

# RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 09/02/2028.

# **UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP**

Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas – Câmpus de São José do Rio Preto

**GEORCKI GEOR DANO ROPÓN PALACIOS**

**DESVENDANDO OS FATORES MOLECULARES QUE MODULAM A  
ESTABILIDADE DA PROTEÍNA DE ENVELOPE NO VIRUS DA DENGUE**

São José do Rio Preto

2026

**GEORCKI GEOR DANO ROPÓN PALACIOS**

**DESVENDANDO OS FATORES MOLECULARES QUE MODULAM A  
ESTABILIDADE DA PROTEÍNA DE ENVELOPE NO VIRUS DA DENGUE**

Dissertação, apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, para obtenção do título de Mestre em Ciências Biomoleculares e Farmacológicas.

Área de Concentração: Física Biomolecular

Orientador: Prof<sup>o</sup> Dr. Alexandre Suman de Araujo

São José do Rio Preto

2026

P153d

Palacios, Georcki Geor Dano Ropón

Desvendando os fatores moleculares que modulam a estabilidade da proteína de envelope no vírus da dengue / Georcki Geor Dano Ropón Palacios. -- São José do Rio Preto, 2026

86 f. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientador: Alexandre Suman de Araujo

1. Biofísica computacional. 2. Dengue vírus. 3. Proteínas. I. Título.

## **IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA**

Esta pesquisa tem impacto científico e técnico relevante ao elucidar, em nível molecular, os mecanismos físico-químicos que governam a transição conformacional dependente de pH e temperatura da glicoproteína de envelope do vírus da dengue. Por meio de simulações de dinâmica molecular *all atom* em escala de microssegundos aplicadas aos sorotipos DENV-2 e DENV-3, o estudo identifica gatilhos hierárquicos responsáveis pela desestabilização do dímero de pré-fusão, incluindo uma rota assimétrica de dissociação denominada “abraço compensatório” e diferenças sorotipo-específicas associadas à distribuição de histidinas.

Do ponto de vista social, inovador e estratégico, os resultados fornecem bases racionais para o desenvolvimento de antivirais de amplo espectro e para o design de imunógenos mais eficazes contra um patógeno de elevada relevância em regiões tropicais e subtropicais. O trabalho contribui para a formação avançada em biofísica computacional, para a internacionalização da pesquisa e para o desenvolvimento sustentável, ao priorizar abordagens computacionais de alto impacto e baixo custo experimental, fortalecendo a interface entre ciência fundamental, inovação biotecnológica e saúde pública sustentável, ao minimizar custos experimentais e o consumo de recursos laboratoriais.

## **POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH**

This research has relevant scientific and technical impact by elucidating, at the molecular level, the physicochemical mechanisms governing the pH- and temperature-dependent conformational transition of the dengue virus envelope glycoprotein. Using microsecond-scale all-atom molecular dynamics simulations of the DENV-2 and DENV-3 serotypes, the study identifies hierarchical triggers responsible for prefusion dimer destabilization, including an asymmetric dissociation pathway termed the “compensatory embrace” and serotype-specific effects linked to histidine distribution.

From a social, innovative, and strategic perspective, these findings provide a rational framework for the development of broad-spectrum antivirals and improved immunogen design against a pathogen of major relevance in tropical and subtropical regions. The work also contributes to advanced training in computational biophysics, promotes research internationalization, and aligns with sustainable development principles by prioritizing high-impact, low-cost computational approaches that strengthen the interface between fundamental science, biotechnological innovation, and public health.

**GEORCKI GEOR DANO ROPÓN PALACIOS**

**DESVENDANDO OS FATORES MOLECULARES QUE MODULAM A  
ESTABILIDADE DA PROTEÍNA DE ENVELOPE NO VIRUS DA DENGUE :**

Dissertação apresentado(a) à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, para obtenção do título de Mestre em Ciências Biomoleculares e Farmacológicas.

Área de Concentração: Física Biomolecular

Data de defesa: 09/02/2026

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profº Dr. Alexandre Suman de Araujo

Departamento de Física do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE) da Universidade Estadual Paulista – UNESP, Campus de São José do Rio Preto

---

Profº Dr. Sidney Jurado de Carvalho

Departamento de Física do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE) da Universidade Estadual Paulista – UNESP, Campus de São José do Rio Preto.

---

Profº Dr. Guilherme Rodrigues Fernandes Campos

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto - FAMERP

Dedico este trabalho à minha Mãe e minha Esposa.

## AGRADECIMENTOS

Com gratidão e humildade, desejo expressar meus mais sinceros agradecimentos a todas as pessoas e instituições que, de diversas formas, contribuíram para a realização deste trabalho. Em primeiro lugar, agradeço profundamente ao meu orientador **Prof. Dr. Alexandre Suman de Araujo**, e meus colaboradores **Dr. Walter Rocchia**, e **Prof. Dr. Jakub Rydzewski**, por sua orientação generosa, pela confiança depositada em mim e por me guiar com sabedoria, paciência e entusiasmo científico ao longo desta jornada. Seu exemplo profissional e humano deixará uma marca permanente em minha formação. Agradeço ao **supercomputador Leonardo**, na Itália, e à equipe do laboratório, em especial a **Gustavo e Thaisa** pelo suporte essencial, amizade, ambiente colaborativo e pelas valiosas contribuições que tornaram possível o desenvolvimento deste trabalho. **Às mulheres fundamentais da minha vida, minha mãe Rosa Palacios e minha esposa Iza Regina Silva Dos Santos**, expressei minha gratidão mais profunda. À minha mãe, por seu amor incondicional, apoio constante e força silenciosa, que sempre foram o alicerce da minha trajetória. E à minha esposa, por sua paciência, compreensão e carinho em todos os momentos — seu apoio foi essencial para que eu mantivesse o foco e a serenidade, mesmo nos dias mais difíceis. Sem vocês, esta conquista não teria sido possível. Com muita humildade, **agradeço a Deus**, por me dar saúde, coragem e perseverança. Por abrir caminhos onde havia dúvidas e por sustentar minha fé ao longo de todo esse processo.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A todos vocês, o meu mais profundo obrigado.

*“As simulações de dinâmica molecular (DM) permitem aos pesquisadores investigar o comportamento de alvos biológicos desejados a custos cada vez menores e com precisão cada vez maior” [(Şterbuleac, 2021),p.1503, tradução nossa.]*

## RESUMO

A patologia da dengue depende do rearranjo conformacional em baixo pH da glicoproteína de envelope (E), mas ainda não está claro como variações no pH e na temperatura cooperam para desestabilizar seu estado de pré-fusão dimérico. Aqui, buscamos decifrar essa sinergia para os sorotipos de maior relevância médica, DENV-2 e DENV-3. Foram realizadas simulações de dinâmica molecular *all atom*, em escala de microssegundos, a 28 °C, 37 °C e 40 °C sob pH 5–7, utilizando campos de força CHARMM36m. O aumento da temperatura de 28 °C para 37 °C dobrou o espaço conformacional explorado em pH neutro e enfraqueceu ambos os dímeros por meio da redução ou perda da rede de interações ao longo da interface dimérica. A acidificação amplificou esse efeito de maneira específica para cada sorotipo: o DENV-2 exigiu pH 5, enquanto o DENV-3 respondeu em pH 6. As análises de distâncias e de componentes principais revelaram uma rota assimétrica de dissociação, denominada “abraço compensatório”, na qual o recuo dos Domínios I–III, II de um monômero é equilibrado pelo avanço do parceiro, preservando temporariamente os contatos intersubunidades. As análises estruturais destacaram a diferença na distribuição de histidinas entre os sorotipos. Esses resultados delineiam gatilhos físico-químicos hierárquicos que convertem o dímero em monômeros competentes para fusão. O direcionamento da rede de interações da interface ou a ruptura do “abraço compensatório” oferece novas perspectivas para antivirais de amplo espectro e para o design de imunógenos, evidenciando o valor da dinâmica molecular de longa duração na descoberta de fármacos.

**Palavras-Chave:** Vírus da dengue; glicoproteína de envelope; dinâmica molecular; protonação; desestabilização do dímero; mudança conformacional dependente de pH.

## ABSTRACT

The pathology of dengue depends on the low-pH conformational rearrangement of the envelope (E) glycoprotein, but it is still unclear how variations in pH and temperature cooperate to destabilize its pre-fusion dimeric state. Here, we seek to decipher this synergy for the serotypes of greatest medical relevance, DENV-2 and DENV-3. All-atom molecular dynamics simulations were performed on the microsecond scale, at 28 °C, 37 °C, and 40 °C under pH 5–7, using CHARMM36m force fields. The increase in temperature from 28 °C to 37 °C doubled the conformational space explored at neutral pH and weakened both dimers through the reduction or loss of the interaction network along the dimeric interface. Acidification amplified this effect in a serotype-specific manner: DENV-2 required pH 5, while DENV-3 responded at pH 6. Distance and principal component analyses revealed an asymmetric dissociation route, termed the “compensatory hug”, in which the retraction of Domains I–III, II of one monomer is balanced by the advancement of its partner, temporarily preserving inter-subunit contacts. Structural analyses highlighted the difference in histidine distribution between the serotypes. These results outline hierarchical physicochemical triggers that convert the dimer into fusion-competent monomers. Targeting the interaction network of the interface or disrupting the “compensatory hug” offers new perspectives for broad-spectrum antivirals and for immunogen design, highlighting the value of long-timescale molecular dynamics in drug discovery.

**Keywords:** Dengue virus; envelope glycoprotein; molecular dynamics; protonation; dimer destabilization; pH-dependent conformational change.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	<b>Ciclo de vida da DENV.</b> Etapas de ligação, internalização, desnudamento, síntese de proteínas, replicação do RNA, montagem e liberação. . . . .	19
Figura 2	<b>Representação do Virion do DENV e Organização genômica.</b> (A) Mostra o <i>shell</i> de proteína E, representando cada dímero com uma cor diferente. (B) Representação da organização genômica do DENV. . . . .	21
Figura 3	<b>Representação do dímero da proteína E.</b> O dímero é apresentado com os domínios I e III destacados em superfície, realçando seu contato com o loop de fusão (roxo), enquanto o domínio II é exibido em estilo <i>cartoon</i> . Os domínios I e III exibem glicosilações nos resíduos Asn153 e Asn67, respectivamente, ilustradas em representação geométrica. No Asn153, a sequência oligossacarídica é $\beta$ -D-Man(1 $\rightarrow$ 4) $\beta$ -D-GlcNAc(1 $\rightarrow$ 4)[ $\beta$ -L-Fuc(1 $\rightarrow$ 6)] $\beta$ -D-GlcNAc(1 $\rightarrow$ ), e no Asn67, $\beta$ -D-GlcNAc(1 $\rightarrow$ ), conforme co-cristalizado (PDB ID: 1OAN). Fonte: elaborado pelo autor. . . . .	23
Figura 4	<b>Mecanismo de fusão de membrana em vírus envelopados como os Flavivírus.</b> (A) A glicoproteína viral liga-se a um receptor celular, e o vírus geralmente é internalizado por endocitose. (B) Estímulos como pH ácido ou ligação a correceptores induzem uma mudança conformacional que expõe o motivo hidrofóbico de fusão. (C) Esse motivo se insere na membrana da célula hospedeira, podendo promover a formação de trímeros. (D) A proteína se refolda, aproximando o motivo de fusão da âncora transmembrana C-terminal, gerando força para aproximar e curvar as membranas. (E) O contato progressivo entre as membranas leva ao estado de hemifusão. (F) Forma-se então um poro de fusão, permitindo a liberação do conteúdo viral no citoplasma. . . . .	24
Figura 5	<b>Modelos experimentais da proteína E (pE) dos sorotipos DENV-2 e DENV-3.</b> (A) Estruturas cristalográficas completas do ectodomínio, com os dímeros de DENV-2 e DENV-3 exibidos lado a lado. Os domínios I (vermelho), II (amarelo) e III (azul), bem como o loop de fusão (roxo), estão destacados em cores distintas. Todas as histidinas são mostradas em sticks e rotuladas com o número do resíduo correspondente. (B) Sobreposição estrutural dos ectodomínios de DENV-2 e DENV-3. Os valores de TMscore e RMSD foram obtidos com o programa TM-align (Zhang; Skolnick, 2005). (C) Modelo solvatado da pE. Íons Na <sup>+</sup> e Cl <sup>-</sup> aparecem como esferas de van der Waals; as moléculas de água foram omitidas para facilitar a visualização. . . . .	36

- Figura 6 **Estabilidade conformacional da proteína E dos sorotipos DENV-2 e DENV-3.** (A) Representação gráfica do dímero de pE, com cada monômero destacado por cor distinta e apresentando duas vistas frontal e posterior. (B) Histogramas de RMSD global dos  $C_{\alpha}$ , calculados a partir das simulações realizadas a 28 °C, 37 °C e 40 °C nos pH 5, 6 e 7. (C) Diagrama de seleção de interface, indicando os resíduos cujos  $C_{\alpha}$  apresentam distância  $\leq 8$  Å com o outro protômeros. (D) Histogramas de RMSD de interface ( $C_{\alpha}$ ) para os resíduos considerados na figura (C), nas mesmas condições de temperatura e pH. . . . . 37
- Figura 7 **Perfil de flexibilidade residual (RMSF) da proteína E dos sorotipos DENV-2 e DENV-3.** (A) Curvas de RMSF ao longo da sequência para cada monômero, obtidas em simulações a 28 °C, 37 °C e 40 °C nos pH 5, 6 e 7. Acima, diagrama esquemático dos domínios DI–DIII, indicando a localização dos resíduos para facilitar a interpretação. Na legenda do gráfico, as abreviações D2 MA, D2 MB, D3 MB e D3 MC indicam o sorotipo viral (D2: DENV-2; D3: DENV-3) e a cadeia do monômero correspondente, representada por MX, onde X=A,B,C são as cadeias. . . 39
- Figura 8 **Dinâmica de dissociação dos dímeros da proteína E de DENV-2 e DENV-3 sob diferentes combinações de pH e temperatura.** (A) Histogramas da distância entre centros de massa dos monômeros ( $d_{M \rightarrow M}$ ) obtidos de 1  $\mu$ s de dinâmica molecular. A linha verde assinala 60 Å valor-limite definido como início da dissociação do dímero. (B) Instantâneos estruturais representativos das três trajetórias que exibiram a dissociação do dímero. . . . . 41
- Figura 9 **Efeito combinado de pH e temperatura sobre a dinâmica essencial do dímero da proteína E dos sorotipos DENV-2 e DENV-3.** (A) Projeções de PCA; cada ponto representa uma conformação amostrada durante 1  $\mu$ s, com gradiente de cores indicando a evolução temporal. (B) Paisagens de energia livre (FEL) no plano PC1  $\times$  PC2. (C) Modos dominantes do DENV-2. (D) Modos dominantes do DENV-3. Nos painéis C e D, os domínios DI, DII e DIII estão coloridos segundo a palheta convencional da proteína E definida anteriormente. . . . . 43

Figura 10 **Efeito combinado de pH e temperatura nas interações moleculares do dímero da proteínaE dos sorotipos DENV-2 e DENV-3.** (A) e (B) Frequência de contatos comuns ao longo de diferentes temperaturas em um dado pH. Os pares de cor azul indicam resíduos cuja frequência de contato é sensível às mudanças da temperatura. (C) Quantificação em DENV-2 e DENV-3 de pontes de hidrogênio backbone–backbone (hbbb), sidechain–backbone (hbsb) e sidechain–sidechain (hbss), além de  $\pi$ -cátion (pc) e pontes salinas (sb), nas diferentes condições de simulação. . . . . 46

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CHARMM36m	Campo de força da família CHARMM para proteínas
CHARMM-GUI	Interface web para preparação de sistemas com software CHARMM
DENV	Vírus da dengue
FEL	Paisagem de energia livre
LJ	Potencial de Lennard-Jones
MD	Dinâmica molecular
NAMD	Dinâmica molecular em escala nanométrica
PCA	Análise de componentes principais
PDB	Banco de dados de proteínas
pE	Proteína de envelope
PME	Método de partição em malha de partículas
PROPKA	Programa de predição de pKa para resíduos tituláveis
RMSD	Desvio quadrático médio das posições atômicas
RMSF	Flutuação quadrática média
TIP3P	Modelo de água com três pontos
VMD	Visualização de dinâmica molecular

## LISTA DE SÍMBOLOS

$k_B$	Constante de Boltzmann
$T$	Temperatura absoluta (Kelvin)
$\Delta G$	Energia livre de Gibbs
$r_{ij}$	Distância entre dois átomos ou partículas
$t$	Tempo (picosegundos ou nanosegundos)
$F$	Força aplicada
$\gamma$	Constante de fricção
RMSD	Desvio quadrático médio das posições atômicas
RMSF	Flutuação quadrática média
$\langle \dots \rangle$	Valor médio ou esperado (média estatística)

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> . . . . .	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> . . . . .	<b>19</b>
2.1	CICLO DE VIDA DO DENV E PATOGÊNESE . . . . .	19
2.2	ORGANIZAÇÃO GENÔMICA E PROTEÔMICA . . . . .	20
2.3	SOROTIPOS E RELEVÂNCIA CLÍNICA . . . . .	22
2.4	ESTRUTURA E FUNÇÃO DA GLICOPROTEÍNA DE ENVELOPE . . . . .	22
2.5	MUDANÇAS CONFORMACIONAIS DA PROTEÍNA E INDUZIDAS POR pH . . . . .	25
2.6	MUDANÇAS CONFORMACIONAIS DA PROTEÍNA E INDUZIDAS POR TEMPERATURA . . . . .	26
2.7	BASES TEÓRICAS E COMPUTACIONAIS DA DINÂMICA MOLECULAR	27
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> . . . . .	<b>32</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> . . . . .	<b>33</b>
4.1	PREPARAÇÃO DO SISTEMA . . . . .	33
4.2	SIMULAÇÕES DE DINÂMICA MOLECULAR . . . . .	33
4.3	ANÁLISE DAS TRAJETÓRIAS . . . . .	34
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> . . . . .	<b>35</b>
5.1	COMPARAÇÃO ESTRUTURAL DO ECTODOMÍNIO DA PROTEÍNA E E DISTRIBUIÇÃO DE HISTIDINAS NOS SOROTIPOS DENV-2 E DENV-3	35
5.2	ESTABILIDADE DO DÍMERO SOB VARIAÇÕES DE pH E TEMPERATURA	37
5.3	FLUTUAÇÕES LOCAIS NA INTERFACE E FLEXIBILIDADE POR RESÍ- DUO . . . . .	38
5.4	pH E TEMPERATURA DESENCADAM A DISSOCIAÇÃO DO DÍ- MERO DE pE AO LONGO DE $1\mu s$ DE DINÂMICA MOLECULAR . . . . .	40
5.5	EFEITO DE pH E TEMPERATURA SOBRE A DINÂMICA ESSENCIAL DO DÍMERO DA pE . . . . .	42
5.6	EFEITO SINÉRGICO DO pH E DA TEMPERATURA NAS INTERAÇÕES MOLECULARES DO DÍMERO DA PROTEÍNA E . . . . .	44
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> . . . . .	<b>48</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> . . . . .	<b>49</b>

<b>APÊNDICE A – PREPRINT SUBMETIDO . . . . .</b>	<b>59</b>
<b>DADOS CURRICULARES . . . . .</b>	<b>85</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os flavivírus são um gênero de vírus pertencente à família *Flaviviridae*, caracterizados por apresentarem um genoma de RNA de cadeia simples, de polaridade positiva (+ssRNA), com aproximadamente 10–11 kb. São vírus envelopados, de morfologia esférica e simetria icosaédrica, cujo envelope lipídico contém as glicoproteínas de membrana (M) e de envelope (E), essenciais para os processos de entrada e fusão viral. Transmitidos principalmente por artrópodes hematófagos, sobretudo mosquitos dos gêneros *Aedes* e *Culex*. Esses vírus representam uma ameaça significativa à saúde pública mundial, estando associados a doenças graves como a dengue, zika, febre amarela e encefalite do Nilo Ocidental (Huang et al., 2021; Kuhn et al., 2002; Stephenson, 1988). Em particular o vírus da dengue (DENV), infectam milhões de pessoas anualmente, causando febre alta e manifestações graves, que podem ir desde a febre da dengue (DF) autolimitada, até formas graves potencialmente mortais como a febre hemorrágica da dengue (DHF) e síndrome de shock por dengue (DSS) (Guzman; Harris, 2015; Huang et al., 2021; Sinha et al., 2024). Além do impacto global da doença e sua relevância para a humanidade, atualmente não existem terapias antivirais específicas e eficazes contra DENV, e as vacinas disponíveis enfrentam desafios em relação a promover uma resposta imunológica forte para todos os sorotipos (DENV1–4) e os riscos associados com a imunização de indivíduos soronegativos (Kim et al., 2024; Lee; Wu; Poh, 2023).

O mecanismo de penetração do DENV envolve mudanças conformacionais na proteína de envelope (pE), uma glicoproteína que recobre densamente a superfície do vírus maduro, se envolvendo em funções cruciais na ligação a receptores celulares, promove a fusão de membranas mediadas por pH ácido em endossomos e é o principal alvo de anticorpos neutralizantes (Stiasny; Kiermayr; Heinz, 2006; Zaitseva et al., 2010). No vírion maduro, a proteína E se organiza predominantemente como homodímeros dispostos assimetricamente (cabeça-cauda), formando uma estrutura icosaédrica em condições neutras ou ligeiramente alcalinas (Zaitseva et al., 2010). Entretanto, ao ser internalizado pela célula hospedeira e atingir um endossomo acidificado, a proteína E sofre alterações conformacionais que fazem com que os dímeros se dissociem em monômeros, aumentando a flexibilidade e expondo domínios cruciais. Em seguida, esses monômeros se rearranjam e se associam para formar trímeros estáveis, essenciais para a fusão do vírion com a membrana celular e a liberação do genoma viral no citoplasma da célula-hospedeira (Klein; Choi; Harrison, 2013; Zhang; Kai; Lu, 2020).

A estabilidade e a dinâmica conformacional da pE são críticas para a infecção viral (Sharma et al., 2019; Zhang; Kai; Lu, 2020). Em pesquisas anteriores, observou-se, que o switch de 28 °C (temperatura do vetor) para a temperatura de 37 °C (temperatura do hospedeiro), a partícula madura do DENV perde sua simetria e os dímeros da pE não estabelecem as interações laterais específicas vistas na estrutura a 28 °C (Lim et al., 2019). Compreender os determinantes moleculares que governam a estabilidade do dímero da pE é de suma importância para o

desenvolvimento de estratégias antivirais (Anasir; Ramanathan; Poh, 2020). A interface do dímero e as regiões envolvidas nas transições conformacionais representam também regiões atrativas para intervenção terapêutica, com o fim de inibir a entrada do vírus (Perera; Khaliq; Kuhn, 2008).

As metodologias de simulações moleculares, e técnicas de amostragem aprimoradas, oferecem ferramentas poderosas para pesquisar estes processos a nível atômico (Prakash; Barducci; Parrinello, 2010). Estas simulações permitem explorar a influência de fatores físico-químicos como pH e temperatura, assim como as diferenças intrínsecas entre sorotipos, que influem na sua estrutura e dinâmica, e energética, provendo informação detalhada sobre os mecanismos que governam a estabilidade do dímero da pE (Hollingsworth; Dror, 2018; Prakash; Barducci; Parrinello, 2010).

No contexto de desvendar os fatores moleculares que modulam a estabilidade da proteína de envelope no vírus da dengue, torna-se essencial compreender como variáveis físico-químicas fundamentais, como pH e temperatura, influenciam o comportamento estrutural do dímero da proteína E. Essas condições ambientais atuam diretamente sobre estados de protonação, interações eletrostáticas e intensidade das flutuações térmicas, podendo alterar a organização da interface dimérica e deslocar os equilíbrios estruturais quaternários. A dinâmica molecular constitui uma abordagem apropriada para essa investigação, pois permite descrever, em nível atômico e com resolução temporal, a resposta do sistema a essas perturbações, capturando movimentos coletivos, reorganizações estruturais e eventos associados à dissociação. Assim, o objetivo deste estudo é caracterizar quantitativamente como pH e temperatura modulam a estabilidade, a dinâmica e os equilíbrios conformacionais do dímero da proteína E, identificando os determinantes moleculares subjacentes a esses processos.

## 6 CONCLUSÃO

Este estudo empregou simulações de dinâmica molecular *all-atom* para demonstrar que o pH e a temperatura atuam como gatilhos fisicoquímicos sinérgicos que remodelam o panorama conformacional da proteína do envelope do vírus da dengue (pE) nos sorotipos 2 e 3 (DENV-2 e DENV-3). Embora os ectodomínios sejam globalmente conservados, diferenças sutis na sequência primária, mais notadamente na distribuição espacial de histidinas, sugerem que existe respostas dinâmicas e limiares de estabilidade específicos de cada sorotipo. O DENV-2 apresentou sua maior labilidade estrutural em pH 5 e 37 °C, condições que mimetizam o endossomo humano, enquanto o DENV-3 tornou-se preferencialmente desestabilizado em pH 6 e 37 °C. Ambos os sorotipos também exibiram uma tendência intrínseca à dissociação em pH neutro e 37 °C, ressaltando sua propensão ao estado monomérico. O aumento da temperatura de 28 °C para 37 °C atuou como um “interruptor” térmico, expandindo significativamente o espaço conformacional e enfraquecendo a interface dimérica por meio da perda ou atenuação de pontes salinas e ligações de hidrogênio.

Um achado central foi um mecanismo assimétrico de dissociação denominado “abraço compensatório”. À medida que os protômeros se separam, a retração dos Domínios I, II ou III em um monômero é contrabalançada pelo avanço do domínio correspondente no seu parceiro, preservando temporariamente os contatos intersubunidades e mascarando a separação inicial. Movimentos essenciais revelam rotações e balanços acoplados desses domínios, identificando um alvo terapêutico tangível: a ruptura desse abraço deve dificultar a transição de dímero para monômero e, conseqüentemente, a fusão viral.

Ao correlacionar sinais ambientais com rearranjos em escala atômica, o trabalho refina os modelos atuais de entrada do vírus da dengue e fornece um mapa detalhado das interações que sustentam a integridade do dímero. O reforço seletivo desses contatos, ou a inibição direta do mecanismo de abraço compensatório, emerge como uma via racional para o desenvolvimento de antivirais de nova geração, anticorpos amplamente neutralizantes e candidatos vacinais projetados para estabilizar a pE e impedir a fusão de membranas.

## REFERÊNCIAS

- ACOSTA, E. G.; CASTILLA, V.; DAMONTE, E. B. Differential Requirements in Endocytic Trafficking for Penetration of Dengue Virus. **PLOS ONE**, v. 7, n. 9, p. e44835, set. 2012. ISSN 1932-6203. Publisher: Public Library of Science. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0044835>.
- ACOSTA, E. G.; KUMAR, A.; BARTENSCHLAGER, R. Chapter One - Revisiting Dengue Virus–Host Cell Interaction: New Insights into Molecular and Cellular Virology. In: MARAMOROSCH, K.; MURPHY, F. A. (Ed.). **Advances in Virus Research**. Academic Press, 2014. v. 88, p. 1–109. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128000984000015>.
- ANASIR, M. I.; RAMANATHAN, B.; POH, C. L. Structure-Based Design of Antivirals against Envelope Glycoprotein of Dengue Virus. **Viruses**, v. 12, n. 4, p. 367, mar. 2020. ISSN 1999-4915. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7232406/>.
- ANIKA, T. K. et al. **Single VLP lipid-mixing measurements confirm off-pathway state in dengue virus fusion mechanism**. bioRxiv, 2025. Pages: 2025.03.21.644571 Section: New Results. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2025.03.21.644571v1>.
- BEHURA, S. K.; SEVERSON, D. W. Nucleotide substitutions in dengue virus serotypes from Asian and American countries: insights into intracodon recombination and purifying selection. **BMC microbiology**, v. 13, p. 37, fev. 2013. ISSN 1471-2180.
- BERGAMASCHI, G. et al. Computational Analysis of Dengue Virus Envelope Protein (E) Reveals an Epitope with Flavivirus Immunodiagnostic Potential in Peptide Microarrays. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 8, p. 1921, abr. 2019. ISSN 1422-0067. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6514720/>.
- BERMAN, H.; HENRICK, K.; NAKAMURA, H. Announcing the worldwide Protein Data Bank. **Nature Structural & Molecular Biology**, v. 10, n. 12, p. 980–980, dez. 2003. ISSN 1545-9985. Publisher: Nature Publishing Group. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nsb1203-980>.
- BERMAN, H. M. et al. The Protein Data Bank. **Nucleic Acids Research**, v. 28, n. 1, p. 235–242, jan. 2000. ISSN 0305-1048. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>.
- BEST, R. B. et al. Optimization of the Additive CHARMM All-Atom Protein Force Field Targeting Improved Sampling of the Backbone , and Side-Chain 1 and 2 Dihedral Angles. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 8, n. 9, p. 3257–3273, set. 2012. ISSN 1549-9618. Publisher: American Chemical Society. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ct300400x>.
- Bonvin Lab. **Molecular Dynamics Simulation of the p53 N-Terminal Peptide**. 2025. Bonvin Lab – Molecular Modeling Education Resource. Accessed: 20 Jul 2025. Disponível em: <https://www.bonvinlab.org/education/molmod/simulation/>.
- BRAUN, E. et al. Best Practices for Foundations in Molecular Simulations [Article v1.0]. **Living Journal of Computational Molecular Science**, v. 1, n. 1, p. 5957–5957, 2019. ISSN

2575-6524. Number: 1. Disponível em: <https://livecomsjournal.org/index.php/livecoms/article/view/v1i1e5957>.

BRÜNGER, A.; BROOKS, C. L.; KARPLUS, M. Stochastic boundary conditions for molecular dynamics simulations of ST2 water. **Chemical Physics Letters**, v. 105, n. 5, p. 495–500, mar. 1984. ISSN 0009-2614. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0009261484800986>.

BURLEY, S. et al. Updated resources for exploring experimentally-determined PDB structures and Computed Structure Models at the RCSB Protein Data Bank. **Nucleic Acids Research**, v. 53, n. D1, p. D564–D574, jan. 2025. ISSN 1362-4962. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/gkae1091>.

BUSSI, G.; DONADIO, D.; PARRINELLO, M. Canonical sampling through velocity rescaling. **The Journal of Chemical Physics**, v. 126, n. 1, p. 014101, jan. 2007. ISSN 0021-9606. Disponível em: <https://doi.org/10.1063/1.2408420>.

BÄCK, A. T.; LUNDKVIST, Dengue viruses – an overview. **Infection Ecology & Epidemiology**, v. 3, p. 10.3402/iee.v3i0.19839, ago. 2013. ISSN 2000-8686. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3759171/>.

CAMPOS, J. L. S. et al. Temperature-dependent folding allows stable dimerization of secretory and virus-associated E proteins of Dengue and Zika viruses in mammalian cells. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 966, abr. 2017. ISSN 2045-2322. Publisher: Nature Publishing Group. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-017-01097-5>.

CASTRO, M. et al. Fusion and fission events regulate endosome maturation and viral escape. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 7845, abr. 2021. ISSN 2045-2322.

CASWELL, T. A. et al. **matplotlib/matplotlib: REL: v3.7.1**. Zenodo, 2023. Disponível em: <https://zenodo.org/records/7697899>.

CHAO, L. H. et al. How small-molecule inhibitors of dengue-virus infection interfere with viral membrane fusion. **eLife**, v. 7, p. e36461, jul. 2018. ISSN 2050-084X.

CHAUDHURY, S. et al. Dengue virus antibody database: Systematically linking serotype-specificity with epitope mapping in dengue virus. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 2, p. e0005395, 2017. Acesso em: 19 jun. 2025. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0005395>.

CHAUDHURY, S.; RIPOLL, D. R.; WALLQVIST, A. Structure-based pKa prediction provides a thermodynamic basis for the role of histidines in pH-induced conformational transitions in dengue virus. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 4, n. 375–385, p. 375–385, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2015.10.014>.

CHOTIWAN, N. et al. Molecular Determinants of Dengue Virus 2 Envelope Protein Important for Virus Entry in FcRIIA-Mediated Antibody-Dependent Enhancement of Infection. **Virology**, v. 0, p. 238–246, maio 2014. ISSN 0042-6822. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4583201/>.

CHRISTIAN, E. A. et al. Atomic-level functional model of dengue virus Envelope protein infectivity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of**

**America**, v. 110, n. 46, p. 18662–18667, nov. 2013. ISSN 0027-8424. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3831943/>.

CRUZ-OLIVEIRA, C. et al. Receptors and routes of dengue virus entry into the host cells. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 39, n. 2, p. 155–170, mar. 2015. ISSN 0168-6445. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/femsre/fuu004>.

CÉLERSE, F. et al. Massively Parallel Implementation of Steered Molecular Dynamics in Tinker-HP: Comparisons of Polarizable and Non-Polarizable Simulations of Realistic Systems. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 15, n. 6, p. 3694–3709, jun. 2019. ISSN 1549-9618. Publisher: American Chemical Society. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.9b00199>.

DARDEN, T.; YORK, D.; PEDERSEN, L. Particle mesh Ewald: An  $N \log(N)$  method for Ewald sums in large systems. **The Journal of Chemical Physics**, v. 98, n. 12, p. 10089–10092, jun. 1993. ISSN 0021-9606. Disponível em: <https://doi.org/10.1063/1.464397>.

DIAMOND, M. S.; PIERSON, T. C. Molecular Insight into Dengue Virus Pathogenesis and its Implications for Disease Control. **Cell**, v. 162, n. 3, p. 488–492, jul. 2015. ISSN 0092-8674. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4522276/>.

DUBEY, K. D.; CHAUBEY, A. K.; OJHA, R. P. Stability of trimeric DENV envelope protein at low and neutral pH: an insight from MD study. **Biochimica Et Biophysica Acta**, v. 1834, n. 1, p. 53–64, jan. 2013. ISSN 0006-3002.

ELBER, R.; RUYMGAART, A. P.; HESS, B. SHAKE parallelization. **The European physical journal. Special topics**, v. 200, n. 1, p. 211–223, nov. 2011. ISSN 1951-6355. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3285512/>.

FELLER, S. E. et al. Constant pressure molecular dynamics simulation: The Langevin piston method. **The Journal of Chemical Physics**, v. 103, n. 11, p. 4613–4621, set. 1995. ISSN 0021-9606. Disponível em: <https://doi.org/10.1063/1.470648>.

FIBRIANSAH, G. et al. Antibody affinity versus dengue morphology influences neutralization. **PLoS Pathogens**, v. 17, n. 2, p. e1009331, fev. 2021. ISSN 1553-7366. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7935256/>.

FIBRIANSAH, G. et al. A potent anti-dengue human antibody preferentially recognizes the conformation of E protein monomers assembled on the virus surface. **EMBO Molecular Medicine**, v. 6, n. 3, p. 358–371, mar. 2014. ISSN 1757-4676. Num Pages: 371 Publisher: Springer Nature. Disponível em: <https://www.embopress.org/doi/full/10.1002/emmm.201303404>.

FIBRIANSAH, G. et al. A highly potent human antibody neutralizes dengue virus serotype 3 by binding across three surface proteins. **Nature Communications**, v. 6, n. 1, p. 6341, fev. 2015. ISSN 2041-1723. Publisher: Nature Publishing Group. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/ncomms7341>.

FRENKEL, D.; SMIT, B. Chapter 4 - Molecular Dynamics Simulations. In: FRENKEL, D.; SMIT, B. (Ed.). **Understanding Molecular Simulation (Second Edition)**. San Diego: Academic Press, 2002. p. 63–107. ISBN 978-0-12-267351-1. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780122673511500067>.

FRITZ, R.; STIASNY, K.; HEINZ, F. X. Identification of specific histidines as pH sensors in flavivirus membrane fusion. **The Journal of Cell Biology**, v. 183, n. 2, p. 353–361, out. 2008. ISSN 0021-9525. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2568029/>.

GOO, L. et al. A single mutation in the envelope protein modulates flavivirus antigenicity, stability, and pathogenesis. **PLoS pathogens**, v. 13, n. 2, p. e1006178, fev. 2017. ISSN 1553-7374.

GROMOWSKI, G. D.; BARRETT, N. D.; BARRETT, A. D. T. Characterization of Dengue Virus Complex-Specific Neutralizing Epitopes on Envelope Protein Domain III of Dengue 2 Virus. **Journal of Virology**, v. 82, n. 17, p. 8828–8837, set. 2008. ISSN 0022-538X. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2519678/>.

GUZMAN, M. G.; HARRIS, E. Dengue. **The Lancet**, v. 385, n. 9966, p. 453–465, jan. 2015. ISSN 0140-6736, 1474-547X. Publisher: Elsevier. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(14\)60572-9/abstract](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(14)60572-9/abstract).

HARRISON, S. C. Viral membrane fusion. **Virology**, v. 479-480, p. 498–507, maio 2015. ISSN 1096-0341.

HENDERSON, R. et al. Controlling the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein Conformation. **bioRxiv: The Preprint Server for Biology**, p. 2020.05.18.102087, maio 2020. ISSN 2692-8205.

HESS, B. et al. LINCS: A linear constraint solver for molecular simulations. **Journal of Computational Chemistry**, v. 18, n. 12, p. 1463–1472, 1997. ISSN 1096-987X. \_eprint: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/%28SICI%291096-987X%28199709%2918%3A12%3C1463%3A%3AAID-JCC4%3E3.0.CO%3B2-H>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/%28SICI%291096-987X%28199709%2918%3A12%3C1463%3A%3AAID-JCC4%3E3.0.CO%3B2-H>.

HOLLINGSWORTH, S. A.; DROR, R. O. Molecular Dynamics Simulation for All. **Neuron**, v. 99, n. 6, p. 1129–1143, set. 2018. ISSN 08966273. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896627318306846>.

HSIEH, S.-C. et al. Highly conserved residues in the helical domain of dengue virus type 1 precursor membrane protein are involved in assembly, precursor membrane (prM) protein cleavage, and entry. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 289, n. 48, p. 33149–33160, nov. 2014. ISSN 1083-351X.

HU, T. et al. Substitutions at Loop Regions of TMUV E Protein Domain III Differentially Impair Viral Entry and Assembly. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, jun. 2021. ISSN 1664-302X. Publisher: Frontiers. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2021.688172/full>.

HUANG, C.-H. et al. Dengue vaccine: an update. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 19, n. 12, p. 1495–1502, dez. 2021. ISSN 1478-7210, 1744-8336. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14787210.2021.1949983>.

HUANG, J. et al. CHARMM36m: an improved force field for folded and intrinsically disordered proteins. **Nature Methods**, v. 14, n. 1, p. 71–73, jan. 2017. ISSN 1548-7105.

HUMPHREY, W.; DALKE, A.; SCHULTEN, K. VMD: Visual molecular dynamics. **Journal of Molecular Graphics**, v. 14, n. 1, p. 33–38, fev. 1996. ISSN 0263-7855. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0263785596000185>.

HÉNIN, J.; CHIPOT, C.; GUMBART, J. C. **Free Energy Calculations along a Reaction Coordinate: A Tutorial for Adaptive Biasing Force Simulations**. 2014. NAMD / Theoretical and Computational Biophysics Group Training Tutorial. Accessed: 20 Jul 2025. Disponível em: <https://www.ks.uiuc.edu/Training/Tutorials/namd/ABF/oldfiles/tutorial-abf.pdf>.

ISLAM, R. et al. Dengue epidemiology and pathogenesis: images of the future viewed through a mirror of the past. **Virologica Sinica**, v. 30, n. 5, p. 326–343, 2015. ISSN 1674-0769. Publisher: Virologica Sinica. Disponível em: <https://www.virosin.org/article/doi/10.1007/en/article/doi/10.1007/s12250-015-3624-1>.

JO, S. et al. Chapter Eight - CHARMM-GUI PDB Manipulator for Advanced Modeling and Simulations of Proteins Containing Nonstandard Residues. In: KARABENCHEVA-CHRISTOVA, T. (Ed.). **Advances in Protein Chemistry and Structural Biology**. Academic Press, 2014, (Biomolecular Modelling and Simulations, v. 96). p. 235–265. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876162314000030>.

JORGENSEN, W. L. et al. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. **The Journal of Chemical Physics**, v. 79, n. 2, p. 926–935, jul. 1983. ISSN 0021-9606. Disponível em: <https://doi.org/10.1063/1.445869>.

KHAN, A. M. et al. Conservation and Variability of Dengue Virus Proteins: Implications for Vaccine Design. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 2, n. 8, p. e272, ago. 2008. ISSN 1935-2727. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2491585/>.

KHAN, M. B. et al. Dengue overview: An updated systemic review. **Journal of Infection and Public Health**, v. 16, n. 10, p. 1625–1642, out. 2023. ISSN 1876-0341. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876034123002587>.

KHANAM, A. et al. Immune-Mediated Pathogenesis in Dengue Virus Infection. **Viruses**, v. 14, n. 11, p. 2575, nov. 2022. ISSN 1999-4915. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9699586/>.

KIM, S.-R. et al. Antiviral activity of pimecrolimus against dengue virus type 2 infection in vitro and in vivo. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 13303, jun. 2024. ISSN 2045-2322. Publisher: Nature Publishing Group. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-024-61127-x>.

KLEIN, D. E.; CHOI, J. L.; HARRISON, S. C. Structure of a Dengue Virus Envelope Protein Late-Stage Fusion Intermediate. **Journal of Virology**, v. 87, n. 4, p. 2287–2293, fev. 2013. ISSN 0022-538X. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3571469/>.

KUDLACEK, S. T. et al. Designed, highly expressing, thermostable dengue virus 2 envelope protein dimers elicit quaternary epitope antibodies. **Science Advances**, v. 7, n. 42, p. eabg4084, 2021. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.abg4084>.

KUDLACEK, S. T. et al. Physiological temperatures reduce dimerization of dengue and Zika virus recombinant envelope proteins. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 293, n. 23, p. 8922–8933, jun. 2018. ISSN 0021-9258. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5995514/>.

KUHN, R. J. et al. Structure of Dengue Virus: Implications for Flavivirus Organization, Maturation, and Fusion. **Cell**, v. 108, n. 5, p. 717–725, mar. 2002. ISSN 0092-8674. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4152842/>.

LEE, M. F.; WU, Y. S.; POH, C. L. Molecular Mechanisms of Antiviral Agents against Dengue Virus. **Viruses**, v. 15, n. 3, p. 705, mar. 2023. ISSN 1999-4915. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10056858/>.

LI, L. et al. The Flavivirus Precursor Membrane-Envelope Protein Complex: Structure and Maturation. **Science**, v. 319, n. 5871, p. 1830–1834, mar. 2008. ISSN 0036-8075, 1095-9203. Publisher: American Association for the Advancement of Science (AAAS). Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1153263>.

LI, Y.; MODIS, Y. A novel membrane fusion protein family in flaviviridae? **Trends in Microbiology**, v. 22, p. 176–182, 2014.

LIM, X.-N. et al. Molecular basis of dengue virus serotype 2 morphological switch from 29°C to 37°C. **PLoS Pathogens**, v. 15, n. 9, p. e1007996, set. 2019. ISSN 1553-7366. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6752767/>.

LIM, X.-X. et al. Conformational changes in intact dengue virus reveal serotype-specific expansion. **Nature Communications**, v. 8, n. 1, p. 14339, fev. 2017. ISSN 2041-1723. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/ncomms14339>.

LIU, H.-Y.; YANG, P. L. Small-Molecule Inhibition of Viral Fusion Glycoproteins. **Annual review of virology**, v. 8, n. 1, p. 459–489, set. 2021. ISSN 2327-056X. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8543812/>.

LOZACH, P.-Y. et al. Dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule 3-grabbing non-integrin (DC-SIGN)-mediated enhancement of dengue virus infection is independent of DC-SIGN internalization signals. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 280, n. 25, p. 23698–23708, jun. 2005. ISSN 0021-9258.

MACKERELL, A. D. J. et al. All-Atom Empirical Potential for Molecular Modeling and Dynamics Studies of Proteins. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 102, n. 18, p. 3586–3616, abr. 1998. ISSN 1520-6106. Publisher: American Chemical Society. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jp973084f>.

MALONEY, B. E. et al. Identification of the flavivirus conserved residues in the envelope protein hinge region for the rational design of a candidate West Nile live-attenuated vaccine. **NPJ Vaccines**, v. 8, p. 172, nov. 2023. ISSN 2059-0105. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10628263/>.

MARTYNA, G. J.; TOBIAS, D. J.; KLEIN, M. L. Constant pressure molecular dynamics algorithms. **The Journal of Chemical Physics**, v. 101, n. 5, p. 4177–4189, set. 1994. ISSN 0021-9606. Disponível em: <https://doi.org/10.1063/1.467468>.

MARTÍN, C. S.-S.; LIU, C. Y.; KIELIAN, M. Dealing with low pH: entry and exit of alphaviruses and flaviviruses. **Trends in microbiology**, v. 17, n. 11, p. 514–521, nov. 2009. ISSN 0966-842X. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2783195/>.

MENG, E. C. et al. UCSF ChimeraX: Tools for structure building and analysis. **Protein Science: A Publication of the Protein Society**, v. 32, n. 11, p. e4792, nov. 2023. ISSN 1469-896X.

MICHAUD-AGRAWAL, N. et al. MDAAnalysis: a toolkit for the analysis of molecular dynamics simulations. **Journal of Computational Chemistry**, v. 32, n. 10, p. 2319–2327, jul. 2011. ISSN 1096-987X.

MODIS, Y. et al. A ligand-binding pocket in the dengue virus envelope glycoprotein. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, n. 12, p. 6986–6991, jun. 2003. Publisher: Proceedings of the National Academy of Sciences. Disponível em: <https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.0832193100>.

MODIS, Y. et al. Variable Surface Epitopes in the Crystal Structure of Dengue Virus Type 3 Envelope Glycoprotein. **Journal of Virology**, v. 79, n. 2, p. 1223–1231, jan. 2005. ISSN 0022-538X. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC538574/>.

MURUGESAN, A.; MANOHARAN, M. Dengue Virus. **Emerging and Reemerging Viral Pathogens**, p. 281–359, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7149978/>.

NANAWARE, N. et al. Dengue Virus Infection: A Tale of Viral Exploitations and Host Responses. **Viruses**, v. 13, n. 10, p. 1967, set. 2021. ISSN 1999-4915. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8541669/>.

NG, W. C. et al. The 5 and 3 Untranslated Regions of the Flaviviral Genome. **Viruses**, v. 9, n. 6, p. 137, jun. 2017. ISSN 1999-4915. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5490814/>.

OLSSON, M. H. M. et al. PROPKA3: Consistent Treatment of Internal and Surface Residues in Empirical pKa Predictions. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 7, n. 2, p. 525–537, fev. 2011. ISSN 1549-9618. Publisher: American Chemical Society. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ct100578z>.

OSAWA, T. et al. Structures of dengue virus RNA replicase complexes. **Molecular Cell**, v. 83, n. 15, p. 2781–2791.e4, ago. 2023. ISSN 1097-2765. Publisher: Elsevier. Disponível em: [https://www.cell.com/molecular-cell/abstract/S1097-2765\(23\)00470-7](https://www.cell.com/molecular-cell/abstract/S1097-2765(23)00470-7).

PARK, S. J. et al. Charmm-gui pdb manipulator: Various pdb structural modifications for biomolecular modeling and simulation. **Journal of Molecular Biology**, p. 167995, 2023.

PERERA, R.; KHALIQ, M.; KUHN, R. J. Closing the door on flaviviruses: Entry as a target for antiviral drug design. **Antiviral research**, v. 80, n. 1, p. 11–22, out. 2008. ISSN 0166-3542. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2646114/>.

PERERA, R.; KUHN, R. J. Structural Proteomics of Dengue Virus. **Current opinion in microbiology**, v. 11, n. 4, p. 369–377, ago. 2008. ISSN 1369-5274. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2581888/>.

PHAN, T. T. et al. A conserved set of mutations for stabilizing soluble envelope protein dimers from dengue and Zika viruses to advance the development of subunit vaccines. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 298, n. 7, p. 102079, maio 2022. ISSN 0021-9258. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9249817/>.

PHILLIPS, J. C. et al. Scalable molecular dynamics with NAMD. **Journal of Computational Chemistry**, v. 26, n. 16, p. 1781–1802, dez. 2005. ISSN 0192-8651, 1096-987X. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcc.20289>.

PHILLIPS, J. C. et al. Scalable molecular dynamics on CPU and GPU architectures with NAMD. **The Journal of Chemical Physics**, v. 153, n. 4, p. 044130, jul. 2020. ISSN 0021-9606. Publisher: American Institute of Physics. Disponível em: <https://aip.scitation.org/doi/10.1063/5.0014475>.

PIKKEMAAT, M. G. et al. Molecular dynamics simulations as a tool for improving protein stability. **Protein Engineering**, v. 15, n. 3, p. 185–192, mar. 2002. ISSN 0269-2139.

PRAKASH, M. K.; BARDUCCI, A.; PARRINELLO, M. Probing the Mechanism of pH-Induced Large-Scale Conformational Changes in Dengue Virus Envelope Protein Using Atomistic Simulations. **Biophysical Journal**, v. 99, n. 2, p. 588–594, jul. 2010. ISSN 0006-3495. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2905125/>.

RODENHUIS-ZYBERT, I. A.; WILSCHUT, J.; SMIT, J. M. Dengue virus life cycle: viral and host factors modulating infectivity. **Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS**, v. 67, n. 16, p. 2773–2786, abr. 2010. ISSN 1420-682X. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11115823/>.

ROUVINSKI, A. et al. Covalently linked dengue virus envelope glycoprotein dimers reduce exposure of the immunodominant fusion loop epitope. **Nature Communications**, v. 8, n. 1, p. 15411, maio 2017. ISSN 2041-1723. Publisher: Nature Publishing Group. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/ncomms15411>.

ROUVINSKI, A. et al. Recognition determinants of broadly neutralizing human antibodies against dengue viruses. **Nature**, v. 520, n. 7545, p. 109–113, 2015.

RYCKAERT, J.-P.; CICCOTTI, G.; BERENDSEN, H. J. C. Numerical Integration of the Cartesian Equations of Motion of a System with Constraints: Molecular Dynamics of n-Alkanes. **Journal of Computational Physics**, v. 23, p. 327–341, mar. 1977. ISSN 0021-9991. ADS Bibcode: 1977JCoPh..23..327R. Disponível em: <https://ui.adsabs.harvard.edu/abs/1977JCoPh..23..327R>.

SCHAAR, H. M. v. d. et al. Dissecting the Cell Entry Pathway of Dengue Virus by Single-Particle Tracking in Living Cells. **PLOS Pathogens**, v. 4, n. 12, p. e1000244, dez. 2008. ISSN 1553-7374. Publisher: Public Library of Science. Disponível em: <https://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1000244>.

SCHAAR, H. M. van der et al. Characterization of the Early Events in Dengue Virus Cell Entry by Biochemical Assays and Single-Virus Tracking. **Journal of Virology**, v. 81, n. 21, p. 12019–12028, nov. 2007. ISSN 0022-538X. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2168764/>.

SCHIODT, M. et al. Existing data sources for clinical epidemiology: Scandinavian Cohort for osteonecrosis of the jaw – work in progress and challenges. **Clinical Epidemiology**, v. 7, p. 107–116, jan. 2015. ISSN 1179-1349. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4315392/>.

SELINGER, M. et al. Tick-borne encephalitis virus capsid protein induces translational shutoff as revealed by its structural–biological analysis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 298, n. 11, p. 102585, nov. 2022. ISSN 0021-9258. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021925822010286>.

- SHARMA, K. K. et al. Infectivity of Dengue Virus Serotypes 1 and 2 Is Correlated with E-Protein Intrinsic Dynamics but Not to Envelope Conformations. **Structure**, v. 27, n. 4, p. 618–630.e4, abr. 2019. ISSN 0969-2126. Publisher: Elsevier. Disponível em: [https://www.cell.com/structure/abstract/S0969-2126\(18\)30462-3](https://www.cell.com/structure/abstract/S0969-2126(18)30462-3).
- SIMMONETT, A. C.; BROOKS, B. R. Analytical Hessians for Ewald and particle mesh Ewald electrostatics. **The Journal of Chemical Physics**, v. 154, n. 10, p. 104101, mar. 2021. ISSN 0021-9606. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8064412/>.
- SINHA, S. et al. Dengue virus pathogenesis and host molecular machineries. **Journal of Biomedical Science**, v. 31, p. 43, abr. 2024. ISSN 1021-7770. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11036733/>.
- STEPHENSON, J. R. Flavivirus vaccines. **Vaccine**, v. 6, n. 6, p. 471–480, dez. 1988.
- STIASNY, K.; KIERMAYR, S.; HEINZ, F. X. Entry functions and antigenic structure of flavivirus envelope proteins. **Novartis Foundation Symposium**, v. 277, p. 57–65; discussion 65–73, 251–253, 2006. ISSN 1528-2511.
- TASSANEETRITHEP, B. et al. DC-SIGN (CD209) mediates dengue virus infection of human dendritic cells. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 197, n. 7, p. 823–829, abr. 2003. ISSN 0022-1007.
- TELEHANY, S. M. et al. Identification of Zika Virus Inhibitors Using Homology Modeling and Similarity-Based Screening to Target Glycoprotein E. **Biochemistry**, v. 59, n. 39, p. 3709–3724, out. 2020. ISSN 0006-2960. Publisher: American Chemical Society. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.0c00458>.
- TEO, A. et al. Understanding antibody-dependent enhancement in dengue: Are afucosylated IgG1s a concern? **PLOS Pathogens**, v. 19, n. 3, p. e1011223, mar. 2023. ISSN 1553-7366. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10062565/>.
- Valence Labs. **An Introduction to Molecular Dynamics Simulations**. 2023. Valence Labs Blog. Accessed: 20 Jul 2025. Disponível em: <https://portal.valencelabs.com/blogs/post/an-introduction-to-molecular-dynamics-simulations-C9nXeGJ8hbNYghL>.
- VERHAEGEN, M.; VERMEIRE, K. The endoplasmic reticulum (ER): a crucial cellular hub in flavivirus infection and potential target site for antiviral interventions. **Npj Viruses**, v. 2, n. 1, p. 24, jun. 2024. ISSN 2948-1767.
- WANG, Q.-Y. et al. A Small-Molecule Dengue Virus Entry Inhibitor. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 5, p. 1823–1831, maio 2009. Publisher: American Society for Microbiology. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/aac.01148-08>.
- XU, J.; ZHANG, Y. How significant is a protein structure similarity with TM-score = 0.5? **Bioinformatics**, v. 26, n. 7, p. 889–895, abr. 2010. ISSN 1367-4803. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq066>.
- YENAMANDRA, S. P. et al. Evolution, heterogeneity and global dispersal of cosmopolitan genotype of Dengue virus type 2. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 13496, jun. 2021. ISSN 2045-2322.

ZAITSEVA, E. et al. Dengue virus ensures its fusion in late endosomes using compartment-specific lipids. **PLoS Pathogens**, v. 6, n. 10, p. e1001131, 2010.

ZHANG, H.; KAI, E. L. J.; LU, L. Investigating the stability of dengue virus envelope protein dimer using well-tempered metadynamics simulations. **Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics**, v. 88, n. 5, p. 643–653, maio 2020. ISSN 0887-3585, 1097-0134. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/prot.25844>.

ZHANG, X. et al. Structures and Functions of the Envelope Glycoprotein in Flavivirus Infections. **Viruses**, v. 9, n. 11, p. 338, nov. 2017. ISSN 1999-4915.

ZHANG, X. et al. Structures and functions of the envelope glycoprotein in flavivirus infections. **Viruses**, v. 9, n. 11, p. 338, 2017. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4915/9/11/338>.

ZHANG, X. et al. Structure of Acidic pH Dengue Virus Showing the Fusogenic Glycoprotein Trimers. **Journal of Virology**, v. 89, n. 1, p. 743–750, dez. 2014. ISSN 0022-538X. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4301137/>.

ZHANG, Y.; SKOLNICK, J. TM-align: a protein structure alignment algorithm based on the TM-score. **Nucleic Acids Research**, v. 33, n. 7, p. 2302–2309, 2005. ISSN 1362-4962.

ZHENG, A.; UMASHANKAR, M.; KIELIAN, M. In Vitro and In Vivo Studies Identify Important Features of Dengue Virus pr-E Protein Interactions. **PLoS Pathogens**, v. 6, n. 10, p. e1001157, out. 2010. ISSN 1553-7366. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2958806/>.

ZHENG, A. et al. A toggle switch controls the low pH-triggered rearrangement and maturation of the dengue virus envelope proteins. **Nature Communications**, v. 5, n. 1, p. 3877, maio 2014. ISSN 2041-1723. Publisher: Nature Publishing Group. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/ncomms4877>.

ZUZIC, L. et al. A pH-dependent cluster of charges in a conserved cryptic pocket on flaviviral envelopes. **eLife**, v. 12, p. e82447, maio 2023. ISSN 2050-084X. Publisher: eLife Sciences Publications, Ltd. Disponível em: <https://doi.org/10.7554/eLife.82447>.

ȘTERBULEAC, D. As simulações de dinâmica molecular (dm) permitem aos pesquisadores investigar o comportamento de alvos biológicos desejados a custos cada vez menores e com precisão cada vez maior. **Scientific Bulletin, Series F. Biotechnologies**, v. 25, p. 1503–1510, 2021. ISSN 2285-1364. Tradução nossa. Disponível em: [https://biotechnologyjournal.usamv.ro/pdf/2021/issue\\_2/Art31.pdf](https://biotechnologyjournal.usamv.ro/pdf/2021/issue_2/Art31.pdf).