

Simulação computacional do complexo celulase Cel48F-celulose da bactéria *Clostridium cellulolyticum*.

Osmair Vital de Oliveira (PQ). osmair@ifes.edu.br

Instituto Federal do Espírito Santo – Campus Vila Velha, Av. Salgado Filho, S/N, Bairro Soteco, Vila Velha – ES, Brasil.

Palavras Chave: Dinâmica molecular, metadinâmica, energia livre, complexo Cel48F-celulose.

Introdução

Celulases são enzimas responsáveis pela hidrólise catalítica da matriz celulósica em resíduos de açúcares, e.g. glicose; posteriormente esses açúcares, podem ser utilizados para a geração de álcool. Deste modo, celulases têm sido bastante estudadas devido a importância dessas na geração de álcool de segunda geração. Assim, entender questões como: quais as interações envolvidas entre celulase e celulose? Como ocorre a saída e entrada de fibras de celulose no interior das celulases? são essenciais para a elaboração de novas enzimas com maior atividade catalítica. Portanto, no presente trabalho, a celulase Cel48F¹, da bactéria *Clostridium Cellulolyticum*, complexada com fibras de celulose foi estudada via simulações de dinâmica molecular (DM) e metadinâmica.

Resultados e Discussão

As simulações foram realizadas no pacote computacional GROMACS 4.0.7. O *ensemble* NpT ($p = 1\text{bar}$ e $T = 300\text{K}$) e condições periódicas de contorno foram considerados. O campo de força GROMOS96 e o modelo SPC foram utilizados para descrever o complexo Cel48F-celulose e água, respectivamente. A estrutura inicial da enzima foi obtida a partir do *Protein Data Bank* com código 1F9D e complexada com duas fibras de celulose (fibra-I: sítios de -5 a -1 e fibra-II: sítios +1 a +4), Fig. 1. Para equilíbrio do sistema, 5,0 ns de simulação de DM foi realizada.

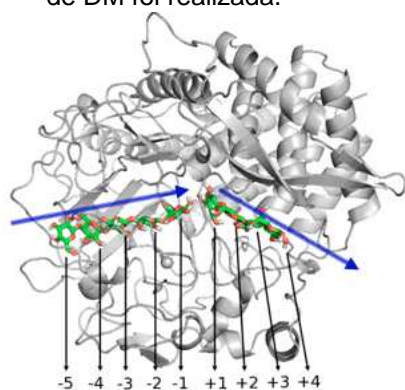


Figura 1. Estrutura inicial do complexo Cel48F-celulose. Para melhor visualização, o solvente foi omitido.

Na Fig. 1, setas em azul indicam a direção da entrada e saída das fibras celulósicas. Valores de RMSD (*Root Mean Square Deviation*) mostram que a estrutura do complexo Cel48F-celuloses sofre

pequenas mudanças conformacionais, mantendo valores de RMSD abaixo de 0,15 nm, o que mostra a estabilidade estrutural deste sistema. Nas análises de ligações de hidrogênio, foram identificados 15 amino ácidos que mantêm ligações de hidrogênio com a fibra-I. Deste total, os resíduos N227, Q181, K274, T110, T213, T226, W298 e Y403 são os que apresentam ligações de hidrogênio mais estáveis. Para a fibra-II, 11 resíduos fazem ligações de hidrogênio com os açúcares. Onde, D230, E44, E55, E542, H36 e W611 são os resíduos que mais interagem com os açúcares. Portanto, esses resíduos são fundamentais na estabilização das fibras de celulose no túnel da celulase Cel48F.

A técnica de metadinâmica² acoplada a DM foi utilizada para “forçar” a saída e entrada da fibra-II e I do interior da Cel48F, respectivamente, Fig.1. O sistema obtido a 5,0 ns, da simulação anterior, foi considerado. A partir da trajetória gerada, a energia livre foi calculada. A energia livre necessária para a fibra-I atravessar o túnel foi duas vezes maior que a saída do fibra-II. O que mostra a relativa facilidade da enzima em liberar a fibra-II, a qual foi produto da hidrólise, e permitindo assim a entrada da próxima fibra de celulose para que o processo enzimático continue (ação processiva). Durante a passagem das fibras-I e II no túnel da Cel48F, foram identificados importantes resíduos que podem ser utilizados em estudos de mutagenese para reduzir a barreira de energia livre.

Conclusões

A partir de métodos de simulação computacional foi possível fazer um mapeamento dos resíduos que estabilizam fibras de celulose na celulase Cel48F. Também, foi possível determinar a energia livre da ação processiva da Cel48F. Subsídios teóricos esses, importantes em futuros estudos experimentais em mutagenese.

Agradecimentos

IFES e FAPES

¹ Parsieglia, G.; Reverbel-Lory, C.; Tardif, C.; Belaich, J.P. e Haser, R. *Biochemistry* **2000**, 39, 11238.

² Laio, A. e M. Parrinello. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **2002**, 99, 12562.