
**ESTUDIO MOLECULAR DEL COMPLEJO CDK4/CICLINA
D/RETINOBLASTOMA**

**POLIANA GABRIELA POVEA ROJAS
INGENIERO CIVIL EN BIOINFORMÁTICA
RESUMEN**

Las proteínas quinasas son enzimas con la capacidad de modificar la función de otras proteínas mediante reacciones de fosforilación que las activan/desactivan a modo de interruptor. Hay 11 grandes divisiones de quinasas, las cuales a su vez se subdividen en familias y subfamilias. Dentro de estas divisiones se encuentra el grupo CMGC, donde se encuentra la familia de CDKs (del inglés Cyclin-Dependent Kinases). Se conocen cerca de 21 tipos de CDKs, pero hasta el momento no todas se encuentran correctamente caracterizadas. La CDK más estudiada es CDK2, de la cual se tiene amplia evidencia y conocimiento de su importancia en el ciclo celular. Sin embargo, no es la única CDK que participa en este proceso debido a que trabaja en conjunto con CDK1, CDK4 y CDK6, siendo estas dos últimas las menos estudiadas. CDK4 y CDK6 están involucradas en la transición desde la fase G1 a fase S en el ciclo celular, y hay evidencia que sugiere que desregulaciones en estas quinasas estarían directamente relacionadas con proliferación celular cancerígena. El ejemplo más representativo de esto sería un tipo de cáncer denominado retinoblastoma, el cual consiste en tumores oculares visibles causados por el mal funcionamiento de la proteína Rb. Esta proteína es fosforilada de forma específica por CDK4, siendo el aminoácido Serina-780 de la proteína Rb el que participa en la reacción catalítica, pero aún no se ha reportado un estudio detallado de cómo se llevaría a cabo esta reacción desde el punto de vista estructural y energético. En base al estado del arte, los sitios activos y sitios de fosforilación de CDK2 y CDK4 son homólogos y coinciden en su forma estructural tridimensional. Así se podría obtener un modelo por homología de CDK4 para poder estudiarla mediante métodos de simulaciones de dinámica molecular. Por lo anterior, se realizó un estudio del complejo CDK4/Ciclina-D/Rb, usando herramientas de modelamiento comparativo por homología y simulaciones de dinámica molecular (DM). Para la obtención del modelo por homología se utilizó el complejo CDK2/Ciclina-A (PDB ID: 1QMZ) y los

cristales de CDK4/Ciclina-D (PDB ID: 3G33, 2W96) como plantillas. A partir de los mejores modelos por homología obtenidos se realizaron simulaciones de DM, con y sin restricciones. Esto permitió caracterizar las conformaciones reactivas y la estabilidad del complejo ternario y que contribuirán al estudio de los mecanismos de reacción de fosforilación reportados. Además, se caracterizaron estructuralmente las interacciones entre el péptido de Rb con CDK4/CiclinaD, lo cual es un aporte para futuras investigaciones de reactividad enzimática en el complejo estudiado.

ABSTRACT

Protein kinases are enzymes with the ability to modify the function of other proteins through phosphorylation reactions that activate/deactivate them as a switch. There are 11 major divisions of kinases, which in turn are subdivided into families and subfamilies. Within these divisions is the CMGC group, which includes the CDKs (Cyclin Dependent Kinases) family. 21 types of CDKs are known, but currently not all of them have been correctly characterized. The most studied CDK is CDK2, for which there is extensive evidence and knowledge of its importance in the cell cycle. However, it is not the only CDK that participates in this process because it works along CDK1, CDK4 and CDK6, with the last 2 being the less studied. CDK4 and CDK6 are involved in the transition from G1 to S phase in the cell cycle, and there is evidence suggesting that dysregulation of these kinases would be directly related to cancer cell proliferation. The most representative example of this would be a type of cancer called retinoblastoma, which consists of visible eye tumors caused by the malfunction of the Rb protein. This protein is phosphorylated in a specific way by CDK4, being the amino acid Serine-780 of the Rb protein which participates in the catalytic reaction, but a detailed study of how this reaction proceed in this catalytic system has not yet been reported. Based on the state of the art, the active sites and phosphorylation sites of CDK2 and CDK4 are homologous and match in their three-dimensional structure. Thus, a homology model of CDK4 could be obtained in order to study it through molecular dynamics simulations methods. Considering all of the above evidence, a study of CDK4/Cyclin-D/Rb complex was carried out, using homology comparative modelling tools and molecular dynamics simulations (MD). To obtain the homology model, the CDK2/Cyclin-A complex (PDB ID: 1QMZ) and CDK4/Cyclin-D crystal (PDB ID: 3G33. 2W96) were used as templates. From the best homology models obtained, MD simulations were performed, with and without restraints. This allowed the characterization of reactive conformations and stability of the tertiary complex and that will contribute to the study the reported phosphorylation reaction mechanisms. Also, interactions between Rb peptide and CDK4/Cyclin-D were

characterized, which is a contribution to future investigations of the catalytic reactivity in the studied complexes.