

# Uma nova serino-peptidase isolada da bactéria antártica *Lysobacter* sp. A03: Análise estrutural e potencial industrial

Júlia Heinzmann<sup>1</sup>, Jamile Q. Pereira<sup>3</sup>, Bruno Brito Lisboa<sup>2</sup>, Luciane Passaglia<sup>3</sup>

## INTRODUÇÃO

Peptidases são enzimas que hidrolisam ligações peptídicas em cadeias polipeptídicas, sendo essenciais em diversas funções celulares, tendo também uma vasta gama de aplicações industriais. Dessa forma, a bactéria *Lysobacter* sp. A03, isolada da Antártica e reconhecida pela produção de diversas peptidases ativas em baixas temperaturas, foi explorada na busca por enzimas psicrófilas com potencial biotecnológico, através da construção de uma biblioteca genômica e por *genome mining*. Num primeiro estudo, foi realizada a clonagem, expressão e caracterização da serino-peptidase A03Pep1, uma enzima com atividade queratinolítica a 20°C e pH alcalino. Partindo dos dados gerados pelo sequenciamento do genoma do isolado, uma nova peptidase, denominada A03Pep5, com similaridade de 36 % com A03Pep1, pertencente a família S8 de serino-peptidases foi anotada para sua caracterização e avaliação do seu potencial uso industrial.

## OBJETIVOS

- Caracterização estrutural *in silico* da peptidase A03Pep5;
- Clonagem e expressão da A03Pep5 para avaliar sua viabilidade para uso industrial em processos que utilizem baixas temperaturas.

## METODOLOGIA

A peptidase A03pep5, foi identificada através do BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). Para identificar as características estruturais da enzima possivelmente relacionadas com sua atividade no frio, foi realizada a modelagem por homologia, utilizando-se as ferramentas SwissModel e Phyre2. Para a predição do domínio catalítico da A03Pep5, foi realizado seu alinhamento com enzimas homólogas através da ferramenta Toffee (<http://tcoffee.org.cat/apps/tcoffee/do:expresso>) (Figura 1). Considerando a grande similaridade da peptidase A03Pep5 com a peptidase A03Pep1, foi realizada a comparação entre as estruturas tridimensionais das formas maduras das duas enzimas. A avaliação da qualidade da estrutura foi realizada através da ferramenta MolProbity e para a visualização das estruturas geradas foi utilizado o programa PyMOL.

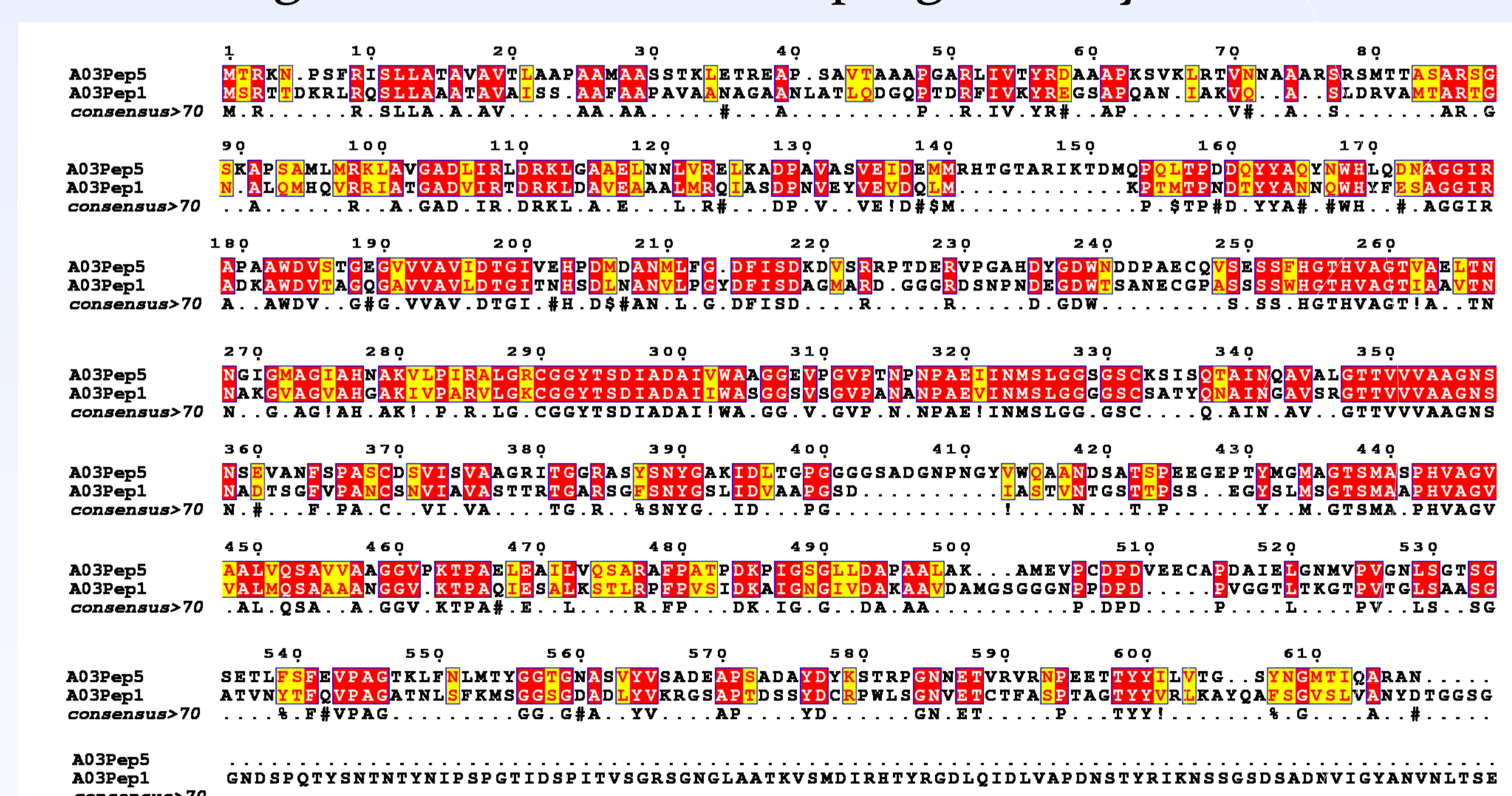


Figura 1. Alinhamento das peptidases através da ferramenta Toffee.

## RESULTADOS

Através do BLAST foi observado que a peptidase A03Pep5 possui 56% de similaridade com a queratinase KerSMF, de *Stenotrophomonas maltophilia* BBE11-1, uma enzima mesofílica com atividade queratinolítica com grande potencial para uso industrial. De acordo com os modelos gerados e em comparação com a serino peptidase mesofílica AprV2 de *Dichelobacter nodosus*, cujas coordenadas geradas por cristalografia foram utilizadas para a modelagem 3D, foi possível verificar a existência de um maior número de alças, o encurtamento das  $\alpha$ -hélices e de folhas  $\beta$  em regiões próximas ao sítio ativo e uma maior desordem na estrutura geral, todas essas características encontradas em enzimas psicrófilas e apontadas como responsáveis pela alta atividade catalítica em baixas temperaturas. Ainda, através da sobreposição da estrutura 3D predita da A03Pep5 com a peptidase A03pep1, foi possível verificar que as estruturas são quase idênticas (figura 2), de forma que a peptidase A03Pep5 também pode ser explorada visando a sua utilização em processos que requeiram baixas temperaturas assim como no design de novas enzimas customizadas de acordo com a necessidade do processo. Dado o potencial apresentado pela enzima A03Pep5, sua clonagem e expressão estão sendo encaminhados, para a avaliação da sua atividade em temperaturas reduzidas, visando a redução de energia em processos industriais.

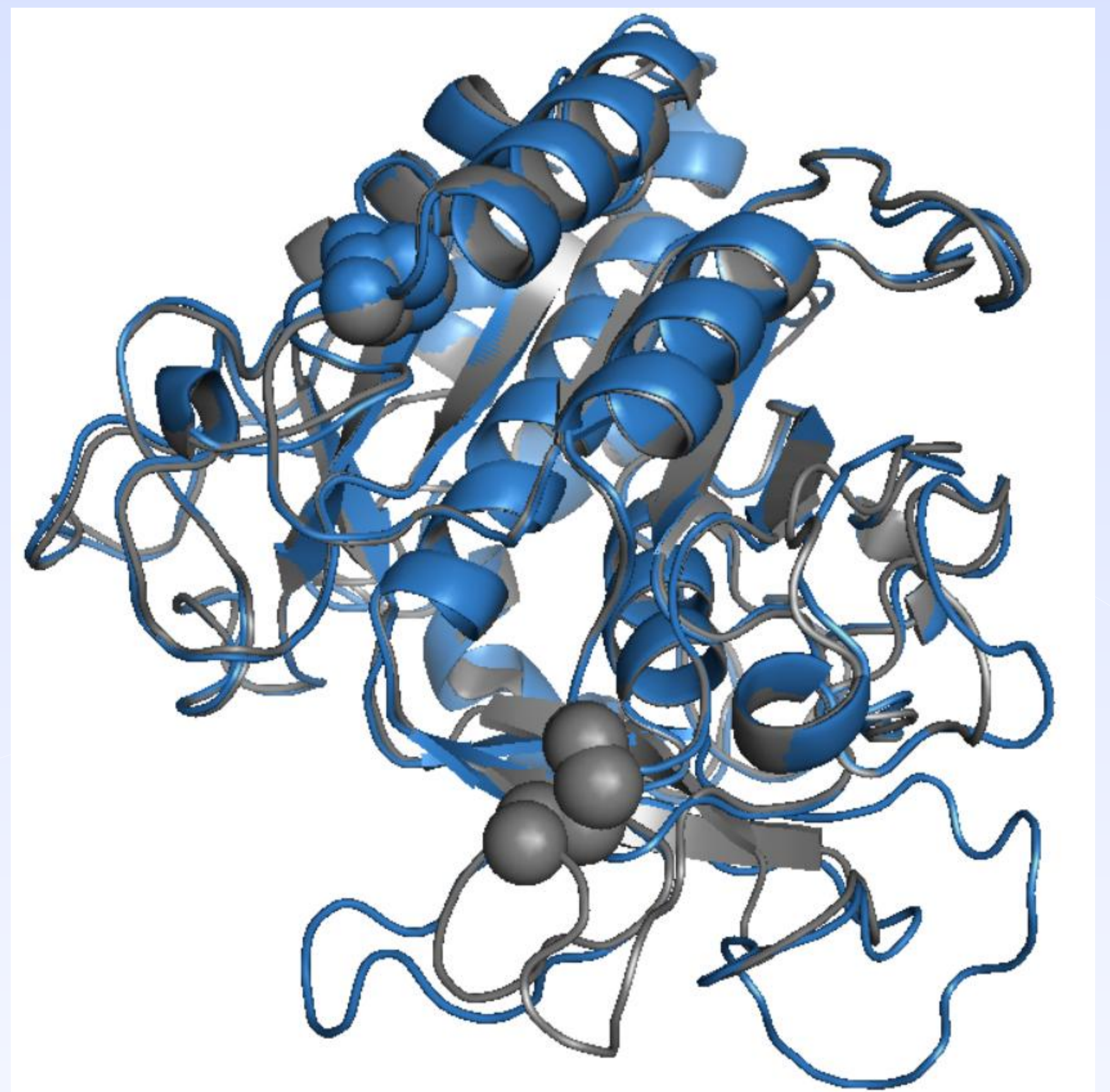


Figura 2. Alinhamento da estrutura 3D predita da A03Pep5 (azul) com a A03Pep1 (cinza) As ligações dissulfeto estão representadas por esferas.

Agradecimentos: