

Avaliação de propriedades estruturais de membranas lipídicas após substituição do colesterol por análogos fluorescentes

João R. Robalo^a, António M. T. Martins do Canto^a, A. J. Palace Carvalho^a, J. P. Prates Ramalho^a, Luís M. S. Loura^{bc}

^a Centro de Química de Évora e Departamento de Química, Escola de Ciências e Tecnologia, Universidade de Évora, Portugal;

^b Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, Portugal; ^c Centro de Química de Coimbra, Universidade de Coimbra, Portugal;

joaorrobalo@gmail.com

A espectroscopia e a microscopia de fluorescência têm sido usadas em biofísica de membranas há décadas. Como a unidade estrutural básica das membranas biológicas é a bicamada de lípidos e estes não fluorescem, o uso de sondas extrínsecas de membrana é uma necessidade. Contudo, duas questões preocupantes se levantam quanto ao uso de sondas extrínsecas de fluorescência em estudos de membranas. Em primeiro lugar, o comportamento das moléculas de sonda na bicamada (que região da bicamada elas reportam, as suas dinâmicas translacional e rotacional) é frequentemente mal conhecido. Em segundo lugar, na interpretação de resultados de experiências de fluorescência, pode ser difícil distinguir entre propriedades legítimas da membrana e efeitos de perturbação resultantes da incorporação da sonda. Para este efeito, as simulações por dinâmica molecular (MD), ao providenciarem informação detalhada à escala atómica, representam um meio valioso para caracterizar a localização e dinâmica de sondas na bicamada, assim como a magnitude de perturbação que elas induzem na estrutura lipídica [1]. Neste contexto, optimizaram-se, com recurso ao programa Firefly, as estruturas do colesterol e de dois análogos fluorescentes (desidroergosterol eolestatrienol) ao nível de teoria DFT/R-B3LYP/6-31G(d) e submetem-se em seguida ao servidor de topologias ATB, inscrevendo simultaneamente as cargas parciais calculadas na topologia molecular. Estas topologias foram utilizadas na construção de modelos de membranas lipídicas constituídas por POPC, colesterol e uma das sondas fluorescentes acima identificadas. Os modelos assim obtidos foram hidratados e sujeitos a simulações de MD, donde se calculou a área por lípido, a espessura e densidade da bicamada, os coeficientes de difusão lateral para as espécies presentes e os parâmetros de ordem das cadeias acilo. As simulações foram efectuadas em *ensemble* NPT através do pacote de software GROMACS. Análises preliminares permitiram a comparação dos comportamentos na bicamada dos esteróis fluorescentes com o do colesterol, informação vital para validar o uso dos primeiros como análogos fluorescentes do segundo.

Agradecimentos: Este trabalho foi financiado pelo FEDER (programa COMPETE) e pela FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia, projecto ref.^a FCOMP-01-0124-FEDER-010787 (FCT PTDC/QUI-QUI/098198/2008). J.R.R agradece uma bolsa de investigação atribuída no âmbito deste projecto.

Referências

[1] Loura, L.M.S.; Prates Ramalho, J.P. Biophys. Rev. 1 (2009), 141.