

## Desenvolvimento de um Protocolo para a Otimização da Termorresistência de Proteínas de Aplicação Biotecnológica e Industrial

Nepomuceno, F.; Verli, H.

Laboratório de Bioinformática Estrutural  
 Centro de Biotecnologia  
 UFRGS, Porto Alegre, RS



### Objetivos

Neste trabalho visa-se, a partir da seleção de uma proteína modelo, realizar análises conformacionais que permitam:

- Desenvolver um protocolo de análise de desnaturação virtual de proteínas, a partir do modelo;
- Prever e implementar mutações à estrutura da proteína, baseadas nas análises, visando a estabilização e maior resistência;

### Métodos

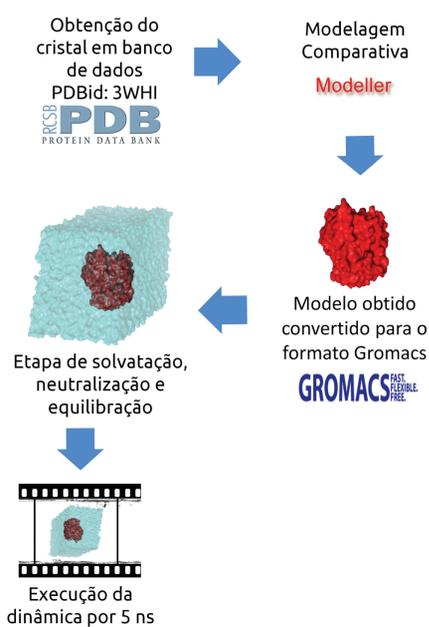


Figura 2: Esquema representando a metodologia utilizada para o desenvolvimento de um protocolo de desnaturação proteica. O modelo obtido[2,3] foi submetido à diferentes passos de dinâmica[4] sob diferentes temperaturas do sistema.

### Introdução

O uso industrial e biotecnológico de enzimas é diretamente influenciado pela sensibilidade destas moléculas a ambientes extremos. A fim de contornar esta limitação, é feita a busca por organismos extremofílicos, cujos aparatos moleculares apresentariam maiores chances de resistência a esses ambientes. Uma alternativa a essa estratégia é a engenharia de proteínas, buscando alterar as propriedades das mesmas a fim de resistirem ambientes extremos[1].

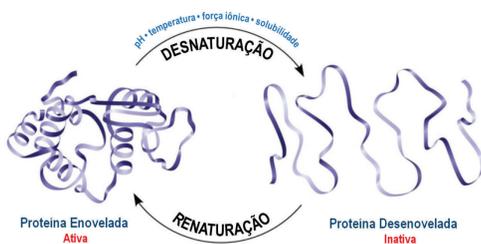


Figura 1: Esquema mostrando o processo de desnaturação e renaturação (Perda de função)

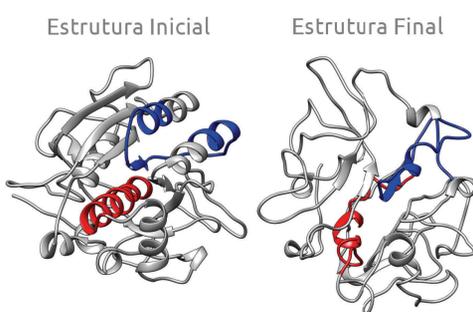
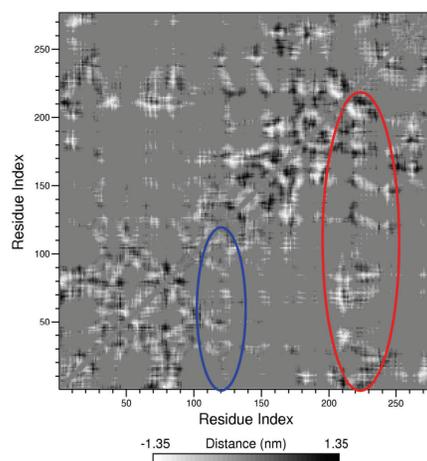


Figura 4: Diferença entre os mapa de contatos inicial e final, destacando as regiões onde há um afastamento maior entre resíduos da proteína no gráfico. Abaixo estão marcadas estas regiões na estrutura da proteína antes e depois de simulada a 473K.

### Resultados

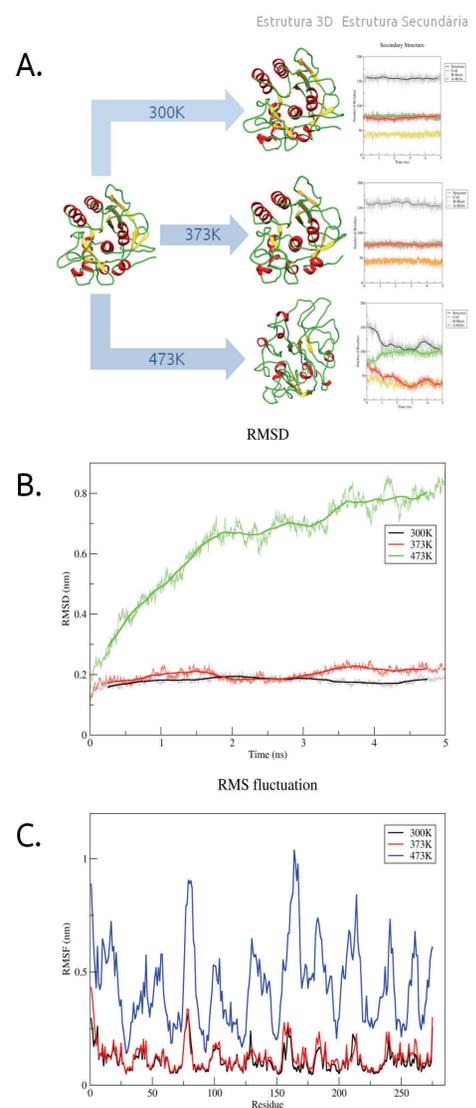


Figura 3: A- Variação das estruturas secundárias da proteína em função do tempo nas diferentes temperaturas simuladas. B- Análise de Root Mean Square Deviation (RMSD) dos átomos pesados da proteína simulada em 300K (preto), 373K (vermelho) e 473K (verde). C- Análise de Root Mean Square Fluctuation (RMSF) dos resíduos da proteína simulada em 300K (preto), 373K (vermelho) e 473K (azul).

### Conclusões

Com os dados obtidos, foi possível:

- Visualizar uma clara desnaturação da estrutura;
- Identificar regiões de maior alteração de interações para implementar as mutações;
- Mais testes serão necessário para a obtenção de um protocolo funcional.

### Perspectivas

- Finalizar o protocolo e implementar mutações pontuais a partir dos resultados obtidos;
- Desenvolver um algoritmo computacional visando a automatização do processo de aplicação do protocolo, implementação de mutações e testes de qualidade dos mutantes.

### Referências

- 1 Dedavid e Silva, L.A. MSc dissert, UFRGS, 2013
- 2 A. Fiser, R.K. Do, A. Sali. Modeling of loops in protein structures, Protein Science 9. 1753-1773, 2000
- 3 Uehara R., Angkawidjaja C., Koga Y., Kanaya S. Formation of the high-affinity calcium binding site in ro-subtilisin E with the insertion sequence IS1 of pro-Tk-subtilisin, Biochemistry, 2013
- 4 Abraham, et al. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers, (2015) SoftwareX 1-2 19-25