

Caracterización de las Interacciones de Fosfolipasas A2 Bothropicas con Receptores de Adhesión empleando Herramientas Bioinformáticas y de Modelado Molecular

Área del Conocimiento: Ciencias Naturales y Exactas.

Autores: RAUSCH, Andrea L.; BOGADO, María L.; LEIVA, Laura;
BUSTILLO, Soledad; PERUCHENA, Nélica M.; ANGELINA, Emilio L.

Facultad: Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura

E-mail: luchig94@hotmail.com

Introducción

En la región Nordeste de la Argentina la mayoría de las intoxicaciones ofídicas son causadas por las especies *Bothrops alternatus* y *Bothrops diporus*. Uno de los principales responsables de los efectos sistémicos provocados por las mordeduras de víboras son las fosfolipasas A2. Como antecedentes, se utilizaron los resultados recientes publicados por el Laboratorio LabInPro de la FACENA-UNNE, donde demuestran la existencia de sinergismo entre una PLA₂ no tóxica y una metaloproteínasa SVMP hemorrágica del veneno de *Bothrops alternatus* sobre el despegamiento de las células endoteliales (Bustillo, S. et al., 2015).

Por otra parte, Jun Saegusa y colaboradores, demostraron que la PLA₂-IIA humana se une a la integrina $\alpha\beta3$ con alta afinidad ($K_d=2 \times 10^{-7}M$), identificaron residuos de aminoácidos, como Arg74 y Arg100, críticos para dicha unión. Sugieren que el centro catalítico de la integrina no estaría involucrado en la unión con la PLA₂. (Jun Saegusa et al., 2008).

Este trabajo se intentó averiguar si la Asp49-PLA₂-IIA acídica de *B. alternatus* podría unirse a la misma integrina dando así sustento a la hipótesis de que el sinergismo observado entre PLA₂ y SVMP tendría su origen en la interacción de la primera con receptores específicos sobre las células endoteliales.

Objetivos

- ✓ Obtener un modelo por Homología de las PLA₂ de *Bothrops alternatus* a partir de proteínas homólogas de estructura 3D conocida.
- ✓ Identificar los posibles sitios de unión de la PLA₂ de *Bothrops alternatus* a la integrina $\alpha\beta3$ mediante cálculos de docking proteína-proteína.

Resultados y Discusión

✓ Interacción entre la integrina $\alpha\beta3$ y la PLA₂ humana:

El cálculo de docking proteína - proteína, genero dos posibles sitios de unión a la integrina: uno de ellos es el sitio péptido RGD de la integrina y el otro opuesto al sitio RGD (sitio 2).

Durante el análisis de los cálculos de energía libre por residuo, se observó que en ambos modelos los residuos de argininas participan con mayor estabilidad por tener menor energía libre.

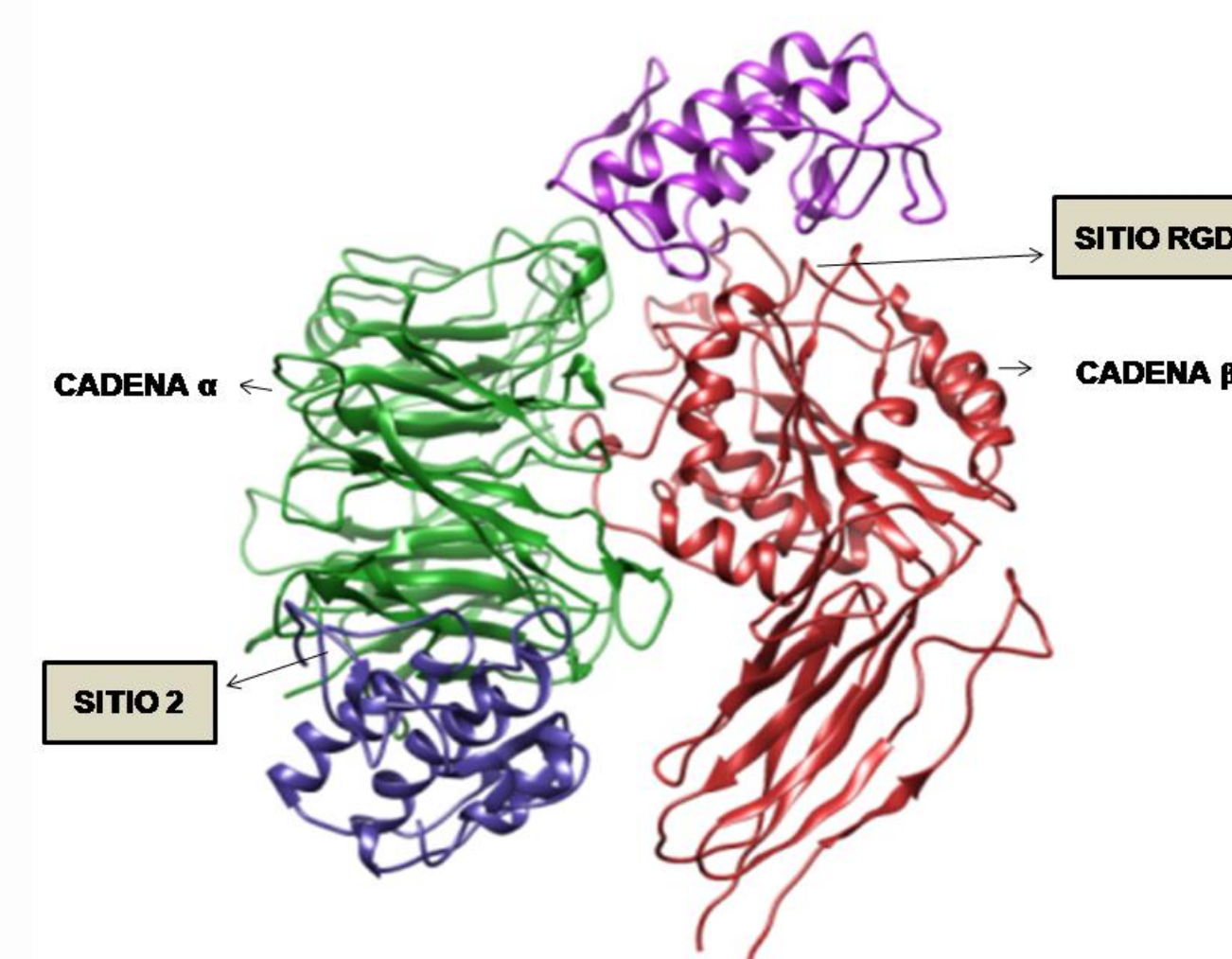


Figura 1. Se muestran los dos sitios de unión de PLA₂ sobre la integrina.

✓ Interacción PLA₂ de *Bothrops Alternatus* con Integrina $\alpha\beta3$:

Se identificó una pose de docking, marcadamente más estable ($\Delta G = -121.82$ kcal/mol) que las restantes en la que la PLA₂ bothropica se une al sitio RGD. A partir del análisis de la energía libre por residuos se vio que los residuos de mayor contribución a la estabilidad del complejo son Trp 29, Arg 15, Lys 59, Lys 6. En este modelo se identificó que la región amino-terminal de la PLA₂ es la que interactúa con la integrina.

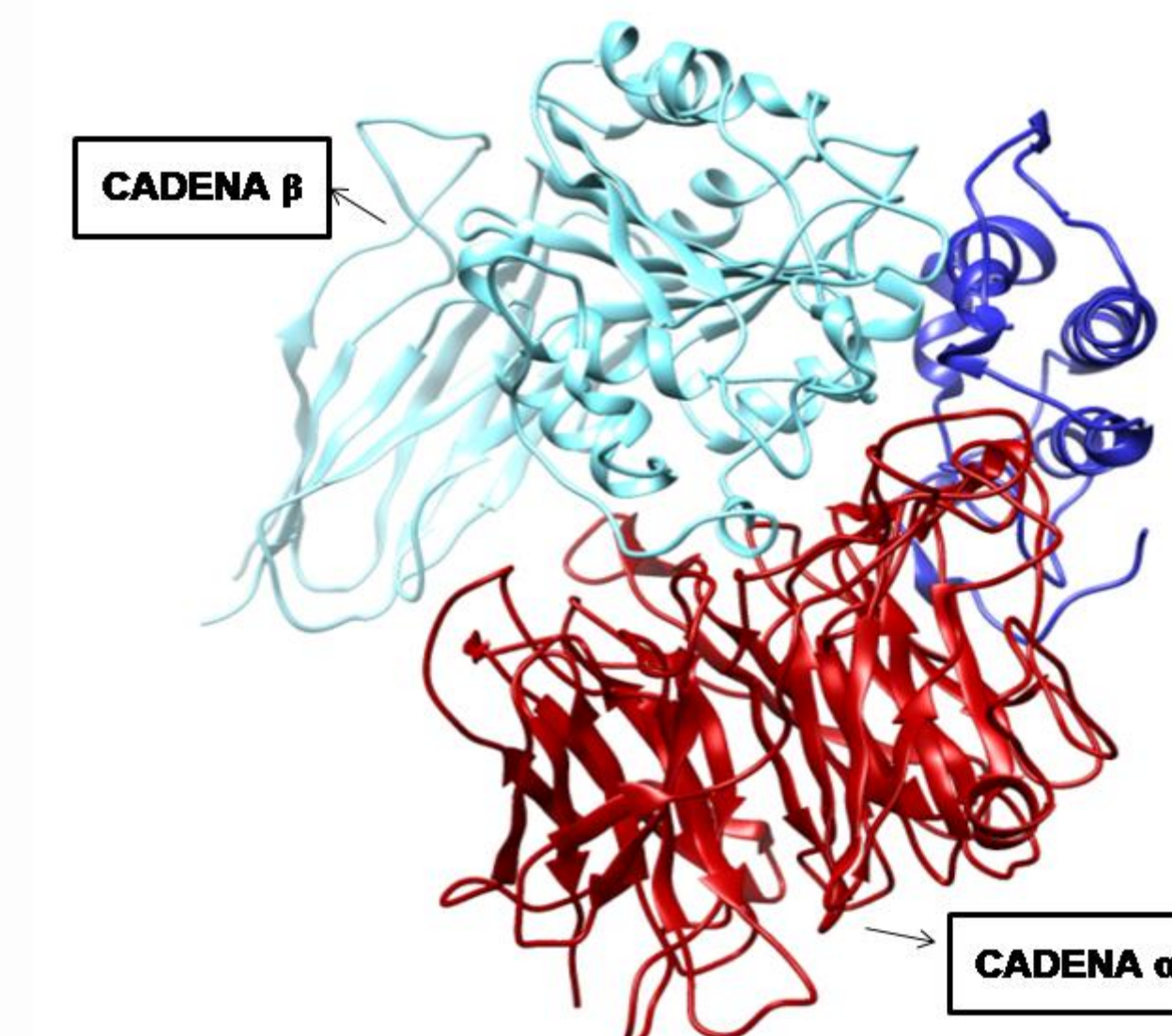


Figura 2. Pose del docking del modelo más estable.

En la figura de la estructura de menor energía potencial del modelo más estable, se observan las interacciones de los residuos más importantes: TRP 29, LYS 59, ARG 15 y LYS 15 pertenecientes a la PLA₂ (fucsia) con la integrina (amarillo).

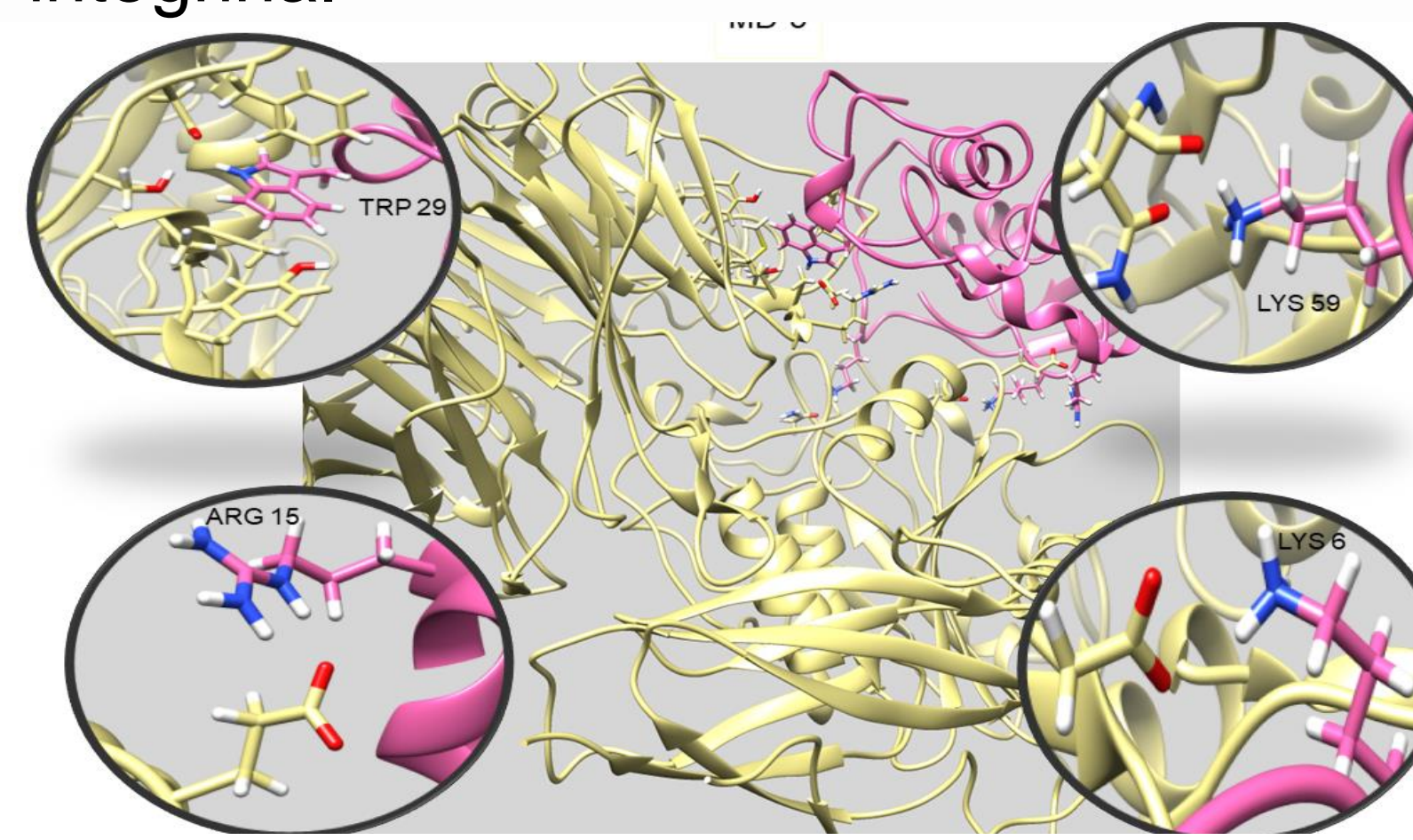
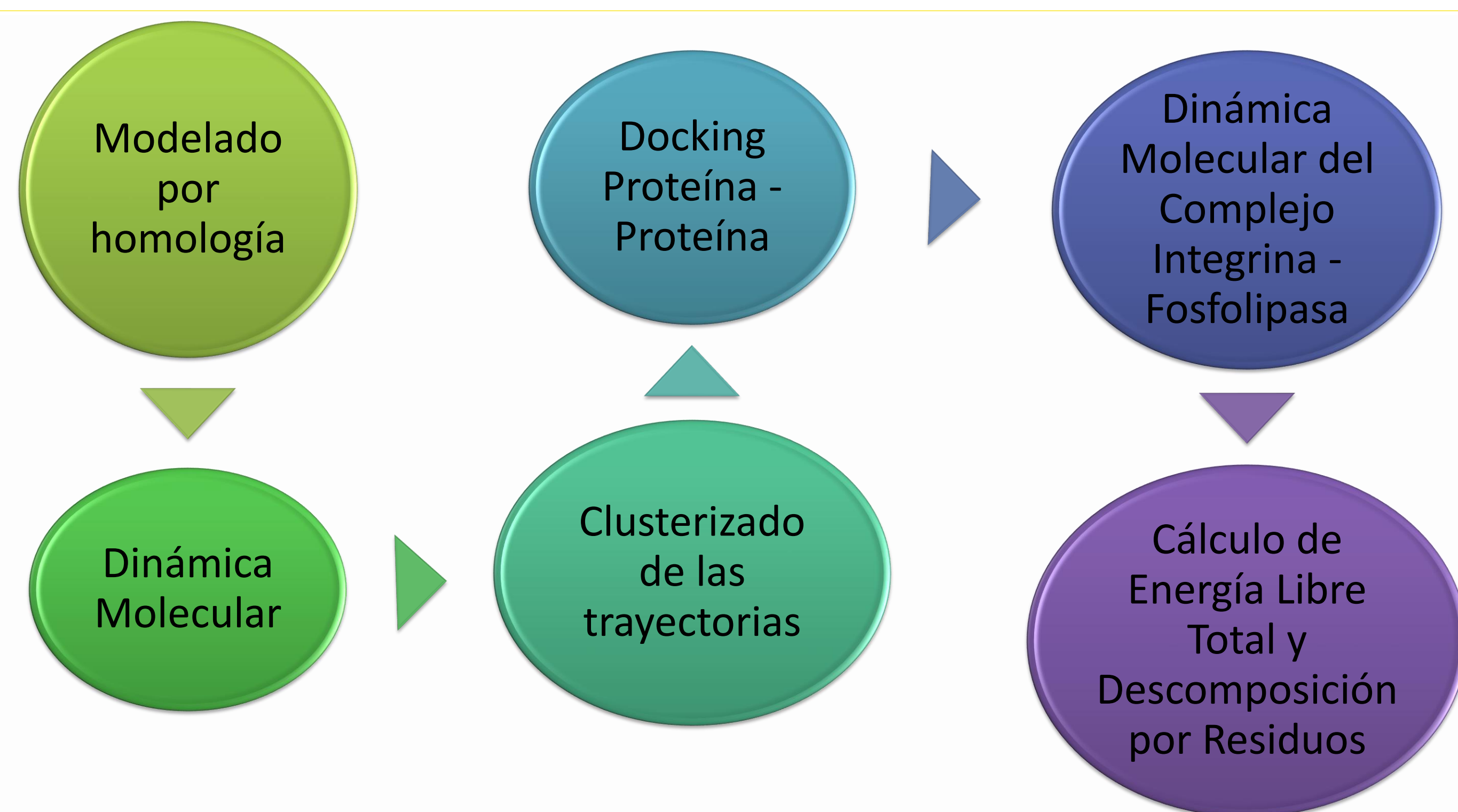


Figura 3. Estructura de menor energía potencial del modelo más estable.

Conclusiones

Comparando las estabildades de los modelos de ambas PLA₂s, humana y *Bothrops alternatus*, la pose de menor energía de PLA₂ de *Bothrops alternatus* sobre el sitio RGD es mucho más estable que ambas poses encontradas para PLA₂ humana lo que nos sugiere que el sitio de unión más probable de la PLA₂ de *Bothrops alternatus* a la integrina es el sitio RGD.

Materiales y Métodos



Bibliografía

- Bustillo, S. et al. Phospholipase A2 enhances the endothelial cell detachment effect of a snake venom metalloproteinase in the absence of catalysis. *Chem. Biol. Interact.* 240, 30–36 (2015).
- Case, A.D. et al. (2015), AMBER 2015, University of California, San Francisco.
- Dennis, E. A. Diversity of group types, regulation, and function of phospholipase A2. *J. Biol. Chem.* 269, 13057-13060 (1994).
- Eswar, M. A. et al. Comparative Protein Structure Modeling With MODELLER. *Current Protocols in Bioinformatics*, John Wiley & Sons, Inc., Supplement 15, 5.6.1-5.6.30 (2006).
- Garcia Denegri, M. E. et al. Isolation and functional characterization of a new acidic PLA₂ Ba SpII RP4 of the *Bothrops alternatus* snake venom from Argentina. *Toxicon* 56, 64–74 (2010).
- Meier, J. & White, J. (Eds). *CRC Handbook of Clinical Toxicology of Animal Venoms and Poisons*. (CRC Press Inc, 1995).
- Saegusa, J. et al. Pro-inflammatory secretory phospholipase A2 type IIA binds to integrins $\alpha\beta3$ and $\alpha4\beta1$ and induces proliferation of monocytic cells in an integrin-dependent manner. *J. Biol. Chem.* 283, 26107–26115 (2008).