

Identificação de estruturas secundárias de lectinas por espectroscopia vibracional no infravermelho

Francisco A. M. Sales^{1*} (PG), Stefane N. Costa² (IC), Ito L. Barroso Neto³ (PG), Benildo S. Cavada³ (PQ), Fernando B. de Albuquerque Filho² (PG), Jackson R. de Sousa² (PQ), Valder N. Freire¹ (PQ)

¹ Departamento de Física, UFC, Campus do Pici, 60455-960 Fortaleza, CE

² Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, UFC, Campus do Pici, 60455-960 Fortaleza, CE

³ Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, UFC, Campus do Pici, 6041-970 Fortaleza, CE

*adilson.sales@gmail.com

Palavras Chave: lectinas, estrutura secundária, infravermelho.

Introdução

Entre as diversas técnicas espectroscópicas a espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) é muito valiosa por sua capacidade em determinar características estruturais de diferentes moléculas, sendo uma técnica muito sensível à composição química e distribuição espacial. FTIR é um instrumento valioso em bioquímica uma vez que é comumente utilizada para determinar as características estruturais em biomoléculas como polipeptídeos e proteínas^{1,2}. Sabe-se que a banda FTIR da amida I encontra-se em 1600-1700 cm⁻¹, sendo referente principalmente ao estiramento C=O (νC=O) do ácido carboxílico, estiramento muito sensível a mudanças na estrutura secundária de proteínas que podem ser utilizados para obtenção de dados estruturais, o que é fundamental para se compreender a atividade da proteína^{3,4}.

Resultados e Discussão

As sementes que continham as lectinas Concanavalin A (ConA), Canavalia brasiliensis (ConBr), C. gladiata lectin (CGL) e Cratylia floribunda lectin (CFL) foram coletadas no Estado do Ceará (Brasil). As lectinas foram isoladas e purificadas como descrito na literatura⁵. As medidas de FITR foram realizadas usando FTLA 2000, ABB Bomem. Os espectros foram adquiridos com uma resolução de 2 cm⁻¹ e 500 leituras na faixa de 400-4000 cm⁻¹. Todas as medidas foram realizadas em partilhas de KBr a partir da mistura de 2 mg de proteína liofilizada com 100 mg de KBr. Selecionou-se a região 1600-1700 cm⁻¹ e depois as linhas de base dos espectros foram corrigidas. Aplicou-se a segunda derivada no espectro corrigido e estimou-se a localização dos picos de absorção mais relevantes. Fez-se a deconvolução em 12 lorentzianas da banda de amida I que se correlacionam com estruturas secundárias. Para a análise de raios-X, foram coletados os dados cristalográficos da UniprotDatabase e as sequências usadas foram ConA (PDB code 3D4A), Conbr (PDB code 1AZD), CGL (PDB code 2D7F) and CFL (PDB code 2D3P).

As regiões características das estruturas secundárias β-strand estão em 1620-1640 cm⁻¹ e

em torno de 1650 cm⁻¹. As α-helix possuem absorções características em 1660 cm⁻¹, mas são frequentemente encobertas por variações aleatórias das estruturas. As absorções em torno de 1615 cm⁻¹ são referentes às cadeias laterais de alguns aminoácidos, enquanto outras são referentes a enovelamentos da estrutura. Os valores das quantidades relativas de cada estrutura secundária na estrutura das lectinas estão na Tabela 1.

Tabela 1. Comparação das estruturas secundárias de lectinas através de FTIR e de raios-X.

Atribuições com Raio-X	Area (%)			
	ConA	ConBr	CGL	CFL
β-strand	42.4	41.4	42.2	41.5
α-helix	7.6	6.4	6.4	6.4
Coil	50.0	52.2	51.4	52.1

Atribuições com FTIR	Posição (cm ⁻¹)	Area (%)			
		ConA	ConBr	CGL	CFL
β-strand	1620-1640	41.4	41.5	40.2	40.4
	1650±2				
α-helix	1660±2	9.3	9.2	9.5	9.0
	1665-1698				
Coil	1644±2	49.4	49.3	50.3	50.6
	1656±2				

Conclusões

A partir dos dados cristalográficos das quatro lectinas (ConA, ConBr, CGL e CFL) verificou-se a satisfatória correlação de suas estruturas secundárias com os valores obtidos da deconvolução da banda de amida I do espectro FTIR. Esta metodologia, rápida e de baixo custo, é útil para obtenção de informações a respeito da estrutura secundária de proteínas de elevado grau homologia.

Agradecimentos

Agradecimento ao CNPq pelo apoio financeiro.

¹Dioumaev, A. K. *Biochemistry*, **2001**, 66, 1269.

²Torreillas, A., et al., *J. C. Biochemistry*, **2004**, 43, 2332.

³Shen, X., et al. *The Journal of Biological Chemistry*, **2008**, 283, 11407.

⁴Kong, J., Yu, S., *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, **2007**, 39, 549.

⁵Moreira, R. A., Cavada, B. S. *Biologia Plantarum*, **1984**, 26, 113.