

# Estudos Estruturais das Enzimas Envolvidas com o Mecanismo de Produção de Ácidos Orgânicos da Bactéria *G. diazotrophicus* Utilizando Métodos Computacionais

Isabel P. Caminha ([isabel@cnptia.embrapa.br](mailto:isabel@cnptia.embrapa.br)) – Estudante do Curso de Mestrado em Genética e Biologia Molecular – UNICAMP  
Paula R. K. Falcão ([paula@cnptia.embrapa.br](mailto:paula@cnptia.embrapa.br)) – Supervisora, Laboratório de Bioinformática Aplicada, CNPTIA, EMBRAPA

V Mostra de Trabalhos de Estagiários e Bolsistas  
Campinas, SP – 26 a 30 de outubro de 2009

## Introdução

Ga5DH é uma enzima que exerce um papel fundamental na regulação do fluxo das fontes de carbono e energia nas bactérias, e na produção de Ácidos Orgânicos, entre eles o 5-Ceto-D-Gluconato (5KGA) [1,2].

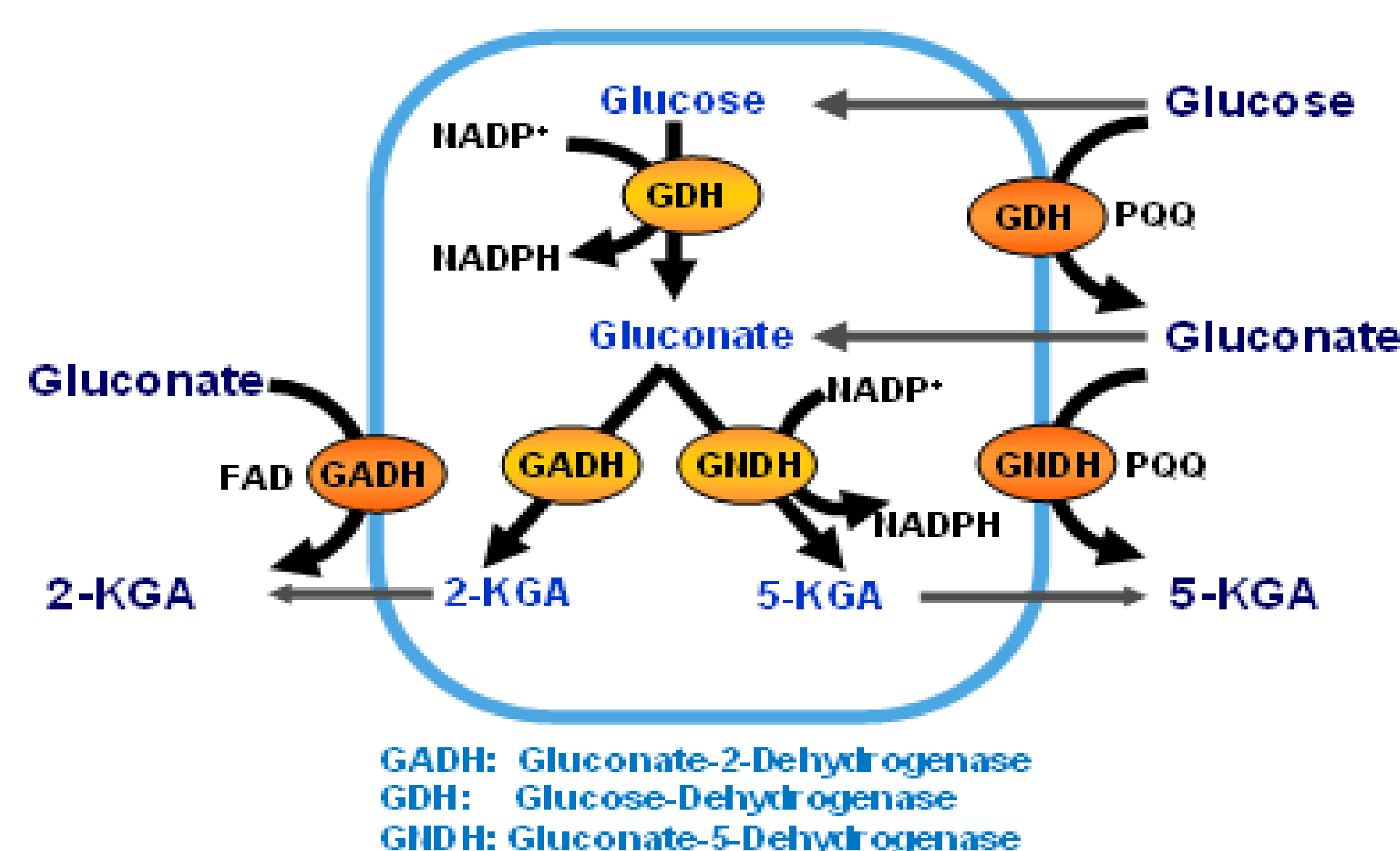


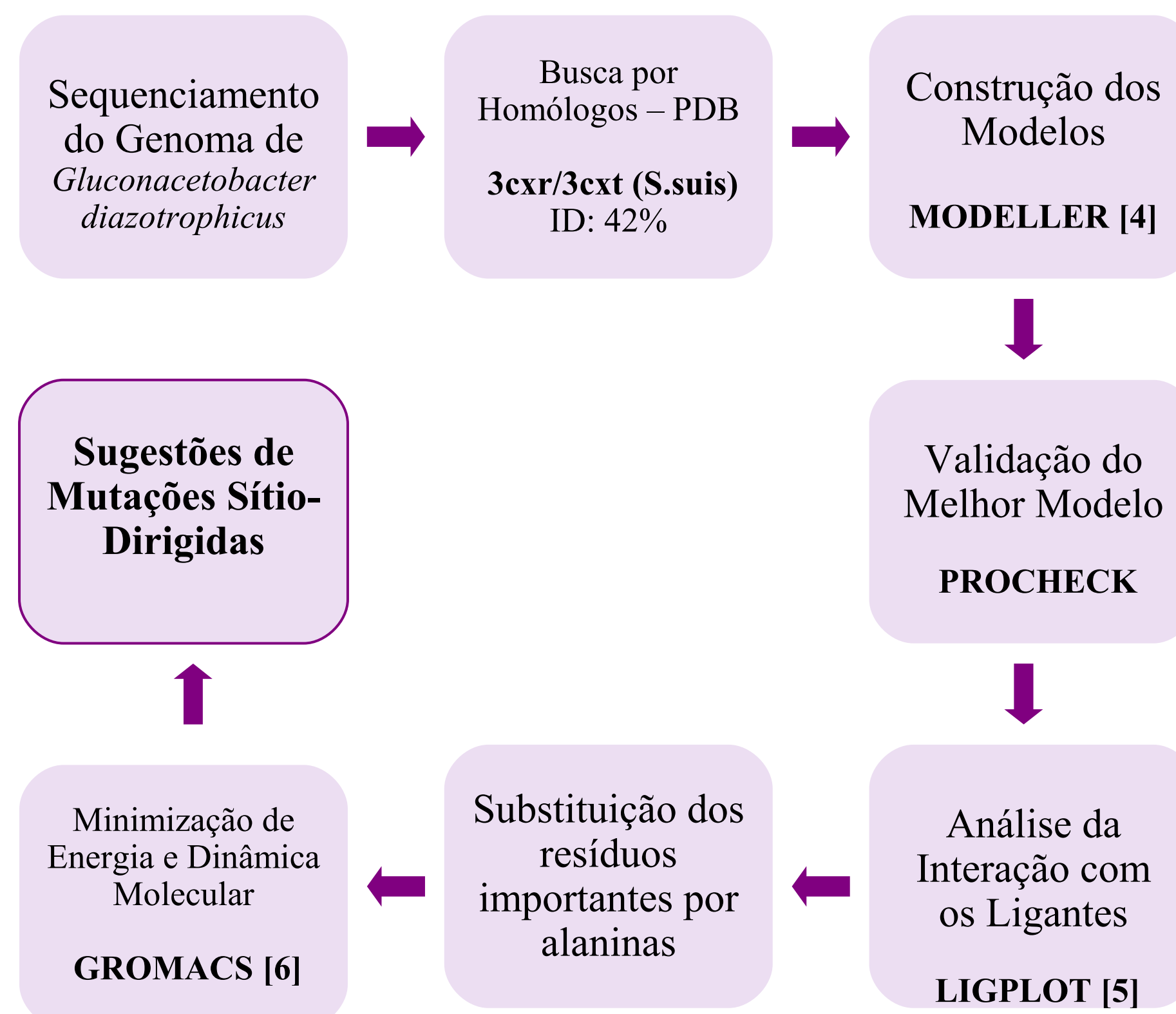
Figura 1: Reações enzimáticas catalisadas por *G. oxydans* levando à formação de cetogluconatos.

Devido à importância deste ácido na indústria química [3], há um grande interesse em sua estrutura. Isto nos leva a apresentar a estrutura teórica de Ga5DH de *Gluconacetobacter diazotrophicus*, obtida com Modelagem por Homologia. Dez modelos foram gerados no programa MODELLER [4], baseados na estrutura de Gluconate 5-dehidrogenase de *Streptococcus suis* (PDB 3cxr), a única proteína Ga5DH resolvida experimentalmente até então.

## Objetivos

Construir um modelo confiável da enzima Ga5DH de *G. diazotrophicus*, a partir da qual poderão ser sugeridas mutações sítio-dirigidas que otimizem a produção do produto de interesse.

## Materiais e Métodos



## Resultados e Discussão

### Construção dos Modelos (ID= 42%, Similaridade= 58%)

O melhor modelo obtido é similar a outros modelos conhecidos da família SDR. O monômero compreende sete fitas- $\beta$  paralelas, circundadas por seis  $\alpha$ -hélices, três de cada lado, criando o domínio Rossmann fold.

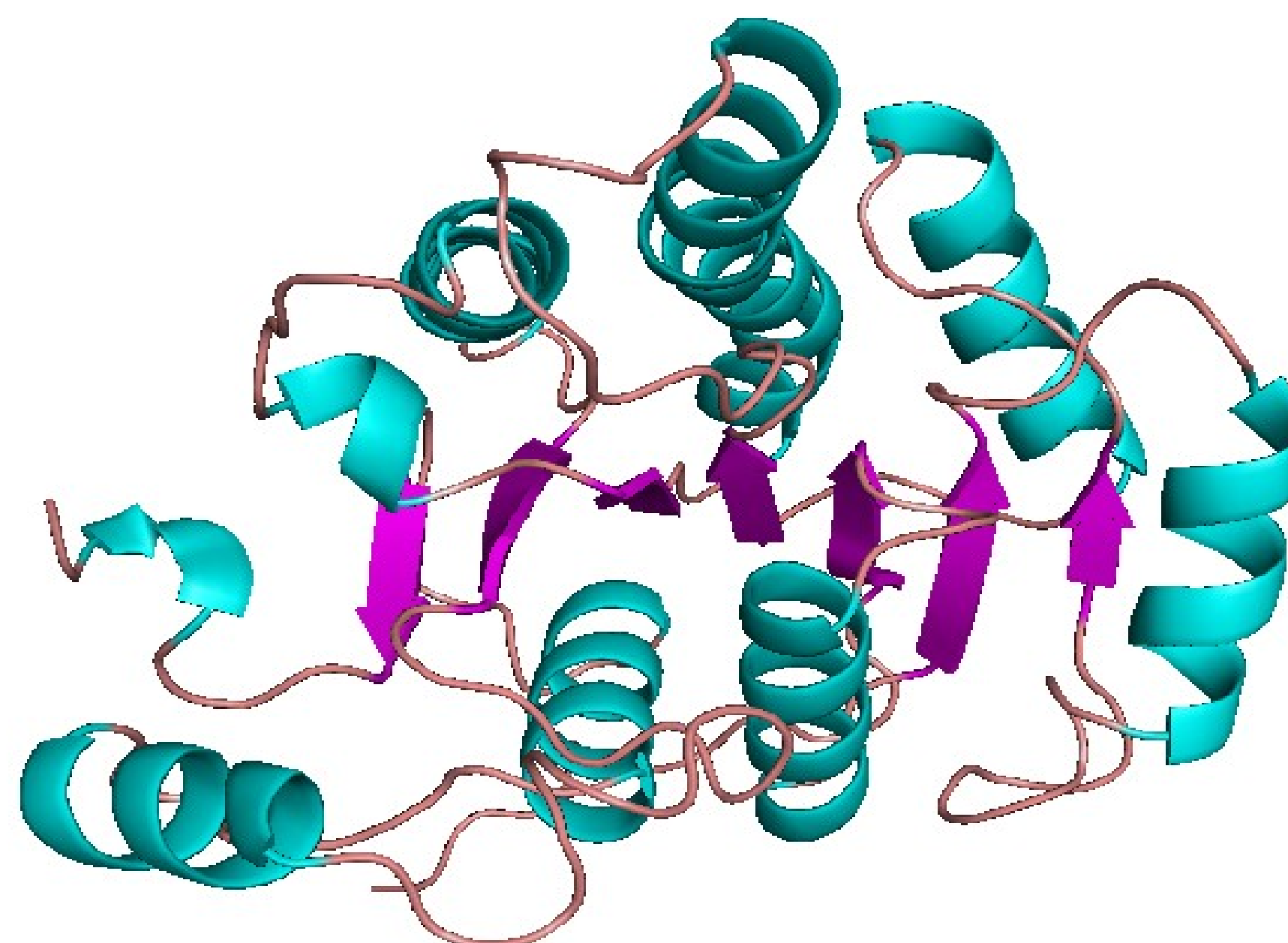


Figura 2: Representação em fitas do melhor modelo estrutural de Ga5DH de *G. diazotrophicus* obtido com modelagem por homologia.

### Sítio de ligação

Os resíduos envolvidos na interação com os ligantes (GKR e NAP) são conservados no modelo construído.

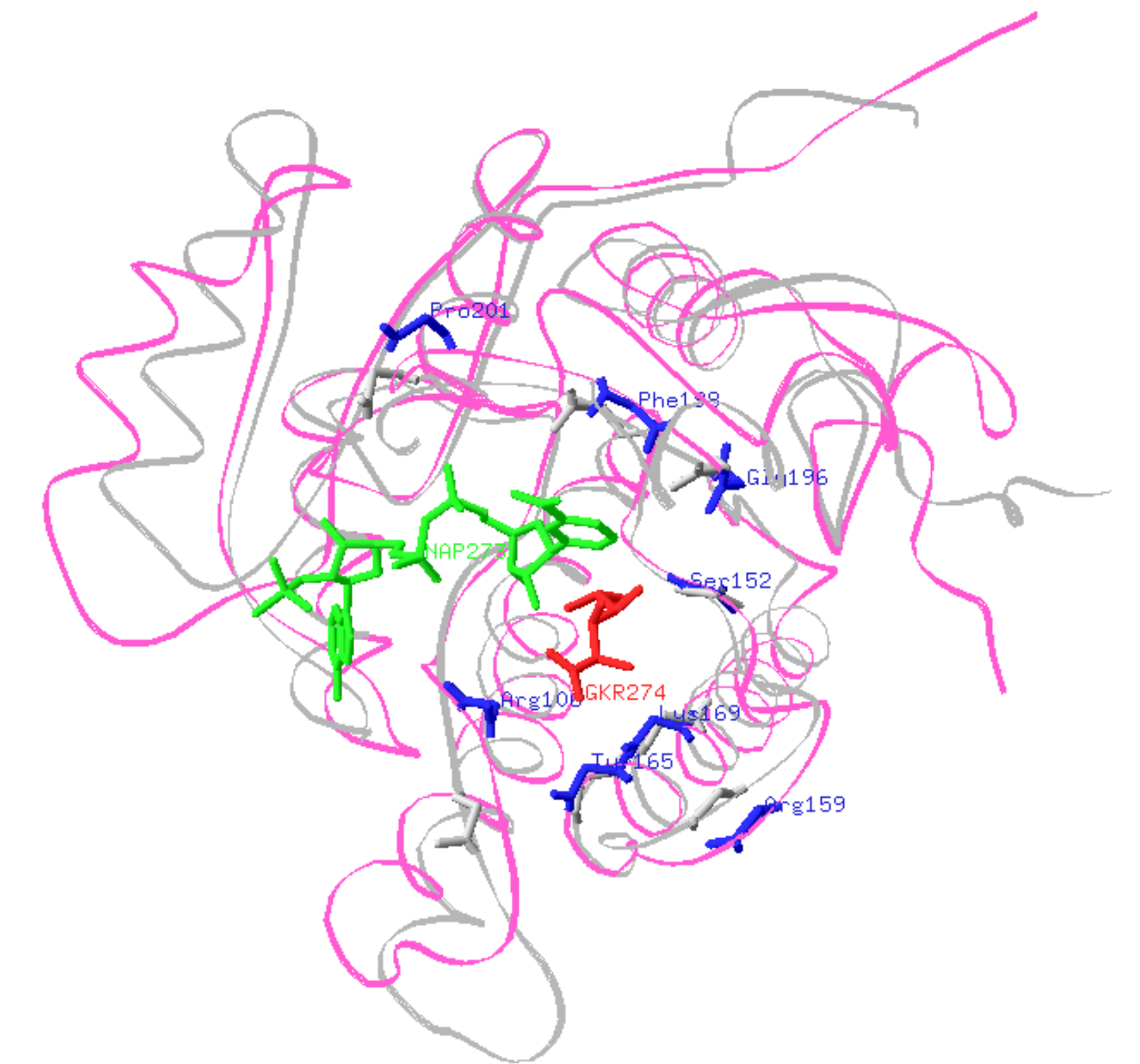


Figura 3: Comparação do molde (PDB 3cxr) com seus ligantes (NAP and GKR) e o modelo construído (em rosa e azul).

## Conclusões

Os resíduos catalíticos de Ga5DH são altamente conservados. A superposição da forma complexada desta proteína, depois da modelagem e dinâmica, mostra um alto nível de similaridade nas duas formas e sugere que não há grandes mudanças conformacionais com a ligação e o processamento do substrato.

Quando substituímos todos os resíduos do sítio ativo (Arg106, Ser152, Arg159, Tyr165, Lys169, Gly196, Phe198 and Pro201) por alaninas, não ocorre uma mudança conformacional significativa.

O próximo passo é analisar mais detalhadamente as consequências de cada substituição para sugerir possíveis mutações sítio-dirigidas.

## Referências Bibliográficas

- [1] Zhang, Q. et. al. Structural insight into the catalytic mechanism of gluconate 5-dehydrogenase from *Streptococcus suis*: Crystal structures of the substrate-free and quaternary complex enzymes. *Protein Science*. 2009, 18:294-303.
- [2] Klasen, R., Bringer-Meyer, S., Sahm, H. Biochemical characterization and sequence analysis of the gluconate: NADP 5-oxidorreductase gene from *Gluconacetobacter oxydans*. *J. Bacteriol.* 1995, 177:2637-2643.
- [3] Bernstein, F.C., et. al. The Protein Data Bank: a computer-based archival file for macromolecular structures. 1977, *J. Mol. Biol.* 112:535-542.
- [4] Sali, A., Blundell, T.L. Comparative protein modelling by satisfaction of spatial restraints. *J. Mol. Biol.* 1993, 234:779-815.
- [5] Wallace, A.C., Laskowski, R.A., Thornton, J.M. LIGPLOT: A program to generate schematic diagrams of protein-ligand interactions. 1995, *Protein Eng.* 8(2):127-134.
- [6] Spoel, D.V.D., Lindahl, E., Hess, B., Groenhof, G., Mark, A.E., Berendsen, H.J.C. GROMACS: Fast, flexible and free. *J. Comput. Chem.* 2005, 26:1701-1718.