

Modelagem por homologia da proteína Prolil aminoacil-tRNA sintetase de *Trypanosoma cruzi*

Homology modeling of the Prolyl aminoacyl-tRNA synthetase protein from *Trypanosoma cruzi*

Renata Padilha Strozienski¹, Jorge Iulek², Márcio Silva³

RESUMO

As proteínas são estruturas fundamentais para o funcionamento da célula, esses polímeros constituídos de aminoácidos estão presentes nas células de todos os seres vivos. A modelagem de proteínas por homologia é um exemplo de estudo voltado para a estrutura dessas macromoléculas, nessa técnica utiliza-se softwares de bioinformática, bem como banco de dados biológicos para obter informações sobre a estrutura das proteínas. Com base nisso, existem doenças que afetam o ser humano e não se conhece a fundo a estrutura genética do patógeno para desenvolver um tratamento, como é o caso do protozoário patogênico *Trypanosoma cruzi*. Desse modo, foi analisada a estrutura da proteína Prolil aminoacil-tRNA sintetase, uma proteína importante para a célula, visto que ela desempenha um papel fundamental na síntese proteica inserindo o aminoácido prolina para que a síntese seja efetivada. Sendo assim, o alvo de estudo foi a proteína Prolil aminoacil-tRNA sintetase do *Trypanosoma cruzi* utilizando a modelagem de proteínas por homologia. Para a realização do trabalho foram utilizadas ferramentas de bioinformática como o TriTrypDB, o BLAST e o Modeller, e, com a utilização destes softwares foram obtidos como resultados a estrutura 3D da proteína e seus componentes.

PALAVRAS-CHAVE: modelagem por homologia, Prolil aminoacil-tRNA sintetase, *Trypanosoma cruzi*.

ABSTRACT

Proteins are fundamental structures for the functioning of the cell. These polymers made up of amino acids are present in the cells of all living beings. Protein modeling by homology is an example of a study focused on the structure of these macromolecules. This technique uses bioinformatics software and biological databases to obtain information on the structure of proteins. Based on this, there are diseases that affect humans and the genetic structure of the pathogen is not known in depth in order to develop a treatment, as is the case with the protozoan pathogen *Trypanosoma cruzi*. The structure of the protein Prolyl aminoacyl-tRNA synthetase, an important protein for the cell, was therefore analyzed, since it plays a fundamental role in protein synthesis by inserting the amino acid proline for synthesis to take place. Thus, the target of the study was the Prolyl aminoacyl-tRNA synthetase protein of *Trypanosoma cruzi* using protein modeling by homology. Bioinformatics tools such as TriTrypDB, BLAST and Modeller were used to carry out the work, and using these softwares, the 3D structure of the protein and its components were obtained.

KEYWORDS: Homology modeling, Prolyl aminoacyl - tRNA synthetase, *Trypanosoma cruzi*.

¹ Bolsista Voluntário do Programa Institucional Voluntário de Iniciação Científica (PIVIC). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Brasil. E-mail: rstrozienski@alunos.utfpr.edu.br ID Lattes: 4943225966979120.

² Departamento de Química. Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, Paraná, Brasil. E-mail: iulek@uepg.br ID Lattes: 2817758210035652.

³ Docente do Departamento de Ensino. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Brasil. E-mail: marcios@utfpr.edu.br. ID Lattes: 0053558163139317.

INTRODUÇÃO

As proteínas são estruturas que apresentam em sua composição átomos de carbono, oxigênio e hidrogênio e nitrogênio. As proteínas são polímeros constituídos de vários aminoácidos, formando os polipeptídeos. De acordo com Malacinski (2005), cada aminoácido pode ser tido como um único átomo de carbono. Um aminoácido possui o carbono alfa que se liga a um grupo carboxila e possui um grupo amino e uma cadeia lateral chamada de R. As cadeias laterais geralmente estão ligadas aos grupos funcionais. Além disso, para que seja possível formar uma proteína, é necessário que o grupo amino de um aminoácido reaja com o grupo carboxila de outro, resultando em uma ligação chamada de ligação peptídica. Após isso, ocorre a união dos aminoácidos para formar uma cadeia polipeptídica linear e, caso a quantidade de ligações peptídicas ultrapasse o número arbitrário, nesse caso o número 15, o polipeptídeo recebe o nome de proteína.

As proteínas são importantes para o funcionamento da célula, pois elas determinam sua estrutura e, além disso, são responsáveis por conduzir os processos vitais nos organismos. Deste modo, as proteínas são alvo de diversos estudos, principalmente voltados para a área da saúde no tratamento de doenças, pois ao decifrar a estrutura da proteína de patógenos por exemplo, é possível desenvolver meios de tratar estas enfermidades. Fundamentado nisso, um exemplo de proteína a ser estudado é a Prolil-aminoacil-tRNA sintetase (ProRS), um tipo de aminoacil-tRNA presente nas células de organismos como a espécie de protozoário *Trypanosoma cruzi*. As aminoacil-tRNA sintetases, de acordo com Duarte (2019), são uma família de enzimas presentes em todos os organismos vivos e participam do primeiro estágio do processo de biossíntese de proteínas, sendo esse o estágio de ativação dos aminoácidos. Essas proteínas são importantes pelo fato de que participam de um processo importante na célula, a síntese proteica. Na síntese proteica, as aminoacil-tRNA sintetases ligam os aminoácidos corretos ao RNA transportador, que irá levar o aminoácido até o ribossomo no momento da tradução. Nesse caso, a proteína se chama Prolil aminoacil-tRNA sintetase porque ela coloca um aminoácido específico chamado prolina.

A partir disso, é possível afirmar que existem diversos meios de estudar as estruturas das proteínas, um exemplo é a modelagem de proteínas por homologia no formato 3D. Segundo Fernandes, Silva & Silva (2019), essa técnica de modelagem molecular utiliza de recursos disponíveis da bioinformática para desenvolver modelos computacionais para visualização de suas características e também para a obtenção de dados. A área da modelagem molecular utiliza softwares como o Swiss PDB Viewer para a análise do modelo 3D de proteínas, além de banco de dados com dados biológicos como o GenBank e o TriTrypDB.

Desse modo, o objetivo deste trabalho é analisar a estrutura da proteína Prolil-aminoacil-tRNA sintetase do protozoário *Trypanosoma cruzi*, por meio do conhecimento obtido nas aulas na disciplina de Bioquímica e na Iniciação Científica sobre

a modelagem de proteína por homologia, utilizando como recursos o banco de dados TriTrypDB e o software Swiss PDB Viewer.

METODOLOGIA

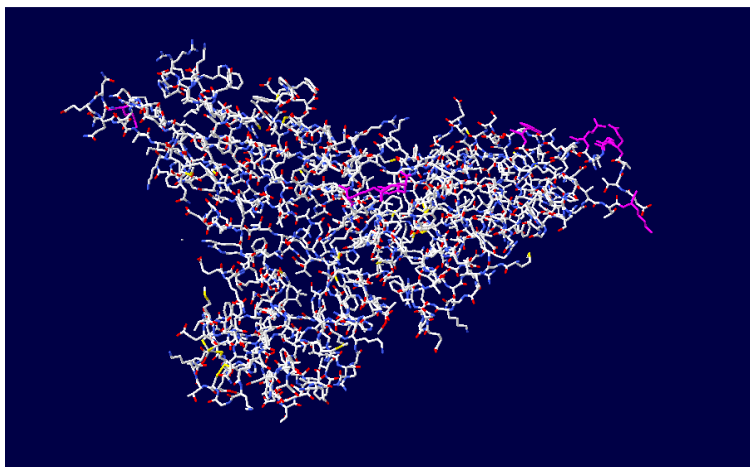
Para a realização do trabalho foram utilizadas ferramentas de bioinformática disponíveis na internet para realização da modelagem por homologia. Os dados e a sequência de aminoácidos da proteína escolhida (ProRS) foram obtidos no banco de dados TriTrypDB para realizar a pesquisa das sequências homólogas da proteína alvo. Para a realização da modelagem foi realizada uma busca no site BLAST para encontrar o molde com base na similaridade das sequências homólogas, no qual o grau de similaridade precisa ser acima de 30%. Sendo assim, foi escolhido o molde com o maior grau de similaridade, sendo este 74,36%.

Em seguida, foi aplicado o alinhamento para realizar uma comparação entre a proteína problema (ProRS) e a proteína molde. A partir disso, foi utilizado o software Modeller para realizar o alinhamento das sequências das proteínas e em seguida foi utilizado Swiss PDB Viewer para analisar as estruturas tridimensionais das proteínas. Validação

A partir disso, foi realizada a modelagem por homologia da proteína ProRS e obteve-se o modelo tridimensional da Prolil aminoacil-tRNA sintetase destacando-se suas estruturas principais neste trabalho. Para a elaboração deste modelo foi obtida a sequência inicial (com 810 aminoácidos) no banco de dados TriTrypDB. Em seguida foi realizado o alinhamento das sequências no software BLAST e como resultado ele retornou estruturas homólogas disponíveis para estudo. Como resultado do alinhamento, o software retornou 25 sequências das quais foi escolhida a 5XIL (Figura 1), sendo a mais semelhante com a proteína alvo. Após obter o código da proteína problema no BLAST, foi preciso realizar o download do arquivo em formato pdb para modelar com o Modeller.

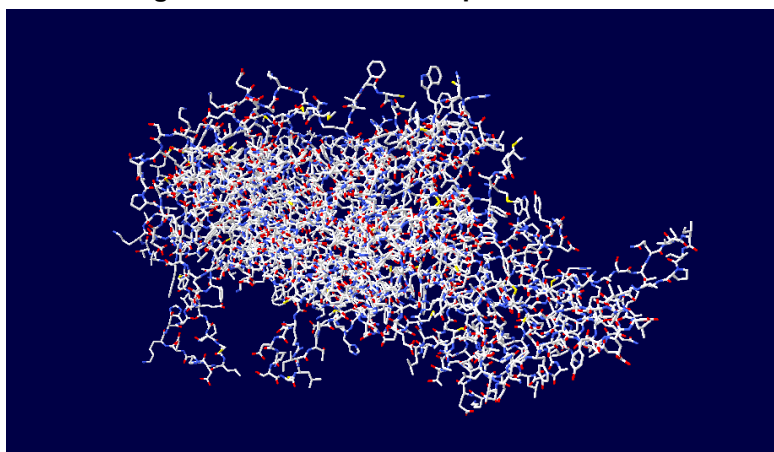
O próximo passo foi utilizar o Modeller para a geração dos modelos para realizar a modelagem. Após os comandos de programação no software foram gerados 5 moldes, dos quais foi escolhido um com base no diagrama de ramachandran obtido no site saves.mbi.ucla.edu, especificamente no programa para verificar a qualidade estereoquímica das estruturas proteicas. Com base nisso, foi selecionado o quinto molde (representado na Figura 2) para realizar a análise.

Figura 1 - estrutura 3D da proteína problema no Swiss PDB.



Fonte: Autoria própria, 2023.

Figura 2 - Estrutura 3D da proteína molde.



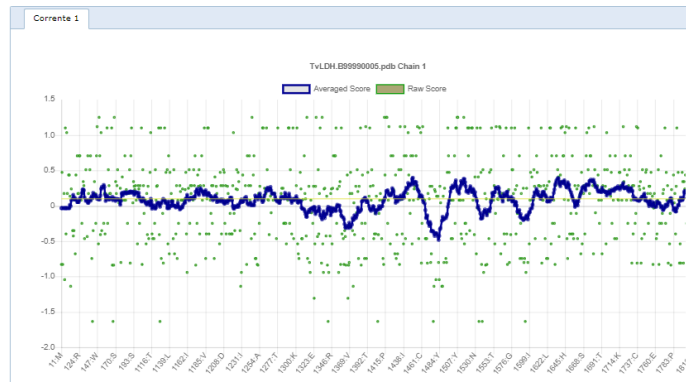
Fonte: Autoria própria, 2023.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a análise da proteína problema e do molde, é possível afirmar que a proteína problema (5XIL) obtida no BLAST é menor do que o molde, visto que a sequência da proteína problema apresenta 512 aminoácidos e a molde 810 aminoácidos que compõem a sua estrutura. Conseqüentemente, a proteína molde apresenta mais ligações de hidrogênio do que a proteína problema. Além disso, outra interação que foi verificada nas duas estruturas são as pontes dissulfeto (ligações covalentes entre dois átomos de enxofre), nesse caso a proteína problema não possui nenhuma ponte dissulfeto enquanto a molde possui três pontes dissulfeto. Ademais, foi verificada as estruturas secundárias das duas proteínas e constatou-se a presença de alfa hélice e de folhas beta. Nesse contexto, a proteína problema apresenta no total 18 folhas beta e 11 alfa hélices, enquanto a molde possui 28 fitas beta e 13 alfa hélices.

Por fim, após realizar a análise e comparação das duas estruturas, foi preciso validar o modelo, desse modo foi utilizado novamente o site saves.mbi.ucla.edu, no qual foi selecionada a opção "Verify 3D".

Figura 3 - Validação do modelo 3D indicando o gráfico com a concentração dos aminoácidos.



Fonte: Autoria própria, 2023.

CONCLUSÃO

A modelagem por homologia da proteína Prolil aminoacil-tRNA sintetase possibilitou o desenvolvimento da estrutura em formato 3D a partir da sua sequência primária. Com base nisso, os resultados obtidos mostram que os métodos e as ferramentas são confiáveis e de fácil acesso, visto que são gratuitos. O desenvolvimento do molde e análise da proteína alvo posteriormente irá contribuir para a expressão da proteína e sua cristalização no laboratório.

Agradecimentos

Esse trabalho foi escrito por mim, mas não seria possível desenvolvê-lo sem a ajuda de todos que me acompanharam no processo. A começar pelos meus pais que incentivaram e que me ajudaram em todo o desenvolvimento.

Quero agradecer ao meu orientador Prof. Dr. Márcio Silva, que sempre incentivou e cobrou o meu melhor. Agradeço por ter me aceito como orientanda na Iniciação Científica e por todos os conhecimentos trocados.

Conflito de interesse

Não há conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

DUARTE, Jessica. **As Aminoacil-tRNA Sintetases do Trypanosoma cruzi como alvos terapêuticos para o tratamento da Doença de Chagas**. 2019. 149 p. Dissertação de Mestrado, 2019. Disponível em:



https://www.ufsj.edu.br/portal2-repositorio/File/pmbqbm/PMBqBM/Publicacoes/Dissertacoes/Dissertacao_Jessica_Caroline_Duarte.pdf. Acesso em: 17 set. 2023

MALACINSKI, George. **Fundamentos da Biologia molecular**. 4. ed: Guanabara Koogan, 2005.

NASCIMENTO, Camila; SILVA, Natasha; SILVA, Ronaldo. Modelagem por Homologia e Acoplamento Molecular da Calpaína -6 Humana. **Dialogando com a Ciência:**

Experiência de Iniciação Científica na Faculdade Cosmopolita, v. 1, p. 26-32, 2019.

Disponível em:

<http://www.faculadecosmopolita.edu.br/wp-content/uploads/2020/10/livro-iniciacao-cientifica.pdf#page=27>. Acesso em: 17 set. 2023.