

Dinâmica Molecular de Enzimas Quiméricas Bifuncionais.

Davi S. Vieira (PQ)*, Elton M. A. Lima (IC), Isabelle M. L. Ferreira (IC)

Instituto de Química – Centro de Ciências Exatas e da Terra. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.
Av. Senador Salgado Filho 3000, Lagoa Nova, Natal/RN. *davisv@ufrnet.br

Palavras Chave: Simulação molecular, estrutura e função de enzimas bifuncionais.

Introdução

A engenharia de enzimas multidomínios (enzimas capazes de catalisar duas ou mais reações) é uma promissora estratégia para reduzir os custos enzimáticos em processos industriais como branqueamento do papel, alimentos e biocombustíveis, pois propriedades catalíticas múltiplas estão inseridas em uma única enzima. Essas enzimas multidomínios ou enzimas híbridas, formadas pela fusão de dois ou mais domínios, são denominadas quimeras. Proteínas quiméricas têm sido construídas com intuito de melhorar e/ou modular a afinidade pelo substrato¹. Geralmente, as enzimas quiméricas apresentam propriedades catalíticas melhoradas quando comparada com as de suas enzimas individuais¹. Quimeras são construídas por evolução dirigida de tal modo que, duas proteínas existentes, uma com a função de reconhecimento do sinal (proteína A) e outra com uma função a ser modulada (proteína B), são fundidas de forma que o reconhecimento do sinal pelo domínio A é transmitido para o domínio B, por mudanças conformacionais no domínio A, e assim, a atividade do domínio B é afetada. Neste trabalho investiga-se, por simulações de dinâmica molecular, a interface proteína-proteína de uma quimera construída em laboratório, formada por uma enzima Xilanase GH11 e uma proteína que se liga à xilose, XBP. A xilanase é a enzima que tem sua função modulada pela XBP na presença de xilose. O objetivo do trabalho é avaliar a estabilidade da proteína quimera assim como identificar os fatores dinâmicos e energéticos da interface proteína-proteína da quimera Xilanase-XBP.

Resultados e Discussão

O pacote de simulação molecular GROMACS 4.6.5 foi usado para realizar a dinâmica molecular assim como as análises energéticas e estruturais. Empregou-se o campo de força GROMOS 53A6 para modelar todos os componentes do sistema. O tempo total de simulação foi de aproximadamente 100ns com tempo de integração de 1.5fs. As equações de movimento foram integradas pelo algoritmo leap-frog e a temperatura controlada pelo termostato V-rescale. As interações de longo alcance foram tratadas usando PME e raio de corte

0.12nm. Todas as simulações foram realizadas no ensemble NVT. A estabilidade estrutural da quimera foi alcançada após 15ns, com o desvio da raiz quadrada média (RMSD) apresentando um valor em torno de 0.31nm. Calculando o RMSD separadamente para cada proteína observa-se diferentes tempos de equilíbrio estrutural; 10ns para Xilanase e 15ns para XBP com valores médios de RMSD de 0.17 e 0.18nm, respectivamente. A xilanase apresenta uma região de alta movimentação, importante para a atividade da mesma, tal região é denominada “polegar”. A movimentação dessa região também foi detectada na quimera através das flutuações da raiz quadrada média (RMSF) para cada resíduo, utilizando os átomos de carbono alfa para o cálculo. Duas regiões de alta movimentação também foram detectadas na XBP, são regiões vizinhas sem estrutura secundária definida, do tipo “alça”. Tais regiões encontram-se no lado oposto ao qual a xilanase foi ligada, porém próximas ao sítio de ligação da xilose. Essa movimentação influencia na ligação da xilose, pois sua interação com a mesma experimentou um significativo enfraquecimento, com energia de interação aumentando de -400 para -200kJ.mol⁻¹, com o número de ligações de hidrogênio diminuindo na mesma taxa (aprox. 50%), de 8 para 4 ligações. Por outro lado, a interface Xilanase-XBP foi otimizada, a atração entre as duas proteínas dobrou, de -600 a -1200kJ.mol⁻¹.

Conclusões

Fica evidente que há uma transmissão de efeitos na estrutura da proteína quimérica, que começa com a alta movimentação de duas regiões da XBP, afetando a sua ligação com a xilose, e se estende até a interface protéica Xilanase-XBP, otimizando-a. Novas quimeras Xilanase-XBP estão sendo construídas e serão incorporadas a este estudo com o intuito de validar/comparar o modelo aqui proposto.

Agradecimentos

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq.

¹Fan, Z.M., *et al.*, (2009) Engineering of a multifunctional hemicellulase. *Biotechnology Letters* 31, 751-757.