



VISÕES DA CIÊNCIA

MODELAGEM TRIDIMENSIONAL DE ENZIMAS PARA A INDÚSTRIA DE BIOCOMBUSTÍVEIS

CARLOS EDUARDO ANTUNES DE OLIVEIRA
ALEXANDER MACHADO CARDOSO

A crescente demanda por energia, a constante preocupação ambiental e o esgotamento iminente das reservas de combustíveis fósseis fazem com que novas metodologias e fontes energéticas precisem ser implementadas o quanto antes. Os biocombustíveis gerados a partir de resíduos agroindustriais estão em alta atualmente; entretanto, faltam melhorias no processo produtivo, principalmente em relação à utilização de enzimas mais eficientes e baratas do que as já utilizadas na indústria de biocombustíveis.

Em geral essas enzimas são obtidas de organismos capazes de degradar de forma eficiente a parede celular vegetal, permitindo a liberação dos açúcares para a fermentação. A busca na natureza de recursos genéticos e bioquímicos para a obtenção de novos produtos ou processos com fins comerciais foi tema da primeira edição desta Revista (*Acta Scientiae et Technicae*) por Cardoso, 2013 e continua atual. O desafio continua sendo identificar novas enzimas que possuam uma atividade catalítica melhor e boa estabilidade, diminuindo os custos dos processos. De 2013 para cá, milhares de genomas e metagenomas e centenas de milhões de novas sequências foram depositadas em banco de dados como o Genbank do NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) - Centro

Nacional de Informação Biotecnológica. O gargalo principal é identificar essas enzimas que possam desconstruir a parede celular de forma eficiente, desse modo a construção de modelos tridimensionais (3D) de enzimas é uma ferramenta muito importante neste processo.

Segundo David e Cox, 2014 a estrutura de uma enzima se dá em quatro níveis de complexidade. A estrutura primária ocorre pelos resíduos de aminoácidos ligados em uma cadeia polipeptídica por ligações peptídicas. A estrutura secundária se refere aos arranjos estáveis de resíduos de aminoácidos dando origem a dois padrões conhecidos: α -hélices, ordenadas em

O gargalo principal é identificar essas enzimas que possam desconstruir a parede celular de forma eficiente, desse modo a construção de modelos tridimensionais (3D) de enzimas é

espiral; e folhas- β , onde duas colunas peptídicas se ligam em paralelo. Já a estrutura terciária se dá pelos padrões referidos em um enovelamento. E a

milhões de sequências estão esperando serem analisadas por falta de pessoas interessadas em estudar um determinado tópico com mais dedicação.

estrutura quaternária se dá pela união de enovelamentos proteicos.

Uma proteína pode estar em um ou mais estados conformacionais de energia livre dependendo de sua interação com outras proteínas. Sobre um estado conformacional estável, certas regiões da proteína estão expostas para interações, seja com outras proteínas ou outras moléculas. Suas funções são dependentes dos sítios ativos expostos, e isto faz com que possa prever tais funções construindo um modelo 3D, pela comparação de uma estrutura proteica já conhecida. Existem vários métodos para se construir uma estrutura molecular 3D de uma proteína, o mais utilizado é a modelagem por homologia. Este trabalho não tem a pretensão de mostrar todas as técnicas e detalhes dessa metodologia, mas despertar o interesse de pesquisadores e do público em geral neste assunto e também estimular os educadores a utilizarem essas ferramentas em suas aulas.

Na verdade, vale a pena destacar quatro servidores: o NCBI, o MG-RAST, o SWISS-Model e o KEGG, todos eles online, gratuitos e que não precisam instalar em seu computador.

O NCBI possui inúmeros bancos de dados, entre eles os de proteínas. Na busca simplesmente coloque o termo de interesse, por exemplo: “celulase”, escolha a enzima de interesse e salve no formato fasta.

O MG-RAST (*Metagenomic Rapid Annotations using Subsystems Technology*) é um repositório de sequências obtidas de projetos de metagenomas (coletâneas de genes obtidos de amostras não cultivadas) que possui inúmeras ferramentas de análises computacionais. Cabe destacar que milhões de sequências estão esperando serem analisadas por falta de pessoas interessadas em estudar um determinado tópico com mais dedicação. Portanto, faça seu login, interaja com outros pesquisadores e participe!

O Swiss-Model é um servidor que realiza de forma prática a modelagem 3D da enzima de interesse por homologia comparativa a partir do arquivo de entrada que na verdade é o arquivo fasta obtido do NCBI ou MG-RAST. O servidor é muito simples, basta acionar o botão "*Start Modelling*", colocar a sequência que se deseja obter a estrutura e apertar o botão "*Build Model*". Em alguns minutos serão mostrados os alinhamentos com a enzima



molde, os modelos gerados e testes de validação destes modelos.

Figura 1. Exemplo de estrutura tridimensional de uma Glicosil Hidrosilase (GH) utilizada na indústria de biocombustível obtida no MG-RAST e construída no SWISS-Model pelos autores.

Cabe ao educador explicar cada etapa e propor desafios aos estudantes de acordo com um determinado assunto ou rota metabólica. O KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*) é uma enciclopédia de genes e genomas organizados que permitem a busca de genes de interesse de diferentes rotas metabólicas tais como doenças humanas, rotas bioquímicas clássicas, degradação de compostos, entre outras.

No caso dos biocombustíveis, eles são importantes por diversos motivos; dentre estes: reduzir a dependência do petróleo como fonte energética primária e diminuir emissões de gases do efeito estufa. O interesse nestas fontes

energéticas alternativas surgiu na década de 70, a partir do famoso choque do petróleo, instigando diversas nações importadoras deste insumo fóssil a buscar novas alternativas. A preocupação ambiental começara a aparecer; mas ainda não era marcante, principalmente na Europa. A exploração do carvão mineral e do gás natural foi aumentada neste período até a década de 80, quando os valores do barril de petróleo caíram acentuadamente. O termo "aquecimento global" estreou, prevendo o aquecimento exacerbado da Terra, provocado pelas ações humanas, tendo como principal, a queima de combustíveis fósseis.

Já na década de 90, o álcool começara a surgir como uma das principais fontes energéticas alternativas, devido à melhora da tecnologia automotiva. Em 1997, o Protocolo de Kyoto marcou toda a questão ambiental, em âmbito mundial. Os biocombustíveis surgiram no mundo com o intuito de substituir o petróleo e diminuir a emissão de gases do efeito estufa. Para evitar que os biocombustíveis ocupem áreas dedicadas a alimentação e prejudiquem ainda mais o meio ambiente é fundamental a utilização de rejeitos da agricultura como substratos e também enzimas mais eficientes e baratas como as GHs (glicosil hidrosilases, exemplo na Figura 1) que poderão ser reveladas graças ao emprego da modelagem tridimensional.

AGRADECIMENTOS

À Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio recebido.

REFERÊNCIAS E SITES

CARDOSO, A. M.. Bioprospecção de novos genes para a indústria usando metagenoma e bioinformática. *ACTA SCIENTIAE ET TECHNICA*, v. 1, p. 23-30, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.17648/uezo-ast-v1i1.5>

DAVID, L.N. COX, M. Princípios de bioquímica de Lehninger. 6ª edição. Porto Alegre: Artmed Editora, 2014. 125P.

KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*). Disponível em: <https://www.genome.jp/kegg/>

MG-RAST (*Metagenomic Rapid Annotations using Subsystems Technology*). Disponível em: <https://www.mg-rast.org/>

NCBI (*National Center for Biotechnology Information*). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

CARLOS EDUARDO ANTUNES DE OLIVEIRA É MESTRANDO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL PELO CENTRO UNIVERSITÁRIO ESTADUAL DA ZONA OESTE E ALEXANDER MACHADO CARDOSO

É PROFESSOR ADJUNTO DA UNIDADE DE BIOLOGIA E PROFESSOR PERMANENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL E PRÓ-REITOR DE PESQUISA DA FUNDAÇÃO CENTRO UNIVERSITÁRIO ESTADUAL DA ZONA OESTE .