

MODELAGEM TRIDIMENSIONAL DE UMA LEGUMAÍNA E SEU INIBIDOR (CISTATINA) CODIFICADAS PELO GENOMA DO *Theobroma cacao* E DOCAGEM DO COMPLEXO INIBITÓRIO

Juliano Oliveira Santana*
Carlos Priminho Pirovani**

As legumaínas são proteases cisteínicas pertencentes à família C13 (EC 3.4.22.34) encontradas em diversos tipos de plantas, mamíferos e parasitas. Estas proteínas também são denominadas de Enzimas de Processamento Vacuolar (VPEs), por reconhecer e clivar após resíduos de asparagina (Asn) ou de aspartato (Asp) em polipeptídeos, sendo classificadas de acordo com os tecidos que são mais expressas. As VPEs são sintetizadas originando uma pré-prolegumaína contendo um peptídeo sinal e dois pró-peptídeos, um na região N-terminal e outro na região C-terminal. Por sua vez, as cistatinas são inibidores competitivos de proteases cisteínicas que bloqueiam o acesso do substrato ao sítio ativo da enzima. A superfamília das cistatinas são constituídas por quatro famílias, entre elas as fitocistatinas (PhyCys), que são inibidores específicos de plantas que possuem uma cauda estendida na região C-terminal, contendo o motivo SNSL capaz de inibir as VPEs. Realizar modelagem *in silico* de uma legumaína e uma cistatina, ambas caracterizadas em nosso laboratório, a fim de analisar o complexo inibitório por docagem e calcular a energia de interação durante o processo de inibição. A sequência primária de aminoácidos predita para a VPE *TcLEG9* foi obtida no banco de dados do CocoaGenDB, realizando blast com sequências de legumaínas de outras espécies já identificadas. A região C-terminal da fitocistatina *TcCYS4* (inibidor) utilizada foi a descrita por PIROVANI *et al.*, 2010. O software SWISS-MODEL foi utilizado para a modelagem *in silico*, para o processo de validação foi gerado o diagrama Ramachandran para ambas estruturas. A docagem entre as estruturas foi realizada pelo software ClusPro 2.0. A estrutura resolvida do *Homo sapiens* (4FGU) foi selecionada para a construção do modelo da *TcLEG9*, pois apresentou melhor *score* (301) e *e-value* ($2e-96$) como também razoável grau de identidade (40%) entre outras estruturas avaliadas. O molde da estrutura resolvida da *Oryza sativa* (1EQK) foi a única candidata disponível para a região C-Terminal da *TcCYS4*, possuindo identidade de 25%. A estrutura tridimensional gerada da *TcLEG9* apresentou 15 α -hélices, 06 β -folhas e 22 loops, por sua vez a *TcCYS4* apresentou em sua estrutura 01 α -hélices, 05 β -folhas e 05 loops. O processo de validação das estruturas mostrou o diagrama de Ramachandran com 99,7% dos resíduos em regiões energeticamente favoráveis para *TcLEG9* e 97,5% para *TcCYS4*. A docagem entre as estruturas *TcLEG9* e *TcCYS4* apresentou um complexo de energia -793.4 E/kT e ajudou a visualizar como o pró-peptídeo situado na região C-terminal da *TcLEG9* bloqueia parcialmente a fenda catalítica impedindo acoplamento com seu inibidor.

Palavras-chave: Legumaína. Cistatina. Modelagem. Docking.

*Farmacêutico. Especialista em Análises Clínicas. Mestrando em Genética e Biologia Molecular – UESC. julianosantana20@hotmail.com

**Doutor em Genética e Biologia Molecular – UNICAMP. Docente Titular A - DCB/UESC – Laboratório de Proteômica. pirovanicp@gmail.com