

Inferências filogenéticas sobre o processo de ativação de Ureasas

Oliveira-Silveira, J.¹; Ligabue-Braun, R.¹; Verli, H.¹
¹Centro de Biotecnologia - UFRGS, Porto Alegre, Brazil;
<http://www.ufrgs.br/bioinfo/>

1. Introdução

Ureasas são enzimas de grande importância histórica, médica e agrícola que catalisam a hidrólise de ureia em amônia e carbamato, que em seguida se decompõe em outra molécula de amônia e bicarbonato.[1]. Estas enzimas são amplamente distribuídas em plantas, fungos e bactérias. Em todos esses organismos, a ligação de um grupo de proteínas acessórias é necessária para o real funcionamento da enzima, atuando na modificação do sítio alvo e permitindo a inserção dos íons de níquel essenciais para a catálise. O níquel é inserido no sítio ativo da urease, num processo dependente de GTP, com o auxílio de UreD / UreH, UreE, UreF, e UreG.

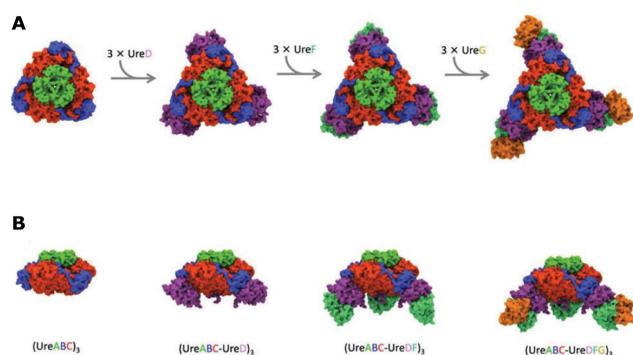


Figura 1: Urease trimerica sendo ativada através do acoplamento das proteínas acessórias UreD, UreF and UreG, respectivamente. Vista vertical(A), e vista horizontal(B). Adaptado de R. Ligabue-Braun et al. [3]

Estas proteínas acessórias orquestram a ativação da apoproteína, fornecendo o metal apropriado, facilitando alterações conformacionais da proteína, e, eventualmente, modificações pós-traducionais necessárias [2]. O mecanismo de ativação e as funções de cada proteína acessória na maturação da urease não se encontram elucidadas e dependem da dedicação de diversas áreas de estudo, incluindo aplicações da bioinformática.

2. Objetivos

Para obter-se uma visão geral das relações que podem ser estabelecidas entre as proteínas acessórias das ureases, buscando padrões, similaridades e diferenças que possam auxiliar na análise e predição dos resultados experimentais, o presente estudo pretende realizar uma ampla análise das seqüências de aminoácidos de proteínas acessórias de ureases.

3. Metodologia

- Peptide sequences of the urease accessory proteins were retrieved from the Protein Data Bank of the National Center for Biotechnology Information [4].
- ClustalW [5], and M-algorithm Cofee [6] packages were used for multiple sequence alignments, providing results from different alignment programs.
- For the evaluation of amino acid sequences the ProtTest, and MEGA6 [7] programs will indicate the most appropriate type of amino acid substitution rate to be used in each group. For the analysis of the variable regions SimPlot tool will be used.

- Archaea
- Helicobacteraceae
- Fungi
- Plants

Esquema 1: Esquema de cores utilizado nas figuras 1-4.

4. Resultados Preliminares

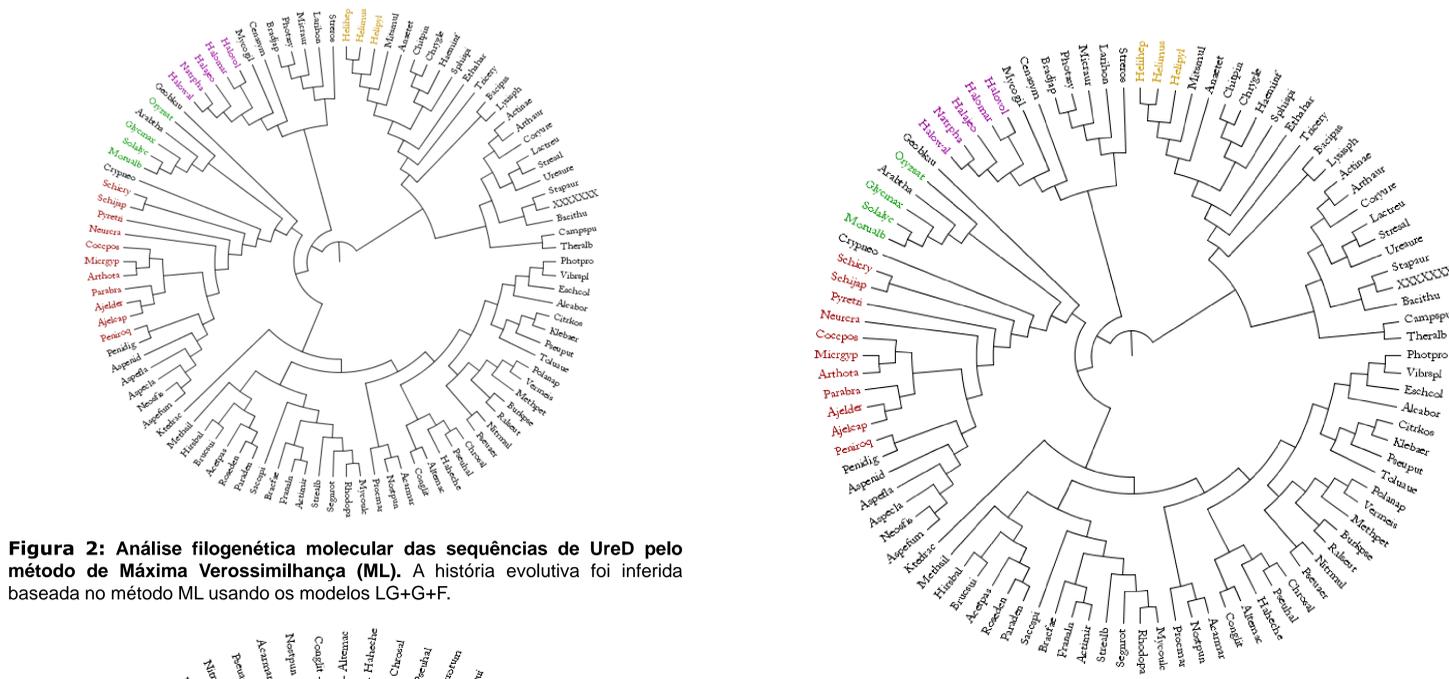


Figura 2: Análise filogenética molecular das seqüências de UreD pelo método de Máxima Verossimilhança (ML). A história evolutiva foi inferida baseada no método ML usando os modelos LG+G+F.

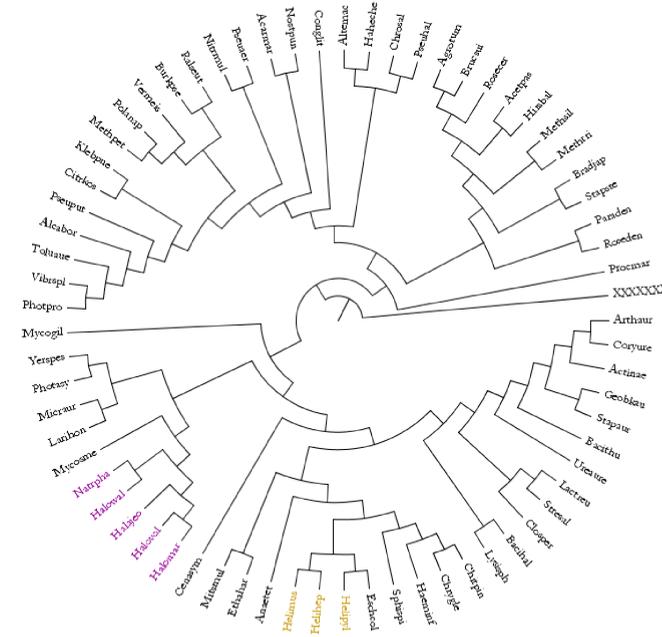


Figura 3: Análise filogenética molecular das seqüências de UreE pelo método de Máxima Verossimilhança (ML). A história evolutiva foi inferida baseada no método ML usando os modelos LG+G+I.

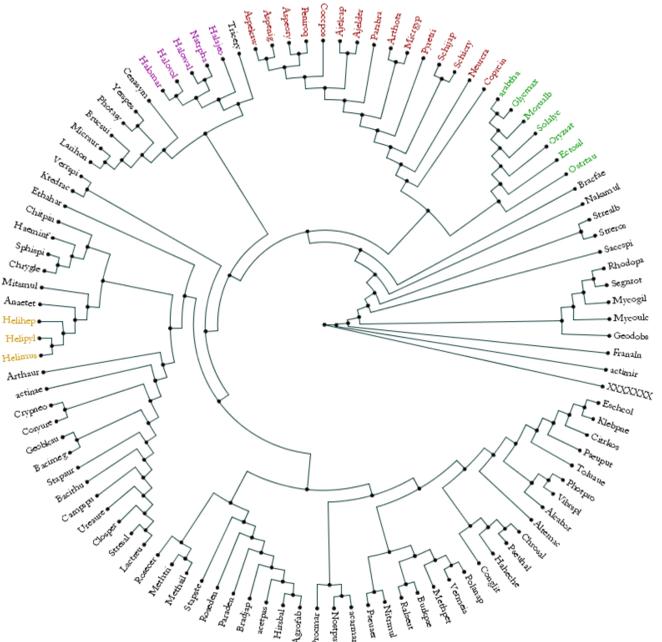


Figura 4: Análise filogenética molecular das seqüências de UreG pelo método de Agrupamento de Vizinhos (NJ). A história evolutiva foi inferida baseada no método NJ usando distribuição Gama

5. Conclusões

- De forma preliminar, se observa que a seqüência de eventos evolutivos nas diferentes proteínas acessórias é tão ou mais complexa quanto aquela observada para as ureases, com seus processos de fissão-fusão;
- As proteínas acessórias de urease parecem ter historia filogenética semelhante a das ureases, conforme resultados parciais comparados ao estudo de Ligabue-Braun et al [8]
- Além disso, a presença de elementos intrinsecamente desordenados, como ocorre na UreG, pode dificultar análises de conservação baseados na relação estrutura-função;
- O numero elevado de seqüências, somado a grande variedade entre espécies e clados resulta em valores de bootstrap muito baixos nos clados mais ancestrais.

6. Perspectivas

- A aplicação de estratégias diferenciadas será necessária para o estudo da história evolutiva de cada uma dessas proteínas, que encontra-se restrita pelas mesmas limitações apresentadas até recentemente para o estudo das ureases em si;
- Serao feitas mais análises utilizando apenas regiões parcialmente conservadas e sem gaps;
- Análises de Inferência Bayesiana tambem serao realizadas, sempre de forma comparativa a ureases.

7. Agradecimentos

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), MEC, Brasília-DF, Brazil.

8. Referências

- Krajewska, B.: *Journal of Molecular Catalysis Ureasas I.* **2009**, 59, 9-21.
- Dixon, N et al. J.: *Am. Chem. Soc.* **1975** 97, 4131.
- R. Ligabue-Braun et al.: *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, **2013**, 31, 854
- Sayers, E. W. et al.: *Nucleic Acids Res.* **2012** 40, D13-25.
- Larkin M. A. et al.: *Bioinformatics* **2007** 23, 2947
- Notredame, et al. *Journal of Molecular Biology* **2000** 302, 205
- Tamura K, et al. *Molecular Biology and Evolution* **2007** 24, 1596
- R. Ligabue-Braun et al. . *Naturwissenschaften*, **2013**, 39

Figura 3: Análise filogenética molecular das seqüências de UreF pelo método de Agrupamento de Vizinhos (NJ). A história evolutiva foi inferida baseada no método NJ usando distribuição Gama.