

Modelagem Molecular da Enzima Benzoato CoA Ligase de *Xanthomonas albilineans*

Andrew A. de Oliveira¹ (PG)*, Rafael V. C. Guido (PQ)

*andrew@ursa.ifsc.usp.br

¹Laboratório de Química Medicinal e Computacional – LQMC, Instituto de Física de São Carlos, IFSC – USP

Palavras Chave: *Xanthomonas albilineans*, modelagem por homologia, escaldadura das folhas, albicidinas, benzoato.

Introdução

A escaldadura das folhas é causada pela bactéria gram-negativa *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson, sendo encontrada distribuída em praticamente todas as regiões do mundo onde a cana-de-açúcar é cultivada [Kim, 1999]. A doença causa diminuição da produtividade, necessidade de reforma precoce dos canaviais e queda de qualidade do caldo extraído que determinam prejuízos econômicos significativos para os agricultores. No Brasil, sua importância e impacto econômico têm sido subestimada devido a dificuldades no diagnóstico e diferenciação dos prejuízos causados por outras fitopatologias (e.g., raquitismo das soqueiras). A bactéria *X. albilineans* produz uma família de antibióticos e fitotoxinas conhecida como albicidinas. Essas biomoléculas são fatores patogênicos que inibem seletivamente a replicação de DNA. As características únicas da via de biossíntese de albicidinas em *X. albilineans* fazem das enzimas dessa rota metabólica alvos importantes para o planejamento racional de inibidores enzimáticos. Entre as enzimas dessa via, destaca-se a benzoato-CoA ligase (*XaBCL* – EC 6.2.1.25). A *XaBCL* é responsável pela formação de ligações carbono-enxofre. Nesse trabalho, o método de modelagem comparativa foi empregado para a construção de um modelo estrutural 3D robusto e representativo da enzima *XaBCL*. Os determinantes estruturais identificados serão úteis para a descoberta e planejamento de inibidores da enzima alvo.

Resultados e Discussão

A sequência da enzima BCL foi obtida no servidor Uniprot sob o código A1EAJ3. A *XaBCL* possui 696 aminoácidos e pertence à família das ligases. A primeira etapa do processo de modelagem comparativa consistiu na identificação de proteínas homólogas com estrutura 3D disponível. Nesse sentido, foi identificada a BCL de *Burkholderia xenovorans* (PDB ID, 2V7B) com 30% de identidade sequencial [Zhang, 1997]. A proteína de *B. xenovorans* foi utilizada como molde para a construção do modelo da proteína homóloga de *X. albilineans*.

Para a construção do modelo 3D, utilizou-se o programa Modeller 9.12, e a interface ViTaMIn

(desenvolvida em nosso laboratório). No total, foram gerados e avaliados 200 modelos. Os critérios para seleção do melhor modelo representativo da *XaBCL* incluíram qualidade dos modelos construídos e menor energia. A análise estrutural do melhor modelo indicou a presença de dois domínios $\alpha\beta$ (domínios N- e C-terminal) (**Figura 1**). Os domínios estão separados por uma região de dobradiça que apresenta um enovelamento do tipo barril- β torcido. O desvio quadrático médio entre os carbonos α do molde e do melhor modelo foi de 0,6 Å, sugerindo elevada semelhança na topologia entre as proteínas homólogas.

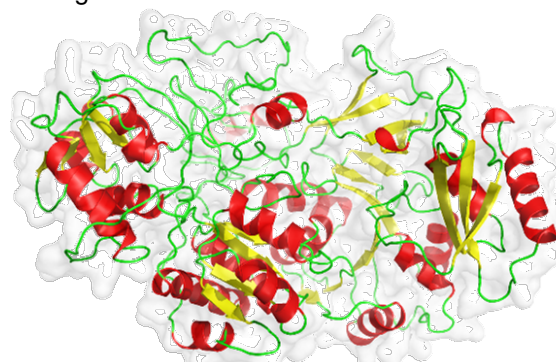


Figura 1. Modelo 3D da enzima *XaBCL*.

Conclusões

A obtenção do modelo 3D é uma etapa fundamental para a aplicação de métodos de planejamento baseado em estruturas. Nesse trabalho, um modelo representativo de *XaBCL* foi construído e validado utilizando-se como molde a estrutura cristalográfica da enzima homóloga de *B. xenovorans*. Esse modelo será extremamente útil para a descoberta e planejamento de candidatos a inibidores da enzima alvo. É importante mencionar que ensaios experimentais (e.g., clonagem, expressão e purificação) encontram-se em andamento para a determinação da atividade biológica da *XaBCL*.

Agradecimentos

FAPESP (bolsa DD #2013/17093-1 e BIOEN - Jovem Pesquisador #2011/08042-9)

¹ Kim, E.; Zylstra, G. J. *J. Ind. Micro. Biotech.*, **1999**, 23, 4-5, 294-302

² Zhang, J.; Madden, T.L. *Genome Res.*, **1997**, 7, 649-656.

³ Protein Data Bank. Disponível em: <http://www.pdb.org/>.