

## Análise da mudança conformacional da Ohr de *Xylella fastidiosa* através de simulação de dinâmica molecular à 348K

Maria Christina C. Peters<sup>1</sup> (IC)\*, Leandro de Rezende<sup>1</sup> (TC), Alberto Malvezzi<sup>1</sup> (PQ), Luis E. S. Netto<sup>2</sup> (PQ), Antonia T. do Amaral<sup>1</sup> (PQ) \*mariachristina\_peters@hotmail.com

<sup>1</sup>Depto de Química Fundamental, Instituto de Química, USP, SP, C.P.06077,5513-970 São Paulo, Brasil

<sup>2</sup>Depto de Genética e Biologia Evolutiva - Instituto de Biociências – USP

Palavras Chave: Ohr, *Xylella fastidiosa*, dinâmica molecular, temperatura.

### Introdução

A Ohr (*organic hydroperoxide resistance protein*) é uma peroxidase que apresenta dois resíduos de cisteína essenciais para sua atividade peroxidásica. A Ohr de *Xylella fastidiosa* (Ohr<sub>Xf</sub>) pode adotar duas conformações diferentes na região do sítio ativo. A conformação “fechada”, com as Cys reduzidas, capaz de reduzir hidroperóxidos orgânicos, enquanto que a conformação “aberta”, contem as Cys oxidadas na forma de um disulfeto.<sup>1</sup> A Ohr<sub>Xf</sub> é uma proteína exclusiva de bactérias e está envolvida na resistência contra o estresse oxidativo induzido por peróxidos orgânicos.<sup>2</sup> A estrutura da Ohr na sua forma “fechada” é conhecida e está disponível no PDB com os códigos 1ZB8 e 1ZB9, com resolução de 2,40Å e 1,80Å, respectivamente. Recentemente, a estrutura cristalográfica da Ohr<sub>Xf</sub> na sua forma “aberta” foi obtida, porém ainda não está disponível no PDB.<sup>3</sup> Dando continuidade aos estudos por homologia e dinâmica molecular (DM) da Ohr<sub>Xf</sub> em sua conformação “aberta” apresentados na 33<sup>a</sup> Reunião Anual da SBQ<sup>4</sup>, neste trabalho realizamos o estudo da mudança da conformação “fechada” para a “aberta” da Ohr<sub>Xf</sub> por simulação de DM, na temperatura de 348K, com o objetivo de ultrapassar a barreira energética que possa estar impedindo a mudança de conformação. Verificando-se, adicionalmente, o efeito da temperatura sobre a conformação adotada pela Ohr<sub>Xf</sub> durante a simulação.

### Resultados e Discussão

As coordenadas iniciais da Ohr em sua conformação “fechada” foram adquiridas do PDB (código 1ZB8). A seguir, uma ligação dissulfeto entre os resíduos Cys61 e Cys125 foi formada utilizando o programa SYBYL 8.0<sup>6</sup> com o objetivo de simular a enzima no seu estado oxidado e testar se essa modificação iria forçar a enzima a mudar para a conformação “aberta”. Simulações de MD realizadas anteriormente, à 300K, 308K e à 323K, não proporcionaram mudanças para a conformação “aberta”.<sup>7</sup> Sendo assim, com o intuito de ultrapassar a barreira energética que possa estar impedindo a mudança de conformação, realizou-se a simulação de DM à 348K, utilizando o mesmo protocolo, aumentando-se, no entanto, a temperatura. A simulação foi feita usando o programa GROMACS 4.0.4.<sup>8,9</sup> utilizando-se o campo de força G43a1. Inicialmente, a estrutura foi submetida à minimização pelos métodos *steepest descent* e 34<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

*conjugate gradient*. A seguir, a proteína foi posicionada no centro de uma caixa cúbica com lados de 100Å e a caixa foi solvatada com moléculas de água. A simulação das moléculas de água foi feita usando o modelo *SPC*.<sup>10</sup> As moléculas de água foram minimizadas mantendo-se os átomos da proteína fixos, seguido de uma minimização do sistema todo (proteína e moléculas de água). O sistema foi aquecido a 348K durante 37ps, seguido por um período de 100ps para equilíbrio do sistema. Após esse período, deu-se início a coleta de dados por 10ns, à temperatura e pressão constante, aplicando-se condições periódicas de contorno. As simulações das ligações de hidrogênio foram determinadas usando o algoritmo *Shake*.<sup>11</sup> O  $\Delta t$  foi 2 fs. As interações de *Van der Waals* foram limitadas à uma distância de 9 Å, já as interações eletrostáticas foram tratadas pelo método *PME*.<sup>12</sup> A estabilidade da simulação foi avaliada pela variação dos valores de energia total do sistema ( $\Delta E/E=8,67 \cdot 10^{-6}$ ) e pela variação dos valores de RMSD com relação à conformação inicial (RMSD=3Å). Diversas distâncias interatômicas foram monitoradas para a comparação das duas conformações “fechada” e “aberta”, respectivamente. Os valores das distâncias entre os resíduos Arg19 e Glu51 variaram entre 2,9Å e 12,2Å.

### Conclusões

Os resultados da simulação de DM da Ohr<sub>Xf</sub> realizada com aquecimento do sistema a 348K indicam uma mudança conformacional da proteína, considerando-se que o sistema permaneceu estável durante a simulação e em determinados momentos a Ohr<sub>Xf</sub> adotou a conformação “aberta”.

### Agradecimentos

FAPESP, CNPq, INCT-Redoxoma

<sup>1</sup> Cécile M., et al. *J. Bio Chem*, **2004**,279 (24), 25830–25837

<sup>2</sup> Oliveira, M. A et al. *J Mol Biol*. **2006**,359(2):433-45

<sup>3</sup> Netto, L.E. comunicação pessoal, novembro de **2010**

<sup>4</sup> Peters, M.C.C. et al. Pôster MED-096 na 33<sup>a</sup>RASSB, maio de **2010**

<sup>5</sup> Schlitter, J. et al, *J. of Molecular Graphics*, **1994**,12, 84-89

<sup>6</sup> Sybyl, Version 8.0 Tripos, L.P Copyright **2009**

<sup>7</sup> Peters, M.C.C et al. Painel 100 no 5<sup>th</sup> BrazMedChem, novembro **2010**

<sup>8</sup> Lindahl et al., *J. Mol Mod*, **2001**,7, 306-317.

<sup>9</sup> Berendsen et al., *Comp Phy Comm*, **1995**, 91, 43-56

<sup>10</sup> Berendsen et al, *Inter molecular Forces*, **1981**,331-342

<sup>11</sup> Ryckaert et al., *J Comput. Phys.*, **1977**,23, 327-341

<sup>12</sup> MacKerell, A. D. Jr., *Atomistic Models and Force Fields*, in *Computational Biochemistry and Biophysics*, ed. by B. Roux, et al, 7-38, Marcel Dekker, New York, **2001**.