



Análise *in silico* de uma Catalase de *Serratia marcescens* modelada em uma Catalase de *Proteus mirabilis*

In silic analysis of a Catalase of *Serratia marcescens* modeled on a Catalase of *Proteus mirabilis*

André Luis dos Santos¹, Jorge Lulek², Juliana Messias Bitencourt³, Sabrina Ávila Rodrigues⁴, Marcio Silva⁵

RESUMO

Este trabalho tem como objetivo modelar, analisar e explicar as informações obtidas a respeito de uma Catalase de *Serratia marcescens* modelada em uma catalase de *Proteus mirabilis*, tendo em vista aplicações biotecnológicas no setor alimentício, odontológico, cosméticos, têxtil etc. Visto que a Catalase é uma enzima responsável por degradar o peróxido de hidrogênio, composto responsável pelo estresse oxidativo celular. A modelagem molecular da Catalase de *Serratia marcescens* permitiu prever a estrutura tridimensional com base em sua sequência de aminoácidos, utilizando a comparação como parâmetro para isso. Essa técnica permite prever sua estrutura, as interações e as ligações presentes na enzima, proporcionando uma compreensão detalhada de suas funções e diferenças em relação a outras enzimas. A partir da validação com o Gráfico de Ramachandran, foi possível concluir que a Catalase apresentava condições de comparação e estudos futuros com outras enzimas.

PALAVRAS-CHAVE: Análise da sequência de aminoácidos; catalase; estresse oxidativo celular; estrutura tridimensional; modelagem molecular; *Proteus mirabilis*; *Serratia marcescens*

ABSTRACT

This work aims to model, analyze and explain the information obtained regarding a *Serratia marcescens* catalase modeled on a *Proteus mirabilis* catalase, with a view to biotechnological applications in the food, dental, cosmetics, textile, etc. sectors. Since Catalase is an enzyme responsible for degrading hydrogen peroxide, a compound responsible for cellular oxidative stress. Molecular modeling of Catalase from *Serratia marcescens* made it possible to predict the three-dimensional structure based on its amino acid sequence, using comparison as a parameter for this. This technique allows you to predict its structure, interactions and bonds present in the enzyme, providing a detailed understanding of its functions and differences in relation to other enzymes. From validation with the Ramachandran Chart, it was possible to conclude that Catalase presented conditions for comparison and future studies with other enzymes.

KEYWORDS: Amino acid sequence analysis; catalase; cellular oxidative stress; three-dimensional structure; molecular modeling; *Proteus mirabilis*; *Serratia marcescens*.

¹ Bolsista Voluntário do Programa Institucional Voluntário de Iniciação Científica (PIVIC). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Brasil. E-mail: andreluissantos@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 2050143464680155.

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

³ Docente do Departamento de Ensino. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil. E-mail: julianavitória@utfpr.edu.br. ID Lattes: 5844979052853050.

⁴ Docente do Departamento de Ensino. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil. E-mail: sabrinaavila@utfpr.edu.br. ID Lattes: 1165441010027633.

⁵ Docente do Departamento de Ensino. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil. E-mail: marcios@utfpr.edu.br. ID Lattes: 0053558163139317.



INTRODUÇÃO

As enzimas são essenciais para a vida humana, elas são responsáveis pelos processos metabólicos e bioquímico dos seres vivos. Posto isso, as enzimas são responsáveis pela catálise biológica, ou seja, aceleram as reações químicas do organismo, diminuindo a energia de ativação e convertendo substratos em produtos. A Catalase é uma peroxidase, enzima responsável pela degradação do peróxido de hidrogênio, composto causador do estresse oxidativo celular (PACHECO, 2021). Sua estrutura é formada pela junção de vários aminoácidos, chamando-se de polipeptídio, que se juntam pelo grupo carboxílico de um com o grupo amina do outro. Entretanto, para a formação da cadeia, é necessário que os aminoácidos estejam estáveis. Para isso, os aminoácidos possuem angulação Phi e Psi, entre -180° e 180° , onde podem se localizar a fim de conseguir uma conformação estável (BARREIROS e BARREIROS, s.d).

A modelagem molecular de proteínas, é usada para ver sua estrutura tridimensional e algumas propriedades das moléculas utilizando técnicas computacionais (FIGUEIREDO et al. 2005). Posto isso, para realizar a modelagem é necessária uma proteína alvo e uma proteína a qual se deseja estudar, visto que a modelagem é feita com base na comparação entre os aminoácidos de ambas as proteínas, formando assim um modelo tridimensional de proteína. A modelagem molecular é uma técnica que consiste em prever a estrutura, as interações, as ligações, entre outras características de uma proteína. Dessa forma, é possível entender as funções e as diferenças de proteínas distintas (BIOINFO, 2021)

No presente trabalho, foi realizado a modelagem molecular de uma Catalase de *Serratia marcescens* em uma Catalase de *Proteus mirabilis*. A fim de prever suas características e possíveis dados para uma futura aplicação biotecnológica, como no setor alimentício, odontológico, cosméticos, têxtil etc.

MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho procedeu-se pela busca da sequência de aminoácidos da Catalase de *S. marcescens*, na plataforma NCBI (Centro Nacional de Informação Biotecnológica). Após sua obtenção, foi realizado uma submissão da sequência de aminoácidos na plataforma BLAST utilizando a opção PDB, a fim de encontrar uma enzima que contivesse o maior índice de similaridade com os aminoácidos da catalase de *S. marcescens*. Dessa forma, foi encontrada e catalase de *P. mirabilis*, com 84,91% de similaridade, utilizada como molde para a construção da Catalase de *Serratia marcescens*.

A construção do modelo tridimensional se deu por meio do software Modelagem de Proteínas (Modeller). Para isso, foi dado o caminho de uma pasta de arquivos que continha o arquivo pdb da catalase de *P. mirabilis* e as informações align2d.py (faz o alinhamento), TvLDH.ali (sequência alinhada) e model-single.py que retornou 5 modelos da Catalase de *S. marcescens*, dentre os quais foi escolhido apenas o de melhor qualidade. A validação se deu do Gráfico de Ramachandran, na opção PROCHEK da plataforma UCLA-DOE LAB — SAVES v6.0. O Gráfico de Ramachandran mostra localidades favoráveis para a conformação espacial dos aminoácidos na proteína.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Primeiramente obteve-se o alinhamento das sequências de aminoácidos de ambas as catalases (Figura 1), e obteve-se também uma tabela de identificação por cores da quantidade



XIII Seminário de Extensão e Inovação XXVIII Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica da UTFPR

Ciência e Tecnologia na era da Inteligência Artificial: Desdobramentos no Ensino Pesquisa e Extensão
20 a 23 de novembro de 2023 - Campus Ponta Grossa, PR



de aminoácidos homólogos entre ambas (Figura 2) e uma tabela com as divergências de pareamento dos aminoácidos (Tabela 1).

Figura 1 – Alinhamento de sequência de aminoácidos *S. marcensces* e *P. mirabilis*

CLUSTAL multiple sequence alignment by MUSCLE (3.8)

```

Serratia      MSRKGLTTAAGAPVVDNNNVITAGKRGPMLLQDVWFLEKLAHFDRVIPERRMHAKGSGA
Proteus       MEKKKLTAAAGAPVVDNNNVITAGPRGPMLLQDVWFLEKLAHFDRVIPERRXHAKGSGA
*_* * *****

Serratia      YGFTVTHTDITRYTRAKIFSEIGKQDMFIRFSTVAGERGAADAERDIRGFAMKFYTEEG
Proteus       FGTFTVTHTDITKYTRAKIFSEVGGKTEMFARFSTVAGERGAADAERDIRGFALKFYTEEG
:*****:*****:*:*:** *****:*****

Serratia      NWDLVGNDTPVYLRDPLKFPDLNHVVKRDPHTNLRNPVYKWDFFSHLPESLHQLTIDFS
Proteus       NWDVVGNDTPVYLRDPLKFPDLNHIVKRDPRTNMRNMAYKWDFFSHLPESLHQLTIDMS
**_*_* *****:*****_*_*_* *****

Serratia      DRGIPKSYRHHMGFGSHTFSFINAANERFWKFFHRCQQGIENLMDEEAETIAKRESS
Proteus       DRGLPLSYRFVHGFSGHTYSFINKDNERFWKFFHRCQQGIKNLMDEEAALVKGRESS
**_*_*_*_* *****:***** *****:*****:*****:*****

Serratia      QRDLFDAIKRGDFPRWKLQIQIMPEHEASQTPYNPFDLTKVWPHGDYPLIDVGGFFELNRN
Proteus       QRDLEAIKRGDYPRWKLQIQIMPEKEASTVPYNPFDLTKVWPHADYPLMDVGGYFELNRN
*****:*****:*****:*****_*_* *****:*****_*_*_* *****

Serratia      PDNYFSEVEQVAMPANVVPGISFSPDKMLQGRFLFSYGDARHRYRLGVNHQIPVNGAKCP
Proteus       PDNYFSDVEQAAFSPANIVPGISFSPDKMLQGRFLFSYGDARHRYRLGVNHQIPVNAKCP
*****:*****_*_*_* *****:*****:*****_*_*_* *****

Serratia      FHNYHRDGMARVDGNSGNGATYEPNSFGLFQEQPDFSEPLSIEGAADHWNHREDDYYYS
Proteus       FHNYHRDGMARVDGNSGNGITYEPNSGGVFQEQPDFKEPLSIEGAADHWNHREDEYFS
***** *****_*_* *****:*****:*****_*_*_* *****

Serratia      QPRALFNLLSAEEHQRMFTRIAGELSQVPEHIQRQVELFTKVHPDYAGVTKALGL---
Proteus       QPRALYELLSDDEHQRMFARIAGELSQASKETQQRQIDLFTKVHPDYAGVEKAIKVLGEL
*****:*****_*_* *****:*****:*****_*_*_* *****

Serratia      ---K
Proteus       KDAK
*

```

Fonte: Muscle (2023)

O alinhamento das sequências das Catalases de *S. marcensces* e *P. mirabilis*, informou que houve grande homologia entre os aminoácidos, isso foi perceptível por meio das cores apresentadas (Figura 2), indicando que mesmo quando não houve pareamentos dos mesmos aminoácidos, os aminoácidos possuíam propriedades em comum.

Figura 2 – Tabela de identificação de aminoácidos por cores.

Resíduo	Cor	Propriedade
AVFPMILW	VERMELHO	Pequeno (pequeno + hidrofóbico (incl.aromático -Y))
DE	AZUL	Ácido
RK	MAGENTA	Básico - H
STYHCNGQ	VERDE	Hidroxila + sulfidril + amina + G
Outros	Cinza	Aminoácidos/ácidos imino incomuns etc

Fonte: Muscle (2023)



XIII Seminário de Extensão e Inovação
XXVIII Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica da UTFPR

Ciência e Tecnologia na era da Inteligência Artificial: Desdobramentos no Ensino Pesquisa e Extensão
20 a 23 de novembro de 2023 - Campus Ponta Grossa, PR



SEI-SICITE
2023

Entretanto, 33 pareamentos de aminoácidos em localidades diversas apresentaram características totalmente distintas (Tabela 1). Sendo assim, pode ser benéfico para a estrutura ou função da catalase de *Serratia marcescens*.

Tabela – 1: Posição e Divergências do Pareamento de Aminoácidos

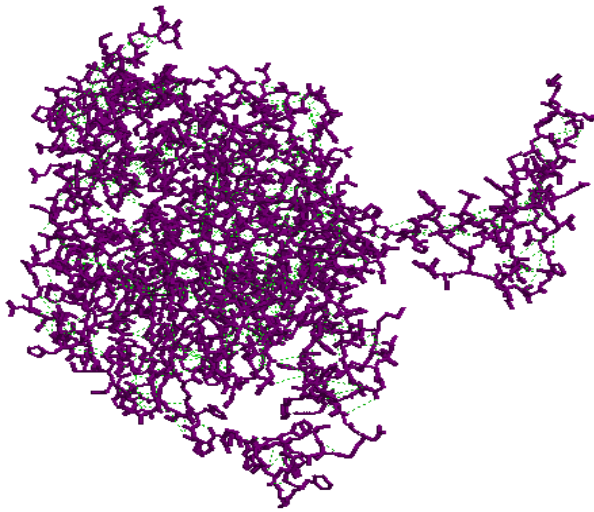
Posição	<i>S. marcescens</i>	<i>P. mirabilis</i>	Posição	<i>S. marcescens</i>	<i>P. mirabilis</i>
2	Serina	Ácido glutâmico	266	Histidina	Lisina
5	Glicina	Lisina	271	Treonina	Valina
25	Lisina	Prolina	285	Glicina	Alanina
53	Metionina	x	294	Fenilalanina	Tirosina
61	Tirosina	Fenilalanina	356	Glicina	Alanina
85	Glutamina	Lisina	387	Fenilalanina	Glicina
128	Ácido aspártico	Asparagina	397	Serina	Lisina
152	Histidina	Arginina	419	Tirosina	Fenilalanina
186	Lisina	Leucina	426	Fenilalanina	Tirosina
190	Histidina	Fenilalanina	431	Alanina	Ácido aspártico
199	Fenilalanina	Tirosina	439	Treonina	Alanina
204	Alanina	Lisina	449	Prolina	Serina
205	Aanina	Ácido aspártico	451	Histidina	Ácido glutâmico
214	Ácido glutâmico	Glutamina	452	Isoleucina	Treonina
218	Ácido glutâmico	Lisina	454	Arginina	Glutamina
230	Alanina	Glicina	476	Glicina	Lisina
253	Fenilalanina	Tirosina			

Fonte: Autoria própria (2023)

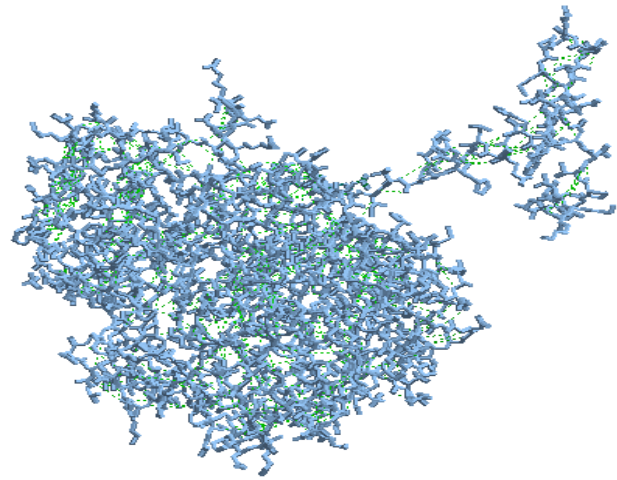
A partir do programa Modeller, foi realizado a modelagem (Figura 3), e comparado as estruturas das catalases de *S. marcescens* (Figura 3) e *P. mirabilis* (Figura 4). Para isso, utilizou-se o software RasTop. Foi possível perceber que ambas as catalases possuem uma conformação muito parecida, todavia, houve algumas divergências no formato estrutural delas. Conforme esperado, devido a divergência dos aminoácidos (Tabela 1).

Figura 3 – Estrutura completa da catalase de *S. marcescens*

Figura 4 – Estrutura completa da catalase de *P. mirabilis*



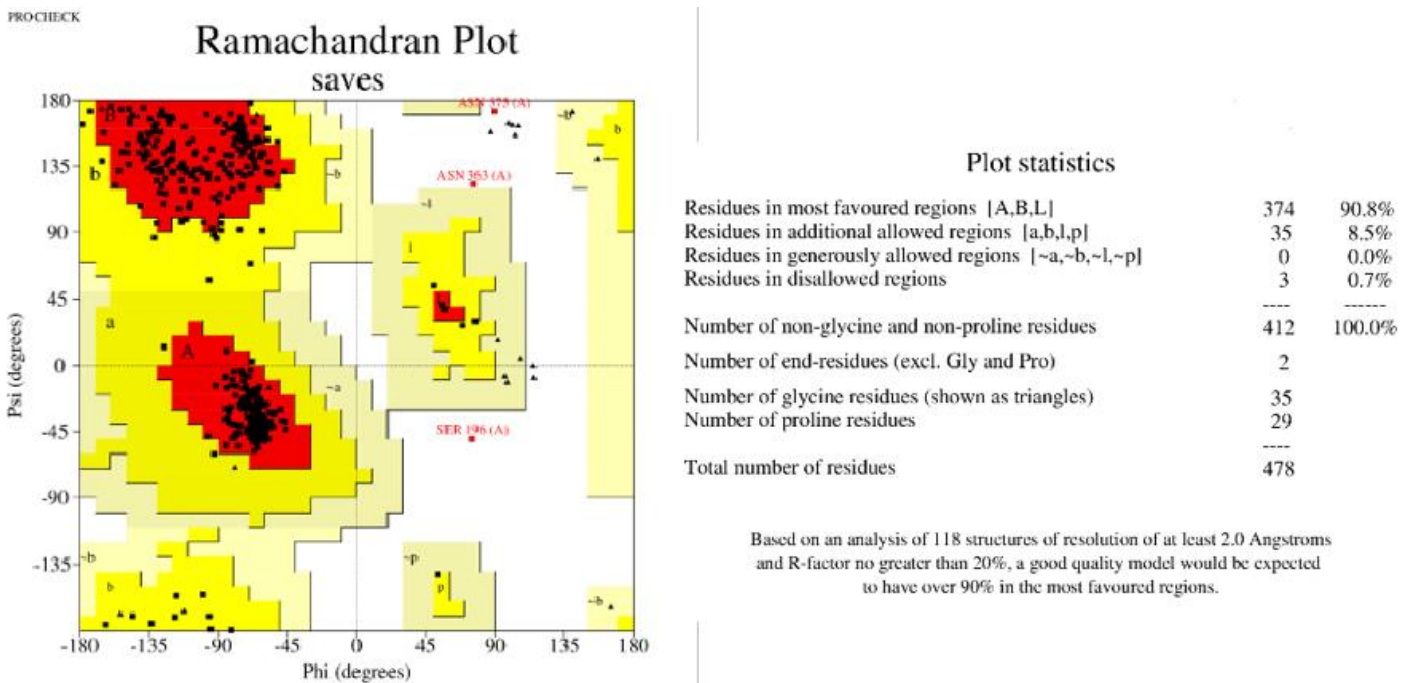
Fonte: A autoria própria (2023)



Fonte: A autoria própria (2023)

A validação se deu por meio do gráfico de Ramachandran (PROCHECK), da plataforma UCLA. (Figura 6). A partir das análises dos resultados da validação, foi possível perceber que a catalase de *Serratia marcescens* obteve uma boa qualidade. No gráfico de Ramachandran (Figura 6), é indicado que a qualidade da catalase é de 90,8%, ultrapassando o valor de 90%, utilizado como parâmetro de análise como boa ou ruim. Entretanto, há três aminoácidos encontrados em regiões desfavoráveis, sendo eles a Serina 196, Asparagina 363, Asparagina 375. Todavia, essa diferença é percebida também quando se faz a validação da catalase de *Proteus mirabilis*, sendo um possível erro contínuo no pareamento dos aminoácidos. Foi visto também que ambiente químico era favorável para a enzima.

Figura – 6: Gráfico de Ramachandran, PROCHECK



Fonte: UCLA (2023)



CONCLUSÃO

Dessa forma, conclui-se que a Catalase de *Serratia marcescens* apresenta uma qualidade de estrutura boa, sendo possível utilizá-la como parâmetro de comparação com as estruturas de outras Catalases em estudos futuros.

CONFLITO DE INTERESSE

Não há conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

BARREIROS, A; L; B; S; BARREIROS, M; L. **Aminoácidos**. Disponível em: <https://cesadufs.br/ORBI/public/uploadCatalogo/12175810072012QuimicaBiomoleculasaula3.pdf>. Acesso em: 27 de out. 2023.

BIOINFO: Revista Brasileira de Bioinformática - **Modelagem computacional de proteínas**. Disponível em: [Modelagem computacional de proteínas – BIOINFO](#). Acesso em: 27 de out. 2023.

Bowie JU, Lüthy R, Eisenberg D. A method to identify protein sequences that fold into a known three-dimensional structure. *Science*. 1991 Jul 12;253(5016):164-70. doi: 10.1126/science.1853201. PMID: 1853201.

FIGUEIREDO, J. E. F; DA ROCHA, W, D; BENEDITO, V. A; COELHO, V. T. da S. **Estudo de modelagem molecular por homologia para análise genômica funcional**. Disponível em: [Estudo de modelagem molecular por homologia para análise genômica funcional. I - BIP \(Binding Protein\). – Portal Embrapa](#). Acesso em: 27 de out. 2023.

Laskowski R A, MacArthur M W, Moss D S, Thornton J M (1993). PROCHECK - a program to check the stereochemical quality of protein structures. *J. App. Cryst.*, **26**, 283-291

Lüthy R, Bowie JU, Eisenberg D. Assessment of protein models with three-dimensional profiles. *Nature*. 1992 Mar 5;356(6364):83-5. doi: 10.1038/356083a0. PMID: 1538787.

PACHECO, Alberto Enrique Maestre et al. **Expressão, purificação e caracterização de uma catalase de *Serratia marcescens***. 2021. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

RasTop: Software de Visualização de Moléculas 3D. Acesso em: 17 de set. 2023. Disponível em: <https://sourceforge.net/projects/rastop/>.

Sievers F., Wilm A., Dineen D., Gibson T.J., Karplus K., Li W., Lopez R., McWilliam H., Remmert M., Söding J., Thompson J.D. and Higgins D.G. (2011) Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega. *Mol. Syst. Biol.* 7:539 PMID: 21988835 DOI: 10.1038/msb.2011.75