubiquinona e o Carbono ala do resíduo do sítio ativo TRP173 no conjunto 4.

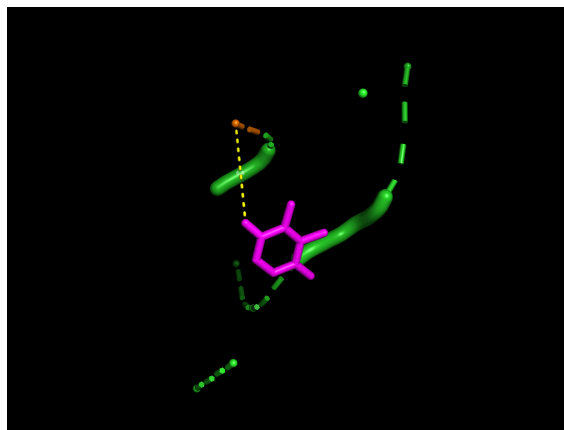


Figura 3: Visualização da interação entre a ubiquinona (magenta) e o resíduo TRP~173 (laranja). A linha tracejada indica a distância monitorada.

A análise estrutural confirma a interação direta entre a cabeça da ubiquinona e resíduos importantes do sítio Q, como o TRP 173.



O conjunto de *milestones* selecionado representa, portanto, um caminho de reação possível para futuros estudos.

Conclusões

O principal resultado deste estudo foi a identificação e caracterização de um segmento da trajetória que descreve um evento de transição conformacional suave e progressivo da ubiquinona na enzima succinato-desidrogenase. A análise deste segmento validou-o como um caminho de reação adequado para estudos de amostragem aumentada.

O conjunto de estruturas de referência (milestones) gerado a partir desta análise constitui um resultado robusto para a próxima fase do projeto, como no cálculo do perfil de energia livre do processo de associação e/ou dissociação da Ubiquinona, utilizando simulações de amostragem aumentada por metadinâmica.

Referências

- 1 IVERSON, T. Catalytic mechanisms of complex ii enzymes: A structural perspective. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, v. 1827, p. 648–657, 2013.
- 2 BRANDUARDI, D.; GERVASIO, F. L.; PARRINELLO, M. From A to B in free energy space. *Journal of Chemical Physics*, v. 126, p. 054103, 2007.
- 3 ABRAHAM, M. J. et al. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftwareX*, v. 1-2, p. 19-25, 2015.
- 4 The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.5, Schrödinger, LLC.