

Dinâmica Molecular na avaliação do efeito do solvente no biossensoramento de um herbicida inibidor da enzima ACCase

Richard André Cunha* (IC)¹, Fábio de Lima Leite (PQ)², Eduardo de Faria Franca (PQ)¹

¹Instituto de Química, UFU, Uberlândia – MG / ²UFSCar, Sorocaba – SP. E-mail richard4quimica@yahoo.com.br

Palavras Chave: Nanobiosensores, ACCase, diclofop, efeito do solvente, Dinâmica Molecular.

Introdução

Atualmente, uma forma eficiente de detecção de herbicidas é a fabricação de nanobiosensores utilizando microscópio de força atômica (AFM). A detecção de herbicidas inibidores enzimáticos, como o diclofop é realizado funcionalizando a ponta de um AFM com a enzima acetil-CoA carboxilase (ACCase), a qual é a responsável pela síntese de ácidos graxos nas plantas. Pesticidas como o diclofop possuem grande afinidade com a enzima e podem ser detectados com grande sensibilidade e em baixas concentrações². A interação específica entre a enzima e um pesticida resultará em resposta mecânica detectável pelo cantiléver (detector mecânico) do AFM.

Este trabalho objetiva aperfeiçoar a resposta e a seletividade de um nanobiossensor detector de herbicidas inibidores enzimáticos. Para isso, foi utilizado métodos de modelagem molecular para avaliar o efeito do solvente na dinâmica estrutural e na energia de ligação no processo de formação do complexo ACCase-diclofop durante a detecção.

O modelo inicial dos sistemas estudados é a estrutura cristalográfica da enzima ACCase complexada com o herbicida diclofop (PDB:1UYR)².

Resultados e Discussão

Simulações de Dinâmica Molecular (GROMACS 4.5.3³) por 10ns da ACCase e do complexo (ACCase-diclofop), em solvente (água) explícito, permitiu avaliar a dinâmica estrutural desses sistemas sendo possível analisar a flutuação estrutural do sítio ativo (RMSD), visto na Figura 1.

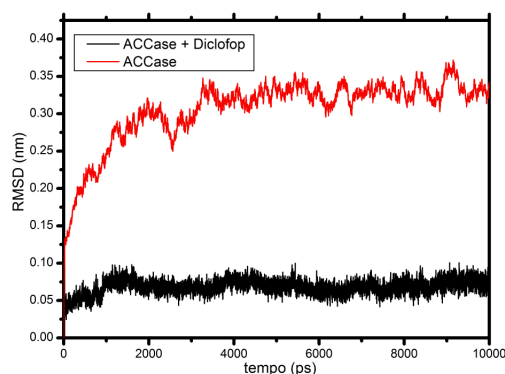


Figura 1. Gráfico da flutuação estrutural do sítio ativo dos sistemas ACCase e ACCase+diclofop.

34ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

A Figura 1 mostra claramente que a ACCase sem o herbicida apresentou uma flutuação maior em seu sítio ativo que a do complexo enzima-diclofop. Isto evidencia uma grande afinidade e influência do inibidor na estrutura desta enzima. Para confirmar essa hipótese a energia proveniente da contribuição eletrostática para a formação da ligação do herbicida com a ACCase foi calculada resolvendo numericamente a equação não-linear de Poisson-Boltzmann, cuja metodologia foi implementada no programa APBS⁴. Os resultados dispostos na tabela 1 mostram a contribuição eletrostática ($\Delta\Delta G_{\text{coulomb}}$) e do solvente ($\Delta\Delta G_{\text{solv}}$) para a energia de ligação ($\Delta G_{\text{Total}} = \Delta\Delta G_{\text{coulomb}} + \Delta\Delta G_{\text{solv}}$).

Tabela 1. Contribuição eletrostática na energia de ligação do complexo (ACCase-diclofop), em kJ/mol.

Sistema	Modelo Inicial	Dinâmica 10ns
$\Delta\Delta G_{\text{coulomb}}$	-16052.33	-14063.58
$\Delta\Delta G_{\text{solv}}$	1130.22	178.52
ΔG_{Total}	-14922.11	-13885.07

A Tabela 1 evidencia uma energia de ligação favorável à formação do complexo. Entretanto a contribuição da energia livre de solvatação para é desfavorável. Isto fica ainda mais evidente após a simulação de 10 ns em solvente explícito, a qual resultou numa energia de ligação total menos favorável que a do sistema inicial.

Conclusões

Simulações por Dinâmica Molecular mostraram que a formação da ligação Accase-diclofop fica desfavorecida em soluções aquosas. Isto sugere que uma melhor resposta na detecção de herbicidas da classe do diclofop ficará favorecida em solventes apolares ou pouco polares.

Agradecimentos

UFU, FAPEMIG, CNPq

¹ DE AMARANTE, O. P.; DOS SANTOS, T. C. R.; NUNES, G. S. & RIBEIRO, M. L. Química Nova, 26(2):223, 2003.

² ZHANG, H.; TWEEL, B.; TONG, L. Proceedings of the National Academy of Sciences, vol 101, n. 16, pg 5910-5915, 2004

³ VAN DER SPOEL, D.; LINDAHL, E.; HESS, B.; GROENHOF, G.; MARK, A. E. & BERENDSEN, H. J. C. Journal of Computational Chemistry, 26(16):1701, 2005.

⁴ HOLST, M.; BAKER, N. & WANG, F. Journal of Computational Chemistry, vol 21, pg 1319, 2000.