

Resumen #683

ANÁLISIS ESTRUCTURAL Y CINÉTICO IN SÍLICO DE VARIANTES DE METILEN TETRAHIDROFOLATO REDUCTASA. HUMANA

¹Cosy Isasi S, ¹Gómez HT, ²Muiño JC

¹Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias Médicas.; ²Centro Formador en la Especialidad Alergia e Inmunología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Ambrosio Olmos 820.

Persona que presenta:

Cosy Isasi S, scosy04101962@yahoo.com.ar

Área:

Básica

Resumen:

La metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR, EC 1.5.1.20) convierte 5,10-metilentetrahidrofolato en 5-metiltetrahidrofolato y participa en la remetilación de homocisteína a metionina. Mudd et al 1972 identificaron a un paciente con homocisteinuria y deficiencia de la enzima. En 1988, en extractos de linfocitos de pacientes con enfermedad cardiovascular e incremento moderado de la homocisteína circulante se encontró la misma actividad pero termolábil. En 1994 el polimorfismo 677 (C ? T) se asoció con la termolabilidad. Hay otras variantes que difieren en un aminoácido a las que se les asigna menor afinidad sin base en ensayos directos. Presentamos un avance del estudio in silico (simulación computacional) para comprender los fundamentos químicos de su patogenicidad. Las secuencias FASTA de las 2 isoformas salvajes funcionales se obtuvieron del NCBIgene bank (CAB41971 o 1 y AAD17965.1 o 2) y las mutantes de la isoforma 2, por edición en base a la bibliografía: aa A116T, I153M, R157Q, T227M y P251L. Se obtuvieron las estructuras terciarias sólo del dominio catalítico dado que sólo existen referencias cristalizadas de *E.coli* y *T.thermophilus* para usar como molde. El molde seleccionado por identidad de secuencia y estructura fue 1v93 de *T.thermophilus*. Las estructuras obtenidas con los entornos virtuales que evalúan las semejanzas con diferentes parámetros, Modeller 9.09, SWISS-MODEL, Phyre2 coincidieron en un 98 %. Se inició el modelado ab initio (sin molde) de las porciones restantes. Se evaluó la afinidad por FAD (flavinadeninucleótido) mediante docking flexible estándar (solvente implícito-el agua y los iones se tratan como una masa uniforme- jaula en sitio activo) obteniendo una escala de energías de interacción como estimadores de afinidad. Los entornos virtuales SWISSDOCK y Autodock Vina acomodan el ligando automática o manualmente. Las afinidades decrecientes (Kcal/mol) fueron P251L -15,47; T227M -15,20; A116T -12,8; I153M -11,8 y R157Q -10,9. Sin embargo las geometrías más aproximadas al salvaje tienen otro orden P251L -14,4; A116T -12,8 y T227M -12,56. Los resultados muestran que las diferencias en actividad se deberían atribuir al componente geométrico de las interacciones más que a su afinidad

Palabras Clave:

MTHFR-polimorfismos-docking-afinidad-homocisteinemia

IN SIICO STRUCTURAL AND KINETIC ANALYSIS OF HUMAN METHYLENETETRAHYDROFOLATE REDUCTASE VARIANTS

¹Cosy Isasi S, ¹Gómez HT, ²Muiño JC

¹Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias Médicas.; ²Centro Formador en la Especialidad Alergia e Inmunología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Ambrosio Olmos 820.

Persona que presenta:

Cosy Isasi S, scosy04101962@yahoo.com.ar

Abstract:

Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR, EC 1.5.1.20) converts 5,10-methylenetetrahydrofolate to 5-methyltetrahydrofolate and participates in the re-methylation of homocysteine to methionine. Mudd et al. 1972 identified a patient with homocysteinuria and enzyme deficiency. In 1988, a similar activity but thermolabile, was found in lymphocyte extracts from patients with cardiovascular disease and moderate increase in circulating homocysteine. In 1994, polymorphism 677 (C ? T) was associated with thermolability. There are other variants that differ in one amino acid, whose lower activity is hypothetically attributed to a decreased affinity without laboratory evidence. We present an advance of the in silico study (computational simulation) to understand the chemical foundations of its pathogenicity. The FASTA sequences of the 2 functional wild type isoforms were obtained from the NCBIgene bank (CAB41971 or 1 and AAD17965.1 or 2) and that of isoform 2 mutants, by edition based on the literature: aa A116T, I153M, R157Q, T227M and P251L. Tertiary structures were obtained only for the catalytic domain because it is the unique domain of the crystallized references from *E. coli* and *T.thermophilus* that are available for use as a template. The template selected by sequence identity and structure was 1v93 of *T.thermophilus*. The structures obtained with the virtual environments that evaluate the similarities with different parameters, Modeller 9.09, SWISS-MODEL, Phyre2 presented 98% of structural identity. Ab initio (without mold) modeling of the remaining portions was started. The affinity for FAD (flavin adenine dinucleotide) was evaluated by standard flexible docking (implicit solvent, water and ions are treated as a uniform mass, cage in active site) obtaining a scale of interaction energies as affinity estimators. The virtual environments SWISSDOCK and Autodock Vina accommodate the ligand automatically or manually. The decreasing affinities (Kcal / mol) were P251L -15.47; T227M -15.20; A116T -12.8; I153M -11.8 and R157Q -10.9. However, the geometries closest to the wild type have another order P251L -14.4; A116T -12.8 and T227M -12.56. The results show that differences in activity should be attributed to the geometric component of the interactions rather than their affinity.

Keywords:

MTHFR-polimorphisms-docking-affinity-homocysteinemia